

# ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ

ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β / ΤΟΜΟΣ 20 / ΤΕΥΧΟΣ 3 / ΙΟΥΛΙΟΣ - ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2015

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

### ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΕΙΣ

- Λοίμωξη από τον ιό Ebola: δημόσια υγεία και κλινική πράξη
- Μηχανισμοί δημιουργίας μικροβιώματος στα παιδιά

### ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

- Ανάλυση αποτελεσμάτων καλλιιεργειών αίματος σε γενικό τριτοβάθμιο νοσοκομείο

### ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΥΣΑ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ

- Οξεία παγκρεατίτιδα από *Mycoplasma pneumoniae* σε παιδί

### ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

- Εφαρμογή της δοκιμασίας CAMP στην ταυτοποίηση του *Streptococcus agalactiae*

**Applied Clinical Microbiology and Laboratory Diagnostics**

Published Quarterly by the Society of Clinical Microbiology and Laboratory Diagnostics

Τρίμηνη Έκδοση της Εταιρείας Κλινικής Μικροβιολογίας και Εργαστηριακής Διαγνωστικής

**ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ**  
(Εφ. Κλιν. Μικροβιολ. Εργ. Διαγν.)

**ΚΩΔΙΚΟΣ: 4315**

Τρίμηνη Έκδοση της Εταιρείας Κλινικής Μικροβιολογίας και Εργαστηριακής Διαγνωστικής  
Έτος Ίδρυσης 1986  
Ιδρύτρια: Αντιγόνη Αρσένη

**Διοικητικό Συμβούλιο**

Πρόεδρος: Λουκία Ζέρβα  
Αντιπρόεδρος: Στυλιανός Χατζηπαναγιώτου  
Γενική Γραμματέας: Μαρία Κανελλοπούλου  
Ταμίας: Σοφία Τσιπλάκου  
Ειδική Γραμματέας: Ευσταθία Περιβολιώτη  
Τακτικά Μέλη: Γενοβέφα Χρονοπούλου, Μαρία Παπαδημητρίου  
Αναπληρωματικά Μέλη: Σταυρούλα Αντωνοπούλου, Αικατερίνη Ταρπατζή, Θεοφανώ Παναγέα

**Εξελεγκτική Επιτροπή**

Ελένη Αλεξάνδρου-Αθανασούλη, Αναστάσιος Δουδουλακάκης  
Αναπληρωματικό Μέλος: Κωνσταντίνος Τσιβεριώτης

**Συντακτική Επιτροπή**

Διευθυντές Σύνταξης: Μ. Γιαννάκη-Ψινάκη, Μ. Κανελλοπούλου, Λ. Ζέρβα

**Μέλη Συντακτικής Επιτροπής**

Αντωνάκος Γ.	Μαλάμου-Λαδά Ε.	Παρασκάκη Ε.	Τσιπλάκου Σ.
Αργυροπούλου Α.	Μαρόπουλος Γ.	Παρασκευοπούλου Π.	Τσιφτσάκης Ε.
Βαγιάκου Ε.	Μασσέλου Κ.	Περιβολιώτη Ε.	Τρίκκα-Γραφάκου Ε.
Βελγράκη Α.	Μάτσας Μ.	Πετρίδου Ευαγ.	Φουσοπούλου Μ.
Βογιατζάκης Ε.	Μεντής Α.	Πετεινάκη Ε.	Χαρισιάδου Α.
Βυζαντιάδης Τ-Α.	Μυριαγκού Β.	Πετροχείλου-Πάσχου Β.	Χατζηπαναγιώτου Σ.
Βώρου Ρ.	Νικολάου Χ.	Πιπεράκη Ε-Θ.	Χατζηγιάννη Α.
Δουδουλακάκης Α.	Ορφανίδου Μ.	Πλατσούκα Ε.	Χρονοπούλου Γ.
Δρογγάρη-Απειρανθίτου Μ.	Πάγκαλη Α.	Πρίφτη Ε.	
Θέμελη-Διγαλάκη Κ.	Παλέρμος Ι.	Σμιλάκου Σ.	
Ιωαννίδης Α.	Παναγέα Θ.	Σπηλιοπούλου Ι.	
Κανακούδη-Κανσουζίδου Α.	Παπαβέντσης Δ.	Στάθη Α.	
Κίτρα-Ρούσσου Β.	Παπαδημητρίου Μ.	Σταμουλακάτου Α.	
Κουπάρη Γ.	Παπαδογεωργάκη Ε.	Τζανακάκη Τ.	
Κούτσια-Καρούζου Χ.	Παπαπαρασκευάς Ι.	Τζανέτου Κ.	
Λεμπέση Ε.	Παππά Α.	Τζουβελέκης Λ.	

**Πληροφορίες:** Μ. Κανελλοπούλου, τηλ.: 6946 289588, e-mail: mariakanel@yahoo.com

**Σχεδίαση εντύπου:** artproductions / www.artpro.gr

Διεύθυνση Εταιρείας: Μαιάνδρου 23, 115 28 Αθήνα  
Ιδιοκτήτης: Εταιρεία Κλινικής Μικροβιολογίας και Εργαστηριακής Διαγνωστικής

**APPLIED CLINICAL MICROBIOLOGY AND LABORATORY DIAGNOSTICS**

(Appl. Clin. Microbiol. Lab. Diagn.)

Published Quarterly by the Society of Clinical Microbiology and Laboratory Diagnostics

Founded: 1986  
Founder: Antigone Arseni

**Officers of the Society**

President: Loukia Zerva  
Vice President: Stelios Chatzipanagiotou  
Secretary General: Maria Kanellopoulou  
Treasurer: Sofia Tsiplakou  
Secretary: Efstathia Perivolioti  
Members: Genovefa Chronopoulou, Maria Papadimitriou  
Associate Members: Stavroula Antonopoulou, Katerina Tarpatzi, Theophano Panagea

**Audit Committee**

Eleni Alexandrou-Athanasouli, Anastasios Doudoulakakis  
Associate Member: Konstantinos Tsiveriotis

**Editorial Board**

Editors in Chief: M. Giannaki-Psinaki, M. Kanellopoulou, L. Zerva

**Members of the Editorial Board**

Antonakos G.	Lebessi E.	Papaventsis D.	Themeli-Digalaki K.
Argyropoulou A.	Malamou-Ladas H.	Pappa A.	Trikka-Graphakos E.
Charisiadou A.	Maropoulos G.	Paraskaki E.	Tsiftsakis E.
Chatziagianni A.	Masselou K.	Paraskevopoulou P.	Tsiplakou S.
Chatzipanagiotou S.	Matsas M.	Perivolioti E.	Tzanakaki G.
Chronopoulou G.	Mentis A.	Petinaki E.	Tzanetou K.
Doudoulakakis A.	Myriagou V.	Petridou E.	Tzouvelekis L.
Drogari-Apeiranthitou M.	Nikolaou C.	Petrocheilou-Paschou V.	Vagiakou E.
Foustoukou M.	Orfanidou M.	Piperaki E-T.	Velegraki A.
Ioannidis A.	Palermos J.	Platsouka E.	Vogiatzakis E.
Kanakoudi-Kansouzidou A.	Panagea T.	Prifti E.	Vorou R.
Katsanis G.	Pangalis A.	Smilakou S.	Vyzantiadis T-A.
Kitra-Roussou V.	Papadimitriou M.	Spiliopoulou I.	
Kouppari G.	Papadogeorgaki E.	Stamoulakatou A.	
Koutsia-Karouzou C.	Papaparaskevas J.	Stathi A.	

**Information:** M. Kanellopoulou, tel. +30 6946 289588, e-mail: mariakanel@yahoo.com

**Designed by:** artproductions / www.artpro.gr

Society of Clinical Microbiology and Laboratory Diagnostics  
23, Meandrou str., 115 28 Athens, Greece

# Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διαγνωστική

Περίοδος Β / Τόμος 20 / Τεύχος 3 / Ιούλιος - Σεπτέμβριος 2015

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΕΙΣ	ΣΕΛΙΔΑ
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Λοίμωξη από τον ιό Ebola: δημόσια υγεία και κλινική πράξη</b> Ρ. Βώρου, Ε. Παπαδογιαννάκης, Β. Παπαβασιλείου</li><li>• <b>Μηχανισμοί δημιουργίας μικροβιώματος στα παιδιά</b> Φ. Πολίτη, Α. Μαυρίδου, Μ. Παπαπετροπούλου</li></ul>	103 118
<b>ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Ανάλυση αποτελεσμάτων καλλιιεργειών αίματος σε γενικό τριτοβάθμιο νοσοκομείο</b> Δ. Φούρκας, Α. Γαργαλιώνης, Α. Πανταζάτου, Ι. Δεληολάνης, Ε. Ταμπουρατζή, Α. Χατζηχαραλάμπους, Σ. Σμιλάκου</li></ul>	127
<b>ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΥΣΑ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Οξεία παγκρεατίτιδα από <i>Mycoplasma pneumoniae</i> σε παιδί</b> Μ. Δασκαλάκη, Α. Μακρή, Γ. Γεωργούλια, Ε. Στάϊκου, Σ. Καρασαρίδου, Α. Μπούσμπουλα, Ζ. Καρακατσάνη, Α. Βογιατζή</li></ul>	133
<b>ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ</b>	
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Εφαρμογή της δοκιμασίας CAMP στην ταυτοποίηση του <i>Streptococcus agalactiae</i></b> Μ. Παπαδημητρίου</li></ul>	139

# Applied Clinical Microbiology and Laboratory Diagnostics

Period B / Volume 20 / No 3 / July - September 2015

## CONTENTS

	PAGE
<b>REVIEWS</b>	
• <b>Ebola virus disease: public health and clinical management</b> R. Vorou, E. Papadogiannakis, V. Papavasileiou	103
• <b>Microbiome formation in children</b> F. Politi, A. Mavridou, M. Papapetropoulou	118
<b>RESEARCH ARTICLE</b>	
• <b>Analysis of blood culture results in a tertiary care hospital</b> D. Fourkas, A. Gargalionis, A. Pantazatou, I. Deliolanis, E. Tabouratzi, A. Chatzicharalampous, S. Smilakou	127
<b>CASE REPORT</b>	
• <b>Acute pancreatitis caused by <i>Mycoplasma pneumoniae</i> in a child</b> M. Daskalaki, A. Makri, G. Georgoulia, E. Staikou, S. Karasaridou, A. Bousboula, Z. Karakatsani, A. Voyatzi	133
<b>DIAGNOSTIC METHODOLOGY</b>	
• <b>Application of the CAMP test for the identification of <i>Streptococcus agalactiae</i></b> M. Papadimitriou	139

## ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

# Λοίμωξη από τον ιό Ebola: δημόσια υγεία και κλινική πράξη

**Ρεγγίνα Βώρου<sup>1</sup>, Εμμανουήλ Παπαδογιαννάκης<sup>2</sup>, Βασίλειος Παπαβασιλείου<sup>3</sup>**<sup>1</sup>Γραφείο Στρατηγικού Σχεδιασμού και Πολιτικής, ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ, <sup>2</sup>Τομέας Κτηνιατρικής Δημόσιας Υγείας, Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας και <sup>3</sup>Αγγειοχειρουργική Κλινική, Νοσοκομειακή Μονάδα «Σισμανόγλειο», Γ.Ν.Α. Σισμανόγλειο-Αμαλία Φλέμινγκ, Αθήνα

## Περίληψη

Η λοίμωξη από τον ιό Ebola, γνωστή και ως αιμορραγικός πυρετός Ebola, είναι ζωνόσος με υψηλή θνητότητα. Προκαλείται από RNA ιό της οικογένειας νηματοϊών, και του γένους *Ebola* που εμφανίζει πέντε είδη. Έως το 2013 περιγράφηκαν πάνω από 20 επιδημίες σε χώρες της υποσαχάρου Αφρικής. Το είδος *Zaire ebolavirus* ανακαλύφθηκε το 1976 και ευθύνεται για την υπό εξέλιξη επιδημία στις χώρες Σιέρα Λεόνε και Γουϊνέα καθώς και την επιδημία στην Λιβερία που πρόσφατα δηλώθηκε από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας ότι έληξε. Στην παρούσα εργασία έγινε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας αναφορικά με τη Δημόσια Υγεία, τον έλεγχο μετάδοσης της λοίμωξης στο νοσοκομειακό περιβάλλον και τη διαχείριση του ασθενή. Παρατίθενται στοιχεία για την ταξινόμηση του ιού, τη δομή, τα γενετικά του χαρακτηριστικά, την επιδημιολογία, την επιζωοτία, τη δεξαμενή στη φύση, τις οδούς μετάδοσης στα τροπικά δάση αλλά και στο αστικό περιβάλλον, και κυρίως στους χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας. Επίσης παρουσιάζονται οι παθογενετικοί μηχανισμοί, η παραμονή του ιού σε υγρά και εκκρίσεις μήνες μετά την ανάρρωση, στο σπέρμα για περισσότερο από έξι μήνες, η έγκαιρη υποψία, παρακολούθηση και διάγνωση, οι κίνδυνοι για το ιατρονοσηλευτικό προσωπικό, σημαντικά σημεία αναφορικά με την ένδυση και αφαίρεση του προστατευτικού εξοπλισμού, η διάγνωση και διαφορική διάγνωση, η εργαστηριακή διερεύνηση, η ελαχιστοποίηση μεταφοράς του αρρώστου και των δειγμάτων του εκτός θαλάμου απομόνωσης, η πρόοδος στις υπό δοκιμή φαρμακευτικές ουσίες και εμβόλια, η πρόγνωση, η εξέλιξη της λοίμωξης, η ανάρρωση, και η υπολειμματική νόσος.

(Λέξεις ευρετηρίου: αιμορραγικός πυρετός, ιός Ebola, επιδημία, κλινική εικόνα, διάγνωση, νοσοκομειακός έλεγχος λοιμώξεων, δημόσια υγεία)

## Εισαγωγή

Σύμφωνα με τον πιο πρόσφατο απολογισμό του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ), η παρούσα επιδημία του ιού Ebola έχει πλήξει τουλάχιστον 26.683 ανθρώπους κυρίως στη Γουϊνέα, τη Λιβερία και τη Σιέρα Λεόνε, κοστίζοντας τη ζωή σε τουλάχιστον 11.022 από αυτούς<sup>1</sup>. Οι αριθμοί αυτοί δεν θεωρούνται απολύτως ακριβείς, διότι υπάρχουν πολλές περιπτώσεις άγνωστης έκβασης, καθώς και περιπτώσεις θυμάτων τα οποία απέκρυψαν από τις αρχές οι οικείοι τους. Η Λιβερία ανακηρύχθηκε από τον ΠΟΥ ελεύθερη της νόσου στις 10 Μαΐου 2015<sup>2</sup>.

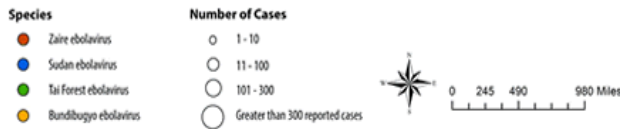
Η λοίμωξη με τον ιό Ebola, γνωστή και ως αιμορραγικός πυρετός Ebola, είναι ζωνόσος συνήθως θανατηφόρα που οφείλεται στο γένος νηματοειδών ιών *Ebolavirus* το οποίο περιλαμβάνει πέντε είδη<sup>3</sup>. Η κλινική εικόνα είναι μη ειδική, ενώ τα δύο προεξάρχοντα συμπτώματα είναι υψηλός πυρετός και κεφαλαλγία<sup>4</sup>. Μιμείται πληθώρα ιογενών και άλλων λοιμώξεων, κάνοντας τη διαφορική διάγνωση δύσκολη<sup>4</sup>.

Ο ιός μεταδίδεται στον άνθρωπο με την επαφή με άγρια ζώα και εξαπλώνεται στον πληθυσμό με επαφή με ασθενείς και βιολογικά υγρά αυτών. Η θνητότητα στην παρούσα επιδημία ήταν περίπου 50%, όμως τοπικά πλησίασε το 70% στη Γουϊνέα, ίσως και περισσότερο, λόγω πιθανής υποδήλωσης και ελλιπούς καταγραφής των θυμάτων<sup>4,5</sup>. Στις επιδημίες του παρελθόντος κυμάνθηκε από 25% έως 90%<sup>6</sup>. Η θνητότητα εξαρτάται από το είδος του ιού και την ποιότητα της διαθέσιμης υποστηρικτικής αγωγής<sup>4</sup>.

Οι αρχικές επιδημίες όπως η πρώτη που διαγνώστηκε το 1976, συνέβησαν σε απομονωμένα χωριά της Κεντρικής Αφρικής κοντά σε τροπικά δάση, ενώ η πρόσφατη επιδημία της Δυτικής Αφρικής αφορά εκτεταμένες αστικές και αγροτικές περιοχές (Εικόνα 1)<sup>6</sup>. Η αντιμετώπιση τέτοιων επιδημιών απαιτεί την συμμετοχή όλου του πληθυσμού: σωστή διαχείριση των ασθενών, επιτήρηση και διερεύνηση επαφών, εργαστηριακή υποδομή, ασφαλή πρακτική ταφής νεκρών και προσφορά κοινωνικού εθελοντικού έργου από μεγάλες κοινωνικές



EBOLAVIRUS OUTBREAKS BY SPECIES AND SIZE, 1976 - 2014



Εικόνα 1. Χάρτης των επιδημιών από είδη του ιού Ebola στην Αφρική (1976-2014), CDC<sup>6</sup>.

ομάδες. Η έγκαιρη υποστηρικτική συμπτωματική αγωγή και ενυδάτωση βελτιώνουν την επιβίωση. Δεν έχει εγκριθεί καμία φαρμακευτική αγωγή που αποδεδειγμένα αδρανοποιεί τον ιό, αλλά είναι υπό διερεύνηση διάφορες ανοσολογικές και φαρμακευτικές θεραπείες, ενώ δύο εμβόλια είναι υπό αξιολόγηση<sup>6</sup>.

Ο ΠΟΥ, το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου Νοσημάτων (European Center for Disease Control, ECDC), το Centers for Disease Control (CDC) και το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ) έχουν καθορίσει τα μέτρα που χρειάζεται να λαμβάνονται για την πρόληψη της μετάδοσης της λοίμωξης παρέχοντας τις αντίστοιχες οδηγίες.

## Ταξινόμηση και δομή του ιού

Σύμφωνα με τη Διεθνή Επιτροπή Ταξινόμησης των Ιών (2013), η οικογένεια νηματοϊών *Filoviridae* ανήκει

στη σειρά *Mononegavirales* και περιλαμβάνει τρία γένη: Genus *Ebolavirus*, Genus *Marburgvirus* και Genus *Cuevavirus* (Πίνακας 1)<sup>3</sup>. Το γένος *Ebolavirus* αποτελείται από πέντε διακριτά είδη, τα οποία περιλαμβάνουν το καθένα, ένα μόνον ιό (παρακάτω αναφερόμενοι σε

Πίνακας 1: Ταξινόμηση και ονομασία Νηματοϊών (Διεθνής Επιτροπή Ταξινόμησης Ιών, 2013)<sup>3</sup>.

Order *Mononegavirales*

Family *Filoviridae*

Genus *Marburgvirus*

Species *Marburg marburgvirus*

Virus 1: Marburg virus (MARV)

Virus 2: Ravn virus (RAVV)

Genus *Ebolavirus*

Species *Tai Forest ebolavirus*

Virus: Tai Forest virus (TAFV)

Species *Zaire ebolavirus*

Virus: Ebola virus (EBOV)

Species *Sudan ebolavirus*

Virus: Sudan virus (SUDV)

Species *Bundibugyo ebolavirus*

Virus: Bundibugyo virus (BDBV)

Species *Reston ebolavirus*

Virus: Reston virus (RESTV)

Genus "Cuevavirus" (proposed)

Species "Lloviu cuevavirus" (proposed)

Virus: Lloviu cuevavirus (LLOV)

παρένθεση), αλλά αυτό αναμένεται να αλλάξει: *Zaire ebolavirus* (Ebola virus, EBOV), *Sudan ebolavirus* (Sudan virus, SUDV), *Tai Forest ebolavirus* (Tai Forest virus, TAFV, παλιότερα γνωστός ως Cote d'Ivoire ebolavirus), *Bundibugyo ebolavirus* (Bundibugyo virus, BDBV) και *Reston ebolavirus* (Reston virus, RESTV). Οι Zaire virus, Sudan virus, Tai Forest virus και Bundibugyo virus, οι οποίοι ενδημούν στην υποσαχάρια Αφρική, προκαλούν σχεδόν πάντα κλινικά έκδηλη νόσο στον άνθρωπο<sup>7</sup>, ενώ ο Reston virus, ο μόνος που ενδημεί στις Φιλιππίνες, δεν προκαλεί ή προκαλεί μόνον ήπια κλινική νόσο στον άνθρωπο<sup>8</sup>. Ο EBOV έχει υψηλή λοιμογονικότητα για τον άνθρωπο<sup>3</sup> και ευθύνεται για την επιδημία στη Δυτική Αφρική που ξεκίνησε το Δεκέμβριο του 2013 και αποτελεί τη μεγαλύτερη επιδημία από την πρώτη εμφάνισή του κατά το 1976<sup>4,5,7,14</sup>. Όλοι οι ιοί της υποσαχάρια Αφρικής προκαλούν λοίμωξη με παρόμοια συμπτώμα-



τα στον άνθρωπο, αλλά διαφέρουν στη λοιμογονικότητα, στην εξέλιξη της νόσου και στη θνητότητα, η οποία είναι λιγότερο από 40% για τον BDBV, περίπου 50% για τον SUDV, 70 με 90% για τον EBOV, ενώ δεν είναι δυνατό να εκτιμηθεί για τον TAFV<sup>9</sup>.

Όπως και οι άλλοι νηματοϊοί, οι ιοί του γένους *Ebolavirus* έχουν φάκελο τον οποίο διαπερνούν εγκάρσια γλυκοπρωτεΐνες (GP) με τριμερείς προσεκβολές<sup>10</sup>, έχουν ενιαίο, αρνητικής πολικότητας και μονής έλικας RNA που περιλαμβάνει επτά γονίδια (NP, VP35, VP40, GP, VP30, VP24, και L), τα οποία κωδικοποιούν επτά δομικές πρωτεΐνες (nucleoprotein, polymerase cofactor, major matrix protein, transmembrane glycoprotein, transcription activator, minor matrix protein, and RNA dependent RNA polymerase), αντίστοιχα<sup>11</sup>.

Η διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη (GP) καθορίζει τον τροπισμό του ιού προς τους ιστούς και ενεργοποιεί τη φλεγμονή<sup>11</sup>. Από τους νηματοϊούς, μόνο τα είδη του γένους *Ebolavirus* αυξάνουν τη δυνατότητα κωδικοποίησης γενετικών πληροφοριών με την παραγωγή διαφορετικών μεταγράφων από το GP γονίδιο χρησιμοποιώντας την επιδιόρθωση του RNA<sup>11</sup>. Συγκεκριμένα το σύμπλοκο ριβονουκλεοπρωτεϊνών που αποτελείται από τα γονίδια NP, VP35, VP30 και L ελέγχει τη διόρθωση του γονιδίου GP σε καθορισμένη θέση επιδιόρθωσης (επτά διαδοχικές νουκλεοτιδικές βάσεις ουριδίνης μέσα στο ιϊκό RNA) με την εισαγωγή ενός ή δυο επιπλέον μη κωδικοποιούμενων βάσεων αδενοσίνης μέσα στο αγγελιαφόρο RNA για να παράξουν ποικίλα αντίγραφα μεταγραφής. Τα προϊόντα μεταγραφής κωδικοποιούν τη σύνθεση διαλυτής (soluble) μορφής της γλυκοπρωτεΐνης, sGP, ενώ τα επιδιορθωμένα προϊόντα μεταγραφής στα οποία μία όγδοη ή και ένατη βάση αδενοσίνης έχει εισαχθεί στην καθορισμένη θέση επιδιόρθωσης, οδηγεί σε μια +1- ή +2- μετακίνηση στο ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης (Open Reading Frame) με αποτέλεσμα την κωδικοποίηση της γλυκοπρωτεΐνης GP<sub>1,2</sub> και της μικρής διαλυτής (small soluble) γλυκοπρωτεΐνης ssGP.

Ο Ebola virus που προκάλεσε την πρόσφατη εκτεταμένη επιδημία της Δυτικής Αφρικής ανήκει στο είδος *Zaire ebolavirus*. Η φυλογενετική ανάλυση του στελέχους έδειξε ότι αν και η αλληλουχία του διαφέρει μόνο κατά 97%, ανήκει σε διαφορετικό κλάδο του είδους και μάλιστα βρίσκεται σε πιο αρχέγονο σημείο σε σύγκριση με τον κλάδο που προκάλεσε την πρώτη επιδημία στο πρώην Ζαΐρ, σημερινή Λαϊκή Δημοκρατία του Κογκό. Αυτό δείχνει ότι ο ιός δεν εισήχθη από την Κεντρική Αφρική όπου είχε ήδη σημειώσει επιδημίες, αλλά εξελίχθηκε τοπικά στη Δυτική Αφρική<sup>12</sup>. Επομένως, ο ιός παρουσιάζει ευρύτερη γεωγραφική κατανομή από εκείνη που ήταν γνωστή.

Το γένος *Ebolavirus* υπάρχει από την αρχαιότητα, αλλά απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1976 επειδή τότε προκάλεσε αντιληπτή επιδημία<sup>13</sup>. Το γένωμά του από τότε έως σήμερα έχει μεταβληθεί μόνο κατά 3% και έχει δείξει έως σήμερα ότι είναι από τους ιούς με μικρό αριθμό μεταλλάξεων, οι οποίες δεν έχουν οδηγήσει σε μεγαλύτερη μολυσματικότητα ή μεταδοτικότητα. Μια τέτοια μεταβολή θα απαιτούσε πολλές μεταλλάξεις σε μια πάρα πολύ μεγάλη περίοδο χρόνου<sup>13</sup>.

## Επιδημιολογία

Η πρώτη επιδημία από τον ιό Ebola συνέβη το 1976 στο βόρειο Ζαΐρ (Λαϊκή Δημοκρατία του Κογκό) (Πίνακας 2), συγκεκριμένα στην περιοχή στην οποία βρίσκεται ο ποταμός Έμπολα και ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά το είδος *Zaire ebolavirus*. Ταυτόχρονα παρουσιάστηκε και στο νότιο Σουδάν επιδημία στην οποία αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά το είδος *Sudan ebolavirus*<sup>7,14</sup>, χωρίς να είναι απολύτως γνωστό σε ποιά έκταση τα δυο είδη συνυπήρχαν σε κάθε χώρα. Το 88% των 318 κρουσμάτων και το 53% των 284 κρουσμάτων, αντιστοίχως, στις δυο χώρες, απεβίωσαν. Αναφέρονται ως μια επιδημία καθώς έχουν επιβεβαιωθεί μετακινήσεις ανθρώπων μεταξύ των δυο χωρών αποδεικνύοντας τη μετάδοση από τη μία στην άλλη<sup>7,14</sup>.

Από τότε και ως το 2012 έχουν καταγραφεί στις χώρες της υποσαχάρου Αφρικής, 21 επιδημίες από ιούς του γένους *Ebolavirus* με θνητότητα από 60% έως 90%<sup>6</sup>, ενώ επτά μόνο από αυτές παρουσίασαν πάνω από εκατό κρούσματα (Πίνακας 2). Η νόσος σπάνια είναι ασυμπτωματική<sup>7</sup>. Η επανειλημμένη χρήση μη αποστειρωμένων συρίγγων για εμβολιασμό σε χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας και η επαφή με σωματικά υγρά ασθενών προκάλεσε επιδημίες στις χώρες της υποσαχάρου Αφρικής. Σημαντική είναι και η ενδοοικογενειακή μετάδοση<sup>6,7</sup>.

Το είδος *Reston ebolavirus* έχει υψηλή μεταδοτικότητα και προκαλεί νόσο υψηλής θνητότητας στο είδος *cynomolgus monkeys* στις Φιλιππίνες. Κατά την εισαγωγή των πιθήκων το 1989-1990 από τη Μανίλα των Φιλιππίνων στο Reston της Βιρτζίνια προκλήθηκε, όπως συνήθως, ήπια νόσος σε ανθρώπους. Η διεθνής νομοθεσία επιβάλλει απομόνωση των ζώων όταν εισάγονται σε μία χώρα, με αποτέλεσμα να καθίσταται δύσκολη η μετάδοση του ιού σε ανθρώπους σε άλλη χώρα<sup>8</sup>.

