

Ελληνική Ιατρική

Τόμος 70 • Τεύχος 1
Ιανουάριος – Μάρτιος 2004

Περιεχόμενα

<i>Ενημερωτικά άρθρα</i>	5	Ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί και ανοσιακή απάντηση <i>Ε. Δίζα-Ματαυσιή</i>
	17	Νόσος Lyme <i>Α. Κανσουζίδου-Κανακούδη</i>
	30	Οίδημα ανθεκτικό στη διουρητική αγωγή: Αιτίες και αντιμετώπιση <i>Κ. Μαυροματίδης</i>
	36	Επιδράσεις της φαρμακευτικής αγωγής στην επικοινωνία και την κατάποση: Μια πρόταση για γλωσσοπαθολογική φαρμακολογία <i>Χ. Πρώιου, Ν. Αρτέμης</i>
<i>Ερευνητικές εργασίες</i>	43	Απομόνωση στελεχών Escherichia coli 0157 : H7 από τρόφιμα ζωικής προέλευσης και παραγωγικά ζώα <i>Α. Ντόντορου, Χ. Παπαδοπούλου, Γ. Φιλίουσης, Ε. Οικονόμου, Ι. Αποστόλου, Γ. Ζάκας, Α. Σαλαμούρα, Α. Κανσουζίδου, Σ. Λεβειδιώτου</i>
	50	Επιπτώσεις στο αναπνευστικό σύστημα από την επεξεργασία ξηρών φύλλων <i>Δ. Χλωρός, Α. Σιχλετίδης, Γ. Κυριαζής, Ε. Βλαχογιάννη, Ι. Τσιότσιος, Μ. Κάκουρα</i>
	59	Επίπεδα ρεξιτίνης στον ορό γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών <i>Δ. Πανίδης, Γ. Κολιάκος, Α. Κούρτης, Δ. Φαρμακιώτης, Τ. Μούσλεχ, Δ. Ρούσσο</i>
	66	Τραχειοστομία σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς. Σύγκριση χειρουργικής και διαδερμικής τεχνικής <i>Ι. Κεσίσογλου, Ν. Δεληγιαννίδης, Δ. Αποστολίδης, Ε. Βόλακλη, Χ. Σκούρτης, Ο. Γαμβρός</i>
<i>Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις</i>	73	Σπονδυλοδισκίτιδα και παρασπονδυλικό απόστημα από βρουκέλλα. Περιγραφή τριών περιπτώσεων <i>Π. Νικολαΐδης, Σ. Μεταλλίδης, Π. Κολλάρας, Α. Σοφός, Α. Δρεβελέγκας, Α. Τσώνα, Ε. Κουμεντάκη, Α. Τουρκαντώνης</i>
<i>Άρθρα συντάξεως</i>	80	Οι συνέπειες του καπνού από την καλλιέργεια, επεξεργασία... έως την κατανάλωση <i>Γ. Ηλονίδης</i>
	83	Αντιβιοτικοάντοχα βακτήρια και δημόσια υγεία <i>Π. Κοΐδης</i>

Helliniki Iatriki

Volume 70 • No 1
January – March 2004

Contents

<i>Brief reviews</i>	5	Intracellular microorganisms and immune response <i>Diza-Mataftsi E.</i>
	17	Lyme Borreliosis <i>Kansouzidou-Kanakoudi A.</i>
	30	Oedema refractory to the diuretic treatment. Causes and confrontation <i>Mavromatidis K.</i>
	36	Prug actions on communication and swallowing. A new “logopathological pharmacology” <i>Proios H, Artemis N.</i>
<i>Investigative papers</i>	43	Isolation of escherichia coli 0157:H7 in food of animal origin and in productive animals <i>Dontorou A, Papadopoulou C, Filiouis G, Ekonomou V, Apostolou I, Zakas G, Salamoura A, Kansouzidou A, Levidiotou S.</i>
	50	Effect on the respiratory system of the processing of dried tobacco leaves <i>Chloros D, Sichletidis L, Kyriazis G, Vlachogianni E, Tsiotsios I, Kakoura M.</i>
	59	Serum resistin levels in women with polycystic ovary syndrome <i>Panidis D, Koliakos G, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouslech T, Roussos D.</i>
	66	Tracheostomy in critically ill patients. Comparison between surgical and percutaneous technique <i>Kesisoglou I, Deligiannidis N, Apostolidis D, Volakli E, Skourtis Ch, Gamvros O.</i>
<i>Cases report</i>	73	Spondylitis and paravertebral abcess due to Brucella. Report of three cases <i>Nikolaidis P, Metallidis S, Kollaras P, Sofos A, Drevelegas A, Tsona A, Koumentaki E, Tourkantonis A.</i>
<i>Editorials</i>	80	Health consequence from cultivation, processing... use of tobacco products <i>Illonidis G.</i>
	83	Antibiotic resistant bacterial and public health <i>Koidis P.</i>

Ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί και ανοσιακή απάντηση

Ευδοξία Δίζα-Ματαυτσή

Α' Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρικό Τμήμα ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη

Περίληψη. Οι ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να εισέρχονται στα κύτταρα του ξενιστή με ενδοκυττάρωση ή φαγοκυττάρωση, μέσω υποδοχέων, να επιζούν και να πολλαπλασιάζονται μέσα σε αυτά. Μικροοργανισμοί που ανήκουν στα βακτήρια, τους ιούς, τα πρωτόζωα και τους μύκητες μπορούν να παραμείνουν ενδοκυττάρως διαβίου χωρίς κλινική συμπτωματολογία ή να οδηγήσουν σε χρόνια ενεργό λοίμωξη. Η άμυνα του ξενιστή βασίζεται κυρίως στους μηχανισμούς της κυτταρικής ανοσίας, τόσο κατά την ανάπτυξη της έμφυτης όσο και της επίκτητης ανοσίας. Στην ανασκόπηση αυτή τονίζεται ο σημαντικός ρόλος των κυττάρων του μονοπυρηνικού φαγοκυτταρικού συστήματος και των κυττάρων φυσικών φονέων για την παρεμπόδιση του πολλαπλασιασμού και της διασποράς των ενδοκυττάρων μικροοργανισμών στα αρχικά στάδια της λοίμωξης. Από τους μηχανισμούς της ειδικής ανοσίας περιγράφεται η σπουδαιότητα

των CD4-Th1 λεμφοκυττάρων για τον περιορισμό των μικροοργανισμών (μυκοβακτηριδίων, σαλμονελλών, βρουκελλών, τοξοπλάσματος και άλλων), οι οποίοι επιζούν στα φαγοσωμάτια των μακροφάγων, καθώς και η σπουδαιότητα των κυτταρολυτικών/κυτταροτοξικών CTL λεμφοκυττάρων για την καταπολέμηση μικροοργανισμών (ιών, χλαμυδίων, ρικετσιών και άλλων), οι οποίοι ανευρίσκονται στο κυτταρόπλασμα των μολυσμένων κυττάρων. Αναφέρεται επίσης η δράση κυτταροκινών όπως της ιντερλευκίνης 12 και της ιντερφερόνης γ. Στη συνέχεια περιγράφονται οι μηχανισμοί με τους οποίους οι παθογόνοι μικροοργανισμοί διαφεύγουν την ανοσιακή απάντηση, με παρεμπόδιση της φαγολυσσοσωματικής σύντηξης ή με παρεμπόδιση της παρουσίας των αντιγόνων ή και με άλλους μηχανισμούς. Τονίζεται ακόμη η σημασία του σχεδιασμού νέων εμβολίων που θα διεγείρουν την κυτταρική ανοσία.

Ελλην Ιατρ 2004, 70: 5 - 16.

Ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί θεωρούνται αυτοί που έχουν την ικανότητα να εισέρχονται, να επιζούν και να πολλαπλασιάζονται μέσα σε κύτταρα του ξενιστή. Η ικανότητα αυτή καθορίζεται, κατά κύριο λόγο, από τη δυνατότητα του μικροοργανισμού να διαφεύγει ή να ανθίσταται στους μηχανισμούς της ανοσίας του ξενιστή. Η έκβαση δε της λοίμωξης εξαρτάται από τη δυναμική που αναπτύσσεται ανάμεσα στη στρατηγική του μικροοργανισμού και την ανοσιακή απάντηση, μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση με ευαίσθητη ισορροπία.

Α. ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΟΙ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

Οι ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί οι οποίοι αναφέρονται στα κλασικά συγγράμματα^{1,2} είναι: Όλοι

οι **Ιοί, Βακτήρια**, όπως τα μυκοβακτηρίδια της φυματίωσης και λέπρας, η λιστέρια η μονοκυτταρογόνος, η λεγιωνέλλα της πνευμονίας, είδη σαλμονελλών, είδη βρουκελλών, οι ρικέτσιες, τα χλαμύδια, η μπορρέλια burgdorferi, **Παράσιτα**, όπως τα πλασμίδια, το τοξόπλασμα, είδη λείσμανιών, τα τρυπανοσώματα, **Μύκητες**, όπως είδη κάντιτα, ο κρυπτόκοκκος neoformans και το ιστόπλασμα.

Τελευταία, και άλλοι μικροοργανισμοί συμπεριλαμβάνονται μεταξύ των ενδοκυττάρων ή μελετάται η ενδοκυττάρια συμπεριφορά τους. Η *Porphyromonas gingivalis*, που ενοχοποιείται για περιοδοντίτιδες³, παραμένει σε κενοτόπια στα επιθηλιακά κύτταρα των παρειών του στόματος και στα ενδοθηλιακά της στεφανιαίας αρτηρίας,

στις αθηρωματώδεις πλάκες. Ο *Σταφυλόκοκκος ο χρυσίζων*, ένα εξοκυττάριο μικρόβιο εισέρχεται με ενδοκυττάρωση, μέσω υποδοχέων, και πολλαπλασιάζεται σε μη επαγγελματικά φαγοκύτταρα, όπως οι οστεοβλάστες. Ο φαινότυπος αυτός παραμένει μέσα στα κύτταρα υπό μορφή μικρών αποικιών και σχετίζεται με εμμένουσες και υποτροπιάζουσες λοιμώξεις⁴. *Στελέχη του κολοβακτηριδίου* επιζούν και πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργειες, στη νόσο Crohn.

Είσοδος των μικροοργανισμών στο κύτταρο

Ορισμένοι μικροοργανισμοί εισέρχονται στο κύτταρο-ξενιστή με **ενδοκυττάρωση** μέσω υποδοχέων⁵. Εγκολώνονται με μηχανισμό εξαρτώμενο από την κλαθρίνη και μεταφέρονται στο κυτταρόπλασμα, μέσα στα ενδοσωμάτια, πρώιμα και όψιμα. Μικροοργανισμοί και σωματίδια μεγαλύτερα από 0,5 μm ενδοκυτταρώνονται με ιδιαίτερο μηχανισμό, ανεξάρτητο της κλαθρίνης και εξαρτώμενο από τον πολυμερισμό της ακτίνης, τη **φαγοκυττάρωση**. Μεταφέρονται στο κυτταρόπλασμα μέσα σε ενδοκυττάρια κυστίδια, τα φαγοσωμάτια, τα οποία ωριμάζουν και συνενώνονται στη συνέχεια με τα λυσοσωμάτια (φαγολυσοσωματική σύντηξη). Οι μικροοργανισμοί καταστρέφονται με τη δράση των υδρολυτικών ενζύμων των λυσοσωματίων και με τα δραστικά παράγωγα του οξυγόνου (ROI, Reactive Oxygen Intermediates) και του αζώτου (RNI, Reactive Nitrogen Intermediates)^{6,7}, κατά την αναπνευστική έκρηξη.

Για τους περισσότερους ιούς που εισέρχονται με ενδοκυττάρωση έχει θεωρηθεί ότι πολλά συστατικά της επιφάνειας του κυττάρου δρουν ως υποδοχείς⁸. Ενδεικτικά αναφέρονται ορισμένοι ως πιθανοί υποδοχείς: **τα υπολείμματα σιαλικού οξέος** (ιοί γρίπης, Reo), **οι ιντεγκρίνες** (αδενοϊοί, Echo), **ο CR2** (EBV, Epstein-Barr virus), **CD4** (HIV-1, Human immunodeficient virus 1)⁹. Πολλοί επίσης είναι οι υποδοχείς της φαγοκυττάρωσης^{2,5,10,11}. Οι υποδοχείς αυτοί, σε αντίθεση με αυτούς των ιών, δε βρίσκονται σε όλα τα κύτταρα, αλλά μόνο στα επαγγελματικά φαγοκύτταρα. Διακρίνονται σε: **1. Fc υποδοχείς** (FcγRI, FcγRIIA, FcγRIII) που φαγοκυτταρώνουν μικροοργανισμούς καλυμμένους με IgG1 και IgG3 (οψωνίνες). Η σύνδεση με Fc υποδοχείς είναι η πλέον ισχυρή σύνδεση και διεγείρει όλες τις φάσεις της φαγοκυττάρωσης, (αναγνώριση και δέσμευση του μικροοργανισμού, ενεργοποίηση του σχηματισμού φα-

γοσωματίου μέσω των G πρωτεϊνών της οικογένειας Rho και Rab¹², σχηματισμός του φαγολυσοσωματίου και, τέλος, καταστροφή του μικροοργανισμού). **2. Υποδοχείς μαννόζης**. Οι υποδοχείς αυτοί αναγνωρίζουν μόρια μαννόζης και φουκτόζης που βρίσκονται στα γλυκολιπίδια και τις γλυκοπρωτεΐνες των μικροοργανισμών και όχι των κυττάρων του ξενιστή. Προκαλούν, όπως και οι Fc υποδοχείς, πλήρη φαγοκυττάρωση (λεκτινοφαγοκυττάρωση). **3. Υποδοχείς συμπληρώματος και υποδοχείς μη ειδικών οψωνινών** (CD35 ή CR1, CD11b/CD18 ή MAC-1 ή CR3, CD11c/CD18 ή CR4). Οι υποδοχείς αυτοί αναγνωρίζουν μικροοργανισμούς καλυμμένους με κλάσματα του συμπληρώματος ή με άλλες μη ειδικές οψωνίνες (ινωδογόνο, φμπρονεκτίνη, mannose binding lectin, C-reactive protein). Δεν ενεργοποιούν πλήρως τη φαγοκυττάρωση. **4. Εκκαθαριστές** (scavenger). Μέσω των υποδοχέων αυτών οξειδωμένη LDL χοληστερίνη αλλά και μικροοργανισμοί, εισέρχονται στο κύτταρο.

Αναφορικά με τα παράσιτα δεν έχει εδραιωθεί ακόμη κατά πόσον οι μηχανισμοί που χρησιμοποιούν ομοιάζουν με αυτούς που περιγράφηκαν για τους ιούς και τα βακτήρια. Ενδεικτικά μόνο αναφέρεται, ότι πρωτεΐνη που ομοιάζει με την κλαθρίνη συμμετέχει στην είσοδο του τοξοπλάσματος στο κύτταρο¹³.

Η φύση των διαφόρων υποδοχέων της ενδοκυττάρωσης και φαγοκυττάρωσης είναι αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας, γιατί εάν επιτευχθεί θεραπευτική παρέμβαση πριν ο μικροοργανισμός εισέλθει στο κύτταρο, θα είναι πολύ αποτελεσματική⁹.

Παθογένεια των νόσων που προκαλούν οι ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί

Οι βλάβες που προκαλούνται στον ξενιστή από τον πολλαπλασιασμό των ενδοκυτταρίων μικροοργανισμών οφείλονται: **1. Άμεσα, στην καταστροφή των κυττάρων στα οποία παρασιτούν**. Η λιστεριολυσίνη της λιστερίας καταστρέφει κυτταρικές μεμβράνες, κυτταροτοξίνες της λεγιωνέλλας λύουν κύτταρα¹⁶, οι ρικέτσιες προκαλούν οξειδωτική καταστροφή των επιθηλιακών κυττάρων στα οποία παρασιτούν¹, οι δε ιοί έχουν κυτταροπαθογόνο δράση προκαλώντας αναστολή της σύνθεσης των πρωτεϊνών του κυττάρου ξενιστή (ιοί polio, influenza, herpes simplex virus, λύσσας)⁸. **2. Έμμεσα, στην ανοσιακή απάντηση του ξενιστή**. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ο σχηματισμός κοκκιωμάτων^{5,7,14}, στη φυματίωση και στη λέπρα. Στις

ιογενείς λοιμώξεις τα κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα καταστρέφουν τα ηπατοκύτταρα (λοιμώξη από τον ιό της ηπατίτιδας Β), τις μήνιγγες (λοιμώξη από τον ιό της λεμφοκυτταρικής χοριομηνιγγίτιδας, LCHM)⁸.

Έκβαση της λοίμωξης από ενδοκυττάρους μικροοργανισμούς

Η λοίμωξη μπορεί να είναι **οξεία ενεργός**, αλλά πολύ συχνά είναι **ασυμπτωματική**, καθώς έγκαιρα και αποτελεσματικά οι μικροοργανισμοί περιορίζονται από τους ανοσιακούς μηχανισμούς¹⁴. Η λοιμογόνος δύναμη και ο αριθμός των μικροοργανισμών, η πύλη εισόδου και η επαρκής ανοσιακή απάντηση, καθορίζουν την ευμενή αυτή εξέλιξη (ιογενείς λοιμώξεις, λοίμωξη από μυκοβακτηρίδια, *T. gondii*)^{5,15}. Παρά όμως τον περιορισμό του μικροοργανισμού και της λοίμωξης, τις περισσότερες φορές δεν επιτυγχάνεται κάθαρση του ξενιστή και οι μικροοργανισμοί παραμένουν σε αυτόν δια βίου. Για το λόγο αυτό οι λοιμώξεις από ενδοκυττάρους μικροοργανισμούς χαρακτηρίζονται από χρονιότητα, υπό την μορφή της **ενεργού ή λανθάνουσας ή υποτροπιάζουσας χρονίας λοίμωξης**^{7,14}. Επίσης, για τον ίδιο λόγο, οι λοιμώξεις αυτές είναι συχνές στα ανοσοκατασταλμένα άτομα (**ευκαιριακές λοιμώξεις**).

B. ΑΝΟΣΙΑΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΣΤΟΥΣ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΟΥΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ

Οι ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί κατά την είσοδό τους στον ξενιστή και όσο βρίσκονται στον εξωκυττάριο χώρο ή στην κυκλοφορία του αίματος αντιμετωπίζονται, όπως και οι εξωκυττάριοι, με μηχανισμούς της χυμικής ανοσίας. Οι κύριοι όμως μηχανισμοί που συμβάλλουν στην αποτελεσματική αντιμετώπισή τους είναι οι μηχανισμοί της κυτταρικής ανοσίας, τόσο της έμφυτης όσο και της επίκτητης. Τα κύτταρα που παίζουν σημαντικό ρόλο είναι τα μονοπύρηννα φαγοκύτταρα (κύτταρα του μονοπυρηνικού φαγοκυτταρικού συστήματος), οι φυσικοί φονείς, τα CD4-Th1 λεμφοκύτταρα και τα δραστικά κυτταρολυτικά/κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα (CTL, Cytolytic/Cytotoxic T Lymphocytes). Διερευνάται ο ρόλος των γδ Τ κυττάρων και των CD1 μορίων, ενώ μικρός είναι ο ρόλος των πολυμορφοπυρήνων. Σημαντικές στο συντονισμό της δράσης των κυττάρων που συμμετέχουν στην ανοσιακή απάντηση έναντι των ενδοκυττάρων μικροοργανισμών είναι οι κυτταροκίνες, με σπου-

δαιότερες τις IL-12 και IFN-γ. Χυμοκίνες και μόρια προσκόλλησης συμμετέχουν επίσης στην όλη αντίδραση¹⁸.

B1. Έμφυτη ή φυσική ανοσιακή απάντηση

Τα **μονοπύρηννα φαγοκύτταρα** και οι **φυσικοί φονείς** συνιστούν κατά κύριο λόγο την κυτταρική ανοσιακή απάντηση κατά τις πρώτες ώρες της εισόδου των ενδοκυττάρων μικροοργανισμών. Τα μεν φαγοκύτταρα στρέφονται έναντι των βακτηρίων αλλά και των μυκήτων και ορισμένων πρωτοζώων, ενώ οι φυσικοί φονείς κυρίως έναντι των ιών και των πρωτοζώων, και λιγότερο έναντι των βακτηρίων. Λιγότερο σημαντικός είναι ρόλος των ουδετεροφίλων πολυμορφοπυρήνων κυττάρων. Στην ανάπτυξη της έμφυτης ανοσιακής απάντησης και την ενεργοποίηση των κυττάρων συμμετέχουν κυρίως η IL-12 και η IFN-γ.

Μονοπύρηννα φαγοκύτταρα

Οι ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί, πολύ γρήγορα μετά την είσοδό τους στο ξενιστή και για να αποφύγουν τους βλαπτικούς για αυτά μηχανισμούς στον εξωκυττάριο χώρο καταφεύγουν μέσα στα κύτταρα και μάλιστα μέσα στα μονοπύρηννα μακροφάγα (κύτταρα του μονοπυρηνικού φαγοκυτταρικού συστήματος). Αυτά προέρχονται από το μυελό των οστών και υφίστανται συνεχή διαφοροποίηση, αρχικά κυκλοφορούν στο αίμα, ως **μονοκύτταρα του αίματος** και στη συνέχεια εγκαθίστανται στους διάφορους ιστούς, ως **μακροφάγα των ιστών** (μικρογλοιακά κύτταρα, κύτταρα Kupfer, οστεοκλάστες κ.ά.). Οι ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί στην προσπάθειά τους να επιβιώσουν προσπαθούν να εισέλθουν στα μακροφάγα μέσω υποδοχέων που δε διεγείρουν πλήρως τη φαγοκυττάρωση. Έτσι το *M. tuberculosis* και οι λείσμάνιες χρησιμοποιούν κυρίως τους CR3 υποδοχείς^{14,19}. Τα μυκοβακτηρίδια επιπλέον συνδέονται με εστεροποιημένη χοληστερίνη της κυτταρικής μεμβράνης του μακροφάγου και η σύνδεση αυτή είναι απαραίτητη για τη φαγοκυττάρωση⁵. Παθογόνα και μη παθογόνα στελέχη λεγιωνέλλας χρησιμοποιούν διαφορετικούς τρόπους εισόδου στα μακροφάγα.

Εγκατάσταση στα φαγοςώματα. Μετά τη φαγοκυττάρωση τα μυκοβακτηρίδια, η λεγιωνέλλα, η βρουκέλλα, τα χλαμύδια, η σαλμονέλλα κ.α., εγκαθίστανται στα φαγοςώματα τα οποία και μετατρέπουν σε χώρους φιλικούς για την επιβίωσή τους.

Θεωρείται ότι η πιο σημαντική δράση αυτών είναι η **αποτροπή της φαγολυσσοσωματικής σύντηξης**²⁰. Έτσι αποφεύγουν τη βλαπτική επίδραση των δραστικών μορφών του οξυγόνου, του αζώτου και των λυσσοσωματικών ενζύμων. Στα φαγοσώματα με ζωντανά μυκοβακτηρίδια έχουν βρεθεί δείκτες πρωίμων (rab 5) και όχι όψιμων ενδοσωματίων (rab 7) και αυτό υποδηλώνει ότι τα μυκοβακτηρίδια εμποδίζουν την ωρίμαση των φαγοσωμάτων²¹. Στα φαγοσώματα με ζωντανά μυκοβακτηρίδια βρέθηκαν επίσης μόρια της πρωτεΐνης TACO (Tryptophane aspartate containing coat protein), που δεν υπάρχουν στα φαγοσώματα με νεκρά μικρόβια, ούτε στα φαγοσώματα μη μολυσμένων μακροφάγων²². Με βάση τις παρατηρήσεις αυτές η πρωτεΐνη TACO έχει συσχετιστεί με τη μη ωρίμαση των φαγοσωμάτων. Η μελέτη επίσης των φαγοσωμάτων που περιέχουν ζωντανές βρουκέλλες έδειξε ότι η απόσταση των τοιχωμάτων μεταξύ τους είναι πολύ μικρή και διαφέρουν από τα αντίστοιχα που περικλείουν νεκρές βρουκέλλες²³. Οι λειψομάνιες επίσης μέσα στο παρασιτοφόρο κενοτόπιο μετατρέπονται από την προμαστιγωτή σε αμαστιγωτή μορφή, που είναι ανθεκτική στις δυσμενείς συνθήκες. Με βάση τη γνώση αυτή χρησιμοποιήθηκε στη θεραπευτική η αμφοτερικίνη Β συνδεδεμένη με λιποσώματα, τα οποία έχουν την ικανότητα να στοχεύουν στα όψιμα ενδοσωμάτια. Η θεραπευτική αυτή στρατηγική εφαρμόζεται σήμερα πολύ στις αναπτυσσόμενες χώρες¹⁹. Επιπλέον, η λειψομάνια *donovani* αναστέλλει τη σύντηξη του παρασιτοφόρου κενοτοπίου με τα λυσσοσώματα.

Εκτός από την αναστολή της φαγολυσσοσωματικής σύντηξης οι μικροοργανισμοί επιβιώνουν στο κύτταρο αναπτύσσοντας μηχανισμούς **αντίστασης στη βλαπτική επίδραση των δραστικών παραγώγων του οξυγόνου και του αζώτου**^{7,16,24} και στην **αύξηση της οξύτητας μέσα στο φαγοσώμα**¹⁶, ενώ άλλοι μικροοργανισμοί, όπως η λιστέρια και το *Trypanosoma cruzi* έχουν την ικανότητα να **διαφεύγουν στο κυτταρόπλασμα**¹. Οι ενδείξεις για τη σημασία της βλαπτικής δράσης του μονοξειδίου του αζώτου (NO, nitrogen oxides) καθημερινά αυξάνουν^{7,14}, και όχι μόνο στις λοιμώξεις από βακτήρια. Το NO φαίνεται ότι συμβάλλει στη διάσπαση του DNA και πρωτεϊνών και στην απόπτωση των μολυσμένων με μυκοβακτηρίδια μακροφάγων. Ενδιαφέρον παρουσιάζει ο ρόλος του NO στη λοίμωξη από τον MCMV (murine cytomegalovirus)²⁸. Κατά την οξεία φάση της λοίμωξης σε πειραματόζωο από τον ιό αυτόν το NO παίζει προστατευτικό

ρόλο, ενώ αργότερα συμβάλλει ως παθογενετικός παράγοντας στην ανάπτυξη πνευμονίτιδας.

Γενικά, στις ιογενείς λοιμώξεις οι ιοί επιβιώνουν μέσα στα φαγοκύτταρα και μάλιστα μεταφέρονται μέσω αυτών και διασπείρονται στον οργανισμό.

Η μοριακή βάση των μηχανισμών με τους οποίους οι ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί κατορθώνουν να αποπρογραμματίζουν τη φαγοκυττάρωση και να επιβιώνουν είναι άγνωστη παρά την εκτεταμένη έρευνα^{7,16}. Σε μελέτες σχετικά με την αντίσταση των μικροοργανισμών μέσα στα φαγοσώματα σε γονιδιακό επίπεδο, βρέθηκε το **γονίδιο *Eis*** που σχετίζεται με την επιβίωση του *M. tuberculosis*²⁵, τα **γονίδια *sodA*, *sodC* και *katG*** που σχετίζονται με την αντίσταση του ίδιου μικροβίου στις δραστικές ρίζες του οξυγόνου²⁶, και το **γονίδιο *ahpC*** που ενδεχομένως σχετίζεται με αντίσταση αυτού στα δραστικά παράγωγα του οξυγόνου και του αζώτου²⁴. Επειδή η σημασία των RNI για την καταστροφή των ενδοκυττάρων μικροοργανισμών είναι σημαντική, ερευνάται εντατικά η ύπαρξη γονιδίων ενζύμων, μέσω των οποίων οι μικροοργανισμοί ανθίστανται στην επίδραση των RNI. Σε άλλες γονιδιακές μελέτες η επιβίωση της λεγιωνέλλας συσχετίστηκε, εκτός από την παραγωγή κυταροτοξινών και ενζύμων, και με την ύπαρξη γονιδίων που ρυθμίζουν την ενδοκυττάρια κίνηση του μικροβίου. Με την ανάπτυξη δε της τεχνολογίας IVET (in vivo technology)²⁷ γίνεται προσπάθεια για μελέτη **γονιδίων in vivo**, δηλαδή για ανεύρεση γονιδίων που εκφράζονται κατά τη λοίμωξη, κάτω από την πίεση των αμυντικών μηχανισμών.

