

ΕΙΔΙΚΟ ΑΡΘΡΟ

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ

Ε. ΠΕΡΙΒΟΛΙΩΤΗ

Παρουσιάζονται τα σημαντικότερα θέματα που αναπτύχθηκαν στο μεταπτυχιακό σεμινάριο των ESCMID-SHEA (7-10 Νοεμβρίου 2009) στο San Lorenzo de El Escorial (περιοχή Μαδρίτης) στην Ισπανία και είχε θέμα: «Hospital Epidemiology». Η συγγραφέας του άρθρου παρακολούθησε το σεμινάριο με την οικονομική ενίσχυση της Εταιρείας Κλινικής Μικροβιολογίας.

A. Ενδοσκοπικές Μονάδες

- Χωροταξία και λειτουργικός σχεδιασμός (M. Dettenkefer, Freiburg- Germany)
- Απολύμανση ενδοσκοπίων (C. Ruef, Zurich - Switzerland)
- Επιτήρηση λοιμώξεων από ενδοσκόπια (A. Widmer, Basel, Switzerland)

B. Λοιμώξεις από MRSA

- Επιδημιολογία των MRSA (A. Voss, Nijmegen, The Netherlands)
- Εκρίζωση των MRSA από το νοσοκομείο (C.Vanderbroucke-Grauls, Amsterdam-The Netherlands)
- Αντιμετώπιση νόσου και φορέας MRSA (B. Gordts, Brugge - Belgium)
- Ορθολογική χρήση αντιβιοτικών (J. Klutmans, Amsterdam, The Netherlands)
- Χημειοπροφύλαξη στη Χειρουργική (A. Voss, Nijmegen, The Netherlands)
- Λοιμώξεις στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (M. Bonten, Utrecht, The Netherlands)

A. Ενδοσκοπικές μονάδες

Χωροταξική διάταξη των ενδοσκοπικών μονάδων

Πηγή νοσοκομειακών λοιμώξεων είναι δυνατόν να αποτελέσουν οι ενδοσκοπικές μονάδες, δεδομένου ότι ένα από τα δυσκολότερα σύγχρονα προβλήματα στο χώρο της ασηψίας - αντισηψίας

των νοσοκομείων αποτελεί η απολύμανση ενδοσκοπίων.

Ο πρώτος ομιλητής, Marcus Dettenkofer, καθηγητής Επιδημιολογίας Νοσοκομειακών Λοιμώξεων από το Freiburg της Γερμανίας, αναφέρθηκε στην αρχιτεκτονική και χωροταξία των ενδοσκοπικών μονάδων, δίνοντας κατευθυντήριες οδηγίες για το λειτουργικό τους σχεδια-

σμό.

Αναλυτικότερα μία ενδοσκοπική μονάδα αποτελείται από:

α) Τα εξεταστήρια για ενδοσκόπηση ανατομικών περιοχών με φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα (γαστρεντερικός σωλήνας), καθώς και για μη αποικισμένες ανατομικές περιοχές (βρογχικό δένδρο).

Τα εξεταστήρια πρέπει να είναι αρκετά ευρύχωρα, ώστε να φιλοξενούν νοσοκομειακά κρεβάτια και να έχουν νιπτήρα.

β) Δωμάτια για τον καθαρισμό και την απολύμανση των ενδοσκοπίων και εξαρτημάτων τους. Ο χώρος επεξεργασίας των ενδοσκοπίων πρέπει να είναι αρκετά ευρύχωρος ώστε να χωρίζεται σε καθαρή και μη καθαρή περιοχή, να υπάρχει νεροχύτης για την απόρριψη των εκκρίσεων από τις αναρροφήσεις, να υπάρχει νιπτήρας για το πλύσιμο των χεριών και σύστημα υπερήχων για τον καθαρισμό των ενδοσκοπίων και εξαρτημάτων τους. Να υπάρχει διαθέσιμος χώρος για τον καθαρό εξοπλισμό και για τα απόβλητα. Η αποστείρωσή τους να γίνεται στην καθαρή περιοχή. Να γίνεται επαρκής εξαερισμός λόγω της αυξημένης υγρασίας και των ερεθιστικών απολυμαντικών (αλδεϋδες). Ο χώρος επεξεργασίας των ενδοσκοπίων να είναι χωριστός από τα εξεταστήρια, κατά προτίμηση να βρίσκεται μεταξύ δύο ή περισσότερων εξεταστηρίων σε εύκολα προσβάσιμη περιοχή.

γ) Περιοχές για την παρακολούθηση των ασθενών μετά την ενδοσκόπηση.

Οι ασθενείς που έχουν λάβει νάρκωση ή καταπραϊντικά θα πρέπει να παρακολουθούνται σε ξεχωριστό δωμάτιο εφοδιασμένο με συσκευή παροχής οξυγόνου και καρδιακής παρακολούθησης.

δ) Ο χώρος αναμονής των ασθενών να είναι ορατός από το χώρο υποδοχής. Να υπάρχουν τουαλέτες χωριστές για το προσωπικό και τους ασθενείς, εφοδιασμένες με αντισηπτικό σαπούνι και αλκοολούχα απολυμαντικά για τα χέρια. Επίσης αποδυτήρια για το προσωπικό καθώς και χώρος ανάπαυσης.

Το πάτωμα θα πρέπει να είναι αδιάβροχο,

να καθαρίζεται και να απολυμαίνεται εύκολα και οι τοίχοι, τα έπιπλα και οι επιφάνειες να είναι εύκολο να σκουπιστούν (υγρό σκούπισμα).

Καθαρισμός και απολύμανση ενδοσκοπίων

Ο δεύτερος ομιλητής, Christian Ruef, καθηγητής Επιδημιολογίας στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Ζυρίχης, αναφέρθηκε αναλυτικότερα στον καθαρισμό και απολύμανση των ενδοσκοπίων.

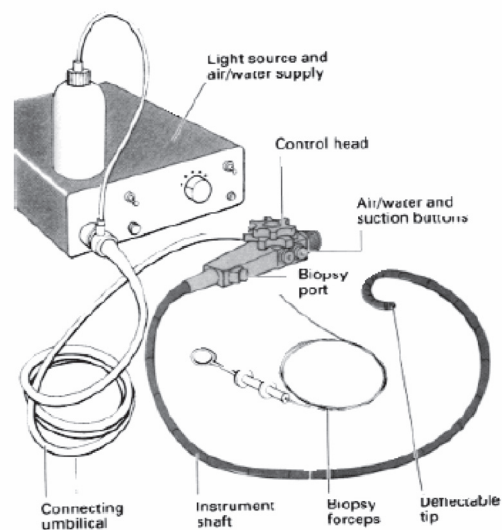
Τα ενδοσκόπια είναι περίπλοκα εύκαμπτα όργανα (Εικόνα 1), που χρησιμοποιούνται σε περιοχές του σώματος με υψηλό μικροβιακό φορτίο, έτσι που ο αποικισμός τους είναι αναπόφευκτος, π.χ. από τη μικροβιακή χλωρίδα της γαστρεντερικής και ανώτερης αναπνευστικής οδού.

Εξαιρετικά σημαντικά βήματα στον καθαρισμό των ενδοσκοπίων είναι:

Ο μηχανικός καθαρισμός με βούρτσες, η απολύμανση, το ξέπλυμα, το στέγνωμα και η φύλαξή τους.

Πιθανές ελλείψεις στην επεξεργασία των ενδοσκοπίων σχετίζονται με:

1) ανεπαρκή μηχανικό καθαρισμό και



Εικόνα 1. Πλήρες ενδοσκόπιο με φωτεινή πηγή, παροχή ύδατος και αέρος.

βούρτσισμα των ενδοσκοπικών καναλιών. Οι βούρτσες εμβαπτίζονται σε διάλυμα απορρυπαντικού και είτε απορρίπτονται μετά από κάθε χρήση είτε ακολουθεί σχολαστικός καθαρισμός και υψηλού βαθμού απολύμανση. Τα κινητά αφαιρούμενα μέρη των ενδοσκοπίων εμβαπτίζονται σε διάλυμα απορρυπαντικού. Το απορρυπαντικό διάλυμα απορρίπτεται μετά από κάθε χρήση.

2) ανεπαρκή χρόνο παραμονής στα απολυμαντικά: επιλογή απολυμαντικού συμβατού με τον ενδοσκοπικό εξοπλισμό.

Τα ενδοσκόπια είναι όργανα θερμοευαίσθητα, για τα οποία η υψηλού βαθμού απολύμανση με τη χρήση της γλουταραλδεϋδης 2% αποτελεί τη μέθοδο επιλογής έως σήμερα. Νεότερα προϊόντα είναι αυτά με βάση τις διαμίνες και τριαμίνες, το παραοξικό οξύ, την ορθοφθαλδεϋδη.

3) ανεπαρκές ξέπλυμα: το ξέπλυμα των ενδοσκοπίων γίνεται με αποστειρωμένο νερό.

4) το στέγνωμα των ενδοσκοπίων θα πρέπει να γίνεται με εξαιρετική επιμέλεια για να μειωθεί η πιθανότητα επιμόλυνσής τους από μικρόβια που ευνοούνται από συνθήκες υγρασίας.

Αναφέρθηκαν ως παραδείγματα, επιμολύνσεις από *Burkholderia picketti*, *Sphingomonas paucimobilis*, που ανευρέθησαν στο νερό ξέπλυματος των ενδοσκοπίων.

5) η φύλαξη των ενδοσκοπίων να γίνεται σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο, σε κατακόρυφη θέση, και αρκετή απόσταση, για να μην έρχονται σε επαφή τα ενδοσκόπια και τα εξαρτήματά τους.

Όσον αφορά την αναγκαιότητα χρησιμοποίησης εξαρτημάτων μιας ή πολλαπλών χρήσεων, οι γνώμες διίστανται: υπάρχουν αναφορές τόσο υπέρ της μιας χρήσεως (Gastrointest Endoscopy 2000, 51:257, 262, 266) όσο και υπέρ της πολλαπλής χρήσης (Gastrointest Endoscopy 2001, 53:747).

Στον Πίνακα 1 φαίνονται οι επιμολύνσεις των ενδοσκοπικών λαβίδων από τη μικροβιακή χλωρίδα του γαστρεντερικού σωλήνα.

Παρατηρείται σημαντική μείωση των ε-

πιμολύνσεων μετά το μηχανικό καθαρισμό ($p=0,047$), ενώ δεν ανευρίσκεται μικροβιακή χλωρίδα μετά την έκθεση στη γλουταλδεϋδη ($p<0,001$).

Επιτήρηση λοιμώξεων από ενδοσκόπια

Ο τρίτος ομιλητής, Andreas Widmer, καθηγητής Επιδημιολογίας και Ελέγχου των Λοιμώξεων στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Βασιλείας, αναφέρθηκε στην επιτήρηση των λοιμώξεων που σχετίζονται με τη χρήση των ενδοσκοπίων και περιλαμβάνουν:

- Καταγραφή των ενδοσκοπήσεων
- Διερεύνηση των διαδικασιών αν εμφανισθούν προβλήματα
- Εκπαίδευση του προσωπικού
- Ανοσοποίηση του προσωπικού
- Μικροβιολογική επιτήρηση των ενδοσκοπίων αμέσως μετά την επεξεργασία τους (δείγματα από ενδοσκόπια και δείγματα από το νερό ξέπλυματος).

Οι λοιμώξεις που σχετίζονται με τα ενδοσκόπια είναι ενδογενείς, από τη μικροβιακή χλωρίδα κατά την εισαγωγή και αφαίρεση του ενδοσκοπίου, ή εξωγενείς, από προηγούμενο ασθενή ή το άψυχο περιβάλλον.

Από το περιβάλλον, στα υγρά έκπλυσης ανευρίσκονται *Pseudomonas spp*, και άτυπα μυκοβακτηρίδια.

Από τον ασθενή, μέλη της φυσιολογικής χλωρίδας *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* κ.ά. ενώ σε οξείες και χρόνιες λοιμώξεις *Mycobacterium tuberculosis*, *Hepatitis B, C*, *Salmonella spp* κ.ά.

Όσον αφορά την αντοχή των μικροοργανισμών στα απολυμαντικά, πιο ευαίσθητοι εμφανίζονται κατά σειρά οι ιοί HCV, CMV, RCV, HIV, στη συνέχεια *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Salmonella spp*, ακολουθούν κατά σειρά *Candida spp*, οι μικροί ιοί *poliovirus*, *coxsackie*, τα μυκοβακτηρίδια, ακόμα πιο ανθεκτικά τα σπορογόνα βακτηρίδια (*Cl. perfringens*) και τέλος τα prions.

Η μικροβιολογική επιτήρηση γίνεται:

α) με τη λήψη υγρού έκπλυσης των κανα-

Πίνακας 1. Επίδραση των σταδίων καθαρισμού των ενδοσκοπίων στην παραμονή μικροβιακής χλωρίδας.

Στάδιο επεξεργασίας των ενδοσκοπίων	No. λαβίδων που εξετάστηκαν	No. καλλιέργειών αερόβιες, αναερόβιες	Καλλιέργειες με παρουσία μικροβιακής χλωρίδας
Πριν τη χρήση	10	20	καμία
Μετά από κολονοσκόπηση	10	20	20 (100%)
Μετά από μηχανικό καθαρισμό και ξέπλυμα	10	20	5 (25%)
Μετά 2-min Cidex	10	20	καμία
Μετά 20-min Cidex	10	20	καμία

λιών των ενδοσκοπίων, συστήνεται: 20 ml στείρου διαλύματος NaCl 0,9% ή 100 ml από το νερό έκπλυσης (δεν υπάρχουν διεθνή standards).

β) λαμβάνονται δείγματα από κριτικά σημεία των ενδοσκοπίων (με βαμβακοφόρους στυλεούς που διατηρούνται νωπά με NaCl, σε εμπλουτιστικό ζωμό ή άγαρ) (Εικόνα 2).

Τα εκπλύματα μεταφέρονται στο εργαστήριο σε σύντομο χρονικό διάστημα, αλλιώς φυλάσσονται στο ψυγείο, σε αποστειρωμένα φιαλίδια [falcon tubes (στα οποία αναγράφεται ο κωδικός του ενδοσκοπίου) ID number και τύπος]. Δεν πρέπει να παραμείνουν πέραν των 4 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου.

Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

Ολικός αριθμός αποικιών: <1 cfu/ml - με 20 ml διήθημα από μικροβιοκρατές φίλτρο

- Αρνητικές καλλιέργειες για κολοβακτηρίδιο, άλλα εντεροβακτηριακά, εντερόκοκκοι (δείκτες για ανεπαρκή καθαρισμό ή απολύμανση)
- Αρνητικές καλλιέργειες για *Pseudomonas aeruginosa* (δείκτης επαναμόλυνσης μετά το ξέπλυμα ή ανεπαρκές στέγνωμα του ενδοσκοπίου)
- Αρνητικές καλλιέργειες για *Staphylococcus aureus* (δείκτης επαναμόλυνσης μετά την επεξεργασία ή ανεπαρκείς συνθήκες φύλαξης).
- Αρνητικές καλλιέργειες για *viridans streptococci* (χρήσιμος δείκτης για ενδοσκόπια με χαμηλού βαθμού επιμόλυνση από το άνω τμήμα της γασ-

τρεντερικής και της αναπνευστικής οδού).

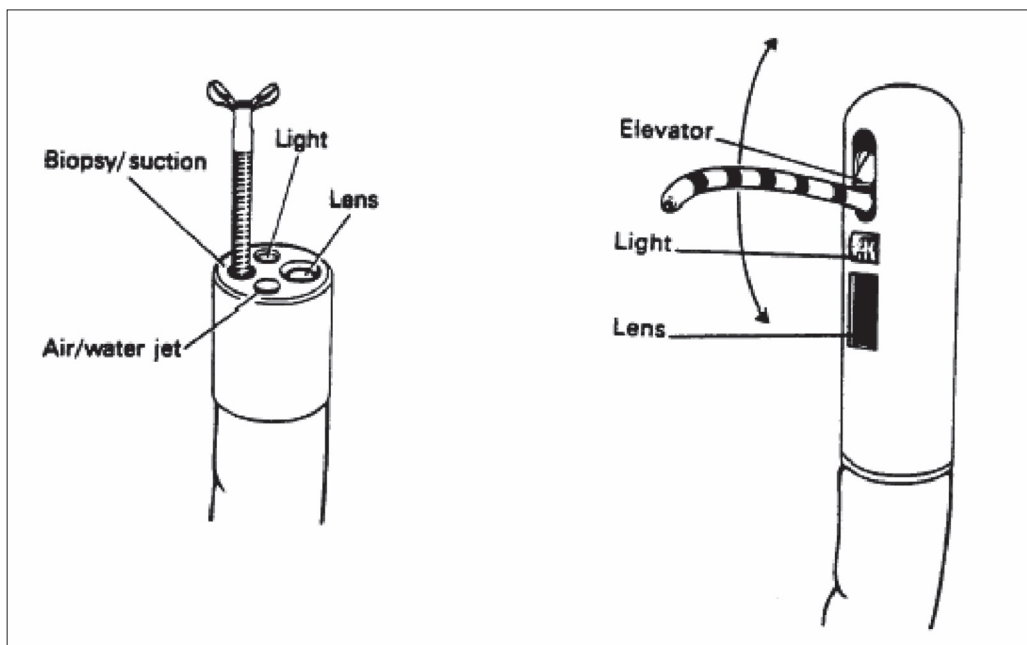
Β. Λοιμώξεις από MRSA

Επιδημιολογία των λοιμώξεων από MRSA

Ο Andreas Voss, καθηγητής Ελέγχου Λοιμώξεων του Πανεπιστημίου Radboud και του Νοσοκομείου Canicous-Wilhelmina, Nijmegen, της Ολλανδίας, ανέπτυξε την επιδημιολογία των MRSA και έκανε τη διάκριση μεταξύ HA-MRSA: Νοσοκομειακού (Hospital-Acquired) και CA-MRSA: Εξωνοσοκομειακού (Community-Acquired) ανθεκτικού σταφυλόκοκκου.

Οι HA-MRSA σταφυλόκοκκοι είναι από τα κύρια παθογόνα στο νοσοκομειακό περιβάλλον. Η συχνότητα απομόνωσής τους ποικίλλει τόσο μέσα στο νοσοκομείο, (υψηλότερη σε μονάδες εντατικής θεραπείας, νεογνών, τμήματα χειρουργικά, αιματολογικά), όσο και μεταξύ των διαφόρων χωρών. Παράδειγμα αποτελούν οι ευρωπαϊκές χώρες με μία διαβάθμιση υψηλής συχνότητας στις νότιες χώρες (43-58%) και χαμηλότερης στις σκανδιναβικές ~2%. Η Ελλάδα παρουσιάζει συχνότητα 40-50% του συνόλου των *S.aureus* σε αιμοκαλλιέργειες.

Η εμφάνιση σε παγκόσμια κλίμακα των CA-MRSA (Community-Acquired) στελεχών δηλαδή που απομονώθηκαν από ασθενείς σε εξωτερικά ιατρεία, σε ιατρεία της κοινότητας, ή από νοσηλευόμενους ασθενείς τις πρώτες 48 ώρες από την



Εικόνα 2. Σημεία των ενδοσκοπίων απ' όπου λαμβάνονται ιδιαιτέρως δείγματα για καλλιέργεια.

εισαγωγή τους στο νοσοκομείο, ενέχει κινδύνους για τον άνθρωπο, τόσο στο νοσοκομειακό περιβάλλον, όσο και στην κοινότητα.

Τα χαρακτηριστικά των CA-MRSA είναι:

- Η διασπορά τους ανάμεσα σε υγιείς νέους ανθρώπους, χωρίς εμφανείς προδιαθεσικούς παράγοντες. Ως ομάδες που έχουν αυξημένους παράγοντες κινδύνου αναφέρονται: οι χρήστες ενδοφλεβίων ουσιών, αθλητές, στρατιώτες, κολυμβητές, ομοφυλόφιλοι.
- Τα στελέχη αυτά παραμένουν ευαίσθητα σε πολλά αντιβιοτικά, προκαλούν όμως σοβαρές δερματικές λοιμώξεις μαλακών μορίων και νεκρωτική πνευμονία στην κοινότητα, λόγω παραγωγής της τοξίνης λευκοσιδίνης Pantone-Valentine (PVL).

Επίσης έγινε αναφορά στο ρόλο των ζώων ως πηγής λοιμώξεων από MRSA, όπως γάτες, σκύλοι και ειδικότερα στη ρινική φορεία των χοίρων, όπου αποδείχθηκε μετάδοση σε κτηνοτρόφους, στις οικογένειές τους και σε άτομα του περιβάλλοντός τους, με αποτέλεσμα την εμφάνιση νοσοκομειακών λοιμώξεων σε ανθρώπους.

Τελειώνοντας ανέφερε χαρακτηριστικά ότι, παρά το γεγονός ότι ο μεθικιλίνη ανθεκτικός σταφυλόκοκκος έχει μελετηθεί εκτενώς, συνεχίζει να εξελίσσεται, τόσο σε σχέση με τη λοιμωγόνο του δύναμη, όσο και με τους μηχανισμούς αντοχής του, και με χιούμορ κατέληξε λέγοντας ότι ο τύπος MRSA που έχει ενδιαφέρον στο μέλλον είναι ο: IDCWYCI-JTMHTFI-MRSA*.