Η πρόσφατη ανάδυση του ιού που ανήκει στο είδος *Zaire ebolavirus* (EBOV) στη Δυτική Αφρική, αποτελεί έκπληξη<sup>10</sup>. Το μοναδικό καταγεγραμμένο κρούσμα από το είδος *Tai Forest ebolavirus* συνέβη στα μέσα της δε-



Πίνακας 2. Επιδημίες Ebola από το 1976 έως σήμερα, σύμφωνα με το CDC<sup>6</sup>.

Ετος	Κράτος	Είδος Ιού	Αριθμός Περιστατικών	Αριθμός Θανάτων	Θνητότητα
2014	Δημοκρατία του Κονγκό	<i>Sudan ebolavirus</i>	66	49	
2014	Πολλαπλές χώρες <sup>1</sup>	<i>Zaire ebolavirus</i>	27.091	11.157	
2012	Δημοκρατία του Κονγκό	<i>Bundibugyo ebolavirus</i>	57	29	51%
2012	Ουγκάντα	<i>Sudan ebolavirus</i>	7	4	57%
2012	Ουγκάντα	<i>Sudan ebolavirus</i>	24	17	71%
2011	Ουγκάντα	<i>Sudan ebolavirus</i>	1	1	100%
2008	Δημοκρατία του Κονγκό	<i>Zaire ebolavirus</i>	32	14	44%
2007	Ουγκάντα	<i>Bundibugyo ebolavirus</i>	149	37	25%
2007	Δημοκρατία του Κονγκό	<i>Zaire ebolavirus</i>	264	187	71%
2005	Δημοκρατία του Κονγκό	<i>Zaire ebolavirus</i>	12	10	83%
2004	Σουδάν	<i>Sudan ebolavirus</i>	17	7	41%
2003 (Νοέμ.-Δεκ.)	Δημοκρατία του Κονγκό	<i>Zaire ebolavirus</i>	35	29	83%
2003 (Ιαν.-Απρ.)	Δημοκρατία του Κονγκό	<i>Zaire ebolavirus</i>	143	128	90%
2001-2002	Δημοκρατία του Κονγκό	<i>Zaire ebolavirus</i>	59	44	75%
2001-2002	Γκαμπόν	<i>Zaire ebolavirus</i>	65	53	82%
2000	Ουγκάντα	<i>Sudan ebolavirus</i>	425	224	53%
1996	Νότια Αφρική (πρώην Γκαμπόν)	<i>Zaire ebolavirus</i>	1	1	100%
1996 (Ιούλ.-Δεκ.)	Γκαμπόν	<i>Zaire ebolavirus</i>	60	45	75%
1996 (Ιαν.-Απρ.)	Γκαμπόν	<i>Zaire Ebolavirus</i>	31	21	68%
1995	Δημοκρατία του Κονγκό	<i>Zaire ebolavirus</i>	315	254	81%
1994	Ακτή Ελεφαντοστού	<i>Tai Forest ebolavirus</i>	1	0	0%
1994	Γκαμπόν	<i>Zaire ebolavirus</i>	52	31	60%
1979	Σουδάν	<i>Sudan ebolavirus</i>	34	22	65%
1977	Δημοκρατία του Κονγκό	<i>Zaire ebolavirus</i>	1	1	100%
1976	Σουδάν	<i>Sudan ebolavirus</i>	284	151	53%
1976	Δημοκρατία του Κονγκό	<i>Zaire ebolavirus</i>	318	280	88%

<sup>1</sup> Γουινέα, Σιέρα Λεόνε, Λιβερία: χώρες με εκτεταμένη μετάδοση. Στις 9 Μαΐου 2015, ο ΠΟΥ δήλωσε ότι η Λιβερία αποτελεί χώρα χωρίς μετάδοση, αλλά παραμένουν η επιτήρηση, η εφαρμογή μέτρων προστασίας της Δημόσιας Υγείας και η επίβλεψη από τον ΠΟΥ. Νιγηρία, Σενεγάλη, Ισπανία, ΗΠΑ, Μαλί, Ηνωμένο Βασίλειο: χώρες με μεμονωμένα κρούσματα κατά τον τελευταίο χρόνο.

καετίας του '90, όταν προκλήθηκε θανατηφόρος λοίμωξη σε ερευνητή στην Ακτή του Ελεφαντοστού (Cote d'Ivoire) που πραγματοποίησε νεκροψία σε ένα χιματζή προσβεβλημένο από τον ιό. Ο ιός αρχικά ονομάστηκε Cote d'Ivoire ebolavirus, και κατόπιν *Tai Forest ebolavirus*. Η διεξοδική έρευνα μέσα και γύρω από το

δάσος Tai Forest δεν απέδωσε πληροφορίες ως προς τη δεξαμενή του ιού<sup>10</sup>.

Δεν έχει εξακριβωθεί ακόμη η δεξαμενή των ιών του γένους στη φύση, ούτε έχουν προσδιοριστεί όλοι οι τρόποι μετάδοσης<sup>9</sup>. Μελέτες παρέμβασης που έλεγαν τη δυνατότητα φυτών και ζώων να αποτελούν ικανές

δεξαμενές, έδειξαν ότι ο ενοφθαλμισμός του ιού ήταν επιτυχής σε νυχτερίδες και τρωκτικά και όχι σε φυτά και αρθρόποδα<sup>15,16</sup>. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι ο ιός δεν έχει απομονωθεί από τις νυχτερίδες στο φυσικό τους περιβάλλον<sup>9</sup>. Τα είδη της υποσαχάριου Αφρικής και κυρίως το είδος *Sudan ebolavirus* έχουν υψηλό επιπολασμό και επίπτωση στο μεγάλο πληθυσμό πρωτεύοντων θηλαστικών που υπάρχει στην Αφρική. Ο *Reston ebolavirus* έχει απομονωθεί από χοίρους στις Φιλιππίνες, και η πιθανότητα να αποτελούν τα ζώα αυτά ενδιάμεσους ξενιστές ή δεξαμενή του ιού στη φύση διερευνάται<sup>9</sup>.

## Τρόπος μετάδοσης

Η μετάδοση του ιού γίνεται με επαφή και με σταγονίδια μέσα από τους βλεννογόνους, από εκδορές και λύσεις συνεχείας του δέρματος και με την παρεντερική οδό<sup>17,18</sup>. Συχνά στον άνθρωπο η μετάδοση γίνεται με την έκθεση σε σωματικά υγρά ή ιστούς ζώων που αποτελούν ασυμπτωματικούς φορείς του ιού (νυχτερίδες) ή νοσούντων πρωτεύοντων θηλαστικών (είδη πιθήκων χιμπατζήδων και συγγενικών ειδών που μαζί με τον άνθρωπο είναι τυχαίοι αποδέκτες του ιού στη φύση) και πιθανώς να ενέχονται και τρωκτικά (ποντικοί)<sup>6,9</sup>. Οι δραστηριότητες κυνηγιού, σφαγής, προετοιμασίας και κατανάλωσης αυτών προκαλούν ενοφθαλμισμό του ιού. Το ιικό φορτίο των εσωτερικών οργάνων των προσβεβλημένων πρωτεύοντων είναι  $10^7$  έως  $10^8$  rfu/g, συνεπώς το υψηλό αυτό φορτίο είναι δυνατόν να μολύνει τους βλεννογόνους του γαστρεντερικού κατά τη διάρκεια χειρισμών<sup>19</sup>. Επίσης ενοχοποιείται η κατανάλωση τροφής μολυσμένης με κόπρανα νυχτερίδων και γενικότερα με εκκρίσεις ή απεκκρίσεις αυτών<sup>7,9,20</sup>.

Συνήθως μια μεμονωμένη μετάδοση του ιού από την άγρια ζωή προς έναν άνθρωπο, είναι δυνατόν να προκαλέσει ακολούθως μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο, δηλαδή μια επιδημία, στην οποία όλα τα ιικά στελέχη που απομονώνονται έχουν μικρή γενετική απόκλιση, όπως φάνηκε και στην πρόσφατη επιδημία της Δυτικής Αφρικής. Αντίθετα, κάποιες επιδημίες έχουν προέλθει από ταυτόχρονες μολύνσεις ανθρώπων από διαφορετικά σημεία της άγριας ζωής, με αποτέλεσμα ανεύρεσης μεγαλύτερης γενετικής ποικιλίας στα απομονωμένα στελέχη του ιού. Γενικά, η γενετική ποικιλότητα κάθε ιού του γένους *Ebola* δεν ξεπερνά τα λίγα εκατοστημόρια του γενετικού υλικού του, με αποτέλεσμα να δημιουργείται διασταυρούμενη ανοσολογική απάντηση για όλα τα στελέχη του είδους<sup>12</sup>.

Ο χρόνος επώασης μετά τη μόλυνση είναι συνήθως 5-9

ημέρες, με εύρος 1-21 ημέρες<sup>5</sup>. Οι ασθενείς δεν θεωρούνται μολυσματικοί πριν αναπτύξουν συμπτώματα αν και νεότερα δεδομένα θέτουν ερωτηματικά. Δεδομένου ότι το ιικό φορτίο αυξάνει σημαντικά κατά τη διάρκεια της νόσου, οι ασθενείς στα τελικά στάδια της νόσου βρίσκονται στην πλέον μολυσματική φάση καθώς έχουν έντονη διάρροια, εμέτους, αιμορραγία ή βήχα<sup>25</sup>.

Ενώ οι πρώτες επιδημίες προκλήθηκαν από επανειλημμένη χρήση μη αποστειρωμένων συριγγών όπως σε προγράμματα εμβολιασμών<sup>7,20</sup>, στις σύγχρονες επιδημίες, η νοσοκομειακή και κατ' οίκον μετάδοση γίνονται κυρίως με τη στενή σωματική επαφή ή επαφή με βιολογικά υγρά (ιδρώτας, αίμα, κόπρανα, εμέσματα, σίελο, εκκρίσεις του γεννητικού συστήματος, ούρα, και μητρικό γάλα) ανθρώπων που έχουν μολυνθεί καθώς και με άγγιγμα νεκρών<sup>6,21</sup>.

Για τις αναπτυσσόμενες χώρες το ενδιαφέρον εστιάζεται περισσότερο στους τρόπους μετάδοσης από ασθενή προερχόμενο από πληγείσες χώρες προς τους επαγγελματίες υγείας καθώς και όσους είχαν επαφή μαζί του. Ο μεγάλος κίνδυνος μετάδοσης του ιού σε εργαζομένους στους χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας φάνηκε σε μεγάλο αριθμό επιδημιών<sup>7</sup>. Σύμφωνα με τον ΠΟΥ, ως τις 20 Ιουνίου του 2015 μεταξύ των επαγγελματιών υγείας έχουν καταγραφεί συνολικά 869 ασθενείς και 507 θάνατοι, και συγκεκριμένα, στη Γουινέα 187 περιστατικά και 94 θάνατοι, στη Σιέρρα Λεόνε 304 περιστατικά και 221 θάνατοι, και τέλος, στη Λιβερία 378 περιστατικά και 192 θάνατοι. Επιπλέον, δύο επαγγελματίες νόσησαν στο Μάλι, έντεκα στη Νιγηρία, ένας στην Ισπανία (περιέθαψε ασθενή που διακομίστηκε από ενδημική χώρα), δύο στην Αγγλία (μολύνθηκαν στη Σιέρρα Λεόνε), έξι στις ΗΠΑ (δύο μολύνθηκαν στη Σιέρρα Λεόνε και Λιβερία, αντίστοιχα, και δύο όταν νοσήλευσαν ένα επιβεβαιωμένο περιστατικό στο Τέξας) και ένας στην Ιταλία (προσβλήθηκε στη Σιέρρα Λεόνε). Οι τελευταίοι επαγγελματίες υγείας που έχουν προσβληθεί από τον ιό ήταν στις 6 Απριλίου και στις 14 Μαΐου 2015 στη Σιέρρα Λεόνε<sup>1,6,22</sup>.

Τα αίτια μετάδοσης της λοίμωξης στο ιατρονοσηλευτικό προσωπικό περιελάμβαν τα εξής: ανεπαρκής εκπαίδευση στη λήψη μέτρων για πρόληψη μετάδοσης και στη χρήση μέσων ατομικής προστασίας, ελλείψεις προσωπικού και εξοπλισμού ατομικής προστασίας, λανθασμένη χρήση του και καθυστέρηση της αιτιολογικής διάγνωσης<sup>22</sup>. Ο ακριβής μηχανισμός μετάδοσης παραμένει άγνωστος για δύο νοσηλεύτριες οι οποίες μολύνθηκαν η πρώτη κατά τη νοσηλεία ασθενούς στο Ντάλας του Τέξας, και η δεύτερη κατά τη νοσηλεία μολυσμένου εθελοντή που επέστρεψε από ενδημική περιοχή στη Μαδρίτη<sup>23,24</sup>. Ενδεχομένως, η διασωλήνωση

του ασθενούς στο Ντάλας να προκάλεσε την μετάδοση της λοίμωξης<sup>20,23</sup>.

Η μετάδοση από το άψυχο περιβάλλον είναι επίσης δυνατή. Οι νηματοϊοί φαίνεται ότι μπορούν να επιβιώσουν σε σκληρές επιφάνειες και σε υγρά για ημέρες ως εβδομάδες<sup>26,27</sup>. Μια μελέτη πεδίου ανέλυσε 31 περιβαλλοντικά δείγματα από θάλαμο απομονωμένων ασθενών με λοίμωξη SUDV<sup>28</sup>. Εφαρμόζοντας εξετάσεις αντίστροφης μεταγραφής και αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) και καλλιιεργειών, όλα τα δείγματα βρέθηκαν αρνητικά. Ωστόσο, δύο δείγματα που ελήφθησαν από γάντι που έφερε αίμα και από το πεδίο ενδοφλέβιας παρακέντησης ήταν θετικά, παρόλο που η δειγματοληψία διενεργήθηκε εκτός του θαλάμου (αποτελούσαν δείγματα μαρτύρων). Η μελέτη δεν έδειξε σημαντική περιβαλλοντική επιμόλυνση από τον ιό, αλλά η δειγματοληψία είχε γίνει μετά από καθαρισμό ρουτίνας του θαλάμου και η μεθοδολογία δεν ήταν προτυποποιημένη για περιβαλλοντικά δείγματα. Αντίθετα, περιβαλλοντική δειγματοληψία το 2014 στο κέντρο θεραπείας Ebola στη Σιέρρα Λεόνε στην πόλη Kaila HUN νωρίς το πρωί, πριν την ημερήσια καθαριότητα και απολύμανση, με πολλαπλές δειγματοληψίες από επιφάνειες που δεν ήταν ορατά αιματηρές ή ρυπαρές, έδειξε ότι πολλά δείγματα ήταν θετικά με μεθοδολογία RT-PCR<sup>20</sup>. Οι εξωτερικές επιφάνειες των 3 από τις 16 μάσκες των εργαζομένων ήταν θετικές χωρίς να φέρουν αίμα ή ορατούς ρύπους<sup>21</sup>. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν την παρουσία αερολύματος στο χώρο νοσηλείας, ή, εναλλακτικά, την επιμόλυνση των μασκών κατά την διαδικασία απόρριψής τους.

## Παθογένεια και κλινική εικόνα

Η νόσος από EBOV είναι μια συστηματική φλεγμονώδης νόσος που περιλαμβάνει το τρίπτυχο ανοσοκαταστολή, αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα και διαταραχές στο μηχανισμό της πήξης με αποτέλεσμα πολυοργανική ανεπάρκεια και καταπληξία που μιμούνται σηπτική καταπληξία<sup>9,10</sup>. Μικροσκοπική ανίχνευση αιμορραγίας είναι συνήθης αλλά η αιμορραγία ποικίλει από την υποκλινική μικροαιμορραγία, έως τη μαζική.

Η νόσος εξελίσσεται σε τρεις φάσεις, αρχικά με αιφνίδια έναρξη και μη ειδικά συμπτώματα όπως πυρετό, κεφαλαλγία, καταβολή, μυαλγία για λίγες ημέρες, ακολουθούμενη από μια δεύτερη φάση με διάρροια, εμετό, κοιλικό άλγος και έντονη αφυδάτωση<sup>5</sup>. Η συνολική διάρκεια των δυο αυτών φάσεων είναι μια περίπου εβδομάδα. Τη δεύτερη εβδομάδα, ο ασθενής μπορεί

να αναρρώσει ή να εισέλθει στην τρίτη και επικινδυνότερη φάση με κλινικές εκδηλώσεις βλάβης της νεφρικής, και της ηπατικής λειτουργίας, και ενδεχομένως εσωτερική και εξωτερική αιμορραγία (π.χ. αιμορραγία από τα ούλα, αίμα στα κόπρανα), νευρολογικές διαταραχές, καταπληξία και συχνά θάνατο<sup>6,9,12,21,29</sup>.

Τα πιο συχνά πρώιμα συμπτώματα στην επιδημία του 2014 ήταν πυρετός (87%) κόπωση (76%), ανορεξία (65%), έμετος (68%), διάρροια (66%), κεφαλαλγία, (53%), κοιλιακό άλγος (44%) και ανεξήγητη αιμορραγία (18%)<sup>5,21</sup>. Η μεγάλη συχνότητα διάρροιας και έμετου ευθύνεται για το μεγάλο αριθμό ασθενών με αφυδάτωση. Τα παιδιά έχουν ίδια κλινική εικόνα, αλλά περισσότερα συμπτώματα από το αναπνευστικό και το πεπτικό και λιγότερες νευρολογικές και αιμορραγικές εκδηλώσεις<sup>5</sup>. Παιδιά κάτω των 4 χρόνων εμφανίζουν ήπια συμπτώματα πριν ακόμη εκδηλώσουν πυρετό με αποτέλεσμα να καθυστερεί η διάγνωση<sup>21</sup>.

Η κλινική εικόνα είναι δυνατόν να είναι ήπια ή και να απουσιάζει εντελώς όπως έχει φανεί από την ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων σε υγιείς οι οποίοι είχαν επαφή με ασθενή. Αυτό αποκαλύπτει και την υποεκτίμηση και υποδηλώση της επιδημίας<sup>30</sup>.

Με εξαίρεση το είδος *Reston ebolavirus* που δεν προκαλεί νόσο στον άνθρωπο και ενδημεί στη νοτιοανατολική Ασία, η θνητότητα της λοίμωξης μπορεί να φτάνει το 90%, επί απουσίας υποστηρικτικής θεραπείας<sup>9</sup>. Το ποσοστό θνητότητας επηρεάζεται από την παρεχόμενη υποστήριξη.

Ακόμη και σήμερα δεν υπάρχουν ευρήματα τα οποία να πείθουν ότι ο EBOV της σύγχρονης επιδημίας έχει εμφανή διαφορά στη λοιμογόνο δύναμη και την παθογονικότητα σε σύγκριση με τα στελέχη του ίδιου είδους που ευθύνονται για άλλες επιδημίες<sup>12</sup>.

## Παραμονή του ιού κατά την ανάρρωση

Οι ασθενείς αποβάλουν τον ιό για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά τη λοίμωξη, εβδομάδες έως μήνες<sup>2,30</sup>. Ο ιός υπάρχει στα ούρα για μη διευκρινισμένο ακόμη χρονικό διάστημα, αλλά σίγουρα σε όλο το διάστημα ανάρρωσης του ασθενούς. Αναφέρεται απομόνωσή του ως την 26η ημέρα και ανίχνευση RNA του ιού έως και τις 40 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων<sup>31</sup>.

Σε επιζώντα στη Λιβερία αποδείχτηκε ότι μετέδιδε τον ιό δια της γενετήσιας οδού 190 ημέρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων. Το άτομο αυτό παρουσίασε αποτελέσματα θετικής ειδικής IgG και αρνητικής IgM ανοσοσφαιρίνης ορού, αρνητικής RT-PCR σε δείγμα ορού,

αλλά θετικής RT-PCR σε δείγμα σπέρματος (με χαμηλό ιικό φορτίο) 199 μέρες μετά την έναρξη συμπτωμάτων του<sup>2</sup>.

Ο ΠΟΥ, στο πλαίσιο ελέγχου των σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων, εξέδωσε την οδηγία ότι οι επιζώντες της λοίμωξης πρέπει να κάνουν σωστή και συστηματική χρήση προφυλακτικών σε κάθε σεξουαλική επαφή και πέραν των τριών μηνών έως ότου υπάρξουν νεώτερα δεδομένα<sup>2</sup>.

## Σημασία της έγκαιρης ανίχνευσης

Οι περισσότεροι ταξιδιώτες που επιστρέφουν από μια χώρα ενδημική για Ebola, συχνότερα πάσχουν από ελονοσία, τυφοειδή πυρετό, γαστρεντερίτιδα, ή άλλη βακτηριακή λοίμωξη, παρά από τον ιογενή αιμορραγικό ιό. Οι εργαζόμενοι σε χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας διατρέχουν τον κίνδυνο να θεωρήσουν πιο πιθανές αυτές τις λοιμώξεις και να μην υποψιαστούν τη λοίμωξη με Ebola μέχρι να εμφανιστούν σοβαρότερα συμπτώματα. Ως εκ τούτου συνιστάται να βρίσκονται σε εγρήγορση ώστε να ληφθούν μέτρα εγκαίρως, ιδιαίτερα σε μη ενδημικές περιοχές<sup>21</sup>. Από την άλλη πλευρά, όταν υπάρχει επιδημία, ο προσυμπτωματικός έλεγχος αλλά και η ενεργητική αναζήτηση κρουσμάτων αποτελούν σημαντικές δράσεις για τον περιορισμό της επιδημίας. Σε κάθε περίπτωση, έγκαιρη διάγνωση σημαίνει ότι πρέπει να εστιάσουμε σε εκείνους οι οποίοι ανήκουν σε ομάδες υψηλού κινδύνου<sup>21</sup>, όπως ορίστηκαν από τον ΠΟΥ και το CDC με βάση το ιστορικό επαφής και τα κλινικά σημεία (πυρετός, πονοκέφαλος, μυαλγία). Για τις περιοχές όπου η πρόσφατη επιδημία συνεχίζεται, το ιστορικό έκθεσης υπάρχει για όλους, ενώ για τις άλλες χώρες, όπως και για την Ευρώπη, το ιστορικό έκθεσης (ταξίδι, παροχή υπηρεσιών υγείας σε αυτές τις χώρες) είναι πολύ σημαντικό<sup>21,32</sup>.

Ταξιδιώτης ο οποίος επέστρεψε στην Ελλάδα (και κάθε άλλη μη ενδημική χώρα) έχοντας προηγουμένως μείνει ή ταξιδέψει σε χώρα με ευρεία μετάδοση του ιού κατά τις προηγούμενες 21 μέρες, αλλά είναι ασυμπτωματικός, εάν έχει μικρού ή μεγάλου κινδύνου έκθεση τον αναφέρουμε στον οργανισμό Δημόσιας Υγείας της χώρας (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ) και παρακολουθείται. Ο προσυμπτωματικός έλεγχος διασφαλίζει την έγκαιρη ανίχνευση ύποπτων κρουσμάτων τα οποία χρειάζονται άμεση απομόνωση και διερεύνηση. Συγκεκριμένα, όσοι πληρούν επιδημιολογικά κριτήρια και είναι ασυμπτωματικοί πρέπει να μετρούν την θερμοκρασία τους δυο φορές τη μέρα για διάστημα όσο ο μέγιστος χρόνος επώασης, δηλαδή 21 ημέρες, από την τελευταία επικίνδυνη επα-

φή, λαμβάνοντας υπ' όψιν τον τρόπο με τον οποίο ήρθαν σε ενδεχόμενη επαφή με τον ιό. Αυτό διασφαλίζει ότι θα απομονωθούν εγκαίρως. Τα ίδια ισχύουν και για τους εργαζόμενους υγείας με υποψία λοίμωξης<sup>21</sup>.

Διαφορετική οφείλει να είναι η διαχείριση ταξιδιώτη, ο οποίος επέστρεψε στην Ελλάδα (και σε κάθε άλλη μη ενδημική χώρα) έχοντας προηγουμένως μείνει ή ταξιδέψει σε χώρα με ευρεία μετάδοση του ιού κατά τις προηγούμενες 21 ημέρες, και παρουσιάζει υψηλό πυρετό και κεφαλαλγία, τα δυο προεξάρχοντα συμπτώματα, μυαλγία, έμετο, διάρροια, κοιλιακό άλγος, ή αιμορραγία. Απαιτούνται άμεσα ενημέρωση οργανισμού Δημόσιας Υγείας, απομόνωση σε χωριστό δωμάτιο, προφυλάξεις επαφής και σταγονιδίων, ενημέρωση Επιτροπής Νοσοκομειακών Λοιμώξεων και αξιολόγηση της επικινδυνότητας της επαφής του με τον ιό<sup>18,21,33</sup>.

Ο ορισμός έκθεσης διαφέρει ανά γεωγραφική περιοχή και έως σήμερα αφορά 21 ημέρες πριν την εκτίμηση του ασθενούς. Η έκθεση<sup>32</sup> διακρίνεται σε:

1. Έκθεση σε ασθενείς συμπεριλαμβανόμενων του ύπνου σε σπίτι ασθενούς, άμεση σωματική επαφή με τον ασθενή (σώμα και σωματικά υγρά) ή μετά το θάνατό του (νεκρό σώμα), άγγιγμα ρούχων και κλινοσκεπασμάτων του ασθενούς και θηλασμός (για βρέφος)
2. Έκθεση σε άρρωστα ή νεκρά ζώα (άμεση σωματική επαφή, άμεση επαφή με αίμα και σωματικά υγρά, γδάρσιμο κυνηγιού, κατανάλωση ωμού-μισοψημένου κυνηγιού), έκθεση σε εργαστηριακά δείγματα, άμεση επαφή με δείγματα από πιθανό κρούσμα, άμεση επαφή με δείγματα από πιθανά μολυσμένο ζώο
3. Άλλη έκθεση όπως επίσκεψη σε νοσοκομείο στο οποίο αντιμετωπίστηκε επιβεβαιωμένο κρούσμα νόσου, ή εμβολιασμός σε χώρα ενδημική 21 ημέρες πριν.

Η επικινδυνότητα των επαφών<sup>32,33</sup> διακρίνεται σε:

1. Υψηλού κινδύνου: επαφή με δέρμα, αίμα και βιολογικά υγρά νοσούντων (ζωντανών ή νεκρών) χωρίς λήψη μέτρων ατομικής προστασίας.
2. Χαμηλού κινδύνου: επαφή με ασθενείς σε οικιακό περιβάλλον ή με συγγενείς ασθενούς χωρίς λήψη μέτρων ατομικής προστασίας.
3. Μη γνωστή επαφή: απλή διαμονή ή ταξίδι σε χώρα με μεγάλη μετάδοση του ιού χωρίς τις ανωτέρω δραστηριότητες.

Εάν 21 ημέρες μετά την επαφή δεν υπάρχουν συμπτώματα, ο έλεγχος παύει.



## Πρόληψη μετάδοσης της λοίμωξης

Για την πρόληψη μετάδοσης της λοίμωξης<sup>18,21</sup> εφαρμόζονται τα παρακάτω:

1. Χρήση μέτρων ατομικής προστασίας
2. Μέτρα απολύμανσης και αποστείρωσης
3. Απομόνωση πιθανών κρουσμάτων από άλλους ασθενείς και μεταξύ τους, αν είναι εφικτό, και διαχωρισμός μεταξύ επιβεβαιωμένων κρουσμάτων από εκείνα που ακόμη δεν έχουν εργαστηριακή επιβεβαίωση
4. Αποφυγή επαφής με το νεκρό σώμα ύποπτου ή επιβεβαιωμένου κρούσματος και, σε περιοχές επιδημίας, αποφυγή επαφής με κάθε νεκρό σώμα
5. Άμεση ενημέρωση προϊσταμένων και Επιτροπής Νοσοκομειακών Λοιμώξεων, εάν ένας εργαζόμενος έρθει σε απροστάτευτη επαφή με σωματικά υγρά ασθενούς

Αν υπάρχει υποψία λοίμωξης χρειάζεται άμεση απομόνωση του ασθενούς πριν ακόμη γίνει περαιτέρω εκτίμησή του. Αυτό διασφαλίζει από τη μετάδοση τους συγγενείς και φίλους του, καθώς και τους εργαζομένους στους χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας. Η απομόνωση πρέπει να συνεχιστεί έως ότου υπάρξει οριστικό αρνητικό εργαστηριακό αποτέλεσμα. Επί επιβεβαίωσης της λοίμωξης, χρειάζεται διερεύνηση επαφών του ασθενούς ώστε να επιτευχθεί η έγκαιρη ανίχνευση<sup>21</sup>.