Κύτταρα φυσικοί φονείς

Τα κύτταρα φυσικοί φονείς είναι δραστικά λεμφοκύτταρα που λύουν κύτταρα μολυσμένα με τους ενδοκυττάρους μικροοργανισμούς και παράγουν IFN-γ. Είναι σημαντικοί κατά την αρχική φάση των ιογενών κυρίως λοιμώξεων, περιορίζοντας τον πολλαπλασιασμό και τη διασπορά του ιού.

Τα μολυσμένα με τους ενδοκυττάρους μικροοργανισμούς κύτταρα, που έχουν στην επιφάνειά τους αντισώματα έναντι του μικροοργανισμού αναγνωρίζονται από τα κύτταρα φυσικοί φονείς, μέσω του υποδοχέα FcγRIIIa. Όταν δεν υπάρχουν αντισώματα, πιθανολογείται ότι η αναγνώριση γίνεται με τον ακόλουθο μηχανισμό²: οι φυσικοί φονείς όταν έρχονται σε επαφή με μη μολυσμένο κύτταρο, αναγνωρίζουν στην επιφάνειά του μόρια

MHC-τάξης I (major histocompatibility complex class-I) μέσω ανασταλτικών υποδοχέων (KIRs, Killer Inhibitory Receptors) και δεν ενεργοποιούνται. Στα μολυσμένα όμως με ιό κύτταρα παρατηρείται μείωση της σύνθεσης των μορίων MHC-τάξης I, ή τροποποίηση αυτών. Στην περίπτωση αυτή τα κύτταρα φυσικοί φονείς δεν αναγνωρίζουν μόρια MHC-τάξης I και έτσι ενεργοποιούνται και λύουν τα κύτταρα. Καταστρέφουν δε τα μολυσμένα κύτταρα με τους ίδιους μηχανισμούς που χρησιμοποιούν τα CTL κύτταρα.

Πολυμορφοπύρηνα φαγοκύτταρα

Ο ρόλος των πολυμορφοπυρήνων φαγοκυττάρων, παρ' όλο ότι λίγο έχει μελετηθεί, φαίνεται ότι είναι μικρός. Ορισμένοι μικροοργανισμοί επιβιώνουν στα κύτταρα αυτά αλλά, λόγω της σύντομης ζωής των κυττάρων, γρήγορα απελευθερώνονται. Στη λοίμωξη από τοξόπλασμα φαίνεται ότι τα πολυμορφοπύρηνα είναι απαραίτητα για την άμυνα κατά τις πρώτες ώρες της λοίμωξης²⁹. Οι λείσμανιες φαγοκυτταρώνονται από πολυμορφοπύρηνα και οι περισσότερες φονεύονται. Ορισμένες όμως μπορούν να επιζήσουν τουλάχιστον επί μία ημέρα. Έτσι συμπεραίνεται ότι η επιβίωση στα πολυμορφοπύρηνα είναι σημαντική, τουλάχιστον κατά τις πρώτες ώρες, στην αρχή της λοίμωξης³⁰.

Ιντερλευκίνη-12 (IL-12), Ιντερφερόνη-γ (IFN-γ)

Σύμφωνα με τις μελέτες των τελευταίων ετών η κυτταροκίνη **IL-12** έχει αναδειχτεί ως η προεξάρχουσα κυτταροκίνη για την εκκίνηση της έμφυτης ανοσίας, έναντι των ενδοκυτταρίων παθογόνων και την ανάπτυξη της κυτταρικής ανοσίας^{31,32}. Παράγεται από τα μονοπύρηνα μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα, μόλις αυτά διεγερθούν από λιποπολυσακχαρίτη (LPS, lipopolysaccharide) ή φαγοκυτταρώσουν μυκοβακτηρίδια ή άλλους ενδοκυτταρίους μικροοργανισμούς¹⁹ ή ιούς. Σε πειράματα μάλιστα in vivo βρέθηκε ότι κατά την ασυμπτωματική λοίμωξη με *T. gondii*, στα πολύ αρχικά στάδια, παράγεται IL-12 από τα μολυσμένα δενδριτικά κύτταρα και αργότερα από τα μονοπύρηνα μακροφάγα³³ και ότι λοιμογόνα στελέχη της λεγισμωφίλας της πνευμονίας, σε αντίθεση με μη λοιμογόνα, προκαλούν αναστολή της σύνθεσης IL-12 από τα μολυσμένα μακροφάγα³⁴.

Στη συνέχεια η IL-12 δρά στα κύτταρα φυσικούς φονείς για παραγωγή IFN-γ, που επαυξάνει περαιτέρω την παραγωγή της IL-12 από τα μα-

κροφάγα. Επιπλέον, κατά την ανάπτυξη της ειδικής ανοσίας η IL-12 διεγείρει τα T λεμφοκύτταρα για την παραγωγή IFN-γ. Έτσι η IL-12 όχι μόνον κινητοποιεί την ανοσιακή απάντηση στα αρχικά στάδια, αλλά συντηρεί αυτήν και αργότερα³³.

Η IFN-γ (interferon-γ) παράγεται από τα κύτταρα φυσικούς φονείς με την επίδραση της IL-12¹⁹, δρά στα μακροφάγα και θεωρείται ο καλύτερος ενεργοποιητής των κυττάρων αυτών^{1,2}. Μέσω των αντιγραφικών παραγόντων STAT-1 (Signal transducer and Activator of Transcription-1) και IRF-1 (Interferon-Regulatory Factor-1) διεγείρει την έκφραση πολλών γονιδίων με αποτέλεσμα την καταστροφή των μικροοργανισμών στο μεγαλύτερο βαθμό.

Λιγότερο διευκρινισμένος είναι ο ρόλος του TNF (Tumor Necrosis Factor), παρ' ότι, σε ορισμένες περιπτώσεις έχει την ίδια δράση με την IFN-γ. Φαίνεται όμως ότι η κυτταροκίνη αυτή είναι σημαντική στην άμυνα του ξενιστή και ήδη έχουν αναφερθεί περιπτώσεις ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα, που παρουσίασαν ενεργό φυματίωση³⁵ μετά τη χορήγηση αντι-TNF αντισωμάτων για θεραπευτικούς σκοπούς.

Οι μηχανισμοί της φυσικής ανοσίας, όπως προαναφέρθηκε, είναι πολύ σημαντικοί στην αρχή της λοίμωξης, δεν είναι όμως επαρκείς για την πλήρη καταπολέμηση του εισβολέα. Για το λόγο αυτό απαιτούνται και οι μηχανισμοί της επίκτητης ανοσίας.

B2. Επίκτητη ή ειδική ανοσιακή απάντηση

Η επίκτητη ανοσιακή απάντηση του ξενιστή στους ενδοκυτταρίους μικροοργανισμούς στηρίζεται στους δύο βασικούς μηχανισμούς της κυτταρικής ανοσίας, τη **δράση των CD4-Th1 λεμφοκυττάρων** και τη **δράση των κυτταρολυτικών/κυτταροτοξικών (CTL) λεμφοκυττάρων**. Μικροοργανισμοί που επιζούν στα φαγοσωμάτια, όπως τα μυκοβακτηρίδια, οι σαλμονέλλες, η λεγισμωφίλα, τα τρυπανοσώματα, το τοξόπλασμα, ο κρυπτόκοκκος και το ιστόπλασμα αντιμετωπίζονται κυρίως με τη δράση των CD4-Th1 κυττάρων, ενώ οι ιοί, τα χλαμύδια, οι ρικέτσιες, η λιστέρια και ορισμένα πρωτόζωα, μικροοργανισμοί δηλαδή που καταφεύγουν στο κυτταρόπλασμα αντιμετωπίζονται κυρίως με τη δράση των κυτταρολυτικών/κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων.

CD4-Th1 λεμφοκύτταρα

Στα αρχικά στάδια της λοίμωξης, κατά τη φαγοκυττάρωση των ενδοκυτταρίων μικροοργανισμών

που εντοπίζονται στα φαγοσωμάτια (π.χ. μυκοβακτηρίδια), προκύπτουν αντιγονικά πεπτιδία που ενώνονται στο φαγόσωμα με μόρια MHC-τάξης II, φέρονται στην επιφάνεια του μακροφάγου ή άλλων αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων και **ενεργοποιούν τα ειδικά για το αντιγόνο CD4-T κύτταρα**. Αλλά και αντιγόνα μικροοργανισμών που εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα, όπως αυτά των ιών, μπορούν να παρουσιαστούν με μόρια τάξης II, με τη διαμεσολάβηση μηχανισμού αυτοφαγίας ή και άλλων μηχανισμών. Έτσι αρχίζει η ειδική ανοσιακή απάντηση του ξενιστή.

Η ευμενέστερη για τον ξενιστή εξέλιξη μετά την ενεργοποίηση των CD4-T κυττάρων είναι η **διαφοροποίηση αυτών προς το φαινότυπο Th1**.

Καθοριστικός παράγοντας για τη διαφοροποίηση προς CD4-Th1 κύτταρα είναι η έκκριση της IL-12 κατά την ανάπτυξη της έμφυτης ανοσίας^{14,32}. Η IL-12 δρα στα ενεργοποιημένα από το αντιγόνο βοηθητικά T λεμφοκύτταρα (CD4-Th) και μέσω του συστήματος STAT-4 διαφοροποιεί αυτά σε Th1 φαινότυπο, ο οποίος χαρακτηρίζεται από την έκκριση της IFN- γ , αλλά και των TNF και IL-2¹. Τα ενεργοποιημένα και διαφοροποιημένα CD4-Th1 κύτταρα επανερχόμενα στην περιοχή της φλεγμονής, αναγνωρίζουν τα μακροφάγα, στα οποία οι ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί εξακολουθούν να πολλαπλασιάζονται και προκαλούν ισχυρή ενεργοποίηση αυτών μέσω της IFN- γ ⁷. Με **την ενεργοποίηση των μακροφάγων** αυξάνεται κατά πολύ η φαγολυσosomalική σύντηξη, η αναπνευστική έκκριση και η παραγωγή NO, καθώς και η δράση των λυσοσωματικών ενζύμων. Έτσι το μακροφάγο καθίσταται περισσότερο δραστικό στους μικροοργανισμούς που παρασιτούν¹⁴. Μεγιστοποιείται επίσης η ανοσιακή απάντηση, καθώς στην επιφάνεια του ενεργοποιημένου μακροφάγου εκφράζονται σε μεγάλο βαθμό μόρια MHC-τάξης I και II και συνδιεγερτικά μόρια B7, οπότε και μεγιστοποιείται η ενεργοποίηση των T κυττάρων³⁶.

Επιπλέον, τα CD4-Th1 κύτταρα, μέσω της IFN- γ , διεγείρουν την **παραγωγή IgG1 και IgG3 αντισωμάτων**, που δρουν ως οψωνίνες και διευκολύνουν τη φαγοκυττάρωση των ενδοκυττάρων. Επιπλέον, σε συνεργασία με την IL-2, διεγείρουν τον **πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των CD8 CTL κυττάρων** (κυτταρολυτικών/κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων), σημαντικών στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων από ενδοκυττάρους μικροοργανισμούς.

Η μεγάλη σημασία της IFN- γ και IL-12 για την κυτταροεξαρτώμενη ανοσία έναντι των ενδοκυττάρων μικροοργανισμών έχει καταδειχθεί με πολλούς τρόπους. Σημαντικά είναι τα πειράματα σε λευκούς μύς γενετικώς τροποποιημένους (knockout mice) με ανεπάρκεια της IFN ή της IL-12. Μετά από λοίμωξη με *M. tuberculosis* οι μύες αυτοί καταλήγουν στο θάνατο, σε αντίθεση με μη τροποποιημένους μύς που αντιμετωπίζουν ικανοποιητικά τη λοίμωξη³⁷.

Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα παράγουν και άλλες κυτταροκίνες όπως **IL-1, TNF- β και IL-12**^{1,2}. Ο TNF- β , μεταξύ άλλων δράσεων, καταστρέφει και μακροφάγα που έχουν χάσει την ικανότητα να ενεργοποιούνται και έχουν χάσει την ικανότητα να καταστρέφουν τα ενδοκυττάρια. Με την καταστροφή τους από τον TNF απελευθερώνονται από αυτά οι μικροοργανισμοί, που στη συνέχεια φαγοκυτταρώνονται από άλλα περισσότερα δραστικά φαγοκύτταρα και έτσι αυξάνουν οι πιθανότητες να καταστραφούν. Παράγονται επίσης **IL-3, MG-CSF, χημειοτακτικοί παράγοντες και μόρια προσκόλλησης** με σκοπό την παραγωγή, διαφοροποίηση και προσέλκυση στην περιοχή της φλεγμονής περισσότερων φαγοκυττάρων.

Φαινότυπος Th2. Στις περισσότερες ενδοκυττάρειες λοιμώξεις από μικροοργανισμούς που επιβιώνουν στα φαγοσωμάτια, η Th1 απάντηση είναι η επικρατούσα^{14,19,32}. Για άγνωστους λόγους, σε ορισμένες περιπτώσεις, κατά την ενδοκυττάρια λοίμωξη δεν αναπτύσσεται η Th1 αλλά η Th2 αντίδραση ή και ενδιάμεσες καταστάσεις. Τυπικό παράδειγμα είναι η λέπρα, που μπορεί να εκδηλωθεί με τη φυματιώδη ή τη λεπροματώδη μορφή. Στη φυματιώδη μορφή επικρατεί η Th1 αντίδραση και η νόσος, με τη δράση των ενεργοποιημένων μακροφάγων και το σχηματισμό κοκκιομάτων περιορίζεται. Αντίθετα στη λεπροματώδη μορφή επικρατεί η Th2 αντίδραση με την παραγωγή των IL-4, IL-5 και IL-10³⁸. Παράγονται πολλά αντισώματα αλλά τα μυκοβακτηρίδια εξακολουθούν να πολλαπλασιάζονται μέσα στα μακροφάγα και η λοίμωξη γενικεύεται. Η σημασία της προστατευτικής Th1 αντίδρασης φαίνεται και στη λοίμωξη λευκών μυών με το πρωτόζωο *Λεισμάνια major*³⁹. Στελέχη λευκών μυών που είναι ανθεκτικά στη λοίμωξη, αναπτύσσουν Th1 αντίδραση με μεγάλη παραγωγή IFN- γ , ενώ ευαίσθητα στελέχη μυών αναπτύσσουν την Th2 αντίδραση και πεθαίνουν. Εάν κατά τη μόλυνση με το παράσιτο ενεθεί και IL-12, οπότε και θα αναπτυχθεί Th1 αντίδραση, οι μύες

επιβιώνουν. Στο πείραμα αυτό καταφαινεται η σημαντική δράση της IL-12 για τη διαφοροποίηση σε CD4-Th1. Η παρατήρηση ότι μετά από ιογενείς λοιμώξεις οι κρίσεις αλλεργικού άσθματος είναι συχνότερες, οδήγησε στην υπόθεση ότι αυτό οφείλεται στη στροφή προς την Th2 αντίδραση από τις κυτταροκίνες που παράγονται κατά την ιογενή λοίμωξη⁴⁰.

Ανάπτυξη από τους ενδοκυττάρους μικροοργανισμούς αμυντικών μηχανισμών σε απάντηση της ενεργοποίησης των CD4-Th1 κυττάρων και των μακροφάγων. Οι ενδοκυττάριοι για να αποφύγουν την καταστροφική για αυτά δράση των CD4-Th1 κυττάρων και των ενεργοποιημένων μακροφάγων αναπτύσσουν διάφορους μηχανισμούς, με σπουδαιότερο τη μείωση ή πλήρη έλλειψη παρουσίας των αντιγόνων τους, ώστε να διαφεύγουν την αναγνώρισή τους από τα T κύτταρα. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι το *Mycobacterium tuberculosis* αναστέλλει την έκφραση των μορίων MHC-τάξης II σε μακροφάγα μυελού των οστών⁴¹. Η διαφορετική λοιμογόνος δύναμη των υποειδών *paratuberculosis* και *avium* του *M. avium*⁴² σε πειράματα *in vitro*, συσχετίστηκε με την ικανότητα ή όχι να μειώνουν την έκφραση των MHC-τάξης II αλλά και τάξης I. Το τοξόπλασμα ελαττώνει την έκφραση των συνδιεγερτών κατά την παρουσίαση των αντιγονικών πεπτιδίων. Σε πρόσφατη μελέτη⁴³ βρέθηκε ότι το παράσιτο αυτό μειώνει τη γονιδιακή έκφραση των μορίων MHC-τάξης II, που επάγεται από την IFN- γ , με επίδραση στο μεταγραφικό παράγοντα STAT-1 α . Αλλά και είδη λείσμανιών αναστέλλουν την έκφραση των μορίων MHC-τάξης II¹⁹. Το *M. tuberculosis* προκαλεί επίσης ανοσοκαταστολή με την παραγωγή IL-10⁷.

Χρόνια παραμονή των ενδοκυττάρων μικροοργανισμών στο ξενιστή. Στις περισσότερες των περιπτώσεων αποτέλεσμα της δυναμικής που αναπτύσσεται μεταξύ της ισχυρής ανοσιακής απάντησης του ξενιστή, μέσω των CD4-Th1 και των μηχανισμών του μικροοργανισμού, είναι ο περιορισμός της λοίμωξης και η προστασία του ξενιστή από γενικευμένη λοίμωξη. Μάλιστα, πολύ συχνά, η λοίμωξη είναι ασυμπτωματική. Το χαρακτηριστικό όμως των ενδοκυττάρων λοιμώξεων είναι ότι παρά την αντιμετώπιση της λοίμωξης δεν επιτυγχάνεται, κατά το πλείστον, η κάθαρση του ξενιστή από το μικροοργανισμό^{7,14,43} (φυματίωση, τοξοπλάσωση) και η λοίμωξη μεταπίπτει σε χρόνια (**λανθάνουσα** στις περισσότερες περιπτώσεις, **ενεργό** ή **υποτροπιάζουσα** στις λιγότερες)^{14,31}. Αποτέλεσμα

μπορεί να είναι ο σχηματισμός κοκκιομάτων και η νέκρωση ιστών του ξενιστή^{5,7,14}. Τα κοκκιώματα δημιουργούνται από τη συσσώρευση κυττάρων γύρω από τους μικροοργανισμούς, στην προσπάθεια του ξενιστή να τους περιχαρακώσει και να εμποδίσει τη διασπορά τους και τη γενίκευση της λοίμωξης. Τυπικό παράδειγμα της ανωτέρω διαδικασίας είναι ο σχηματισμός φυματίων στο πνευμονικό παρέγχυμα και η προστασία από γενικευμένη φυματίωση. Συγχρόνως όμως η απελευθέρωση δραστηκών ουσιών από τα φαγοκύτταρα προκαλεί και *καταστροφή των κυττάρων του ξενιστή*, που μπορεί να οδηγήσει σε λειτουργική ανεπάρκεια³¹. Η καταστροφή αυτή δεν είναι συνεχής γιατί τα μακροφάγα, για εξοικονόμηση ενέργειας, δεν είναι διαρκώς ενεργοποιημένα. Επιπλέον τα CD4-Th1 κύτταρα εκκρίνουν σε μικρές ποσότητες και IL-10, που έχει ανασταλτική δράση στα ενεργοποιημένα μακροφάγα και συμβάλλει στην ομοιοστάση⁴⁴.

Η ανάπτυξη ισορροπίας μεταξύ μικροοργανισμού και ξενιστή μπορεί να διατηρηθεί δια βίου. Υπό την επιτήρηση δηλαδή του ανοσιακού συστήματος οι μικροοργανισμοί είναι περιορισμένοι και δεν πολλαπλασιάζονται, ή πολλαπλασιάζονται περιστασιακά, δεν εξολοθρεύονται όμως τελείως. Τυπικό παράδειγμα αποτελεί η φυματίωση που είναι σοβαρό πρόβλημα υγείας στις αναπτυσσόμενες χώρες του κόσμου, καθώς περίπου το ένα τρίτο του πληθυσμού του πλανήτη εκτιμάται ότι έχει μολυνθεί με το μυκοβακτηρίδιο και έχει λανθάνουσα λοίμωξη, ενώ περίπου 2 εκατομμύρια άνθρωποι πεθαίνουν ετησίως από τη νόσο⁷. Το μεγάλο όμως πρόβλημα είναι ότι στο 5-10% των ανοσοϊκανών ατόμων με χρόνια λανθάνουσα λοίμωξη η νόσος μπορεί να επανενεργοποιηθεί. Το ποσοστό αυτό είναι μεγαλύτερο στα ανοσοκατασταλμένα άτομα, όπως π.χ. στα άτομα με AIDS.

Η δια βίου παραμονή των μικροοργανισμών στον ξενιστή, με κίνδυνο αναζωπύρωσης της νόσου, καθιστά τις ενδοκυττάρειες λοιμώξεις ένα σοβαρό πρόβλημα υγείας και για το λόγο αυτό οι ερευνητικές προσπάθειες για την αντιμετώπισή τους είναι εντατικές. Παρά όμως τις μεγάλες προόδους στην κατανόηση των ανοσιακών μηχανισμών, τα βασικά ερωτηματικά *α. πώς ο ξενιστής ελέγχει την αρχική λοίμωξη και δεν εμφανίζεται ενεργός νόσος β. ποιοί παράγοντες οδηγούν στην εγκατάσταση λανθάνουσας λοίμωξης γ. πώς η λανθάνουσα λοίμωξη ελέγχεται και δεν επανενεργοποιείται δ. πώς ο μικροοργανισμός κατορθώνει να επιβιώσει κάτω από την ισχυρή επίδραση των*

αμυντικών μηχανισμών, δεν έχουν απαντηθεί^{7,16,20}. Το σπουδαιότερο που πρέπει να απαντηθεί και έχει σχέση με την ανάπτυξη εμβολίων είναι, πως το ανοσιακό σύστημα θα επιτύχει όχι μόνο να ελέγχει τη λοίμωξη, αλλά και να την περιορίζει.

Κυτταρολυτικά/Κυτταροτοξικά T Λεμφοκύτταρα, CTL

Τα CTL είναι στην πλειονότητα CD8 T λεμφοκύτταρα ενεργοποιημένα από αντιγόνα που παρουσιάζονται από MHC-I μόρια². Τέτοια αντιγόνα προέρχονται από μικροοργανισμούς που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα, όπως οι ιοί. Πολύ σημαντική είναι η δράση των CD4-Th^{45,46} κυττάρων, που υποβοηθούν την ενεργοποίηση των CTL με ένα δεύτερο ερέθισμα². Τα CD8 CTL μπορούν να θανατώσουν όλα τα εμπύρηντα κύτταρα, καθώς όλα τα εμπύρηντα κύτταρα εκφράζουν μόρια MHC-τάξης I. Λίγα CTL κύτταρα έχουν CD4 μόρια, οπότε φονεύουν μόνο τα λίγα κύτταρα που εκφράζουν MHC-II.

Τα CTL κύτταρα συμβάλλουν στην αντιμετώπιση των ενδοκυτταρίων, **φονεύοντας κύτταρα μολυσμένα με ιούς ή άλλους μικροοργανισμούς, με βασικό μηχανισμό την κυτταρόλυση**^{2,46,47,48}. Τα CTL αναγνωρίζοντας τα μολυσμένα κύτταρα (κύτταρα στόχος) έρχονται σε πολύ στενή επαφή με αυτά. Στο σημείο επαφής, με επαναδιοργάνωση του κέντρου οργάνωσης των μικροσωληναρίων, συγκεντρώνονται πολλά κυτταροπλασματικά κοκκία του CTL, τα οποία απελευθερώνουν το περιεχόμενό τους στην επιφάνεια του κυττάρου στόχου. Τα κοκκία περιέχουν δύο πολύ σημαντικές για την κυτταρόλυση πρωτεΐνες, την **περφορίνη** και τα **κοκκιοένζυμα (granzymes)**. Η περφορίνη πολυμερίζεται και με μηχανισμό ανάλογο του συμπληρώματος δημιουργεί διαύλους στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, με αποτέλεσμα διαταραχές

στην ανταλλαγή νερού και ηλεκτρολυτών, και θάνατο του κυττάρου, καθώς και είσοδο ποσοτήτων ασβεστίου στο κύτταρο, που μπορεί να οδηγήσουν σε απόπτωση. Τα κοκκιοένζυμα με σπουδαιότερο το κοκκιοένζυμο B εισέρχονται στο κύτταρο στόχο μέσω των διαύλων της περφορίνης και, ενεργοποιώντας τα κυτταρικά ένζυμα κασπάσες, οδηγούν το κύτταρο σε απόπτωση. Τα CTL κύτταρα έχουν στην επιφάνειά τους το συνδέτη Fas (Fas ligand) και μέσω αυτού μπορούν, επίσης, να ενεργοποιήσουν την απόπτωση σε κύτταρα που έχουν Fas υποδοχέα⁴⁹. Η **απόπτωση**, δηλαδή ο προγραμματισμένος θάνατος του κυττάρου, είναι πιο αποτελεσματική από τη νέκρωση του κυττάρου στην αντιμετώπιση των ενδοκυτταρίων, γιατί με την απόπτωση κατακερματίζεται όχι μόνο το DNA του κυττάρου αλλά και των μικροοργανισμών, και έτσι αυτοί καταστρέφονται άμεσα.

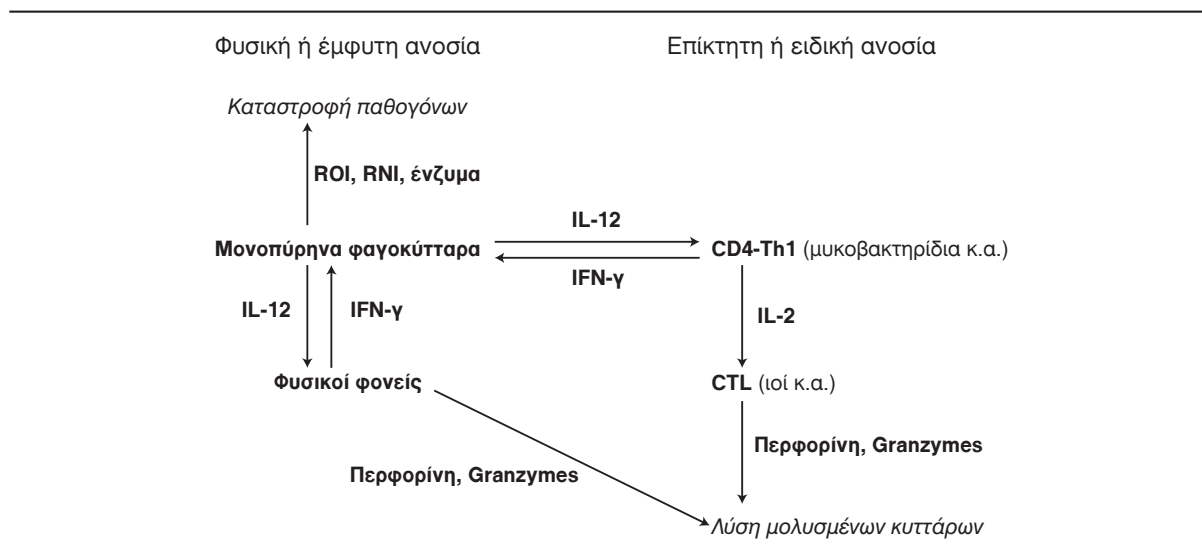
Γενικότερα η μελέτη της απόπτωσης έχει αρχίσει να φωτίζει νέες πτυχές στη δυναμική αλληλεπίδραση ανάμεσα στους ενδοκυτταρίους μικροοργανισμούς και στον ξενιστή, και η ικανότητα των μικροοργανισμών να ρυθμίζουν την διαδικασία της απόπτωσης έχει αρχίσει να συσχετίζεται με εμμένουσες λοιμώξεις. Παράδειγμα η αναστολή της απόπτωσης από το χλαμύδιο τραχώματος έχει συσχετιστεί με την εμμένουσα φλεγμονή και τη δημιουργία των βλαβών του τραχώματος⁵⁰. Πιθανολογείται ότι οι μικροοργανισμοί αναστέλλοντας την απόπτωση των κυττάρων του ξενιστή και επιμηκύνοντας τον χρόνο ζωής τους, διευκολύνουν τη διασπορά τους στα διάφορα όργανα του ξενιστή, γενικεύοντας έτσι τη λοίμωξη⁵¹.