Πρόληψη των λοιμώξεων από MRSA

Από τα παραπάνω διαφαίνεται η επιτακτική ανάγκη λήψης μέτρων για την εκρίζωση των MRSA από το νοσοκομείο.

Η καθηγήτρια Κλινικής Μικροβιολογίας και Ελέγχου των Λοιμώξεων Christina Vanderbroucke-Grauls, του Πανεπιστημίου VU του Amsterdam, παρουσίασε τη στρατηγική της όπως αυτή ορίζεται από το Υπουργείο Υγείας για την καταπολέμηση και πρόληψη των Νοσοκομειακών Λοιμώξεων από MRSA, που περι-

*I Don't Care What You Call It - Just Tell Me How To Fix It- MRSA.

λαμβάνουν:

➤ Απομόνωση και έλεγχο όλων των ασθενών που νοσηλεύθηκαν σε νοσοκομεία άλλων χωρών.

➤ Αυστηρή απομόνωση κάθε περίπτωσης MRSA, είτε πρόκειται για φορέα είτε για νόσο.

➤ Η αυστηρή απομόνωση περιλαμβάνει: μονόκλινο δωμάτιο, κατά προτίμηση με προθάλαμο και αρνητική πίεση, χρήση αλκοολικών διαλυμάτων για τον καθαρισμό των χεριών, μπλούζα, μάσκα, γάντια για κάθε έναν που εισέρχεται στο δωμάτιο.

➤ Σε περίπτωση μη αναμενόμενης λοίμωξης από MRSA: αυστηρή απομόνωση του ατόμου, έλεγχος όλων των ασθενών και του προσωπικού που ήλθαν σε επαφή, αν παρατηρηθούν και άλλα κρούσματα - δεν γίνεται καμία νέα εισαγωγή στα προσβεβλημένα τμήματα.

➤ Νοσηλευτικό προσωπικό φορείς MRSA δεν επιτρέπεται να έρθουν σε άμεση επαφή με τους ασθενείς.

➤ Ασθενείς και προσωπικό που αποδεικνύονται φορείς MRSA υποβάλλονται σε ολιγοήμερη αγωγή εξάλειψης του αποικισμού με τοπική εφαρμογή μουπιρουσίνης στους ρόθωνες: 5 ημέρες X 3.

Τα μέτρα αυτά έχουν ως αποτέλεσμα ο επιπολασμός του MRSA στην Ολλανδία να είναι μικρότερος του 1%.

Αντιμετώπιση νόσου και φορέας

Ο Bart Gordts, επικεφαλής του τμήματος Μικροβιολογίας και Ελέγχου Λοιμώξεων Γενικού Νοσοκομείου Brugge του Βελγίου, με τη σειρά του παρουσίασε την πολιτική θεραπείας όχι μόνον της νόσου από MRSA αλλά και της φορέας, τόσο των ασθενών όσο και των εργαζομένων στο χώρο της υγείας.

Αναλυτικότερα σε μη επιπλεγμένες φορείς, με έλλειψη παραγόντων κινδύνου (ανοσοκατασταλτική θεραπεία, αιμοδιάλυση), απουσία δερματικών αλλοιώσεων (έκζεμα), απουσία ξένων σωματιδίων, εφαρμόζεται τοπική θεραπεία με μουπιρουσίνη, πλύσιμο του δέρματος και των μαλλιών με σαπούνι που περιέχει χλωρεξιδίνη, καθημερινή αλλαγή του ιματισμού, με εξάλειψη αρχικά της φορέας κατά 90% των περιπτώσεων, ενώ 60% παραμένουν ελεύθεροι αποικισμού έως και 7 μήνες μετά.

Σε επιπλεγμένες φορείς από MRSA, όπως ενεργός λοίμωξη, παρουσία παραγόντων κινδύνου, άλλες εστίες φορέας εκτός των ρωθώνων επιβάλλεται η συστηματική χρήση από του στόματος συνδυασμού δύο αντιβιοτικών (Πίνακας 2).

Η ορθή χρήση των αντιβιοτικών, ως μέτρο πρόληψης της αντοχής

Ο Jan Kluytmans καθηγητής Μικροβιολογίας και Ελέγχου Λοιμώξεων στο Πανεπιστήμιο και Ιατρικό Κέντρο VU και Νοσοκομείο Amphia, Amsterdam, της Ολλανδίας, ήταν ο

Πίνακας 2. Κατάλογος αντιβιοτικών για την αντιμετώπιση φορέας MRSA.

Αντιβιοτικό Α΄	Αντιβιοτικό Β΄
Doxycycline 200 mg 1Xdaily	Πρώτης επιλογής: Rifampicin
Trimethoprim 200 mg 1Xdaily	600 mg 2Xdaily
Clindamycin 600 mg 3Xdaily	Δεύτερης επιλογής:
Clarithromycin 500 mg 2Xdaily	Fusidic acid 500 mg 3Xdaily
Ciprofloxacin 750 mg 2Xdaily	
Fusidic 500 mg 2Xdaily	



Σχήμα 1. Ο κύκλος της μείωσης της μικροβιακής αντοχής.

πρώτος ομιλητής της θεματολογίας που αφορά στην ορθολογική χρήση των αντιβιοτικών.

Στο νοσοκομειακό περιβάλλον, το οποίο εκτίθεται σε διαφορετικούς αντιμικροβιακούς παράγοντες, υπάρχει η τάση για συνεχή αύξηση των μικροβιακών στελεχών που εμφανίζουν αντοχή στα αντιβιοτικά. Ιδιαίτερα οι ΜΕΘ αποτελούν το σύνηθες περιβάλλον όπου εμφανίζονται κλώνοι ανθεκτικών στελεχών. Τα στελέχη αυτά εξαπλώνονται στη συνέχεια όχι μόνον στις νοσηλευτικές μονάδες του ίδιου νοσοκομείου, αλλά και σε άλλα νοσοκομεία και μονάδες περίθαλψης όπου μεταφέρονται οι ασθενείς.

Η αντιμικροβιακή αντοχή αφορά μεγάλο αριθμό παθογόνων βακτηρίων που απομονώθηκαν στο νοσοκομειακό περιβάλλον, όπως: μεθικιλίνη ανθεκτικοί *Staphylococcus aureus*, βανκομυκίνη ανθεκτικοί εντερόκοκκοι (VRE), *E. coli* ανθεκτικά στις κεφαλοσπορίνες τρίτης γενιάς, *Pseudomonas spp.* ανθεκτικά σε φλουοροκινολόνες και ιμιπενέμη.

Η απάντηση στο πρόβλημα της μικροβιακής αντοχής βρίσκεται:

- στην αύξηση των μέτρων ελέγχου των νοσοκομειακών λοιμώξεων,
- στη διαφύλαξη των διαθέσιμων αντιβιοτικών
- στη χρησιμοποίησή τους με σωστό τρόπο
- στην ανάπτυξη προγραμμάτων επιτήρησης και ελέγχου της χρήσης των αντιβιοτικών (Σχήμα 1).

Η μέτρηση της κατανάλωσης των αντιβιοτικών γίνεται με τον καθορισμό των ακόλουθων μονάδων μέτρησης:

DDD=(defined daily dose) ως καθοριζόμενη ημερήσια δόση ενός αντιβιοτικού ορίζεται

η συνήθης συνολική ημερησία χορηγούμενη ποσότητά του στο μέσο (ενήλικα) ασθενή.

PDD =(prescribed daily dose) ως συνταγογραφούμενη ημερήσια δόση ενός αντιβιοτικού ορίζεται η συνήθης ημερησία χορηγούμενη ποσότητά του σε τοπική χρήση στο μέσο (ενήλικα) ασθενή.

Συσχετίζεται με τον αριθμό των ασθενών που λαμβάνουν θεραπεία στο νοσοκομείο.

Η DDD χρησιμοποιείται ως μέτρο σύγκρισης και ως μέτρηση του συνολικού ποσού των χρησιμοποιούμενων αντιβιοτικών.

Η PDD είναι μέτρο για τον αριθμό των ημερών νοσηλείας που δόθηκε θεραπεία.

$DDD \text{ ανά } 1000 \text{ ασθενείς/ημέρες} = DDD \text{ του αντιβιοτικού/συνολικό αριθμό των ημερών νοσηλείας} \times 1000.$

Η καταλληλότητα της αντιμικροβιακής θεραπείας ορίζεται με τα ακόλουθα κριτήρια: τη χρήση βακτηριοκτόνων αντιβιοτικών, τη χορήγησή τους σε υψηλές συγκεντρώσεις, τη χορήγησή τους για το μικρότερο δυνατό χρονικό διάστημα.

Για την καλύτερη κατανόηση παρουσιάστηκαν τα αποτελέσματα μελέτης με αντικείμενο τον ορισμό της καταλληλότητας και ακαταλληλότητας της αντιμικροβιακής θεραπείας:

Σε έξι ανασκοπήσεις που έγιναν από το 2001 έως 2004, ο συνολικός αριθμός των ασθενών ήταν 4105 (684 περίπου ασθενείς ανά ανασκόπηση), 46% άνδρες, 16,7% με λοίμωξη κατά την εισαγωγή, 8,7% με τουλάχιστον μία νοσοκομειακή λοίμωξη.

Η καταγραφή της αντιμικροβιακής θεραπείας άρχισε το 2001 και καταγράφονταν το σκεύασμα, η οδός χορήγησης, η δοσολογία, η διάρκεια της θεραπείας.

Αποτελέσματα: 938 ασθενείς (22,9%) έλαβαν αντιμικροβιακή θεραπεία, 48 (5,1%) έλαβαν 2 αντιβιοτικά σκευάσματα, 10 (1,1%) έλαβαν 3 και πλέον αντιβιοτικά σκευάσματα, από τους 938 οι 351 έλαβαν ακατάλληλη αγωγή, από αυτούς οι 123 έλαβαν αδικαιολόγητα αντιμικροβιακή αγωγή, στους 140 ασθενείς η επιλογή του σκευάσματος ήταν λάθος, σε 88 ασθενείς ήταν σωστή η επιλογή του αντιβιοτικού αλλά λάθος η χορήγηση, για 71 ασθενείς υπήρχε ανεπαρκής πληροφόρηση, 25 ασθενείς δεν έλαβαν αγωγή αν και ήταν ενδεδειγμένη.

Συμπερασματικά η καταλληλότητα της αντιμικροβιακής θεραπείας μπορεί να καθοριστεί και αυτό δίνει την ευκαιρία για στοχευμένες παρεμβάσεις, η αποτελεσματικότητα των οποίων μπορεί να μετρηθεί με επαναλαμβανόμενο έλεγχο.

Χημειοπροφύλαξη

Ο καθηγητής Andreas Voss, επέλεξε να αναφερθεί στην αντιμικροβιακή χημειοπροφύλαξη στη χειρουργική, κι αυτό γιατί ετησίως στις ΗΠΑ γίνονται περίπου 30 εκατομμύρια χειρουργικές επεμβάσεις. Στους χειρουργημένους οι λοιμώξεις του εγχειρητικού πεδίου και η μετεγχειρητική σήψη αποτελούν σημαντικά αίτια θνητότητας και νοσηρότητας. Αρχικά αναφέρθηκε στους γενικούς κανόνες: ενδείξεις, επιλογή αντιβιοτικού, καθορισμός του χρόνου χορήγησης, διάρκεια της χορήγησης.

Οι ενδείξεις καθορίζονται από το είδος των χειρουργικών τραυμάτων που κατατάσσονται σε κατηγορίες:

α) Καθαρά: επεμβάσεις όπου δεν διανοίχτηκε η αναπνευστική, η πεπτική ή η ουροφόρος οδός, π.χ. θυρεοειδεκτομή, μαστεκτομή.

β) Δυνητικά μολυσμένα: επεμβάσεις όπου διανοίχτηκε η αναπνευστική, η πεπτική ή η ουροφόρος οδός, χωρίς να προκληθεί διασπορά μικροοργανισμών, π.χ. γαστρεκτομή, διακολπική υστερεκτομή.

γ) Μολυσμένα: επεμβάσεις κοίλων σπλάχνων με σημαντική διασπορά μικροοργανισμών, χειρουργικά τραύματα με οξεία φλεγμονή χωρίς συλλογή πύου, ανοιχτά πρόσφατα τραύματα από ατυχήματα που αντιμετωπίστηκαν εντός 4ώρου.

δ) Ρυπαρά: χειρουργικά τραύματα με σκοπό την παροχέτευση πύου, διάτρηση κοίλου σπλάχνου, παραμελημένα τραύματα >4 ώρες, μόλυνση από κοπρανώδες περιεχόμενο.

– Στα μολυσμένα και ρυπαρά τραύματα πρόκειται για επικείμενη ή εγκατεστημένη λοίμωξη, οπότε η χορήγηση αντιβιοτικών είναι θεραπευτική.

– Στα καθαρά και δυνητικά μολυσμένα τραύματα η χορήγηση αντιβιοτικών είναι προφυλακτική.

– Στα καθαρά και δυνητικά μολυσμένα τραύματα η χορήγηση αντιβιοτικών είναι προφυλακτική.

Στα καθαρά τραύματα χημειοπροφύλαξη δίδεται μόνον εκεί όπου τοποθετούνται ξένα σώματα (συνθετικά), όπως: αντικατάσταση αρθρώσεων, νευροχειρουργικά shunts, καρδιαγγειακές επεμβάσεις με τοποθέτηση προσθετικών βαλβίδων ή μοσχευμάτων.

Σε όλες τις άλλες καθαρές επεμβάσεις αρκεί η χειρουργική αντισηψία και η καλή τεχνική.

Τα δυνητικά μολυσμένα τραύματα είναι η κατ' εξοχήν κατηγορία που χρειάζεται χημειοπροφύλαξη.

Επιλογή αντιβιοτικού

Για την επιλογή του κατάλληλου αντιβιοτικού ισχύουν τα ακόλουθα κριτήρια: να είναι βακτηριοκτόνο, να μην είναι τοξικό, να έχει στενό εύρος δράσης (να καλύπτει τα κύρια μικρόβια της φυσιολογικής χλωρίδας της περιοχής), να είναι φθηνό, να είναι άλλο από αυτό που θα χρησιμοποιηθεί για θεραπευτικό σκοπό (Πίνακας 3).

Η επιλογή του να γίνεται με βάση τα δεδομένα της αντοχής των μικροβίων στο νοσοκομείο και τη χώρα, π.χ. στην Ολλανδία ο επιπολασμός του MRSA είναι μικρότερος του 1% και η αντοχή του *E. coli* <2% στις κεφαλοσπορίνες.

Δοσολογία: η άριστη δόση δεν είναι ακριβώς γνωστή, για τα περισσότερα αντιβιοτικά

Πίνακας 3. Νεότερες συστάσεις αντιμικροβιακής χημειοπροφύλαξης.

Τύπος χειρουργικής επέμβασης	Είδος αντιβιοτικού
Αρθροπλαστικής (γόνατος, ισχίου) Καρδιοαγγειακές	cefazolin or cefuroxime vancomycin, αν υπάρχει κίνδυνος για MRSA Αλλεργία σε β-λακταμικά: clindamycin or vancomycin
Υστερεκτομή	cefotetan, cefazolin, cefoxitin, cefuroxime, or ampicillin-subactam Αλλεργία σε β-λακταμικά: clindamycin+gentamycin or fluorocinolone or aztreonam metronidazole+gentamycin or fourocinolone clindamycin monotherapy
Παχέος εντέρου	neomycin+erythromycin base, neomycin+metronidazole cefotetan, cefazolin, cefoxitin+metronidazole or ampicillin-sulbactam Αλλεργία σε β-λακταμικά: clindamycin+gentamycin or fluorocinolone aztreonam metronidazole+gentamycin opr fluorocinolone

χρησιμοποιείται η θεραπευτική δοσολογία, λαμβάνεται υπόψη ο χρόνος ημίσειας ζωής (να είναι μικρός), και προσαρμόζεται η δοσολογία στους παχύσαρκους ασθενείς.

Πότε δίδεται η χημειοπροφύλαξη;

Η καλύτερη ώρα έναρξης είναι 120-30 λεπτά πριν τη χειρουργική τομή ή κατά την εισαγωγή στην αναισθησία, εφόσον η χορήγηση γίνεται ενδοφλεβίως (όπου υπάρχει ο κίνδυνος εγκατάστασης των μικροβίων, οπότε και θέλουμε υψηλές συγκεντρώσεις του αντιμικροβιακού παράγοντα στο αίμα και τους ιστούς).

Διάρκεια: η προφύλαξη συμπληρώνεται με άλλες 1-2 δόσεις σε χρονικά διαστήματα συμβατά με τη φαρμακοκινητική του αντιβιοτικού (6, 8, 12 ώρες μετά). Σήμερα τείνει να εκλείψει η μετεγχειρητική χορήγηση, προτιμάται η εφ' άπαξ δόση και όχι περισσότερο από 24 ώρες. Με τη μικρή διάρκεια χορήγησης εξαλείφεται ο κίνδυνος ανεπιθύμητων ενεργειών και τοξικότητας, κυρίως δε ο κίνδυνος ανάπτυξης αντοχής των μικροβίων. Αν η επέμβαση διαρκέσει περισσότερο από 3 ώρες, η 2η δόση δίδεται στο χειρουργείο.

Λοιμώξεις στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας

Ο Marc Bonten, καθηγητής Μοριακής Επιδημιολογίας και Ελέγχου Λοιμώξεων στο τμήμα Κλινικής Μικροβιολογίας του Πανεπιστημιακού Ιατρικού Κέντρου της Ουτρέχτης, επικεντρώθηκε στην πνευμονία που σχετίζεται με αναπνευστήρα (VAP) που αποτελεί τη δεύτερη συχνότερη νοσοκομειακή λοίμωξη στη ΜΕΘ.

Ως πνευμονία του αναπνευστήρα ορίζεται η πνευμονία που αναπτύσσεται σε διασωληνωμένους ασθενείς τουλάχιστον 48 ώρες μετά την εισαγωγή του ασθενούς της ΜΕΘ σε μηχανική αναπνοή, αφορά το 9-27% των διασωληνωμένων ασθενών, έχει υψηλή νοσηρότητα και θνητότητα.

Ο υψηλότερος κίνδυνος ανάπτυξης VAP είναι την πρώτη εβδομάδα (~3% ανά ημέρα). Η πνευμονία του αναπνευστήρα διακρίνεται σε πρόωμη όταν εκδηλώνεται τις πρώτες 48-72 έως 96 ώρες και όψιμη όταν εκδηλώνεται πέραν των 96 ωρών.

Τα συχνότερα μικροβιακά αίτια της πνευμονίας στους ασθενείς της ΜΕΘ είναι:

Στην πρόωγη εκδήλωση VAP: *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, MSSA και ευαίσθητα Gram(-) βακτηρίδια (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*).

Στην όψιμη εκδήλωση της VAP: *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, MRSA, *Acinetobacter* spp, πολυανθεκτικά Gram(-) βακτηρίδια.

Η προέλευσή τους είναι είτε ενδογενής, από μικρόβια που αποικίζουν το στοματοφάρυγγα του ασθενούς, είτε εξωγενής, από τα μη επαρκώς καθαρά χέρια του προσωπικού, μη αποστειρωμένα τμήματα αναπνευστικών συσκευών, μολυσμένα διαλύματα.

Ως παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη VAP αναφέρονται η κατάργηση της ανατομικής ακεραιότητας κατά τη διασωλήνωση, η καταστολή της βλεννοκροσσωτής κάθαρσης, η ανάπτυξη μικροβιακού βιοφίλμ, η αύξηση του γαστρικού pH λόγω της φαρμακευτικής αγωγής και της γαστρικής υποάρδευσης, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη μικροβίων και γαστρικού αποικισμού.

Διάγνωση.

Όταν υπάρχει κλινική υποψία πνευμονίας VAP (πυρετός, λευκοκυττάρωση, πυώδεις εκκρίσεις, νέο ή εξελισσόμενο διήθημα στην αντινογραφία θώρακα), αποστέλλονται στο μικροβιολογικό εργαστήριο ποσοτική ή ημιποσοτική καλλιέργεια εκκρίσεων του κατωτέρου αναπνευστικού: ενδοτραχειακές εκκρίσεις, προστατευμένη βούρτσα, βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα. Ακολουθεί προκαταρκτική απάντηση από το εργαστήριο (Gram χρώση) και αρχίζει εμπειρική θεραπεία σύμφωνα με τα μικροβιολογικά δεδομένα του νοσοκομείου, η οποία τροποποιείται μετά την επιβεβαιωτική απάντηση θετικής καλλιέργειας από το εργαστήριο. Επανεκτίμηση σε 3 ημέρες με βάση τα αποτελέ-

σματα των ημιποσοτικών καλλιεργειών και την κλινική ανταπόκριση του ασθενούς.

Πρόληψη της πνευμονίας.

- Μη επεμβατικός μηχανικός αερισμός-αποφυγή διασωλήνωσης.
- Αποσωλήνωση το συντομότερο δυνατόν.
- Ελάττωση της διάρκειας του μηχανικού αερισμού.
- Στοματοτραχειακή (μη ρινική) διασωλήνωση.
- Συνεχής αναρρόφηση υπογλωττιδικών εκκρίσεων.
- Αποφυγή επαναδιασωλήνωσης.
- Όχι ύπτια αλλά ημικαθιστή θέση 30-45°.
- Προτιμητέα η εντερική από την παρεντερική σίτιση.
- Γαστροπροστασία - χρήση σουκραλφάτης αντί H₂ ανταγωνιστών ή αντιόξινων.
- Στοματική υγιεινή με διαλύματα χλωρεξιδίνης.
- Πίεση του cuff > 20 cmH₂O.
- Εκπαίδευση του προσωπικού, πλύσιμο των χεριών με αλκοολούχα διαλύματα.
- Μικροβιολογική επιτήρηση: εφαρμόζεται η λήψη ρινικού επιχρίσματος για φορέα MRSA σε όσους ασθενείς εισέρχονται στη ΜΕΘ, καθώς και ορθικό επίχρισμα για φορέα ESBL (+), KPC (+) *K. pneumoniae* για τη λήψη προστατευτικών μέτρων απομόνωσης και διαχείρισης αυτών των ασθενών.