Ο εργαζόμενος υγείας με έκθεση σε σωματικά υγρά ασθενούς διερευνώμενου για τη λοίμωξη, χρειάζεται να πλύνει με σαπούνι και να ξεπλύνει με άφθονο νερό το δέρμα και να πλύνει με άφθονο νερό το βλεννογόνο που εκτέθηκε. Μολυσμένα προσωπικά αντικείμενα του ασθενή χρειάζεται να απολυμανθούν ή να απορριφθούν<sup>21</sup>.

Στην Ελλάδα, σε περίπτωση υποψίας αιμορραγικού πυρετού Ebola με βάση τα κριτήρια για κλινική υποψία και τον ορισμό κρούσματος, υπάρχει το αντίστοιχο δελτίο άμεσης δήλωσης προς το ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ, το οποίο και συντονίζει την αποστολή δειγμάτων στο εργαστήριο του Εθνικού Δικτύου για τη διάγνωση ιογενών αιμορραγικών πυρετών<sup>33</sup>. Το ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ έχει επίσης αναπτύξει κατευθυντήριες οδηγίες για τα μέτρα πρόληψης διασποράς της λοίμωξης, τη διαχείριση ατόμων που έχουν απροστάτευτη έκθεση στον ιό, τη διαχείριση κλινικών δειγμάτων στο εργαστήριο, την απολύμανση-αποστείρωση, τη διαχείριση ιματισμού και το χειρισμό των νεκρών<sup>33</sup>.

## Χώροι παροχής υπηρεσιών υγείας

Οι εργαζόμενοι στους χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας όταν χειρίζονται πιθανά ή επιβεβαιωμένα κρούσματα αιμορραγικού πυρετού Ebola θα πρέπει να λαμβάνουν όλες τις προφυλάξεις: βασικές, επαφής και σταγονιδίων, αποφυγή επαφής με το αίμα, σωματικά υγρά, μολυσμένες επιφάνειες γύρω από τον ασθενή, τα ρούχα του και τα κλινοσκεπάσματα. Συγκεκριμένα, συνιστώνται ορθές τεχνικές αναφορικά με υγιεινή χειριών, αναπνευστικές προφυλάξεις, χρήση μέτρων ατομικής προστασίας για αποφυγή σταγονιδίων και επαφή με άλλα μολυσματικά υλικά, διαχείριση αιχηρών, χειρισμός και ταφή των νεκρών, μέτρα καθαριότητας απολύμανσης περιβάλλοντος, πλύσιμο ρουχισμού και προφύλαξη από παθογόνα κατά την καρδιοαναπνευστική ανάνηψη<sup>6,17,18,34</sup>. Σε πρόσφατη οδηγία του, ο ΠΟΥ συστήνει χρήση μάσκας υψηλής αναπνευστικής προστασίας σε παρεμβατικές πράξεις που προκαλούν παραγωγή αερολύματος από τις εκκρίσεις του ασθενούς<sup>17</sup>. Το ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ προτείνει τη χρήση της σε κάθε είδους ιατρονοσηλευτική παροχή υπηρεσίας στο χώρο του ασθενούς<sup>33</sup>.

Οι εργαζόμενοι στα εργαστήρια στα οποία ελέγχονται δείγματα ανθρώπου ή ζώων για τον ιό, θα πρέπει να είναι ειδικά εκπαιδευμένοι ώστε να λαμβάνουν προφυλάξεις κατά τη διάρκεια όλων των χειρισμών και να ενημερώνονται άμεσα για το ενδεχόμενο παρουσίας του ιού, ώστε συγκεκριμένα άτομα να τα παραλάβουν και να τα επεξεργαστούν<sup>6,17,18,34</sup>. Ενδείκνυται η διενέργεια των απολύτως απαραίτητων δοκιμασιών. Το δείγμα πρέπει να τοποθετείται σε ανθεκτική υδατοστεγή συσκευασία με εμφανή σήμανση και να αποφεύγεται επιμόλυνση της εξωτερικής επιφάνειας του φιαλιδίου και της συσκευασίας. Αντίστοιχες προφυλάξεις απαιτούνται για τους εργαζόμενους στα πλυντήρια και τα συνεργεία καθαρισμού.

Πρόσφατη οδηγία του CDC (Φεβρουάριος 2015) συστήνει με πολλές εξηγήσεις τις βασικές προφυλάξεις καθώς και τις προφυλάξεις επαφής και σταγονιδίων για ύποπτα ή επιβεβαιωμένα κρούσματα με λοίμωξη με τον ιό Ebola, τη χρήση δωμάτιου απομόνωσης με παρακείμενο αποκλειστικό για αυτό λουτρό και την καταγραφή επισκεπτών και προσωπικού που εισέρχονται<sup>18</sup>. Δίδονται λεπτομερείς οδηγίες τοποθέτησης και αφαίρεσης ατομικού εξοπλισμού προστασίας, στην οποία συμπεριλαμβάνεται και η μάσκα υψηλής αναπνευστικής προστασίας, σωστής χρήσης και απολύμανσης ή απόρριψης εργαλείων, καθώς και ελαχιστοποίησης της χρήσης βελονών και αιμοληψίας. Επίσης τονίζεται η αποφυγή ενεργειών που παράγουν αερόλυμα, και αν είναι απα-

ραίτητες, η λήψη μέτρων ατομικής προστασίας με μάσκα υψηλής αναπνευστικής προστασίας, η έκθεση μόνο μικρού αριθμού εργαζομένων, η απαγόρευση επισκέψεων, η χρήση θαλάμου αρνητικής πίεσης, αν υπάρχει, και παρέχονται λεπτομερείς οδηγίες για καθαρισμό και απολύμανση επιφανειών σε νοσοκομεία. Η λήψη των μέτρων πρέπει να διαρκεί για διάρκεια εξατομικευμένη για κάθε κρούσμα και χρειάζεται παρακολούθηση και αντιμετώπιση δυναμικά εκτεθειμένου προσωπικού, εκπαίδευση του προσωπικού, και τέλος, παρακολούθηση και αντιμετώπιση δυναμικά εκτεθειμένων συγγενών και επισκεπτών.

## Κίνδυνοι για τον επαγγελματία υγείας

Ο κυριότερος κίνδυνος για τον επαγγελματία υγείας είναι η τυχαία επαφή του με το πρόσωπο ή το λαιμό του κάτω από την χειρουργική μάσκα, τη μάσκα υψηλής αναπνευστικής προστασίας, τα προστατευτικά γυαλιά ή την προστατευτική ασπίδα προσώπου που μπορεί να συμβεί και όταν προσφέρει νοσηλεία στον ασθενή και όταν αφαιρεί τον προστατευτικό εξοπλισμό του. Η μολυσματική δόση του ιού είναι μικρή γι αυτό είναι πολύ σημαντικό οι εργαζόμενοι, όταν χειρίζονται ασθενείς με λοίμωξη με τον ιό Ebola να προσέχουν πάρα πολύ τους χειρισμούς τους, ιδιαίτερα όταν βγάζουν τη στολή προστασίας.

Η χρήση εξοπλισμού ατομικής προστασίας προϋποθέτει την ιδιαίτερη προσοχή σε συγκεκριμένα σημεία. Ο εξοπλισμός πρέπει να εφαρμόζεται κατά τη σωστή σειρά και πριν την είσοδο στο δωμάτιο του ασθενή. Χρειάζεται να γίνονται μικροί διορθωτικοί χειρισμοί για όσο το δυνατόν πιο άνετη εφαρμογή-προσαρμογή του εξοπλισμού καθώς και να ελέγχεται, πριν και όχι μετά την είσοδο στο δωμάτιο του ασθενούς, ότι κανένα σημείο του δέρματος δεν παραμένει ακάλυπτο. Εκπαιδευμένος παρατηρητής πρέπει να ελέγχει όλη την τεχνική και κάλυψη, κάθε φορά που εφαρμόζεται ο εξοπλισμός σε εργαζόμενο.

Κατά την παροχή υπηρεσιών υγείας ο εξοπλισμός ατομικής προστασίας πρέπει να παραμένει τοποθετημένος σωστά πάνω στον εργαζόμενο, μέχρι αυτός να εξέλθει από το δωμάτιο του ασθενή. Κατά την παραμονή στο χώρο του ασθενή πρέπει να υπάρχει δυνατότητα παρατήρησης των κινήσεων του εργαζομένου, ώστε εάν συμβεί τυχαία αυτοενοφθαλμισμός να γίνει αντιληπτός από τον παρατηρητή ο οποίος βρίσκεται έξω από το δωμάτιο. Εάν συμβεί έκθεση του εργαζομένου (πχ απομάκρυνση γαντιού από το μανίκι, σκίσιμο του

εξωτερικού γαντιού ή τρύπημα με βελόνα), ο εργαζόμενος πρέπει να εξέλθει του δωματίου και να ακολουθήσει τις αντίστοιχες οδηγίες του νοσοκομείου για την έκθεση αυτή.

Η αφαίρεση του εξοπλισμού ατομικής προστασίας πρέπει να γίνει αργά, με αυστηρά δομημένη τεχνική και υπό την επίβλεψη εκπαιδευμένου παρατηρητή, ώστε να αποφευχθεί ο αυτοενοφθαλμισμός του εργαζομένου. Ο αντίστοιχος χώρος πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο για την αφαίρεση του εξοπλισμού, ώστε να μη συμβεί μόλυνση άλλων εργαζομένων από λάθος χειρισμό. Η σειρά αφαίρεσης πρέπει να είναι απολύτως συγκεκριμένη και να έχει διακριτά βήματα, ενώ οι εργαζόμενοι που είναι πιθανό να κληθούν να τον χρησιμοποιήσουν, πρέπει να εξασκούνται συχνά σε αυτή<sup>21,33</sup>.

## Κλινική εκτίμηση και διαφορική διάγνωση

Επί υποψίας της λοίμωξης πρώτα πρέπει να ζητούνται οι ειδικές για Ebola δοκιμασίες και στη συνέχεια ακολουθεί ο έλεγχος για τη διαφορική διάγνωση<sup>21</sup>.

Η κλινική εικόνα της λοίμωξης έχει ευρύ φάσμα που προσομοιάζει και χρειάζεται διαφορική διάγνωση από ελονοσία, αιμορραγικούς πυρετούς Marburg, Crimean Congo Haemorrhagic Fever, Lassa, τυφοειδή, ρικετσιώσεις, δάγκειο πυρετό, ιλαρά, λεπτοσπείρωση, εποχική γρίπη, γαστρεντερίτιδα και βακτηριακή σήψη. Η ελονοσία αποτελεί το κύριο αίτιο πυρετού σε ασθενείς που διαμένουν σε ενδημικές περιοχές ή ταξιδιώτες που επέστρεψαν από αυτές, και για το λόγο αυτό είναι το πρώτο που πρέπει να αποκλεισθεί. Αν μια ταχεία δοκιμασία για ελονοσία είναι θετική, χορηγείται ανθελονοσιακή αγωγή, ενώ ταυτόχρονα συνεχίζεται η απομόνωση του ασθενούς, τα μέτρα προφύλαξης και η διερεύνηση για τον ιό Ebola. Η διπλή λοίμωξη απαιτείται να αποκλεισθεί. Σε αυτή την περίπτωση δε βελτιώνεται η κλινική εικόνα του ασθενούς που λαμβάνει ανθελονοσιακή αγωγή.

Στους ασθενείς ελέγχονται τακτικά η θερμοκρασία, η αρτηριακή πίεση, ο καρδιακός και ο αναπνευστικός ρυθμός<sup>35,36</sup>. Στα κλινικά ευρήματα περιλαμβάνονται κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα, αιμορραγία, λύνξ, ηπατομεγαλία, λεμφαδενοπάθεια και νευρολογικά σημεία. Σε προχωρημένα στάδια της λοίμωξης εμφανίζεται πολυοργανική ανεπάρκεια, όπως οξεία νεφρική ανεπάρκεια, παγκρεατίτιδα και ηπατική ανεπάρκεια. Η ηπατίτιδα είναι συχνή με αυξημένα επίπεδα τρανσαμινασών, ενώ ο ίκτερος είναι σπάνιος. Η νεφρική ανεπάρκεια είναι συχνή σε προχωρημένη λοίμωξη και μπορεί



να αποφευχθεί με επαρκή και έγκαιρη ενυδάτωση του ασθενούς στα πρώτα στάδια της νόσου. Στα επόμενα στάδια της νόσου οφείλεται στη διάχυτη ενδαγγειακή πήξη ή άμεση καταστροφή του νεφρικού παρεγχύματος από τον ιό. Η μαζική αιμορραγία από το γαστρεντερικό (αιμορραγική διάρροια ή μέλαινα) είναι η πιο συνηθισμένη αιμορραγία και υποδηλώνει κακή πρόγνωση. Η εσωτερική αιμορραγία αν δεν δίνει κλινικά σημεία, δεν είναι εύκολο να διαγνωσθεί και να αντιμετωπισθεί. Σημεία σοβαρής ή προχωρημένης λοίμωξης είναι ο λυνξ, η υπόταση, η ταχυκαρδία, η ηπατομεγαλία, η σπληνομεγαλία, η σύγχυση και οι σπασμοί.

## Εργαστηριακή διερεύνηση

Όπως τονίσθηκε προηγουμένως, σε πιθανό κρούσμα Ebola, πρώτα γίνεται η ειδική RT-PCR του ιού και μετά ή ταυτόχρονα, η διερεύνηση για άλλα αίτια<sup>37</sup>. Η διάγνωση διενεργείται με ανίχνευση του γενετικού υλικού ή δομικών αντιγόνων του ιού, ή των ειδικών αντισωμάτων στον ορό.

Η κύρια διαγνωστική δοκιμασία είναι η RT-PCR που είναι απαραίτητη για κάθε πιθανό κρούσμα που βρίσκεται σε απομόνωση, καθώς το αποτέλεσμα είναι διαθέσιμο ταχύτατα, 24 έως 48 ώρες πριν την ανίχνευση αντιγόνων με ELISA<sup>37</sup>. Στις αναπτυγμένες χώρες, η RT-PCR πραγματοποιείται σε εθνικά ή κεντρικά εργαστήρια αναφοράς που διαθέτουν υψηλό επίπεδο βιοασφάλειας. Σε χώρες με επιδημία είναι δυνατό ένα διαγνωστικό εργαστήριο να εγκατασταθεί σε κομβικό σημείο, κοντά στον προσβεβλημένο πληθυσμό, και το αποτέλεσμα της μοριακής δοκιμασίας να είναι διαθέσιμο 4 ώρες μετά την άφιξη του δείγματος<sup>25</sup>. Το υψηλό ιικό φορτίο συσχετίζεται με κακή πρόγνωση<sup>25,38</sup>. Εάν το αποτέλεσμα είναι αρνητικό, η RT-PCR πρέπει να επαναληφθεί για να αποκλεισθεί η διάγνωση γιατί το ιικό φορτίο μπορεί να είναι χαμηλό και μη ανιχνεύσιμο κατά την έναρξη των συμπτωμάτων. Η ανίχνευση αντιγόνου με ELISA χρησιμοποιείται συνήθως παράλληλα με την PCR και σπάνια μόνη της. Επειδή χρονικά πρώτο είναι διαθέσιμο το αποτέλεσμα της PCR και ακολουθεί το αποτέλεσμα της ELISA, και καθώς υφίσταται η πιθανότητα εργαστηριακού σφάλματος σε εξετάσεις πεδίου, ο ΠΟΥ συστήνει την παράλληλη ανίχνευση αντιγόνου με ELISA για επιβεβαίωση της διάγνωσης<sup>9,21</sup>. Οι δύο μέθοδοι είναι θετικές 3 έως 17 ημέρες μετά την έναρξη συμπτωμάτων<sup>9,37</sup>. Το κλινικό δείγμα που εξετάζεται είναι ο ορός αίματος. Η ανίχνευση των ειδικών IgG και IgM αντισωμάτων γίνεται με ELISA, ωστόσο οι δοκιμές αυτές χρησιμοποιούνται λιγότερο για τη διάγνωση και περισσότερο για

την επιτήρηση. Τα IgM αντισώματα ανιχνεύονται από 3 έως 168 ημέρες μετά την έναρξη συμπτωμάτων με προοδευτική αύξηση και, στη συνέχεια, μείωση του τίτλου τους, ενώ τα IgG εμφανίζονται μεταξύ 6 και 18 ημερών και ανιχνεύονται για χρόνια. Ένα θετικό IgM αποτέλεσμα και αύξηση των IgG αντισωμάτων υποδεικνύουν πρόσφατη λοίμωξη<sup>9,21</sup>.

Συνοψίζοντας, η διάγνωση βασίζεται κυρίως στην μεθοδολογία RT-PCR σε εργαστήρια αναφοράς των ανεπτυγμένων χωρών, ενώ εξοπλισμός και κιτ ειδικά προσαρμοσμένο για χρήση σε απομακρυσμένες περιοχές των ενδημικών υποσαχάρων χωρών υπάρχουν διαθέσιμα<sup>9</sup>. Η εξέταση ανίχνευσης αντιγόνου πραγματοποιείται παράλληλα για επιβεβαίωση ή σπανιότερα αποτελεί την εξέταση που θέτει τη διάγνωση. Επίσης οι διαγνωστικές τεχνικές βοηθούν στη διερεύνηση επαφών ενός κρούσματος καθώς και για να διευκολυνθεί η επανένταξη των επιζώντων στην κοινότητα<sup>9,10</sup>.

Άλλες διαγνωστικές δοκιμασίες είναι η γενική αίματος και ο έλεγχος πήξης που βοηθούν στην πρόγνωση, ο έλεγχος νεφρικής λειτουργίας και ο προσδιορισμός ηλεκτρολυτών, τα αέρια αίματος, τα ηπατικά ένζυμα, η αμυλάση ορού ως δείκτης παγκρεατίτιδας και βαρύτητας λοίμωξης, οι καλλιέργειες αίματος για αποκλεισμό τυφοειδούς και σήψης, καθώς και η ακτινογραφία θώρακος, μόνο εάν είναι απαραίτητη και είναι δυνατό να πραγματοποιηθεί εντός του θαλάμου<sup>21</sup>.

Τα εργαστηριακά ευρήματα περιλαμβάνουν λευκοπενία με αριστερή στροφή πολυμορφοκυττάρων και άωρες μορφές λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα, θρομβοπενία και αύξηση ηπατικών ενζύμων<sup>6,21</sup>.

Κεντρική φλεβική γραμμή έγκαιρα τοποθετημένη επιτρέπει τη λήψη δειγμάτων χωρίς επανειλημμένες φλεβοκεντήσεις. Τα δείγματα λαμβάνονται για εργαστηριακή διερεύνηση με βάση αυστηρά πρωτόκολλα που υποδεικνύουν πότε είναι απολύτως απαραίτητο να πραγματοποιηθούν οι εργαστηριακές εξετάσεις και με την προϋπόθεση ότι υπάρχει η κατάλληλη υποδομή στο εργαστήριο υποδοχής και ότι έχουν ενημερωθεί όλοι όσοι θα χειριστούν τα δείγματα. Όπου είναι εφικτή η πραγματοποίηση βιοχημικών εξετάσεων μέσα στο θάλαμο του ασθενούς αυτό προτιμάται ώστε να μειώνεται ο κίνδυνος για το εργαστήριο. Η αποστολή δειγμάτων θα πρέπει να γίνεται με φειδώ και ακολουθώντας αυστηρά τις κατευθυντήριες γραμμές της χώρας καθώς αυξάνεται ο κίνδυνος μετάδοσης στους εργαζομένους των εργαστηρίων και άλλους επαγγελματίες υγείας.

## Θεραπευτική προσέγγιση

Η θεραπευτική προσέγγιση συνίσταται σε ό,τι είναι εφικτό από άποψης υποστηρικτικής αγωγής στο νοσοκομείο, όπως χορήγηση υγρών ενδοφλεβίως, ρύθμιση ηλεκτρολυτών, διατήρηση οξυγόνωσης και αρτηριακής πίεσης και θεραπεία συνυπαρχουσών λοιμώξεων.

Η υψηλή θνητότητα στις χώρες στις οποίες συνέβη η πρόσφατη επιδημία του 2014 σχετίζεται με την περιορισμένη πρόσβαση σε υπηρεσίες υγείας και την ανεπαρκή υποστηρικτική αγωγή σε αυτές. Συνολική υποστηρικτική αγωγή ακόμη και για πολυοργανική ανεπάρκεια υπήρχε στις προηγμένες χώρες όπου εισήχθησαν κρούσματα από τις ενδημικές περιοχές, αλλά και σε αυτές συνέβησαν θάνατοι καθώς δεν υπάρχει ειδική θεραπευτική αγωγή<sup>20,23,24</sup>.

Όταν ο ασθενής παρουσιάζει εμέτους, διάρροια και αιμορραγία, είναι δύσκολο να εκτιμηθούν τα ζωτικά του σημεία, καθώς και η απαιτούμενη ποσότητα υγρών και ηλεκτρολυτών, γεγονός που αυξάνει τη θνητότητα της νόσου<sup>41</sup>. Μαζική αιμορραγία υποδηλώνει κακή πρόγνωση, και όπου υπάρχει δυνατότητα χορηγούνται πλάσμα και αιμοπετάλια<sup>42</sup>. Σε σύσκεψη του ΠΟΥ (Σεπτέμβριος 2015), συμφωνήθηκε ότι η χρήση ολικού αίματος και άνοσου ορού (ορός με ειδικά αντισώματα ασθενούς που επέζησε της λοίμωξης) αποτελούν θεραπευτική προτεραιότητα<sup>43</sup>.

Η συμπτωματική αγωγή αφορά τον πυρετό, τον πόνο, τη ναυτία, τον έμετο, τη δυσφαγία, την επιγαστραλγία, τους σπασμούς, την ευερεθιστότητα, τη σήψη και την σηπτική καταπληξία.

Δεδομένου ότι δεν υφίσταται εγκεκριμένη φαρμακευτική θεραπευτική ή προφυλακτική αγωγή για κανένα νηματοΐδο, συνιστάται μόνο η υποστηρικτική αγωγή. Ωστόσο την τελευταία δεκαετία δοκιμάστηκαν διάφορα φάρμακα σε πιθήκους *macaques* και μερικά από αυτά είναι στο στάδιο Ι κλινικών δοκιμών σε ανθρώπους<sup>9</sup>. Σημαντικότερα θεωρούνται η θεραπεία με αντιορούς που ήταν αποτελεσματικοί στους πιθήκους *macaques* ακόμη και 3 μέρες μετά τη μόλυσή τους, καθώς και οι τροποποιητές του RNA και τα μικρά μόρια BCX4430<sup>44</sup>.

Τα πλέον υποσχόμενα εμβόλια βασίζονται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου γενετικού υλικού, που μεταφερόμενο σε πλασμίδια παράγει μόρια που προσομοιάζουν εκείνα του ιού<sup>44</sup>. Μετά την σύσκεψη του ΠΟΥ (Σεπτέμβριος 2015), έχουν δρομολογηθεί στις ΗΠΑ, στην Ευρώπη και την Αφρική, μελέτες για την ασφάλεια των δυο πλέον μελετημένων εμβολίων που βασίζονται στους vesicular stomatitis virus και chimpanzee adenovirus. Ο ΠΟΥ συνεργάζεται με όλους τους εμπλεκόμενους φορείς για να επιταχύνει την διαδικασία πα-

ραγωγής των εμβολίων και την ασφαλή χορήγησή τους στις επηρεαζόμενες περιοχές. Εάν αποδειχθεί ασφαλές, ένα εμβόλιο για τους εργαζόμενους στο χώρο της υγείας αποτελεί απόλυτη προτεραιότητα<sup>2</sup>.

## Πρόγνωση

Η έκβαση εξαρτάται από το είδος του ιού και την παρεχόμενη υποστηρικτική αγωγή. Το πλέον θανατηφόρο είδος είναι ο *Zaire ebolavirus* με θνητότητα που φτάνει το 90%. Στην επιδημία της Δυτικής Αφρικής η θνητότητα αντιστοιχούσε σε 60-70%, ενώ στις τελευταίες αναφορές περίπου σε 50%, με την επιφύλαξη της υποδήλωσης και ίσως ελλειπούς καταγραφής των θυμάτων<sup>5</sup>. Η υψηλή θνητότητα πιθανότατα συνδέεται με το γεγονός ότι οι περισσότερες επιδημίες έχουν συμβεί σε φτωχές χώρες χωρίς υποδομές και υποστηρικτικές μονάδες. Η προοδευτικά μειούμενη θνητότητα στην επιδημία αυτή οφείλεται στη δημιουργία υποδομών και υποστηρικτικών μονάδων κατάλληλων για την αντιμετώπιση των ασθενών αυτών. Εκτιμάται ότι η θνητότητα σε αναπτυσσόμενη χώρα θα μπορούσε να είναι λιγότερο από 40%<sup>41</sup>.

Η θνητότητα στα παιδιά κάτω των πέντε ετών και στους ενήλικους πάνω από 40 ετών είναι υψηλότερη συγκριτικά με εφήβους και νέους ενήλικους<sup>5,45</sup>. Οι έγκυες γυναίκες έχουν υψηλό ποσοστό αποβολών και η λοίμωξη είναι σχεδόν πάντα θανατηφόρος<sup>46</sup>.

## Πορεία της λοίμωξης

Οι ασθενείς που καταλήγουν είναι εκείνοι οι οποίοι αναπτύσσουν συμπτωματολογία νωρίς κατά τη λοίμωξη. Αυτοί εμφανίζουν πολυοργανική ανεπάρκεια και καταπληξία μεταξύ 6 και 16 ημερών (διάμεση τιμή, 9 ημέρες) από την έναρξη συμπτωμάτων<sup>38</sup>. Αντίθετα οι ασθενείς που επιζούν παρουσιάζουν μεν πυρετό για πολλές ημέρες, αλλά βελτίωση τις ημέρες 6-11<sup>54,82</sup>. Υψηλό ιικό φορτίο συσχετίζεται με υψηλή θνητότητα<sup>25,38</sup>.

## Ανάρρωση

Οι ασθενείς οι οποίοι ζουν και την 2<sup>η</sup> εβδομάδα, παρουσιάζουν 75% πιθανότητα να επιζήσουν<sup>79</sup>. Οι ασθενείς μεταφέρονται εκτός απομόνωσης όταν είναι περιπατητικοί, μπορούν να αυτοεξυπηρετηθούν, δεν έχουν διάρροια, εμέτους ή αιμορραγία, και παρουσιάζουν δύο διαδοχικές αρνητικές εξετάσεις RT-PCR με διαφορά 48 ωρών<sup>47</sup>.

Οι ασθενείς που επιζούν εμφανίζουν συνήθως παρατεταμένη ανάρρωση με αδυναμία, απώλεια βάρους,

μεταναστευτική αρθραλγία, και πιο σπάνια αποφολιδωτική δερματίτιδα, τριχόπτωση, ενώ απώτερες σπάνιες εκδηλώσεις είναι η ραγοειδίτιδα, ορχίτιδα, μυελίτιδα, παρωτίτιδα, παγκρεατίτιδα, ηπατίτιδα, ψύχωση, απώλεια ακοής και εμβοές ώτων<sup>30,48</sup>. Πιθανώς για όλα αυτά ευθύνονται τα ανοσοσυμπλέγματα. Σε παλαιότερη επιδημία, δυο χρόνια μετά την ανάρρωση βρέθηκαν διαταραχές στο ακούγραμμα (απώλεια ακοής σε μία τουλάχιστον συχνότητα) και σε σύγκριση με εκείνους που δε νόσησαν, αναφέρθηκαν συχνότερα μυαλγίες, αρθραλγίες και το αίσθημα ότι δεν έχουν καλή υγεία ή ότι δε μπορούν να εργασθούν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό<sup>30</sup>. Οι ασθενείς χρειάζεται να ενημερωθούν για την μακρά πορεία της ανάρρωσης καθώς και για τα συμπτώματα που γρηγορότερα ή αργότερα ενδέχεται να παρουσιαστούν.

Οι επιζώντες εμφανίζουν προστατευτική ανοσία στο στέλεχος του ιού (αναμένεται να διευκρινιστεί και η διασταυρούμενη ανοσία με άλλα είδη). Τα άτομα αυτά είναι πολύ σημαντικά στην ψυχολογική υποστήριξη άλλων ασθενών και 28 μέρες μετά το εξιτηριό τους ενδέχεται να τους ζητηθεί να δώσουν αίμα για τη θεραπεία άλλων ασθενών.