Σημαντικός φαίνεται ότι είναι ο ρόλος των CTL λεμφοκυττάρων, ιδιαίτερα των CD8 κυττάρων μνήμης, και στην **παρεμπόδιση αναζωπύρωσης των ιογενών λοιμώξεων**⁵². Σε πρόσφατη μελέτη βρέθηκε ότι η προστατευτική δράση των CTL στην αναζωπύρωση λανθάνουσας λοίμωξης από

Πίνακας 1. Συμπεριφορά παθογόνων ανάλογα με τη θέση εγκατάστασής τους στο κύτταρο

Εγκατάσταση σε	Φαγοσωμάτια	Κυτταρόπλασμα
Είδη μικροοργανισμών	Μυκοβακτηρίδια, σαλμονέλλες, λεγιονέλλες, T.gondii, λεισμάνιες κ.ά.	Ιοί, χλαμύδια, ρικέτσιες, Λιστέριες, πρωτόζωα κ.α
Σύνδεση πεπτιδίων με	MHC τάξη II	MHC τάξη I
Παρουσίαση σε	CD4 T κύτταρα	CD8 T κύτταρα
Αποτέλεσμα στο μολυσμένο κύτταρο	Ενεργοποίηση μακροφάγων Θανάτωση των παθογόνων (ROI, RNI, ένζυμα)	Λύση-θάνατος κυττάρου (περφορίνη, Granzymes)

Πίνακας 2. Κυτταρική ανοσιακή απάντηση στις λοιμώξεις από ενδοκυττάριους μικροοργανισμούς



τον ιό του απλού έρπητα οφείλεται, τουλάχιστον κατά ένα μέρος, στην IFN-γ¹⁵.

Καταστροφή ιστού από τη δράση των CTL κυττάρων. Έχει παρατηρηθεί ότι σε ορισμένες περιπτώσεις προκαλείται βλάβη και στους υγιείς ιστούς από τα δραστικά CTL⁸. Έτσι στη λοίμωξη με τον ιό της λεμφοκυτταρικής χοριομηνιγγίτιδας (LCMV) προκαλείται καταστροφή των κυττάρων των μηνίγγων, ενώ στην ηπατίτιδα Β καταστρέφονται ηπατοκύτταρα.

Η κυτταρολυτική δράση των CTL είναι πρωταρχικής σημασίας στις ιογενείς λοιμώξεις. Αυτό καταδεικνύεται και από το γεγονός ότι **πολλοί ιοί έχουν αναπτύξει μηχανισμούς αποφυγής της δράσης των CTL**. Οι ερπητοϊοί καταφεύγουν στα νευρικά κύτταρα, που έχουν μικρή έκφραση μορίων MHC-τάξης I. Αλλά και τα πλασμώδια¹, καταφεύγουν στα ερυθρά αιμοσφαίρια, κύτταρα που δεν εκφράζουν καθόλου μόρια MHC-τάξης I. Η παρεμπόδιση της παρουσίας των ιικών αντιγόνων με τα μόρια του MHC-I έχει ως αποτέλεσμα να μην αναγνωρίζονται από τα CTL. Σε διάφορους ιούς έχουν ανευρεθεί τουλάχιστον 50 γονίδια υπεύθυνα για τη μη παρουσίαση των ιικών αντιγόνων, σε όλη τη διαδικασία επεξεργασίας του αντιγόνου μέσα στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (σύνδεση του πεπτιδίου με το MHC-I μόριο και μεταφορά του συμπλόκου στην επιφάνεια του κυττάρου^{1,2}). Οι ιοί HCMV και EBV αναστέλλουν την πρωτεϊνολυτική δράση στο πρωτεϊνόςωμα. Οι ερπητοϊοί (HSV-1 και HSV-2) παράγουν την πρωτεΐνη ICP-47 που συναγωνίζεται τα ιικά πεπτιδία στη σύνδεση με την πρωτεΐνη TAP. Οι παθογόνοι

αδενοϊοί προκαλούν αναστολή της μεταγραφής των μορίων MHC-τάξης I. Οι αδενοϊοί επίσης παράγουν την πρωτεΐνη E3 19kD που συναγωνίζεται τη σύνδεση των πεπτιδίων με το μόριο I, μέσα στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Ανάλογα δρά ο CMV με την πρωτεΐνη US3, ενώ ο ίδιος ιός με τις US2 και US11 μεταφέρει τα μόρια τάξης I έξω από το ενδοπλασματικό δίκτυο, στο κυτταρόπλασμα⁵³. Ο ανθρώπιος HIV, με τις πρωτεΐνες Vpu και Nef επίσης αναστέλλει την έκφραση των μορίων τάξης I στην επιφάνεια του κυττάρου⁵⁴. Επιπλέον ορισμένοι ιοί αναστέλλουν την έκφραση και μορίων MHC-τάξης II (HCMV), γεγονός που επιβεβαιώνει τη σημασία και των CD4+ T λεμφοκυττάρων στην άμυνα έναντι ιογενών λοιμώξεων⁵⁵.

Οι ιοί αποφεύγουν την ανοσιακή απάντηση και με άλλους πολλούς και ποικίλους τρόπους. Έτσι οι Poxviruses παράγουν πρωτεΐνες ομόλογες των υποδοχέων των κυτταροκινών IFN-γ, TNF και IL-1, και έτσι αδρανοποιούν τη δράση τους. Οι EBV και CMV παράγουν πρωτεΐνες ομόλογες της κατασταλτικής IL-1⁵⁶. Ο HIV-1 επιπλέον αποτρέπει την παρουσίαση των αντιγόνων από τα δενδριτικά κύτταρα και με τον τρόπο αυτό, ενδεχομένως, εγκαθίσταται η χρόνια λοίμωξη⁵⁷.

Τα CTL είναι σημαντικά και σε λοιμώξεις με μικροοργανισμούς που επιζούν στο φαγόσωμα, όπως το μυκοβακτηρίδιο^{7,14,47}, το τοξόπλασμα^{43,58} κ.ά., στις οποίες λοιμώξεις τον κύριο λόγο έχουν τα CD4-Th1 κύτταρα. Έτσι, στη φυματίωση τα CD8 δραστικά κύτταρα λύουν μολυσμένα με τα μυκοβακτηρίδια μακροφάγα. Τα μυκοβακτηρίδια που απελευθερώνονται φαγοκυτταρώνονται στη

συνέχεια από άλλα πιο ενεργά φαγοκύτταρα, με αποτελεσματικότερη δράση¹⁴. Επιπλέον έχει αναγνωριστεί πρωτεΐνη των CTL, η κοκκιολυσίνη (granulysin), η οποία βρέθηκε ότι καταστρέφει άμεσα τα μυκοβακτηρίδια^{14,47}. Αλλά και στην ελονοσία, τελευταίες μελέτες έδειξαν τη σπουδαιότητα των CTL². Κατά το ηπατικό στάδιο της λοίμωξης φαίνεται ότι τα CTL καταστρέφουν άμεσα τα ηπατικά κύτταρα τα μολυσμένα με σποροζωΐδια, ή έμμεσα διεγείρουν τα ηπατοκύτταρα για παραγωγή NO, με την IFN που παράγουν.

Η αναγνώριση ότι κυτταροτοξικά CD8 λεμφοκύτταρα είναι σημαντικά στον έλεγχο της φυματίωσης, της ελονοσίας και άλλων λοιμώξεων από μικρόβια που επιζούν στα φαγοσώματα έχει δρομολογήσει το σχεδιασμό εμβολίων που θα διεγείρουν τα κυτταροτοξικά αυτά κύτταρα. Οι πρώτες μελέτες στις οποίες αντιγόνα του μυκοβακτηριδίου παρουσιάστηκαν μέσω των μορίων MHC- τάξης I, όπως αυτό συμβαίνει στα εμβόλια DNA, είχαν πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα⁵⁹.

Οι γνώσεις που έχουν συσσωρευτεί από τη μελέτη των ενδοκυτταρίων λοιμώξεων και την ανοσιακή απάντηση, ακόμη δεν έχουν δώσει απαντήσεις στα περισσότερα ερωτήματα που υπάρχουν. Το θετικό όμως είναι ότι έχουν προσανατολίσει την έρευνα προς νέες κατευθύνσεις. Η σπουδαιότερη κατεύθυνση είναι η ανάπτυξη εμβολίων που θα διεγείρουν όχι μόνον την χυμική αλλά και την κυτταρική ανοσία, όχι μόνον τα CD4-Th1 αλλά συγχρόνως και τα CTL⁵⁹. Επίσης σημαντική είναι η κατεύθυνση προς τη χρησιμοποίηση των ανοσοενισχυτικών θεραπειών. Η χρησιμοποίηση της IL-12 ως ανοσοενισχυτικού⁶⁰ και τα DNA εμβόλια^{14,19} ελπίζεται ότι θα αποδώσουν τους αναμενόμενους καρπούς και θα συμβάλλουν στην αντιμετώπιση των ενδοκυτταρίων λοιμώξεων, αντιμετώπιση που γίνεται δυσκολότερη με την ολοένα και μεγαλύτερη ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα.

ABSTRACT

Diza-Mataitsi E. Intracellular microorganisms and immune response. *Hell Iatr* 2004, 70: 5-16.

The intracellular microorganisms are able to enter host cells by receptor-mediated endocytosis, to survive and even replicate inside them. Pathogens belonging to bacteria, viruses, protozoa and fungi can persist lifelong without clinical signs or lead to chronic progressive disease conditions. Host

resistance consists mainly of cell-mediated immunity. This review focuses on important role of mononuclear phagocytes, CD4-Th1 and cytolytic/cytotoxic CTL cells, as well as on interleukin 12 and IFN γ . It is hereby also described how the pathogens evade the immune system, by inhibition of antigen presentation and other mechanisms. The importance of designing novel vaccination strategies which elicit cellular immune response is underlined.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. *Janeway Ch, Travers P, Walport M, Capra D.* Immunobiology, the Immune system in health and disease. Current Biology Publications 4th ed., 1999.
2. *Abbas A, Lichtman A, Pober J.* Cellular and Molecular Immunology. W.B. Saunders Publ, 4th ed, 2000.
3. *Dorn B, Dunn W, Prohulske-Fox A.* Porphyromonas gingivalis traffics to autophagosomes in human coronary artery endothelial cells. *Infect Immun* 2001, 69: 5698-708.
4. *Alexander EH, Hudson MC.* Factors influencing the internalization of Staphylococcus aureus and impacts on the course of infections in humans. *Appl Microbiol Biotechnol* 2001, 56: 361-6.
5. *Pieters J.* Entry and survival of pathogenic mycobacteria in macrophages. *Microbiol Infect* 2001, 3: 249-55.
6. *Chan J, Tanaka K, Carroll D, et al.* Effect of nitric oxide synthase inhibitors on murine infection with mycobacterium tuberculosis. *Infect Immun* 1995, 63: 736-40.
7. *Flynn J, Chan J.* Tuberculosis: Latency and reactivation. *Infect Immunity* 2001, 69: 4195-201.
8. *Tyler K, Field B.* Pathogenesis of viral infections. In: Fields B, Knippe D, Howley M, et al, eds. *Fields Virology*, Philadelphia: Lippincot-Raven, 1996, 1: 173-218.
9. *Clapham PR, McKnight A.* HIV-1 receptors and cell tropism. *Br Med Bull* 2001, 58: 43-9.
10. *Ofek I, Goldhar J, Keisari Y, Sharon N.* Nonopsonic phagocytosis of microorganisms. *Annu Rev Microbiol* 1995, 49: 239-76.
11. *Daeron M.* Fc receptor biology. *Annu Rev Immunol* 1997, 15: 203-34.
12. *Ellis S, Mellor H.* Regulation of endocytic traffic by rho family GTPases. *Trends Cell Biol* 2000, 10: 85-9.
13. *Robibaro B, Hoppe H, Yang M, et al.* Endocytosis in different lifestyles of protozoan parasitism: role in nutrient uptake with special reference to Toxoplasma gondii. *Int J Parasitol* 2001, 31: 1343-53.
14. *Silva C, Vania LD, Bonato, et al.* Cytotoxic T cells and mycobacteria. *FEMS Microbiol Let* 2001, 197: 11-8.
15. *Lieu T, Khanna K, Carriere B, et al.* Gamma interferon can prevent Herpes simplex virus type 1 reactivation from latency in sensory neurons. *J Vir* 2001, 75: 1178-84.
16. *Belyi Y.* Intracellular parasitism and molecular determinants of Legionella virulence. *Int Microbiol* 1999, 2: 145-54.

17. *Eremeeva M, Dasch G, Silverman D.* Quantitative analyses of variations in injury of endothelial cells elicited by 11 isolates of *Rickettsia rickettsii*. *Clin Diag Lab Immunol* 2001, 8: 788-96.
18. *Schroeder MB, Worthen GS.* Viral regulation of RANTES expression during human cytomegalovirus infection of endothelial cells. *J Vir* 2001, 75: 3383-90.
19. *Alexander J, Satoskar A, Russell D.* Leishmania species: models of intracellular parasitism. *J Cell Sci* 1999, 112: 2993-3002.
20. *Haas A.* Reprogramming the phagocytic pathway-intracellular pathogens and their vacuoles. *Mol Membr Biol* 1998, 15: 103-21.
21. *Via LE, Deretic D, Ulmer RJ, et al.* Arrest of mycobacterial phagosome maturation is caused by a block in vesicle fusion between stages controlled by rab5 and rab7. *J Biol Chem* 1997, 272: 13326-31.
22. *Ferrari G, Naitom, Langen H, Pieters J.* A coat protein on phagosomes involved in the intracellular survival of mycobacteria. *Cell* 1999, 97: 435-47.
23. *Rittig M, Alvarez-Martinez MT, Porte F.* Intracellular survival of *Brucella* spp. in human monocytes involves conventional uptake but special phagosomes. *Infect Immun* 2001, 69: 3995-4006.
24. *Springer B, Master S, Sander P, et al.* Silencing of oxidative stress response in mycobacterium tuberculosis: expression patterns of *ahpC* in virulent and avirulent strains and effect of *ahpC* inactivation. *Infect Immun* 2001, 69: 5967-73.
25. *Wei J, Dahl J, Moulder J, et al.* Identification of a *Mycobacterium tuberculosis* gene that enhances mycobacterial survival in macrophages. *J Bacteriol* 2000, 182: 377-84.
26. *Piddington D, Fang F, Laessing T, et al.* Cu, Zn superoxide dismutase of *Mycobacterium tuberculosis* contributes to survival in activated macrophages that are generating an oxidative burst. *Infect Immun* 2001, 69: 4980-7.
27. *Heithoff D, Conner Ch, Hentschel U, et al.* Coordinate intracellular expression of salmonella genes induced during infection. *J Bacter* 1999, 181: 799-807.
28. *Tanaka K, Noda S.* Role of nitric oxide in murine cytomegalovirus (MCMV) infection. *Histol Histopathol* 2001, 16: 937-44.
29. *Bliss S, Gavrilescu C, Alcaraz A, et al.* Neutrophil depletion during *Toxoplasma gondii* infection leads to impaired immunity and lethal systemic pathology. *Infect Immun* 2001, 69: 4898-905.
30. *Laufs H, Muller K, Fleischer J, et al.* Intracellular survival of *Leishmania major* in neutrophil granulocytes after uptake in the absence of heat-labile serum factors. *Infect Immun* 2002, 70: 826-35.
31. *Yap GS, Sher A.* Cell-mediated immunity to *Toxoplasma gondii* initiation, regulation and effector function. *Immunobiol* 1999, 201: 240-7.
32. *Park AY, Scott P.* IL-12: Keeping cell-mediated immunity alive. *Scand J Immunol* 2001, 53: 529-36.
33. *Sher A, Reis E, Sousa C.* Ignition of the type 1 response to intracellular infection by dendritic cell-derived interleukin-12. *Eur Cytokine Netw* 1998, 9: 65-8.
34. *Matsunaga K, Klein Th, Newton C.* *Legionella pneumophila* suppresses interleukin-12 production by macrophages. *Infect Immun* 2001, 69: 1929-33.
35. *Maini RE, Clair WSt, Breedveld F, et al.* Infliximab (chimeric anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomized phase III trial. *Lancet* 1999, 354: 1932-39.
36. *Subauste CS, de Waal Malefyt R, Fuh F.* Role of CD80 (B7.1) and CD86 (B7.2) in the immune response to an intracellular pathogen. *J Immunol* 1998, 160: 1831-40.
37. *Cooper AM, Dalton DK, Stewart JP.* Disseminated tuberculosis in IFN- γ gene disrupted mice. *J Exp Med* 1993, 178: 2243-8.
38. *Yamamura MK, Uyemura RJ, Deans K, et al.* Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy. *Science* 1991, 254: 277-9.
39. *Chatelain R, Varkila K, Coffman RL.* IL-4 induces a Th2 response in *Leishmania major* -infected mice. *J Immunol* 1992, 148: 1182-7.
40. *Message SD, Johnston SL.* The immunology of virus infection in asthma. *Eur Respir J* 2001, 18: 1013-25.
41. *Noss EH, Harding CV, Boom WH.* *Mycobacterium tuberculosis* inhibits MHC class II antigen processing in murine bone marrow macrophages. *Cell Immunol* 2000, 201: 63-74.
42. *Weiss D, Evanson O, McClenahan D.* Regulation of expression of major histocompatibility antigens by bovine macrophages infected with *Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis* or *mycobacterium avium* subs. *Avium*. *Infect Immun* 2001, 69: 1002-8.
43. *Luder CG, Walter W, Beuerle B, et al.* *Toxoplasma gondii* down-regulates MHC class II gene expression and antigen presentation by murine macrophages via interference with nuclear translocation of STAT1 alpha. *Eur J Immunol* 2001, 31: 1475-84.
44. *Redpath S, Ghazal P, Gascoigne NR.* Hijacking and exploitation of IL-10 by intracellular pathogens. *Trends Microbiol* 2001, 9: 86-92.
45. *Flano E, Woodland D, Blackman M, et al.* Analysis of virus-specific CD4+ T cells during long-term gamma-herpesvirus infection. *J Vir* 2001, 75: 7744-8.
46. *Topham DJ, Cardin RC, Christensen JP, et al.* Perforin and Fas in murine gamma herpesvirus-specific CD8(+) T cell control and morbidity. *J Gen Virol* 2001, 82: 1971-81.
47. *Stenger S.* Cytolytic T cells in the immune response to mycobacterium tuberculosis. *Scand J Infect Dis* 2001, 33: 483-7.
48. *Zhou S, Ou R, Huang L, Moskophidis D.* Critical role for perforin-, Fas/FasL-, and TNFR1-mediated cytotoxic pathways in down-regulation of antigen-specific T cells during persistent viral infection. *J Virol* 2002, 76: 829-40.
49. *Aung S, Rutigliano J, Graham B.* Alternative mechanisms of respiratory syncytial virus clearance in perforin knockout mice lead to enhanced disease. *J Virol* 2001, 75: 9918-24.

50. *Dean D, Powers V.* Persistent Chlamydia trachomatis infections resists apoptotic stimuli. *Infect Immun* 2001, 69: 2442-7.
51. *Nash PB, Purner MB, Leon RP, et al.* Toxoplasma gondii-infected cells are resistant to multiple inducers of apoptosis. *J Immunol* 1998, 160: 1824-30.
52. *Sobao Y, Tomiyama H, Sugi K, et al.* The role of hepatitis B virus-specific memory CD8 T cells in the control of viral replication. *J Hepatol* 2002, 36: 105-15.
53. *Kwangseog A, Angulo A, Ghazal P.* Human cytomegalovirus inhibits antigen presentation by a sequential multistep process. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, 93: 10990-5.
54. *Yang O, Thi Nguyen Ph, Kalams S, et al.* Nef-mediated resistance of human immunodeficiency virus type 1 to antiviral cytotoxic T lymphocytes. *J Virol* 2002, 76: 1626-31.
55. *Gao J, De B, Han Y, et al.* Human parainfluenza virus type 3 inhibits gamma interferon-induced major histocompatibility complex class II expression directly and by inducing alpha/beta interferon. *J Vir* 2001, 75: 1124-31.
56. *Spencer J, Lockridge K, Barry P, et al.* Potent immunosuppressive activities of cytomegalovirus-encoded interleukin-10. *J Vir* 2002, 76: 1285-92.
57. *Lu W, Andrieu JM.* In vitro human immunodeficiency virus eradication by autologous CD8(+) T cells expanded with inactivated-virus-pulsed dendritic cells. *J Vir* 2001, 75: 8949-56.
58. *Casciotti L, Ely K, Williams M, et al.* CD8+T-cell immunity against Toxoplasma gondii can be induced but not maintained in mice lacking conventional CD4+ T cells. *Infect Immun* 2000, 70: 434-43.
59. *Dora P, Fonseca J, Benaissa-Trouw B.* Induction of cell-mediated immunity against mycobacterium tuberculosis using DNA vaccines encoding cytotoxic and helper T-cell epitopes of the 38-kilodalton protein. *Infect Immun* 2001, 69: 4839-45.
60. *Afonso LC, Scharon C, Vieira TM, et al.* The adjuvant effect of interleukin-12 in a vaccine against Leishmania major. *Science* 1994, 263: 235-7.

Αλληλογραφία:

Ε. Δίζα-Ματαυτσή
Α' Εργαστήριο Μικροβιολογίας
Τμήμα Ιατρικής ΑΠΘ,
Θεσσαλονίκη

Corresponding author:

Ε. Diza-Mataftsi
A' Department of Microbiology
School of Medicine
Aristotle University
Thessaloniki, Greece

Νόσος Lyme

Αθηνά Κανσουζίδου-Κανακούδη

Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Νοσοκομείο Ειδικών Παθήσεων (Λοιμωδών), Θεσσαλονίκη

Περίληψη. Η νόσος Lyme ή μπορρελίωση Lyme είναι πολυσυστηματική νόσος και αποτελεί την πιο συχνή νόσο, που μεταδίδεται με αρθρώποδα στις ΗΠΑ και στην Ευρώπη. Αίτιο της νόσου είναι η σπειροχαίτη *Borrelia burgdorferi sensu lato complex*, η οποία περιλαμβάνει τρία κύρια παθογόνα είδη για τον άνθρωπο (*Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*). Το μικρόβιο μεταδίδεται στον άνθρωπο με τους κρότωνα του είδους *Ixodes*, από τους οποίους στην Αμερική επικρατούν οι *Ixodes dammini* (*Ixodes scapularis*) και *Ixodes pacificus*, ενώ στην Ευρώπη οι *Ixodes ricinus*. Την κύρια δεξαμενή του μικροβίου αποτελούν τα μικρά τρωκτικά, αλλά και τα μεγάλα ζώα, που παίζουν σημαντικό ρόλο στον κύκλο ζωής των κροτώνων. Η νόσος χαρακτηρίζεται από τρία κλινικά στάδια με διαφορετικές κλινικές εκδηλώσεις. Οι πιο σημαντικές κλινικές εκδηλώσεις είναι το μεταναστευτικό ερύθημα, η μηνιγγίτιδα, η αρθρίτιδα, η μυοπερικαρδίτιδα, η ακροδερματίτιδα και η εγκεφαλομυελίτιδα. Από τα τρία είδη, η *B.afzelii* σχετίζεται κυρίως με ατροφική ακροδερματίτιδα, η *B.garinii* με νευρολογικές διαταραχές

και η *B.burgdorferi sensu stricto* με αρθρίτιδα, ενώ το μεταναστευτικό ερύθημα προκαλείται και από τα τρία είδη. Η διάγνωση της νόσου στηρίζεται στα τυπικά κλινικά συμπτώματα και επιβεβαιώνεται με τις εργαστηριακές δοκιμασίες. Επειδή η απομόνωση με καλλιέργεια και η άμεση αναζήτηση της *B.burgdorferi* στα κλινικά δείγματα των ασθενών είναι δύσκολη, η διάγνωση στηρίζεται συνήθως στην ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων με δοκιμασίες, όπως ο ανοσοφθορισμός, η ELISA και η ανοσοαποτύπωση ως επιβεβαιωτική. Επειδή παρατηρούνται συχνά ψευδώς θετικά αποτελέσματα, το CDC προτείνει διπλή εργαστηριακή προσέγγιση της νόσου. Αρχικά να χρησιμοποιείται ευαίσθητη ELISA ή ανοσοφθορισμός και στη συνέχεια τα θετικά αποτελέσματα να επιβεβαιώνονται με ανοσοαποτύπωση. Τελευταία χρησιμοποιείται και η PCR για την αναζήτηση του DNA του μικροβίου σε διάφορα κλινικά δείγματα. Για την πρόληψη της νόσου εφαρμόζονται προφυλακτικά μέτρα, αλλά και εμβόλιο. Στην Ελλάδα πιστεύεται ότι η νόσος παρουσιάζει μικρή συχνότητα.

Ελλην Ιατρ 2004, 70: 17 - 29.

Η νόσος Lyme ή μπορρελίωση Lyme είναι πολυσυστηματική νόσος, που παρόλο ότι στην Ευρώπη οι κλινικές εκδηλώσεις της είχαν περιγραφεί στις αρχές του προηγούμενου αιώνα, ως νόσος αναγνωρίστηκε το 1975, όταν στην πόλη Lyme του Connecticut, κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, παρατηρήθηκαν περιπτώσεις μεταδοτικής αρθρίτιδας σε παιδιά¹. Η μελέτη αυτών των περιπτώσεων οδήγησε στο συμπέρασμα, ότι η μετάδοση της νόσου γινόταν με αρθρώποδα. Το αίτιο της νόσου αναγνωρίστηκε το 1982, όταν οι Burgdorfer και Barbour απομόνωσαν μια σπειροχαίτη από κρότωνα του είδους *Ixodes dammini*². Ένα χρόνο αρ-

γότερα, η ίδια σπειροχαίτη απομονώθηκε από ασθενείς στις ΗΠΑ³, καθώς και από ασθενείς στην Ευρώπη⁴, αναγνωρίστηκε ως νέο είδος του γένους *Borrelia* και ονομάστηκε *Borrelia burgdorferi* προς τιμή του Willy Burgdorfer⁵.