Διεύθυνση Επικοινωνίας:

E. Περιβολιώτη

Μικροβιολογικό Εργαστήριο

Γ.Ν. «Ευαγγελισμός»

Τηλ.: 210 7217704

ΜΕΛΕΤΗ

ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΚΑΙ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΔΕΡΜΑΤΟΦΥΤΩΣΕΩΝ ΣΤΗ ΝΟΤΙΟΔΥΤΙΚΗ ΕΛΛΑΔΑ

Μ. ΤΣΟΥΜΑΝΗ¹, Ε. ΓΕΛΑΣΤΟΠΟΥΛΟΥ², ΕΛ. ΝΤΙΑΖ¹, Β. ΣΤΑΜΟΥΛΗ¹,
ΧΡ. ΜΠΑΡΤΖΑΒΑΛΗ¹, Σ. ΒΑΜΒΑΚΟΠΟΥΛΟΥ¹, Γ. ΔΗΜΗΤΡΑΚΟΠΟΥΛΟΣ¹,
Ε.Δ. ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΥ¹, Μ. ΧΡΙΣΤΟΦΙΔΟΥ¹

Οι δερματοφυτώσεις είναι επιπολής μυκητιάσεις του δέρματος και των εξαρτημάτων του που οφείλονται στα τρία γένη των δερματοφυτών, τα *Microsporum*, *Trichophyton* και *Epidermophyton*. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε το είδος και η συχνότητα των ειδών δερματοφυτών που απομονώθηκαν από ασθενείς με κλινική ένδειξη δερματοφύτωσης κατά τη διάρκεια δεκαοκτώ ετών, καθώς και η μεταβολή της συχνότητας και της κατανομής τα τελευταία εννέα χρόνια. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι δερματοφυτώσεις μειώνονται σημαντικά τα τελευταία εννέα χρόνια από 16,2% σε 9,6%. Το είδος *Microsporum canis* είναι το συχνότερο αίτιο δερματοφυτώσεων στην περιοχή της Νοτιοδυτικής Ελλάδος. Εντούτοις, κατά τη δεύτερη χρονική περίοδο παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στη συχνότητα απομόνωσής του, ενώ παράλληλα αυξήθηκε σημαντικά η συχνότητα απομόνωσης των *T. rubrum* και *T. mentagrophytes*. Οι δερματοφυτώσεις είναι συχνότερες στα παιδιά, τα οποία συνήθως εμφανίζουν δερματοφύτωση του τριχωτού της κεφαλής (*tinea capitis*) με συχνότερο αίτιο το *M. canis*, σε σχέση με τους ενήλικες. Το συχνότερο αίτιο των ονυχομυκητιάσεων (*tinea unguium*) είναι το *T. rubrum*.

(Λέξεις ευρετηρίου: δερματοφυτώσεις, *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum*).

Εισαγωγή

Οι δερματοφυτώσεις είναι επιπολής μυκητιάσεις του δέρματος και των εξαρτημάτων του οφειλόμενες σε ομάδα μυκήτων, των δερματοφυτών. Κύριο χαρακτηριστικό τους είναι ότι δεν προσβάλλουν ζώντα ιστό αλλά αποικοδο-

μούν την κερατίνη στιβάδα. Τα δερματοφύτα τρέφονται εκλεκτικά με την κερατίνη και ως εκ τούτου προσβάλλουν ανατομικές περιοχές που περιέχουν κερατίνη, όπως η επιδερμίδα, οι όνυχες και οι τρίχες. Εκκρίνουν ένζυμα, τις κερατινάσες, που διασπούν την κερατίνη, και τις ελαστάσες, που διευκολύνουν τη διείσδυση των δερματοφυτών σε βαθύτερα στρώματα της επιδερμίδας¹. Εμφανίζουν παγκόσμια κατανομή, απαντώνται όμως συχνότερα σε τροπικές

¹Εργαστήριο Μικροβιολογίας, ²Εργαστήριο Υγιεινής, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστημίου Πατρών, Πάτρα.

και υποτροπικές χώρες όπου η αυξημένη θερμοκρασία και η υγρασία υποβοηθούν την ανάπτυξή τους. Για πολλές χώρες η συχνότητα των δερματοφυτώσεων αποτελεί δείκτη των συνθηκών υγιεινής που επικρατούν και κατ' επέκταση του βιοτικού επιπέδου του πληθυσμού^{1,2}.

Τα δερματόφυτα ταξινομούνται σε τρία γένη ανάλογα με το σχήμα των μακροκονιδίων που παράγουν. Το γένος *Microsporum* παράγει ατρακτοειδή μακροκονίδια, το *Trichophyton* κυλινδρικά και το *Epidermophyton* ροπαλοειδή, αντίστοιχα. Στα συγκεκριμένα τρία γένη περιλαμβάνονται περίπου 39 παθογόνα είδη. Άλλοι τρόποι ταξινόμησης των δερματοφύτων είναι σύμφωνα με τη δυνατότητα παραγωγής αντιβιοτικών ή ενζύμων, όπως η ουρεάση, η αλληλουχία του DNA και η σύνθεση πρωτεϊνών³.

Ανάλογα με την πηγή απομόνωσης τα δερματόφυτα χωρίζονται σε ζωόφιλα, που μολύνουν κυρίως ζώα όπως γάτες και σκύλους, σε ανθρωπόφιλα, μετά από επαφή του ανθρώπου με τα σπόρια του μύκητα, και σε γεωφιλα είδη που ζουν φυσιολογικά στο έδαφος και αποτελούν τη σπανιότερη αιτία μόλυνσης του ανθρώπου^{3,4}. Κλινικές παρατηρήσεις δείχνουν ότι η λοίμωξη από ζωόφιλα δερματόφυτα προκαλεί εντονότερη φλεγμονώδη αντίδραση σε σχέση με τη λοίμωξη από ανθρωπόφιλα είδη. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα ζωόφιλα δερματόφυτα παράγουν περισσότερες πρωτεΐνες στην περιοχή των βλαβών^{4,5}.

Τα δερματόφυτα περιορίζονται στην πρόκληση επιπολής μυκητιάσεων λόγω της παρουσίας στο δέρμα διαφόρων παραγόντων της μη ειδικής ανοσίας που εμποδίζουν τη διείσδυση των δερματοφύτων στις κατώτερες στιβάδες του δέρματος. Τέτοιοι παράγοντες είναι η μη κεκορεσμένη φερριτίνη του δέρματος η οποία δεσμεύει τον ελεύθερο σίδηρο, στοιχείο απαραίτητο για την ανάπτυξη των δερματοφύτων, ενώ τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και οι σφίγγοινες του σμήγματος συμπληρώνουν τη μη ειδική ανοσία έναντι των δερματοφύτων⁵.

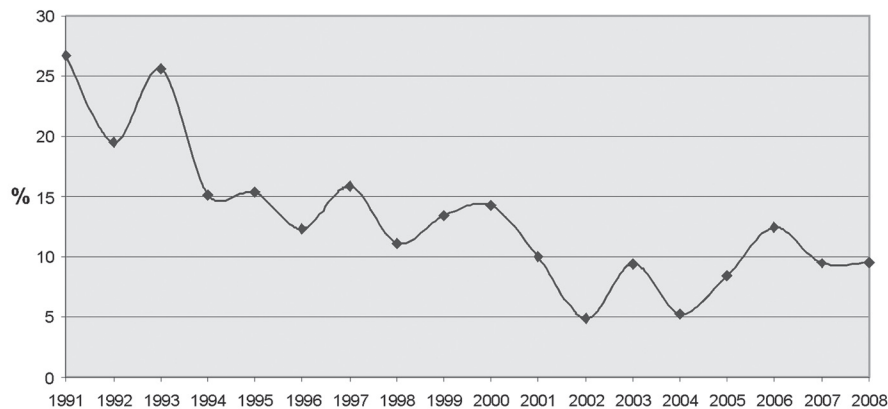
Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκαν τα είδη των δερματοφύτων και η συχνότητα απο-

μόνωσης από εξωτερικούς ασθενείς με κλινική υποψία δερματοφύτωσης τα τελευταία δεκαοκτώ χρόνια. Επίσης, μελετήθηκε η μεταβολή της συχνότητας και της κατανομής των ειδών δερματοφύτων κατά το χρονικό διάστημα 2000-2008 σε σχέση με τα προηγούμενα εννέα χρόνια (1991-1999).

Υλικά και Μέθοδοι

Κατά το χρονικό διάστημα δέκα οκτώ ετών (1991-2008), στο Μικροβιολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Πατρών (ΠΓΝΠ) ελήφθησαν δείγματα από 5971 εξωτερικούς ασθενείς με κλινική ένδειξη δερματοφύτωσης.

Τα δείγματα αφορούσαν λέπια δέρματος, τρίχες, κυρίως από το τριχωτό της κεφαλής, και ρινίσματα ονύχων. Σε όλα τα δείγματα έγινε άμεση μικροσκοπική εξέταση με μεγέθυνση X 100 και X 400. Στα λέπια δέρματος και στα ρινίσματα ονύχων προηγήθηκε διαύγαση με 30% KOH με ή χωρίς κυανούν της λακτοφαινόλης. Στα δείγματα των τριχών δεν εφαρμόστηκε η διαδικασία της διαύγασης με KOH για να μην καταστραφεί η κατανομή των σπορίων του μύκητα, σε σχέση με την τρίχα, ώστε να μπορεί να εκτιμηθεί αν πρόκειται για ενδότριχο ή εξώτριχο δερματόφυτο. Γενικά, η άμεση μικροσκόπηση δεν έχει μεγάλη ευαισθησία και δεν επιτρέπει την αναγνώριση του είδους των δερματοφύτων. Ακολούθησε καλλιέργεια όλων των δειγμάτων σε Sabouraud agar με chloramphenicol 0,005% και cycloheximide 0,5% (Mycobiotic agar) και σε Dermatophyte Test Medium (DTM) σε θερμοκρασία δωματίου για 15-21 ημέρες. Η άμεση μικροσκόπηση και η επακόλουθη καλλιέργεια για την τυποποίηση των δερματοφύτων αναφέρεται ως «χρυσός» διαγνωστικός κανόνας των δερματοφυτώσεων⁵. Για την τυποποίηση των δερματοφύτων σε επίπεδο είδους, μελετήθηκαν τα μικροσκοπικά χαρακτηριστικά της αποικίας, τα μικροσκοπικά χαρακτηριστικά των δερματοφύτων, ενώ ελέγχθηκε και η δοκιμασία υδρόλυσης της ουρείας.



Διάγραμμα 1. Εκατοστιαία αναλογία δερματοφυτώσεων ανά έτος.

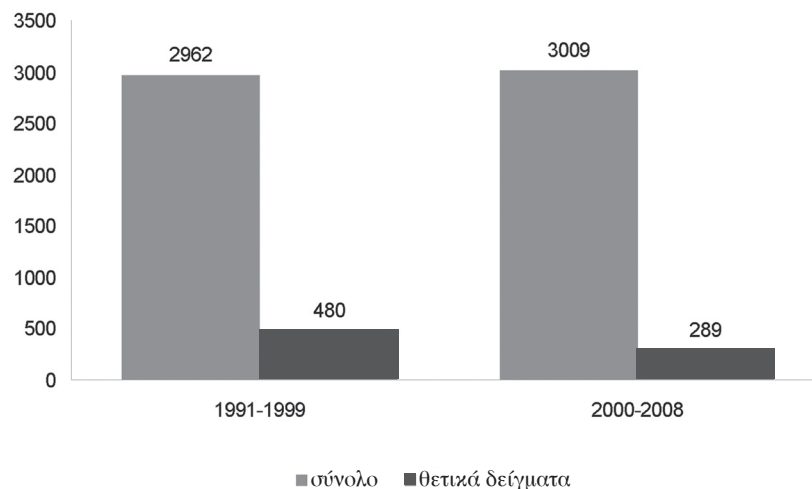
Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της περιγραφικής στατιστικής (πίνακες συχνοτήτων, δοκιμασία Χ²). Οι έλεγχοι μηδενικών υποθέσεων πραγματοποιήθηκαν στο επίπεδο σημαντικότητας 0,05. Για όλες τις στατιστικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό SPSS v. 16.0.

Αποτελέσματα

Από τους 5971 ασθενείς με πιθανή δερματοφύτωση, οι 769 (12,9%) παρουσίασαν θετι-

κή καλλιέργεια (μία καλλιέργεια ανά ασθενή) για δερματόφυτα. Οι θετικές για δερματόφυτα καλλιέργειες προέρχονταν από 367 (47,7%) άνδρες, ενώ οι 402 (52,3%) από γυναίκες. Η συχνότητα των δερματοφυτώσεων κάθε έτους παρουσιάζεται αναλυτικά στο Διάγραμμα 1.

Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν σε δύο ίδιας διάρκειας χρονικές περιόδους κατά τις οποίες εξετάστηκαν σχεδόν ισάριθμοι ασθενείς. Συγκεκριμένα, κατά τη διάρκεια της περιόδου 1991-1999, από τα 2962 εξετασθέντα άτομα, θετικές καλλιέργειες είχαν τα 480 (16,2%), ε-



Διάγραμμα 2. Σύνολο εξετασθέντων ασθενών και θετικών για δερματοφύτωση δειγμάτων ανά χρονική περίοδο.

Πίνακας 1. Θετικές καλλιέργειες δειγμάτων ανά χρονική περίοδο.

	1991-1999	2000-2008
Δέρμα (%)	317 (66)	178 (61,5)
Όνυχες (%)	100 (21,9)	83 (28,7)
Τρίχες (%)	63 (12,1)	28 (9,7)
Σύνολο	480 (100)	289 (100)

νώ κατά το χρονικό διάστημα 2000-2008, από τα 3009 άτομα, δερματοφύτωση είχαν τα 289 (9,6%) (Διάγραμμα 2). Τα αποτελέσματα δείχνουν στατιστικά σημαντική μείωση (16,2% vs 9,6%, $p < 0.001$) των δερματοφυτώσεων τα τελευταία εννέα έτη.

Από τα 480 θετικά δείγματα της πρώτης περιόδου, τα 317 ήσαν λέπια δέρματος, τα 100 ρινίσματα ονύχων, ενώ τα 63 ήσαν τρίχες. Από τα 289 θετικά δείγματα της δεύτερης περιόδου οι αριθμοί ήσαν 178, 83 και 28 αντίστοιχα (Πίνακας 1).

Τα είδη των δερματοφυτών που απομονώθηκαν κατά τις δύο χρονικές περιόδους και η συχνότητά τους παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 2 και στο Διάγραμμα 3. Το συχνότερο δερματόφυτο και στις δύο χρονικές περιόδους αντίστοιχα είναι το *Microsporum canis*. Εντούτοις, κατά τη δεύτερη χρονική περίοδο παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση (58,5% vs 45,7%, $p < 0.001$) με παράλληλη στατιστικά σημαντική αύξηση της απομόνωσης του *Trichophyton rubrum* (35% vs 43,6%, $p < 0.001$) και του *T. mentagrophytes* (4% vs 9,7%, $P < 0.001$). Άλλα είδη δερματοφυτών που απομονώθηκαν με πολύ μικρή συχνότητα ($\leq 0,8\%$) είναι τα *Epidermophyton floccosum*, *T. tonsurans*, *T. violaceum* και *M. gypseum*.

Όσον αφορά το φύλο των ατόμων που εξετάστηκαν, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (47,7% vs 52,3%). Από τις 769 θετικές καλλιέργειες, οι 724 (94,1%) προέρχονταν από δείγματα ενηλίκων και οι 45 (5,9%) από

Πίνακας 2. Συχνότητα και κατανομή των δερματοφυτών ανά είδος και χρονική περίοδο.

Είδος	1991-1999 Αριθμός (%)	2000-2008 Αριθμός (%)
<i>M. canis</i>	281 (58,5) *	132 (45,7) *
<i>T. rubrum</i>	167 (35) *	126 (43,6) *
<i>T. mentagrophytes</i>	19 (4) *	28 (9,7) *
<i>E. floccosum</i>	4 (0,8)	2 (0,7)
<i>T. tonsurans</i>	4 (0,8)	–
<i>T. violaceum</i>	2 (0,4)	1 (0,3)
<i>M. gypseum</i>	3 (0,6)	–
Σύνολο	480	289

* $p < 0.001$

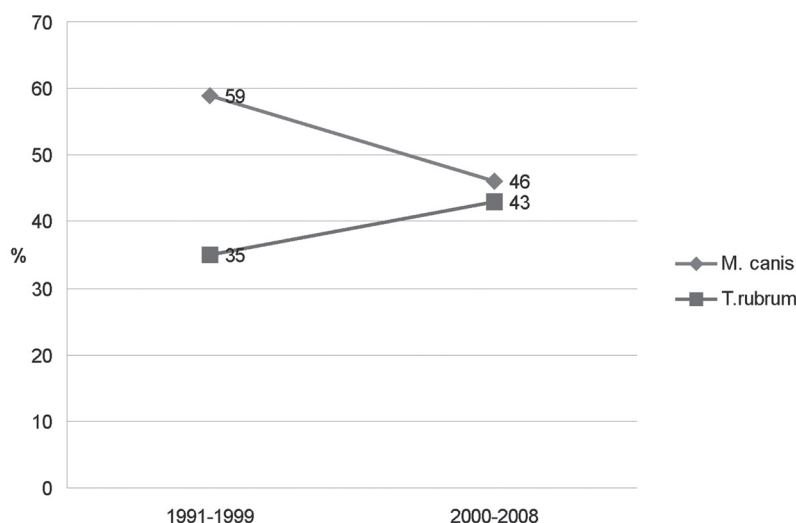
M = *Microsporum*, T = *Trichophyton*, E = *Epidermophyton*.

δείγματα παιδιών. Από τη στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε φαίνεται ότι το πιο συχνό αίτιο δερματοφύτωσης στα παιδιά είναι το *M. canis* με στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τους ενήλικες (86,7% vs 51,7%, $p < 0.001$), ενώ το *T. rubrum* απομονώνεται από τα παιδιά σε πολύ μικρότερο ποσοστό από ό,τι στους ενήλικες (39,9% vs 8,9%, $p < 0.001$) (Πίνακας 3). Η συχνότητα δερματοφυτώσεων από *T. mentagrophytes* σε παιδιά και ενήλικες δεν διαφέρει σημαντικά (4,4% vs 6,2%).

Το κλινικό δείγμα που καλλιιεργήθηκε σε κάθε περίπτωση και η κατανομή των ειδών δερματοφυτών που αναπτύχθηκαν φαίνονται αναλυτικά στον Πίνακα 4, για τις δύο χρονικές περιόδους που εξετάστηκαν.

Συζήτηση

Οι δερματοφυτώσεις αποτελούν συχνές λοιμώξεις του δέρματος και των εξαρτημάτων του. Μερικά είδη δερματοφυτών εμφανίζουν παγκόσμια γεωγραφική κατανομή, ενώ άλλα περιορισμένη. Το κλίμα, η παθογένεια των ειδών, η πρόσβαση στο σύστημα υγείας, η ανοσολογική επάρκεια των ξενιστών και η μετακίνηση των πληθυσμών είναι οι κυριότεροι λόγοι



Διάγραμμα 3. Εκατοστιαία αναλογία των δύο συχνότερων ειδών δερματοφυτών κατά τις δύο χρονικές περιόδους αντίστοιχα.

που η επιδημιολογία των δερματοφυτώσεων μεταβάλλεται από περιοχή σε περιοχή⁶. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το σπάνιο είδος *T. rubrum* var. *raubitschekii*⁷, το οποίο εμφανιζόταν σχεδόν αποκλειστικά στην Αφρική, Ασία και Νότια Αμερική, ενώ πρόσφατα αναφέρθηκαν επτά περιπτώσεις στη Γερμανία. Τα δερματόφυτα προκαλούν τις συχνότερες μυκητιάσεις στον άνθρωπο, διότι έχουν δυνατότητα να μολύνουν υγιή, ανοσοεπαρκή άτομα με πύλη εισόδου το δέρμα. Μελέτες που έχουν γίνει στην Ελλάδα δείχνουν ότι τα συχνότερα απομονωθέντα είδη είναι τα *M. canis*, *T. rubrum* και *T. mentagrophytes*^{8,9,10}.