Οι άντρες χρειάζεται να κάνουν χρήση προφυλακτικού για περισσότερο από τρεις μήνες μετά την αποδρομή<sup>1,2,49,50</sup> και οι γυναίκες να μη θηλάζουν κατά τη διάρκεια της νόσου<sup>28</sup>. Οι επιζώντες παρουσιάζουν ψυχιατρικά κατάλοιπα και μαζί με τα παιδιά όσων κατέληξαν αντιμετωπίζουν τον κοινωνικό αποκλεισμό τόσο σε παλαιότερες όσο και στη σύγχρονη αυτή επιδημία, γεγονός που αποτελεί σοβαρό κοινωνικό πρόβλημα στις πληγείσες περιοχές<sup>19</sup>.

## Συμπεράσματα

Η επιδημία Ebola στη Δυτική Αφρική άφησε σημαντικά κοινωνικά προβλήματα και μεγάλα κενά σε ιατρονοσηλευτικό προσωπικό στις πληγείσες χώρες, ενώ έθεσε σε εγρήγορση τα συστήματα Δημόσιας Υγείας παγκοσμίως και έδειξε την πεπερασμένη δυνατότητά τους να ανταποκριθούν σε σπάνια λοιμώδη νοσήματα υψηλής λοιμογονικότητας και θνητότητας.

Η ταυτοποίηση του ιού και του παθογενετικού μηχανισμού του και η ενοχοποίηση των νυχτερίδων έχουν βοηθήσει στην κατανόηση της νόσου και των επιδημιών. Ωστόσο η παρουσία του ιού σε ζωικά είδη και ο προσδιορισμός της δεξαμενής του, είναι ζητήματα που χρειάζονται περαιτέρω έρευνα. Η άμεση απομόνωση των ασθενών και η λήψη μέτρων ατομικής προστασίας αποδείχθηκε ότι είναι αναγκαίες, ενώ η προώθηση

φαρμακευτικών σκευασμάτων σε κλινικές δοκιμές φάσης I, καθώς και η παραγωγή εμβολίων αποτελούν σημαντική πρόοδο για την αντιμετώπιση της νόσου.

Είναι επιτακτική η ανάγκη της προώθησης φαρμάκων και εμβολίων ώστε μέσα από τις ενδεδειγμένες διαδικασίες να φτάσουν στην έγκριση και κυκλοφορία. Αυτό χρειάζεται να γίνει μέσα στα επόμενα χρόνια πριν ο ιός Ebola «χτυπήσει» ξανά.

Η εργαστηριακή διάγνωση χρειάζεται να είναι διαθέσιμη κοντά στον προσβεβλημένο πληθυσμό και να είναι αξιόπιστη και ταχεία, παρέχοντας αποτελέσματα εντός 4 ωρών. Τα μακρινά εργαστήρια αναφοράς σε άλλες χώρες ή ηπείρους, πρέπει να διατηρήσουν ένα επιβιβαιωτικό και ερευνητικό ρόλο και ρόλο επιτήρησης για το μέλλον. Επιπλέον για τη βελτίωση των διαγνωστικών τεχνικών πρέπει να κοινοποιείται σε πραγματικό χρόνο στους Διεθνείς και Εθνικούς Οργανισμούς Δημόσιας Υγείας οτιδήποτε νεότερο για τις διαγνωστικές τεχνικές και για το γενετικό υλικό του ιού όπως ακριβώς γίνεται με τις επιδημίες γρίπης.

Η διεθνής ιατρική κοινότητα και εκείνη της Δημόσιας Υγείας έχουν την ευκαιρία να βελτιώσουν την παρεχόμενη εκπαίδευση και την ετοιμότητα. Αυτή τη χρονική στιγμή που δεν υφίσταται ειδική θεραπεία, ο πλέον αποτελεσματικός τρόπος να ελεγχθεί η επιδημία του ιού Ebola στη Δυτική Αφρική και να προληφθεί η διασπορά της λοίμωξης σε άλλες χώρες παραμένει η έγκαιρη διάγνωση και η εφαρμογή μέτρων πρόληψης και ελέγχου της λοίμωξης.

Διεύθυνση Επικοινωνίας:

Ρεγγίνα Βώρου, Ηπείρου 34, 15231, Χαλάνδρι,  
τηλ. 6976178074, 210-5212085, E-mail: vorou@keelpno.gr

Υποβλήθηκε: 22-06-2015

Εγκρίθηκε: 21-09-2015

## Ebola virus disease: public health and clinical management

### Rengina Vorou<sup>1</sup>, Emmanouil Papadogiannakis<sup>2</sup>, Vasileios Papavasileiou<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Office for Strategic Development and Policy, Hellenic Center for Diseases Control and Prevention, <sup>2</sup>Veterinary Public Health Department, National School of Public Health and

<sup>3</sup>Vascular Surgery Department, Sismanogleio General Hospital- A. Fleming Hospital, Athens, Greece

## Summary

The Ebola virus infection known as Ebola haemorrhagic fever is a high case fatality zoonosis, caused by an RNA virus of the order *Mononegavirales*, family *Filovirus*, genus *Ebolavirus*, with five species, and more than 20 outbreaks in sub-Saharan Africa. The species *Zaire ebolavirus* is responsible for the current ongoing epidemic. It was first recognized during an epidemic in Zaire in 1976, and it caused the ongoing epidemic in Sierra Leone and Guinea and the ceased epidemic in Liberia. The latter has been declared by the WHO as free from Ebola in May 2015. A review of the literature has been conducted, with a focus on public health and clinical aspects of the disease. New data about the nomenclature of the virus, the structure, the RNA editing, the epidemiology, epizootiology, the reservoirs, the mode of transmission in the sylvatic and the urban settings, but above all in the hospital setting, via contact, droplets, and contamination of surfaces has been conducted. The pathogenesis, the clinical presentation, the persistence of the virus in the body fluids and secretions, namely in semen for more than six months, the timely suspicion, monitoring and diagnosis, the hazards for the health care workers in the nosocomial setting, key elements about the donning and doffing of the personal protective equipment, the diagnosis and differential diagnosis, the laboratory investigation, the minimal transfer of the patient and his specimens outside his room, the progress in pharmaceutical agents and vaccines, the prognosis, the course of infection, the neurologic and other sequelae of the infection are presented in this review.

(Key Words: haemorrhagic fever, Ebola virus, outbreak, clinical manifestation, diagnosis, nosocomial infection control, public health)

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **European Centre for Disease Prevention and Control.** Outbreak of Ebola virus disease in West Africa. 11th update –11 May 2015. Stockholm: ECDC; 2015.
2. **World Health Organization.** Sexual transmission of the Ebola Virus: evidence and knowledge gaps [Internet]. Geneva: WHO; 2015. Available from: <http://www.who.int/reproductivehealth/topics/rtis/ebola-virus-semen/en/>
3. **Kuhn JH, Bao Y, Bavari S, Becker S, Bradfute S, Brister JR, et al.** Virus nomenclature below the species level: a standardized nomenclature for natural variants of viruses assigned to the family *Filoviridae*. *Arch Virol* 2013, 158: 301–311.
4. **CDC.** Ebola factsheet. 2015. [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)
5. **WHO Ebola Response Team.** Ebola virus disease in West Africa: the first 9 months of the epidemic and forward projections. *N Engl J Med* 2014, 371: 1481-95.
6. **World Health Organization.** Ebola virus disease (EVD). Fact Sheet No, 103 updated September 2014. Available from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en/>, “accessed 20 June 2015”.
7. **Report of a WHO/International Study Team.** Ebola hemorrhagic fever in Sudan, 1976. *Bull World Health Organ* 1978, 56: 271-293.
8. **Geisbert TW, Jahrling PB, Hanes MA, Zack PM.** Association of Ebola-related Reston virus particles and antigen with tissue lesions of monkeys imported to the United States. *J Comp Pathol* 1992, 106: 137-152.
9. **Feldman H, Gelsbert TW.** Ebola haemorrhagic fever. *Lancet* 2011, 377: 849-862.
10. **Feldmann H.** Ebola - a growing threat? *N Engl J Med* 2014, 371: 1375-1378.
11. **Mehedi M, Hoenen T, Robertson S, Ricklefs S, Dolan MA, Taylor T, et al.** Ebola virus RNA editing depends on the primary editing site sequence and an upstream secondary structure. *PLoS Pathog* 2013, 9: e1003677. doi:10.1371/journal.ppat.1003677
12. **Baize S, Pannetier D, Oestereich L, Rieger T, Koivogui L, Magassouba N, et al.** Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N Engl J Med* 2014, 371: 1418-1425.
13. **Why Ebola is not likely to become airborne.** Accessed on 15th may 2015 from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/pdf/mutations.pdf>
14. **Emond RT, Evans B, Bowen ET, Lloyd G.** A case of Ebola virus infection. *Br Med J* 1977, 2: 541-544.
15. **Peterson AT, Bauer JT, Mills JN.** Ecologic and geographic distribution of filovirus disease. *Emerg Infect Dis* 2004, 10: 40-47.
16. **Swanepoel R, Leman PA, Burt FJ, Zachariades NA, Braack LE, Ksiazek TG, et al.** Experimental inoculation of plants and animals with Ebola virus. *Emerg Infect Dis* 1996, 2: 321-325.
17. **Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee,** 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/isolation2007.pdf>
18. **Infection Prevention and Control Recommendations for Hospitalized Patients Under Investigation (PUIs)**



- for Ebola Virus Disease (EVD) in U.S. Hospitals. Accessed on 15th May <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/healthcare-us/hospitals/infection-control.html>
19. **Geisbert TW, Hensley LE, Larsen T, Young HA, Reed DS, Geisbert JB, et al.** Pathogenesis of Ebola hemorrhagic fever in cynomolgus macaques: evidence that dendritic cells are early and sustained targets of infection. *Am J Pathol* 2003, 163: 2347-2370.
  20. **Osterholm MT, Moore KA, Kelley NS, Brosseau LM, Wong G, Murphy FA, et al.** Transmission of Ebola viruses: what we know and what we do not know. *MBio* 2015, 6:e00137.
  21. **Beeching NJ, Fenech M, Houlihan CF.** Ebola virus disease. *BMJ* 2014, 349:g7348.
  22. **WHO.** 2014. Unprecedented number of medical staff infected with Ebola. <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/25-august-2014/en/>.
  23. **Chevalier MS, Chung W, Smith J, Weil LM, Hughes SM, Joyner SN, et al.** Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Ebola virus disease cluster in the United States—Dallas county, Texas, 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014, 63: 1087–1088.
  24. **Parra JM, Salmerón OJ, Velasco M.** The first case of Ebola virus disease acquired outside Africa. *N Engl J Med* 2014, 371: 2439–2440.
  25. **Towner JS, Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A, Crary SM, Vincent M, et al.** Rapid diagnosis of Ebola hemorrhagic fever by reverse transcription-PCR in an outbreak setting and assessment of patient viral load as a predictor of outcome. *J Virol* 2004, 78: 4330–4341.
  26. **Sagripanti J-L, Lytle CD.** Sensitivity to ultraviolet radiation of Lassa, vaccinia, and Ebola viruses dried on surfaces. *Arch Virol* 2011, 156: 489–494.
  27. **Piercy TJ, Smither SJ, Steward JA, Eastaugh L, Lever MS.** The survival of filoviruses in liquids, on solid substrates and in a dynamic aerosol. *J Appl Microbiol* 2010, 109: 1531–1539.
  28. **Bausch DG, Towner JS, Dowell SF, Kaducu F, Likwiya M, Sanchez A, et al.** Assessment of the risk of Ebola virus transmission from bodily fluids and fomites. *J Infect Dis* 2007, 196: S142-7.
  29. **Chertow DS, Kleine C, Edwards JK, Scaini R, Giuliani R, Sprecher A.** Ebolavirus disease in West Africa—clinical manifestations and management. *N Engl J Med* 2014, 371: 2054–2057.
  30. **Rowe AK, Bertolli J, Khan AS, Mukunu R, Muyembe-Tamfum JJ, Bressler D, et al.** Clinical, virologic, and immunologic follow-up of convalescent Ebola hemorrhagic fever patients and their household contacts, Kikwit, Democratic Republic of the Congo. Commission de Lutte contre les Epidémies à Kikwit. *J Infect Dis* 1999, 179: S28-35.
  31. **Kreuels B, Wichmann D, Emmerich P, Schmidt-Chanasit J, de Heer G, Kluge S, et al.** A case of severe Ebola virus infection complicated by gram-negative septicemia. *N Engl J Med* 2014, published online 22 Oct.
  32. **WHO.** Case definition recommendations for Ebola or Marburg Virus Diseases. Technical Guidelines for Integrated Disease Surveillance and Response (IDS) in the African Region, available at: [http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0007/268747/Case-definition-recommendations-for-Ebola-or-Marburg-Virus-Diseases-Eng.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0007/268747/Case-definition-recommendations-for-Ebola-or-Marburg-Virus-Diseases-Eng.pdf?ua=1). accessed on 26 March 2015.
  33. Διαχείριση ασθενών με υποψία λοίμωξης από ιό Ebola σε χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας. Επιδημία αιμορραγικού πυρετού Ebola στη Δυτική Αφρική, Οκτώβριος 2014. <http://www.keelrno.gr/Portals/0/%CE%91%CF%81%CF%87%CE%B5%CE%AF%CE%B1/Ebola/EBOLA%20oct%202014.pdf>.
  34. Interim Infection Prevention and Control guidance for Care of patients with suspected or confirmed Filovirus Hemorrhagic Fever in Health Care settings with a focus on Ebola. WHO reference number: WHO/HIS/SDS/2014.4 Rev.1. Available at: [http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/filovirus\\_infection\\_control/en/](http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/filovirus_infection_control/en/).
  35. **Fletcher TE, Fowler RA, Beeching NJ.** Understanding organ dysfunction in Ebola virus disease. *Intensive Care Med* 2014, 40: 1936-1939.
  36. **Kortepeter MG, Bausch DG, Bray M.** Basic clinical and laboratory features of filoviral hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 2011, 204: S810-816.
  37. **WHO.** Laboratory guidance for the diagnosis of Ebola virus disease: Interim recommendations, 2014. [www.who.int/](http://www.who.int/)
  38. **Bah EL, Lamah MC, Fletcher T, Jacob ST, Brett-Major DM, Sall AA, et al.** Clinical presentation of patients with Ebola virus disease in Conakry, Guinea. *N Engl J Med* 2014, 371: 1418-1425.
  39. **Formenty P, Leroy EM, Epelboin A, Libama F, Lenzi M, Sudeck H, et al.** Detection of Ebola virus in oral fluid specimens during outbreaks of Ebola virus hemorrhagic fever in the Republic of Congo. *Clin In-*

- fect Dis.* 2006, 42: 1521-1526.
40. **ECDC.** Epidemiological update of the Ebola virus disease in West Africa 2014. [www.ecdc.europa.eu](http://www.ecdc.europa.eu).
  41. **Fowler RA, Fletcher T, Fischer WA 2nd, Lamontagne F, Jacob S, Brett-Major D, et al.** Caring for critically ill patients with Ebola virus disease. Perspectives from West Africa. *Am J Respir Crit Care Med* 2014, 190: 733-737.
  42. **Wada H, Thachil J, Di Nisio M, Mathew P, Kurosawa S, Gando S, et al.** Guidance for diagnosis and treatment of DIC from harmonization of the recommendations from three guidelines. *J Thromb Haemost* 2013, published online 4 Feb.
  43. **Gulland A.** First Ebola treatment is approved by WHO. *BMJ.* 2014, 349:g5539.
  44. **Falzarano D, Feldmann H.** Possible leap ahead in filovirus therapeutics. *Cell Res.* 2014, 24: 647-648.
  45. **McElroy AK, Erickson BR, Flietstra TD, Rollin PE, Nichol ST, Towner JS, et al.** Biomarker correlates of survival in pediatric patients with ebola virus disease. *Emerg Infect Dis* 2014, 20:1683-1690.
  46. **Association of Women's Health, Obstetric and Neonatal Nurses.** Ebola: caring for pregnant and postpartum women and newborns in the United States: AWHONN practice brief number 3. *J Obstet Gynecol Neonat Nurs* 2014; published online 24 Nov. doi:10.1111/1552-6909.12518.
  47. **Schieffelin JS, Shaffer JG, Goba A, Gbakie M, Gire SK, Colubri A, et al.** KGH Lassa Fever Program; Viral Hemorrhagic Fever Consortium; WHO Clinical Response Team. Clinical illness and outcomes in patients with Ebola in Sierra Leone. *N Engl J Med* 2014, 371: 2092-2100.
  48. **Bwaka MA, Bonnet MJ, Calain P, Colebunders R, De Roo A, Guimard Y, et al.** Ebola hemorrhagic fever in Kikwit, Democratic Republic of the Congo: clinical observations in 103 patients. *J Infect Dis.* 1999, 179: S1-7.
  49. **Athalia Christie et al.** Possible Sexual Transmission of Ebola Virus - Liberia, 2015. *MMWR*, 2015, 64. <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/wk/mm64e0501.pdf>
  50. **European Centre for Disease Prevention and Control.** Possible sexual transmission of Ebola [Internet]. Stockholm2015. Available from: [http://ecdc.europa.eu/en/activities/sciadvice/\\_layouts/forms/Review\\_DispForm.aspx?List=a3216f4c-f040-4f51-9f77-a96046dbfd72&ID=781](http://ecdc.europa.eu/en/activities/sciadvice/_layouts/forms/Review_DispForm.aspx?List=a3216f4c-f040-4f51-9f77-a96046dbfd72&ID=781).



## ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

# Μηχανισμοί δημιουργίας μικροβιώματος στα παιδιά

Φωτεινή Πολίτη<sup>1</sup>, Αθηνά Μαυρίδου<sup>1</sup>, Μαρία Παπαπετροπούλου<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, ΤΕΙ Αθήνας και <sup>2</sup>Ομότιμος Καθηγήτρια Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας

## Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια ο επιστημονικός τομέας έχει στραφεί με μεγάλο ενδιαφέρον στο ανθρώπινο μικροβίωμα λόγω του μεγάλου και σημαντικού ρόλου που διαδραματίζει στην καλή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού. Το μικροβίωμα παίζει σπουδαίο ρόλο στην ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος και έτσι συμβάλλει σημαντικά στην υγεία του ανθρώπου κατά τη διάρκεια της ζωής του. Η σημαντικότερη περίοδος για τη δημιουργία του μικροβιώματος είναι η μεταγεννητική. Οι πιο καθοριστικοί παράγοντες που συμβάλλουν στη διαμόρφωση του μικροβιώματος είναι ο τρόπος με τον οποίο γεννιέται ένα παιδί (φυσιολογικός τοκετός ή καισαρική τομή) και η διατροφή τους πρώτους μήνες της ζωής του (μητρικό γάλα ή τεχνητό γάλα). Σύμφωνα όμως με πρόσφατες έρευνες υποστηρίζεται πως τα νεογνά αναπτύσσουν το μικροβίωμα τους ήδη μέσα από τη μήτρα, γεγονός που αποτελεί σήμερα θέμα πολλών μελετών. Για την πλήρη κατανόηση των μηχανισμών δημιουργίας και του ρόλου του ανθρώπινου μικροβιώματος απαιτείται περαιτέρω έρευνα.

(Λέξεις ευρετηρίου: μικροβίωμα παιδιών, τοκετός, διατροφή νεογνών)

## Εισαγωγή

Ο ανθρώπινος οργανισμός αποικίζεται από 100 τρις βακτηριακά κύτταρα, τα οποία είναι 10 φορές περισσότερα από το συνολικό αριθμό των δικών του κυττάρων. Με τον όρο «ανθρώπινο μικροβίωμα» ή αλλιώς «ανθρώπινη μικροχλωρίδα» αναφερόμαστε στην πληθώρα των μικροοργανισμών που αποικίζουν στις εσωτερικές και εξωτερικές επιφάνειες του σώματος υγιών ανθρώπων, τα γενετικά στοιχεία τους και τις περιβαλλοντικές αλληλεπιδράσεις τους σε μία δεδομένη θέση<sup>1,2</sup>.

## Μικροβίωμα νεογνών: οι επιπτώσεις του στην υγεία

Η μικροχλωρίδα μεταβάλλεται κατά τα διάφορα στάδια της ζωής ενός ατόμου. Η περίοδος κατά την οποία ο οργανισμός του ανθρώπου επηρεάζεται περισσότερο από το ανθρώπινο μικροβίωμα, σύμφωνα με τις σημε-

ρινές επικρατούσες απόψεις, είναι η μεταγεννητική περίοδος, κατά την οποία το ελεύθερο μικροβίων νεογνό μεταφέρεται από το στείρο περιβάλλον της μήτρας σε έναν κόσμο που brίθει μικροβίων. Από πρόσφατες εκτιμήσεις που έχουν γίνει, έχει αναγνωριστεί πως ο τρόπος γέννησης ενός παιδιού έχει μακροπρόθεσμες συνέπειες στο ανοσοποιητικό του σύστημα. Η άμεση επαφή των νεογέννητων με μικρόβια του γεννητικού σωλήνα κατά το φυσιολογικό τοκετό επηρεάζει την ανάπτυξη του εντερικού μικροβιώματος τους, όπως φαίνεται και από την ομοιότητα του μικροβιώματος των νεογνών με εκείνο του κόλπου των μητέρων τους<sup>3,4</sup>. Τα προερχόμενα από τη μητέρα μικρόβια εγκαθίστανται στους ιστούς του νεογνού και παίζουν σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση του έμφυτου ανοσοποιητικού του συστήματος και στην απόκτηση αποτελεσματικής ανοσολογικής ομοιοστάσης. Επιπρόσθετα, έχει παρατηρηθεί ότι οι μικροχλωρίδες των μονοζυγωτικών και διζυγωτικών διδύμων ήταν εξ ίσου όμοιες με εκείνες των υπόλοιπων αδελφών τους, υπογραμμίζοντας έτσι το γεγονός ότι ο

αποικισμός της μικροχλωρίδας από την κοινή μητέρα τους ήταν καθοριστικός παράγοντας για τη διαμόρφωση του μικροβιώματός τους.

Αντιθέτως, με την καισαρική τομή παρατηρείται διαφορετική σύσταση της μικροχλωρίδας του εντέρου των παιδιών και έχει συσχετισθεί με επίμονες δυσλειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος και χρόνιες ασθένειες αργότερα στη ζωή τους<sup>4,5</sup>. Σημαντική θεωρήθηκε η εργασία των Bonifacio και συν.<sup>6</sup> οι οποίοι μελέτησαν νεογνά των οποίων ο ένας γονιός είχε διαβήτη τύπου Ι. Τα παιδιά που γεννήθηκαν με καισαρική τομή και έφεραν το γενετικό υπόβαθρο είχαν παραπάνω από το διπλάσιο κίνδυνο να εμφανίσουν διαβήτη τύπου Ι σε σύγκριση με τα παιδιά που γεννήθηκαν φυσιολογικά. Σε άλλη μελέτη βρέθηκε 19% αύξηση εμφάνισης διαβήτη τύπου Ι σε παιδιά που γεννήθηκαν με καισαρική<sup>7</sup>. Οι Malamitsi-Puchner και συν.<sup>8</sup> βρήκαν πως μόνο ο φυσιολογικός τοκετός προωθεί την παραγωγή διάφορων κυτοκινών που συμβάλλουν στην ανοσία του νεογνού. Οι Hallstrom και συν.<sup>9</sup> βρήκαν συσχέτιση μεταξύ της καισαρικής τομής και της εμφάνισης νεκρωτικής εντεροκολίτιδας σε πρόωρα βρέφη. Πολλά βρέφη που γεννιούνται με καισαρική τομή δεν έχουν επιπλέον την έγκαιρη υποστήριξη του μητρικού γάλακτος ώστε να δημιουργήσουν μία φυσιολογική εντερική μικροχλωρίδα, γεγονός που οδηγεί σε μακροχρόνια παθολογικά εντερικά νοσήματα (γαστρεντερίτιδες, κοιλιοκάκη). Η σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας στις πρώτες ημέρες της ζωής φαίνεται, ως εκ τούτου, να είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για την επίτευξη και τη διατήρηση της καλής υγείας για τα επόμενα χρόνια. Μετά τον πρώτο χρόνο της ζωής, η εντερική μικροχλωρίδα των παιδιών αρχίζει να ομοιάζει με εκείνη ενός νεαρού ενήλικα αλλά η πλήρης σύνθεση των κυριότερων βακτηριακών πληθυσμών, δεν σταθεροποιείται μέχρι τουλάχιστον τα δύομισι πρώτα χρόνια της ζωής<sup>4</sup>.

Η ανατροπή όμως σε κάποιες απόψεις ήρθε στα μέσα του 2000 περίπου. Μέχρι τότε, οι νεογνολόγοι πίστευαν πως τα έμβρυα γεννιούνται στείρα μικροβίων και πως τα πρώτα μικρόβια που τα αποικίζουν προέρχονται από τον κόλπο της μητέρας ή από το περιβάλλον στο οποίο γεννιούνται, όπως προαναφέρθηκε. Η πεποίθηση αυτή ανατράπηκε όταν οι Mshvildadze και συν.<sup>10</sup> εξέτασαν τα πρώτα κόπρανα υγιών νεογνών (μηκόνιο) πριν από τη λήψη του πρώτου τους γεύματος. Τα αποτελέσματα ήταν απροσδόκητα καθώς βρέθηκε μία ποικιλία βακτηρίων στα κόπρανα των νεογνών. Σε αυτή την έρευνα ελέγχθηκαν το πρώτο δείγμα κοπράνων και εβδομαδιαία δείγματα 27 πρόωρων βρεφών, 23-32 εβδομάδων κύησης, που είχαν εισαχθεί στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας Νεογνών. Οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν

βασίστηκαν στον προσδιορισμό της αλληλουχίας του 16S ριβοσωματικού RNA (16S rRNA)<sup>11</sup>. Πολλά από τα γένη που ανιχνεύθηκαν στο μηκόνιο είναι κοινοί άποικοι του γαστρεντερικού σωλήνα. Για να ελεγχθεί αν η εντερική μικροχλωρίδα της μητέρας μπορεί να περάσει στα έμβρυα μέσα στη μήτρα, οι Jimenez και συν.<sup>12</sup> συνέλεξαν το μηκόνιο από 21 νεογνά που γεννήθηκαν είτε με φυσιολογικό τοκετό είτε με καισαρική τομή. Η ταυτοποίηση από τις απομονώσεις των βακτηρίων στα διάφορα μέσα ανάπτυξης έδειξε πως υπήρχαν *Enterococci* σε 17 από τα 21 δείγματα (80%), με τον *Enterococcus faecalis* να είναι το κυρίαρχο είδος, εφόσον βρέθηκε και στα 17 δείγματα. Το γένος *Staphylococcus* ήταν η δεύτερη πολυπληθέστερη ομάδα βακτηρίων εφόσον ανιχνεύθηκαν στα 11 δείγματα (52%). Ο *Staphylococcus epidermidis*, που απομονώθηκε από τα 10 δείγματα αποτέλεσε το κυρίαρχο είδος των σταφυλοκόκκων. Τα *Escherichia coli* και *Enterobacter* spp. ανιχνεύθηκαν σε 6 και 5 δείγματα αντίστοιχα από την κάθε ομάδα και αποτέλεσαν την τρίτη κυρίαρχη ομάδα. Τα υπόλοιπα είδη βακτηρίων που ανιχνεύθηκαν στη μελέτη αυτή (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Klebsiella* spp.) ήταν σπάνια. Ο αριθμός των διαφορετικών ειδών βακτηρίων που ανιχνεύθηκαν σε κάθε δείγμα μηκονίου κυμάνθηκε από 1-5 είδη.

Οι ίδιοι ερευνητές σε άλλη εργασία τους<sup>13</sup>, βρήκαν βακτήρια στο αμνιακό υγρό υγιών βρεφών, καθώς και στο αίμα του ομφάλιου λώρου και στον πλακούντα. Σε αυτή τη μελέτη, δείγματα από το αίμα του ομφάλιου λώρου συλλέχθηκαν από 20 νεογνά που γεννήθηκαν με προγραμματισμένη καισαρική τομή. Από τα 20 δείγματα αίματος, 9 (45%) εμφάνισαν ανάπτυξη βακτηρίων. Ένα αντιπροσωπευτικό ποσοστό των αποικιών που απομονώθηκαν υποβλήθηκαν σε προσδιορισμό της αλληλουχίας του 16S rDNA<sup>14</sup> και προσδιορίστηκαν τα ακόλουθα είδη: *Enterococcus faecium*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* και *Streptococcus sanguinis*. Πιθανολογείται πως τα βακτήρια του εντέρου για να αποκτήσουν πρόσβαση στο περιβάλλον της μήτρας μεταφέρονται μέσω της κυκλοφορίας του αίματος στον πλακούντα. Ενώ ο εντερικός φραγμός εμποδίζει γενικά την είσοδο των μικροβίων στο κυκλοφορικό σύστημα, τα δενδριτικά κύτταρα μπορούν να διεισδύουν ενεργά στο επιθήλιο του εντέρου, να προσροφήσουν τα βακτηρίδια από τον εντερικό αυλό και να τα μεταφέρουν ζωντανά σε όλο το σώμα καθώς μεταναστεύουν προς τα λεμφοειδή όργανα<sup>15</sup>.