Στην Αμερική αποτελεί την πιο συχνή νόσο που μεταδίδεται με αρθρώποδα και ενδημεί κυρίως στις βορειοανατολικές περιοχές των ΗΠΑ. Από το 1982, που άρχισε η επίσημη καταγραφή της νόσου στις ΗΠΑ, παρατηρήθηκε μια συνεχώς αυξανόμενη συχνότητα της νόσου και έως το 1996 καταγράφηκαν περισσότερες από 100.000 περιπτώσεις⁶. Ιδιαίτερα σημαντική αύξηση παρατηρή-

θηκε στη δεκαετία του 1990, η επίπτωση της νόσου σχεδόν διπλασιάστηκε και η αύξηση αυτή αποδόθηκε σε μεταβολές του οικοσυστήματος στις περιοχές όπου εμφανίζεται η νόσος, δηλαδή σε απαγόρευση του κυνηγιού των ελαφιών, δημιουργία προστατευμένων περιοχών, και μετακίνηση και αύξηση του πληθυσμού στις περιοχές αυτές. Ακόμη και σήμερα συνεχίζει να αποτελεί σημαντική νόσο στις ΗΠΑ με συνεχώς αυξανόμενη συχνότητα⁷.

Στην Ευρώπη η νόσος ενδημεί στη Γερμανία, Αυστρία, Ελβετία, Γαλλία και Σουηδία και υπολογίζεται, ότι κάθε χρόνο συμβαίνουν περίπου 50.000 περιπτώσεις νόσου^{8,9}. Η μεγαλύτερη επίπτωση της νόσου παρατηρείται στην Κεντρική Ευρώπη, κυρίως στην Αυστρία, όπου η επίπτωση κυμαίνεται από 300 έως 350 περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους⁹. Επίσης συχνή είναι η νόσος και σε χώρες της Ανατολικής Ευρώπης, όπως η Σλοβακία, η Τσεχία και η Πολωνία, αλλά και σε Βαλκανικές χώρες, όπως η Βουλγαρία και η Σλοβενία. Με σκοπό την επιτήρηση της νόσου δημιουργήθηκε στην Ευρώπη δίκτυο καταγραφής της νόσου (European Concerted Action on Lyme Borreliosis, EUCALB) που υποστηρίζεται από την Ευρωπαϊκή Ένωση. Επίσης πληροφορίες για τη νόσο δίνονται στην ηλεκτρονική διεύθυνση <http://www.dis.strath.ac.uk/lymeEU/>. Στη Ρωσία η νόσος ενδημεί στις παράκτιες περιοχές προς τη Βαλτική και τον Ειρηνικό Ωκεανό. Περιπτώσεις νόσου έχουν περιγραφεί και στην Αυστραλία, Κίνα και Ιαπωνία. Στην Ελλάδα η γενική εκτίμηση είναι ότι η νόσος δεν είναι συχνή και ορισμένες από τις περιπτώσεις που αναφέρονται ίσως είναι αποτέλεσμα υπερεκτίμησης.

Γενικά η πραγματική επίπτωση της νόσου δεν είναι απόλυτα γνωστή και διατυπώνονται εκ μέρους αντίθετες απόψεις όσον αφορά στη συχνότητά της. Από άλλους πιστεύεται ότι η νόσος υπερεκτιμάται και εμφανίζονται περιπτώσεις νόσου πολύ περισσότερες από ότι συμβαίνουν στην πραγματικότητα και από άλλους ότι υποεκτιμάται.

Η νόσος χαρακτηρίζεται από εποχιακή κατανομή, εμφανίζεται κυρίως την άνοιξη και το καλοκαίρι και αυτό οφείλεται στο ότι τους μήνες αυτούς οι κρότωνες εμφανίζουν τη μεγαλύτερη δραστηριότητα¹⁰.

ΑΙΤΙΟ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Ο αιτιολογικός παράγοντας της νόσου είναι η *Borrelia burgdorferi*, η οποία είναι μικρότερη και λεπτότερη από τις άλλες μορφοείδη με μήκος 20-30 μm και πάχος 0,1-0,3 μm. Αποτελείται από πρω-

τοπλασματικό κύλινδρο, κυτταρική μεμβράνη, 7-11 περιπλασματικές βλεφαρίδες και εξωτερική μεμβράνη. Χαρακτηρίζεται από αβαθείς σπείρες, γραμμικό χρωμόσωμα και 4-9 πλασμίδια, τα οποία είναι υπερελιγμένα ή και γραμμικά και υπεύθυνα για την παραγωγή διαφόρων πρωτεϊνών. Περιέχει τουλάχιστον 30 διαφορετικές πρωτεΐνες, αρκετές από τις οποίες είναι ισχυρά αντιγόνα και παίζουν σημαντικό ρόλο στη λοιμογόνο δράση του μικροβίου¹¹. Δεν φαίνεται με το κοινό μικροσκόπιο, αλλά μόνο με μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεως και σκοτεινού πεδίου. Δεν μπορεί να θεωρηθεί Gram θετικό ή Gram αρνητικό μικρόβιο, γιατί δε χρωματίζεται με τη χρώση Gram, ενώ χρωματίζεται καλύτερα με τη χρώση Giemsa.

Από μοριακές και άλλες μελέτες βρέθηκε ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων στελεχών. Ιδιαίτερα μεταξύ των στελεχών που απομονώνονται στην Αμερική και την Ευρώπη έχουν βρεθεί αρκετές διαφορές όσον αφορά στη μορφολογία, τις πρωτεΐνες της εξωτερικής μεμβράνης, τα πλασμίδια και την ομολογία του DNA¹¹. Ακόμη, παρατηρείται σημαντική ετερογένεια και μεταξύ των στελεχών που απομονώνονται στην Ευρώπη, παρατηρούνται δηλαδή διαφορές τόσο μεταξύ των ειδών όσο και μέσα στο ίδιο είδος. Έτσι, στο γενικό όνομα *Borrelia burgdorferi sensu lato complex* ανήκουν όλα τα στελέχη και διαχωρίζονται σε είδη και οροτύπους. Έχουν βρεθεί τρία κύρια είδη παθογόνα για τον άνθρωπο η *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, η *Borrelia afzelii* και η *Borrelia garinii*. Τα τρία αυτά είδη διαχωρίζονται σε τουλάχιστον 8 οροτύπους ανάλογα με τα αντιγόνα OspA της εξωτερικής μεμβράνης και σε 16 οροτύπους ανάλογα με τα αντιγόνα OspC¹². Τα είδη αυτά παρουσιάζουν διαφορές στη γεωγραφική κατανομή, έτσι στην Αμερική επικρατεί η *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, ενώ στην Ευρώπη έχουν απομονωθεί και τα τρία είδη από κλινικά δείγματα και από κρότωνες, τα επικρατέστερα όμως είναι η *Borrelia garinii* και η *Borrelia afzelii*¹³.

Από διάφορες μελέτες όμως προέκυψε ότι υπάρχουν και άλλα είδη της *Borrelia burgdorferi sensu lato* τα οποία πιθανόν να προκαλούν νόσο στον άνθρωπο, όπως είναι η *B. valaisiana* και η *B. lusitanae*^{12,14}.

ΜΕΤΑΔΟΣΗ

Το μικρόβιο μεταδίδεται στον άνθρωπο με τους κρότωνες του είδους *Ixodes*, οι οποίοι λειτουργούν ως ενδιάμεσοι ξενιστές¹⁰. Στην Αμερι-

κή επικρατούν κυρίως οι κρότωσης του είδους *Ixodes dammini* (*Ixodes scapularis*) και *Ixodes pacificus*, ενώ στην Ευρώπη και στην Ελλάδα οι κρότωσης *Ixodes ricinus*. Η μετάδοση των μπορρελιών στον άνθρωπο συμβαίνει κατά τη διάρκεια του δήγματος, η οποία πρέπει να είναι μεγαλύτερη των 24 ωρών, με το στέλεχος των κροτώνων, αλλά και με τα περιττώματα και το σώμα τους κατά τη σύνθλιψη του^{10,15}. Μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο δεν έχει αναφερθεί, αλλά το μικρόβιο μεταδίδεται κατά την ενδομήτριο ζωή στο έμβρυο και σε σπάνιες περιπτώσεις προκαλεί το θάνατο του εμβρύου¹⁶.

Την κύρια δεξαμενή του μικροβίου αποτελούν τα μικρά τρωκτικά και κυρίως τα ποντίκια (field mouse, white-footed mouse), τα ελάφια και τα ρακούν, τα οποία συνήθως δε νοσούν, και από τα οποία μολύνονται οι κρότωσης κατά τη διάρκεια του γεύματός τους¹⁷. Οι κρότωσης χαρακτηρίζονται από διετή κύκλο ζωής και από τρία στάδια εξέλιξης (σκώληκας, νύμφη, ενήλικας) σε κάθε έ-να από τα οποία γευματίζουν μία μόνο φορά για τη μετάπτωση από το ένα στάδιο στο άλλο^{11,17}. Τα ελάφια είναι σημαντικά για την επιβίωση των κροτώνων, γιατί οι ενήλικοι κρότωσης διαχειμάζουν και ζευγαρώνουν πάνω στα ελάφια. Από τον άνθρωπο συνήθως τρέφονται οι νύμφες, οι οποίες λόγω του μικρού τους μεγέθους (<2 mm) σπάνια γίνονται αντιληπτές. Αντίθετα οι ενήλικοι κρότωσης σε μικρή αναλογία τρέφονται από τον άνθρωπο. Η αναλογία μόλυνσης των κροτώνων με μπορρέλιες διαφέρει από περιοχή σε περιοχή και κυμαίνεται από 2-50%¹⁷. Οι μπορρέλιες παραμένουν στον κρότωνα σε όλα τα στάδια εξέλιξής του. Η κάθετη μετάδοση των μπορρελιών στους κρότωσης δεν έχει τεκμηριωθεί.

Η νόσος προσβάλλει και κατοικίδια ζώα (σκύλους, άλογα, βοοειδή) στα οποία προκαλεί εκδηλώσεις, όπως αρθρίτιδα.

ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η παθογένεια της νόσου και οι λοιμογόνοι παράγοντες του μικροβίου παραμένουν άγνωστοι αν και τα τελευταία χρόνια έχει γίνει σημαντική πρόοδος στη μελέτη και τον χαρακτηρισμό των διαφόρων αντιγόνων του. Η παθογενετική δράση του μικροβίου φαίνεται να σχετίζεται άμεσα με τις πρωτεΐνες της εξωτερικής μεμβράνης, οι οποίες χαρακτηρίζονται από διαφορετική δράση. Ορισμένες από αυτές έχουν προσκολλητική δράση για την προσκόλληση και τη διείσδυση του μικροβίου

σε διαφόρους τύπους κυττάρων, ενώ άλλες έχουν δράση πορινών. Επίσης οι πρωτεΐνες αυτές παίρνουν μέρος στις φλεγμονώδεις διεργασίες. Μελέτες έχουν δείξει ότι μια πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης (p66) η οποία έχει προσκολλητική δράση παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου¹⁸. Επίσης βρέθηκε, ότι το μικρόβιο προσκολλάται και αποικίζει ιστούς που περιέχουν κολλαγόνο και η δράση αυτή σχετίζεται με την παρουσία δύο ειδικών πρωτεϊνών Α και Β (decorin binding proteins), οι οποίες συνδέονται με την πρωτεογλυκάνη decorin του κολλαγόνου¹⁹.

Η προσαρμογή του μικροβίου και η έκφραση των διαφόρων γονιδίων του είναι διαφορετική στους κρότωσης από ότι στον άνθρωπο και παίζει σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματική αποίκηση του ξενιστή, στην ενεργοποίηση της αντισωματικής απάντησης και στην πρόκληση της νόσου²⁰. Έτσι, πρωτεΐνες που εκφράζονται κατά την παραμονή του μικροβίου στον κρότωνα δεν εκφράζονται κατά την είσοδό του στον άνθρωπο. Επίσης οι πρωτεΐνες του μικροβίου παρουσιάζουν σημαντική αντιγονική ετερογένεια (OspC) που οφείλεται σε σημαντικές διαφορές που παρατηρούνται στην αλληλουχία των υπεύθυνων γονιδίων, τόσο μεταξύ των διαφόρων ειδών μπορρέλιας, όσο και μεταξύ των διαφόρων στελεχών του ίδιου είδους και αυτό φαίνεται να σχετίζεται άμεσα με την παθογενετική δράση του στελέχους και την κλινική μορφή της νόσου²¹.

Μετά την είσοδό του στο δέρμα με το δήγμα του κρότωνα το μικρόβιο πολλαπλασιάζεται τοπικά και ακολουθεί η διασπορά του στα άλλα όργανα, η οποία διευκολύνεται από τον αργό ρυθμό εξέλιξης της αντισωματικής απάντησης. Στα διάφορα όργανα η μπορρέλια κατορθώνει και επιβιώνει για μεγάλο χρονικό διάστημα με άγνωστο μέτρο στιγμής τρόπο. Πιθανώς να προστατεύεται από ένα στρώμα slime, το οποίο περιέχει και πρωτεΐνες του ξενιστή ή πιθανώς να κατορθώνει να επιβιώνει σε κάποιες ενδοκυτταρικές θέσεις¹¹.

Οι οξείες και χρόνιες φλεγμονώδεις διεργασίες που παρατηρούνται στα διάφορα όργανα, κυρίως κατά το 2^ο και 3^ο στάδιο, πιστεύεται ότι οφείλονται τόσο στην παραμονή της μπορρέλιας, όσο και στην αντισωματική απάντηση και την παραμονή ανοσοσυμπλεγμάτων¹⁹. Η παραμονή του μικροβίου στους ιστούς έχει σχέση με την παθογενετική εξέλιξη της νόσου, αλλά και με αυτοάνοσες διεργασίες που φαίνεται να παίρνουν μέρος στην παθογένεια, κυρίως στις χρόνιες μορφές της νόσου²².

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η κλινική εικόνα της νόσου χαρακτηρίζεται από πολυμορφία και ποικιλία κλινικών εκδηλώσεων από διάφορα όργανα, οι οποίες διαφέρουν σημαντικά από άτομο σε άτομο. Η νόσος χαρακτηρίζεται από τρία κλινικά στάδια τα οποία δεν εμφανίζονται απαραίτητα όλα σε κάθε ασθενή. Η νόσος μπορεί να εκδηλωθεί με τα συμπτώματα του δεύτερου σταδίου ή με τα συμπτώματα του τρίτου σταδίου, χωρίς να εμφανιστούν τα συμπτώματα των προηγούμενων σταδίων. Από τα συμπτώματα όλων των σταδίων εμφανίζονται μόνο ένα, σπάνια δύο και πολύ σπάνια τρία.

Στάδιο 1 ή πρώιμη εντοπισμένη νόσος: Χαρακτηρίζεται από το μεταναστευτικό ερύθημα, το οποίο αποτελεί ίσως το πιο χαρακτηριστικό σύμπτωμα της νόσου^{11,23}. Στο σημείο του δήγματος, 3-30 ημέρες μετά το δήγμα, σε 60-80% των περιπτώσεων, εμφανίζεται ερυθρό εξάνθημα συρρέον, το οποίο επεκτείνεται περιφερικά και φθάνει σε διάμετρο τα 75 mm²³. Είναι επίπεδο με επηρόμενη περιφέρεια και πολύ συχνά έχει δακτυλιοειδή μορφή με διαύγαση στο κέντρο²⁴. Υποχωρεί μετά από 3-4 εβδομάδες, ακόμη και χωρίς θεραπεία και σε ορισμένους ασθενείς συνοδεύεται από πυρετό, πονοκέφαλο, μυαλγίες, κακουχία, αρθραλγίες και λεμφαδενίτιδα. Το ερύθημα μπορεί να υποτροπιάσει και να εμφανιστεί σε άλλα σημεία του σώματος. Με κατάλληλη θεραπεία σε αυτό το στάδιο το ερύθημα υποχωρεί και προλαμβάνονται οι επιπλοκές και η συνέχεια της νόσου. Χωρίς θεραπεία, μετά την είσοδό της στο δέρμα η μορρέλια εξαπλώνεται φυγόκεντρα από το σημείο εισόδου. Στο στάδιο αυτό η μορρέλια ανευρίσκεται σε τεμάχιο βιοψίας της δερματικής βλάβης¹¹.

Στάδιο 2 ή πρώιμη συστηματική νόσος: Είναι αποτέλεσμα της εισόδου της μορρέλιας στο αίμα. Η σπειροχαιταιμία διαρκεί για ημέρες ή εβδομάδες με αποτέλεσμα τη διασπορά του μικροβίου στα διάφορα όργανα του σώματος^{11,24}. Μετά από εβδομάδες έως μήνες από τη μόλυνση εμφανίζονται οι κλινικές εκδηλώσεις από τα διάφορα όργανα.

Νευρολογικές εκδηλώσεις εμφανίζονται στο 10-15% των ασθενών με ερύθημα, και συνήθως είναι μηνιγγίτιδα, μηνιγγοριζονευρίτιδα, παράλυση του προσωπικού νεύρου και σπάνια ήπια εγκεφαλίτιδα. Η μηνιγγίτιδα χαρακτηρίζεται από αύξηση των κυττάρων στο ΕΝΥ (περίπου 100/κμ, κυρίως λεμφοκύτταρα), αύξηση της πρωτεΐνης και φυσιολογική γλυκόζη¹¹. Οι νευρολογικές εκδηλώσεις

παρατηρούνται συχνότερα στα παιδιά από ότι στους ενήλικους. Στην Ευρώπη η πιο συχνή εκδήλωση είναι το σύνδρομο Bannwarth που χαρακτηρίζεται από μηνιγγιτιδικά και ριζιτικά συμπτώματα.

Από το μυοσκελετικό σύστημα παρατηρούνται αρθραλγίες και μυαλγίες με μεταναστευτικό χαρακτήρα. Η αρθρίτιδα συνοδεύεται συνήθως από διόγκωση των αρθρώσεων και εμφάνιση υγρού²⁴. Προσβάλλονται συνήθως οι μεγάλες αρθρώσεις, όπως το γόνατο, ενώ οι μικρές αρθρώσεις των χεριών και των ποδιών δεν επηρεάζονται²⁴. Στο αρθρικό υγρό παρατηρείται αύξηση των πολυμορφοκυττάρων, των ανοσοσυμπλεγμάτων και των κρυσταλλοειδών. Η αρθρίτιδα σε αυτό το στάδιο είναι συχνότερη στα παιδιά από ό,τι στους ενήλικους και σε αναλογία 6% εμφανίζεται ως πρώτο σύμπτωμα²⁵.

Παρατηρούνται επίσης δερματικές βλάβες παρόμοιες με το αρχικό μεταναστευτικό ερύθημα. Μια σπάνια δερματική εκδήλωση είναι το λεμφοκύτωμα που εντοπίζεται κυρίως στο λοβό του αυτιού και στη θηλή του μαστού.

Από την καρδιά εμφανίζεται μυοκαρδίτιδα, περικαρδίτιδα ή και καρδιακή ανεπάρκεια. Επίσης εμφανίζονται συμπτώματα από διάφορα άλλα όργανα, όπως οφθαλμοί, ήπαρ, σπλήνας, κλπ. Τα συμπτώματα του σταδίου αυτού χωρίς θεραπεία συνεχίζονται περίπου για ένα χρόνο. Στο στάδιο αυτό η μορρέλια ανευρίσκεται κυρίως στο αίμα, αρθρικό υγρό, ΕΝΥ και στο υλικό βιοψίας διαφόρων οργάνων.

Στάδιο 3 ή όψιμη νόσος: Χαρακτηρίζεται κυρίως από χρόνια προσβολή οργάνων και εμφανίζεται μήνες ή και χρόνια μετά την αρχική μόλυνση. Τρεις είναι οι κύριες κλινικές εκδηλώσεις αυτού του σταδίου, η χρόνια ατροφική ακροδερματίτιδα, η οποία εμφανίζεται κυρίως στις εκτατικές επιφάνειες των άκρων, η χρόνια προοδευτική εγκεφαλίτιδα ή μηνιγγοεγκεφαλίτιδα, που εκδηλώνεται με σπαστική πάρεση και αταξία και η χρόνια μονοαρθρίτιδα ή πολυαρθρίτιδα, η οποία εμφανίζεται κυρίως στους ενήλικους¹¹. Σε αναλογία 10-15% των ασθενών εμφανίζεται χρόνια αρθρίτιδα στο γόνατο που δεν ανταποκρίνεται στα αντιβιοτικά και η οποία εμφανίζεται συχνότερα σε άτομα με αντιγόνο ιστοσυμβατότητας HLA-DR4^{25,26}.

Η μόλυνση του ανθρώπου όμως μπορεί να είναι και ασυμπτωματική σε αναλογία 5-10%¹¹ και δεν είναι γνωστό πόσο επιβιώνουν οι μορρέλιες στους ασυμπτωματικούς ασθενείς.

Από επιδημιολογικές μελέτες βρέθηκε ότι τα

διάφορα είδη της *B. burgdorferi* sensu lato έχουν διαφορετικό οργανοτροπισμό και σχετίζονται με την εμφάνιση διαφορετικών κλινικών εκδηλώσεων¹². Έτσι, αρθρίτιδα προκαλεί στη μεγαλύτερη αναλογία (75%) η *B. burgdorferi* sensu stricto και σε πολύ μικρότερη αναλογία οι άλλες δύο²⁷. Αντίθετα η νευρομπορρελίωση παρατηρείται συχνότερα σε περιπτώσεις λοίμωξης από *B. garinii* και η ατροφική ακροδερματίτιδα συχνότερα σε περιπτώσεις λοίμωξης από *B. afzelii*²⁷. Αποτέλεσμα αυτών των παρατηρήσεων είναι οι διαφορετικές κλινικές εκδηλώσεις σε Ευρώπη και Αμερική, δηλαδή στην Αμερική συχνότερα εμφανίζεται η αρθρίτιδα, ενώ στην Ευρώπη συχνότερα η νευρομπορρελίωση και η ατροφική ακροδερματίτιδα.

ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΙΚΗ ΑΠ'ΑΝΤΗΣΗ

Η εμφάνιση των αντισωμάτων στη νόσο είναι αργή και αντισώματα σε υψηλά επίπεδα εμφανίζονται συνήθως 5-10 εβδομάδες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων στο 50-60% των περιπτώσεων με ερύθημα²⁴. Σύμφωνα με νεότερες απόψεις όμως, η παραγωγή των αντισωμάτων δεν καθυστερεί, αλλά η ανίχνευσή τους εμποδίζεται από το σχηματισμό των ανοσοσυμπλεγμάτων στα αρχικά στάδια της νόσου²⁸.

Τα IgM αντισώματα αρχίζουν να εμφανίζονται 2-3 εβδομάδες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων και κορυφώνονται την 6^η-8^η εβδομάδα, παραμένουν για μήνες και επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα σε 4-8 μήνες. Σε ορισμένες περιπτώσεις τα IgM αντισώματα μπορεί να μην ανιχνεύονται και 6 μήνες μετά την έναρξη της νόσου. Η εμφάνιση των IgG αντισωμάτων αρχίζει την 4^η-6^η εβδομάδα και κορυφώνεται τον 4-6 μήνα. Τα αντισώματα παραμένουν για πολλά χρόνια. Έτσι, ενώ στην πρόσφατη πρώιμη νόσο ανευρίσκονται IgM και IgG αντισώματα, στα μετέπειτα στάδια της νόσου ανευρίσκονται συνήθως IgG. Τα IgM αντισώματα γενικά είναι λιγότερο ειδικά για τη νόσο από ότι τα IgG²⁴. Τα IgG αντισώματα όμως παραμένουν για πολλά χρόνια (10-20 χρόνια) μετά την αρχική λοίμωξη και η παρουσία τους δε σημαίνει απαραίτητα ενεργό λοίμωξη²⁹. Η παραμονή αυτή δυσκολεύει πολύ τη διάκριση της ενεργού από την παλιά νόσηση. Γενικά τα αντισώματα κατά το 1^ο στάδιο εμφανίζονται στο 20-50% των ασθενών, κατά το 2^ο στάδιο στο 70-90% και κατά το 3^ο στο 100% των ασθενών.

Ανάλογα με το στάδιο και την κλινική εκδήλωση της νόσου αντισώματα ανιχνεύονται, εκτός

από τον ορό, και σε άλλα κλινικά δείγματα, όπως στη νευρομπορρελίωση παρατηρείται ενδορραχιαία παραγωγή αντισωμάτων.

Τα πρώτα αντισώματα που παράγονται με την έναρξη της νόσου είναι έναντι ορισμένων πρωτεϊνικών αντιγόνων του μικροβίου, όπως το p41 βλεφαριδικό αντιγόνο, p21, p35 και p30. Στη συνέχεια με την πρόοδο της νόσου εμφανίζονται αντισώματα και έναντι άλλων πρωτεϊνών του μικροβίου. Επίσης κατά τη διάρκεια της νόσου παράγονται αντισώματα έναντι διαφορετικών επιτόπων της ίδιας πρωτεΐνης, οι οποίοι ενεργοποιούνται σταδιακά²⁶. Χαρακτηριστικά τα αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης OspC εμφανίζονται στην πρώιμη νόσο, ενώ τα αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης OspA εμφανίζονται στην όψιμη νόσο και σχετίζονται με την εμφάνιση της αρθρίτιδας³⁰.

Η αντισωματική απάντηση διαφέρει πολύ από ασθενή σε ασθενή και αυτό οφείλεται στη διαφορετική έκφραση των πρωτεϊνικών αντιγόνων και την αντίσταση του ξενιστή. Τα αντισώματα που παράγονται δεν είναι προστατευτικά και συμβαίνει συχνά αναλοίμωξη του ίδιου ατόμου²⁴.

Όταν η θεραπεία αρχίζει νωρίς μετά τη μόλυνση τα αντισώματα ελαττώνονται μέσα σε 3-6 μήνες. Στην όψιμη νόσο όμως παραμένουν για χρόνια, ακόμη και μετά από επιτυχημένη θεραπεία²⁹. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι κατά την πορεία της νόσου εμφανίζονται αντισώματα έναντι όλο και περισσότερων διαφορετικών πρωτεϊνών.

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Ως Lyme ορίζεται η νόσος που χαρακτηρίζεται από την παρουσία μεταναστευτικού ερυθήματος με διάμετρο μεγαλύτερη ή ίση με 5 cm, ή από εργαστηριακή επιβεβαίωση της λοίμωξης με εκδήλωση τουλάχιστον ενός συμπτώματος από το μυοσκελετικό, νευρικό ή καρδιακό σύστημα^{7,23}.

Η διάγνωση της νόσου παρουσιάζει σημαντικές δυσκολίες. Στο πρώιμο στάδιο στηρίζεται κυρίως στα κλινικά συμπτώματα και ιδιαίτερα στο μεταναστευτικό ερύθημα, όταν υπάρχει. Γενικά η διάγνωση στηρίζεται στην κλινική εικόνα, στην άμεση αναζήτηση του μικροβίου ή στην καλλιέργεια και απομόνωση του μικροβίου από τα διάφορα κλινικά υλικά, στον έλεγχο της αντισωματικής απάντησης με διάφορες ανοσολογικές δοκιμασίες (ανοσοφθορισμός, ELISA, ανοσοαποτύπωση) και στην αναζήτηση του DNA του μικροβίου με μοριακές τεχνικές (PCR).

Άμεση αναζήτηση της *B. burgdorferi*

Άμεση ανίχνευση της *B. burgdorferi* μπορεί να γίνει σε τεμάχιο βιοψίας από την περιφέρεια της δερματικής βλάβης, ούρα, ENY, αρθρικό υγρό, σπλήνα με μικροσκοπιο αντίθεσης φάσεως ή σκοτεινού πεδίου ή με χρώσεις, όπως η Warthin-Starry ή acridine orange²⁴.