Στην παρούσα μελέτη έγινε σύγκριση της κατανομής των απομονωθέντων ειδών δερματοφυτών μεταξύ δύο μεγάλων χρονικών περιόδων (1991-1999 και 2000-2008). Παρατηρήθηκε μεταβολή της κατανομής, όπως επίσης και σημαντική μείωση στη συχνότητα των δερματοφυτώσεων από 16,5% σε 9,6%, αντίστοιχα. Παρόμοια μείωση αφορά και άλλες περιοχές της Ελλάδος⁸. Η βελτίωση του βιοτικού επιπέδου και των συνθηκών υγιεινής την τελευταία δεκαετία φαίνεται να συμβάλλει στο συγκε-

κριμένο αποτέλεσμα. Στην παρούσα εργασία φαίνεται, επίσης, ότι πρώτο κατά σειρά συχνότητας αίτιο δερματοφύτωσης στην περιοχή της Νοτιοδυτικής Ελλάδος είναι το *M. canis* (54%) και ακολουθεί το *T. rubrum* (38%). Το *M. canis* είναι ζωόφιλο δερματόφυτο και απαντάται στο τρίχωμα κυρίως της γάτας, ανεξαρτήτως εάν νοσεί ή όχι. Αποτελεί το κύριο αίτιο δερματοφύτωσης του τριχωτού της κεφαλής παιδιών αλ-

Πίνακας 3. Κατανομή των ειδών δερματοφυτών σε παιδιά και ενήλικες.

	Παιδιά (%)	Ενήλικες (%)
<i>M. canis</i>	39 (86,7) *	374 (51,7) *
<i>T. rubrum</i>	4 (8,9) *	289 (39,9) *
<i>T. mentagrophytes</i>	2 (4,4)	45 (6,2)
Σύνολο	45	708

*p<0.001

M=Microsporum, T=Trichophyton

Πίνακας 4. Συχνότητα και κατανομή των δερματοφυτών ανά είδος, κλινικό υλικό και χρονική περίοδο.

Είδος	1991-1999			2000-2008		
	Δέρμα (%)	Τρίχες (%)	Όνυχες (%)	Δέρμα (%)	Τρίχες (%)	Όνυχες (%)
<i>M. canis</i>	232 (73,2)	49 (77,7)	0 (0)	111 (62,4)	21 (75)	0 (0)
<i>T. rubrum</i>	76 (24)	1 (1,6)	90 (90)	50 (28,1)	4 (14,2)	72 (86,7)
<i>T. mentagrophytes</i>	0 (0)	12 (19)	7 (7)	15 (8,4)	3 (10,7)	10 (12)
<i>E. floccosum</i>	4	0	0	1	0	1
<i>T. tonsurans</i>	1	0	3	0	0	0
<i>T. violaceum</i>	2	0	0	1	0	0
<i>M. gypsum</i>	2	1	0	0	0	0
Σύνολο	317	63	100	178	28	83

M= Microsporum, T= Trichophyton, E= Epidermophyton

λά και του κορμού σπανιότερα. Απομονώνεται συχνά στην Ευρώπη, κυρίως στις μεσογειακές χώρες¹¹. Σύμφωνα με παλαιότερη μελέτη του εργαστηρίου μας, το *M. canis* αποτελούσε το συχνότερο δερματόφυτο στην περιοχή της Νοτιοδυτικής Ελλάδος την πενταετία 1991- 1995¹². Εντούτοις, στην παρούσα εργασία παρατηρείται σημαντική μείωση της συχνότητας απομόνωσης του *M. canis* τα τελευταία εννέα χρόνια, παράλληλα με σημαντική αύξηση απομόνωσης του *T. rubrum* καθώς και του *T. mentagrophytes*.

Το ανθρωπόφιλο δερματόφυτο *T. rubrum* προσβάλλει κυρίως το δέρμα και τους όνυχες και σπανιότερα ανατομικές περιοχές που φέρουν τρίχες, όπως το τριχωτό της κεφαλής και το γένειο. Αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα δερματόφυτα στη χώρα μας, αλλά και σε παγκόσμιο επίπεδο, καθώς είναι το κυριότερο αίτιο της ονυχομυκητίασης (92%), της δερματοφύτωσης των μηρογεννητικών πτυχών (84%), και των πελμάτων (50%)⁵.

Τα 45 παιδιατρικά περιστατικά αφορούσαν δερματοφύτωση του τριχωτού της κεφαλής (tinea capitis) με συχνότερο αίτιο το *M. canis* (86,7%). Η εκατοστιαία αναλογία απομόνωσης του *M. canis* στην περιοχή της Νοτιοδυτικής Ελλάδος είναι από τις υψηλότερες στην Ευρώ-

πη. Παρόμοια ποσοστά έχουν αναφερθεί από περιοχές της Ιταλίας (90,5%) και της Βοσνίας-Ερζεγοβίνης (90,5%). Στις αρχές του προηγούμενου αιώνα, αίτια της δερματοφύτωσης του τριχωτού της κεφαλής στις μεσογειακές χώρες ήταν τα είδη *T. tonsurans* και *T. violaceum*. Τα είδη *M. canis* και *M. audouinii* επικρατούσαν στη Βόρεια Ευρώπη, ενώ στην Ανατολική Ευρώπη η συγκεκριμένη δερματοφύτωση προεκαλείτο κυρίως από το είδος *T. schoenleinii*¹³. Το 1998 πραγματοποιήθηκε πολυκεντρική μελέτη από 19 ευρωπαϊκές χώρες η οποία έδειξε ότι, μολονότι υπάρχει αύξηση των ανθρωπόφιλων ειδών, το *M. canis* παρέμενε το συχνότερο αίτιο δερματοφύτωσης του τριχωτού της κεφαλής¹⁴. Σήμερα, οι αιτιολογικοί παράγοντες της δερματοφύτωσης του τριχωτού της κεφαλής διαφέρουν από χώρα σε χώρα, και από περιοχή σε περιοχή της ίδιας χώρας. Σε μελέτη που έγινε στο Ιράν και αφορούσε μόνο παιδιά, βρέθηκε ότι η συχνότερη κλινική μορφή είναι η δερματοφύτωση του τριχωτού της κεφαλής, ενώ ακολουθούν η δερματοφύτωση του κορμού, του προσώπου, και σε μικρότερο ποσοστό των χεριών. Η tinea capitis αποτελεί σοβαρή λοίμωξη και δύναται να πάρει τη μορφή μικροεπιδημίας σε χώρους αυξημένου συγχρωτισμού, όπως τα

σχολεύα, μεταδιδόμενη από παιδί σε παιδί. Εμφανίζεται σπάνια στους ενήλικες. Στα παιδιά, που ως γνωστό το σμήγμα έχει χαμηλότερη συγγέντρωση λιπαρών οξέων με αντιμυκητιασική δράση¹⁵, παρατηρείται συχνότατα. Στην Ελλάδα και Γερμανία το κυρίως υπεύθυνο είδος δερματοφυτώσεως του τριχωτού της κεφαλής παιδιών είναι το *M. canis*. Το συγκεκριμένο είδος ανήκει στα εξώτριχα, τα αρθροκονιδία του αναπτύσσονται έξω από την τρίχα, ενώ η τρίχα καταστρέφεται. Η υψηλή συχνότητα του *M. canis* μπορεί να αποδοθεί στην αύξηση των κατοικίδιων ζώων και ειδικότερα στις γάτες, καθώς και άλλων αδέσποτων ζώων. Τα ενδότριχα είδη *T. tonsurans* και *T. violaceum* αναπτύσσονται αρθροκονιδία τους μέσα στη τρίχα, ενώ η τρίχα καταστρέφεται. Τα συγκεκριμένα είδη είναι υπεύθυνα για τη *tinea capitis* στη Βρετανία, ΗΠΑ, Καναδά και Τουρκία^{16,17}. Κλινικά, η δερματοφυτώση του τριχωτού της κεφαλής συνοδεύεται από ερυθριματώδεις βλατίδες στο δέρμα γύρω από κάθε τρίχα καθώς και φλεγμονή του θυλάκου των τριχών. Τελικά οι τρίχες θραύονται, αποπίπτουν και δημιουργείται αλωπεκία¹⁸.

Οι κύριοι αιτιολογικοί παράγοντες των ονυχομυκητιάσεων ανήκουν σε δύο ομάδες μυκήτων, τα δερματόφυτα (πρωτοπαθής) και τους βλαστομύκητες του γένους *Candida* (περιονυχία). Στην παρούσα εργασία, το συχνότερο δερματόφυτο, αίτιο ονυχομυκητιάσεως, είναι το *T. rubrum* και ακολουθεί το *T. mentagrophytes*. Το εύρημα συμφωνεί και με άλλες αναφορές από την Ελλάδα, καθώς και από την Αλγερία, το Ιράν, την Ιταλία, την Πολωνία και τη Σλοβενία^{19,20,21}. Οι δερματοφυτώσεις των ονύχων παρουσιάζουν αύξηση τις τελευταίες δεκαετίες στις ανεπτυγμένες χώρες. Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση από 21% σε 26% τα τελευταία εννέα χρόνια. Η συχνότητά τους αυξάνεται με την ηλικία, ενώ σπάνια εμφανίζονται στα παιδιά^{20,21}. Τα συγκεκριμένα ευρήματα παρατηρήθηκαν και στην παρούσα μελέτη, καθώς από τα 45 παιδιατρικά περιστατικά κανένα δεν αφορούσε τους όνυχες.

Πιθανή εξήγηση είναι ότι οι όνυχες των παιδιών μεγαλώνουν γρηγορότερα, με αποτέλεσμα να απομακρύνονται έγκαιρα οι παθογόνοι παράγοντες²².

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας φαίνεται ότι το συχνότερο αίτιο δερματοφυτώσεων στην περιοχή της Νοτιοδυτικής Ελλάδος είναι το *M. canis* (51%) με σημαντική μείωση στη συχνότητα απομονώσεως κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών. Για τον περιορισμό και τον έλεγχο των δερματοφυτώσεων απαιτείται σωστή αντιμετώπιση των νοσούντων ατόμων, καθώς και των ζώων. Στο πλαίσιο της πρόληψης έχουν ήδη παρασκευαστεί και χρησιμοποιούνται εμβόλια για τα ζωόφιλα δερματόφυτα, όχι όμως και για τα ανθρωπόφιλα είδη που τείνουν να αποτελέσουν τα κυριότερα αίτια δερματοφυτώσεων σε παγκόσμιο επίπεδο⁵.

Εκτεταμένη έρευνα λαμβάνει χώρα παγκοσμίως για τη θεραπεία των δερματοφυτώσεων, καθώς η έγκαιρη διάγνωση και η αποτελεσματική θεραπεία, μπορεί να περιορίσουν τη μετάδοση και τη συχνότητα των συγκεκριμένων λοιμώξεων.

Διεύθυνση Επικοινωνίας:

Μυρτώ Χριστοφίδου

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Εργαστήριο Μικροβιολογίας

Ιατρικό Τμήμα

Πανεπιστήμιο Πατρών

Πόν - Πάτρα 26500

e-mail: christof@med.upatras.gr

Τηλ. 0030 2610 997632 / 999660

Fax 0030 2610 994922

Summary

M. TSOUMANI¹, E. JELASTOPULU²,

E. DIAZ¹, V. STAMOULI¹,

C. BARTZAVALI¹, S. VAMVAKOPOULOU¹, G.

DIMITRACOPOULOS¹,

E.D. ANASTASSIOU¹, M. CHRISTOFIDOU¹

Changes in frequency and distribution of dermatophytoses in South-Western Greece

¹Department of Microbiology, ²Department of Public Health,
School of Medicine, University of Patras, Rion,
Patras
Applied Clinical Microbiology

Dermatophytoses are superficial mycoses of skin caused by keratinophilic fungi called dermatophytes. They infect structures rich in keratin such as skin, hair and nails. They belong to three genera, based on the shape of macrokonidia they produce: Microsporum, Trichophyton and Epidermophyton. Their incidence and epidemiologic characteristics vary on different regions of the world and depend on life style and climatic conditions. Diagnosis requires laboratory tests including collection of samples treated by KOH and direct examination under light microscopy. Samples are also inoculated on to Mycobiotic agar and Dermatophyte Test Medium. Identification of dermatophytes is based on macroscopic and microscopic colony characteristics. Treatment of dermatophytosis is based on local or systemic antifungals. The aim of the present study was to investigate the distribution and etiologic agents of superficial mycoses in outpatients of the University General Hospital of Patras, Greece, during the last 18 years. Out of 5971 outpatients there were found 769 (12.87%) dermatophyte isolations (one per patient). The prevalence of dermatophytoses decreased from 16.2% during the period 1991-1999 as compared to 9.6% during last decade. Microsporum canis is the most frequent dermatophyte in the region of South-western Greece, although its isolations decrease the last period. Isolation of T. rubrum during the last decade increased. The most common form of dermatophytosis among children is tinea capitis due to M. canis. The main etiologic agent of tinea unguium is T. rubrum (81%).

(Key words: Dermatophytosis, tinea, Microsporum canis, Trichophyton rubrum).

1. Ellis D, Davis St, Alexiou H, Handke R, Batley R. Description of Medical Fungi 2007 (second Ed), 2007 The University of Adelaide.
2. Weitzman R and Summerbell C. The dermatophytes. Clinical Microbiology 1995, 8: 240-245.
3. Clayton Y and Midgley G. Medical Mycology - Identification of agents of superficial mycoses, IRL press, 1989, Chapter 4, p.65-95.
4. Clayton Y and Midgley G. Medical Mycology pocket pictures guide, Gower Medical Publishing, 1985.
5. Αραμπατζής Μ και Βελεγράκη Α. 1910-2009, Ένας αιώνας Trichophyton rubrum. Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διαγνωστική, 2009, 14 (1): 9-20.
6. Neji S, Makni F, Cheikhrouhou F, Sellami A, Sellami H, Marreckchi S, Turki H, Ayadi A. Epidemiology of dermatophytoses in Sfax, Tunisia. Mycoses, 2009, 52(6): 534-538.
7. Brasch J. Var. raubitschekii of Trichophyton rubrum as a cause of tinea in Germany. Mycoses, 2007, 50 (S2): 2-5.
8. Maraki S, Nioti E, Mantadakis E, Tselentis Y. A 7-year survey of dermatophytoses in Crete, Greece. Mycoses, 2007, 50: 481-484.
9. Frangoulis E, Papadogeorgakis H, Athanasopoulou B, Katsambas A. Superficial mycoses due to Trichophyton violaceum in Athens, Greece: a 15- year retrospective study. Mycoses, 2005, 48: 425-429.
10. Christofidou M, Stamouli V, Dimitrakelis E, Dimitracopoulos G. Dermatophytosis: a retrospective study. Clinical Microbiology and Infections, 2002, 8(S1): 347.
11. Iorio R, Cafarchia C, Capelli G, Fasciocco D, Otranto D, Giangaspero A. Dermatophytoses in cats and humans in central Italy: epidemiological aspects. Mycoses, 2007, 50: 491-495.
12. Χριστοφίδου Μ, Παναγιωτοπούλου Ε, Ιακωβίδου Ε, Δημητρακόπουλος Γ. Είδη δερματοφύτων και συχνότητα απομόνωσης από ασθενείς με κλινική ένδειξη δερματοφύτωσης. Δελτίον Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας 1996, 41(1): 49-53.
13. Prohic A. An epidemiological survey of tinea capitis in Sarajevo, Bosnia and Herzegovina over a 10- year period. Mycoses, 2007, 51: 161-164.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

14. Seebacher C, Bouchara JP, Mignon B. Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. *Mycopathologia*, 2008, **166**(5-6): 335-352.
15. Rastegar L, Aklaghi L, Falahati M, Alaghebandan R. Characteristics of dermatophytoses among children in an area south of Tehran, Iran. *Mycoses*, 2005, **48**: 32-37.
16. Koussidou-Eremondi T, Devliotou-Panagiotidou D, Mourellou-Tsatsou O, Minas A. Epidemiology of dermatomycoses in children living in Northern Greece 1996-2000. *Mycoses*, 2005, **48**: 11-16.
17. Seebacher C, Abeck D, Brasch J. Tinea capitis: ringworm of the scalp. *Mycoses*, 2007, **50**: 218-226.
18. Akpolat N, Akdenyz S, Elci S, Atmaca S, Oze-kinci T. Tinea capitis in Diyarbakur, Turkey. *Mycoses*, 2005, **48**: 8-10.
19. Aghamirian M, Ghiasian S. Dermatophytoses in outpatients attending the Dermatology Center of Avicenna Hospital in Qazvin. *Mycoses* 2007, **51**: 155-160.
20. Romano C, Gianni C, Difonzo E. Retrospective study of onychomycosis in Italy: 1985-2000. *Mycoses*, 2005, **48**: 42-44.
21. Djeridane A, Djeridane Y, Ammar-Khodja A. Epidemiological and aetiological study on tinea pedis and onychomycosis in Algeria. *Mycoses*, 2006, **49**: 190-196.
22. El Sayed F, Ammoury A, Feghaly R, Dhaybil R. Onychomycosis in Lebanon: a mycological survey of 772 patients. *Mycoses*, 2006, **49**: 216-219.

Υποβλήθηκε: 6/11/2009

Εγκρίθηκε: 12/1/2010



Προς τους Συνδρομητές μας

Υπενθυμίζουμε, κυρίως στους νέους Συνδρομητές μας, ότι το περιοδικό κυκλοφορεί σε τέσσερα τεύχη το χρόνο: το 1ο Μάρτιο, το 2ο Ιούνιο, το 3ο Σεπτέμβριο και το 4ο Δεκέμβριο (την τελευταία εβδομάδα του μήνα).

Οι Συνδρομητές που εγγράφονται (ή ανανεώνουν την εγγραφή τους) από τον προηγούμενο Οκτώβριο έως και το Φεβρουάριο εκάστου έτους θα παραλάβουν ταχυδρομικώς και τα τέσσερα τεύχη του νέου έτους.

Δεν υπάρχει, δυστυχώς, δυνατότητα να αποσταλούν τεύχη του περιοδικού σε Συνδρομητές που έκαναν την εγγραφή τους μετά την εκτύπωση και κυκλοφορία εκάστου τεύχους.

Παρακαλούμε να μας ενημερώνετε εγκαίρως για οποιαδήποτε αλλαγή στη διεύθυνση την οποία μας έχετε δηλώσει για την αποστολή του περιοδικού
«Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διαγνωστική»

ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΥΣΕΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ

ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟΣ ΖΥΓΟΜΥΚΩΣΗ ΑΠΟ SAKSENAEA VASIFORMIS

Ανασκόπηση Διεθνούς Βιβλιογραφίας
(Πρώτη Απομόνωση στην Ελλάδα)

Π. ΓΙΑΝΝΟΠΟΥΛΟΥ¹, Α. ΚΥΡΑΤΣΑ¹, Ν. ΧΑΡΑΛΑΜΠΑΚΗ¹, Μ. ΚΟΜΠΟΤΗ²,
Μ. ΑΡΑΜΠΑΤΖΗΣ³, Α. ΒΕΛΕΓΡΑΚΗ³, Φ. ΚΛΟΥΒΑ-ΜΟΛΥΒΔΑ², Ε. ΤΡΙΚΚΑ-ΓΡΑΦΑΚΟΥ¹

Ο *Saksenaea vasiformis* είναι ζυγομύκητας του περιβάλλοντος που προκαλεί σπανίως πλην όμως βαρύντατες λοιμώξεις, όχι μόνο σε ανοσοκατασταλμένους, αλλά και σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς. Περιγράφεται θανατηφόρος περίπτωση πρωτοπαθούς δερματικής ζυγομύκωσης από *Saksenaea vasiformis* σε νεαρό ασθενή, θύμα τροχαίου και γίνεται ανασκόπηση της σχετικής βιβλιογραφίας.

(Λέξεις ευρετηρίου: ζυγομύκητες, *Saksenaea vasiformis*).

Εισαγωγή

Η ζυγομύκωση είναι σπάνια λοίμωξη που συνήθως εμφανίζεται υπό μορφή σποραδικών κρουσμάτων σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (ουδετεροπενικούς, μεταμοσχευμένους, με κακοήγη αιματολογικά νοσήματα), εγκυματίες, πολυτραυματίες τροχαίων ατυχημάτων, καθώς και σε χρήστες ενδοφλέβιων ουσιών. Λόγω της ευρείας κατανομής των ζυγομυκήτων στη φύση και στη φυτική οργανική ύλη καθώς και της υψηλής θνητότητας που μπορεί να προκαλέσουν αυτές οι λοιμώξεις, ακόμη και μετά από στοχευμένη και έγκαιρη θεραπευτική αντιμετώπιση, θεωρείται επιβεβλημένη η ευαισθητοποίηση των κλινικών μικροβιολόγων για την έγκαιρη και έγκυρη διάγνωσή τους.

Περιγραφή περίπτωσης

Άνδρας 30 ετών μετεφέρθη στη ΜΕΘ του νοσοκομείου μας από επαρχιακό νοσοκομείο, λόγω ταχέως εξελισσόμενης νεκρωτικής φλεγμονής του δέρματος και των υποκείμενων μυών της αριστεράς οσφυϊκής και ωμοπλατιαίας χώρας. Ο ασθενής, θύμα τροχαίου, νοσηλευόταν επί δεκαπενθήμερο στη ΜΕΘ του νοσοκομείου, διασωληνωμένος υπό μηχανική υποστήριξη, λόγω μέτριας βαρύτητας κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης, η οποία είχε αντιμετωπισθεί συντηρητικά. Τρεις ημέρες μετά τον τραυματισμό του παρουσίασε υψηλό πυρετό (39°C), και λευκοκυττάρωση ($\Lambda=35000/\text{mm}^3$), ενώ διαπιστώθηκε φλεγμονώδης διήθηση με εστίες νέκρωσης σε περιοχές του δέρματος της αριστεράς πλάγας κοιλιακής και ωμοπλατιαίας χώρας, όπου έφερε τραύματα τριβής. Όπως αναφέρθηκε στο ιατρικό του ασθενούς, η νεκρωτική φλεγμονή γρήγορα επεκτάθηκε στους

¹Μικροβιολογικό Εργαστήριο και ²Μονάδα Εντατικής Θεραπείας ΓΝΕ «Θριάσιο», ³Ειδικό Εργαστήριο Μυκητολογίας, Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

γύρω υγιείς ιστούς, την 9η ημέρα υποβλήθηκε σε χειρουργικό καθαρισμό. Από υλικό που ελήφθη από τη φλεγμαίνουσα περιοχή, απομονώθηκε πολυανθεκτική *Klebsiella spp.*, ευαίσθητη μόνο σε αμινογλυκοσίδες (αμικασίνη, γενταμικίνη και νετιλμικίνη). Λόγω επέκτασης της νεκρωτικής βλάβης, την 15η μετατραυματική ημέρα μεταφέρθηκε στη ΜΕΘ του νοσοκομείου μας.