Επιπλέον, οι Francino και συν.<sup>16</sup> συνέλεξαν και πάγωσαν το μηκόνιο των νεογνών από 20 μητέρες. Για να εξαλείψουν οποιοδήποτε εξωτερικό παράγοντα που

θα επηρέαζε τη μελέτη απομάκρυναν το εξωτερικό στρώμα κάθε δείγματος, που θα μπορούσε να φέρει πάνω του οποιοδήποτε μικρόβιο έχει ληφθεί μετά τη γέννηση. Στη συνέχεια τα δείγματα διερευνήθηκαν για την ύπαρξη βακτηριακού DNA. Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν πως το μηκύνιο περιέχει βακτήρια τα οποία φαίνεται να χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: περίπου στα μισά δείγματα επικρατούσαν βακτήρια που παράγουν γαλακτικό οξύ, όπως οι λακτοβάκιλλοι, ενώ τα υπόλοιπα περιείχαν εντερικά βακτήρια, όπως *E. coli*.

Συνοπτικά, οι μελέτες για την ενδομήτρια μετάδοση των μικροβίων είναι ακόμα σε πρόωρα στάδια και δεν γνωρίζουμε πολλά σχετικά με τον αριθμό και την ταυτότητα των αβλαβών βακτηρίων που διεισδύουν στον πλακούντα. Το ελπιδοφόρο είναι πως η τεχνική high-throughput sequencing<sup>17</sup> αποτελεί έναν σημαντικό μέσο, το οποίο πιθανώς θα μπορέσει να βοηθήσει τους ερευνητές να χαρακτηρίσουν στο μέλλον το «εμβρυικό μικροβίωμα» στη μήτρα<sup>15</sup>. Η επιστημονική παιδιατρική κοινότητα διερευνά κατά πόσο αυτό το μικροβίωμα βοηθά τα έμβρυα πριν από τη γέννηση. Στην περίπτωση που επιβλαβή βακτήρια καταφέρουν να εισέλθουν στην μήτρα μπορεί να προκαλέσουν ανοσολογική αντίδραση, η οποία οδηγεί στην πρόωρη γέννηση του εμβρύου. Καθώς οι επιστήμονες ερευνούν το μικροβίωμα, διερευνούν και τρόπους με τους οποίους θα μπορούσαν να το χειριστούν ώστε να θεραπεύουν διαταραχές που σχετίζονται με λοιμώξεις του εντέρου και αυτοάνοσα νοσήματα. Ελπίζεται πως αυτό κάποια μέρα θα είναι δυνατόν να εφαρμοστεί και στα έμβρυα χορηγώντας στις μητέρες έναν συνδυασμό μικροβίων, τα οποία θα καταλήξουν στα έμβρυα και θα τα προστατεύουν από μολύνσεις και από πρόωρο τοκετό<sup>10</sup>.

## Κολπική και εντερική μικροχλωρίδα εγκύων

Ο κόλπος και οι βακτηριακές κοινότητες που κατοικούν σε αυτόν βρίσκονται σε αμοιβαία ισορροπία. Ο *Lactobacillus* θεωρείται ένα γένος που έχει μεγάλη σημασία για την υγεία του κόλπου. Τα διάφορα είδη *Lactobacillus* προστατεύουν τον κόλπο των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας από παθογόνους μικροοργανισμούς και συμβάλλουν στη διατήρηση του χαμηλού pH (<4.5) μέσω της παραγωγής γαλακτικού οξέος. Η μικροχλωρίδα του κόλπου είναι μοναδική. Υφίσταται σημαντικές μεταβολές από την γέννηση μέχρι και την εμμηνόπαυση. Οι κυριότεροι μικροοργανισμοί του κόλπου είναι τέσσερα είδη *Lactobacillus* (*Lactobacillus crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii* και *L. gasseri*) και ένα ευρύ

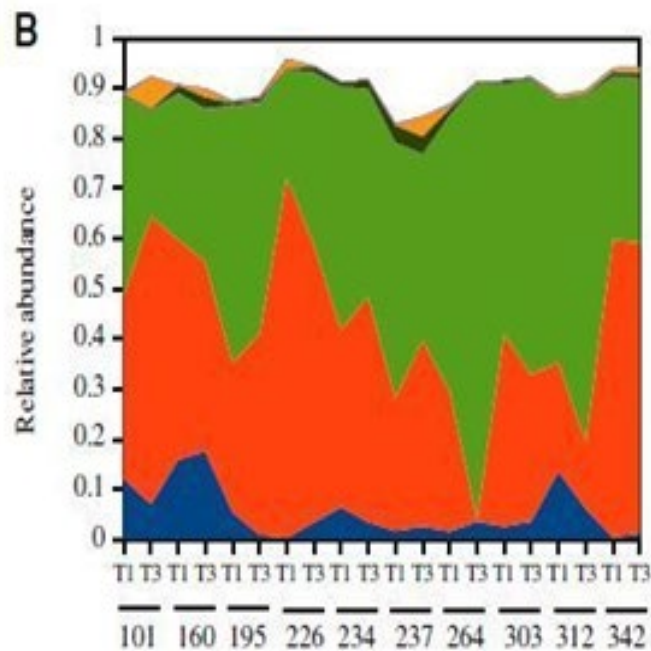
φάσμα αναερόβιων βακτηρίων. Κατά την εγκυμοσύνη στο μικροβίωμα του κόλπου των γυναικών παρατηρούνται διάφορες αλλαγές. Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Romero και συν.<sup>18</sup> ελέγχθηκαν οι παραπάνω αλλαγές. Το μικροβίωμα του κόλπου των εγκύων γυναικών χαρακτηρίστηκε με τεχνικές μαζικής παράλληλης αλληλούχησης (τεχνικές sequencing). Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να βρεθούν οι αλλαγές στη σύνθεση της μικροχλωρίδας του κόλπου των εγκύων γυναικών κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στις έγκυες γυναίκες τα βακτήρια *L. vaginalis*, *L. jensenii*, *L. crispatus* και *L. gasseri* ήταν σε μεγαλύτερη αφθονία από τις μη εγκυμονούσες αλλά και πολλά άλλα βακτήρια ανευρέθηκαν σε μικρότερο αριθμό στις έγκυες γυναίκες από τις μη έγκυες.

Η εντερική μικροχλωρίδα των εγκύων γυναικών διαφοροποιείται και αυτή. Με βάση μία έρευνα που δημοσιεύτηκε από τους Koren και συν.<sup>19</sup> σε 91 έγκυες γυναίκες, αποδεικνύεται σημαντική διαφοροποίηση της εντερικής τους μικροχλωρίδας μεταξύ του πρώτου και του τρίτου τριμήνου της κύησης αναφορικά με τα *Actinobacteria* (ένα φύλο Gram θετικών βακτηρίων με υψηλή περιεκτικότητα γουανίνης και κυτοσίνης στο DNA)<sup>20</sup>, *Bacteroidetes* (φύλο βακτηρίων αποτελούμενο από 3 μεγάλες τάξεις Gram αρνητικών μη σπορογόνων αναερόβιων ή αερόβιων βακτηρίων)<sup>21</sup>, *Firmicutes* (φύλο βακτηρίων τα περισσότερα των οποίων έχουν δομή τοιχώματος Gram θετικών βακτηρίων)<sup>21</sup>, *Proteobacteria* (μεγάλη ομάδα Gram αρνητικών βακτηρίων)<sup>22</sup> και *Verrucomicrobia* (ένα πρόσφατα αναγνωρισμένο φύλο βακτηρίων που περιλαμβάνει μόνον ελάχιστα είδη)<sup>23</sup> (Εικόνα 1). Το τρίτο τρίμηνο της κύησης παρατηρείται εμπλουτισμός σε *Proteobacteria* και *Actinobacteria*, ενώ το *Faecalibacterium prausnitzii*, μικρόβιο που παράγει βουτυρικό με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, βρίσκεται κατά μέσο όρο σε μικρότερους αριθμούς στο τρίτο τρίμηνο απ' ό,τι στην αρχή της εγκυμοσύνης<sup>19</sup>.

## Μηχανισμοί δημιουργίας μικροβίωματος κατά την παιδική ηλικία

### (Α) Φυσιολογικός τοκετός - Καισαρική τομή: επιπτώσεις στο μικροβίωμα του νεογνού

Ο τρόπος με τον οποίο έρχεται ένα παιδί στον κόσμο επιδρά στο μικροβίωμα που λαμβάνει και σε αυτό που δημιουργεί στην μετέπειτα ζωή του. Ο φυσιολογικός τοκετός και η καισαρική τομή είναι οι δύο τρόποι γέννησης ενός παιδιού και ο καθένας συμβάλλει με δια-



Εικόνα 1. Βακτηριακές κοινότητες εντερικής μικροχλωρίδας εγκύων γυναικών<sup>19</sup>. T1: 1<sup>ο</sup> τρίμηνο, T3: 3<sup>ο</sup> τρίμηνο. Οι αριθμοί αντιστοιχούν σε διαφορετικά δείγματα.

■ Actinobacteria ■ Bacteroidetes ■ Firmicutes ■ Proteobacteria ■ Verrucomicrobia

φορετικό τρόπο στην δημιουργία του μικροβιώματος. Οι διαφορές που παρατηρούνται στη σύνθεση του μικροβιώματος μεταξύ των δύο τρόπων γέννησης είναι σημαντικές. Στα νεογνά που γεννιούνται με φυσιολογικό τρόπο τα βακτήρια που προορίζονται να αποικίσουν το έντερο προέρχονται κατά κύριο λόγο από το μητρικό κανάλι γέννησης και το ορθό. Αντιθέτως, τα νεογνά που γεννιούνται με καισαρική τομή (ιδιαίτερα στις προγραμματισμένες καισαρικές που εκτελούνται πριν να ξεκινήσει ο τοκετός ) δεν έρχονται σε επαφή με τα βακτήρια του μητρικού καναλιού και του ορθού. Στην περίπτωση όμως που η καισαρική τομή διενεργείται κατά τη διάρκεια του τοκετού τότε το νεογνό μπορεί να εκτεθεί σε αυτά τα βακτήρια αλλά σε μικρότερο βαθμό από ότι στο φυσιολογικό τοκετό. Στην καισαρική, αντίθετα με τον φυσιολογικό τοκετό, τα βακτήρια που αποικίζουν το έντερο του νεογνού προέρχονται από το δέρμα και το περιβάλλον του νοσοκομείου<sup>24,25,26</sup>. Τα νεογνά που γεννιούνται με φυσιολογικό τοκετό φέρουν βακτηριακές κοινότητες παρόμοιες στη σύνθεση με εκείνες που φέρουν οι μητέρες τους στον κόλπο, ενώ τα βρέφη που γεννιούνται με καισαρική στερούνται βακτήρια του

κόλπου. Αυτά φέρουν βακτήρια που είναι παρόμοια με αυτά του δέρματος της μητέρας<sup>27,28</sup>.

Κατά συνέπεια, κυρίαρχες βακτηριακές κοινότητες των παιδιών που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό είναι οι: *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Atopobium* και *Sneathia* spp., που υπάρχουν στον κόλπο γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας, ενώ αυτών που γεννήθηκαν με καισαρική προέρχονται από το δέρμα, όπως διάφορα είδη *Staphylococcus*<sup>27,29</sup>. Η κοιλιακή μικροχλωρίδα γυναικών που γεννήσαν φυσιολογικά ήταν πολύ πιά όμοια με το μικροβίωμα του ίδιου τους του νεογνού απ' ότι με αυτό των άλλων νεογνών που είχαν γεννηθεί φυσιολογικά. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει πως η μικροχλωρίδα του κόλπου (μοναδική για κάθε μητέρα) μεταδίδεται με κάθετο τρόπο στο έμβρυο. Αντίθετα, η μικροχλωρίδα του δέρματος των μητέρων που γεννήσαν με καισαρική δεν ήταν περισσότερο όμοια με το μικροβίωμα των δικών τους νεογνών απ' ότι με αυτό άλλων νεογνών που γεννήθηκαν με τον ίδιο τρόπο. Μελέτες βασισμένες σε καλλιέργειες έχουν δείξει ότι ο αποικισμός του εντέρου με *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* και *Bacteroides* στα παιδιά που γεννήθηκαν με καισαρική τομή καθυστερεί



και οι μικροοργανισμοί είναι λιγότεροι σε αριθμό<sup>27</sup>. Η έλλειψη αυτών των συμβιωτικών ειδών οδηγεί στον συχνότερο αποικισμό των παιδιών από παθογόνα, που έχουν συσχετισθεί με το άσθμα<sup>30</sup>. Μελέτες έχουν αναφέρει διαταραγμένη μικροχλωρίδα των κοπράνων παιδιών που γεννήθηκαν με καισαρική από την 1<sup>η</sup> μέρα της ζωής τους μέχρι τον 6<sup>ο</sup> μήνα ή και μέχρι την ηλικία των 7 χρόνων<sup>26,30</sup>. Τα είδη *Bifidobacterium* αποτελούν τους κυριότερους μικροοργανισμούς της μικροχλωρίδας του εντέρου των νεογνών. Ο αποικισμός του εντέρου με *Bifidobacteria* νωρίς στη βρεφική ηλικία είναι σημαντικός παράγοντας για την μετέπειτα υγεία στη ζωή του παιδιού.

Οι Makino και συν.<sup>31</sup> διερεύνησαν κατά πόσο συγκεκριμένα στελέχη των *Bifidobacteria* μεταδίδονται από την εντερική μικροχλωρίδα της μητέρας στο έντερο του βρέφους. Τα *Bifidobacteria* που απομονώθηκαν από τα κόπρανα ταυτοποιήθηκαν με τον προσδιορισμό της αλληλούχησης πολυγενετικού τύπου (Multilocus Sequencing Typing- MLST)<sup>32</sup> και τα ποσοστά που μεταδόθηκαν στα κόπρανα των βρεφών αναλύθηκαν με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Real Time PCR)<sup>33</sup>. Συνολικά απομονώθηκαν 273 *Bifidobacteria* από τα ζευγάρια 17 μητέρων και τα βρέφη τους (ζευγάρια από φυσιολογικό τοκετό: 211 απομονώσεις, ζευγάρια από καισαρική τομή: 62 απομονώσεις). Μεταξύ των 12 ζευγαριών μητέρας-νεογνού από φυσιολογικό τοκετό τα *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. catenulatum*, *B. longum* subsp. *longum* και *B. pseudocatenulatum* ήταν τα πέντε είδη που βρέθηκαν στα κόπρανα της μητέρας και του παιδιού. Μεταξύ των 5 καισαρικών τομών κανένα από τα στελέχη δεν ταυτοποιήθηκε ως μονοφυλετικό μεταξύ των μητέρων και των παιδιών τους. Το μέγεθος του πληθυσμού των συνολικών *Bifidobacteria* αναλύθηκαν με ποσοτική PCR (quantitative PCR). Στα βρέφη που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό η συνολική συγκέντρωση των *Bifidobacteria* εμφάνισε μία αύξηση από περίπου 10<sup>4</sup> κύτταρα/g κοπράνων έως 10<sup>10</sup> κύτταρα/g κοπράνων τις πρώτες 7 μέρες μετά τη γέννηση τους. Αντίθετα η συγκέντρωση στα παιδιά που γεννήθηκαν με καισαρική τομή ήταν κάτω από 10<sup>6</sup> κύτταρα/g κοπράνων σε όλες τις χρονικές περιόδους<sup>31</sup> και τα *Bifidobacteria* ανιχνεύθηκαν σπάνια τις πρώτες εβδομάδες μετά τη γέννηση τους. Η συγκέντρωσή τους ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης τις πρώτες 3 μέρες και αυξήθηκε μόνο μέχρι τα 10<sup>6</sup> κύτταρα/g κοπράνων στις 7 ημέρες. Τα παραπάνω ευρήματα επιβεβαιώνουν πως γίνεται μετάδοση πολλών ειδών *Bifidobacterium* από τη μητέρα στο παιδί<sup>31,34</sup>. Μία ομάδα Καναδών ερευνητών<sup>35</sup> μελέτησε τα δεδομένα από 24 νεογνά εκ των οποίων τα 6 (25%) γεννήθη-

καν με καισαρική τομή. Τα βρέφη που γεννήθηκαν με καισαρική τομή εμφάνισαν σημαντικές μειώσεις στον αριθμό των *Escherichia* και *Shigella*, και απουσία των *Bacteroides* στο έντερο. Επίσης από την έρευνα αυτή διαπιστώθηκε πως τα παιδιά που γεννήθηκαν με προγραμματισμένη καισαρική τομή είχαν μικρότερο βακτηριακό πληθυσμό και ποικιλία ειδών σε σχέση με αυτά που γεννήθηκαν με επείγουσα καισαρική και με αυτά βέβαια που γεννήθηκαν φυσιολογικά.

Σε μία ακόμη μελέτη των Biasucci και συν.<sup>36</sup> ερευνηθήκαν οι επιδράσεις του τρόπου γέννησης σε νεογνά (φυσιολογικός τοκετός και καισαρική τομή) τις πρώτες 3 μέρες της ζωής τους. Για την έρευνα πραγματοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση σε πηκτή με βαθμίδωση αποδιατακτικής ικανότητας (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE)<sup>33</sup> και ηλεκτροφόρηση σε πηκτή με βαθμίδωση θερμοκρασίας (Temperature Gradient Gel Electrophoresis, TGGE)<sup>33</sup>. Με τη μέθοδο DGGE βρέθηκε ότι τα βακτήρια *Klebsiella oxytoca* και *Bifidobacterium pseudolongum* ήταν παρόντα στα κόπρανα όλων των νεογνών που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό. Διαφορές παρατηρήθηκαν στην παρουσία του βακτηρίου *E. coli* και του γένους *Bifidobacterium* τα οποία ανιχνεύθηκαν σε μεγαλύτερο ποσοστό στα παιδιά που γεννήθηκαν φυσιολογικά έναντι αυτών που γεννήθηκαν με καισαρική.

## (B) Θηλασμός, Γάλα και Διατροφή: επιπτώσεις στο μικροβίωμα του νεογνού

Το μητρικό γάλα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη διαμόρφωση της εντερικής χλωρίδας όσο και στην προστασία του νεογνού από παθογόνα βακτήρια. Ο μαζικός αδένας αποικίζεται από ανοσολογικά κύτταρα διά του «εντερο-μαζικού άξονα» (“entero-mammary axis”), με αποτέλεσμα οι εκκρίσεις από το μαστό να περιέχουν IgA αντισώματα. Είναι γνωστό επίσης ότι το μητρικό γάλα περιέχει εκτός των αντισωμάτων και άλλους παράγοντες, όπως η καζεΐνη η οποία διασπώμενη παράγει γλυκομακροπεπτίδια και η λακτοφερίνη, που προστατεύουν το μη πλήρως αναπτυγμένο έντερο του θηλάζοντος παιδιού από λοιμώδεις παράγοντες<sup>37</sup>.

Μετά από μελέτη του γάλακτος 16 γυναικών με high-throughput sequencing βρέθηκαν 100-600 είδη βακτηρίων σε κάθε δείγμα, με 9 γένη να εμφανίζονται σε καθένα από αυτά: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Ralstonia*, *Propionibacterium*, *Sphingomonas* και *Bradyrhizobiaceae*. Η μικροχλωρίδα του μητρικού γάλακτος αλλάζει με την πάροδο του χρόνου. Στην μικροχλωρίδα του πρωτογάλακτος (πύαρ), τα βακτήρια που βρέθηκαν συχνότερα

ήταν *Staphylococcus*, *Streptococcus* και *Lactococcus*, που πιθανόν προέρχονται από το δέρμα του μαστού. Αντίθετα, το γάλα που προέρχεται από το μαστό από τον πρώτο έως και τον έκτο μήνα μετά τον τοκετό περιείχε βακτήρια που απαντώνται στη στοματική κοιλότητα, όπως *Veillonella*, *Leptotrichia* και *Prevotella*, πιθανόν από τη χλωρίδα της στοματικής κοιλότητας του βρέφους<sup>15,37</sup>.

Τα μικρόβια του γάλακτος είναι από τα πρώτα που εισέρχονται στον οργανισμό και μπορεί να επηρεάζουν τη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας του βρέφους, να έχουν μεταβολικό ρόλο ή και να επιδρούν στην ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος. Η μελέτη της μικροχλωρίδας του μητρικού γάλακτος και της επίδρασής της στον οργανισμό του νεογνού μπορεί να οδηγήσει στη βελτίωση του τεχνητού γάλακτος, ενδεχομένως με την προσθήκη ωφέλιμων βακτηρίων<sup>37</sup>. Ο αποκλειστικός μητρικός θηλασμός εμπλουτίζει τη μικροχλωρίδα του εντέρου του βρέφους με *Bifidobacteria* και βακτηρίδια που παράγουν γαλακτικό οξύ, ενώ το τεχνητό γάλα οδηγεί σε μία πιο ποικιλόμορφη κοινότητα μικροοργανισμών που κυριαρχείται από *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp. και *Clostridium* spp. Το μητρικό γάλα είναι πλούσιο σε ολιγοσακχαρίτες, οι οποίοι είναι γνωστό ότι δρουν ως υποστρώματα για τη ζύμωση στο έντερο και προωθούν την ανάπτυξη των ευεργετικών μικροβίων όπως των *Bifidobacteria*. Νέες έρευνες έχουν δείξει πως το μητρικό γάλα περιέχει πολλά περισσότερα βακτήρια από ό,τι θεωρείτο παλαιότερα<sup>38</sup>. Φαίνεται πως ο θηλασμός προστατεύει από την εμφάνιση άσθματος στην παιδική ηλικία, αλλά όχι στην περίπτωση που η μητέρα είναι αλλεργική καθώς στο γάλα των αλλεργικών μητέρων περιέχονται σημαντικά χαμηλότερες ποσότητες *Bifidobacteria*, σε σύγκριση με τις μη αλλεργικές μητέρες, και τα βρέφη τους ταυτόχρονα έχουν χαμηλότερα επίπεδα *Bifidobacteria* στα κόπρανα τους. Εφόσον λοιπόν τα *Bifidobacteria* επηρεάζουν την ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος, βρέφη τα οποία δεν έχουν εκτεθεί επαρκώς σε αυτά του μητρικού γάλακτος μπορεί να εμφανίσουν διαταραχές του ανοσοποιητικού συστήματος στην μετέπειτα έκθεση του παιδιού σε μικροοργανισμούς, και να οδηγήσουν σε αλλεργικές διαταραχές<sup>30</sup>.

Μελέτες που έγιναν τις δύο τελευταίες δεκαετίες σε μεγάλους πληθυσμούς νεογνών ηλικίας  $\geq 4$  εβδομάδων, χρησιμοποιώντας τόσο καλλιεργητικές όσο και μοριακές μεθόδους, απέδειξαν πως τα *Bifidobacteria* ήταν τα πιο αντιπροσωπευτικά είδη και στα βρέφη που τρέφονταν με μητρικό γάλα και σε αυτά που τρέφονταν με τεχνητό γάλα. Στις περισσότερες μελέτες δεν σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα βρέφη που τρέφονταν

με το μητρικό και στα βρέφη που τρέφονταν με το τεχνητό γάλα<sup>39,40</sup>. Αντίθετα, οι Μπεζιρτζόγλου και συν.<sup>41</sup> παρατήρησαν πως τα βακτηριακά κύτταρα στα παιδιά που θηλάζουν είναι δύο φορές αυξημένα σε σχέση με αυτά που τρέφονται με τεχνητό γάλα. Από τα *Bifidobacteria*, τα είδη *B. breve*, *B. adolescentis*, *B. longum* και *B. bifidum* απομονώνονται και στις δύο ομάδες βρεφών, ενώ το *B. infantis* είναι τυπικό των νεογνών που τρέφονται με το μητρικό γάλα και το *B. fragilis* αυτών που τρέφονται με το τεχνητό γάλα. Μετά τα *Bifidobacteria*, στις περισσότερες μελέτες, τα *Bacteroides* spp. και *Enterobacteriaceae* αντιπροσωπεύουν τα πιο συχνά είδη που απομονώνονται από την εντερική μικροχλωρίδα των νεογνών. Επιπλέον τα νεογνά που θηλάζουν φέρουν ένα πιο σταθερό και ομοιόμορφο πληθυσμό μικροοργανισμών. Υπάρχουν όμως και κάποιες περιπτώσεις στις οποίες βρέφη που θηλάζουν και παίρνουν και συμπλήρωμα διατροφής τείνουν να μετατρέπουν το μικροβίωμα τους σε αυτό των βρεφών που τρέφονται με τεχνητό γάλα και χαρακτηρίζονται από ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών. Πιο συγκεκριμένα, είδη *Clostridium* (*C. paraputrificum*, *C. perfringens*, *C. clostridiiforme*, *C. difficile* και *C. tertium*), είδη *Streptococcus* (*S. bovis*), τα βακτήρια *Bacillus subtilis*, *Bacteroides vulgatus*, *Veillonella parvula*, *Lactobacillus acidophilus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. faecalis* και *Atorobium* spp. βρίσκονται σε υψηλότερα ποσοστά σε παιδιά που παίρνουν και συμπληρώματα διατροφής πέραν του μητρικού γάλακτος.

Με την έναρξη της κατανάλωσης στερεών τροφών γίνεται μία μετατροπή στη σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας. Σημειώνονται σημαντικές αυξήσεις των βακτηρίων *Enterococcus* και *Enterobacteriaceae* και εμφάνιση των *Bacteroides*, *Clostridium* και αναερόβιων στρεπτοκόκκων. Μεταξύ του 1<sup>ου</sup> και του 2<sup>ου</sup> έτους της ζωής, οι προαναφερόμενες διαφορές μεταξύ των νεογνών εξαλείφονται και το προφίλ του μικροβιώματος μοιάζει με εκείνο ενός ενήλικα<sup>42</sup>.

Πολυάριθμες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για τον καθορισμό των βραχυπρόθεσμων και μακροπρόθεσμων επιπτώσεων του θηλασμού στον οργανισμό. Το μικροβίωμα που αποκτάται στην πρώιμη βρεφική ηλικία έχει αποδειχθεί ότι παίζει καθοριστικό ρόλο στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα διαθέσιμα δεδομένα επισημαίνουν τον προστατευτικό ρόλο του θηλασμού ενάντια στην ανάπτυξη της διάρροιας και της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας στα νεογνά, αλλεργικών και αυτοάνοσων νοσημάτων κατά την παιδική ηλικία, αλλά και σε μεγαλύτερη ηλικία, διαβήτη, ατοπικής δερματίτιδας, ενώ σαφής είναι η μείωση του κινδύνου εμφάνισης άσθματος ή αλλεργικής ρινίτιδας.



Αργότερα στη ζωή, ο θηλασμός έχει συσχετισθεί με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (μείωση 31%), καρδιαγγειακών παθήσεων, παχυσαρκίας (μείωση 15-30%) και διαβήτη τύπου II (μείωση 40%)<sup>42,43,44</sup>.

Πολλοί διεθνείς οργανισμοί υποστηρίζουν πλέον την επιστροφή του αποκλειστικού θηλασμού και της διάρκειας του για όσο διάστημα είναι δυνατόν. Μεταξύ άλλων και η Αμερικανική Ακαδημία Παιδιατρικής πρόσφατα επιβεβαίωσε ότι τα βρέφη πρέπει να τρέφονται αποκλειστικά και μόνο με το μητρικό γάλα για τους πρώτους έξι μήνες της ζωής τους και ο θηλασμός να συνεχίζεται μέχρι το 1ο έτος της ηλικίας τους έως ότου εισαχθούν στη διατροφή τους οι συμπληρωματικές τροφές, εφόσον αυτό είναι δυνατόν<sup>44</sup>. Στην εργασία των Azad και συν.<sup>35</sup> μελετήθηκαν σε 24 νεογνά οι διαφορές στο μικροβίωμα ανάλογα με το γάλα που τρέφονται (μητρικό ή τεχνητό). Τα αποτελέσματα έδειξαν πως παιδιά που δεν θήλασαν εμφάνισαν υψηλούς αριθμούς βακτηρίων από τις οικογένειες *Peptostreptococcaceae* και *Verrucomicrobiaceae* (γένος *Akkermansia*). Επίσης η επικράτηση του *C. difficile* ήταν σημαντικά χαμηλότερη στα παιδιά που τρέφονταν αποκλειστικά με μητρικό γάλα σε σχέση με αυτά που πήραν τεχνητό. Επομένως θεωρείται πως το μητρικό γάλα είναι η κυριότερη πηγή θρεπτικών ουσιών και παρέχει στα βρέφη οφέλη που εκτείνονται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους.