Καλλιέργεια – Απομόνωση της *B. burgdorferi*

Για την απομόνωση του μικροβίου το κλινικό υλικό το οποίο καλλιεργείται εξαρτάται από το στάδιο της νόσου και είναι ανάλογο με την κλινική μορφή, όπως τεμάχιο βιοψίας δέρματος, αίμα, πλάσμα ή ορός, ENY, αρθρικό υγρό, δείγματα βιοψίας από ήπαρ, σπλήνα, εγκέφαλο και άλλα όργανα^{24,31}.

Η *B. burgdorferi* είναι απαιτητικό μικρόβιο και για την απομόνωσή της χρειάζονται πολύπλοκα θρεπτικά υλικά. Το θρεπτικό υλικό, που θεωρείται κλασικό για την απομόνωση του μικροβίου είναι το BSK (Barbour-Stoenner-Kelly)⁴. Ο χρόνος διπλασιασμού του μικροβίου είναι 10-12 ώρες. Έχουν περιγραφεί διάφορες τροποποιήσεις του υλικού αυτού με σκοπό τη μεγαλύτερη αναλογία απομόνωσης του μικροβίου²⁴, αλλά και η χρησιμοποίηση άλλων υλικών, όπως είναι το MPM, με ιδιαίτερα καλά αποτελέσματα απομόνωσης του μικροβίου σε ασθενείς με χρόνια νόσο, ακόμη και όταν είναι σε L-μορφή, κάτι το οποίο δεν φαίνεται να επιτυγχάνεται με το υλικό BSK³².

Παρόλο που η καλλιέργεια και απομόνωση του μικροβίου είναι η μόνη σίγουρη μέθοδος για τη διάγνωση, δεν προτείνεται, γιατί είναι επίπονη, χρονοβόρα και με μικρή ευαισθησία. Η αναλογία απομόνωσης του μικροβίου από καλλιέργεια τεμαχίου βιοψίας δέρματος ή αίματος κυμαίνεται από 20-85%, ενώ στο ENY είναι πολύ μικρή κάτω από 10%³³.

Έλεγχος αντισωματικής απάντησης

Οι ορολογικές δοκιμασίες που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της νόσου είναι ο ανοσοφθορισμός, η ELISA και η ανοσοαποτύπωση (Western-Blot). Για την ανίχνευση των αντισωμάτων εξετάζεται αρχικά ένα δείγμα ορού και στη συνέχεια ένα δεύτερο δείγμα σε 3-6 εβδομάδες. Σημαντική αύξηση των IgM ή και των IgG αντισωμάτων μεταξύ των δύο δειγμάτων αποτελεί ισχυρό διαγνωστι-

κό κριτήριο. Όταν τα αποτελέσματα είναι αμφισβητούμενα, προτείνεται να εξετάζονται περισσότερα δείγματα ορού με μεσοδιάστημα ενός μηνός.

Η αναζήτηση των αντισωμάτων γίνεται στον ορό, αλλά και σε άλλα κλινικά δείγματα, όπως είναι το ENY για τη διάγνωση της νευρομπορρελίωσης³⁴. Η νευρομπορρελίωση χαρακτηρίζεται από ενδορραχιαία παραγωγή IgM και IgG αντισωμάτων και η αναζήτηση τους απαραίτητα πρέπει να γίνεται συγχρόνως με την αναζήτηση των αντισωμάτων στον ορό³⁵. Για την τεκμηρίωση της παρουσίας της μπορρέλιας στο ENY και της ενδορραχιαίας παραγωγής αντισωμάτων υπολογίζεται ο δείκτης των ειδικών αντισωμάτων που είναι η σχέση του τίτλου των αντισωμάτων στο ENY προς τον τίτλο των αντισωμάτων στον ορό. Στον υπολογισμό λαμβάνεται υπόψη και η σχέση του λευκόματος του ENY προς το λεύκωμα του αίματος, με σκοπό την εκτίμηση του βαθμού διαταραχής του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Η ευαισθησία της αναζήτησης των αντισωμάτων στο ENY φθάνει το 21% τις πρώτες 3 εβδομάδες της νόσου και το 90% μετά από 6 εβδομάδες³⁵. Στη χρόνια νευρομπορρελίωση ανευρίσκονται μόνο IgG ειδικά αντισώματα στο ENY.

Στον **ανοσοφθορισμό** χρησιμοποιείται ως αντιγόνο ολόκληρο το μικροβιακό κύτταρο και οι τίτλοι που θεωρούνται θετικοί είναι >64 ή >256 ανάλογα με τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται. Συχνά όμως παρατηρούνται ψευδώς θετικά αποτελέσματα²⁴.

Στην **ELISA** ως αντιγόνο χρησιμοποιήθηκε αρχικά ολόκληρο το μικροβιακό κύτταρο κατακερματισμένο με υπερήχους, με μεγάλη ευαισθησία αλλά μικρή ειδικότητα, με αποτέλεσμα μεγάλη αναλογία ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (30-55%)³⁶. Στη συνέχεια με σκοπό να βελτιωθεί η ευαισθησία και κυρίως η ειδικότητα της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν κεκαθαρωμένα αντιγόνα ή capture ELISA ή προσρόφηση με το σαπροφυτικό στέλεχος *Treponema phagedenis*, κ.α. Η παραγωγή επίσης και εφαρμογή ειδικών ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών του μικροβίου (OspC, OspF, p22, p34, p39), αλλά και συνθετικών αντιγόνων έχει βελτιώσει αρκετά την ευαισθησία και την ειδικότητα της ELISA ιδιαίτερα στο 1^ο στάδιο της νόσου^{37,38}. Επίσης η χορήγηση γ-σφαιρίνης στον ασθενή επηρεάζει το αποτέλεσμα της ELISA και δίνει ψευδώς θετικά αποτελέσματα³⁹.

Η ευαισθησία της ELISA στην πρώιμη νόσο με ερύθημα είναι 59-66% και 63-75% στην πρώιμη νευρομπορρελίωση⁴⁰. Στην αρθρίτιδα η ευαισθη-

σία φθάνει το 89-95% και στην όψιμη νευρομποροελίωση το 91-100%⁴⁰. Γενικά η ευαισθησία της ELISA εξαρτάται από το είδος του μικροβίου ή τα αντιγόνα που χρησιμοποιούνται στη μέθοδο, από το στάδιο και την κλινική μορφή της νόσου και από τη γεωγραφική περιοχή στην οποία χρησιμοποιείται.

Σε μια πολυκεντρική μελέτη στη Γερμανία με σκοπό την εκτίμηση των διαφόρων ειδών ELISA βρέθηκε ότι καλύτερη διακριτική ικανότητα στα IgM και IgG αντισώματα είχε η ELISA με αντιγόνο *B. afzelii* και τη μικρότερη η ELISA με αντιγόνο *B. burgdorferi sensu stricto* μεταξύ δειγμάτων ορού από ασθενείς με νόσο Lyme και μαρτύρων¹³.

Από μελέτες που έγιναν φαίνεται, ότι ο έλεγχος της avidity των IgG αντισωμάτων προσφέρει βοήθεια κυρίως στη διάγνωση του πρώιμου σταδίου όπου τα IgG χαρακτηρίζονται από χαμηλή avidity. Αντίθετα στους ασθενείς με όψιμη νόσο, αλλά και στα υγιή άτομα με ανοσία, τα IgG αντισώματα εμφανίζουν υψηλή avidity⁴¹.

Σε μια προσπάθεια να προτυποποιηθεί η διάγνωση της νόσου το CDC πρότεινε κάθε θετικό αποτέλεσμα με ανοσοφθορισμό ή ELISA να επιβεβαιώνεται με ανοσοαποτύπωση. Η ανοσοαποτύπωση χρησιμοποιείται με σκοπό να αυξήσει την ειδικότητα στην ορολογική διάγνωση της νόσου. Αποτέλεσμα αρνητικό με την ELISA ή με την ανοσοαποτύπωση θα πρέπει να θεωρείται αρνητικό για νόσο Lyme τουλάχιστον για τη στιγμή που γίνεται. Όσον αφορά την ερμηνεία της ανοσοαποτύπωσης το CDC έθεσε κριτήρια, τόσο για τα IgG, όσο και για τα IgM αντισώματα, με βάση τα οποία πρέπει να γίνεται η εκτίμηση των θετικών αποτελεσμάτων της ανοσοαποτύπωσης⁴².

Μετέπειτα μελέτες όμως έχουν εγείρει αμφιβολίες για την ευαισθησία και την ειδικότητα των κριτηρίων που έθεσε το CDC για την ανοσοαποτύπωση⁴³⁻⁴⁵. Ακόμη, επειδή τα κριτήρια αυτά δεν ήταν σίγουρο ότι μπορούν να εφαρμοστούν με επιτυχία και στην Ευρώπη, κατά το χρονικό διάστημα 1994-1996 έγινε μια πολυκεντρική μελέτη από εργαστήρια εννέα Ευρωπαϊκών χωρών με σκοπό τον καθορισμό κριτηρίων για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της ανοσοαποτύπωσης στην Ευρώπη⁴⁶. Στη μελέτη αυτή βρέθηκε, ότι η ανοσοαποτύπωση έχει πολλά προβλήματα ερμηνείας στην Ευρώπη και εξαρτάται άμεσα από το είδος της *B. burgdorferi sensu lato* που χρησιμοποιείται ως αντιγόνο, αλλά και από την κλινική μορφή της νόσου. Η μελέτη αυτή ήταν μια προσπάθεια προτυποποίησης

της ανοσοαποτύπωσης, όμως δεν κατέληξε σε ένα απλό κανόνα αλλά σε πέντε διαφορετικούς με οκτώ ζώνες κοινής σημασίας (IgM p41, OspC-IgG p83/100, p58, p41, p39, OspC, p17), από τις οποίες πιο σημαντικές είναι οι OspC και p41 για τα IgM αντισώματα και οι p83/100 και p58 για τα IgG. Οι κανόνες αυτοί δεν μπορούν να προσαρμοστούν στο κάθε εργαστήριο, αλλά να χρησιμοποιηθούν μόνο ως οδηγοί. Σε μια άλλη μελέτη, στην οποία εξετάστηκαν οροί ασθενών από διάφορες χώρες της Ευρώπης, βρέθηκε ότι καλύτερα αποτελέσματα είχε η ανοσοαποτύπωση με αντιγόνο *B. afzelii* (PKo)⁴⁷. Έτσι, προτείνεται στην Ευρώπη να χρησιμοποιούνται ορολογικές μέθοδοι που έχουν ως αντιγόνο τη *B. afzelii* για τη διάγνωση της πρώιμης και της όψιμης νόσου^{46,47}.

Επίσης προβλήματα ερμηνείας της ανοσοαποτύπωσης προκύπτουν από την ένταση του χρώματος στις διάφορες ζώνες, ίσως αποτέλεσμα του βαθμού ανοσοαπάντησης στα διάφορα κλινικά στάδια της νόσου⁴⁶.

Αναζήτηση του DNA του μικροβίου με μοριακές τεχνικές-PCR

Τα κλινικά δείγματα στα οποία αναζητάται το DNA του μικροβίου με PCR είναι πλάσμα, τεμάχιο βιοψίας δέρματος, ENY και αρθρικό υγρό, ενώ τα ούρα δε θεωρούνται καλό κλινικό δείγμα⁴⁸. Το αποτέλεσμα της PCR εξαρτάται άμεσα από το στάδιο της νόσου και το είδος του κλινικού δείγματος. Επίσης εξαρτάται από τον αριθμό των μπορρελιών που υπάρχει στα κλινικά δείγματα, ο οποίος είναι εξαιρετικά μικρός (ιδιαίτερα στο ENY και το αρθρικό υγρό) πολλές φορές κάτω από 50 μικρόβια ανά ml^{35,48}. Καλύτερα αποτελέσματα έχει η PCR σε τεμάχια βιοψίας δέρματος πριν από τη θεραπεία, καθώς και σε τεμάχια αρθρικού ιστού, στα οποία η ευαισθησία φθάνει το 81%⁴⁹.

Έχει βρεθεί, ότι χωρίς θεραπεία το DNA του μικροβίου παραμένει στη δερματική βλάβη για 1-6 μήνες μετά την εξαφάνιση του ερυθήματος. Ακόμη, έχει βρεθεί ότι το DNA παραμένει στο ENY και το αρθρικό υγρό για περισσότερα από 10 χρόνια από τη λοίμωξη. Έτσι, ένα θετικό αποτέλεσμα της PCR δεν σημαίνει απαραίτητα και ενεργό λοίμωξη. Μετά την έναρξη της θεραπείας όμως η PCR αποβαίνει αρνητική μέσα σε λίγες ημέρες⁴⁸.

Έχουν γίνει πολλές μελέτες με διαφορετικά γονίδια-στόχους, διαφορές στα ζεύγη των εκκινητών και στην τεχνική, όπως nested PCR και real

time PCR, η οποία παρουσιάζει την καλύτερη ευαισθησία. Καλά αποτελέσματα έχει η PCR όταν χρησιμοποιείται ως στόχος το γονίδιο που κωδικοποιεί τις βλεφαρίδες⁴⁸.

Γενικές αρχές για την εκτίμηση των ορολογικών εξετάσεων

Για να υπάρχει συμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων, προτάθηκαν από το CDC κάποιες γενικές αρχές για την εκτίμηση των ορολογικών εξετάσεων⁴².

- Όταν η διάγνωση γίνεται με ορολογικές δοκιμασίες το CDC προτείνει αρχικά να γίνεται με ευαίσθητη ELISA ή ανοσοφθορισμό και στη συνέχεια τα θετικά αποτελέσματα να επιβεβαιώνονται με ανοσοαποτύπωση.
- Δείγματα αρνητικά με ELISA ή ανοσοφθορισμό δεν πρέπει να εξετάζονται περαιτέρω.
- Όταν η ανοσοαποτύπωση γίνεται τις πρώτες 4 εβδομάδες της νόσου πρέπει να αναζητούνται και τα IgM και τα IgG αντισώματα.
- Ένα θετικό αποτέλεσμα IgM αντισωμάτων δεν αποτελεί ένδειξη ενεργού νόσου σε περίπτωση που η διάρκειά της είναι μεγαλύτερη από ένα μήνα, γιατί είναι πολύ πιθανό το αποτέλεσμα να είναι ψευδώς θετικό.
- Πρέπει να εξετάζονται δύο ή περισσότερα δείγματα ορού.
- Ασθενείς με όψιμο στάδιο νόσου έχουν συνήθως μόνο IgG αντισώματα.

Προβλήματα κατά τη διάγνωση της νόσου

Κατά τη διάγνωση της νόσου όμως προκύπτουν πολλά προβλήματα τα οποία οφείλονται στο ότι:

- Τα κλινικά συμπτώματα πολλές φορές είναι ασαφή και μοιάζουν με τα συμπτώματα πολλών άλλων νόσων.
- Συχνά η λοίμωξη είναι αφανής με αποτέλεσμα την ύπαρξη αντισωμάτων χωρίς κλινικά συμπτώματα.
- Η εμφάνιση των αντισωμάτων καθυστερεί πολύ σε σχέση με την έναρξη των συμπτωμάτων.
- Η παραμονή των αντισωμάτων για μεγάλο χρονικό διάστημα ακόμη και μετά τη θεραπεία δημιουργεί πρόβλημα στη διάγνωση της όψιμης νόσου, ιδιαίτερα στις ενδημικές περιοχές.
- Συχνά παρατηρούνται ψευδώς θετικά αποτελέσματα στις ορολογικές δοκιμασίες λόγω διασταυρούμενων αντιδράσεων με άλλες νόσους (σύφιλη, ερυθματώδη λύκο, λοιμώδη μονοπυρήνωση, υπόστροφο πυρετό)²⁴.

- Δεν έχουν προτυποποιηθεί οι ορολογικές μέθοδοι, με αποτέλεσμα να παρατηρούνται μεγάλες διαφορές στα αποτελέσματα των διαφόρων εργαστηρίων, ακόμη και στα ίδια δείγματα¹³. Το πρόβλημα αυτό επιτείνεται από τη μεγάλη ετερογένεια που παρατηρείται μεταξύ των στελεχών, από τα διάφορα αντιγόνα που χρησιμοποιούνται στις ορολογικές μεθόδους, καθώς και από την διαφορετική γεωγραφική κατανομή των ειδών, ιδιαίτερα στην Ευρώπη όπου επικρατούν και τα τρία είδη. Επίσης η ερμηνεία των αποτελεσμάτων των εργαστηριακών εξετάσεων είναι προβληματική εξ αιτίας των διαφορών που υπάρχουν στην ευαισθησία και την ειδικότητα μεταξύ των διαφόρων μεθόδων.

Ορολογική διάγνωση ανάλογα με την κλινική μορφή της νόσου

Η προσέγγιση της ορολογικής διάγνωσης της νόσου εξαρτάται από την κλινική μορφή και το στάδιο της νόσου (<http://www.dis.strath.ac.uk/lymeEU/>). Γενικά η διάγνωση της νόσου στηρίζεται σε συνδυασμό των αποτελεσμάτων των διαφόρων εργαστηριακών εξετάσεων (Πίν. 1).

Στους ασθενείς με μεταναστευτικό ερύθημα η διάγνωση στηρίζεται κυρίως στα κλινικά ευρήματα. Επιβεβαιώνεται με την ανεύρεση σημαντικής αύξησης των IgM ή και IgG αντισωμάτων μεταξύ δύο δειγμάτων ορού, τα οποία λαμβάνονται το πρώτο κατά την πρώτη επίσκεψη του ασθενούς και το δεύτερο 3-6 εβδομάδες αργότερα. Σημαντική ελάττωση του τίτλου των αντισωμάτων παρατηρείται μεταξύ ενός δείγματος που λαμβάνεται κατά την έναρξη της θεραπείας και ενός άλλου που λαμβάνεται 3 μήνες αργότερα.

Η διάγνωση του λεμφοκυττώματος στηρίζεται στην ανεύρεση αύξησης των IgM ή και IgG αντισωμάτων μεταξύ δύο δειγμάτων ορού, τα οποία λαμβάνονται το πρώτο κατά την πρώτη επίσκεψη και το δεύτερο 3-6 εβδομάδες αργότερα. Σημαντική ελάττωση του τίτλου των αντισωμάτων παρατηρείται μεταξύ ενός δείγματος που λαμβάνεται κατά την έναρξη της θεραπείας και ενός άλλου που λαμβάνεται τρεις μήνες αργότερα.

Στη χρόνια ατροφική ακροδερματίτιδα η διάγνωση στηρίζεται στην ανεύρεση ειδικών IgG αντισωμάτων σε αυξημένους τίτλους στον ορό.

Σημαντική αύξηση των IgM ή και IgG αντισωμάτων μεταξύ δύο δειγμάτων ορού είναι σοβαρή ένδειξη για τη διάγνωση της πρόσφατης νευρο-

Πίνακας 1. Εργαστηριακή διάγνωση ανάλογα με την κλινική μορφή

Κλινική μορφή	Εργαστηριακή διάγνωση
Μεταναστευτικό ερύθημα	<ul style="list-style-type: none"> - Η διάγνωση στηρίζεται κυρίως στα κλινικά ευρήματα. - Ανίχνευση του μικροβίου σε τεμάχιο βιοψίας δέρματος με καλλιέργεια ή PCR. - Επιβεβαίωση με την ανεύρεση σημαντικής αύξησης των IgM ή/και IgG αντισωμάτων μεταξύ δύο δειγμάτων ορού.
Λεμφοκύττωμα	<ul style="list-style-type: none"> - Αύξηση των IgM ή και IgG αντισωμάτων μεταξύ δύο δειγμάτων ορού. - στολογική ένδειξη ψευδολεμφοκυττώματος Β-κυττάρων
Χρόνια ατροφική ακροδερματίτιδα	<ul style="list-style-type: none"> - Ανεύρεση ειδικών IgG αντισωμάτων σε αυξημένους τίτλους στον ορό. - Ανίχνευση του μικροβίου σε τεμάχιο βιοψίας δέρματος με καλλιέργεια ή PCR.
Πρόσφατη νευρομπορρελίωση	<ul style="list-style-type: none"> - Αύξηση των λεμφοκυττάρων στο ENY. - Αύξηση των IgM ή και IgG αντισωμάτων στο ENY ή και στον ορό. - Ανίχνευση του μικροβίου στο ENY με καλλιέργεια ή PCR.
Χρόνια νευρομπορρελίωση	<ul style="list-style-type: none"> - Ανεύρεση ειδικών IgG αντισωμάτων στο ENY, αλλά και στον ορό. - Αύξηση των λεμφοκυττάρων στο ENY.
Αρθρίτιδα	<ul style="list-style-type: none"> - Αύξηση των IgM ή/και IgG αντισωμάτων ή υψηλά επίπεδα IgG ειδικών αντισωμάτων μεταξύ δύο δειγμάτων ορού. - Ανίχνευση του μικροβίου με PCR ή καλλιέργεια στο αρθρικό υγρό

μπορρελίωσης. Τα αντισώματα όμως μερικές φορές εμφανίζονται νωρίτερα στο ENY από ότι στον ορό. Έτσι είναι απαραίτητη η ανίχνευση των αντισωμάτων στο ENY και απαραίτητη η σύγχρονη εξέταση ορού και ENY για τη διάγνωση της νόσου.

Για τη διάγνωση της χρόνιας νευρομπορρελίωσης είναι σημαντική η ανεύρεση ειδικών IgG αντισωμάτων στο ENY, αλλά και στον ορό. Η εξέταση ορού και ENY πρέπει να γίνεται συγχρόνως. Η ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων στο ENY επιτρέπει τη διάγνωση της νευρομπορρελίωσης σε 80-100% των περιπτώσεων, γιατί αποτελεί το κύριο χαρακτηριστικό της νόσου και το κυριότερο κριτήριο για τη διαφορική διάγνωση από παρόμοιες κλινικές καταστάσεις (πολλαπλή σκλήρυνση).

Η δοκιμασία που χρησιμοποιείται ως πρώτη επιλογή για τη διάγνωση της αρθρίτιδας είναι η αναζήτηση των ειδικών αντισωμάτων. Σημαντική αύξηση των IgM ή και IgG αντισωμάτων ή υψηλά επίπεδα IgG ειδικών αντισωμάτων μεταξύ δύο δειγμάτων ορού είναι σοβαρή ένδειξη για τη διάγνωση της πρώιμης αρθρίτιδας. Η διάγνωση της χρόνιας αρθρίτιδας στηρίζεται κυρίως στην ανεύρεση υψηλών επιπέδων IgG ειδικών αντισωμάτων. Επειδή η αρθρίτιδα αποτελεί σχεδόν πάντοτε επιπλοκή της λοίμωξης που διαρκεί μήνες ή χρόνια, ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα των ορολογικών δοκιμασιών σπάνια εμφανίζονται. Σε τέτοιες περιπτώσεις με αρνητικές ορολογικές δοκιμασίες στον ορό ένα θετικό αποτέλεσμα της PCR στο αρθρικό υγρό θα πρέπει να θεωρείται ψευδώς θετικό⁵⁰.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η έγκαιρη διάγνωση της νόσου έχει μεγάλη σημασία για την έγκαιρη έναρξη της θεραπείας με αντιβιοτικά, η οποία είναι απαραίτητη και αποτελεσματική. Η κατάλληλη θεραπεία προλαμβάνει την εμφάνιση των δευτεροπαθών βλαβών της νόσου. Όταν η νόσος επεκταθεί σε άλλα όργανα η αποτελεσματικότητα της θεραπείας είναι περιορισμένη, γιατί το μικρόβιο καταλαμβάνει θέσεις στις οποίες δύσκολα επηρεάζεται από τα αντιβιοτικά⁵¹.

Για τη θεραπεία της νόσου στα δύο πρώτα στάδια, χωρίς την παρουσία νευρολογικών και καρδιακών εκδηλώσεων, συνιστάται η χορήγηση doxycycline, ή amoxicillin, για 14-28 ημέρες^{17,51}. Στα παιδιά (<8 χρόνων) και τις έγκυες χορηγείται penicillin, amoxicillin, cefuroxime ή erythromycin. Για τη θεραπεία των ασθενών με σοβαρότερες επιπλοκές, όπως αρθρίτιδα, μηνιγγίτιδα ή καρδιακές εκδηλώσεις, συνιστάται η θεραπεία με ceftriaxone, penicillin, cefotaxime ή doxycycline για 4 εβδομάδες¹⁷.

Η επιτυχία της θεραπείας συνήθως στηρίζεται σε κλινικά κριτήρια και δεν είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός των αντισωμάτων για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητάς της.

ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Για την προφύλαξη από τη νόσο είναι απαραίτητη η εφαρμογή των παρακάτω προφυλακτικών μέτρων, ιδιαίτερα στις ενδημικές περιοχές:

- Αποφυγή επαφής με κρότωνες.
- Επάλευση με εντομοαπωθητικό.
- Κατά την παραμονή σε περιοχές που υπάρχουν

κρότωνα είναι απαραίτητη ενδυμασία ανοικτού χρώματος με μακριά μανίκια και μακριά παντελόνια.

- Κατά την παραμονή σε περιοχές που υπάρχουν κρότωνα το κάτω μέρος του παντελονιού να τοποθετείται μέσα στις κάλτσες.
- Συχνός έλεγχος των εκτεθειμένων σημείων του σώματος για παρουσία κροτώνων.
- Απομάκρυνση όσο το δυνατόν πιο γρήγορα του κρότωνα από το δέρμα με μικρή λαβίδα.
- Με την εμφάνιση συμπτωμάτων ενδεικτικών της νόσου απαιτείται άμεση επίσκεψη σε γιατρό.
- Σε περίπτωση δήγματος από κρότωνα η γενική άποψη είναι ότι δεν απαιτείται χημειοπροφύλαξη. Κατά μια αντίθετη άποψη όμως συνιστάται η χορήγηση doxycycline ή amoxicillin για 10 ημέρες ή μία δόση doxycycline⁵¹.

Στην Αμερική κυκλοφόρησε εμβόλιο (Lyme-rix, SmithKline Beecham) για την πρόληψη της νόσου, το οποίο είναι δραστικό μόνο έναντι της *B. burgdorferi sensu stricto*. Παρασκευάζεται από μια ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης, την OspA, γίνεται σε τρεις δόσεις, η αποτελεσματικότητά του είναι 80%, αλλά παρέχει προστασία για μικρό χρονικό διάστημα, για μερικούς μήνες. Η χορήγησή του συνιστάται σε άτομα ηλικίας 15-70 ετών που ζουν σε ενδημικές περιοχές με συνεχή έκθεση σε κρότωνα, σε ταξιδιώτες 15-70 ετών σε ενδημικές περιοχές και τέλος σε άτομα 15-70 ετών με προηγούμενη νόσο χωρίς επιπλοκές, οι οποίοι βρίσκονται σε συνεχή κίνδυνο. Η χορήγησή του δεν ενδείκνυται σε έγκυες και παιδιά κάτω των 15 ετών. Χρήσιμες πληροφορίες για την προφύλαξη και για την πρόληψη της νόσου δίνονται στην ηλεκτρονική διεύθυνση του CDC (<http://www.cdc.gov/incidod/dvbid/lyme>).

Υπάρχει όμως ένα σημαντικό πρόβλημα όσον αφορά στο εμβόλιο αυτό, γιατί η πρωτεΐνη OspA πιστεύεται ότι προκαλεί αυτοάνοση αντίδραση που οδηγεί σε αρθρίτιδα¹². Επίσης ένα άλλο μειονέκτημα του εμβολίου είναι η ετερογένεια της OspA που παρατηρείται μεταξύ των διαφόρων ειδών της *B. burgdorferi*, με αποτέλεσμα να μην μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε άλλες χώρες εκτός της Αμερικής⁵². Λόγω όλων αυτών των προβλημάτων, αλλά και για οικονομικούς λόγους το Φεβρουάριο του 2002 η Εταιρεία αποφάσισε να σταματήσει την παραγωγή του εμβολίου.