Κατά την εισαγωγή του, ο ασθενής ήταν διασωληνωμένος, σε μηχανική υποστήριξη της αναπνοής με $FiO_2 = 0,4$ και ικανοποιητική ανταλλαγή αερίων. Ήταν αιμοδυναμικά σταθερός χωρίς αγγειοδραστικά φάρμακα, είχε ικανοποιητική ωριαία διούρηση και φυσιολογικούς δείκτες νεφρικής λειτουργίας και πηκτικότητας. Ο δείκτης APACHE την ημέρα εισαγωγής ήταν 25. Η αντιμικροβιακή αγωγή με την οποία ο ασθενής εισήχθη στο νοσοκομείο μας ήταν: τιγκεκυκλίνη 50 mgX2 i.v., λινεζολίδα 600 mgX2, αμικασίνη 500mgX2 i.v.

Κατά τη διάρκεια της νοσηλείας του συνεχίζονταν ο υψηλός πυρετός ($39^{\circ}C$) και η αντιμικροβιακή αγωγή τροποποιήθηκε σε: τιγκεκυκλίνη 50 mgX2 i.v., μεροπενέμη 2gX3 i.v., μετρονιδαζόλη 500mgX3 i.v. Η νεκρωτική βλάβη με φλεγμονώδη στοιχεία εξελισσόταν ταχέως παρά τους συχνούς χειρουργικούς καθαρισμούς, κατά τους οποίους ελήφθησαν τρία επιχρίσματα και δύο ιστοτεμάχια για καλλιέργεια και ιστολογικό έλεγχο. Την 20ή μετατραυματική ημέρα και έπειτα από εκτεταμένο χειρουργικό καθαρισμό των νεκρωμένων μυϊκών ομάδων οσφύος, αριστερού γλουτού και ράχης, παρατηρήθηκε ανάπτυξη κοινοκυττάρων υφών ζυγομυκήτων στις νεκρωτικές περιοχές (Εικόνα 1). Στη φαρμακευτική αγωγή προστέθηκε λιποσωματική αμφοτερικίνη B 750 mg/24h i.v., και ποσακοναζόλη 400 mgX2 p.o. Η νέκρωση και η ταχύτατη ανάπτυξη υφών επεκτάθηκε σε όλη τη ράχη και οσφύ παρά τους καθημερινούς και ευρείς χειρουργικούς καθαρισμούς και την ενδεδειγμένη αντιμικροβιακή αγωγή. Ο ασθενής παρουσίασε υπερπυρεξία και αιμοδυναμική αστάθεια και κατέληξε την 28η με-



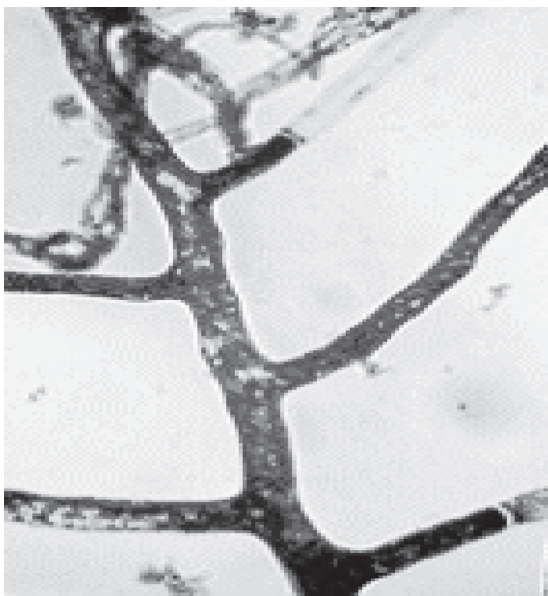
Εικόνα 1. 20η μετατραυματική ημέρα. Ανάπτυξη υφών μυκήτων στις νεκρωτικές περιοχές.

τατραυματική ημέρα με εικόνα πολυοργανικής ανεπάρκειας.

Εργαστηριακή διερεύνηση

Στο εργαστήριο έφθασαν επιχρίσματα και ιστοτεμάχια από τις δερματικές βλάβες για μικροβιολογική εξέταση.

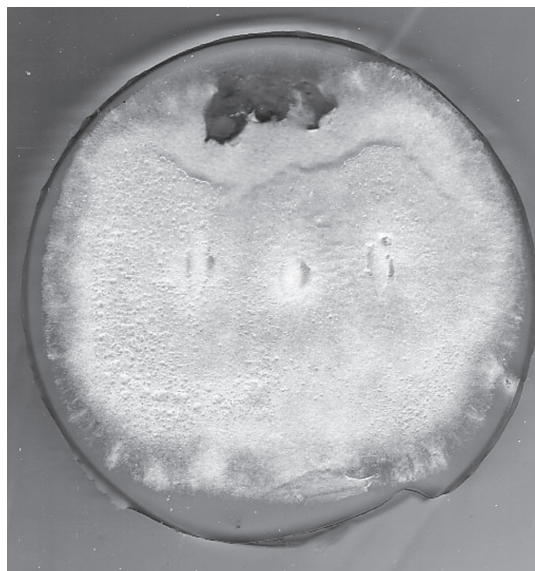
Κατά την άμεση μικροσκοπήση των παρασκευασμάτων που ελήφθησαν την 3η ημέρα νοσηλείας στο νοσοκομείο μας, παρατηρήθηκαν αρκετά πυσφαιρία με παρουσία Gram(+) και Gram(-) βακτηριδίων, ενώ στην άμεση μικροσκοπήση των ιστοτεμαχίων έπειτα από επεξεργασία τους με KOH 30%, ανευρέθησαν υαλοειδείς, κοινοκυττάρια υφές, ευρείες (διαμέτρου 3-5 μm), μακριές σαν κορδέλες, με διακλαδώσεις ορθής και αμβλείας γωνίας, μορφολογία τυπική των ζυγομυκήτων (Εικόνα 2). Στη συνέχεια τα δείγματα ενοφθαλμίστηκαν σε: MC Conkey agar, Columbia blood agar, Cooked Meat Broth, Chocolate agar, Sabouraud agar με chloramphenicol, τα οποία επωάστηκαν **αεροβίως** και σε: Columbia blood agar εμπλουτισμένο με βιταμίνη K1 και αιμίνη, Phenyl ethyl agar, Kanamycin-Vancomycin Laked Blood agar, τα οποία επωάστηκαν **αναεροβίως** στους $35^{\circ}C$. Από τις καλλιέργειες, τόσο των επιχρισμάτων, όσο και των ιστοτεμαχίων,



Εικόνα 2. Άμεση μικροσκοπηση ιστοτεμαχίου, έπειτα από επεξεργασία του με KOH 30% (x400). Διακρίνονται υαλοειδείς, κοινοκυττάρειες υφές, με διακλαδώσεις ορθής και αμβλείας γωνίας (ίδιον παρασκευάσμα).

μετά από επώαση 24 h σε αερόβιες συνθήκες, απομονώθηκαν: *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *B. cereus*, *B. licheniformis*.

Στο Sabouraud agar, όπου είχαν ενοφθαλμισθεί τα ιστοτεμάχια, αναπτύχθηκαν μετά 24 h επώαση, χλωώδεις αποικίες ταχέως αναπτυσσόμενες, οι οποίες εντός 48h είχαν καλύψει ολόκληρο το τρυβλίο (Εικόνα 3). Η ανάπτυξη ήταν καλή στους 25-37°C, ενώ αντίθετα παρατηρήθηκε απουσία ανάπτυξης στους 40-45°C. Για έλεγχο σπορογονίας, που θα βοηθούσε στην ταυτοποίησή του, το στέλεχος καλλιεργήθηκε σε malt extract agar και potato dextrose agar και στη συνέχεια λόγω απουσίας σπορογονίας, ανακαλλιεργήθηκε σε Czapeks agar (oxoid), 1% water agar και Saline agar στους 25°, 30° και 37°C στα οποία δεν παρατηρήθηκε σπορογονία, αν και η επώαση παρατάθηκε περισσότερο από 2 μήνες. Ο έλεγχος των καλλιεργειών για την ανεύρεση στοιχείων σπορογονίας γινόταν κάθε 2 ημέρες με μικροσκοπική παρατήρηση παρασκευασμά-



Εικόνα 3. Μακροσκοπική εικόνα της ανακαλλιεργείας σε τροποποιημένο άγαρ Czapek, μετά από 3 ημέρες στους 35°C. Οι αποικίες είναι χλωώδεις, υπόλευκου χρώματος, με αέριες υφές.

των χρωματισμένων με κυανό του βάμβακος. Κατόπιν αυτού ήταν αδύνατη η ταυτοποίηση του μύκητα με συμβατικές μεθόδους και για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν οι μοριακές μέθοδοι.

Στο Ειδικό Εργαστήριο Μυκητολογίας του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής, η υπερμεταβλητή περιοχή ITS του ριβοσωμικού DNA ενισχύθηκε με PCR και έγινε προσδιορισμός των αλληλουχιών του ενισχυθέντος τμήματος κατά Sanger, όπου μετά από ευθυγράμμιση τους με τις κατατεθειμένες αλληλουχίες στη Διεθνή Τράπεζα Γονιδιακών Δεδομένων NCBI, ταυτοποιήθηκε ως *Saksenaea vasiformis* (CBS 122520 *Saksenaea vasiformis* GenBank Accession No Fj433876). Το στέλεχος και το συνοδευτικό επιδημιολογικό δελτίο κατατέθηκε υπέρ της Ευρωπαϊκής Μελέτης Zygomycosis in Europe της European Confederation for Medical Mycology. Ο έλεγχος ευαισθησίας στα αντιμυκητιακά φάρμακα (E-test) δεν ήταν δυνατόν να γίνει, λόγω των εύθραυστων κοινοκυττάρων υφών και της έλλειψης σπορογονίας.

Παράλληλα η **ιστολογική εξέταση** των ιστοτεμαχίων έδειξε πλήρη νέκρωση του δέρματος και του γραμμωτού μυός που οφείλετο στην ανάπτυξη μυκήτων. Οι υφές των μυκήτων, με μορφολογικά χαρακτηριστικά της ομάδας των ζυγομυκήτων, ήταν ιδιαίτερα άφθονες και προκαλούσαν εκτεταμένη εξέλκωση της επιδερμίδας, διηθούσαν το τοίχωμα αγγείων, τα νεύρα καθώς και τις γραμμωτές μυϊκές ίνες.

Συζήτηση

Ο *Saksenaea vasiformis* είναι ζυγομύκητας του περιβάλλοντος, που σπανίως προκαλεί λοίμωξη στον άνθρωπο. Απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1953 από χώμα σε δάσος της Ινδίας¹. Έκτοτε έχει εντοπισθεί σε χώρες με τροπικό κυρίως κλίμα, όπως Κεντρική και Νότια Αμερική^{2,3,4} Αυστραλία^{5,6,7}, Ινδία^{8,9}, Ταϊλάνδη¹⁰, αραβικές χώρες^{11,12}, Ισπανία¹³. Στη χώρα μας απομονώθηκε, ως αίτιο λοίμωξης, για πρώτη φορά στην περίπτωση που περιγράφουμε.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία ο μύκητας αυτός αναγνωρίστηκε ως παθογόνο αίτιο λοιμώξεων του ανθρώπου το 1977, σε ένα 19χρονο ανοσοεπαρκή νεαρό με νεκρωτική φλεγμονή σε τραύματα που προκλήθηκαν λόγω τριβής στο έδαφος, μετά από τροχαίο ατύχημα², όπως και στη δική μας περίπτωση. Η εμφύτευση σπορίων μετά από τραυματισμό^{9,10,13,14} φέρεται ως ο κύριος τρόπος μετάδοσης. Άλλοι τρόποι είναι η εισαγωγή ενδοφλέβιων καθετήρων¹⁵, η ενδοφλέβια χρήση τοξικών ουσιών¹⁶, δερματοστιξία (τατουάζ)⁷, τα δήγματα σκορπιού⁸ ή αράχνης⁵. Έχουν επίσης περιγραφεί δύο περιπτώσεις ρινοεγκεφαλικής ζυγομύκωσης από *S. vasiformis*^{9,17} λόγω εισπνοής σπορίων από το περιβάλλον.

Οι **παράγοντες κινδύνου** για την ανάπτυξη ζυγομύκωσης από *S. vasiformis* είναι όπως και στις υπόλοιπες ζυγομυκώσεις η ανοσοκαταστολή (κακοήθη νεοπλασμάτα, μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων και μυελού των οστών), ο σακχαρώδης διαβήτης, η νεφρική ανεπάρκεια, το έγκαυμα, η μακροχρόνια χρήση κορ-

τικοειδών και αντιμικροβιακών ουσιών. Οι περισσότερες περιπτώσεις όμως της διεθνούς βιβλιογραφίας αφορούν ανοσοεπαρκείς ασθενείς. Σε 13 περιπτώσεις από τις 22 διεθνώς δημοσιευμένες με επαρκείς κλινικές πληροφορίες, ο ασθενής ήταν απολύτως υγιής, ενώ από τους επτά θανάτους, οι τέσσερις αφορούσαν σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς^{16,17,18,19}, οι δύο σε καρδιοπαθείς^{3,20} και μία σε διαβητικό⁸.

Με εξαίρεση δύο περιπτώσεις ρινοεγκεφαλικής ζυγομύκωσης από *S. vasiformis*^{9,17}, οι περισσότερες από τις δημοσιευμένες περιπτώσεις αφορούν **δερματική** εντόπιση όπως και η δική μας. Η απουσία ειδικών ισχυρών λοιμογόνων παραγόντων στον ως άνω ζυγομύκητα, σε αντίθεση με τους υπόλοιπους, πιθανόν να εξηγεί τον εντοπισμένο συνήθως χαρακτήρα αυτής της λοίμωξης. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται μόνο δύο περιπτώσεις διάσπαρτου¹⁹ και τρεις διεισδυτικού χαρακτήρα^{8,16,18}, όλες θανατηφόρες. Οι υπόλοιπες αφορούν σε δερματικές κυρίως τοπικές εντοπίσεις, όπου η αλλοίωση του δέρματος, των βλεννογόνων και οι ιστικές βλάβες πυροδοτούν την ανάπτυξη της μυκητίασης. Οι δερματικές βλάβες από *S. vasiformis* περιγράφονται ως βαριές φλεγμονές με έμφρακτα, έλκη, νέκρωση, μαύρες εσχάρες, μυοσίτιδα, γάγγραινα συχνά καλυπτόμενη από αέριες υφές ορατές ακόμη και με γυμνό μάτι²¹ όπως στην περίπτωση που παρουσιάζουμε.

Η **εργαστηριακή ταυτοποίηση** του συγκεκριμένου ζυγομύκητα με τις συμβατικές μεθόδους είναι ιδιαίτερα δυσχερής, λόγω της δυσκολίας σπορογονίας του μύκητα ακόμη και στα ειδικά εκλεκτικά υλικά με χαμηλές συγκεντρώσεις θρεπτικών συστατικών, όπως: Czapeks agar^{6,10}, 1% water agar^{9,22}, saline agar²³, Borelli's Lactrimel agar⁶, που απαιτούνται συνθήκες καλλιέργειας σε διάφορες θερμοκρασίες (25°, 30°, 37°C) και για πολλές εβδομάδες έως και μήνες. Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, ως ο πιο σύντομος τρόπος σπορογονίας (4 ημέρες), αναφέρεται η καλλιέργεια σε Borelli's Lactrimel agar στους 37°C.

Επίσης η μέθοδος των Ellis και Ajello²² φαίνεται να δίνει αποτελέσματα σε 7 περίπου ημέρες με το water agar να επωάζεται στους 32°C. Στη δική μας περίπτωση παρατηρήθηκε απουσία σπορογονίας στα malt extract και potato dextrose agar, καθώς επίσης και στα Czapeks agar^{6,10}, 1% water agar^{9,22}, saline agar²³ σε διάφορες θερμοκρασίες για περισσότερο από 2 μήνες. Η δυσκολία έκλυσης σπορογονίας του *S. vasiformis* αποτυπώνεται έντονα στη διεθνή βιβλιογραφία σε ανασκόπηση των Ribes και συν.²¹, όπου χρησιμοποιήθηκαν 4 διαφορετικά ειδικά υλικά, 2 διαφορετικές θερμοκρασίες και πολλοί μήνες αναμονής χωρίς αποτέλεσμα, ανακαλλιεργώντας γνωστό στέλεχος *S. vasiformis*. Στην περίπτωση όμως που συντελείται τελικά η σπορογονία, η περαιτέρω ταυτοποίησή του είναι ευχερέστερη, λόγω των χαρακτηριστικών παθογνωμονικών σποραγγείων τα οποία έχουν το σχήμα βάζου, εξ ου και η ονομασία του *S. vasiformis* (Εικόνα 4).

Πρέπει να σημειωθεί ότι στην περίπτωση αυτή, όπως και σε άλλα είδη ζυγομυκήτων που διαγνώστηκαν στο εργαστήριό μας, από τα παρασκευάσματα που εστάλησαν στο εργαστήριο (3 επιχρίσματα με στυλεούς και 2 ιστοτεμάχια), ανάπτυξη του μύκητα παρατηρήθηκε μόνο από τα ιστοτεμάχια (τα οποία αποτελούν το ιδανικό δείγμα), και ενοφθαλμίστηκαν στο Sabouraud agar και όχι από δείγματα επιχρισμάτων. Το γεγονός αυτό υπογραμμίζει ότι η σωστή λήψη του δείγματος αυξάνει τις πιθανότητες απομόνωσης των ζυγομυκήτων.

Η έγκαιρη διάγνωση σε συνδυασμό με τη γρήγορη και επιθετική χειρουργική και φαρμακευτική αντιμετώπιση είναι δυνατόν να βελτιώσουν την πρόγνωση της λοίμωξης από *S. vasiformis*. Η λιποσωματική αμφοτερικίνη Β σε υψηλές δόσεις, σε συνδυασμό με την ποσακοναζόλη, είναι το φάρμακο εκλογής για τις ζυγομυκητιάσεις^{3,8,16,18,19,24}. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η θεραπεία ανοσοκατασταλμένων ασθενών με βορικοναζόλη αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου, καθώς οι ζυγομύκητες είναι ανθεκτικοί στο συγκεκριμένο αντιμυκητιακό φάρμακο²⁵.



Εικόνα 4. Το σχήμα «βάζου» των σποραγγείων, αποτελεί παθογνωμονικό χαρακτηριστικό της *S. vasiformis* (από Ellis D.H. and G. Kaminski 1985 Sabouraudia 23: 137-140).

Επίσης, καθοριστικής σημασίας είναι και ο εκτεταμένος και επαναλαμβανόμενος χειρουργικός καθαρισμός όλων των νεκρωμένων ιστών μέχρι ακρωτηριασμού, αν αυτό κριθεί απαραίτητο. Πρέπει τέλος να επισημανθεί ο πολυμικροβιακός, συνήθως, χαρακτήρας των νεκρωτικών βλαβών, ο οποίος παρατηρήθηκε και στη δική μας περίπτωση. Ο συνεργικός ρόλος των υπόλοιπων μικροβίων υποβοηθά την πρόοδο της λοίμωξης. Δυστυχώς παρά την έγκαιρη στο νοσοκομείο μας έναρξη της κατάλληλης αντιμικροβιακής θεραπείας και την επιθετική χειρουργική αντιμετώπιση, δεν κατέστη δυνατόν να αποφευχθεί ο θάνατος του ασθενούς μας.

Διεύθυνση Επικοινωνίας:
Παναγιώτα Γιαννοπούλου
Μικροβιολογικό Εργαστήριο
ΓΝΕ «Θριάσιο»
Τηλ.: 2105534175
e-mail: nta@ath.forthnet.gr

Summary

GIANNOPOULOU P¹, KYRATSA A¹,
XARALABAKI N¹, KOMBOTI M²,
M. ARABATZIS³, VELEGRAKI A³, KLOYVAMOLIVDA F², TRIKKA-GRAPHAKOS E¹

A fatal case of cutaneous zygomycosis caused by *Saksenaea vasiformis* and a review of the literature. First isolation in Greece

¹Department of Microbiology, ²Intensive Care Unit «Thriassio» General Hospital Athens, Greece, ³Mycology Laboratory Microbiology Department Medical School, University of Athens Applied Clinical Microbiology

The increased incidence of zygomycosis infections in high-risk patient populations has become a major problem because of the high mortality even after appropriate therapy. Hence, rapid and accurate diagnosis of these aggressive infections becomes vital for their outcome. Saksenaea vasiformis is an environmental zygomycete which can cause aggressive infections, to immunocompromised and to immunocompetent alike. It has been associated with invasive lesions following traumatic implantation of the fungus and rhinocerebral, cutaneous and disseminated types of infection have also been reported. S. vasiformis appears to have a world-wide distribution in association with soil. The genus Saksenaea is characterized by the formation of unique flask-shaped sporangia, but the laboratory identification may be difficult or delayed because of the mould's failure to sporulate on primary isolation media. We report a fatal case of cutaneous zygomycosis caused by Saksenaea vasiformis in a young patient after a car accident, and review the literature.