Συμπερασματικά η μελέτη του ανθρώπινου μικροβιώματος είναι ένα καινούργιο και ταχέως εξελισσόμενο πεδίο έρευνας. Από τα πρώτα μόλις χρόνια της ζωής, ο τρόπος γέννησης και η διατροφή ενός παιδιού αποτελούν τους πιο καθοριστικούς παράγοντες της σύνθεσης του μικροβιώματος και της μετέπειτα διατήρησης της ομοιόστασης του ανθρώπινου οργανισμού. Διαταραχές αυτής της σύστασης του μικροβιώματος έχουν συσχετισθεί με μία σειρά από νοσήματα. Σύγχρονες μέθοδοι εξελίσσονται διαρκώς, προκειμένου να ανταποκριθούν στις ανάγκες που γεννιούνται από τον όγκο δεδομένων που προκύπτουν. Έτσι, η βαθύτερη κατανόηση της αλληλεπίδρασης του μικροβιώματος με τον ανθρώπινο ξενιστή αναμένεται να οδηγήσει στην ανάδειξη νέων θεραπευτικών και προληπτικών δυνατοτήτων.

Διεύθυνση Επικοινωνίας:

Μαρία Παπαετροπούλου, Γούναρη 35, 15343,  
Αγία Παρασκευή, τηλ: 210-6011035,  
email: mparapetro@hotmail.com

Υποβλήθηκε: 17-02-2015

Εγκρίθηκε: 19-09-2015

## Microbiome formation in children

**Fotini Politi<sup>1</sup>, Athena Mavridou<sup>1</sup>, Maria Papapetropoulou<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Medical Laboratory Department, Technological Educational Institute of Athens and <sup>2</sup>Emeritus Professor of Environmental Microbiology

### Summary

The human microbiome became an important and popular field of research because of its major importance in the human health and functions of the human body. The human microbiome plays an important role in the formation of the immune system, contributing significantly to the health state in later life. The most important period for microbiome formation is just after birth. The mode of birth delivery (vaginal or caesarean) and nutrition at the first months of life (breast or formula feeding) determine the composition of the microbiome. Recent studies brought a major change to what was understood so far. It has been proved that neonates have already created a microbiome before their birth. This recent discovery needs further investigation since it is not known whether the mother transmits bacterial species randomly to the baby or a selection of the beneficial ones takes place. In a nutshell, more time and research is ahead to the complete investigation and understanding of the human microbiome.

(Key words: microbiome, children, childbirth, neonatal nutrition)

### BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Baron S.** Normal Flora. In Medical Microbiology, 4<sup>th</sup> edition, Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996.
2. **Huang Y.** The Airway Microbiome in Asthma, In: 2<sup>nd</sup> Allergy & Respiratory Drug Discovery, San Diego, 2013.
3. **Vaughan EE, Schut F, Heilig HG, Zoetendal EG, de Vos WM, Akkermans AD.** A molecular view of the intestinal ecosystem. *Curr Issues Intest Microbiol* 2000, 1: 1–12.
4. **Mändar R, Mikelsaar M.** Transmission of mother's microflora to the newborn at birth. *Biol Neonate* 1996, 69: 30–35.
5. **Rodney RD.** Natural childbirth and breastfeeding as preventive measures of immune-microbiome dysbi-

- osis and misregulated inflammation. *J Anc Dis Prev Rem*, 2013.
6. **Bonifacio E, Warncke K, Winkler C, Wallner M, Ziegler AG.** Cesarean section and interferon-induced helicase gene polymorphisms combine to increase childhood type 1 diabetes risk. *Diabetes* 2011, 60: 3300-3306.
  7. **Cardwell CR, Stene LC, Joner G, et al.** Caesarean section is associated with an increased risk of childhood-onset type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. *Diabetologia* 2008, 51: 726-735.
  8. **Malamitsi-Puchner A, Protonotariou E, Boutsikou T, et al.** The influence of the mode of delivery on circulating cytokine concentrations in the perinatal period. *Early Hum Dev* 2005, 81: 387-392.
  9. **Hällström M, Eerola E, Vuento R, et al.** Effects of mode of delivery and necrotising enterocolitis on the intestinal microflora in preterm infants. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004, 23: 463-470.
  10. **Mshvildadze M, Neu J, Shuster J, Theriaque D, Li N, Mai V.** Intestinal microbial ecology in premature infants assessed using non-culture based techniques. *The Journal of Pediatrics* 2010, 156: 20-25.
  11. **Janda JM, Abbott SL.** 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *J Clin Microbiol* 2007, 45: 2761-2764.
  12. **Jimenez E, Marin ML, Martin R, Odriozola JM, Olivares M, et al.** Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res Microbiol* 2008, 159: 187-193.
  13. **Jiménez E, Fernández L, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Nueno-Palop C, et al.** Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr Microbiol* 2005, 51: 270-274.
  14. **Woo PC, Lau SK, Teng JL, Tse H, Yuen KY.** Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect* 2008, 14:908-34.
  15. **Funkhouser LJ, Bordenstein SR. Mom Knows Best:** The universality of maternal microbial transmission. *PLoS Biol* 2013, 11: e1001631.
  16. **Francino MP, Gosalbes MJ, Llop S, Vallès Y, Moya A, Ballester F.** Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clin Exp Allergy* 2013, 43: 198-211.
  17. **Sadava DE, Hillis DM, Heller HC, Berenbaum M.** Life: The Science of Biology, Ninth Edition, 2010.
  18. **Romero R, Hassan S, Gajer P, Tarca A, Fadrosch D, Nikita L, et al.** The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome* 2014, 2: 4.
  19. **Koren O, Goodrich J, Cullender T, Spor A, Laitinen K, Kling Backhed H, et al.** Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell* 2012, 150: 470-480.
  20. **Ventura M, Canchaya C, Tauch A, et al.** Genomics of *Actinobacteria*: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol Mol Biol Rev* 2007, 71:495-548.
  21. **Armougom F, Raoult D.** Use of pyrosequencing and DNA barcodes to monitor variations in *Firmicutes* and *Bacteroidetes* communities in the gut microbiota of obese humans. *BMC Genomics* 2008, 9: 576.
  22. **Gupta RS.** The phylogeny of proteobacteria: relationships to other eubacterial phyla and eukaryotes. *FEMS Microbiol. Rev* 2000, 24: 367-402.
  23. **Kielak A, Rodrigues JL, Kuramae EE, Chain PS, van Veen JA, Kowalchuk GA.** Phylogenetic and metagenomic analysis of Verrucomicrobia in former agricultural grassland soil. *FEMS Microbiol Ecol* 2010, 71: 23-33.
  24. **Biasucci G, Rubini M, Riboni S, et al.** Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Human Development* 2010, 86: 13-15.
  25. **Penders J, Tjhijs C, Vink C, et al.** Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006, 118: 511-521.
  26. **Salimen S, Gibson GR, McCartney AL.** Influence of mode of delivery on gut microbiota in seven year old children. *Gut* 2004, 53: 1388-1389.
  27. **Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al.** Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci* 2010, 107: 11971-5.
  28. **Rigon G, Vallone C, Lucantoni V, Signore F.** Maternal factors pre- and during delivery contribute to gut microbiota shaping in newborns. *Front Cell Infect Microbiol* 2012, 2: 93.
  29. **Neu J, Rushing J.** Cesarean versus vaginal delivery:

- long term infant outcomes and the Hygiene Hypothesis. *Clinics in Perinatology* 2011, 38: 321–331.
30. **Azad MB, Kozyrskyj AL.** Perinatal programming of asthma: the role of gut microbiota. *Clin Dev Immunol* 2012, 2012: 3-5.
  31. **Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Kubota H, Gawad A, Sakai T, et al.** Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. *PLoS One* 2013, 8: e78331.
  32. **Maiden MC, et al.** Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95: 3140-3145.
  33. **Γύπας Φ, Μεντής Α.-Φ.Α.** Τεχνικές μελέτης των φυσιολογικών μικροχλωρίδων του ανθρώπου - μεταγονιδιωματική. Ελληνική Μικροβιολογική Εταιρεία 2014, 59(2).
  34. **Huurre A, Kalliomäki M, Rautava S, Rinne M, Salmiinen S, Isolauri E.** Mode of delivery - effects on gut microbiota and humoral immunity. *Neonatology* 2008, 93: 236-240.
  35. **Azad MB, Konya T, Maughan H, Guttman DS, Field CJ, Chari RS, et al.** Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *CAMJ* 2013, 185: 385-94.
  36. **Biasucci G, Benenati B, Morelli L, Bessi E, Boehm G.** Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *J Nutr* 2008, 138: 1796-1800.
  37. **Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A.** The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr* 2012, 96: 544–551.
  38. **Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, et al.** Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS One* 2011, 6(6).
  39. **Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V.** Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr* 2003, 91: 48–55.
  40. **Fallani M, Amarri S, Uusijarvi A, Khanna S, Aguilera M, Gil A, et al.** Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centers. *Microbiology* 2011, 157: 1385–1392.
  41. **Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW.** Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe* 2011, 17: 478–482.
  42. **Guaraldi F, Salvatori G.** Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Front Cell Infect Microbiol* 2012, 2: 94.
  43. **American Academy of Pediatrics.** Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 2012, 129: 827-837.
  44. **Dietert R.** Natural childbirth and breastfeeding as preventive measures of immune-microbiome dysbiosis and misregulated inflammation. *J Anc Dis Prev Rem* 2013.

## ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

# Ανάλυση αποτελεσμάτων καλλιιεργειών αίματος σε γενικό τριτοβάθμιο νοσοκομείο

Δημήτριος Φούρκας, Αντώνιος Γαργαλιώνης, Αγγελική Πανταζάτου, Ιωάννης Δεληολάνης, Ελπίδα Ταμπουρατζή, Ανδρέας Χατζηχαλαράμπος, Σταυρούλα Σμιλάκου

Εργαστήριο Μικροβιολογίας, ΓΝΑ «Λαϊκό», Αθήνα

## Περίληψη

Η μικροβιαμιά αποτελεί μια σοβαρή μορφή λοίμωξης και κύρια αιτία θανάτου στους νοσοκομειακούς ασθενείς. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η καταγραφή των βακτηριακών στελεχών που απομονώθηκαν από αιμοκαλλιέργειες σε χρονικό διάστημα ενός έτους στο νοσοκομείο «Λαϊκό». Οι coagulase-negative staphylococci (CoNS) απομονώθηκαν συχνότερα από οποιονδήποτε άλλο μικροοργανισμό (163 από 721 περιπτώσεις, 22,6%). Αν και ταυτοποιήθηκαν σε επίπεδο είδους κατά το μεγαλύτερο ποσοστό τους, το 90,8% (148 στελέχη) των CoNS αξιολογήθηκε ως επιμόλυνση και μόνο το 9,2% (15 στελέχη) ως αίτιο μικροβιαμίας. Τα Gram αρνητικά βακτήρια αποδείχθηκαν ως το πιο συχνό αίτιο βακτηριαμίας (225/405 περιστατικά, 55,6%) με πρώτο σε σειρά συχνότητας το *Escherichia coli*. Ακολουθούσαν τα Gram θετικά βακτήρια (118/405 περιστατικά, 29,1%) με πρώτα σε συχνότητα τα *Enterococcus spp.* και *Staphylococcus aureus*. Ζυμομύκητες και αναερόβια βακτήρια απομονώθηκαν σε ποσοστό 10,1% (41/405 περιστατικά) και 5,2% (21/405 περιστατικά) των περιπτώσεων, αντίστοιχα.

(Λέξεις ευρητηρίου: μικροβιαμιά, καλλιέργεια αίματος)

## Εισαγωγή

Η καλλιέργεια αίματος αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο για τους επαγγελματίες υγείας όσον αφορά την ανίχνευση μικροοργανισμών στην κυκλοφορία. Αποτελεί μέθοδο με προγνωστική αξία παρέχοντας οριστική διάγνωση και διευκολύνοντας την φαρμακευτική στόχευση<sup>1</sup>. Παράλληλα, η μικροβιαμιά αποτελεί μία από τις σοβαρότερες μορφές λοίμωξης. Παρά την εντυπωσιακή πρόοδο τόσο όσον αφορά την μικροβιολογική διάγνωση όσο και την αντιμικροβιακή θεραπεία, η μικροβιαμιά ακόμη ενοχοποιείται ως κύριο αίτιο θνητότητας στους νοσοκομειακούς ασθενείς<sup>2</sup>. Συγκεκριμένα, στις Η.Π.Α., η νοσοκομειακή βακτηριαμιά αξιολογείται ως η 8<sup>η</sup> αιτία θανάτου<sup>3</sup>, ενώ στη χώρα μας αποτελεί σημαντική αιτία θανάτου των νοσηλευόμενων ασθενών, ιδιαίτερα στις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ)<sup>4</sup>.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η καταγραφή δημογραφικών στοιχείων των ασθενών, όπως φύλο και ηλικία, καθώς και η καταγραφή προέλευσης των

μικροβιαμιών όσον αφορά τους κλινικούς τομείς. Παράλληλα, καταγράφηκαν τα ποσοστά των θετικών, των ψευδώς θετικών καθώς και των αξιολογημένων ως επιμολύνσεων καλλιιεργειών επί του συνόλου των απεσταλμένων δειγμάτων, το σημείο λήψης του αίματος (αίμα περιφερικής κυκλοφορίας ή λήψη από ενδοαγγειακό κεντρικό καθετήρα), οι πολυμικροβιαμίες, τα είδη των μικροβιακών στελεχών που ταυτοποιήθηκαν και το απαιτούμενο χρονικό διάστημα επώασης των φιαλών αιμοκαλλιιεργειών έως την ανίχνευση των μικροοργανισμών.

## Υλικό και μέθοδος

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό», ένα νοσηλευτικό ίδρυμα παροχής τριτοβάθμιας φροντίδας περίθαλψης, το οποίο αριθμεί 580 αναπτυγμένες κλίνες, συμπεριλαμβανομένων και των κλινών μονοήμερης νοσηλείας. Το πρωτόκολλο λήψης καλλιιεργειών αίματος περιλαμβάνει



νει τοπική αντισηψία με ιωδιούχο ποβιδόνη και αιθυλική αλκοόλη 70%, πριν τη χορήγηση αντιβιοτικών ή όσο το δυνατόν πιο κοντά στη χορήγηση της επόμενης δόσης. Λαμβάνονται τρία ζεύγη αιμοκαλλιεργείων με ημίωρη διαφορά χρόνου δειγματοληψίας, από διαφορετικά σημεία. Σε περίπτωση σήψης λαμβάνονται τρία ζεύγη εντός 10 λεπτών, ενώ αν οι καλλιέργειες είναι αρνητικές μετά από ένα 24ωρο, λαμβάνονται άλλα δύο ζεύγη. Σε υποψία ενδοκαρδίτιδας λαμβάνονται έως 5 ζεύγη το 24ωρο. Στις περιπτώσεις υπόνοιας λοίμωξης σχετιζόμενης με ενδοαγγειακούς καθετήρες, σε συνδυασμό με την απομάκρυνση του καθετήρα υπό άσηπτες συνθήκες, γίνεται και λήψη περιφερικού αίματος από διαφορετική φλέβα<sup>5</sup>.

Αναλύθηκαν τα δείγματα που στάλθηκαν σε χρονικό διάστημα ενός έτους, από 1/1/2012 έως 31/12/2012 στο βιοπαθολογικό εργαστήριο του ΓΝΑ «Λαϊκό». Χρησιμοποιήθηκε το σύστημα αυτόματης ανίχνευσης BacT/Alert (Biomerieux, France). Οι καλλιέργειες αίματος που αξιολογήθηκαν ως θετικές ταυτοποιήθηκαν ως προς το γένος και το είδος με τα ημιαυτόματα συστήματα Microscan (Siemens, Germany), API (Biomerieux, France) και BBL Crystal (Becton Dickinson, USA).

## Αποτελέσματα

Συνολικά στάλθηκαν 27.654 φιάλες καλλιεργείων αίματος, οι οποίες αντιστοιχούσαν σε 4.125 ασθενείς και 14.030 παραγγελίες εξετάσεων (13.624 ζεύγη φιαλών, μία αερόβια και μία αναερόβια φιάλη, και 406 μονήρεις φιάλες) από τις κλινικές. Στο σύνολο των δειγμάτων, σε ποσοστό 77,8% (21.526 φιάλες) επρόκειτο για φιάλες με παράγοντα δέσμμευσης των αντιβιοτικών, ενώ μόνο το 77,1% (21.322 φιάλες) είχε παραγγελθεί ηλεκτρονικά μέσω του δικτύου LIS (Laboratory Information System). Ανιχνεύθηκε θετικό το 9,3% (2.569) του συνόλου των φιαλών που αντιστοιχούσε σε 721 ασθενείς. Μετά την ανακαλλιέργεια του ζωμού των αιμοκαλλιεργείων, την μικροσκόπηση με χρώση Gram και την ταυτοποίηση, ως αληθείς μικροβιαίμιες αξιολογήθηκαν 405 από τα 721 περιστατικά (56,2%), ενώ τα υπόλοιπα περιστατικά ερμηνεύθηκαν είτε ως επιμολύνσεις (194 περιστατικά, 26,9%), είτε ως ψευδώς θετικά αποτελέσματα (122 περιστατικά, 16,9%). Συγκεκριμένα, ως ψευδώς θετικά χαρακτηρίστηκαν τα περιστατικά που οι φιάλες θετικοποιήθηκαν στο σύστημα BacT/Alert, αλλά δεν υπήρχε ουδεμία ανάπτυξη σε κοινά και εκλεκτικά θρεπτικά υλικά κατά την ανακαλλιέργεια από την φιάλη. Όσον αφορά τις 194 περιπτώσεις που χαρακτηρίστηκαν ως επιμολύνσεις, το 84% (163 περιστατικά) οφει-

λόταν σε κοαγκουλάση αρνητικούς σταφυλόκοκκους (coagulase-negative staphylococci, CoNS). Άλλα αίτια επιμολύνσεων ήταν τα *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Citrobacter* spp., *Achromobacter xylosoxidans* και *Propionibacterium* spp. Η διάμεση τιμή ηλικίας των ασθενών με μικροβιαίμια ήταν 67 έτη (εύρος ηλικίας, 21-94 έτη), ενώ το 59,75% (242 άτομα) ήταν άνδρες και το 40,25% (163) γυναίκες.

Τα μικροβιακά στελέχη που ταυτοποιήθηκαν και αξιολογήθηκαν ως παθογόνα ταξινομήθηκαν στις συνήθεις κατηγορίες (Gram αρνητικά, Gram θετικά, μύκητες, αναερόβια) και ο αριθμός και το ποσοστό απομόνωσής τους παρατίθενται στον Πίνακα 1. Όλοι οι μικροοργανισμοί που ανιχνεύθηκαν παρουσίαζαν διάμεση τιμή χρόνου θετικοποίησης στο σύστημα ανίχνευσης BacT/Alert εντός του πρώτου 24ώρου επώασης, με ταχύτερη ανάπτυξη αυτή των Gram αρνητικών. Εξίαιση αποτελούσαν οι μύκητες που είχαν διάμεση τιμή θετικοποίησης εντός του δεύτερου 24ώρου (Πίνακας 2). Τα συχνότερα παθογόνα που απομονώθηκαν ήταν κατά σειρά *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterococcus* spp., *A. baumannii*, *Candida* spp., *S. aureus*, *S. epidermidis*, και *P. aeruginosa* (Πίνακας 3). Επιπρόσθετα, σε ποσοστό 6,9% (28 περιστατικά) χαρακτηρίστηκαν ως πολυμικροβιαίμιες (ταυτοποίηση άνω του ενός είδους μικροβίου), ενώ το 89,4% των περιστατικών μικροβιαίμιας (362 περιστατικά) αφορούσαν δείγματα που είχαν ληφθεί από περιφερική φλεβοκέντηση και το 10,62% (43 περιστατικά) δείγματα αίματος που είχαν ληφθεί από ενδοαγγειακούς καθετήρες. Το μεγαλύτερο ποσοστό των περιστατικών μικροβιαίμιας (228 περιστατικά, 56,3%) αφορούσαν τον Παθολογικό τομέα (Παθολογικές και Αιματολογικές κλινικές, Νεφρολογική και Καρδιολογική κλινική), το 27,7% (112 περιστατικά) τον Χειρουργικό τομέα (Χειρουργικές, Ουρολογική, Ορθοπαιδική, Γυναικολογική, Οφθαλμολογική) και το 16,1% (65 περιστατικά) την ΜΕΘ. Τέλος ιδιαίτερη αναφορά πρέπει να γίνει για το *A. baumannii* που αποτελούσε αίτιο μικροβιαίμιας στα 59/405 περιστατικά (14,6%) και παρουσίαζε πολυανθεκτικότητα στα 53 από τα 59 στελέχη (89,8%). Αξίζει να σημειωθεί ότι στη ΜΕΘ αποτελούσε το παθογόνο αίτιο των 30 από τις 65 μικροβιαίμιες (46,2%) και παρουσίαζε πολυανθεκτικότητα στα 29 από τα 30 στελέχη (96,7%), όπως επίσης και στα 14 από τα 15 στελέχη του Χειρουργικού τομέα (93,3%), ενώ στον Παθολογικό τομέα ήταν ευαίσθητο μόνο στα 5 από τα 14 στελέχη (35,7%).

## Συζήτηση

Σε σχέση με παλαιότερη στατιστική μελέτη που αφο-

Πίνακας 1. Μικροοργανισμοί που απομονώθηκαν από καλλιέργειες αίματος σε 405 περιστατικά μικροβιαμίας.

Μικροοργανισμοί	Αριθμός	Ποσοστό (%)
Gram αρνητικά βακτήρια	225	55,6
Gram θετικά βακτήρια	118	29,1
Μύκητες	41	10,1
Αναερόβια βακτήρια	21	5,2
ΣΥΝΟΛΟ	405	100

Πίνακας 2. Χρόνος θετικοποίησης καλλιεργείων αίματος στο σύστημα BacT/Alert.

Μικροοργανισμοί	Χρόνος θετικοποίησης (διάμεση τιμή, σε ημέρες)	Ελάχιστος χρόνος θετικοποίησης (σε ημέρες)	Μέγιστος χρόνος θετικοποίησης (σε ημέρες)
Gram αρνητικά βακτήρια	0,5	0,08	5,0
Gram θετικά βακτήρια	0,665	0,19	4,21
Μύκητες	1,1	0,28	2,97
Αναερόβια βακτήρια	0,66	0,46	1,03
Επιμολύνσεις	0,98	0,17	5,0

Πίνακας 3. Παθογόνα που απομονώθηκαν από καλλιέργειες αίματος

Μικροοργανισμοί	Αριθμός	Ποσοστό %
<i>E. coli</i>	68	16,8
<i>K. pneumoniae</i>	61	15,01
<i>Enterococcus spp.</i>	60	14,8
<i>A.baumannii</i>	59	14,6
<i>Candida spp.</i>	41	10,1
<i>S. aureus</i>	36	8,9
Αναερόβια	21	5,2
<i>S. epidermidis</i>	15	3,7
<i>P. aeruginosa</i>	14	3,5
<i>P. mirabilis</i>	6	1,5
<i>E. cloacae</i>	6	1,5
<i>Streptococcus spp.</i>	4	1,0
Άλλοι μικροοργανισμοί*	14	3,5
<b>ΣΥΝΟΛΟ</b>	<b>405</b>	<b>100</b>

Περιλαμβάνουν: *Acinetobacter lwoffii*, *A. xylosoxidans*, *Brucella spp.*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium tertium*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*



ρούσε την ανάλυση αποτελεσμάτων των καλλιιεργειών αίματος στο Λαϊκό Νοσοκομείο φαίνεται ότι η συχνότητα αποστολής δειγμάτων αιμοκαλλιιεργειών έχει αυξηθεί<sup>6</sup>. Ο αριθμός των αληθώς θετικών καλλιιεργειών κινείται στο ίδιο περίπου ποσοστό, 9,8% (405 περιστατικά από 4125 ασθενείς, ή 2.569 θετικές φιάλες από το σύνολο των 27.654 φιαλών που στάλθηκαν συνολικά, 9,3%) σε σχέση με το περίπου 10% της παλαιότερης ανάλυσης. Τα πιο συχνά παθογόνα που απομονώθηκαν είναι τα Gram αρνητικά βακτήρια και κατά σειρά συχνότητας απομόνωσης τα *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* και *P. aeruginosa*. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με τα δεδομένα της ίδιας περιόδου του Ηλεκτρονικού Δικτύου Μελέτης της Μικροβιακής Αντοχής (<http://www.mednet.gr/whonet/>, WhoNET, Greece) ως προς τη σειρά συχνότητας. Επιπρόσθετα, στην παρούσα μελέτη στα Gram θετικά υπερτερούν σαφώς οι λοιμώξεις από *Enterococcus* spp. σε σχέση με αυτές από *S. aureus*, όπως αναφέρεται και στα συγκεντρωτικά δεδομένα του παραπάνω Δικτύου. Ο μεγάλος αριθμός επιμολυσμένων φιαλών (945 επιμολυσμένες φιάλες στις 27.654 απεσταλμένες, 3,1%), αποτελεί τον μέσο όρο περίπου για τα ποσοστά επιμολύνσεων που αναφέρονται βιβλιογραφικά, τα οποία κυμαίνονται από 0,6 έως 6%, παρόλα αυτά, υποδηλώνει την αναγκαιότητα της αυστηρής εφαρμογής του πρωτοκόλλου λήψης αίματος<sup>5-10</sup>. Οι CoNS αποτελούν τον μικροοργανισμό που απομονώνεται συχνότερα σε ποσοστό 22,6% (163/721 περιστατικά μικροβιαμίας), γεγονός που επίσης συμφωνεί με τα δεδομένα του Δικτύου. Παρόλα αυτά, το 84% (163 από 194 περιστατικά) των επιμολύνσεων αποδόθηκε σε στελέχη CoNS. Το ποσοστό συμφωνεί με διεθνείς αναλύσεις σε τριτοβάθμια νοσοκομεία όπου οι επιμολύνσεις από CoNS ξεπερνούν το 90% και υπογραμμίζει τις επιπτώσεις όσον αφορά το επιπρόσθετο κόστος της εργαστηριακής διερεύνησης, της παράτασης του χρόνου νοσηλείας και της υπερκατανάλωσης αντιβιοτικής θεραπείας<sup>11-13</sup>. Τα κριτήρια για την αξιολόγηση των CoNS ως παθογόνων περιλαμβάνουν την ανάπτυξη του μικροοργανισμού σε επανειλημμένα ζεύγη λήψης αίματος, τουλάχιστον σε 2 ζεύγη, τη μοριακή ταυτοποίηση ίδιων γονοτυπικά στελεχών σε επαναλαμβανόμενα δείγματα και την ταχύτερη θετικοποίηση της καλλιιεργειας στο σύστημα ανίχνευσης<sup>1</sup>. Τα κλινικά και τα υπόλοιπα εργαστηριακά δεδομένα μπορούν επίσης να βοηθήσουν στην ερμηνεία του αποτελέσματος. Η υποθερμία (< 36°C) ή ο υψηλός πυρετός (> 40°C), ο αριθμός των λευκοκυττάρων (< 4.000/μl, ή > 20.000/μl) και η χαμηλή αρτηριακή πίεση σε συνδυασμό με επιπρόσθετα κριτήρια μπορούν να αποτελέσουν ένα χρήσιμο αλγόριθμο αξιολόγησης της απομόνωσης των CoNS από

αιμοκαλλιιεργειες<sup>14,15</sup>. Οι προσπάθειες αντιμετώπισης τέτοιων προβλημάτων πρέπει να κατευθυνθούν στη χρήση αξιόπιστων παραμέτρων διάκρισης των αληθώς θετικών από τις ψευδώς θετικές καλλιιεργειες, στη μείωση των επιμολύνσεων που θα οδηγήσει σε υψηλότερη θετική προγνωστική αξία των αιμοκαλλιιεργειών και στη μείωση της εφαρμογής της εξέτασης της αιμοκαλλιιεργειας σε ασθενείς με μικρή πιθανότητα βακτηριαιμίας μέσω θέσπισης κλινικών κριτηρίων διενέργειας της καλλιιεργειας<sup>1</sup>.