Η παρασκευή πολυδύναμου OspA εμβολίου θα μπορούσε να προσφέρει ικανή διασταυρούμε-

νη προστασία στα διάφορα μέρη του κόσμου. Για να χρησιμοποιηθεί το εμβόλιο στην Ευρώπη πρέπει να περιέχει επιπλέον την OspA πρωτεΐνη των άλλων δύο ειδών, της *B. garinii* και της *B. afzelii*.

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Ελάχιστες είναι οι μελέτες στον ελληνικό χώρο σχετικά με τη νόσο. Αναφέρονται κυρίως στην αναζήτηση αντισωμάτων σε τυχαίο υγιή πληθυσμό με ELISA ή και ανοσοφθορισμό, ενώ σε λίγες από αυτές ακολουθεί επιβεβαίωση με ανοσοαποτύπωση.

Αναφέρεται αναζήτηση αντισωμάτων σε τυχαίο υγιή πληθυσμό με αναλογία ανεύρεσης 14,78% με ELISA και IFA⁵³. Από την αναζήτηση των αντισωμάτων σε αθίγγανους αυτά βρέθηκαν σε αναλογία 1,1%⁵⁴. Πρέπει όμως να τονιστεί ότι σε αυτές τις μελέτες η αναζήτηση των αντισωμάτων έγινε με ELISA ή ανοσοφθορισμό χωρίς επιβεβαίωση με ανοσοαποτύπωση. Αντίθετα σε μια άλλη μελέτη η οποία αναφέρεται στην αναζήτηση IgG αντισωμάτων σε ναύτες η αναλογία ανεύρεσης με ELISA ήταν πολύ χαμηλότερη (3,27%) και ακόμη χαμηλότερη μετά την επιβεβαίωση με ανοσοαποτύπωση (0,27%)⁵⁵. Επίσης σε μια άλλη μελέτη περιγράφεται περίπτωση ασθενούς με νευρολογικές διαταραχές στον οποίο η διάγνωση στηρίχθηκε σε αναζήτηση αντισωμάτων στον ορό μόνο (όχι στο ENY) και μόνο με ELISA και ανοσοφθορισμό χωρίς επιβεβαίωση με ανοσοαποτύπωση και χωρίς διαφορά τίτλου μεταξύ των δύο δειγμάτων ορού που εξετάστηκαν⁵⁶. Από την αναζήτηση των αντισωμάτων έναντι της *B. burgdorferi* σε ασθενείς με αρθρίτιδα προέκυψε ότι οι περιπτώσεις Lyme αρθρίτιδας είναι σπάνιες στη Βόρεια Ελλάδα⁵⁷. Η μελέτη της νόσου στην Ελλάδα είναι φτωχή, αλλά παρόλα αυτά κατά γενική εκτίμηση η συχνότητα στη χώρα μας είναι μικρή. Βέβαια από άλλους υποστηρίζεται ότι η μικρή συχνότητα της νόσου πιθανώς να είναι αποτέλεσμα υποεκτίμησής της.

ABSTRACT

Kansouzidou A. Lyme Borreliosis. Hell Iatr 2004, 70: 17-29.

Lyme borreliosis, a multi-system illness, is the most prevalent vector-borne disease in the USA. The disease is also endemic in some parts of Europe. Lyme borreliosis is caused by a cultivable spirochete *Borrelia burgdorferi sensu lato*, which includes three genospecies *B. burgdorferi sensu stricto*,

Borrelia afzelii and *Borrelia garinii*. The Lyme disease spirochete *B. burgdorferi* is transmitted to humans by *Ixodes* ticks. These include *I. dammini* (*I. scapularis*) and *I. pacificus* in USA and *I. ricinus* in Europe. Reservoirs are small animals (rodents), but large animals are also important for the life cycle of the tick. Lyme disease generally occurs in three stages with different clinical manifestations at each stage. The most important of the clinical manifestations are erythema migrans, meningitis, arthritis, myocarditis, acrodermatitis and encephalomyelitis. Of the genospecies, *Borrelia afzelii* has predominantly been associated with acrodermatitis chronica atrophicans, *Borrelia garinii* with neurological manifestations and *B. burgdorferi* sensu stricto with arthritis, while erythema migrans is caused by all three genospecies. The diagnosis of the disease is based on the recognition of typical clinical signs and is supported by laboratory tests. Since the culture or direct visualization of *B. burgdorferi* from patient specimens is difficult, the diagnosis of the disease is usually supported by serologic methods as Immunofluorescence, ELISA and Western Blot as confirmation. As false positive serologic results may usually occur, the CDC suggests a two-step diagnostic approach: first use a sensitive ELISA or immunofluorescence followed by a more specific immunoblot test for all serum samples with a borderline or reactive ELISA result. PCR assays are also available for detecting the DNA of the agent of Lyme disease. For the prevention of the disease, personal preventive measures and also a vaccine are recommended. It is believed that the disease is of low frequency in our country.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Steere AC, Malawista SE, Syndman DR, et al. Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three Connecticut communities. *Arthritis Rheum* 1977, 20: 7-17.
2. Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. Lyme disease – a tick-borne spirochetosis? *Science* 1982, 216: 1317-9.
3. Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, et al. The spirochetal etiology of Lyme disease. *N Engl J Med* 1983, 308: 733-40.
4. Barbour AG, Burgdorfer W, Hayes SF, Peter O, Aeshlimann A. Isolation of a cultivable spirochete from *Ixodes ricinus* ticks in Switzerland. *Curr Microbiol* 1983, 8: 123-6.
5. Johnson R, Schmidt GP, Hyde FW, Stiegerwalt AC, Brenner DJ. *Borrelia burgdorferi* sp. Nov.: etiologic agent of Lyme disease. *Int J Syst Bacteriol* 1984, 34: 496-7.
6. CDC. Lyme disease – United States, 1996. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1997, 46: 531-3.
7. CDC. Lyme disease – United States, 2000. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2002, 51: 29-31.
8. Berglund J, Eitrem R, Ornstein K, et al. An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. *N Engl J Med* 1995, 333: 1319-24.
9. Granstrom M. Tick-borne zoonoses in Europe. *Clin Microbiol Infect* 1997, 3: 156-69.
10. Schwan TG, Piesman J. Vector interactions and molecular adaptations of Lyme disease and Relapsing Fever spirochetes associated with transmission by ticks. *Emerg Infect Dis* 2002, 8: 115-21.
11. Steere AC. Lyme disease. *N Engl J Med* 1989, 321: 586-96.
12. Wang G, van Dam AP, Schwartz I, Dankert J. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 1999, 12: 633-53.
13. Hauser U, Krahl H, Peters H, Fingerle V, Wilske B. Impact of strain heterogeneity on Lyme disease serology in Europe: comparison of enzyme-linked immunosorbent assays using different species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *J Clin Microbiol* 1998, 36: 427-36.
14. Wang G, van Dam AP, Le Fleche A, et al. Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia valaisiana* sp. nov. (*Borrelia* genomic groups VS116 and M19). *Int J Syst Bacteriol* 1997, 47: 926-32.
15. Des Vignes F, Piesman J, Heffernan R, Schulze TL, Stafford III KC, Fish D. Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and Ehrlichia phagocytophila by *Ixodes scapularis* nymphs. *J Infect Dis* 2001, 183: 773-8.
16. CDC. Current trends update: Lyme disease and cases occurring during pregnancy – United States. 1985, 34: 383-4.
17. Thompson C, Spielman A, Krause PJ. Coinfecting deer-associated zoonoses: Lyme disease, Babesiosis and Ehrlichiosis. *Clin Infect Dis* 2001, 33: 676-85.
18. Exner MM, Wu X, Blanco DR, Miller JN, Lovett MA. Protection elicited by native outer membrane protein Oms66 (p66) against host-adapted *Borrelia burgdorferi*: Conformational nature of bactericidal epitopes. *Infect Immun* 2000, 68: 2647-54.
19. Hanson MS, Gassatt DR, Guo BP, et al. Active and passive immunity against *Borrelia burgdorferi* decorin binding protein A (DbpA) protects against infection. *Infect Immun* 1998, 66: 2143-53.
20. Anguita J, Samanta S, Revilla B, et al. *Borrelia burgdorferi* gene expression in vivo and spirochete pathogenicity. *Infect Immun* 2000, 68: 1222-30.
21. Baranton G, Seinost G, Theodore G, Postic D, Dykhuizen D. Distinct levels of genetic diversity of *Borrelia burgdorferi* are associated with different aspects of pathogenicity. *Res Microbiol* 2001, 152: 149-56.
22. Ganapamo F, Dennis VA, Philipp MT. *Borrelia burgdorferi* stimulates in vitro a selective expansion of CD3-CD4-CD8- (triple negative) autoreactive cells in naïve Rhesus Monkey lymphocytes. *J Infect Dis* 2001, 183:

- 1221-8.
23. CDC. Case definitions for infectious conditions under public health surveillance. *Morb Mortal Weekly Rep* 1997, 46 (RR-10): 20-1.
 24. *Barbour AG*. Laboratory aspects of Lyme Borreliosis. *Clin Microbiol Rev* 1988, 1: 399-414.
 25. *Gerber MA, Zemel LS, Shapiro ED*. Lyme arthritis in children: clinical epidemiology and long-term outcomes. *Pediatrics* 1998, 102: 905-8.
 26. *Kalish RA, Leong JM, Steere AC*. Early and late antibody responses to full-length and truncated constructs of outer surface protein A of *Borrelia burgdorferi* in Lyme disease. *Infect Immun* 1995, 63: 2228-35.
 27. *Lunemann JD, Zarmas S, Priem S, et al*. Rapid typing of *Borrelia burgdorferi sensu lato* species in specimens from patients with different manifestations of Lyme borreliosis. *J Clin Microbiol* 2001, 39: 1130-3.
 28. *Brunner M, Sigal LH*. Use of serum immune complexes in a new test that accurately confirms early Lyme disease and active infection with *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol* 2001, 39: 3213-21.
 29. *Kalish RA, McHugh G, Granquist J, Shea B, Ruthazer R, Steere AC*. Persistence of immunoglobulin M or immunoglobulin G antibody responses to *Borrelia burgdorferi* 10-20 years after active Lyme disease. *Clin Infect Dis* 2001, 33: 780-5.
 30. *Akin E, McHugh GL, Flavell RA, Fikrig E, Steere AC*. The immunoglobulin (IgG) antibody response to OspA and OspB correlates with severe and prolonged Lyme arthritis and the IgG response to P35 correlates with mild and brief arthritis. *Infect Immun* 1999, 67: 173-81.
 31. *Karlsson M, Hovind-Hougen K, Svenungsson B, Stiernstedt G*. Cultivation and characterization of spirochetes from cerebrospinal fluid of patients with Lyme disease. *J Clin Microbiol* 1990, 28: 473-9.
 32. *Phillips SE, Mattman LH, Hulinska D, Moayad H*. A proposal for the reliable culture of *Borrelia burgdorferi* from patients with chronic Lyme disease, even from those previously aggressively treated. *Infection* 1998, 26: 18-21.
 33. *Marques AR, Stock F, Gill V*. Evaluation of a new culture medium for *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol* 2000, 38: 4239-41.
 34. *Stiernstedt GT, Granstrom M, Hederstedt B, Skoldenberg B*. Diagnosis of spirochetal meningitis by enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence assay in serum and cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 1985, 21: 819-25.
 35. *Zbinden R, Goldenberger D, Martenetti Lucchini G, Altwegg M*. Comparison of two methods for detecting intrathecal synthesis of *Borrelia burgdorferi*-specific antibodies and PCR for diagnosis of Lyme Neuroborreliosis. *J Clin Microbiol* 1994, 32: 1795-8.
 36. *Bakken LL, Callister SM, Wand PJ, Schell RF*. Interlaboratory comparison of test results for detection of Lyme disease by 516 participants in the Wisconsin State Laboratory of Hygiene/College of American Pathologists proficiency testing program. *J Clin Microbiol* 1997, 35: 537-43.
 37. *Ting Liang F, Steere AC, Marques AR, Johnson BJB, Miller JN, Philipp MT*. Sensitive and specific serodiagnosis of Lyme disease by enzyme-linked immunosorbent assay with a peptide based on an immunodominant conserved region of *Borrelia burgdorferi* VisE. *J Clin Microbiol* 1999, 37: 3990-6.
 38. *Magnarelli LA, Ijdo JW, Padula SJ, Flavell RA, Fikrig E*. Serologic diagnosis of Lyme Borreliosis by using enzyme-linked immunosorbent assays with recombinant antigens. *J Clin Microbiol* 2000, 38: 1735-9.
 39. *Luyasu V, Mullier S, Bauraind O, Dupuis M*. A usual case of anti-*Borrelia burgdorferi* immunoglobulin G seroconversion caused by administration of intravenous gammaglobulins. *Clin Microbiol Infect* 2001, 7: 697-9.
 40. *Craven RB, Quan TJ, Bailey RE, et al*. Improved serodiagnostic testing for Lyme disease: results of a multi-center serologic evaluation. *Emerg Infect Dis* 1996, 2: 136-40.
 41. *Rauer S, Beitlich P, Neubert U, Rasiah C, Kaiser R*. Avidity determination of *Borrelia burgdorferi*-specific IgG antibodies in Lyme disease. *Scand J Infect Dis* 2001, 33: 809-11.
 42. CDC. Notice to readers recommendations for test performance and interpretation from the Second National Conference on Serologic Diagnosis of Lyme Disease. *Morbidity and Mortality Weekly Rep* 1995, 44: 590-1.
 43. *Hilton E, Devoti J, Sood S*. Recommendation to include OspA and OspB in the new immunoblotting criteria for serodiagnosis of Lyme disease. *J Clin Microbiol* 1996, 34: 1353-4.
 44. *Ponwancher R*. A reanalysis of IgM Western Blot criteria for the diagnosis of Early Lyme disease. *J Infect Dis* 1999, 179: 1021-4.
 45. *Gilmore RD, Murphree RL, James AM, Sullivan SA, Johnson BJB*. The *Borrelia burgdorferi* 37-kilodalton immunoblot band (P37) used in serodiagnosis of early Lyme disease is the flaA gene product. *J Clin Microbiol* 1999, 37: 548-52.
 46. *Robertson J, Guy E, Andrews N, et al*. A European multi-center study of immunoblotting in serodiagnosis of Lyme Borreliosis. *J Clin Microbiol* 2000, 38: 2097-102.
 47. *Hauser U, Lehnert G, Wilske B*. Validity of interpretation criteria for standardized Western Blots (Immunoblots) for serodiagnosis of Lyme Borreliosis based on sera collected throughout Europe. *J Clin Microbiol* 1999, 37: 2241-7.
 48. *Schmidt BL*. PCR in laboratory diagnosis of human *Borrelia burgdorferi* infections. *Clin Microbiol Rev* 1997, 10: 185-201.
 49. *Nowakowski J, Schwartz I, Liveris D, et al*. Laboratory diagnostic techniques for patients with early Lyme disease associated with erythema migrans: a comparison of different techniques. *Clin Infect Dis* 2001, 33: 2023-7.
 50. *Molloy PJ, Persing DH, Berardi VP*. False-positive results of PCR testing for Lyme disease. *Clin Infect Dis* 2001, 33: 412-3.
 51. *Murray T, Feder HM*. Management of tick bites and early Lyme disease: A survey of Connecticut physicians. *Pediatrics* 2001, 108: 1367-70.

52. Luft BJ, Dunn JJ, Lawson CL. Approaches toward the directed design of a vaccine against *Borrelia burgdorferi*. *J Infect Dis* 2002, 185(suppl 1): 46-51.
53. Sticht-Groh V, Chatzipanagiotou S, Raptou V. Antibody determinations against the causative agent of Lyme disease (*Borrelia burgdorferi*) in randomly collected sera in Athens, Greece. *Δελτ Ελλην Μικροβιολ Εταιρ* 1987, 32: 234-46.
54. Chatzipanagiotou S, Papandreou-Rakitzis P, Palamou-Ladas H, Antoniou P. Determination of antibody titres for *Borrelia burgdorferi* in the serum of Gypsies living in Attika, Greece. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992, 11: 477-8.
55. Stamouli M, Totos G, Braun H-B, Michel G, Gizaris V. Very low seroprevalence of Lyme borreliosis in young Greek males. *Eur J Epidemiol* 2000, 16: 495-6.
56. Χατζηπαναγιώτου Σ, Ταβερναράκης Α, Μπαλάκας Ν, Μαλάμου-Λαδά Ε. Νευρολογική περίπτωση νόσου Lyme στην περιοχή Αθηνών. *Εφαρμ Κλιν Μικροβιολ Εργαστ Διαγν* 1991, 6: 38-40.
57. Σέττας Α, Δίζα Ε, Κυριαζοπούλου Β, et al. Ανεύρεση αντισωμάτων έναντι Μπορρέλιας burdorferi σε ασθενείς με αρθρίτιδα στην περιοχή της Μακεδονίας και Θράκης. *Ελλην Ρευματολογία* 1996, 7: 11-20.

Αλληλογραφία:

Α. Κανσουζίδου-Κανακούδη
Κορυτσάς 14
551 33 Θεσσαλονίκη

Corresponding author:

Α. Kansouzidou-Kanakoudi
14, Koritsas Str.
551 33 Thessaloniki
Greece

Οίδημα ανθεκτικό στη διουρητική αγωγή: Αιτίες και αντιμετώπιση

Κώστας Μαυροματίδης

Νεφρολογικό Τμήμα, Νοσοκομείο Κομοτηνής

Περίληψη. Ο οίδηματικός ασθενής αποτελεί καθημερινό πρόβλημα στην κλινική πράξη, διότι η ανάγκη αφαίρεσης υγρών είναι πολλές φορές επείγουσα και επιτακτική. Πόσο εύκολο είναι όμως να αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά τέτοιες περιπτώσεις; Η απάντηση είναι ότι, αν και είναι δύσκολο να επιτευχθεί ένα ικανοποιητικό διουρητικό αποτέλεσμα, τελικά αυτό επιτυγχάνεται τις περισσότερες φορές. Πρέπει να επισημανθεί, ότι κάθε περίπτωση οίδηματικού ασθενή είναι ιδιαίτερη και χρειάζεται εξειδικευμένη εκτίμηση και αντιμετώπιση. Γενικά όμως είναι απαραίτητο να αποκαλύπτονται οι μηχανισμοί που ευθύνονται για την αυξημένη κατακράτηση υγρών και τη μειονεκτική απάντηση του νεφρού στα διουρητικά και κατόπιν η εφαρμογή ως αντίδοτου των μέσων που τους

εξουδετερώνουν, αποτελεί τις περισσότερες φορές τη λύση. Τέλος, επειδή πολλές φορές η προσπάθεια για επίτευξη διούρησης είναι έντονη, οι ενέργειές μας μπορεί να οδηγήσουν τον ασθενή στην αντίθετη πλευρά (έντονη αφυδάτωση, επιβάρυνση νεφρικής λειτουργίας κ.ά.). Για το λόγο αυτό είναι σκόπιμο να ελέγχεται συχνά, έτσι ώστε να προλαμβάνονται τέτοιες καταστάσεις. Η καλή γνώση της φυσιολογίας και των μηχανισμών που ευθύνονται για τη δημιουργία του οιδήματος, η καλή γνώση των μηχανισμών δράσης των διουρητικών και αυτών που εξουδετερώνουν την αποτελεσματικότητά τους, αποτελεί το κλειδί λύσης του προβλήματος που ονομάζεται "οίδημα ανθεκτικό στα διουρητικά".

Ελλην Ιατρ 2004, 70: 30 - 35.

Η θεραπεία του οίδηματικού ασθενή αρχίζει με διουρητικά της αγκύλης, τα οποία είναι ισχυρά και αποδίδουν τα μέγιστα στις καταστάσεις αυτές. Επιπλέον, οι νεφροί όπως διαπιστώθηκε πειραματικά, προσαρμόζουν τη λειτουργία τους σε περιπτώσεις χρόνιας λήψης διουρητικών. Έτσι τα τμήματα των σωληναρίων που βρίσκονται μετά το σημείο δράσης του διουρητικού που προκαλεί αύξηση της αποβολής του NaCl, αυξάνουν την επαναρρόφιση του NaCl, επειδή αυξάνεται το φορτίο που φθάνει στα σημεία αυτά. Δεύτερον, όταν η συγγένωση του διουρητικού στα σωληνάκια μειώνεται, αυτά αυξάνουν την επαναρρόφιση του NaCl, μέχρι να δοθεί η επόμενη δόση του. Τρίτον, η ικανότητα του διουρητικού να αυξήσει την αποβολή του NaCl μειώνεται με την πρόοδο του χρόνου, γεγονός που

οφείλεται τόσο στην μείωση του όγκου υγρών του εξωκυττάρου χώρου, όσο και σε μεταβολές της δομής και λειτουργίας των σωληναρίων. Όλες οι παραπάνω αλλαγές αυξάνουν το ρυθμό της επαναρρόφησης του NaCl και με τον τρόπο αυτό αμβλύνουν την αποτελεσματικότητα των διουρητικών¹. Τέλος, όσον αφορά στους κίρρωτικούς ασθενείς είναι γνωστό, ότι το 10% που έχει πραγματική αντίσταση στη δράση των διουρητικών, έχει έντονη ενεργοποίηση των νευροχυμικών μηχανισμών, οι οποίοι προκαλούν στους νεφρούς αγγειοσύσπαση και αυξημένη επαναρρόφιση νατρίου στα εγγύς (επίδραση αγγειοτασίνης II και νορεπινεφρίνης) και στα αθροιστικά σωληνάκια (επίδραση αλδοστερόνης). Μερικοί ασθενείς με προχωρημένη καρδιακή ανεπάρκεια μπορεί να εμφανίζουν αντι-

σταση στη δράση των διουρητικών, ακόμη και σε μεγάλες δόσεις, παρά την ύπαρξη φυσιολογικής νεφρικής λειτουργίας. Σημαντική αιτία για την αντίσταση αυτή, κυρίως στα διουρητικά της αγκύλης, είναι η αποκαλούμενη “rebound επίδραση” μετά από μία δόση διουρητικού, η οποία χαρακτηρίζεται από δυσανάλογη αύξηση της επαναρρόφησης του νατρίου από τους νεφρούς μετά τη δράση του φαρμάκου (αντιμετωπίζεται με συχνότερη χορήγηση του διουρητικού της αγκύλης).

Για να χαρακτηριστεί όμως ένα οίδημα ανθεκτικό στα διουρητικά, είναι απαραίτητο να ελεγχθεί κατά πόσο ακολουθεί ο ασθενής τη δίαιτα περιορισμένης περιεκτικότητας σε αλάτι (προσδιορισμός νατρίου ούρων 24/ωρου). Στους κίρρωτικούς βέβαια ασθενείς το ανθεκτικό οίδημα και ο ασκίτης δεν απαντούν στη δίαιτα με περιορισμένο νάτριο και σε υψηλές δόσεις διουρητικών (400 mg σπειρονολακτόνης και 160 mg φουροσεμίδης), όταν βέβαια ο ασθενής δε λαμβάνει μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα. Η κατάσταση αυτή χαρακτηρίζεται από την ανάγκη όλο και μεγαλύτερης δόσεως διουρητικών, τα οποία όμως βοηθούν για λίγο και στη συνέχεια η απάντηση σ’ αυτά εξασθενίζει με την πρόοδο του χρόνου. Όταν τέλος κάποιος κίρρωτικός ασθενής χαρακτηριστεί ανθεκτικός στη δράση των διουρητικών, η κατάστασή του πρέπει να θεωρείται μη αναστρέψιμη, εκτός κι αν η βλάβη του ήπατος που ευθύνονταν για την μεταβολή αυτή ήταν αναστρέψιμη (λ.χ. αλκοολική κίρρωση).

ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΥ ΟΙΔΗΜΑΤΟΣ ΣΤΑ ΔΙΟΥΡΗΤΙΚΑ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Οι συχνότερες αιτίες αντίστασης στα διουρητικά είναι η μη ικανοποιητική αντιμετώπιση της πρωτοπαθούς νόσου, η υψηλή περιεκτικότητα της διαίτας σε αλάτι, η μη συμμόρφωση του ασθενούς με τις οδηγίες του γιατρού και η μειωμένη απορρόφηση των διουρητικών φαρμάκων από το έντερο. Άλλες λιγότερο συχνές αιτίες περιλαμβάνουν την υποογκαιμία, κατά την οποία μειώνεται η διήθηση των διουρητικών και άρα και η πρόσβασή τους στον αυλό των σωληναρίων (όπου και δρουν) και την αύξηση της εγγύς σωληναριακής επαναρρόφησης των υγρών, εξ αιτίας της οποίας περιορίζεται η ποσότητα νατρίου και ύδατος που φθάνει στα άπω σωληνάκια (όπου δρουν και τα περισσότερα διουρητικά), ενώ παράλληλα η υποογκαιμία διεγείρει την έκκριση αλδοστερόνης (αυξάνει την επαναρρόφηση του νατρίου στα άπω σωληνάκια).

Τέλος, ακόμη λιγότερο συχνές αιτίες αντίστασης στη δράση των διουρητικών είναι η ταυτόχρονη λήψη μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (μειώνουν τη νεφρική ροή αίματος), κορτικοειδών (κατακρατούν νάτριο) κ.ά.

Αυξημένη πρόσληψη νατρίου

Ο ασθενής που λαμβάνει διουρητικά και ταυτόχρονα προσλαμβάνει αυξημένες ποσότητες νατρίου δια της τροφής, εμποδίζει την απώλεια ύδατος, ακόμη και όταν επιτυγχάνεται έντονη διούρηση². Ο περιορισμός του αλάτος είναι πολύ σημαντικό μέσο για την αντιμετώπιση της καρδιακής ανεπάρκειας, διότι οι αντιρροπιστικοί μηχανισμοί της κατάστασης αυτής αυξάνουν την κατακράτηση νατρίου και ύδατος στους νεφρούς, με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο όγκος των υγρών της κυκλοφορίας. Γι’ αυτό η διαιτητική πρόσληψη νατρίου πρέπει να περιορίζεται γύρω στα δύο γραμμάρια/ημέρα, κάτι που για τους περισσότερους ασθενείς είναι σχεδόν ανέφικτο, ενώ τα τρία γραμμάρια νατρίου την ημέρα πρέπει να είναι η μέγιστη ποσότητα που επιτρέπεται να καταναλώνει ένας ασθενής με καρδιακή ανεπάρκεια. Φυσικά απαγορεύεται η προσθήκη αλατιού στο φαγητό μετά την παρασκευή του³.

Τονίζεται, ότι δεν πρέπει να χαρακτηρίζονται ως ανθεκτικοί στα διουρητικά οι ασθενείς αν πρώτα δεν αποκλειστεί η αυξημένη εξωγενής πρόσληψη του νατρίου. Αυτό επιβεβαιώνεται εύκολα με προσδιορισμό του νατρίου των ούρων 24ώρου (επίπεδα >100 mEq/ημέρα επιβάλλουν τη σύσταση για αυστηρότερο περιορισμό του). Η κατάσταση αυτή διαπιστώνεται συνήθως μετά την έξοδο του ασθενούς από το νοσοκομείο, οπότε μπορεί και ξεφεύγει από τον αυστηρό διαιτητικό περιορισμό, όσον αφορά στο αλάτι. Έτσι, το ικανοποιητικό ισοζύγιο νατρίου και ύδατος που επιτεύχθηκε ενδο νοσοκομειακά παύει πλέον να υφίσταται, οπότε ο ασθενής μπορεί να εμφανίσει οίδημα, χωρίς μάλιστα να έχει μεταβληθεί η κατάσταση της πρωτοπαθούς νόσου.