(Key words: zygomycosis, Saksenaea vasiformis).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Saksena SB. A new genus of the Mucorales. Mycologia 1953, 45: 426-436.
2. Dean DF, Ajello L, Irwin RS, Woelk WK, Skaridis GS. Cranial zygomycosis caused by Saksenaea vasiformis. J Neurosurg 1977, 46: 97-103.
3. Torell J, Cooper BH, Helgeson NP. Disseminated Saksenaea vasiformis infection. Am J Clin Pathol 1981, 76: 116-121.
4. Hodges CS. Fungi isolated from southern forest tree nursery soils. Mycologia 1962, 54: 221-229.
5. Holland J. Emerging zygomycosis of humans: Saksenaea vasiformis and apophysomyces elegans. Cur Top Med Mycol 1997, 8: 27-34.
6. Prevoo RL, Starink MT, Haan P. Primary cutaneous mucor mycosis in a healthy young girl. J Am Acad Dermatol 1991, 24: 882-885.
7. Parker C, Kaminski G, and Hill D. Zygomycosis in a tattoo, caused by Saksenaea vasiformis. Aust J Dermatol 2007, 27: 107-111.
8. Lechevalier P, Hermoso D.G., Carol A., Bonacorsi St., Ferdadji L., Fitoussi Fr, et al. Molecular Diagnosis of Saksenaea vasiformis. Cutaneous infection after scorpion sting in an immunocompetent adolescent. J Clin Microb 2008, 46: 3169-3172.
9. Padhye AA, Koshi G, Avandi V, Ponniah J, Sitaran V, Jacob M, et al. First case of subcutaneous zygomycosis caused by Saksenaea vasiformis in India. Diag Microb Inf Dis 1988, 9: 69-77.
10. Tanphaichitr VS, Chaiprasert A, Suvatte V, Thasnakorn P. Subcutaneous mucormycosis caused by Saksenaea vasiformis in a thalassaemic child: first case report in Thailand. Mycoses 1990, 33: 303-309.
11. Goldschmied-Reouven A, Shvoron A and Block C. Saksenaea vasiformis infection in a burn wound. J Med Vet Mycol 1989, 27: 427-429.
12. Koren G, Polacheck I, Kaplan H. Invasive mucormycosis in a non - immunocompromised patient. J Inf 1986, 12: 165-167.
13. Cefai C, Elliott TS, Nutton RW, Lockrtt AE, Pooley J. Zygomycete gangrenous cellulitis. Lancet 1987, 1337-1338.
14. Gonis G, Starr M. Fatal rhinocerebral mucormycosis caused by Saksenaea vasiformis in an immunocompromised child. Ped Inf Dis J 1997, 16: 714-716.
15. Oberle AD, Penn RL. Nosocomial invasive Saksenaea vasiformis infection. Am J Clin Pathol 1983, 80: 885-888.
16. Patino JF, Mora R, Guzman MA, Rodriguez E. Mucormycosis: A fatal case by Saksenaea vasiformis. World J Surg 1984, 8: 419-422.
17. Kaufman L, Padhye AA, Parker S. Rhinocerebral zygomycosis caused by Saksenaea vasiformis. J Med Vet Mycol 1988, 26: 237-241.
18. Ajello L, Dean DF, Irwin RS. The zygomycete Saksenaea vasiformis as a pathogen of humans

- with a critical review of the etiology of zygomycosis. *Mycologia* 1976, **68**: 52-62.
19. Hay RJ, Campbell CK, Marshall WM, Rees BI, Pincot L. Disseminated zygomycosis caused by *Saksenaea vasiformis*. *J Inf Dis* 1983, **7**: 162-165.
 20. Harper JJ, Coulter C, Lye GR, Nimmo GR. Rhizopus and tongue depressors. *Lancet* 1996, **348**: 1250.
 21. Ribes JA, Vanover-Sams CL, Baker DJ. Zygomycetes in Human Disease *CI Microb Rev* 2000. **13**: 236- 301.
 22. Ellis JJ, Ajello L. An unusual source for *Apophysomyces elegans* and a method for stimulating sporulation of *Saksenaea vasiformis*. *Mycologia* 1982, **74**: 144-145.
 23. Bearer E, Nelson PR, Chawers MY, Davis CE. Cutaneous zygomycosis caused by *Saksenaea vasiformis* in a diabetic patient. *J Clin Microb* 1994, **32**: 1823-1824.
 24. Baradkar VP, Kumar S. Cutaneous zygomycosis due to *Saksenaea vasiformis* in an immunocompetent host. *Indian J Derm* 2009, **54**: 382-384.
 25. Varman M, Whaley D, Mancao MC, Reyes CA. *Mucormycosis*. *Manual Clin Microb*, 8th ed, 2008.

Υποβλήθηκε: 20/11/2009

Εγκρίθηκε: 10/01/2010



ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗ

Το Δ.Σ. της Εταιρείας Κλινικής Μικροβιολογίας, με σκοπό την επιμόρφωση και συνεχή ενημέρωση των νέων συναδέλφων, έχει αποφασίσει να ενισχύει οικονομικά με χρηματικό ποσό έως 1000 ευρώ ανά ιατρό, τη συμμετοχή δύο ειδικευμένων νοσοκομειακών ιατρών, κατ' έτος, για την παρακολούθηση Εκπαιδευτικών Σεμιναρίων που οργανώνονται από Διεθνείς Επιστημονικές Εταιρείες, με γνωστικό αντικείμενο την Κλινική Μικροβιολογία.

Παρακαλούμε να υποβάλετε τις αιτήσεις μέχρι 30 Ιουνίου για το έτος 2010. Εφόσον υπάρχουν περισσότερες από 2 υποψηφιότητες, η επιλογή θα γίνεται με κλήρωση παρουσία των μελών του Δ.Σ. και των ενδιαφερομένων.

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

ΤΑ ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΑ ΑΝΑΛΥΤΙΚΑ ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΟΥΣ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ

Π. ΚΑΡΚΑΛΟΥΣΟΣ

Μία κατηγορία αυτοάνοσων νοσημάτων χαρακτηρίζεται από την παρουσία στον ορό του ασθενούς αντισωμάτων έναντι αντιγόνων του πυρήνα (λ.χ. συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, σύνδρομο Sjögren, σκληρόδερμα κ.ά.). Σήμερα έχει προσδιορισθεί μεγάλος αριθμός αντιγόνων, που προκαλεί παραγωγή αντιπυρηνικών αντισωμάτων, όπως *ds-DNA*, *SSA*, *SSB*, *Sm*, *snRNP*, *Jo-1*, *Scl70*, *ACA*, ιστόνες. Συχνά στα ανοσολογικά εργαστήρια προσδιορίζονται είτε η ολική ποσότητα των αντιπυρηνικών αντισωμάτων (*screening test*), είτε κάθε αντίσωμα χωριστά με ποσοτικές ή ποιοτικές μεθόδους. Συνήθως ως μέθοδος διαλογής (*screening*) χρησιμοποιείται ο έμμεσος ανοσοφθορισμός (IFA) σε κύτταρα *Hep-2*, οπότε ανάλογα με το είδος και τη θέση των αντιγόνων που ανιχνεύονται παρουσιάζεται διαφορετική εικόνα: ως στικτός, ομοιογενής, περιφερικός, κεντρομεριδιακός, πυρηνισκικός και κυτταροπλασματικός φθορισμός. Η δυσκολία στην εκτέλεση των προσδιορισμών με ανοσοφθορισμό και η απαιτητική εκπαίδευση του παρατηρητού οδηγούν πολλά εργαστήρια να εκτελούν παράλληλα και ανοσοενζυμικές μεθόδους (ELISA) για την ποιοτική ή ποσοτική εκτίμηση των αντιπυρηνικών αντισωμάτων. Μεταξύ των μεθόδων IFA και ELISA παρατηρούνται πολλές φορές σημαντικές αποκλίσεις, οι οποίες αποδίδονται στη διαφορετική ευαισθησία των δύο μεθόδων, αλλά και σε διαφορετική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων οφειλόμενη στον ανθρώπινο παράγοντα.

(Λέξεις ευρετηρίου: αυτοάνοσα νοσήματα, εργαστηριακή διάγνωση, συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, αντιπυρηνικά αντισώματα, έμμεσος ανοσοφθορισμός).

Αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα

Με τον όρο αυτοάνοσα χαρακτηρίζονται εκείνα τα νοσήματα που προκαλούνται από την αντίδραση του ανοσολογικού συστήματος κατά ιδίων αντιγόνων υπό τη μορφή είτε αυτοαντι-

σωμάτων είτε αυτοδραστικών κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων (CD_8). Ο ορισμός αυτός δεν είναι πλήρης, διότι δεν νοούνται αυτοάνοσα νοσήματα χωρίς κλινικά συμπτώματα, ενώ αυτοαντισώματα ή αυτοδραστικά T-λεμφοκύτταρα παρατηρούνται και σε υγιή άτομα, λ.χ. σε ηλικιωμένους. Αυτοάνοση απόκριση εμφανίζεται επίσης, με αναστρέψιμο όμως χαρακτήρα, σε άτομα που πάσχουν από χρόνιες λοιμώξεις, σε

άτομα που έχουν εμβολιασθεί ή τέλος μετά από τη λήψη διαφόρων φαρμάκων, λ.χ. ο φαρμακογενής λύκος¹⁻³.

Μεταξύ των πολλών αυτοάνοσων νοσημάτων μία μεγάλη ομάδα ταυτίζεται με την παρουσία στον ορό των ασθενών αντιπυρηνικών αντισωμάτων, των ANA (AntiNuclear Antibodies). Με τον όρο αντιπυρηνικά αντισώματα χαρακτηρίζονται όλα τα αντισώματα που αντιδρούν με αντιγόνα του πυρήνα των κυττάρων. Μεταξύ αυτών έχουν ταυτοποιηθεί τα αυτοαντισώματα κατά των ελίκων του DNA, καθώς και μία μεγάλη ομάδα αντισωμάτων έναντι «αντιγόνων πυρηνικού εκχυλίσματος». Τα τελευταία ονομάζονται συνολικά anti-ENA (Extractable Nuclear Antigens).

Τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA) και ο προσδιορισμός τους

Τα αντιπυρηνικά αντισώματα είναι μια ετερογενής ομάδα ανοσοσφαιρινών και προσδιορίζουν αντιγόνα που ανήκουν σε εννέα διαφορετικές κατηγορίες (Πίνακας 1)¹⁻⁸. Τα περισσότερα εξ αυτών σχετίζονται με το συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ) και με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα (Sjögren, πολυμυοσίτιδα, σκληρόδερμα κ.ά.).

Τα αντισώματα έναντι των ιστονών αφορούν και τις πέντε τάξεις τους (H1, H2A, H2B, H3 και H4). Απαντώνται κυρίως στο φαρμακευτικό ΣΕΛ και λιγότερο στον ενεργό ΣΕΛ και στη ρευματοειδή αρθρίτιδα¹⁻⁹. Συνήθως ο προσδιορισμός τους με ELISA αφορά συνολικά και τις πέντε τάξεις ιστονών.

Αντισώματα έναντι sm

Το αντιγόνο Sm ανακαλύφθηκε το 1966 από τους Tan και Kunkel^{1-7,10-13} και ονομάστηκε έτσι από το όνομα του πρώτου διαγνωσμένου ασθενή (Smith). Πρόκειται για επτά πρωτεΐνες (B/B', D1, D2, D3, E, F, G) οι οποίες αποτελούν τον πυρήνα των ριβονουκλεοπρωτεϊνών (sn-RNP) U1, U2, U4 και U5. Οι πιο συχνές πρωτεΐνες-στόχοι των αντι-Sm αντισωμάτων

είναι οι B/B', D1 και D3. Σε πολλά εμπορικά αντιδραστήρια για την εφαρμογή της ELISA τα αντισώματα αναζητούνται ως αντι-Sm/RNP λόγω των κοινών επίτοπων των αντιγόνων αυτών.

Αντισώματα έναντι των ριβονουκλεοπρωτεϊνών (snRNP)

Ανακαλύφθηκαν το 1972 από τους Reichlin και Mattioli^{1-7,11-15}. Τα αντι-RNP αντιδρούν έναντι τριών ειδών πρωτεϊνών που φέρουν τα κωδικοποιημένα ονόματα 70 kd, A, C. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι ενωμένες με μικρά μόρια ριβονουκλεϊνικού οξέος (RNA) που βρίσκονται στον πυρήνα και περιέχουν σε μεγάλη ποσότητα ουριδυλικό οξύ (εξ ου και ο συμβολισμός τους U1-RNA). Τα συμπλέγματα μορίων RNA και πρωτεϊνών ονομάζονται μικρές πυρηνικές ριβονουκλεοπρωτεΐνες (small nuclear U1 RNP ή snU1-RNP). Τα αντι-RNP αντισώματα αναγνωρίζουν κυρίως αντιγόνα snU-RNP που περιέχουν τα συμπλέγματα U1α και U1β RNA.

Αντισώματα έναντι Jo-1

Το όνομα του αντιγόνου Jo-1 προέρχεται από το όνομα του πρώτου ασθενή στον οποίο ανιχνεύτηκε (John P), από τους Nishikai και Reichlin^{1-7,16-18}. Πρόκειται για το ένζυμο συνθετάση της ιστιδυλ-tRNA και βρίσκεται τόσο στον πυρήνα όσο και στο κυτταρόπλασμα.

Αντισώματα έναντι SSA / Ro και SSB / La

Τα αντιγόνα SSA/Ro και SSB/La αρχικά είχαν ονομαστεί Ro και La από τους Clark (1969) και Jones (1968) αντίστοιχα^{1-7,19-23}. Αργότερα τα δύο αντιγόνα προσδιορίστηκαν εκ νέου από τους Alsbaugh και συν. (1975-76) και πήραν τις ονομασίες SSA και SSB (1979) εξαιτίας του γεγονότος ότι βρέθηκαν σε ασθενείς με σύνδρομο Sjögren (SS). Κατά τον προσδιορισμό τους πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι το SSB εντοπίζεται πάντοτε μαζί με το SSA και ότι το SSB έχει κυρίως πυρηνική εντόπιση, σε αντίθεση με το SSA που ανιχνεύεται και στο κυτταρόπλασμα.

Πίνακας 1. Τα αντιγόνα αντιπυρηνικών αντισωμάτων που προσδιορίζονται με μεθόδους ELISA. Συσχέτιση με ειγόνες έμμεσου ανοσοφθορισμού (σε κύτταρα Hep-2) και οι συνηθέστερες παθήσεις.

Αντιγόνα	Συμβολική ονομασία	Πάθηση	Εικόνα Έμμεσου Ανοσοφθορισμού
Ιστονέες	H1, H2A, H2B, H3 H4	Φαρμακευτικός λύκος (95 - 100%) ΣΕΛ (30–50%) Χρόνια πολυαρθρίτιδα (15–20%)	Διάχυτος ομοιογενής φθορισμός πυρήνα
Smith	Sm	ΣΕΛ (20 – 30%) Φανόμοιο Raynaud	Αδρός ή λεπτός σπικτός φθορισμός πυρήνα
Ριβονουκλεοпротеΐνη	sn-RNP (RNP70, RNPA, RNPc)	Ήπιος ΣΕΛ (40%) Μικτή νόσος συνδετικού ιστού (100%)	Αδρός ή λεπτός σπικτός φθορισμός πυρήνα
Sjögren A	SSA/Ro	Σύνδρομο Sjögren (90%) Μικτή νόσος συνδετικού ιστού (45%) ΣΕΛ (50%) Χρόνια πολυαρθρίτιδα (5%)	Αδρός ή λεπτός σπικτός φθορισμός πυρήνα
Sjögren B	SSB/La	ΣΕΛ (15%) Σύνδρομο Sjögren (85%)	Αδρός ή λεπτός σπικτός φθορισμός πυρήνα
Σκληρόδερμα 70	Scl-70	Σκληρόδερμα (70%) Φανόμοιο Raynaud Σύνδρομο Sjögren	Αδρός ή λεπτός σπικτός φθορισμός πυρήνα ή πυρηνιακός φθορισμός
John 1 (συνθετική ιστιδύλ-tRNA)	Jo-1	Πολυμυοσίτιδα, δερματομυοσίτιδα (25 – 35%)	Λεπτός σπικτός φθορισμός κυτταροπλάσματος ή περιφερικός φθορισμός
Αντικεντρομεριδιακά	ACA (CENP-A, CENP-B, CENP-C)	Σκληρόδερμα CREST (60%) Φανόμοιο Raynaud Μικτή νόσος κολлагόνου	Λεπτός σπικτός κεντρομεριδιακός φθορισμός πυρήνα
Διπλή έλικά DNA	ds-DNA	ΣΕΛ	Διάχυτος ομοιογενής φθορισμός πυρήνα

Αντισώματα έναντι Scl - 70

Το σκληρόδερμα 70 (Scl-70) είναι μία βασική μη-ιστονική πυρηνική πρωτεΐνη που ανιχνεύθηκε αρχικά σε ασθενείς με σκληρόδερμα και το μοριακό της βάρος έχει προσδιοριστεί στα 70 kd. Σήμερα γνωρίζουμε¹⁻⁷ ότι πρόκειται για το ένζυμο τοποϊσομεράση Ι που έχει στην πραγματικότητα μοριακό βάρος 100 kd και ανιχνεύεται και σε άλλα νοσήματα εκτός του σκληροδέρματος. Ο προσδιορισμός του Scl-70 χρησιμοποιείται για τη διάκριση του διάχυτου σκληροδέρματος από το σκληρόδερμα CREST το οποίο χαρακτηρίζεται από την παρουσία των αντικεντρομεριδιακών αντισωμάτων (ACA).

Τα αντικεντρομεριδιακά αντισώματα (ACA)

Είναι αντισώματα έναντι των πρωτεϊνών του κινητοχώρου των κυττάρων κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης. Τα αντιγόνα με τα οποία συνδέονται είναι τρία πολυπεπτίδια τα CENP-A, CENP-B και CENP-C. Τα αντισώματα έναντι του CENP-B είναι τα συχνότερα απαντώμενα¹⁻⁷.

Τα αντισώματα έναντι του DNA του πυρήνα (αντι-DNA)

Ανακαλύφθηκαν το 1957 από διάφορες ομάδες Αμερικανών ερευνητών¹⁻⁷. Διακρίνονται σε αντι-ss DNA (έναντι απλής έλικας DNA) και αντι-ds DNA (έναντι διπλής έλικας DNA). Τα αντι-ds DNA αντισώματα θεωρούνται ότι παίζουν ενεργό ρόλο στην παθογένεια του ΣΕΛ αν και σπανιότερα εμφανίζονται και στη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Φαίνεται ότι τα αντι-ds DNA δεσμεύονται από το DNA του πυρήνα με επακόλουθο την εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων στους ιστούς (λ.χ. στα αγγειώδη σπειράματα των νεφρών). Αντίθετα τα αντι-ss DNA δεν θεωρούνται ειδικά για κάποια νόσο, αφού αυξάνονται σε πολλές αυτοάνοσες παθήσεις, όπως είναι η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η πρωτοπαθής χολική κίρρωση, η χρόνια ενεργός ηπατίτιδα κ.ά.

Μέθοδοι προσδιορισμού των αντιπυρηνικών αντισωμάτων

Όπως αναφέρθηκε ο προσδιορισμός των αντιπυρηνικών αντισωμάτων ορού γίνεται σήμερα είτε με έμμεσο ανοσοφθορισμό (IFA) είτε με ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA). Παλαιότερα γινόταν και με άλλες μεθόδους όπως διπλή ανοσοδιάχυση, αντίθετη ανοσοηλεκτροφόρηση και ανοσοαποτύπωση^{6,7,23}.

Ο IFA αναπτύχθηκε το 1941 από τον Albert Coons. Στην επικρατούσα μέθοδο για τα ANA (FANA) χρησιμοποιούνται ως κυτταρικό υπόστρωμα καρκινικά κύτταρα λάρυγγα (κωδική ονομασία Her-2) και ως φθορίζουσα χρωστική η ισοθειοκυανική φλουορεσκίνη (FITC) η οποία, όταν διεγερθεί από το υπεριώδες φως του μικροσκοπίου φθορισμού, δίνει πράσινο χρώμα. Τα καρκινικά αυτά κύτταρα διαθέτουν μεγάλους πυρήνες, πολλούς πυρηνίσκους και καλούς μιτωτικούς δείκτες, με αποτέλεσμα να αυξάνεται σημαντικά η ευαισθησία της μεθόδου. Παρόλα αυτά η συσχέτιση των διαφόρων εικόνων ανοσοφθορισμού με τα αντιγόνα του πυρήνα δεν είναι απόλυτη, αφού υπάρχουν αρκετές επικαλύψεις (Πίνακας 1).