Ο χρόνος θετικοποίησης στο σύστημα ανίχνευσης BacT/Alert συμφωνεί με προηγούμενες αναλύσεις του ίδιου συστήματος τόσο όσον αφορά το γεγονός ότι οι επιμολύνσεις, κυρίως από στελέχη CoNS, εμφανίζουν μεγαλύτερο χρόνο θετικοποίησης σε σχέση, για παράδειγμα, με τον *S. aureus* (αποτελώντας παράλληλα ένα διαφοροδιαγνωστικό κριτήριο), όσο και αναφορικά με το χρόνο θετικοποίησης των μυκήτων που εμφανίζεται κατά πολύ ανώτερος των 24 ωρών. Το τελευταίο φαινόμενο δεν συμφωνεί με προηγούμενη μελέτη στην οποία κρίθηκε ως επαρκής η τριήμερη επώαση των αιμοκαλλιιεργειών σε σύγκριση με την πενήμερη επώαση που συνήθως εφαρμόζεται<sup>16</sup>. Τέλος, όσον αφορά την ΜΕΘ, από τα 30 στελέχη του *A. baumannii* που απομονώθηκαν από καλλιιεργειες αίματος, τα 29 εμφάνιζαν πολυανθεκτικότητα, γεγονός που συνηγορεί στη λήψη μέτρων πρόληψης της μετάδοσης πολυανθεκτικών παθογόνων στις ΜΕΘ, όπως με την ανίχνευση πιθανών φορέων που αυξάνουν την πιθανότητα περαιτέρω επέκτασης του αποικισμού, και την ταχεία αντιμετώπιση ασθενών με λοιμώξεις όπως για παράδειγμα η πνευμονία του αναπνευστήρα<sup>17,18</sup>. Επίσης στον Χειρουργικό τομέα, το *A. baumannii* απομονώθηκε σε 15 ασθενείς και 14 από τα αντίστοιχα στελέχη ήταν πολυανθεκτικά γεγονός που επίσης υπογραμμίζει την αναγκαιότητα εφαρμογής μέτρων πρόληψης της νοσοκομειακής μετάδοσης. Επιπλέον, η ανεύρεση και σε άλλες χειρουργικές πτέρυγες της χώρας, κλινικών συσχετίσεων της θνησιμότητας των λοιμώξεων από *A. baumannii* με παράγοντες που έχουν προαναφερθεί (όπως η ηλικία, η νεφρική ανεπάρκεια, η θρομβοπενία και η βακτηριαιμία από *E. faecium*)<sup>19</sup> πιθανώς να συμβάλλει σε βελτίωση της πρόληψης και της έκβασης της νόσου.

Διεύθυνση Επικοινωνίας:

Δημήτριος Φούρκας, Εργαστήριο Μικροβιολογίας, ΓΝΑ «Λαϊκό», Αγίου Θωμά 17, 115 27, Αθήνα, τηλ. 210-7456428, 6944763739, E-mail: fourkasd@gmail.com

Υποβλήθηκε: 02-07-2013

Εγκρίθηκε: 01-06-2015

## Analysis of blood culture results in a tertiary care hospital

**Dimitrios Fourkas, Antonios Gargalionis, Angeliki Pantazatou, Ioannis Deliolanis, Elpida Tabouratzi, Andreas Chatzicharalampous, Stavroula Smilakou**

Microbiology Laboratory, "Laiko" Hospital, Athens

### Summary

Septicemia represents a severe infection and the most important cause of death among hospitalized patients. The purpose of this study was to record the species of bacterial isolates obtained from blood cultures during a one-year period at "Laikon" hospital. Coagulase-negative staphylococci (CoNS) represented the most common isolates (163 out of 721 cases, 22,6%). Among CoNS, 90,8% (148 strains) were considered to represent contaminants and only 9,2% (15 strains) true bacteremia. Gram negative bacteria were the most frequent cause of bacteremia (225/405 cases, 55,6%) with *Escherichia coli* representing the most common isolate. Among Gram positive bacteria (118/405 cases, 29,1%), *Enterococcus* spp. and *Staphylococcus aureus* were most frequently isolated. Yeast and anaerobic bacteria represented 10,1% (41/405 cases) and 5,2% (21/405 cases) of all septicemia cases, respectively.

(Key words: septicemia, blood culture)

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Hall KK, Lyman JA.** Updated review of blood culture contamination. *Clin Microbiol Rev* 2006, 19: 788-802.
- Munoz P, Cruz AF, Rodríguez-Cr ixems M, Bouza E.** Gram-negative bloodstream infections. *Int J Antimicrob Agents*, 2008. 32 Suppl 1: S10-14.
- Wenzel RP, Edmond MB.** The impact of hospital-acquired bloodstream infections. *Emerg Infect Dis* 2001, 7: 174-177.
- Dimopoulos G, Tabah A, Arvaniti K, Poulakou G, Matthaiou D, Armaganidis A et al.** Hospital-acquired bloodstream infections in Greek ICUs: results from the Eurobact Study. *Critical Care Medicine*, 2012: p. doi: 10.1097/01.ccm.0000424709.65375.68.
- Παπαφράγγας Ε, Κανελλοπούλου Μ, Βογιατζ κης Ε, Μαργαρίτη Γ.** Οδηγός λήψης και μεταφοράς κλινικών δειγμάτων στην εργαστηριακή διάγνωση των λοιμώξεων, Αθήνα 2001.
- Hadziyannis AS, Stephanou I, Dimarogona K, Pantazatou A, Fourkas D, Filiagouridis D et al.** Blood culture results during the period 1995-2002 in a Greek tertiary care hospital. *Clin Microbiol Infect* 2004, 10: 667-670.
- Bates DW, Cook EF, Goldman L, Lee TH.** Predicting bacteremia in hospitalized patients. A prospectively validated model. *Ann Intern Med* 1990, 113: 495-500.
- Little JR, Murray PR, Traynor PS, Spitznagel E.** A randomized trial of povidone-iodine compared with iodine tincture for venipuncture site disinfection: effects on rates of blood culture contamination. *Am J Med* 1999, 107: 119-125.
- Mimoz O, Karim A, Mercat A, Cosseron M, Falissard B, Parker F et al.** Chlorhexidine compared with povidone-iodine as skin preparation before blood culture. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 1999, 131: 834-837.
- Weinbaum FI, Lavie S, Danek M, Sixsmith D, Heinrich GF, Mills SS.** Doing it right the first time: quality improvement and the contaminant blood culture. *J Clin Microbiol* 1997, 35: 563-565.
- Beekmann SE, Diekema DJ, Doern GV.** Determining the clinical significance of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005, 26: 559-566.
- Souvenir D, Anderson DE Jr, Palpant S, Mroch H, Askin S, Anderson J et al.** Blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: antisepsis, pseudobacteremia, and therapy of patients. *J Clin Microbiol* 1998, 36: 1923-1926.
- Van Hal SJ, Frostis V, Miyakis S, Marriott D, Harkness J.** Prevalence and significance of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures in a tertiary hospital. *Scand J Infect Dis* 2008, 40: 551-554.
- Bates DW, Lee TH.** Rapid classification of positive blood cultures. Prospective validation of a multivariate algorithm. *JAMA* 1992, 267: 1962-1966.
- Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G et al.** The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis* 1997, 24: 584-602.
- Bourbeau PP, Foltzer M.** Routine incubation of BacT/ALERT FA and FN blood culture bottles for more than 3 days may not be necessary. *J Clin Microbiol* 2005,

43: 2506-2509.

17. **Arvaniti K, Lathyris D, Ruimy R, Haidich AB, Koulourida V, Nikolaidis P et al.** The importance of colonization pressure in multiresistant *Acinetobacter baumannii* acquisition in a Greek intensive care unit. *Crit Care* 2012, 16: R102.
18. **Routsi C, Pratikaki M, Platsouka E, Sotiropoulou C, Nanas S, Markaki V et al.** Carbapenem-resistant versus carbapenem-susceptible *Acinetobacter baumannii* bacteremia in a Greek intensive care unit: risk factors, clinical features and outcomes. *Infection* 2010, 38: 173-180.
19. **Katsaragakis S, Markogiannakis H, Samara E, Pachylaki N, Theodoraki EM, Xanthaki A et al.** Predictors of mortality of *Acinetobacter baumannii* infections: A 2-year prospective study in a Greek surgical intensive care unit. *Am J Infect Control* 2010, 38: 631-635.

## ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΥΣΑ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ

# Οξεία παγκρεατίτιδα από *Mycoplasma pneumoniae* σε παιδί

Μαρία Δασκαλάκη<sup>1</sup>, Αντωνία Μακρή<sup>1</sup>, Γεωργία Γεωργούλια<sup>1</sup>,  
Ευσταθία Στάϊκου<sup>1</sup>, Σοφία Καρασαρίδου<sup>1</sup>, Άρτεμις Μπούσμπουλα<sup>1</sup>,  
Ζωή Καρακατσάνη<sup>2</sup>, Αλίκη Βογιατζή<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Μικροβιολογίας και <sup>2</sup>Παιδιατρική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Παιδων Πεντέλης, Αθήνα

## Περίληψη

Η οξεία παγκρεατίτιδα αποτελεί μια σπάνια νοσολογική οντότητα στα παιδιά. Σε ποσοστό <10% ανευρίσκεται λοιμώδης αιτιολογικός παράγοντας. Στη μελέτη παρουσιάζεται περίπτωση αγοριού ηλικίας 12 ετών, στο οποίο διαγνώσθηκε οξεία παγκρεατίτιδα οφειλόμενη στο *Mycoplasma pneumoniae* με βάση την κλινική εικόνα, τα αυξημένα επίπεδα αμυλάσης ορού και ούρων, τα αυξημένα επίπεδα λιπάσης ορού, καθώς και την ανίχνευση θετικών IgM και αρνητικών IgG αντισωμάτων έναντι του μικροοργανισμού στην έναρξη της νόσου. Η περίπτωση περιγράφεται, προκειμένου να επισημανθεί η πιθανότητα εμφάνισης εξωπνευμονικής εκδήλωσης νόσου μυκοπλασματικής αιτιολογίας, χωρίς να έχει προηγηθεί κλινικά εμφανής λοίμωξη του αναπνευστικού.

(Λέξεις ευρετηρίου: παγκρεατίτιδα, παιδιά, *Mycoplasma pneumoniae*, εξωπνευμονική εκδήλωση)

## Εισαγωγή

Το *Mycoplasma pneumoniae*, μέλος της οικογένειας *Mycoplasmatales*, αποτελεί συχνή αιτία λοιμώξεων του ανώτερου και κατώτερου αναπνευστικού συστήματος, οι οποίες εκδηλώνονται κλινικά ως βρογχίτιδα, τραχειοβρογχίτιδα, βρογχιολίτιδα, αλλά κυρίως ως άτυπη πνευμονία της κοινότητας. Το *M. pneumoniae* μπορεί να αποτελέσει μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του στοματοφάρυγγα.

Αν και συχνότερα προσβάλλει άτομα ηλικίας 5-20 ετών, δύναται να προκαλέσει αναπνευστική λοίμωξη σε οποιαδήποτε ηλικιακή ομάδα. Η μετάδοση του μικροοργανισμού γίνεται με σταγονίδια και είναι ιδιαίτερα συχνή η ενδοοικογενειακή διασπορά του. Η εμφάνιση περιπτώσεων αναπνευστικής λοίμωξης ενδοοικογενειακά με μεσοδιάστημα λίγων εβδομάδων προσανατολίζει σε λοίμωξη μυκοπλασματικής αιτιολογίας<sup>1</sup>. Ο χρόνος επώασης της λοίμωξης κυμαίνεται μεταξύ 2-3 εβδομάδων. Η ανίχνευση του παθογόνου με τη μέθοδο της PCR

σε ασυμπτωματικούς ασθενείς υποδεικνύει ότι ο μικροοργανισμός παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση, γεγονός που εξηγεί την παρατεταμένη διάρκεια επιδημιών στην κοινότητα από το *M. pneumoniae*<sup>2</sup>. Επιδημίες μυκοπλασματικής λοίμωξης εμφανίζονται ιδιαίτερα σε παιδικούς σταθμούς, σχολεία και στρατόπεδα με περιодικότητα 3-5 ετών. Η μυκοπλασματική πνευμονία αποτελεί το 10-30% της πνευμονίας της κοινότητας μεταξύ των ενηλίκων<sup>3</sup>, ενώ πλησιάζει το 50% σε παιδιά μεγαλύτερα των 5ετών<sup>4</sup>.

Η ανάπτυξη της μοριακής μεθοδολογίας κατέστησε δυνατή την ανίχνευση του *M. pneumoniae* στους εξωπνευμονικούς ιστούς. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, 25% των ασθενών με λοίμωξη από *M. pneumoniae* παρουσιάζουν εξωπνευμονικές εκδηλώσεις, οι οποίες δύναται να εκδηλωθούν πριν, κατά τη διάρκεια, ή ακόμα και επί απουσίας συμπτωμάτων από το αναπνευστικό σύστημα. Οι συχνότερες εξωπνευμονικές εκδηλώσεις εμφανίζονται ως εξανθήματα (περίπου 25%), διαταραχές του μυοσκελετικού συστήματος (περίπου 14%), νο-



σήματα του καρδιαγγειακού συστήματος (1-8,5%), του ΚΝΣ (6-7%), του γαστρεντερικού και του αίματος (αιμολυτική αναιμία)<sup>5</sup>.

Περιγράφεται σπάνια περίπτωση οξείας παγκρεατίτιδας από *M. pneumoniae* σε άρρενα ασθενή προκειμένου να επισημανθεί η πιθανότητα εμφάνισης εξωπνευμονικής εκδήλωσης χωρίς να έχει προηγηθεί κλινικά εμφανής λοίμωξη από το αναπνευστικό.

## Περιγραφή περίπτωσης

Άρρεν, ηλικίας 12 ετών προσήλθε στα εξωτερικά ιατρεία της παιδιατρικής κλινικής με εμπύρετο έως 39,2°C και συνοδό αραιό βήχα από 3ημέρου, ενώ ταυτόχρονα ανέφερε επιγαστρικό άλγος με αντανάκλαση στην οσφύ από 4ημέρου. Κατά την ημέρα της εισαγωγής είχε δύο εμέτους, ενώ προ 2ημέρου είχε μια διαρροϊκή κένωση.

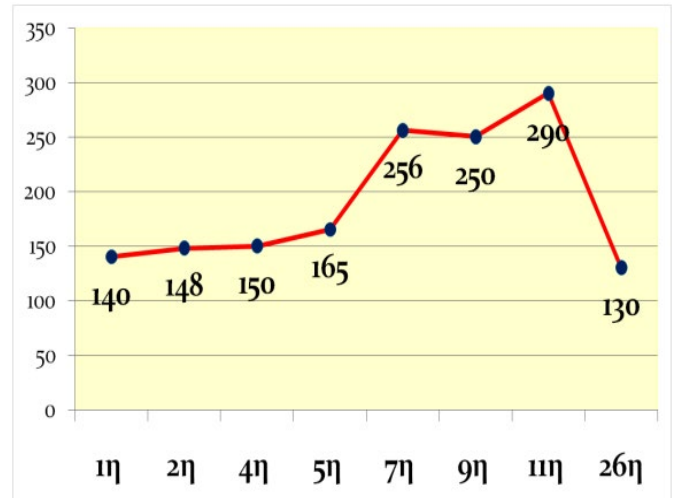
Από την αντικειμενική εξέταση παρουσίαζε ωχρότητα με ικτερική χροιά επιπεφυκότων, ευαισθησία στην ψηλάφηση του επιγαστρίου με φυσιολογικούς εντερικούς ήχους, ψηλαφητό ήπαρ, ενώ τα σημεία Murphay και Giordano ήταν αρνητικά. Είχε εξέρυθρα παρίσθια, ψηλαφητούς μικρούς τραχηλικούς λεμφαδένες άμφω και ικτερική χροιά δέρματος.

Από το ατομικό αναμνηστικό του ασθενούς αναφέρθηκαν δύο επεισόδια ιογενούς λοίμωξης εντός του τελευταίου 2μηνου και έλλειψη του ενζύμου G-6-PD.

Από τον αιματολογικό έλεγχο, ο ασθενής παρουσίαζε αυξημένο αριθμό λευκοκυττάρων (15.300/μL) με πολυμορφοπύρρινα 86%, τοξική κοκκίωση, αιματοκρίτη 35.4%, αιμοσφαιρίνη 11.5 g/dL, και ΤΚΕ 70 mm την 1<sup>η</sup> ώρα. Από τον βιοχημικό έλεγχο παρουσίαζε οξαλοξική τρανσαμινάση (SGOT) 39 IU/L, πυροσταφυλική τρανσαμινάση (SGPT) 42 IU/L, γ-GT 221 IU/L, αμυλάση 132 IU/L (ΦΤ <100 IU/L), αμυλάση ούρων 1.193 IU/L (ΦΤ 491 IU/L), λιπάση ορού 400 IU/L (ΦΤ <130 IU/L), ολική χολερυθρίνη 3,7 mg/dL, άμεση 1,8 mg/dL, έμμεση 1,9 mg/dL και CRP 23 mg/dL. Οι τιμές σακχάρου καθώς και η νεφρική λειτουργία ήταν εντός φυσιολογικών ορίων.

Από τον απεικονιστικό έλεγχο, η ακτινογραφία θώρακος και το υπερηχογράφημα άνω κοιλίας ήταν χωρίς παθολογικά ευρήματα. Παράλληλα έγινε χειρουργική εκτίμηση και συνεστήθη υποστηρικτική θεραπεία, που περιελάμβανε διακοπή σίτισης, ενυδάτωση, ενδοφλέβια χορήγηση γαστροπροστασίας και εργαστηριακό επανέλεγχο μετά από 24 ώρες. Κατά τη 2<sup>η</sup> ημέρα της νοσηλείας ο ασθενής ανέφερε πόνο αμφοτερόπλευρα στις κνήμες και παράλληλα εμφάνισε μικροκηλιδώδες εξάνθημα στους πήχεις των χεριών. Κατά την εισαγωγή εστάλησαν στο μικροβιολογικό εργαστήριο καλλιέργει-

ες αίματος, ούρων, κοπράνων και φαρυγγικού επιχρίσματος και ο ασθενής ετέθη σε αγωγή με κεφαλοσπορίνη 3<sup>ης</sup> γενεάς. Η αμυλάση συνέχισε να παρουσιάζει προοδευτική αύξηση των τιμών (έως 290 IU/L) μέχρι την 11<sup>η</sup> ημέρα της νοσηλείας (Εικόνα 1). Οι αιμοκαλλιέργειες ήταν στείρες, ενώ η καλλιέργεια κοπράνων και φαρυγγοαμυγδαλικού επιχρίσματος καθώς και η παρασιτολογική κοπράνων δεν ανέδειξαν κάποιον παθογόνο



Εικόνα 1. Διακύμανση αμυλάσης ορού (IU/L) κατά τη διάρκεια της νοσηλείας (1η έως 26η ημέρα νοσηλείας).

μικροοργανισμό. Ο ορολογικός έλεγχος για αντισώματα έναντι των μικροοργανισμών *Yersinia* και *Coxsackie* ήταν αρνητικός. Το αυστραλιανό αντιγόνο (HBsAg), τα anti-HBc και τα anti-HAV IgM αντισώματα ήταν αρνητικά, ενώ τα anti-HBs αντισώματα βρέθηκαν θετικά (843,74 IU/L). Η αναζήτηση για αντιγόνα των ιών Rota και Adeno στα κόπρανα με τη μέθοδο της ανοσοχρωματογραφίας απέβη αρνητική. Ακολούθησε προσδιορισμός των IgM και IgG αντισωμάτων έναντι του *M. pneumoniae* με ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA (Vircell, Spain). Από τον έλεγχο των αντιμυκοπλασματικών αντισωμάτων διαπιστώθηκε η παρουσία ειδικών IgM αντισωμάτων (17.5 IU/ml), ενώ το αποτέλεσμα ήταν αμφίβολο ως προς την ανίχνευση IgG αντισωμάτων (9.00 IU/ml, όπου αρνητικό < 9,00 IU/ml, αμφίβολο 9,00-11,00 IU/ml, θετικό >11,00 IU/ml). Ως εκ τούτου τέθηκε η διάγνωση της παγκρεατίτιδας ως εξωπνευμονικής εκδήλωσης ενεργού λοίμωξης από *M. pneumoniae*.

Ο μικρός ασθενής απυρέτησε το 7<sup>ο</sup> 24ωρο της νοσηλείας. Δεν κρίθηκε απαραίτητη η τροποποίηση της

θεραπείας με μακρολίδη (θεραπεία εκλογής έναντι του μυκοπλάσματος), λόγω της ήδη σημαντικά βελτιωμένης κατάστασης του. Σε όλη τη διάρκεια της νοσηλείας δεν εμφανίσθηκαν άλλα χαρακτηριστικά παθολογικά ευρήματα μυκοπλασματικής λοίμωξης από το αναπνευστικό σύστημα, εκτός από ένα συνεχιζόμενο μη παραγωγικό βήχα. Ο ασθενής εξήλθε σε καλή κλινική κατάσταση με οδηγίες για επανέλεγχο των επιπέδων αμυλάσης και των αντιμυκοπλασματικών αντισωμάτων. Ο ορολογικός έλεγχος των αντισωμάτων την 3<sup>η</sup> εβδομάδα από την έναρξη της νόσου ήταν ως εξής: IgM 20,00 IU/ml και IgG 21,00 IU/ml, ενώ την 7<sup>η</sup> εβδομάδα ήταν IgG 23,30 IU/ml και IgM 10,00 IU/ml. Οι τιμές αμυλάσης παρουσίασαν βαθμιαία επάνοδο στα φυσιολογικά επίπεδα.

## Συζήτηση

Η παγκρεατίτιδα αποτελεί μια σχετικά σπάνια νοσολογική οντότητα στα παιδιά. Βέβαια η οξεία παγκρεατίτιδα εμφανίζεται αιφνίδια σε ασυμπτωματικούς ασθενείς, ενώ η οξεία υποτροπιάζουσα παγκρεατίτιδα εκδηλώνεται λόγω υπάρχουσας χοληδοχολιθίασης. Άλλες μορφές με τις οποίες δύναται να εμφανιστεί είναι η χρόνια και η χρόνια υποτροπιάζουσα παγκρεατίτιδα με συμπτώματα που βελτιώνονται αλλά δεν υποχωρούν τελείως. Η οξεία παγκρεατίτιδα οφείλεται στη διαφυγή ενεργοποιημένων παγκρεατικών ενζύμων από τα παγκρεατικά κύτταρα στο υπόλοιπο όργανο. Σε περίπτωση που παρεμποδιστεί η ομαλή αποβολή των ενζύμων προκύπτει αυτοπεψία του παγκρέατος. Στις ήπιες μορφές το πάγκρεας παρουσιάζει οίδημα, φλεγμονώδη διήθηση χωρίς αιμορραγία ή νέκρωση και ελάχιστη ή καθόλου οργανική δυσλειτουργία. Στις σοβαρές μορφές η φλεγμονώδης διήθηση είναι βαριά, συνοδευόμενη από νέκρωση του παρεγχύματος που συχνά ακολουθείται από σοβαρή δυσλειτουργία του αδένου και ενίοτε συνοδεύεται από πολυοργανική ανεπάρκεια. Η αιτιολογία της οξείας παγκρεατίτιδας στη παιδική ηλικία περιλαμβάνει: τη συστηματική νόσο (33%), τα ιδιοπαθή αίτια (13-34%), το τραύμα (10-40%), τα νοσήματα των χοληφόρων αγγείων (10-30%), τα φάρμακα (<25%), τις λοιμώξεις (<10%), τις συγγενείς ανωμαλίες (5-8%) και τα μεταβολικά αίτια (2-7%)<sup>6</sup>.

Στην τεκμηριωμένη οξεία παγκρεατίτιδα λοιμώδους αιτιολογίας ο λοιμογόνος παράγοντας απομονώνεται, ή καλλιεργείται απευθείας από τον παγκρεατικό ιστό. Στην πιθανή όμως οξεία παγκρεατίτιδα ο λοιμογόνος παράγοντας καλλιεργείται ή ανιχνεύεται στο αίμα ή τα βιολογικά υγρά του παγκρέατος. Η ορολογική διάγνωση ιογενών ή βακτηριακών παθογόνων στηρίζεται

στον τετραπλασιασμό του τίτλου των αντισωμάτων μεταξύ των δύο δειγμάτων κατά την οξεία και αναρρωτική φάση, εφόσον συνδυαστεί με παράλληλη κλινική εικόνα παγκρεατίτιδας. Τα συχνότερα λοιμώδη αίτια είναι ιογενή (Mumps, Coxsackie B, HSV, HBV), βακτηριακά (*Salmonella typhi*, *M. pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Leptospira interrogans*), μύκητες (*Aspergillus* spp.) και έλμινθες (*Ascaris lumbricoides*)<sup>7</sup>. Το 1973, περιγράφηκε για πρώτη φορά η κλινική οντότητα της οξείας παγκρεατίτιδας που συνδεόταν με αύξηση του τίτλου αντισωμάτων έναντι του μυκοπλάσματος της πνευμονίας<sup>8</sup>.

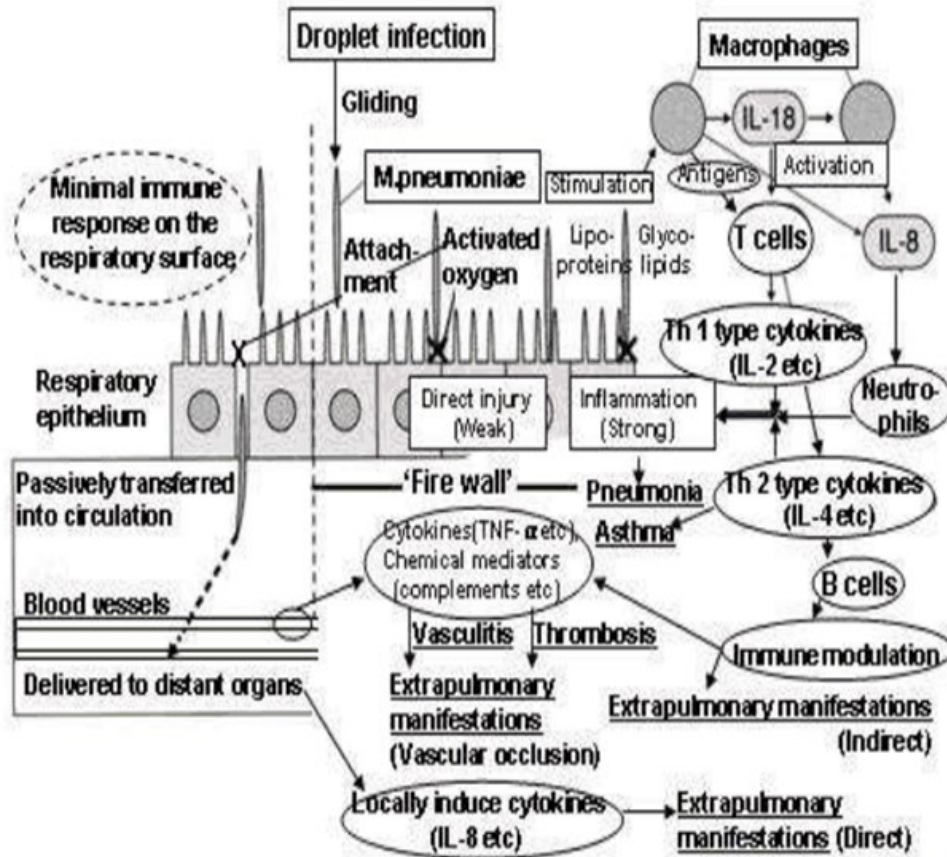
Έκτοτε έχουν περιγραφεί περιπτώσεις οξείας παγκρεατίτιδας στη διαδρομή λοίμωξης του αναπνευστικού από *M. pneumoniae*, καθώς και περιπτώσεις οξείας παγκρεατίτιδας με αύξηση των αντιμυκοπλασματικών αντισωμάτων χωρίς συμπτώματα από το αναπνευστικό<sup>9</sup>. Στο περιστατικό μας, ο ασθενής δεν παρουσίασε τυπική συμπτωματολογία άτυπης πνευμονίας που να προηγείτο της εκδήλωσης της παγκρεατίτιδας. Ο παθογενετικός μηχανισμός με τον οποίο δύναται να προκληθούν οι εξωπνευμονικές εκδηλώσεις της μυκοπλασματικής λοίμωξης είναι πολύπλοκος. Οι εκδηλώσεις αυτές προκύπτουν είτε με την άμεση προσκόλληση και πρόκληση βλάβης από τον μικροοργανισμό σε άλλα όργανα εκτός του αναπνευστικού συστήματος, είτε με την έμμεση ενεργοποίηση των T και B λεμφοκυττάρων και την παραγωγή ιντελευκίνης 8 (IL-8) και ιντελευκίνης 18 (IL-18), που με τη σειρά τους πυροδοτούν τον καταρράκτη του αυτοάνοσου μηχανισμού (Εικόνα 2). Η κλινική εικόνα της οξείας παγκρεατίτιδας συνοδεύεται από οξύ άλγος του επιγαστρίου που αντανάκλα στην οσφύ, ναυτία και εμέτους. Για τη διαγνωστική προσέγγιση απαιτείται η παρουσία δύο τουλάχιστον από τα ακόλουθα τρία διαγνωστικά κριτήρια:

1) επιγαστρικό άλγος με αντανάκλαση στην οσφύ και επεισόδια εμέτων,

2) τα αυξημένα επίπεδα της αμυλάσης και της λιπάσης ορού να ανιχνεύονται τουλάχιστον σε επίπεδα  $\geq$  3πλάσια της ανώτερης φυσιολογικής τιμής, και

3) απεικονιστικά ευρήματα συμβατά με οξεία παγκρεατίτιδα.