Μειωμένη απορρόφηση φουροσεμίδης από το έντερο

Τα διουρητικά της αγκύλης είναι τα ισχυρότερα, αφού μπορούν και αποβάλλουν το 20% του διηθούμενου νατρίου. Δρουν μέσα σε 20-40 λεπτά, όταν δίδονται από το στόμα και μέσα σε 5 λεπτά όταν χορηγούνται ενδοφλεβίως, ο δε χρόνος ημίσειας ζωής τους είναι 1 και 1/2 ώρες.

Αν και μερικοί ασθενείς δεν απαντούν ικανοποιητικά σε μεγάλες δόσεις φουροσεμίδης από το στόμα (λ.χ. 240 mg), απαντούν ικανοποιητικά όταν λαμβάνουν 40 mg ενδοφλεβίως. Το πρόβλημα αυτό διαπιστώθηκε σε προχωρημένη καρδιακή ανεπάρκεια⁴ ή σε κίρρωση του ήπατος, λόγω ελάττωσης της απορρόφησης του φαρμάκου από το έντερο. Η ελάττωση αυτή μπορεί να οφείλεται σε οίδημα του βλεννογόνου του εντέρου, σε μείωση της αιμάτωσής του ή και της κινητικότητάς του (λόγω περιορισμού της άρδευσης εξ αιτίας της μειωμένης καρδιακής παροχής). Έτσι, η ενδοφλέβια χορήγηση του διουρητικού (παράκαμψη προβλήματος οιδήματος και κινητικότητας) και η βελτίωση της καρδιακής παροχής (αύξηση αιμάτωσης εντέρου)⁴, αποκαθιστούν τουλάχιστον μερικά τα παραπάνω προβλήματα και επιφέρουν το αναμενόμενο θεραπευτικό αποτέλεσμα⁴. Ακόμη, διαπιστώθηκε ότι η στάγδην ενδοφλέβια έγχυση της φουροσεμίδης είναι αποτελεσματικότερη από την ταχεία έγχυση (bolus) σε ασθενείς μη αντιρροπούμενη καρδιακή ανεπάρκεια και ανθεκτικό οίδημα στη διουρητική αγωγή⁵.

Μειωμένη είσοδος διουρητικού στον αυλό των σωληναρίων

Τα διουρητικά της αγκύλης συνδέονται σε μεγάλο ποσοστό με τη λευκωματίνη ορού και για το λόγο αυτό για να φθάσουν στον αυλό των σωληναρίων και να δράσουν, είναι απαραίτητο να εκκριθούν και όχι απλά να διηθηθούν διαμέσου του σπειράματος¹. Ενώ λοιπόν σε φυσιολογικά άτομα το μέγιστο διουρητικό αποτέλεσμα επιτυγχάνεται με 40 mg φουροσεμίδης, σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια, νεφρωσικό σύνδρομο ή κίρρωση ήπατος χρειάζονται μεγαλύτερες δόσεις. Η μειωμένη είσοδος του διουρητικού στον αυλό των σωληναρίων (όπου ασκεί τη δράση του) μπορεί να περιορίσει την απάντηση των ασθενών με ηπατική ανεπάρκεια, υπολευκωματιναιμία ή προχωρημένη καρδιακή ανεπάρκεια.

Ηπατική ανεπάρκεια : Μερικοί ασθενείς με ηπατική ανεπάρκεια ανθίστανται ακόμη και σε υψηλές δόσεις φουροσεμίδης (160-240 mg/ημέρα)⁶, ενώ αντίθετα απαντούν εύκολα στη σπειρονολακτόνη. Η εξήγηση του φαινομένου βρίσκεται στο γεγονός ότι έχουν έντονο υπεραλδοστερονισμό, με αποτέλεσμα το νάτριο που δεν επαναρροφήθηκε στο ανιόν σκέλος της αγκύλης του Henle (από τη δράση της φουροσεμίδης) να φθάνει στα άπω και

αθροιστικά σωληνάκια, όπου η αλδοστερόνη το επαναρροφά άπληστα εξουδετερώνοντας κατά τον τρόπο αυτό τη δράση της πρώτης. Βέβαια σε κίρρωτικούς ασθενείς περιορίζεται και η είσοδος της φουροσεμίδης στον αυλό των σωληναρίων, εξ αιτίας ανταγωνισμού που υπάρχει μεταξύ του φαρμάκου και των χολικών αλάτων, τα οποία συσσωρεύονται στο αίμα (και τα δύο για να αποβληθούν χρησιμοποιούν την οδό των οργανικών οξέων). Αντίθετα, η σπειρονολακτόνη είναι το μόνο διουρητικό που ασκεί τη δράση της, χωρίς να είναι απαραίτητη η είσοδός της στο σωληναριακό αυλό (εισέρχεται από τη βασική επιφάνεια των σωληναριακών κυττάρων στο κυτταρόπλασμα τους, όπου και αναστέλλει τη δράση της αλδοστερόνης). Επιπλέον στην κίρρωση του ήπατος εξ αιτίας σύσπασης των νεφρικών αγγείων (που υπάρχει λόγω διαστολής των σπλαχνικών αγγείων), είναι μειωμένη η ποσότητα του διουρητικού που φθάνει στο σωληναριακό αυλό.

Νεφρωσικό σύνδρομο με υπολευκωματιναιμία: Η έντονη υπολευκωματιναιμία (λευκωματίνη ορού <2 mg/dl), που μπορεί να χαρακτηρίζει το νεφρωσικό σύνδρομο, σχετίζεται με μειωμένη δυνατότητα εισόδου των διουρητικών στο σωληναριακό αυλό. Η εξήγηση του φαινομένου αυτού βρίσκεται στο ότι φυσιολογικά το πρωτεϊνοσύνδετο φάρμακο, έχει όγκο κατανομής αυτόν του ενδαγγειακού χώρου, γεγονός που περιορίζει τη δυνατότητα εισόδου του στα κύτταρα ή το διάμεσο χώρο, οπότε κατά τον τρόπο αυτό αυξάνει το ρυθμό απελευθέρωσής του στα νεφρικά σωληνάκια⁷. Όταν όμως μειώνεται η δέσμευση του διουρητικού της αγκύλης με τα λευκώματα, όπως σε περιπτώσεις ασθενών με υπολευκωματιναιμία, αυξάνεται η είσοδος του στο διάμεσο χώρο και υπάρχει μικρότερος ρυθμός εισόδου στο σωληναριακό αυλό.

Η περιορισμένη αποτελεσματικότητα του διουρητικού αντιμετωπίζεται με αύξηση της δόσης του (οπότε αυξάνεται η έκκριση του φαρμάκου στον αυλό του σωληναρίου). Ακόμη, σε τέτοιες περιπτώσεις η αντίσταση στο διουρητικό αποκαθίσταται και με χορήγηση λευκωματίνης μαζί με φουροσεμίδη (40 mg φουροσεμίδης μαζί με 6,5 g λευκωματίνη)⁸. Όμως στο νεφρωσικό σύνδρομο, που συνοδεύεται από λευκωματουρία, το διουρητικό που εκκρίνεται μέσα στον αυλό των σωληναρίων μάλλον συνδέεται με τη λευκωματίνη που βρίσκεται εκεί, οπότε με τον τρόπο αυτό παρεμποδίζεται η δράση του (μείωση της απάντησης στη λευκωματίνη κατά 50%), κάτι που ξεπερνιέται επίσης με αύξηση της δόσεως του διουρητικού, αν και

ο μηχανισμός αυτός αντίστασης σήμερα δε θεωρείται πολύ πιθανός.

Καρδιακή ανεπάρκεια: Στη βαριά καρδιακή ανεπάρκεια λόγω χαμηλού κλάσματος εξωθήσεως είναι μειωμένη η ποσότητα του διουρητικού που φθάνει τελικά στο σωληναριακό αυλό για να δράσει. Η μέγιστη αποτελεσματική ημερήσια ενδοφλέβια δόση της φουροσεμίδης στην καρδιακή ανεπάρκεια είναι 80-120 mg⁶.

Αυξημένη επαναρρόφηση νατρίου

Η επίδραση ενός διουρητικού αμβλύνεται από την αυξημένη επαναρρόφηση του νατρίου σε απώτερα σημεία των σωληναρίων από το σημείο δράσης του. Έτσι ορισμένοι ασθενείς παρουσιάζουν μερική ή σχετικά πλήρη αντίσταση στη δράση των διουρητικών. Είναι ενδεικτικό ότι στο εγγύς σωληνάριο αυξάνει η επαναρρόφηση του νατρίου εξ αιτίας αυξημένης απελευθέρωσης αγγειοτασίνης II και νορεπινεφρίνης, στο άπω σωληνάριο λόγω υπερτροφίας του, που οφείλεται στην έντονη ροή του διηθήματος, εξ αιτίας της χρόνιας λήψεως διουρητικού της αγκύλης (αυξημένη απελευθέρωση νατρίου στα άπω σωληνάκια) και στα αθροιστικά σωληνάκια εξ αιτίας αυξημένης έκκρισης αλδοστερόνης.

Σε ασθενείς που παρουσιάζουν αντίσταση στη δράση των διουρητικών της αγκύλης, συχνά αντιμετωπίζεται το πρόβλημα με αύξηση του αριθμού των δόσεων (2-3 φορές/ημέρα), με ταυτόχρονη χορήγηση θειαζίδης ή καλιοσυντηρητικών διουρητικών (αναστολή επαναρρόφησης νατρίου σε περισσότερα και απώτερα σημεία των σωληναρίων από την αγκύλη όπου δρα η φουροσεμίδα)^{7,9}. Όταν τα φάρμακα αυτά δίδονται από την ίδια οδό χορηγούνται ταυτόχρονα, ενώ όταν δίδονται από διαφορετική, τότε τα από του στόματος πρέπει να λαμβάνονται 30-60 λεπτά νωρίτερα από αυτά που χορηγούνται ενδοφλέβια. Σε τέτοιες περιπτώσεις έχει ιδιαίτερη σημασία ο προσεκτικός έλεγχος του ασθενή, μήπως και επιτευχθεί εντονότερη διούρηση από την επιθυμητή, με ταυτόχρονα μεγάλη απώλεια καλίου (θειαζίδη + φουροσεμίδα)¹⁰. Ωστόσο, πρέπει να τονιστεί ότι η αντίσταση στη δράση της φουροσεμίδης δεν αντιμετωπίζεται με τη χορήγηση ενός άλλου διουρητικού της ίδιας ομάδας (μπουμετανίδη, τορσεμίδα κ.ά.)⁸.

Μεγάλη επίσης σημασία έχει η χορήγηση της κατάλληλης δόσης φουροσεμίδης (είναι προτιμότερη η μεγαλύτερη δόση ανά χορήγηση από τη χορήγηση της ίδιας δόσης περισσότερες φορές)^{6,8}, η

οδός χορήγησής της (προτιμότερη η ενδοφλέβια συνεχής στάγδην έγχυση από την ταχεία έγχυση [20 mg/h και αν δεν υπάρξει αποτέλεσμα συστήνεται διπλασιασμός της])^{4,5,11}, τόσο επειδή είναι αποτελεσματικότερη, όσο και επειδή είναι ασφαλέστερη (αποφεύγεται ο κίνδυνος της ωτοτοξικότητας).

Τέλος αφού στην κατάσταση αυτή η αύξηση της εγγύς σωληναριακής επαναρρόφησης του νατρίου ευθύνεται για το ανθεκτικό οίδημα, είναι λογική η χρήση αναστολέων της καρβονικής ανυδράσης μαζί με τα διουρητικά της αγκύλης¹².

Μειωμένη προσφορά νατρίου στην αγκύλη του Henle

Σε μερικούς ασθενείς με σημαντικού βαθμού καρδιακή ανεπάρκεια ή με κίρρωση του ήπατος, η μείωση του ρυθμού της σπειραματικής διήθησης μαζί με την αυξημένη εγγύς επαναρρόφηση του νατρίου (που γίνεται μερικά από τη δράση της αγγειοτασίνης II), συμβάλλουν ώστε να υπάρχει πολύ μικρή προσφορά νατρίου και ύδατος στα απώτερα τμήματα των σωληναρίων, όπου δρουν κυρίως τα διουρητικά (θειαζίδες και φουροσεμίδα)¹². Ακόμη οι παραπάνω ασθενείς τείνουν να έχουν μειωμένο δραστικό όγκο κυκλοφορίας (ΔΟΚ) και αγγειοσύσπαση στα ενδονεφρικά αγγεία, γεγονός που οφείλονται εν μέρει στη δράση της αγγειοτασίνης II και της νορεπινεφρίνης (τα φαινόμενα αυτά επιτείνονται στην όρθια θέση του ασθενή).

Έτσι, η αύξηση της δραστηριότητας ασθενών με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια μπορεί να συμβάλλει στην μείωση της διούρησης, αφού στις περιπτώσεις αυτές ενώ η καρδιά αντιρροπεί ικανοποιητικά τις ανάγκες τους κατά την κατάκλιση και στις συνθήκες του νοσοκομείου, δεν μπορεί να αντεπεξέλθει σε αυξημένη δραστηριότητα, διότι τότε τα παραπάνω φαινόμενα επιτείνονται. Στην όρθια λοιπόν θέση οι ασθενείς αυτοί αδυνατούν να αυξήσουν την καρδιακή παροχή, οπότε η αιμάτωση των νεφρών και η προσφορά διουρητικού σ' αυτούς είναι μειωμένα, με αποτέλεσμα να περιορίζεται και το διουρητικό αποτέλεσμα. Η ύπτια θέση τελικά μπορεί να αυξήσει την κάθαρση της κρεατινίνης κατά 40% και να διπλασιάσει το διουρητικό αποτέλεσμα της φουροσεμίδης.

Άλλα μέσα αντιμετώπισης του ανθεκτικού οιδήματος στα διουρητικά

Σε ασθενείς που δεν απαντούν σε όλα τα παραπάνω μέσα και μέτρα, μπορεί να εφαρμοστεί η συνε-

χής αιμοδιήθηση (αρτηριοφλεβική-[ΣΑΦΑ] ή φλεβοφλεβική -[ΣΦΦΑ])^{13,14}, μέθοδος αποτελεσματική, η οποία όμως απαιτεί αγγειακή προσπέλαση, γνώση της από μέρους των ιατρών και ανάλογο εξοπλισμό (για τη ΣΦΦΑ)¹⁵. Κατά τους Blake & Paganini στη συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, η αφαίρεση υγρών με υπερδιήθηση (αιμοδιήθηση) μπορεί να διακόψει το φαύλο κύκλο που υπάρχει στην κατάσταση αυτή και ευθύνεται για την κατακράτηση υγρών (διακοπή λειτουργίας νευροχυμικών αιμοδυναμικών μηχανισμών)¹⁶. Η αιμοδιήθηση σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια σταδίου III έως IV που αποβάλλουν λιγότερο από 1000 ml ούρων/ημέρα είναι ασφαλής και αποτελεσματική. Η διαδικασία αυτή ανακουφίζει από το πνευμονικό οίδημα, μειώνει τον ασκίτη και το περιφερικό οίδημα, αυξάνει την αποτελεσματικότητα των διουρητικών, και παράλληλα μειώνει τη συχνότητα νοσηλειών στο νοσοκομείο¹⁶. Άλλοι συστήνουν και τη συνεχή φορητή περιτοναϊκή κάθαρση (ΣΦΠΚ), της οποίας τα αποτελέσματα είναι μάλλον καλύτερα σε συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, γεγονός με το οποίο συμφωνούμε κι εμείς με παρατηρήσεις σε 7 ασθενείς στους οποίους την εφαρμόσαμε.

Ακόμη, στο οίδημα ασθενών με νεφρωσικό σύνδρομο, που είναι ανθεκτικό στα διουρητικά και οι οποίοι ήταν σε πρόγραμμα αιμοκάθαρσης ή και σ' αυτούς χωρίς τελικό στάδιο νεφρικής ανεπάρκειας μπορεί να επιτευχθεί έντονη διούρηση με τη χορήγηση λευκωματίνης (διάλυμα 100 ml 25%)¹⁷.

Τέλος, σε πολλές μελέτες φάνηκε ότι λιγότερο από το 10% των ασθενών με κίρρωση ήπατος και ασκίτη έχουν ανθιστάμενο στην οποιαδήποτε αγωγή οίδημα και ασκίτη. Σ' αυτούς η χρήση των διουρητικών δε βοηθά σε καμία περίπτωση και πρέπει να διακόπτονται, ενώ χρήσιμα μέτρα μπορεί να είναι: α) η κατ' επανάληψη εφαρμογή παρακεντήσεων της κοιλίας, β) η περιτοναιοφλεβική παράκαμψη (shunt), γ) η μεταμόσχευση ήπατος (είναι η καλύτερη αντιμετώπιση του κίρρωτικού με ανθιστάμενο στην αγωγή ασκίτη, δεν είναι όμως εφικτή για όλους όσους τη χρειάζονται) και η ηπατοσφαιτιδική παράκαμψη. Η παρακέντηση επιβάλλεται κάθε 15 ημέρες και να αφαιρούνται περίπου 6 λίτρα κάθε φορά, διότι το περιτοναϊκό υγρό περιέχει το ίδιο νάτριο που περιέχει και το πλάσμα και άρα τα 6 λίτρα που αφαιρούνται περιέχουν περίπου $6 \times 130 = 780$ mEq νατρίου. Ο ασθενής όμως καθημερινά επιτρέπεται να λαμβάνει 88 mEq νατρίου, οπότε αφού από αυτά τα 10 mEq τα χάνει με

εξωνεφρικές οδούς (δέρμα, κόπρανα), είναι προφανές ότι υπολείπονται τα 78 mEq για αποβολή. Αν υποθεθεί ότι χάνεται και μια ποσότητα νατρίου με τα ούρα, τότε αυτή μαζί με τα $130 \times 6 = 780$ mEq ανά 2 εβδομάδες που θα χαθούν με την παρακέντηση αρκούν για να καλυφθεί επαρκώς το ισοζύγιο νατρίου του ασθενούς. Παρά το γεγονός ότι με την παρακέντηση της κοιλίας του κίρρωτικού αφαιρείται και λευκωματίνη, σε μελέτες διαπιστώθηκε ότι δεν προσφέρει ιδιαίτερα η χορήγησή της κατά την αφαίρεση του ασκίτικου υγρού, στη μείωση της θνητότητας και θνησιμότητας των ασθενών αυτών, ωστόσο αυτή χρησιμοποιείται από όλους μετά την παρακέντηση.

Συνοψίζοντας λοιπόν, σε κίρρωτικούς ασθενείς με ανθεκτικό οίδημα συστήνονται κατ' επανάληψη παρακεντήσεις της κοιλίας (ανά δύο εβδομάδες αφαίρεση 6 λίτρων κάθε φορά χωρίς τη χορήγηση λευκωματίνης, ενώ σε αφαίρεση μεγαλύτερου όγκου χορηγείται ποσότητα <50 g λευκωματίνης (δύο και 1/2 fl διαλύματος λευκωματίνης 20%) ή 6-8 g λευκωματίνης ανά λίτρο υγρού που αφαιρέθηκε, αλλά εφαρμόζεται και ΣΑΦΑ ιδιαίτερα όταν ο κίρρωτικός έχει επιβάρυνση της νεφρικής του λειτουργίας¹⁴.

ΣΧΟΛΙΟ

Το πρόβλημα του οιδηματικού ασθενή που δεν ανταποκρίνεται στα διουρητικά είναι γνωστό και αρκετά συχνό. Για την αντιμετώπισή του χρειάζεται πρώτα απ' όλα αποκλεισμός των αναστρέψιμων αιτιών (λ.χ. αυξημένη εξωγενής πρόσληψη νατρίου, λήψη μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων κ.ά.). Στη συνέχεια αφού διαπιστωθεί ο μηχανισμός που ευθύνεται για τη κατακράτηση των υγρών και την μη ικανοποιητική διούρηση, επιχειρείται παράκαμψη του προβλήματος. Σπάνια αυτό είναι αξιόλογο, αφού η μεθοδικότητα και επιμονή μας μπορούν να δώσουν ικανοποιητικές λύσεις.

ABSTRACT

Mavromatidis K. Oedema refractory to the diuretic treatment. Causes and confrontation. Hell Iatr 2004, 70: 30-35.

Diuretic drugs are usually an effective treatment for oedema when used judiciously. However, some patients become resistant to their action. Adaptation to diuretic drugs and diuretic resistance may be caused by similar mechanisms. Diuretic adaptations can be classified as those occurring during

diuretic action, those causing sodium retention in the short term, as well as those increasing sodium retention chronically. The oedematous patient constitutes a routine problem in the clinical practice and the necessity for diuresis in these cases is usually urgent and imperative. However, the question is how easy and effectively is to treat patients in such cases? The answer is that in most of these cases it is difficult to have a satisfactory result. Here it should be emphasized that each case of oedematous patient is different, hence there is a need for different assessment and confrontation. Therefore, it is necessary to reveal the mechanisms that are responsible for the increased withhold of water and the unfavourable response of the kidney to the diuretics. Later the application of a treatment as an antidote will neutralize these mechanisms and will constitute, in most cases, the solution of the problem. Finally, there are many cases where the effort for achievement of diuresis is intense, and as a result, patients may have the opposite results (intense dehydration, acute renal failure ect.). Therefore, it is necessary for patients to be checked frequently, in order to prevent such cases. In conclusion, knowledge about the physiology, as well as the mechanisms that are responsible for the creation of oedema, the knowledge of the mechanisms of diuretic action and the ways of neutralizing their effectiveness, constitute the key for the solution of the problem that is called "refractory oedema to the diuretics".

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. *Ellison DH*. Diuretic resistance: physiology and therapeutics. *Semin Nephrol* 1999, 19: 581-97.
2. *Haller C, Salbach P, Katus H, Kubler W*. Refractory oedema in congestive heart failure: a contribution role of loop diuretics? *J Intern Med* 1995, 237: 211-4.
3. *Haller Ch*. Diuretic in congestive heart failure: new evidence for old problems. *Nephrol Dial Transplant* 1999, 14: 1358-60.
4. *Brater DC*. Resistance to diuretics: mechanisms and clinical implications. *Adv Nephrol* 1993, 22: 349-69.
5. *Pivac N, Rumboldt Z, Sardelic S, et al*. Diuretic effects of furosemide infusion versus bolus injection in congestive heart failure. *Int J Clin Pharmacol Res* 1998, 18:

121-8.

6. *Rose BD, Loh Evan*. Use of diuretics in congestive heart failure. *UpToDate Vol 9.1*, 2001.
7. *Sica DA, Cehr TW*. Diuretic combinations in refractory oedema stages: pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships. *Clin Pharmacokinet* 1996, 30: 229-49.
8. *Andreucci M, Russo D, Fuiano G, Minutolo R, Andreucci VE*. Diuretics in renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 1999, 25: 32-8.
9. *Oster JR, Epstein M, Smoller S*. Combination therapy with thiazide-type and loop diuretic agents for resistant sodium retention. *Ann Int Med* 1983, 99: 405-6.
10. *Taylor SH*. Diuretics in heart failure: some knowns and unknowns. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993, 22: S40-S50.
11. *Kramer BK, Schweda F, Rieger GA*. Diuretic treatment and diuretic resistance in heart failure. *Am J Med* 1999, 106: 90.
12. *Knauf H, Mutschler E*. Sequential nephron blockade breaks resistance to diuretics in edematous states. *J Cardiovasc Pharmacol* 1997, 29: 367-72.
13. *Valle BK, Valle GA, Lemberg L*. Volume control: a reliable option in the management of "refractory" congestive heart failure. *Am J Crit Care* 1995, 4: 169-73.
14. *Epstein M, Perez GO, Bedoya LA, Molina R*. Continuous arteriovenous ultrafiltration in cirrhotic patients with ascites or renal failure. *Int J Artif Organs* 1986, 9: 252-6.
15. *Dormans TP, Huige RM, Gerlag PG*. Chronic intermittent haemofiltration and haemodialysis in end stage chronic heart failure with oedema refractory to high dose furosemide. *Heart* 1996, 75: 341-51.
16. *Blake P, Paganini EP*. Refractory congestive heart failure: overview and application of extracorporeal ultrafiltration. *Adv Ren Replace Ther* 1996, 3: 166-73.
17. *McLigeyo SO*. Experience with the use of human albumin in renal patients at the Kenyatta National Hospital. *Easr Aft Med J* 1993, 70: 15-7.

Αλληλογραφία:

Κ. Μαυροματίδης
Αντ. Ρωσσίδη 7
691 00 Κομοτηνή

Corresponding author:

Κ. Mavromatidis
7, Ant. Rossidi Str.
691 00 Komotini
Greece

Επιδράσεις της φαρμακευτικής αγωγής στην επικοινωνία και την κατάποση: Μία πρόταση για γλωσσοπαθολογική φαρμακολογία

Χαρίκλεια Πρώιου, Νικόλαος Αρτέμης

Β' Νευρολογική Κλινική ΑΠΘ, Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη

Περίληψη. Ορισμένα φάρμακα που χορηγούνται για παθήσεις άσχετες με τις διαταραχές του λόγου και της ομιλίας, όπως είναι τα αντιεκκριτικά του γαστρικού υγρού και κάποια αντιμικροβιακά χημειοθεραπευτικά φάρμακα, καθώς και όλα σχεδόν τα φάρμακα που δρουν στο κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα, μπορεί να επηρεάσουν την ικανότητα επικοινωνίας του ασθενή είτε άμεσα, δημιουργώντας για παράδειγμα προβλήματα άρθρω-

σης και ακοής, είτε έμμεσα, δημιουργώντας προβλήματα μνήμης, συγκέντρωσης ή γνωστικών λειτουργιών. Στον παρόν ενημερωτικό άρθρο γίνεται προσπάθεια ανάδειξης της ανάγκης δημιουργίας μιας νέας γλωσσοπαθολογικής φαρμακολογίας βασισμένης στις νέες δράσεις φαρμάκων στην επικοινωνία και την κατάποση.

Ελλην Ιατρ 2004, 70: 36 - 42.

Η φαρμακευτική αγωγή που εφαρμόζει ο γιατρός στον ασθενή πρέπει να γίνεται απολύτως καταννητή από τον γλωσσοπαθολόγο, ώστε η διάγνωση και το πρόγραμμα θεραπείας να είναι αποτελεσματικότερα. Ο όρος **γλωσσοπαθολογική φαρμακολογία** προέρχεται από τη σύνθεση των όρων γλωσσοπαθολογία (επικοινωνιολογία) και φαρμακολογία. Η γλωσσοπαθολογία ασχολείται με τη μελέτη των διαταραχών της επικοινωνίας, ενώ η φαρμακολογία με τη μελέτη της δράσης των φαρμάκων στα βιολογικά συστήματα. Η κάθε μια από αυτές τις επιστήμες έχει τη δική της μεθοδολογία.

Η οδός χορήγησης φαρμάκων ποικίλλει. Φάρμακα που χορηγούνται από το στόμα εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος μέσω του εντερικού τοιχώματος. Φάρμακα που χορηγούνται υπογλωσσίως διαλύονται από το σάλιο και απορροφούνται γρήγορα από τους βλεννογόνους του στόματος. Μερικά φάρμακα εφαρμόζονται τοπικά στο δέρμα και μερικά εισπνέονται ως αέρια. Η χορήγηση από το ορθό με τη μορφή υποθέτων γίνεται συνή-

θως, όταν ο ασθενής πάσχει από ναυτία και δεν ανέχεται τη χορήγηση από το στόμα. Ένεση ενός φαρμάκου μπορεί να γίνει ενδομυϊκά, υποδόρια, ενδοδερμικά ή ενδοφλέβια. Όποια όμως και να είναι η οδός χορήγησης, κάθε φάρμακο που διέρχεται τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό μπορεί να προκαλέσει προβλήματα επικοινωνίας^{1,2}.