Στο μικροσκόπιο φθορισμού τα φθορίζοντα ANA ορού μπορούν να δώσουν πολλές διαφορετικές εικόνες ανάλογα με το σημείο όπου βρίσκονται. Έτσι στον πυρήνα των κυττάρων Her-2 μπορεί να παρατηρηθεί λεπτός στικτός φθορισμός, αδρός στικτός φθορισμός, ομοιογενής φθορισμός, περιφερικός φθορισμός, πυρηνισκικός φθορισμός και τέλος κεντρομεριδιακός φθορισμός. Π.χ. στο εργαστήριό μας η μεγάλη πλειοψηφία των τύπων φθορισμού στον πυρήνα των Her-2 ανήκε στον ομοιογενή και στον λεπτό στικτό φθορισμό του πυρήνα. Σπανιότερα τα αντισώματα των ANA ορού μπορούν να δώσουν και φθορισμό στο κυτταροπλασματικό φθορισμό Her-2 (κυτταροπλασματικός φθορισμός).

Συνήθως η δοκιμασία FANA αποτελεί τη διαδικασία επιλογής των ορών των ασθενών (screening) για να ακολουθήσει στη συνέχεια η ταυτοποίησή τους με μεθόδους ELISA. Στο

εμπόριο κυκλοφορούν ανοσοενζυμικές μέθοδοι προσδιορισμού anti ds-DNA και anti ENA, τόσο ως μέθοδοι screening όσο και ως μέθοδοι ποιοτικού (profile tests) ή ποσοτικού προσδιορισμού των επιμέρους anti - ENA. Συνήθως η αναζήτηση των anti-ENA γίνεται μόνο σε ασθενείς θετικούς κατά FANA. Ο ποσοτικός προσδιορισμός δεν έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία, ούτε προσφέρει πληροφορίες κατά την παρακολούθηση των ασθενών.

Σπάνια επίσης γίνεται και ο ποιοτικός προσδιορισμός των anti-ds- DNA με ανοσοφθορισμό. Σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα το αιμοπαράσιτο *Crithidia lucidiae*, του οποίου ο κινητοπλάστης έχει αντιγονική συμπεριφορά παρόμοια με αυτή του ds DNA.

Εργαστηριακά λάθη στον προσδιορισμό ANA

Δεδομένου ότι τα περισσότερα εργαστήρια χρησιμοποιούν για τον προσδιορισμό των αντιπυρηνικών αντισωμάτων έμμεσο ανοσοφθορισμό σε συνδυασμό με κάποια ανοσοενζυμική μέθοδο, θα πρέπει να λαμβάνονται πάντα υπόψη οι τυχόν αποκλίσεις που μπορεί να παρατηρηθούν. Συνήθως, από τις πολλές επιλογές ποσοτικού ή ποιοτικού προσδιορισμού των ANA, επιλέγεται να προσδιοριστούν τα αντι-ds-DNA με ποσοτικό προσδιορισμό και τα αντι-SSA, SSB, Sm, snRNP, Jo-1, Scl70, ACA, Histones με ποιοτικό προσδιορισμό. Στην περίπτωση αυτή τα εργαστήρια εκτιμούν συνολικά τα ANA με τρεις διαφορετικές αναλύσεις. Οι τρεις αυτές αναλύσεις ενδέχεται να διενεργούνται από διαφορετικά άτομα και σε διαφορετικούς χώρους του εργαστηρίου. Απαιτείται προσοχή κατά τη διαδικασία αυτή, διότι μπορεί να οδηγήσει σε αποτελέσματα ασύμβατα μεταξύ τους, τα οποία μπορούν να αποδοθούν στη διαφορετική αναλυτική ευαισθησία των μεθόδων αλλά και στις διαφορετικές οπτικές εκτιμήσεις των εικόνων του έμμεσου ανοσοφθορισμού.

Τα «ασύμβατα» αποτελέσματα εμφανίζονται ιδιαίτερα σε χαμηλούς τίτλους FANA (1/80) γεγονός που έχει σαν αποτέλεσμα είτε

θετικά FANA να μην εμφανίζουν κανένα θετικό αποτέλεσμα στους ανοσοενζυμικούς προσδιορισμούς είτε οι εικόνες ανοσοφθορισμού θετικών FANA να μην αντιστοιχούν στα αντιγόνα που προτείνει η βιβλιογραφία.

Τα αναφερόμενα προβλήματα εμφανίζονται όταν:

1. Αλλάζουν συχνά οι προμηθευτές των εμπορικών αντιδραστηρίων των ανοσοενζυμικών προσδιορισμών. Η αλλαγή προμηθεύτριας εταιρείας μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή των τιμών cut off και των τιμών αναφοράς των μεθόδων.
2. Αλλάζουν συχνά οι προμηθευτές των αντιδραστηρίων του FANA. Μια τέτοια αλλαγή μπορεί να απαιτήσει νέα εκπαίδευση, αφού οι εικόνες του φθορισμού μπορεί να μην είναι ακριβώς οι ίδιες με την προηγούμενη μέθοδο.
3. Αλλάζει συχνά το προσωπικό που εκτελεί τα FANA. Τέτοια συχνή αλλαγή έχει σαν αποτέλεσμα να υπάρχει διαφορετική εκτίμηση των εικόνων ανοσοφθορισμού ιδιαίτερα μεταξύ εικόνων που μοιάζουν πολύ μεταξύ τους, π.χ. αδρός στικτός φθορισμός και πυρηνωικός φθορισμός πυρήνα.
4. Δεν ελέγχεται τακτικά το μικροσκόπιο φθορισμού του οποίου η λειτουργία σε ώρες πρέπει να αναγράφεται και η λάμπα να αλλάζει μετά από συγκεκριμένες ώρες λειτουργίας, δεδομένου ότι δεν «καίγεται» μεν ο λαμπτήρας του αλλά η ισχύς του μειώνεται χωρίς να γίνει αντιληπτή.

Η αντιμετώπιση των εργαστηριακών λαθών στον προσδιορισμό ANA

Για να περιοριστούν τα εργαστηριακά λάθη στον προσδιορισμό ANA θα πρέπει να αντιμετωπιστούν οι παράγοντες λαθών που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Δεδομένου ότι η αλλαγή των αντιδραστηρίων και του προσωπικού που εκτελεί τους προσδιορισμούς είναι συχνά αναπόφευκτη, θα πρέπει το εργαστήριο να εκτελέσει τα ακόλουθα:

1. Να γίνονται πειράματα επικύρωσης σε κάθε αλλαγή μεθόδου. Τα πειράματα αυτά αφορούν την ακρίβεια και την επαναληψιμότητα και θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη από το εργαστήριο κατά την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων πριν αυτά δοθούν στους ασθενείς.
2. Θα πρέπει να γίνεται έλεγχος ποιότητας με κατάλληλα δείγματα ελέγχου σε κάθε ανάλυση, καθώς και βαθμονόμηση σε κάθε ποσοτικό προσδιορισμό ELISA.
3. Η ανάλυση διπλών δειγμάτων εξασφαλίζει καλύτερη επαναληψιμότητα στις μεθόδους ELISA και θα πρέπει να εφαρμόζεται πιστά.
4. Πριν από τη χρήση κάθε νέου εμπορικού αντιδραστήριου θα πρέπει το εργαστήριο να μεριμνά να κρατά επιλεγμένα δείγματα θετικών ορών γνωστού τίτλου για να συγκρίνει τα παλιά αποτελέσματα με τα νέα. Η σύγκριση αυτή αφορά τον έμμεσο ανοσοφθορισμό αλλά και τις μεθόδους ELISA.

Οι προσδιορισμοί των ANA αν και πρόκειται για ένα μόνο εργαστηριακό αποτέλεσμα προέρχονται συχνά από διαφορετικές αναλύσεις που γίνονται με διαφορετικές μεθόδους, πολλές φορές από διαφορετικά άτομα και χωριστούς εργαστηριακούς χώρους. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα εύκολα να γίνονται αναλυτικά σφάλματα αλλά και να φθάνουν στους κλινικούς ιατρούς και ασθενείς. Η απάντηση σε αυτό το πρόβλημα είναι η πιστή τήρηση των κανόνων ποιότητας, η συνεργασία του προσωπικού αλλά και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων από ένα μόνο άτομο που θα έχει και το συνολικό έλεγχο όλων των αναλυτικών μεθόδων.

Διεύθυνση Επικοινωνίας:

Πέτρος Καρκαλούσος

Βιολόγος, Στατιστικός Msc

Σαρανταπόρου 40, 15231, Χαλάνδρι

Τηλέφωνο: 210 67 29 081

Κινητό: 6977 23 24 35

e-mail: petef@hol.gr

Summary

PETROS KARKALOUSOS

Detection of antinuclear antibodies: technique limitations and applications

Immunological department, 3rd Hospital of
Social Security Institute, Athens
Applied Clinical Microbiology

A large group of autoimmune diseases is related to the presence of serum antibodies against nuclear antigens (i.e. Systemic lupus erythematosus, Sjögren syndrome, Scleroderma e.t.c.). A number of such anti-nuclear antibodies has been identified and measured in daily routine (ds-DNA, SSA, SSB, Sm, snRNP, Jo-1, Scl70, ACA, Histones). Usually, they are firstly determined by screening methods, where the total quantity of antinuclear antibodies is measured, and secondly by quantitative or qualitative methods for each antinuclear antibody separately. In most of cases the indirect fluorescence (IFA) on Hep-2 cells is selected as screening method. However, IFA lacks reliable standardization and is dependable on the qualification of the observer. Therefore many laboratories replace IFA with immunoenzymatic methods (ELISA). In this case the laboratories find many differences between the two methods. These deviations are due to the different analytical sensitivity and specifically of the methods and commercial reagents used, as well as to the qualification of the observer.

(Key words: autoimmune diseases, laboratory diagnosis, systemic lupus erythematosus, antinuclear antibodies, indirect fluorescence immunoassay).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Μουτσόπουλος Χ. Αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα: κλινικό φάσμα, Αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα, Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα 1990, σελ. 11-7.

2. **Παυλάτου Μ.** Ανοσοφθορισμός, Ανοσολογία, Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Τρίτη έκδοση, Αθήνα 1997, σελ. 339-404.
3. **Παυλίτου-Τσιόντση Αικ.** Εργαστηριακή διάγνωση αυτοάνοσων ρευματικών νοσημάτων – κλινική σημασία. Εφαρ. Κλιν. Μικροβιολ. Εργ. Διαγν. 1998, 3: 67-81.
4. **Bradwell A, Hughes R, Karim A.** «Immunofluorescent Antinuclear Antibody Tests» in Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology, 7th Edition, ISBN-10: 1-55581-364-X, Barbara Detrick, Robert G Hamilton and James D Folds, ASM Press 2006, p 995-1006.
5. **Egner W.** The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. J Clin Pathol 2000, 53(6): 424-432.
6. **Wenzel J, Gerdson R, Uerlich M, Bauer R, Bieber T, Boehm I.** Antibodies targeting extractable nuclear antigens: historical development and current knowledge. Br J Dermatol 2001, 45(6): 859-867.
7. **Phan T, Wong R, Adelstein S.** Autoantibodies to extractable nuclear antigens: making detection and interpretation more meaningful. Clin Diagn Lab Immunol 2002, 9(1): 1-7.
8. **Tan E.** Antinuclear antibodies: Diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. Adv Immunol 1989, 44: 93-151.
9. **Stummvoll G, Fritsch R, Meyer B, Hoeffler E, Aringer M, Smolen J, Steiner G.** Characterization of cellular and humoral autoimmune responses to histone H1 and core histones in human systemic lupus erythematosus. Annals of the Rheumatic Diseases 2009, 68: 110-116.
10. **Zieve G, Khusial P.** The anti-Sm immune response in autoimmunity and cell biology. Autoimmun Rev 2003, 2(5): 235-240.
11. **Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, Bombardieri S.** Anti-Sm and anti-RNP antibodies. Autoimmunity 2005, 38(1): 47-54.
12. **Habets W, Berden J, Hoch S, Van Venrooij W.** Further characterization and subcellular localization of Sm and U1 ribonucleoprotein antigens. Eur J Immunol 1985, 15(10): 992-997.
13. **Sánchez-Guerrero J, Lew R, Fossel A, Schur P.** Utility of anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro/SS-A, and anti-La/SS-B (extractable nuclear antigens) detected by enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 1996, 39(6): 1055-1061.
14. **Luyckx A, Westhovens R, Oris E, Papish W, Bossuyt X.** Clinical relevance of measurement of antibodies to individual snU1-RNP Proteins, Clin Chem 2005, 10: 1888-1890.
15. **Feist E, Schneider M, Brychcy M, Dörner T, Burmester I, Hiepe F.** A unique autoantibody pattern of positive anti-Jo-1, anti-U1RNP, and antiproteasome antibodies in autoimmune myositis as a diagnostic challenge. Annals of the Rheumatic Diseases 2003, 62: 370-371.
16. **Nishikai M, Ohya K, Kosaka M, Akiya K, Tojo T.** Anti-Jo-1 antibodies in polymyositis or dermatomyositis: evaluation by ELISA using recombinant fusion protein Jo-1 as antigen. Br J Rheumatol 1998, 37(4): 357-361.
17. **Vázquez-Abad D, Rothfield N.** Sensitivity and specificity of anti-Jo-1 antibodies in autoimmune diseases with myositis. Arthritis Rheum 1996, 39(2): 292-296.
18. **Zampieri S, Ghirardello A, Iaccarino L, Tarricone E, Gambari P, Doria A.** Anti-Jo-1 Antibodies. Autoimmunity 2005, 38(1): 73-78.
19. **Pollock W, Toh B.** Routine immunofluorescence detection of Ro/SS-A autoantibody using HEp-2 cells transfected with human 60 kDa Ro/SS-A. J Clin Pathol 2000, 53(7): 565.
20. **Blomberg S, Ronnblom L, Wallgren A, Nilsson B, Karlsson-Parra A.** Anti-SSA/Ro antibody determination by enzyme-linked immunosorbent assay as a supplement to standard immunofluorescence in antinuclear antibody screening. Scand J Immunol 2000, 51(6): 612-617.
21. **Pollock W, Toh B.** Routine immunofluorescence detection of Ro/SS-A autoantibody using HEp-2 cells transfected with human 60 kDa Ro/SS-A. Clin Pathol 2000, 53(7): 565.
22. **Meilof J, Smeenk R.** Autoantibodies and their target antigens in Sjögren's syndrome. Neth J Med 1992, 40(3-4): 140-147.

Υποβλήθηκε: 6/11/2009
Εγκρίθηκε: 12/1/2010

ΒΙΒΛΙΟΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ

Δρος Ευαγγελίας Γ. Πρόγια, Προσέγγιση στην Ιατρική Βιοχημεία

Σελίδες 320, (μεγάλου σχήματος), Εκδ. Φ. Χατζηπάντου, Θεσσαλονίκη 2009

Ο τόμος αυτός, πόνημα της Διευθύντριας του Εργαστηρίου Κλινικής Χημείας του Γ.Ν.Θ. «Γ. Παπανικολάου», κυκλοφόρησε πολύ πρόσφατα με επιλεγμένα σύγχρονα θέματα Ιατρικής Βιοχημείας τα οποία παρουσιάστηκαν από τη συγγραφέα σε εκπαιδευτικά σεμινάρια, καθώς και μαθήματα για τους ειδικευόμενους ιατρούς στην ειδικότητα της Βιοπαθολογίας.

Στο πολύ ενδιαφέρον αυτό βιβλίο περιλαμβάνονται τα ακόλουθα θέματα: 1) Εργαστηριακός έλεγχος θυρεοειδούς αδένος, 2) Λιποπρωτεΐνες, 3) Αγγειακό ενδοθήλιο και αθηροσκλήρωση, 4) Προγνωστικοί παράγοντες αθηροσκλήρωσης, 5) Καρδιακοί δείκτες, 6) Καρδιακά νατριουρητικά πεπτίδια, 7) Αξιολόγηση καρδιακών δεικτών, 8) Εκτίμηση νατρίου, καλίου, χλωριούχων και διττανθρακικών, 9) Μεταβολισμός γλυκόζης-γλυκόλυση-γλυκογονόλυση-γλυκονογένεση, 10) Υπογλυκαιμία-υπεργλυκαιμία, 11) Μεταβολισμός ασβεστίου-μαγνησίου-φωσφόρου και 12) Φυσιολογία-παθοφυσιολογία οστικής ανάπλασης.

Σε κάθε ένα από αυτά τα θέματα γίνεται εκτενής παρουσίαση των πολύπλοκων παθοφυσιολογικών μηχανισμών με προσθήκη πολλών σχημάτων, διαγραμμάτων και πινάκων που βοηθούν τον αναγνώστη να τα κατανοήσει ευκολότερα. Παράλληλα αναπτύσσεται με ιδιαίτερη προσοχή το εργαστηριακό μέρος με τις ειδικές εξετάσεις, τις ενδείξεις και την αξιολόγηση τους στη διάγνωση, καθώς και τους προβληματισμούς που μπορεί να προκύψουν.

Στη συνέχεια υπάρχει το κεφάλαιο με τίτλο «Μαθηματικά στο Βιοχημικό Εργαστήριο» (σελ. 275-296), όπου περιλαμβάνονται πολύ χρήσιμες γνώσεις καθημερινής πρακτικής, όπως: μονάδες μετρήσεως, προετοιμασία διαφόρων αραιώσεων, διαλυμάτων (π.χ. μοριακών, κανονικών, ρυθμιστικών κ.ά.) με πολλά παραδείγματα, καθώς και προετοιμασία καμπύλης μετρήσεων.

Ακολουθεί πολύ κατατοπιστικό ερμηνευτικό εγκυκλοπαιδικό λεξιλόγιο όπου ο αναγνώστης βρίσκει σύντομη ερμηνεία των ξενόγλωσσων λημμάτων (σελ. 297-301 «Επεξηγήσεις»).

Τέλος, υπάρχει κατάλογος των χρησιμοποιούμενων συντμήσεων (σελ. 302-308) και γενικό ευρετήριο (σελ. 309-319).

Πρέπει να υπογραμμισθεί στα θετικά του βιβλίου η όλη επιτυχημένη τυπογραφική και εκδοτική εμφάνιση.

Παρ' όλο που η συγγραφέας (όπως λέει στον πρόλογο του βιβλίου σελ. 7) συνειδητά απέφυγε την καταχώριση βιβλιογραφίας, προσωπικά πιστεύουμε ότι μια επιλεγμένη βιβλιογραφία θα προσέθετε ένα ακόμα θετικό στοιχείο ποιότητας.

Το βιβλίο αυτό προσφέρει σύγχρονες γνώσεις όσον αφορά τα θέματα που πραγματεύεται, τόσο στο νέο ιατρό ειδικευόμενο στη Βιοπαθολογία όσο και σε νέους συναδέλφους άλλων ειδικοτήτων.

Β.Π.-Π.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΕΝΗΜΕΡΩΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ

Νεφρική Οστεοδυστροφία και μη Αναμενόμενη Συγκέντρωση PTH Ορού

Η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια οδηγεί σε διαταραχή του μεταβολισμού ιόντων λόγω ελάττωσης της νεφρικής παραγωγής 1.25-dihydroxyvitamin-D, υπερφωσφαταιμίας και υπασβεσταιμίας. Επακόλουθο αυτών είναι ο δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός ώστε να αυξηθεί το ασβέστιο πλάσματος και να αυξηθεί η αποβολή φωσφόρου, που όμως οδηγεί σε αυξημένη οστική αποδόμηση.

Ο δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός και η ακόλουθη οστική αποδόμηση αντιπροσωπεύουν τη νεφρική οστεοδυστροφία με μια ενδιάμεση μορφή της, τη «Νόσο Οστικής Αδυναμίας» (adenamic bone disease-ABD) που μπορεί να παρατηρηθεί σε χρόνια αιμοδιύλιση, σε καταστολή της παραθορμόνης με χορήγηση calcitriol, σκευασμάτων δέσμευσης φωσφορικών και χρήση διφωσφωνικών σε οστεοπόρωση.

Χαρακτηριστικά της ABD είναι η καταστολή της οστικής αναδόμησης και βιοχημικά, η υπερασβεσταιμία, η χαμηλή ή μη αναμενόμενη φυσιολογική παραθορμόνη ορού και η χαμηλή αλκαλική φωσφατάση ορού (δείκτης οστικής αναγέννησης).

Παρουσιάζεται περίπτωση ασθενούς 64 ετών με νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου που ελέγχθηκε για ABD γιατί είχε οστεοπόρωση, χαμηλή παραθορμόνη ορού, μέτρια αύξηση ασβεστίου ορού αλλά μέτρια αυξημένη αλκαλική φωσφατάση, σε αντίθεση με τον χαμηλό οστικό μεταβολισμό από την πιθανολογούμενη ABD.

Αυτό οδήγησε τους συγγραφείς σε επανέλεγχο των μετρήσεων παραθορμόνης με ELISA Roche Elecsys 2010 και Siemens Immulite 2000 οπότε τα αποτελέσματα ήταν 48 ng/L και 786 ng/L αντίστοιχα· με την αυξημένη τιμή πλέον, αντιπροσωπευτική της κλινικής εικόνας.

Οι συγγραφείς σε πρώτο έλεγχο διαπίστωσαν φαινόμενο αρνητικής παρεμβολής που όμως δεν οφείλετο σε παρουσία ετερόφιλων αντισωμάτων, ενώ από το ιστορικό της διαπίστωσαν ότι θεραπευτικά για σύνδρομο «restless leg» ελάμβανε επί χρόνια Βιοτίνη 10 mg ημερησίως.