Η παρούσα περίπτωση οξείας παγκρεατίτιδας από *M. pneumoniae* παρουσίαζε χαρακτηριστική κλινική εικόνα επιγαστρικού άλγους με αντανάκλαση στην οσφύ και δυο επεισόδια εμέτων. Η αμυλάση ορού και ούρων ήταν προσδευτικά αυξανόμενη, ενώ η λιπάση ορού βρέθηκε να είναι >3πλάσια της ανώτερης φυσιολογικής τιμής. Βέβαια η ευαισθησία και η ειδικότητα της αμυλάσης του ορού στην οξεία παγκρεατίτιδα στα παιδιά είναι μικρότερη σε σχέση με τους ενήλικες. Ανα-



Εικόνα 2. Σχηματική παράσταση του πιθανού παθογενετικού μηχανισμού πνευμονίας, άσθματος και εξωπνευμονικών εκδηλώσεων που οφείλονται σε λοίμωξη από *M. pneumoniae* <sup>10</sup>.

φέρεται, ότι σε παιδιά με εικόνα παγκρεατίτιδας διαπιστώνονται φυσιολογικά επίπεδα αμυλάσης σε ποσοστό μέχρι 40%<sup>11</sup>. Τα επίπεδα της αμυλάσης αυξάνουν 2-12 ώρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων και φτάνουν τα μέγιστα επίπεδα ύστερα από 12 ώρες. Μετά την 3<sup>η</sup> με 4<sup>η</sup> ημέρα, τα επίπεδα αμυλάσης επανέρχονται στο φυσιολογικό. Στην περίπτωση μας, η οξεία παγκρεατίτιδα χαρακτηρίστηκε ως πιθανή λόγω συνύπαρξης της χαρακτηριστικής κλινικής εικόνας και του εντυπωσιακού τριπλασιασμού της τιμής της λιπάσης. Η παγκρεατική φλεγμονή παράγει υψηλά επίπεδα λιπάσης. Η λιπάση αποτελεί αξιόπιστο δείκτη στην οξεία παγκρεατίτιδα με ειδικότητα 90%. Η λιπάση του ορού αυξάνεται εντός 4-8 ωρών, οι τιμές κορυφώνονται γύρω στις 24 ώρες και ελαττώνονται στα φυσιολογικά επίπεδα μετά από 8-16 ημέρες. Οι τιμές της λιπάσης παραμένουν αυξημένες για μεγαλύτερο χρόνο από τις αντίστοιχες της αμυλάσης του ορού. Στην παγκρεατίτιδα αποτελούν συμπληρωματικές παραμέτρους, γι' αυτό και πρέπει να

προσδιορίζονται ταυτόχρονα.

Η ορολογική διάγνωση αποτελεί τη συχνότερη μέθοδο ανίχνευσης *M. pneumoniae* στα διαγνωστικά εργαστήρια. Οι συχνότερες εφαρμοζόμενες τεχνικές είναι: ο έμμεσος ανοσοφθορισμός, μέθοδος απλή, εύκολη με υψηλή ευαισθησία 87-100% και ειδικότητα 95-100%. Ακολουθεί η ανοσοενζυμική τεχνική ELISA με ευαισθησία μεταξύ 1<sup>ου</sup> και 2<sup>ου</sup> δείγματος 66,7% και 100% αντίστοιχα, ενώ η ειδικότητα κυμαίνεται μεταξύ 1<sup>ου</sup> και 2<sup>ου</sup> δείγματος σε παρόμοια επίπεδα 98,4%<sup>12</sup>. Η ανοσοενζυμική τεχνική σε μεμβράνη είναι επίσης μια ταχεία μέθοδος που ανιχνεύει ειδικά IgM αντισώματα έναντι του μυκοπλάσματος της πνευμονίας σε ένα μόνο δείγμα ορού στην οξεία φάση και θεωρείται αξιόπιστη μέθοδος στη διάγνωση της οξείας μυκοπλασματικής λοίμωξης παιδιών. Υπολείπεται όμως σε ευαισθησία στα δείγματα με χαμηλό τίτλο, ο οποίος πρέπει να επιβεβαιώνεται με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού<sup>13</sup>. Για την μοριακή τεχνική της PCR, απαιτείται μόνο ένα δείγμα και



η εφαρμογή της είναι σημαντική σε δείγματα αίματος και βιολογικών υγρών. Η μέθοδος παρουσιάζει υψηλή ειδικότητα 92-100% και ευαισθησία 78-93%. Αντίθετα μειονέκτημα της μεθόδου θεωρείται η αδυναμία διάκρισης μεταξύ λοίμωξης και αποικισμού, που μπορεί να οδηγήσει σε υπερδιάγνωση λοίμωξης. Ο συνδυασμός PCR με ορολογικές τεχνικές ανίχνευσης IgM αντισωμάτων στα παιδιά ή IgA αντισωμάτων στους ενήλικες αναφέρεται ως μια επιτυχής εναλλακτική δυνατότητα διάγνωσης της λοίμωξης<sup>3</sup>. Η διάγνωση των εξωπνευμονικών εκδηλώσεων από το *M. pneumoniae* τίθεται συνήθως με χρήση ορολογικών μεθόδων ή και με τη χρήση PCR, αν υπάρχουν διαθέσιμα τα κατάλληλα βιολογικά υγρά (ΕΝΥ, αρθρικό, περικαρδιακό υγρό). Κλινικά δείγματα κατάλληλα για την εφαρμογή της είναι επίσης το ρινοφαρυγγικό επίχρισμα, τα πτύελα, το βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα και φυσικά ο πνευμονικός ιστός μετά από βιοψία. Η σοβαρότητα βέβαια της νόσου, η οποία ενίοτε εμφανίζεται ως μια ήπια αναπνευστική λοίμωξη, δεν δικαιολογεί την επεμβατική λήψη δειγμάτων<sup>4</sup>. Ιδιαίτερα η ανίχνευση των ειδικών αντισωμάτων IgM και IgG στον ορό του ασθενούς και η οροαναστροφή μεταξύ της οξείας και αναρρωτικής φάσης επιβεβαιώνει την τελική διάγνωση. Στην περίπτωση μας η διακύμανση των επιπέδων των IgM και IgG αντισωμάτων έναντι του *M. pneumoniae* απεικονίζεται στον Πίνακα 1. Με τα ευρήματα αυτά τεκμηριώθηκε η διάγνωση της εξωπνευμονικής μυκοπλασματικής εκδήλωσης (μυκοπλασματική παγκρεατίτιδα). Οι παράγοντες που καθορίζουν την αποτελεσματικότητα των ανοσοενζυμικών τεχνικών στη διάγνωση της μυκοπλασματικής λοίμωξης είναι η ηλικία του ασθενούς, ο χρόνος συλλογής του δείγματος, η διαθεσιμότητα του 2<sup>ου</sup> δείγματος στη φάση της ανάρρωσης, οι δυνατότητες κάθε εργαστηρίου σε εξοπλισμό

και ειδικευμένο έμπειρο προσωπικό<sup>4</sup>.

Ο ασθενής απυρέτησε το 7<sup>ο</sup> 24ωρο της νοσηλείας. Η θεραπευτική αγωγή με κεφαλοσπορίνη 3<sup>ης</sup> γενεάς δεν τροποποιήθηκε σε μακρολίδη, που είναι το φάρμακο εκλογής για την πνευμονία από το *M. pneumoniae*, παρά την ανίχνευση των αντιμυκοπλασματικών αντισωμάτων. Η κεφαλοσπορίνη 3<sup>ης</sup> γενεάς επιτυγχάνει ικανοποιητικές συγκεντρώσεις κυρίως στον παγκρεατικό ιστό, γεγονός που επηρεάζει θετικά την πρόγνωση της σοβαρής οξείας παγκρεατίτιδας. Εξάλλου στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται περιπτώσεις οξείας παγκρεατίτιδας ως ανεπιθύμητης ενέργειας στη χορήγηση τόσο της ερυθρομυκίνης όσο και της κλαριθρομυκίνης<sup>14</sup>. Με δεδομένη λοιπόν την ήδη βελτιωμένη κλινική εικόνα του ασθενούς δεν κρίθηκε αναγκαία η χρήση επιπλέον θεραπευτικής αγωγής με μακρολίδη. Άλλωστε η θεραπευτική αντιμετώπιση των εξωπνευμονικών εκδηλώσεων εξακολουθεί να αποτελεί αντικείμενο μελέτης, δεδομένου ότι τόσο τα αντιβιοτικά όσο και τα αντιφλεγμονώδη φάρμακα ελάχιστα επηρεάζουν την πορεία της εξωπνευμονικής νόσου, διότι η πλειονότητα των περιπτώσεων είναι αποτέλεσμα ανοσολογικής διαταραχής πυροδοτούμενης από το *M. pneumoniae*. Ειδικότερα στην περίπτωση της οξείας παγκρεατίτιδας, δεν αναφέρεται στη βιβλιογραφία πάντοτε η χρήση αντιμικροβιακής θεραπείας, δεδομένου ότι το πάγκρεας μπορεί να αυτοϊαθεί χωρίς διαταραχές της λειτουργίας του. Η αγωγή με αντιβιοτικά ενδείκνυται μόνο στην περίπτωση που ο ασθενής παρουσιάζει λοίμωξη του παγκρεατικού ιστού από μικρόβια της εντερικής χλωρίδας. Ένα επιπλέον σοβαρό πρόβλημα στη αντιμετώπιση της λοίμωξης από *M. pneumoniae* ιδιαίτερα στους μικρούς ασθενείς είναι η αναδυόμενη ανοχή έναντι των μακρολιδών. Η ανοχή έναντι των μακρολιδών πρωτοεμφανίστηκε το 2000 στη Ιαπωνία σε παιδιά<sup>15</sup>. Δεδομένης της πολυπλοκότητας της παθογένειας των εξωπνευμονικών εκδηλώσεων, όπου εμπλέκονται η έκταση της μόλυνσης, η παραγωγή αντισωμάτων και ανοσοσυμπλεγμάτων και η ιδιότυπη ανοσιακή απάντηση του ξενιστή, η έγκαιρη διάγνωση είναι ιδιαίτερα δύσκολη και επιτυγχάνεται μόνο με ορολογικό έλεγχο. Η βελτίωση της συμβατικής εργαστηριακής και μοριακής τεχνολογίας συνέβαλε σημαντικά στη διάγνωση και περιόρισε τις υποδιαγνωσμένες περιπτώσεις των εξωπνευμονικών εκδηλώσεων από το *M. pneumoniae*. Η αναγνώριση των ασθενών με εξωπνευμονική εκδήλωση, καθώς και η πρόβλεψη της εξέλιξης της νόσου, όπου σε ορισμένες περιπτώσεις απαιτείται επιθετική θεραπεία, κρίνεται απαραίτητη και επιτυγχάνεται κυρίως με το συνδυασμό των παραπάνω εργαστηριακών μεθόδων.

Πίνακας 1. Αποτελέσματα και αξιολόγηση ανίχνευσης ειδικών IgM και IgG αντισωμάτων έναντι του *M. pneumoniae* (μέθοδος ELISA) σε δείγματα ορού του ασθενούς.

Εβδομάδα νόσησης	IgM (IU/ml)	IgG (IU/ml)
1η	17,50 *	9,00 **
3η	20,00	21,00*
7η	10,00 **	23,30 *

\* Αποτέλεσμα θετικό

\*\* Αποτέλεσμα αμφίβολο



Διεύθυνση Επικοινωνίας:  
Μαρία Δασκαλάκη, Δουμά 3-5, Ηλιούπολη ΤΚ 16345, τηλ.:  
6932768839, e-mail: ge21ma20@yahoo.gr

Υποβλήθηκε: 18-06-2015  
Εγκρίθηκε: 23-07-2015

## Acute pancreatitis caused by *Mycoplasma pneumoniae* in a child

**Maria Daskalaki<sup>1</sup>, Antonia Makri<sup>1</sup>, Georgia Georgoulia<sup>1</sup>, Eustathia Staikou<sup>1</sup>, Sophia Karasaridou<sup>1</sup>, Artemis Bousboula<sup>1</sup>, Zoe Karakatsani<sup>2</sup>, Aliko Voyatzi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Microbiology and <sup>2</sup> Department of Pediatrics, General Pediatric Hospital Paidon Pentelis, Athens

### Summary

Acute pancreatitis is a quite rare clinical syndrome in childhood. *Mycoplasma pneumoniae* has recently been recognized as possible cause of pancreatitis in children. A wide variety of extrapulmonary manifestations related to *M. pneumoniae* infection can occur. We describe the case of a hospitalized 12 year old boy with a definite diagnosis of acute pancreatitis associated with *M. pneumoniae* due to high titer antibody detection in the absence of pneumonia. The clinical features, the increased serum and urine amylase values and serum lipase levels led to the proper diagnosis of acute pancreatitis. The serologic detection of rising antibody titers to *M. pneumoniae* shows that he had a recent *M. pneumoniae* infection and a concurrent episode of acute pancreatitis. The present case is reported in order to underline the role of *M. pneumoniae* as a potential cause of extrapulmonary manifestations, while respiratory infection may be absent.

(Key words: pancreatitis, children, *Mycoplasma pneumoniae*, extrapulmonary manifestation)

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Baum S.** *Mycoplasma pneumoniae* and atypical pneumonia In Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7<sup>th</sup> Edition, Churchill Livingstone Elsevier 2010, p.2481-2489.
- Foy HM.** Infections caused by *Mycoplasma pneumoniae* and possible carrier state in different populations of patients. *Clin Infect Dis* 1993, 17 (Suppl1):S37-46.
- Daxboeck F, Krause R, Wenisch C.** Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Clin Microbiol Infect* 2003, 9: 263-273.
- Atkinson TP, Balish M, Waites K.** Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections *FEMS Microbiol Rev* 2008, 32: 956-973.
- Waites K, Talkington D.** *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen *Clin Microbiol Reviews* 2004, 17:697-728.
- Bai HX, Lowe ME, Husain SZ.** What have we learn about acute pancreatitis in children? *J. Pediatric Gastroenterol Nutr* 2011, 52:262-270.
- Parenti DM, Steinberg W, Kang P** Infectious causes of acute pancreatitis *Pancreas* 1996, 13(4): 356-371 1996, 13: 356-371.
- Leinikki PO, Panzar P, Tykka H.** Antibody response in patients with acute pancreatitis to *M. pneumoniae*. *Scand J Gastroenterol* 1973, 8:631-635.
- Νεονάκη Π, Μάρακα Σ, Στεφανάκη Σ, Τσιλιμιγκάκη Α.** Οξεία παγκρεατίτιδα με λοίμωξη από μυκόπλασμα της πνευμονίας. *Παιδιατρική* 2006, 69: 310-312.
- Narita M.** Pathogenesis of neurologic manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Pediatric Neurology* 2009, 41:159-166.
- Cox K, Amen M, Sample W, Sarti D, O' Donnell M, Byrne W.** The ultrasonic and biochemical diagnosis of pancreatitis in children. *J Pediatrics* 1980, 96: 407-411.
- Souliou E, Almasri M, Papa A, Theodoridou A, Diza E.** Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract infections in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007, 26:513-515.
- Σιαμαντάς Κ, Γιαννάκη Μ, Κοντογιάννη Β, Παπαβασιλείου Ι, Αθηναίου Μ, Πάγκαλη Α.** Εκτίμηση ταχείας τεχνικής προσδιορισμού IgM ειδικών αντισωμάτων έναντι του μυκοπλάσματος της πνευμονίας. *Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διαγνωστική* 2007, 12: 224-228.
- Avraam C, Siomos K, Armenaka MC, Sion ML.** Clarithromycin associated acute pancreatitis. *Annals of Gastroenterology* 2007,20: 35-37.
- Sanchez-Vargas FM, Gomez-Duarte OG.** *Mycoplasma pneumoniae*: an emerging extra-pulmonary pathogen. *Clin Microbiol Infect.* 2008, 14: 105-17.

## ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

# Εφαρμογή της δοκιμασίας CAMP στην ταυτοποίηση του *Streptococcus agalactiae*

**Μαρία Παπαδημητρίου**

Μικροβιολογικό Τμήμα Νοσοκομείου Παιδών «Π. και Α. Κυριακού», Αθήνα

## Περίληψη

Ο *Streptococcus agalactiae* αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα παθογόνα, ιδιαίτερα κατά τη μεταγεννητική περίοδο, καθώς αποτελεί το συχνότερο αίτιο νεογνικής σηψαιμίας στον αναπτυγμένο κόσμο. Στην ταυτοποίησή του συμβάλλει η δοκιμασία CAMP, η οποία βασίζεται στη συνεργική αιμόλυση μεταξύ *S. agalactiae* και στελεχών *Staphylococcus aureus*. Στη παρούσα εργασία περιγράφεται η τεχνική της δοκιμασίας, καθώς και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

(Λέξεις ευρετηρίου: Δοκιμασία CAMP, *Streptococcus agalactiae*, νεογνική σηψαιμία)

## Εισαγωγή

Ο *Streptococcus agalactiae* ανήκει στην ομάδα Β κατά Lancefield των β-αιμολυτικών στρεπτοκόκκων. Πρόκειται για Gram θετικούς κόκκους, σφαιρικού σχήματος, που διατάσσονται σε μακριά αλυσίδα ή κατά ζεύγη. Αναπτύσσεται στο αιματούχο άγαρ στο οποίο οι αποικίες του παρουσιάζουν στενή ζώνη β-αιμόλυσης, ενώ υπάρχουν και στελέχη που δεν προκαλούν β-αιμόλυση.

## Κλινικές Εκδηλώσεις και Εργαστηριακή Διάγνωση

Ο *S. agalactiae* αποικίζει το γαστρεντερικό σωλήνα και κυρίως την ορθοπρωκτική περιοχή των ενηλίκων. Σε ποσοστό 5-40% ανευρίσκεται στη φυσιολογική χλωρίδα του κόλπου, της περιουρηθρικής περιοχής και του ορθού των γυναικών. Μεταδίδεται κάθετα από την αποικισμένη μητέρα στο νεογνό κατά τη δίοδο του από το

γεννητικό σωλήνα σε ποσοστό 50%, μέσω του επιθηλίου των κυψελίδων του, και προκαλεί βαριά σηψαιμία, πνευμονία ή μηνιγγίτιδα στο νεογέννητο. Στις πρώιμες μορφές λοίμωξης (εκδήλωση νόσου εντός μιας εβδομάδος από τη γέννηση), η σηψαιμία συνοδεύεται συχνότερα από πνευμονία και τα ποσοστά θνητότητας ανέρχονται σε 5-10%. Στις όψιμες μορφές λοίμωξης (εκδήλωση μετά από 7 ημέρες αλλά έως και 3 μήνες μετά τη γέννηση) παρουσιάζεται σηψαιμία ή μηνιγγίτιδα, συχνά κεραυνοβόλος. Στη μορφή αυτή τα ποσοστά μόνιμων νευρολογικών επιπλοκών, όπως κώφωση, ανέρχονται σε 25-50%. Ο *S. agalactiae* αποτελεί το σημαντικότερο αίτιο νεογνικής σηψαιμίας στον αναπτυγμένο κόσμο<sup>2,5</sup>. Η νόσος δύναται να προσβάλει και ενήλικες, ιδιαίτερα ανοσοκατασταλαμένους, στους οποίους προκαλεί ευρύ φάσμα βαρέων νοσημάτων, όπως σηψαιμία, πνευμονία, ενδοκαρδίτιδα με μεγάλες εκβλαστήσεις, μηνιγγίτιδα, οστεομυελίτιδα και σηπτική αρθρίτιδα, καθώς και ασυμπτωματική βακτηριουρία ή λοιμώξεις ουροφόρων οδών. Στη λοχεία μπορεί να προκαλέσει ενδομητρίτιδα

κατά τις πρώτες 2 ημέρες μεταγεννητικά. Η μέση θνητότητα στους ενήλικες κυμαίνεται μεταξύ 20 και 35%, με υψηλότερα ποσοστά (50%) σε ενδοκαρδίτιδες.

Η ταυτοποίηση του *S. agalactiae* γίνεται ως εξής:

- Χρώση Gram: Gram (+) κόκκοι σε αλυσίδες ή ζεύγη
- Μέγεθος αποικιών μεγαλύτερο του 0,5 mm μετά από 24 ώρες επώασης
- Αντοχή στη βακιτρακίνη (0,04 μg/δισκίο) και στην τριμεθοπρίμη - σουλφαμεθοξαζόλη
- Μη παραγωγή καταλάσης
- Βιοχημικές δοκιμές με εμπορικά συστήματα
- Ορολογική ταυτοποίηση με αντι-B αντιορούς

Για την ταυτοποίηση του *S. agalactiae* πολύ χρήσιμη είναι η ειδική ταυτοποιητική δοκιμασία CAMP.

## Δοκιμασία CAMP

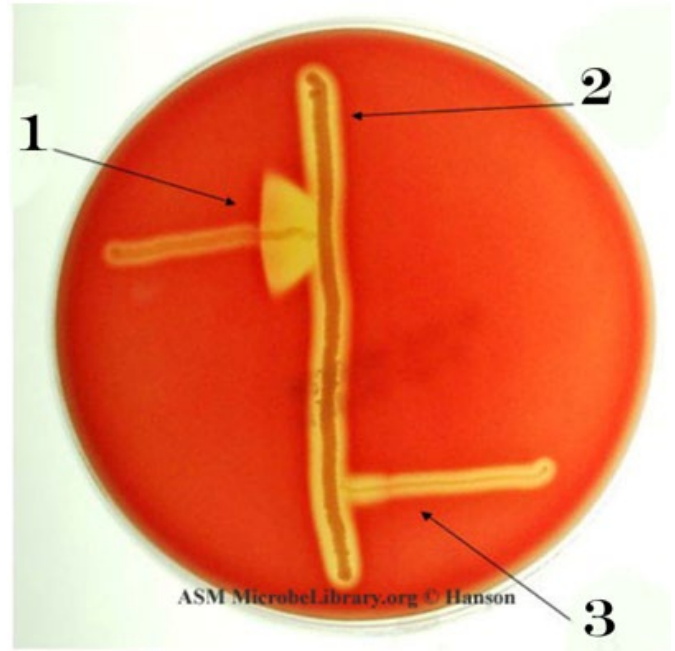
Η δοκιμασία αυτή περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1944 από τους Christie, Atkins και Munch-Petersen, από τα αρχικά γράμματα των ονομάτων των οποίων έλαβε και το όνομά της. Η αρχή της στηρίζεται στη συνεργική αιμόλυση σε αιματούχο άγαρ, που προκαλείται από τον παράγοντα CAMP (εξωκυττάρια πρωτεΐνη) του *S. agalactiae* και τη β-αιμόλυση στελέχους *Staphylococcus aureus*. Η συνεργική αυτή αιμόλυση παρουσιάζεται σε ποσοστό μεγαλύτερο του 98% των στελεχών *S. agalactiae*<sup>3</sup>.

Η τεχνική περιλαμβάνει ενοφθαλμισμό στελέχους *S. aureus* (ATCC 25923), που παράγει β-αιμόλυση, σε τρυβλίο αιματούχου άγαρ με 5% αίμα προβάτου. Ο ενοφθαλμισμός γίνεται με κρίκο σε ευθεία γραμμή κατά τη διάμετρο του τρυβλίου. Κάθετα στη διάμετρο αυτή ενοφθαλμίζεται το εξεταζόμενο στέλεχος στρεπτοκόκκου, σε απόσταση τουλάχιστον 2 mm από το στέλεχος του *S. aureus*, ώστε να μην έρχονται σε επαφή. Το τρυβλίο επωάζεται αεροβίως στους 36±1°C επί 18-24 ώρες<sup>1,3,4,5</sup>. Αν το εξεταζόμενο στέλεχος στρεπτοκόκκου ανήκει στη Β ομάδα, παρατηρείται ευρεία β-αιμόλυση στο σημείο που το ενοφθάμισμα του στρεπτοκόκκου πλησιάζει σε αυτό του *S. aureus*. Η εικόνα της ευρείας αιμόλυσης μοιάζει με φλόγα κεριού ή κεφαλή βέλους. Αν το εξεταζόμενο στέλεχος δεν ανήκει στη Β ομάδα δεν παρατηρείται ευρεία β-αιμόλυση (Εικόνα 1).

Σημειώνεται ότι αν το τρυβλίο επωαστεί παρουσία CO<sub>2</sub> ή σε αναερόβιες συνθήκες, ενδέχεται στέλεχος *Streptococcus pyogenes* ομάδας Α να δώσουν θετική δοκιμασία<sup>4,5</sup>.

Η δοκιμασία CAMP αναπτύχθηκε αρχικά για την ταυτοποίηση στελεχών *S. agalactiae*, έχει εντούτοις χρησιμοποιηθεί και για την ταυτοποίηση της *Listeria*

*monocytogenes* και στελεχών *Corynebacterium*.



Εικόνα 1. Τεχνική και αξιολόγηση της δοκιμασίας CAMP για την ταυτοποίηση του *Streptococcus agalactiae* (τροποποιημένο από American Society for Microbiology MicrobelLibrary<sup>5</sup>). Απεικονίζονται: (1) *Streptococcus agalactiae* με θετική δοκιμασία CAMP, (2) *Staphylococcus aureus*, και (3) *Streptococcus pyogenes* με αρνητική δοκιμασία CAMP

### Διεύθυνση Επικοινωνίας:

Μαρία Παπαδημητρίου, Ιατρός Βιοπαθολόγος, Επιμελήτρια Α' ΕΣΥ, Μικροβιολογικό Τμήμα Νοσοκομείου Παίδων «Π. και Α. Κυριακού», Αθήνα, τηλ.: 210 8229925, e-mail: mariajrapadimitriou@yahoo.gr

Υποβλήθηκε: 28-03-2015

Εγκρίθηκε: 11-06-2015

## Application of the CAMP test for the identification of *Streptococcus agalactiae*

**Maria Papadimitriou**

Department of Microbiology, "P. and A. Kyriakou" Children's Hospital, Athens

### Summary

*Streptococcus agalactiae* is one of the most important pathogens, particularly in the postnatal period. It represents the most common cause of neonatal sepsis in developed countries. Identification is facilitated by the CAMP test, which is based on synergic hemolysis between *S. agalactiae* and strains of *Staphylococcus aureus*. The technique of the test and evaluation of results are presented.

(Keywords: CAMP test, *Streptococcus agalactiae*, neonatal sepsis)

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Αρσένη Α** (1994). Στρεπτόκοκκοι. Στο: Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διάγνωση Λοιμώξεων, σελ. 140.
2. **Γιαμαρέλλου Ε** (2009). Λοιμώξεις από Στρεπτοκόκκους. Στο: Λοιμώξεις και Αντιμικροβιακή Χημειοθεραπεία, σελ. 824-827.
3. **Spellerberg B and Brandt C** (2011). *Streptococcus*. In: Manual of Clinical Microbiology, 10th ed. (eds: Versalovic et al), pp. 339-340.
4. **Winn WC Jr, Allen SD et al** (eds) (1997). Isolation and Identification of Streptococci and "Streptococcus-like" Bacteria. In: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th ed, p. 717, 1468.
5. Δικτυακός τόπος American Society for Microbiology - ASM MicrobeLibrary. Προσβάσιμο στο: <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/3086-camp-test-protocols> (27.03.2015)