Η Βιοτίνη είναι συνένζυμο καρβοξυλασών στη σύνθεση λιπαρών οξέων, στον καταβολισμό αμινοξέων με πλευρικές αλύσεις και στη γλυκονεογένεση, ενώ θεραπευτικά σε μεγάλες δόσεις (10 mg ημερησίως) έχει χρησιμοποιηθεί σε εγκεφαλοπάθεια και περιφερική νευροπάθεια επί νεφρικής ανεπάρκειας και σε διαβητική νευροπάθεια.

Η Βιοτίνη όμως αναφέρεται ότι παρεμβαίνει στις μετρήσεις ELISA Elecsys, γιατί η μεθοδολογία αυτή χρησιμοποιεί σύστημα σύνδεσης αντισωμάτων Biotin-Streptavidin.

Περαιτέρω οι συγγραφείς απέδειξαν ότι επρόκειτο για παρεμβολή μεταβολίτου της Βιοτίνης, ενώ οι μετρήσεις των μεθόδων εξισώθηκαν μετά τη διακοπή της Βιοτίνης, τονίζουν δε τη σημασία των ακριβών μετρήσεων της παραθορμόνης στη διάγνωση της διαταραγμένης οστικής λειτουργίας σε χρόνια νεφρική βλάβη που μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένη χο-

ρήγηση βιταμίνης D σε ασθενή με ABD ή σε καθυστερημένη έναρξη θεραπείας δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού όπως στην περίπτωση αυτή.

Προτείνεται για τη διάγνωση η μέτρηση οστικής αλκαλικής φωσφατάσης και κριτήριο για νόσο οστικής αδυναμίας τιμές παραθορμόνης <10,6 pmol/L.

Meany D, Jan de Beur S, Bill M, et al. A case of renal osteodystrophy with unexpected serum intact parathormone concentrations. Clin. Chem. 2009, **9**: 1737-1741.

I.Π.

Μέτρηση CEA Ορού, Ευαισθησία ή Ειδικότητα;

Το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) είναι γνωστός νεοπλασματικός δείκτης χρήσιμος στη διάγνωση και παρακολούθηση της θεραπείας του καρκίνου του εντέρου. Η πρωτεΐνη ανήκει στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών και έχει αντιγονικές ομοιότητες με άλλες πρωτεΐνες της ομάδας, όπως η NCA (nonspecific cross-reacting antigen) και η NCA-2, γεγονός που οδηγεί σε διασταυρούμενες αντιδράσεις σε διάφορες μεθόδους προσδιορισμού ELISA και επομένως σε μεγαλύτερες τιμές του CEA.

Σε ασθενή με καρκίνο του εντέρου και μετεγχειρητικές μεταστάσεις διαπιστώθηκε ότι με διαφορετικές μεθόδους η συγκέντρωση CEA ορού ήταν διαφορετική και αύξανε ταχύτερα με ορισμένες, σε διαδοχικές μετρήσεις.

Συγκεκριμένα οι συγγραφείς μέτρησαν στο ίδιο δείγμα τη συγκέντρωση CEA με τις μεθόδους Elecsys CEA II, Architect CEA (Abbott Laboratories), Lumipulse CEA-N (Fujirebio), SphereLight CEA (Wako Pure Chemical Industries) και Acces CEA και διαπίστωσαν

μεγαλύτερη συγκέντρωση με τις Elecsys CEA II και Architect CEA (400 µg/L) έναντι των άλλων (<100 µg/L). Επίσης με μεθοδολογία Western blot απέδειξαν ότι την αύξηση προκαλούσε διασταυρούμενη αντίδραση των μονοκλωνικών αντισωμάτων με το αντιγόνο NCA-2, που σε ορισμένα δείγματα ήταν περισσότερο από το CEA.

Το συμπέρασμα είναι ότι ίσως ορισμένες μορφές καρκίνου του εντέρου εκφράζουν κυρίως NCA mRNA και η παρακολούθηση των μετρήσεων με μεθόδους που δίνουν διασταυρούμενη αντίδραση με αυτό το αντιγόνο είναι πιο χρήσιμες στην πρόωπη διάγνωση μεταστάσεων και υποτροπής του καρκίνου του εντέρου.

Hanada H, Mugii S, Takeoka K, et al. Early detection of colorectal cancer metastasis and relapse by recognizing Nonspecific Cross-reacting Antigen 2 in commercial carcinoembryonic antigen assays. Clin Chem 2009, **55**, **9**: 1747-1748.

I.Π.

ΣΧΟΛΙΟ - ΟΔΗΓΙΕΣ

ΟΙ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΑΡΘΡΩΝ

Βασικό στοιχείο για τη συγγραφή αλλά και για τη δημοσίευση ενός επιστημονικού άρθρου αποτελεί η αναφορά σε σχετικές εργασίες που έχουν προηγηθεί και βρίσκονται δημοσιευμένες σε βιβλία ή επιστημονικά περιοδικά.

Στην αρχή κάθε ερευνητικής-επιστημονικής μελέτης είναι απαραίτητη η έρευνα της βιβλιογραφίας, έτσι ώστε:

1) ο συγγραφέας να ενημερωθεί σχετικά με το θέμα που θέλει να ερευνήσει ή να παρουσιάσει, και να μην επαναλάβει γνωστές ήδη απόψεις.

2) να σχεδιάσει σωστά τη μελέτη του επιλέγοντας τις κατάλληλες μεθόδους που θα τον οδηγήσουν χωρίς λάθη σε ακριβή συμπεράσματα.

3) να στηρίξει την υπόθεση την οποία προτείνει ή την ερμηνεία ενός αποτελέσματος, καθώς και για να δώσει τη δυνατότητα στον αναγνώστη που ενδιαφέρεται να βρει περισσότερες λεπτομέρειες.

Εδώ όμως δεν θα μας απασχολήσει η αναζήτηση της βιβλιογραφίας, που γίνεται σήμερα πολύ πιο εύκολα απ' ό,τι πριν μερικές δεκαετίες. Θα περιοριστούμε, κυρίως, στην επιλογή των αναφορών που θα συμπεριλάβουμε για να στηρίξουμε τα επιχειρήματά μας ή να ερμηνεύσουμε τις παρατηρήσεις και τα συμπεράσματα της μελέτης.

Ο αριθμός των βιβλιογραφικών αναφορών που πρέπει να συγκεντρώσουμε στο τέλος του άρθρου, έτσι ώστε να επιτύχουμε τη δημοσί-

ευσή του και την αξιολόγησή του από τους αναγνώστες, είναι διαφορετικός, αναλόγως του είδους της μελέτης και των οδηγιών του περιοδικού που θέλουμε να το δημοσιεύσει.

Σε όλες όμως τις περιπτώσεις οι αναφορές πρέπει να πληρούν τους ακόλουθους όρους:

1) να είναι απόλυτα σχετικές με το θέμα.

2) να μην επιλέγονται μόνο όσες συμφωνούν, αλλά και εκείνες που παρουσιάζουν διαφορετικές απόψεις.

3) να είναι πρόσφατες μέχρι και του έτους της συγγραφής του άρθρου.

4) να γίνεται μια κριτική επιλογή από τα καλύτερα και πιο σημαντικά δημοσιεύματα.

5) να αναφέρονται τα άρθρα με το επώνυμο και τα αρχικά όλων των συγγραφέων, ή αν είναι μεγάλος ο αριθμός τους, μέχρι τον έκτο.

Έτσι διευκολύνεται ο αναγνώστης που θέλει να ανατρέξει για περισσότερες πληροφορίες στις πηγές.

6) όταν αναφέρεται ένα βιβλίο, δεν είναι αρκετός μόνο ο τίτλος του, το έτος και ο τόπος εκδόσεως, αλλά και το κεφάλαιο και οι σελίδες που αφορούν τη σχετική παραπομπή.

Διαφορετικά πώς θα μπορέσει να το βρει ο αναγνώστης;

Περιττό να τονίσουμε πόσο σημαντικό είναι να έχουμε συγκεντρώσει όλα τα άρθρα στα οποία παραπέμπουμε και να τα έχουμε διαβάσει προσεκτικά.

Αν απλώς αντιγράψουμε και παραπέμπουμε στις εργασίες που κάποιος άλλος ερευνητής

αναφέρει στο άρθρο του, είναι πιθανόν να οδηγηθούμε σε σοβαρά λάθη, τυπογραφικά ή άλλα, τα οποία εκθέτουν ένα συγγραφέα και γίνονται αιτία να απορριφθεί από τον κριτή και τη σύνταξη του περιοδικού.

Τέλος, ερχόμαστε στην αναφορά δημοσιεύσεων από τον ελληνικό χώρο, οι οποίες θα πρέπει να συμπεριλαμβάνονται όταν υπάρχουν.

Για το θέμα αυτό ο καθηγητής κ. Χρ. Γιανναράς έχει σημειώσει με πίκρα σε παλαιότερη επιφυλλίδα του στην *Καθημερινή*, με τον τίτλο «Εθνική Μικροψυχία» τα ακόλουθα:

«...Χρόνια τώρα στο Πανεπιστήμιο και στο συγγραφικό “κουρμπέτι” έχω σχηματίσει τη βεβαιότητα ότι αποκλείεται Έλληνας να έχει διαβάσει Έλληνα ομότεχνό του. Στον ίδιο κλάδο, στην ίδια ειδικότητα, συχνά και με τον ίδιο προβληματισμό και αγνοούμε τη δουλειά του διπλανού μας Έλληνα.

Εργαζόμαστε παράλληλα, αποσιωπώντας την ύπαρξη ο ένας του άλλου».

Αν και, όπως πιστεύεται, στις θετικές επιστήμες τα πράγματα είναι κάπως καλύτερα, θα μπορούσαν ίσως να βελτιωθούν, έτσι ώστε να αναδεικνύεται το έργο του χώρου και της ομάδας, το οποίο συνεχίζεται από τους νεότερους επιστήμονες στη χώρα μας.

Β.Π.-Π.

Για περισσότερες πληροφορίες οι νέοι συνάδελφοι μπορούν να ανατρέξουν στα ειδικά βιβλία:

Β. Τσακρακλίδης, Κ.Ι. Γουργουλιάνη *Ιατρική, και Λόγος*, εκδόσεις ΒΗΤΑ, Γ' έκδοση 2003.

Δ.Κ. Βώρος, *Πώς γράφεται και δημοσιεύεται μία Ιατρική εργασία*, Εκδόσεις Γρ. Παρισιάνος, 2η έκδοση, Αθήνα 1996.



ΣΩΣΤΕΣ ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ ΣΤΙΣ ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟΥ ΤΕΥΧΟΥΣ

Ερώτηση 1η Α: Αδενοϊοί

Ερώτηση 2η Γ: Acanthamoeba

Ερώτηση 3η Γ: Ανοσοφθορισμό

Ερώτηση 4η Γ: Μετά από τραυματισμό

ΡΩΤΟΥΜΕ - ΑΠΑΝΤΟΥΜΕ - ΜΑΘΑΙΝΟΥΜΕ

Ερώτηση 1η

Ένδειξη πρόσφατης λοίμωξης αποτελεί:

- A. Η παρουσία IgM
- B. Η χαμηλή avidity
- Γ. Η παρουσία IgG
- Δ. Τα α και β

Ερώτηση 2η

Αν σε έγκυο βρεθεί IgM και IgG για τον ιό της ερυθράς, θα προχωρήσουμε σε:

- A. Διακοπή της κύησης
- B. Μέτρηση της IgG avidity
- Γ. PCR αμνιακού υγρού
- Δ. Ορολογική παρακολούθηση της εγκύου και, αν χρειαστεί, αντιϊκή αγωγή
- E. Τα β και γ

Ερώτηση 3η

Παράγοντες που καθορίζουν την ευαισθησία των άμεσων τεχνικών ανίχνευσης αντιγόνου του ιού της γρίπης:

- A. Ο χρόνος λήψης του δείγματος
- B. Το είδος του δείγματος
- Γ. Η ηλικία του ασθενούς
- Δ. Όλα τα παραπάνω
- E. Τα 1 και 2

Ερώτηση 4η

Η ανίχνευση αντιγόνου δεν συνιστάται για:

- A. *Adenovirus*
- B. *PSV*
- Γ. *Rhinovirus*
- Δ. *hMPV*
- E. *PIV*

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗ

Δ.Ε.Δ.Υ.Τ.

Δελτίο Τύπου (1ο Ιαν. 2010)

Η Διεπιστημονική Εταιρεία Διασφάλισης Υγιεινής Τροφίμων (ΔΕΔΥΤ) ιδρύθηκε το 2004 με σκοπό να φέρει κοντά όλους τους επιστήμονες και επαγγελματίες που δραστηριοποιούνται στο χώρο των τροφίμων. Έχει ήδη διοργανώσει 2 πανελλήνια συνέδρια, το 2006 και το 2008, τα οποία στέφθηκαν με μεγάλη επιτυχία.

Τον Ιούνιο του 2010 διοργανώνει το 3ο Πανελλήνιο Συνέδριο της ΔΕΔΥΤ με θέμα «Σύγχρονες αντιλήψεις ασφάλειας και ποιότητας τροφίμων: η σύγκλιση των επιστημών». Σκοπός του συνεδρίου είναι να αναδείξει τις διάφορες επιστημονικές πτυχές που αφορούν τα τρόφιμα και ιδιαίτερα τη συμβολή αυτών στη βελτίωση της ασφάλειας και της ποιότητας. Ειδικότερα οι θεματικές ενότητες του συνεδρίου είναι:

- Συστήματα διαχείρισης της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων
- Νέοι και επανεμφανιζόμενοι τροφογενείς κίνδυνοι
- Έγκαιρη ενημέρωση και διαχείριση διατροφικών κρίσεων
- Εκπαίδευση στην υγιεινή και ασφάλεια των τροφίμων
- Σύγχρονες μέθοδοι ανάλυσης της ποιότητας των τροφίμων
- Ανάλυση επικινδυνότητας (αξιολόγηση, διαχείριση, ενημέρωση)
- Επί τόπου εκτίμηση παραμέτρων ποιότητας και ασφάλειας των τροφίμων
- Καινοφανή και λειτουργικά τρόφιμα
- Τεχνολογικές εξελίξεις στην παραγωγή και διακίνηση τροφίμων
- Αυτοματισμοί, πληροφορική και τηλεματική στη βιομηχανία τροφίμων
- Διακρίβωση, διαπίστευση και τυποποίηση στην παραγωγή και ανάλυση τροφίμων
- Επισήμανση τροφίμων και διατροφικοί ισχυρισμοί
- Ιχνηλασιμότητα στην εφοδιαστική αλυσίδα τροφίμων
- Σύγχρονες διατροφικές τάσεις και προτιμήσεις καταναλωτών
- Νομοθεσία τροφίμων και προστασία του καταναλωτή
- Αλληλεπίδραση περιβάλλοντος και τροφίμων

Το δε σήμα του συνεδρίου περιλαμβάνει τρεις βασικούς κύκλους που αντιστοιχούν αντίστοιχα στην Αξιολόγηση, Διαχείριση και Πληροφόρηση στην επιστήμη των Τροφίμων.

Η επιστημονική επιτροπή του συνεδρίου αποτελείται από ένα σημαντικό αριθμό επιστημόνων που έχουν διακριθεί στο χώρο των τροφίμων. Το συνέδριο γίνεται υπό την αιγίδα του **Ενιαίου Φορέα Ελέγχου Τροφίμων (ΕΦΕΤ)**.

Τη διοργάνωση έχει αναλάβει μια δυναμική οργανωτική επιτροπή σε συνεργασία με την εταιρεία Forum I.C.O., η οποία διαθέτει μεγάλη εμπειρία στη διεξαγωγή συνεδρίων. Το συνέδριο θα διεξαχθεί στη Θεσσαλονίκη 4-6 Ιουνίου 2010, στις εγκαταστάσεις του ξενοδοχείου **Macedonia Palace**, στην παραλία της πόλης.

Πληροφορίες για το συνέδριο μπορείτε να βρείτε στο διαδίκτυο

www.dedyt.gr

www.foorumcongress.com/dedyt2010

Δρ. Μπόσκου Γεώργιος
Πρόεδρος της
Οργανωτικής Επιτροπής

Δρ. Τσιφλίδης Ιωάννης
Πρόεδρος της ΔΕΔΥΤ

ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ-ΣΥΝΕΔΡΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΕΘΝΗ

22-27 March 2010

ESCMID Postgraduate Technical workshop
Role of Anaerobic Bacteria in infections
Groningen, The Netherlands
M. Bronsema@mmmb.umcg.nl

10-13 Απριλίου 2010

20th European Congress of Clinical
Microbiology and Infectious Diseases
Vienna, Austria
www.escmid.org/escmid 2010

21-24 Απριλίου

6ο Πανελλήνιο Συνέδριο
Ιατρικής Βιοπαθολογίας
Πληροφορίες: ASCENT ΕΠΕ Β. Σοφίας 77,
115 21 Αθήνα, Τηλ.: 210 7213 225

5-9 Μαΐου 2010

35ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο
Αθήνα, Χίλτον
www.mednet.gr

20-22 Μαΐου 2010

VIII International Conference
on HFRS, HPS and Hantaviruses
Αθήνα, Ξενοδοχείο Divani Acropoli
www.hantavirusconference.2010.gr

8-10 April 2010

Antimicrobial Stewardship:
Measuring Auditing and Improving
ESMID Postgraduate Educ. Course
Vienna, Austria
annegret.frank@abs.group.at

26-30 April 2010

Molecular Typing Methods for Bacterial
Pathogens
ESCMID Postgraduate Technical Workshop
Zagreb, Croatia
dsijakz@gmail.com

23-27 May 2010

110th General Meeting of the American Society
for Microbiology
San Diego, CA, USA/http://gm.asm.org

26-29 May 2010

3rd Northern European Conference
on Travel Medicine
Hamburg, Germany
www.nectm.com

27-30 June 2010

16th International Symposium
on Infections in the Immunocompromised
Host
Budapest
www.ichs.org

7-11 June 2010

Postgraduate Workshop in Clinical Parasitology
ESCMID Postgraduate Technical Workshop
Amsterdam, The Netherlands
j.m.nieuwendijk@amc.uva.nl

20-25 June 2010

8th Workshop «Professor V.J. Benedi»
Mechanisms of Antimicrobial
Resistance - a Practical Approach
Palmade Mallorca, Spain
www.escmid.org, infi@escmid.org

ΧΟΡΗΓΙΕΣ

Το Δ.Σ. της Εταιρείας Κλινικής Μικροβιολογίας, με σκοπό την επιμόρφωση και συνεχή ενημέρωση των νέων συναδέλφων αποφάσισε να ενισχύει οικονομικά ειδικευμένους νοσοκομειακούς ιατρούς για την παρακολούθηση Εκπαιδευτικών Σεμιναρίων που οργανώνονται από Διεθνείς Επισημονικές Εταιρείες με γνωστικό αντικείμενο την Κλινική Μικροβιολογία.

Στον Πίνακα που ακολουθεί αναγράφονται: τα ονόματα των ιατρών και τα εκπαιδευτικά προγράμματα που παρακολούθησαν, από την έναρξη του θεσμού το έτος 2007, καθώς και τα νοσοκομεία στα οποία εργάζονται.

Ονοματεπώνυμο	Εκπαιδευτικό πρόγραμμα	Νοσοκομείο
Μαρία Ορφανίδου Παναγιώτα Γιαννοπούλου	42nd ESCMID Postgraduate Education Course «Role of Anaerobic Bacteria in Infections: Diagnostics, Antibiotic Resistance and New Therapeutic Options», 2-4 Ιουνίου 2007, Szeged, Ουγγαρία	Γ.Ν. Γεώργιος Γεννηματάς Γ.Ν. Θριάσιο
Ελένη Καλογεροπούλου	43d ESCMID Postgraduate Education Course «Bacterial Adaptation Mechanisms: Biofilms, Hypermutability and Antibiotic Resistance», 7-9 Νοεμβρίου 2007, Palma de Mallorca, Ισπανία	Γ.Ν. «Αττικό»
Βασιλική Μάμαλη	40th ESCMID Postgraduate Education Course «Practical and Theoretical Course on Bacterial Molecular Typing», 29 Απριλίου - 4 Μαΐου 2007, Oeiras Πορτογαλία	Γ.Ν. Θριάσιο
Μαρία Παπαδημητρίου	48th ESCMID Postgraduate Education Course «Infections with Multiresistant Pathogens: Microbiological, Clinical and Therapeutic Aspects», 14-15 Μαρτίου 2008, Βερολίνο	Γ.Ν. Παιδών «Π. & Α. Κυριακού»
Κων. Τζιβεριώτης	8th ESCMID Summer School 2009 11-17 Ιουλίου, Πόρτο, Πορτογαλία	Γ.Ν. Αττικό
Ευσταθία Περιβολιώτη	ESCMI/SHEA Hospital Epidemiology Training Course 7-11 Νοεμβρίου 2009, Madrid, Ισπανία	Γ.Ν. Ευαγγελισμός
Μυρτώ Κατραμάδου	ESCMID Postgraduate Education Course «Acinetobacter Infections: Microbiological, Clinical and Therapeutic Aspects» 3-5 Σεπτεμβρίου 2009 Κωνσταντινούπολη, Τουρκία	Γ.Ν. Γεώργιος Γεννηματάς
Αικατερίνη Ταρπατζή	8th ESCMID Summer School 2009 11-17 Ιουλίου, Πόρτο, Πορτογαλία	Γ.Ν. Αττικό