Οι διαδικασίες της παραγωγής ομιλίας και της κατάποσης μοιράζονται τους ίδιους περιφερικούς μηχανισμούς, αλλά επιτυγχάνονται μέσω διαφορετικών συστημάτων. Αυτά τα συστήματα μερικές φορές μοιράζονται την κεντρική και περιφερική οργάνωση, η οποία συναντάται σε όλο το κεντρικό νευρικό σύστημα. Τόσο η επικοινωνία, όσο και η κατάποση είναι δυναμικές διεργασίες και μία διαταραχή που επηρεάζει μία από τις δύο είναι ένδειξη αρνητικών ή θετικών αλλαγών στη φυσική υγεία³. Η αποτελεσματικότητα της κατάποσης υπακούει σε ένα συστηματικότερο μοντέλο από εκείνο της επικοινωνίας, αλλά η προσαρμογή στις μεταβολές των συνθηκών σίτισης (μέγεθος

βλωμού, υφή κ.λ.π.) είναι τόσο περίπλοκη όσο η ομιλία και χρησιμοποιεί παραπλήσια νεύρα και μύες με την ομιλία. Μια παθολογική βλάβη, η οποία επηρεάζει τον λόγο, την ομιλία ή την κατάποση μπορεί να αφορά είτε στο περιφερικό, είτε στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Αυτό ισχύει και στην περίπτωση άμεσης επέμβασης εξωγενών παραγόντων όπως είναι τα φάρμακα.

Οι δυσκολίες επικοινωνίας είναι συνήθως δευτερογενείς συνέπειες άλλων νευρολογικών παθήσεων. Καθώς η αντιμετώπιση της πρωτογενούς νόσου προέχει, η φαρμακευτική αγωγή καθορίζεται από τις παραμέτρους της πρωτογενούς νόσου και όχι από πιθανές αρνητικές επιδράσεις της στην ικανότητα επικοινωνίας. Για παράδειγμα, η μορφίνη η οποία χρησιμοποιείται για την καταστολή ισχυρών πόνων μπορεί να προκαλέσει ακόμα και αφασικές διαταραχές. Η χλωροφαινιραμίνη, ένα αντισταμινικό το οποίο χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση ήπιων αλλεργιών, προκαλεί δυσκολία στην ομιλία και την κατάποση, ξηροστομία και ρινική συμφόρηση. Η διαταραχή της ομιλίας συνίσταται σε υποφωνία και σε προβλήματα άρθρωσης. Πολλές φορές τα φάρμακα που χορηγούνται για τη θεραπεία της πρωτογενούς νόσου βελτιώνουν την κλινική εικόνα και της δευτερογενούς νόσου⁴. Η χορήγηση, για παράδειγμα, αντιμικροβιακών χημειοθεραπευτικών φαρμάκων σε περίπτωση μιας βακτηριακής νόσου που προκαλεί προβλήματα στην άρθρωση ή τη φωνή, βελτιώνουν την κατάσταση του λόγου καθώς αντιμάχονται τη μόλυνση.

Είναι πολύ σημαντικό να γνωρίζει ο γλωσσοπαθολόγος τις δράσεις και τις δόσεις των φαρμάκων που λαμβάνουν οι ασθενείς του, διότι οι ασθενείς μπορεί να μην είναι σε θέση να διαβάσουν τις οδηγίες χρήσης ή μπορεί να μην είναι σε θέση να ενημερώσουν τον γιατρό ότι εμφανίζουν ανεπιθύμητες ενέργειες ή ότι ξέχασαν να πάρουν το φάρμακο. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι συμβουλές του γλωσσοπαθολόγου διασφαλίζουν ότι ο ασθενής λαμβάνει το σωστό φάρμακο στη σωστή δοσολογία. Απότομες αλλαγές στην ικανότητα επικοινωνίας του ασθενή μπορεί να σχετίζονται με αύξηση, μείωση, διακοπή ή αλλαγή του φαρμάκου και αυτό πρέπει να είναι ένα από τα πρώτα ζητήματα που εξετάζει ο γλωσσοπαθολόγος όταν παρατηρεί μείωση των ικανοτήτων επικοινωνίας του ασθενή του. Συνήθως, η απόφαση έγκρισης ή απόσυρσης φαρμάκου στηρίζεται στα αποτελέσματα νεότερων ερευνών. Καθώς οι αναφορές νέων ανακαλύψεων στη φαρμακολογία παρουσιάζονται

εγκαίρως στο κοινό, καλό θα ήταν ο γλωσσοπαθολόγος να προπορεύεται στην ενημέρωση⁵.

Η επίδραση ενός φαρμάκου στην επικοινωνία μπορεί να σχετίζεται με τη δόση και τη γενική κατάσταση της υγείας του ασθενή. Συνήθως απαιτούνται υψηλές δόσεις για μεγάλα χρονικά διαστήματα για να επηρεάσουν την επικοινωνία, ενώ κανονικές ή και υποθεραπευτικές δόσεις μπορούν να επηρεάσουν την κατάποση⁶. Είναι σημαντικό να σημειωθεί, ότι οι περισσότερες κατηγορίες φαρμάκων επηρεάζουν και την επικοινωνία και την κατάποση. Στη συνέχεια παρατίθενται κατηγορίες φαρμάκων και οι έντονες επιπλοκές που μπορεί να προκαλέσουν είτε στην ικανότητα επικοινωνίας είτε στην ικανότητα κατάποσης είτε και στις δύο αυτές λειτουργίες⁷.

Προβλήματα στην κατάποση από τη λήψη φαρμάκων

1. Βρογχοδιασταλτικά:

- *Αλβουτερόλη* (ξηρότητα ή ερεθισμό του στόματος και του λαιμού)
- *Βιολτερόλη*, (βήχας, άλγος στο λαιμό και ερεθισμό του στόματος)
- *Πιρβουτερόλη*, (βήχας και ξηροστομία)
- *Χρωμολίνη* (δυσκολία στην αναπνοή και την κατάποση, οίδημα στο πρόσωπο, τα χείλη και το στόμα, ισχυρό λαχάνιασμα, βήχας, ερεθισμό στο στόμα και στον λαιμό, βραχνάδα και ρινική συμφόρηση)

2. Αντιπηκτικά:

Δικουμαρόλη (άλγος στο λαιμό, ευαισθησία στα ούλα, πληγές ή λευκές κηλίδες στο στόμα και στο λαιμό).

3. Καθαριστικά:

Ψίλλιο (δυσκολία στην κατάποση).

Προβλήματα στην επικοινωνία και στην κατάποση από τη λήψη φαρμάκων

1. Οι ανταγωνιστές των H₁ υποδοχέων της ισταμίνης:

Οι ανταγωνιστές των H₁ υποδοχέων της ισταμίνης (αντισταμινικά), όπως η *ασεμιζόλη*, *χλωροφαινιραμίνη*, *κυπροεπταδίνη*, *τερφεναδίνη*, *βρωμοφαινιραμίνη*, *διφαινυδραμίνη*, *υδροξυζίνη*, μπορεί να προκαλέσουν ξηροστομία, ξηρότητα στη μύτη και στο λαιμό, άλγος στο λαιμό, δυσκολία στην αναπνοή, σύγχυση, προβλήματα στην πρόσφατη μνήμη, εξασθένιση της ικανότητας συγκέντρωσης και αποπροσανατολισμό.

Η γλωροφαινουραμίνη και η κυπροεπταδίνη μπορούν να προκαλέσουν επιπροσθέτως εμβοή ώτων, η δε τερφεναδίνη και βήχα.

2. Κυτταροστατικά φάρμακα:

- Σισπλατίνη (εμβοή ώτων και κώφωση).
- Κυκλοφωσφαμίδη (άλγος στο λαιμό, σύγχυση, βήχα, δυσκολία στην αναπνοή, πληγές στο στόμα και τα χείλη, οίδημα στα χείλη και ξηροστομία).
- Ακτινομυκίνη (δυσκολία στην κατάποση, άλγος στο λαιμό και οισοφαγίτιδα).
- Ετοποσίδη (οίδημα στο πρόσωπο και τη γλώσσα, βήχα, σφίξιμο στο λαιμό και λαρυγγοσπασμό).

3. Κορτικοστεροειδή:

Μερικά κορτικοστεροειδή, όπως είναι η *Βεκλομεθαζόνη*, *Βεταμεθαζόνη*, *δεξαμεθαζόνη*, *υδροκορτιζόνη*, *τριαμσινολόνη*, *πρεδνιζόνη*, μπορεί να προκαλέσουν βήχα, δυσκολία στην αναπνοή, συμφόρηση της μύτης και των ώτων, άλγος στο λαιμό, βραχνάδα ή άλλες αλλαγές της φωνής και δυσκολία στην κατάποση. Τα κορτικοστεροειδή γενικά προκαλούν ευφορία, αλλά μερικοί ασθενείς μπορεί να εμφανίσουν κατάθλιψη ή ψυχωτικά συμπτώματα⁸. Η *πρεδνιζόνη* μπορεί να προκαλέσει αποσύνδεση της μνήμης και συνολική παρακμή των γνωστικών λειτουργιών.

4. Φάρμακα που χρησιμοποιούνται στην ρευματοειδή αρθρίτιδα, την ουρική αρθρίτιδα ή ως ανοσοκατασταλτικά:

- Η λήψη ενώσεων του χρυσού μπορεί να προκαλέσει βήχα, δυσκολία στην αναπνοή και στην κατάποση, άλγος στο λαιμό, οίδημα της γλώσσας και ερεθισμό των ούλων.
- *Υδροξυχλωροκίνη* (δυσκολία στην αναπνοή, εμβοή ώτων και κώφωση)
- *Σουλφασαλαζίνη* μπορεί να προκαλέσει (δυσκολία στην κατάποση και άλγος στο λαιμό)
- *Προβενεσίδη* (οίδημα του προσώπου, πόνο στο λαιμό και στα ούλα και δυσκολία στην αναπνοή)
- *Αζαθειοπρίνη* (δυσκολία στην αναπνοή, βήχα, βραχνάδα, πληγές στο στόμα και στα χείλη)
- *Κυκλοσπορίνη* (οίδημα των ούλων, πληγές στο στόμα, δυσκολία στην κατάποση και σύγχυση).

5. Αντιντοπαμινεργικά:

Τα αντιντοπαμινεργικά χρησιμοποιούνται ως αντιμετατικά (*μετοκλοπραμίδη*, *προχλωροπερα-*

ζίνη, *προμεθαζίνη*) στην νευροληπτανάλγησία και ως νευροληπτικά ή αντιψυχωτικά (*χλωροπρομαζίνη*, *φλουφεναζίνη*, *θειοριδαζίνη*, *τριφθοροπεραζίνη*, *αλοπεριδόλη*, *σουλπιριδίδη*). Μπορεί να προκαλέσουν ξηροστομία, ρινική συμφόρηση, πόνο στο στόμα, τα ούλα και το λαιμό, προβλήματα αναπνοής, δυσκολία στην κατάποση, βήχα, δυστονία της γλώσσας, σιελόρροια, παλιλαλία, ταχυλαλία, δυσαρθρία, τραυλισμό, σύγχυση, προβλήματα πρόσφατης μνήμης, αποπροσανατολισμό και μείωση της προσοχής. Σε περίπτωση εμφάνισης παρκινσονισμού παρατηρείται δυσκολία στην ομιλία και στην κατάποση, απαθές προσωπείο. Σε περίπτωση εμφάνισης όψιμης δυσκινησίας παρατηρούνται ηχηρές κινήσεις των χειλιών, μασητικές κινήσεις, πρήξιμο των παρειών, ακούσιες κινήσεις της γλώσσας.

- Η *κλοπαζίνη*, το πρώτο άτυπο αντιψυχωτικό που εισήχθη στην κλινική πράξη το 1989 μπορεί να προκαλέσει τραυλισμό, τικ, δυσαρθρία, απώλεια μνήμης, ξηρότητα στο λαιμό, βήχα, δυστονία της γλώσσας και σιελόρροια⁹.

6. Αντιπαρκινσονικά:

- *Βρωμοκριπτίνη* (ξηροστομία, ρινική συμφόρηση και σύγχυση)
- *Σελεγιλίνη* (δυσκολία στην αναπνοή και στην ομιλία, εμβοή ώτων, ξηροστομία, κάψιμο στα χείλη και το λαιμό, τριγμό των δοντιών)
- *Αμανταδίνη* (σύγχυση, προβλήματα άρθρωσης, άλγος στο λαιμό, δυσκολία στην αναπνοή, ξηροστομία, ξηρότητα της μύτης και του λαιμού, δυσκολία συγκέντρωσης)
- *Λεβοντόπα* (χοριοειδείς κινήσεις του προσώπου, σύγχυση, αποπροσανατολισμό και σπανιότερα σχιζοειδή συνδρομή¹⁰ με παραισθήσεις και ψευδαισθήσεις)⁸

7. Μουσκαρινικοί ανταγωνιστές:

Οι μουσκαρινικοί ανταγωνιστές χρησιμοποιούνται ως βοηθητικά αντι-παρκινσονικά (*βενζοτροπίνη*), βοηθητικά βρογχοδιασταλτικά (*ιπρατρόπιο*), στην οφθαλμοσκόπηση και σε φλεγμονές των οφθαλμών (*κυκλοπεντολάτη*, *τροπικαμίδη*) και ως σπασμολυτικά (*ατροπίνη*, *σκοπολαμίνη*). Μπορεί να προκαλέσουν ξηροστομία, προβλήματα άρθρωσης, βραχνάδα, βήχα, ρινική συμφόρηση, σύγχυση, προβλήματα απώλειας πρόσφατης μνήμης, αποπροσανατολισμό και μειωμένη ικανότητα προσοχής.

8. Ήπια ηρεμιστικά – υπνωτικά – αντιεπιληπτικά:

- Οι βενζοδιαζεπίνες χρησιμοποιούνται ως ηρεμιστικά (οξαζεπάμη), ως αντιεπιληπτικά (κλοναζεπάμη) ή μαζί με σπασμολυτικό ή αντικαταθλιπτικό (χλωροδιαζεποξείδιο). Μπορεί να προκαλέσουν άλγος στο λαιμό, διαρκείς πληγές στο στόμα και στο λαιμό, ξηροστομία, δίψα, ασυνήθιστη ενυδάτωση του στόματος, προβλήματα άρθρωσης, ρινική συμφόρηση, δυσκολία στην αναπνοή, σύγχυση, οίδημα του προσώπου, προβλήματα απώλειας πρόσφατης μνήμης και μειωμένη προσοχή.
- Η φαινοβαρβιτάλη χρησιμοποιείται ως υπνωτικό και αντιεπιληπτικό. Μπορεί να προκαλέσει δυσκολία στην αναπνοή, προβλήματα άρθρωσης, σύγχυση, οίδημα του προσώπου και των χειρών και άλγος στο λαιμό.
- Η γλουτεθιμίδη (υπνωτικό) μπορεί να προκαλέσει προβλήματα άρθρωσης και αργή προβληματική αναπνοή.
- Η καρβαμαζεπίνη (αντιεπιληπτικό) μπορεί να προκαλέσει ακανόνιστη αναπνοή, σύγχυση, προβλήματα άρθρωσης, εμβοή ώτων, ξηροστομία, ερεθισμό ή φλεγμονή της γλώσσας και μερικές φορές σοβαρές νοητικές διαταραχές.
- Η φαιντοΐνη (αντιεπιληπτικό, αντιαρρυθμικό) μπορεί να προκαλέσει άλγος στο λαιμό, οίδημα προσώπου, διόγκωση και αιμορραγία των ούλων, προβλήματα άρθρωσης, σύγχυση και νοητική αποδιοργάνωση.

9. Αντικαταθλιπτικά:

- Αμυτριπτιλίνη (σύγχυση, διαταραχές της πρόσφατης μνήμης, μείωση της προσοχής, αποπροσανατολισμό και ξηροστομία)
- Βουπροπιόνη (ξηροστομία ή σιελόρροια, φλεγμονή του στόματος, σύγχυση, αποδιοργάνωση της σκέψης, προβλήματα μνήμης, μείωση της προσοχής, αποπροσανατολισμό και εμβοή ώτων)
- Δοξαπραμίνη (δυσκολία στην αναπνοή, σύγχυση, προβλήματα απώλειας πρόσφατης μνήμης, μείωση της προσοχής, αποπροσανατολισμό, τραύλισμα, άλγος στο λαιμό, ξηροστομία, κλονικούς μυϊκούς σπασμούς του σαγονιού και σε περίπτωση εμφάνισης παρκινσονισμού δυσκολία στην ομιλία και απάθες προσωπείο)
- Φλουοξετίνη (δυσκολία στην αναπνοή, οίδημα των αδένων, ξηροστομία, ρινική συμφόρηση, βήχα, τραυλισμός, μείωση της ικανότητας συγκέντρωσης, σύγχυση και προβλήματα μνήμης)

μα των αδένων, ξηροστομία, ρινική συμφόρηση, βήχα, τραυλισμός, μείωση της ικανότητας συγκέντρωσης, σύγχυση και προβλήματα μνήμης)

- Άλατα του λιθίου (αντιμανιοκαταθλιπτικά), (προβλήματα άρθρωσης, δυσκολία στην αναπνοή, ξηροστομία ή σιελόρροια, δίψα, σύγχυση, αποπροσανατολισμό, απώλεια μνήμης και σε περίπτωση παρκινσονισμού δυσκολία στην ομιλία και στην κατάποση, απάθες προσωπείο. Σε περίπτωση υποθυρεοειδισμού μπορεί να προκληθούν βράγχος φωνής και οίδημα στο λαιμό)
- Νορτριπτιλίνη, η αμοξαπίνη, η δοξεπίνη, η ιμιπραμίνη, η μαπροτιλίνη και η τραζοδόνη, (προβλήματα αναπνοής, ξηροστομία, άλγος στο λαιμό, σύγχυση, πρόβλημα στην πρόσφατη μνήμη, αποπροσανατολισμό και μείωση της προσοχής).
- Σετραλίνη (τραύλισμα, διαταραχές της ομιλίας και φτωχά αρθρωμένο λόγο).
- Τρανυλκπρομίνη (ήπιο τραυλισμό ή λεκτική δυσχέρεια, αυξάνει με την αύξηση της δόσης), μειωμένη λεκτική και μη λεκτική ευφράδεια).
- Κλομιπραμίνη, που χρησιμοποιείται στην αντιμετώπιση της ψυχαναγκαστικής διαταραχής, μπορεί να προκαλέσει ξηροστομία και εμβοή ώτων.

10. Μνοχαλαρωτικά:

- Ορφαναδρίνη (ξηροστομία, σύγχυση, προβλήματα στην πρόσφατη μνήμη, αποπροσανατολισμό και μείωση της προσοχής)

11. Νικοτίνη:

Οι μαστίχες νικοτίνης, που χρησιμοποιούνται για την απεξάρτηση από το κάπνισμα, δυσκολία στην αναπνοή, ξηροστομία, πόνο στο στόμα και το λαιμό, μυϊκές συσπάσεις του σαγονιού και διαταραχές στην ακοή.

12. Φάρμακα που χρησιμοποιούνται στην αναισθησία:

- Μπουτορφανόλη (ξηροστομία, βήχα, φαρυγγίτιδα, ερεθισμό και συμφόρηση της ρινός, σύγχυση, εμβοή ώτων και πόνο στα αυτιά).
- Δαντρολένη (διαταραχή του λόγου και σύγχυση).

13. Αντιαρρυθμικά – αντιστηθαγικά – αντιυπερτασικά:

- Διδοκαΐνη (αντιαρρυθμικό) (αποπροσανατολισμό και υπνηλία)
- Κινιδίνη (αντιαρρυθμικό) (λαχάνιασμα,

- σύγχυση, εμβοή ότων και απώλεια της ακοής)
- *Προκαϊναμίδη* (αντιαρρυθμικό) (ξηρότητα στο στόμα, τη μύτη και το λαιμό καθώς και σύγχυση)
 - *Δισοπυραμίδη* (αντιαρρυθμικό) (ξηρότητα στο στόμα, τη μύτη και το λαιμό, άλγος στο λαιμό, δυσκολία στην αναπνοή, σύγχυση, προβλήματα απώλειας πρόσφατης μνήμης, μείωση της προσοχής και αποπροσανατολισμό).
 - *Τοκαϊνίδη* (αντιαρρυθμικό) (δυσκολία στην αναπνοή, βήχα, άλγος στο λαιμό και σύγχυση)
 - *Φλεκαϊνίδη* (αντιαρρυθμικό) (οίδημα στα χείλη, στο στόμα και τη γλώσσα, ξηροστομία και εμβοή ότων)
 - β-αδρενεργικοί ανταγωνιστές (*προπρανολόλη, ακεμπουτολόλη, αλπρενολόλη, μετοπρολόλη, πρακτολόλη*) χρησιμοποιούνται ως αντιαρρυθμικά, αντι-στηθαγχικά, αντιυπερτασικά, και η *τιμολόλη* στην αντιμετώπιση του γλαυκώματος. Μπορεί να προκαλέσουν δυσκολία στην αναπνοή, σύγχυση, ξηροστομία, πόνο στο στόμα και το λαιμό, ρινική συμφόρηση, νυχτερινό βήχα και απώλεια μνήμης.
 - *Αμιοδαρόνη* (αντιαρρυθμικό) (επώδυνη δυσκολία στην αναπνοή, σιελόρροια και επώδυνη αναπνοή).
 - *Ανταγωνιστές ασβεστίου* (*ισραδιπίνη, νικαρδιπίνη, νιφεδιπίνη, βεραπαμίλη, διλτιαζέμη*) χρησιμοποιούνται ως αντιαρρυθμικά, αντιστηθαγχικά και αντιυπερτασικά. Μπορεί να προκαλέσουν ξηροστομία, δίψα, διόγκωση και αιμορραγία των ούλων, βήχα, λαχάνιασμα και σύγχυση
 - *Εδροφάνιο* (αντιχολινεστερασικό, αντιαρρυθμικό) (δυσαρθρία, δυσφωνία και δυσκολία κατάποσης)
 - *Αμυλονιτρίδιο* και νιτρικοί εστέρες (αντιστηθαγχικά) (δυσκολία στην αναπνοή, ξηροστομία και προβλήματα στην άρθρωση)
 - Αναστολείς του μεταρρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης II (αντιυπερτασικά) (δυσκολία στην αναπνοή, ξαφνικό οίδημα των χειλιών, της γλώσσας και του λαιμού, σύγχυση, βράγχος, μούδιασμα ή κνησμό στα χείλη, δυσκολία στην κατάποση, βήχα ή αίσθηση γαργαλητού στο λαιμό)
 - *Διαζοξίδη* (αντιυπερτασικό) (σφίξιμο στο στήθος, ξηροστομία, στιγμιαία απώλεια της ακοής και εμβοή ότων)
 - Διουρητικά της αγκύλης του Helne (*φουροσεμίδη, βουμετανίδη*) (ξηροστομία και δίψα)
 - *Σπειρονολακτόνη* (διουρητικό, ανταγωνιστής της αλδοστερόνης) (δυσκολία στην αναπνοή, άλγος στο λαιμό, ξηροστομία, σύγχυση και αλλαγή της χροιάς της φωνής στις γυναίκες)
 - *Συμπληρώματα καλίου* (μούδιασμα ή κνησμό στα χείλη και σύγχυση).
14. *Αντιεκκριτικά γαστρικού υγρού:*
- Ανταγωνιστές των H₂ υποδοχέων της ισταμίνης (*σιμετιδίνη, φαμοτιδίνη, νιζατιδίνη*) (άλγος στο λαιμό, ρινική συμφόρηση, οίδημα του προσώπου και των χειλιών, δυσκολία στην αναπνοή και την ομιλία)
 - Αναστολείς της αντλίας υδρογόνου-καλίου (*ομεπραζόλη*) (δυσκολία στην αναπνοή, άλγος στο λαιμό και πληγές στο στόμα).
15. *Φάρμακα που χρησιμοποιούνται στο γλαύκωμα:*
- Αναστολείς της καρβονικής ανύδρασης (*ακεταζολαμίδη, μεθαζολαμίδη*) (ξηροστομία, δίψα, άλγος στο λαιμό, σύγχυση, δυσκολία στην αναπνοή, εμβοή ότων, μούδιασμα, κνησμό ή καυσαλγίες στο στόμα, τα χείλη και τη γλώσσα)
 - Μουσκαρινικοί αγωνιστές (*καρβαχόλη, πιλοκαρπίνη*) (λαχάνιασμα και σιελόρροια).
16. *Ορμόνες*
- Οιστρογόνα και προγεστεροειδή (*οιστραδιόλη, διαιθυλστυλβεστρόλη, οιστροπιπάτη, μεδροξυπρογεστερόνη, νορεθινδρόνη*) (δυσκολία στην αναπνοή και προβλήματα άρθρωσης).
 - Ανδρογόνα (*φλουοξυμειστερόνη, μεθυλοτεστοστερόνη*) (βαθαίνουν τη φωνή και μπορεί να προκαλέσουν δυσκολία στην αναπνοή, άλγος στο λαιμό και πορφυρέυθρες κηλίδες στο στόμα).
 - *Καλοπιτονίνη* (βήχας, ξηροστομία, εμβοή ότων, απώλεια ακοής και πόνο στο αυτί)
 - *Ετιδρονικό νάτριο* (οισοφαγίτιδα, οίδημα στη γλώσσα και σύγχυση)
 - Αντιδιαβητικά που λαμβάνονται από το στόμα (*γλιζιπίδη, γλυβουρίδη, τολαζαμίδη, τολβουταμίδη*) (ξηροστομία, άλγος στο λαιμό, δυσκολία στην αναπνοή, βαθιές γρήγορες αναπνοές και σύγχυση)

17. Αντιμικροβιακά χημειοθεραπευτικά φάρμακα:

- Πενικιλίνες (αμπικιλίνη, αμοξυσιλίνη, πενικιλίνη G, πενικιλίνη V, κλοξακιλίνη, καρβενικιλίνη) (ξηροστομία, οίδημα στη γλώσσα, τραχεία γλώσσα, αποχρωματισμό στη γλώσσα, πόνο στο στόμα και τη γλώσσα, δίψα)
- Κεφαλοσπορίνες (κεφιξιμίνη, κεφουροξίμη, κεφακλόρη, κεφαδροξίλη, κεφαλεξίνη, κεφαδρόνη) (δυσκολία στην αναπνοή, ξηροστομία, δίψα, πόνο στο στόμα και τη γλώσσα).
- Τετρακυλίνες (δοξυκυκλίνη, τετρακυκλίνη, δεμεκλοκυκλίνη) (άλγος στο λαιμό, στο στόμα και τη γλώσσα, αποχρωματισμό του στόματος και της γλώσσας, οίδημα στη γλώσσα, οισοφαγίτιδα και δυσκολία στην κατάποση)
- Κλινταμυκίνη (λινκοζαμίδιο) (δίψα και πόνο στο στόμα και τη γλώσσα)
- Ερυθρομυκίνη (μακρολίδιο) (άλγος στο στόμα και τη γλώσσα και σπανίως προσωρινή απώλεια ακοής)
- Αμινογλυκοσίδες (στρεπτομυκίνη, γενταμυκίνη, καναμυκίνη, νεομυκίνη, αμικασίνη) (βλάβη του λαβυρίνθου με αποτέλεσμα ίλιγγο, αταξία και βλάβη του κοχλίου που οδηγεί στην κώφωση).
- Ισονιαζίδη (αντιφυματικό) (προβλήματα άρθρωσης, δυσκολία στην αναπνοή, σύγχυση, ανικανότητα συγκέντρωσης, πόνο στο λαιμό, στο στόμα και τη γλώσσα)
- Τριμεθοπρίμη (αναστολέας της βακτηριακής δεϋδρογονάσης του διϋδροφολικού οξέος), (πόνο στο λαιμό, στο στόμα και τη γλώσσα, μελάνιασμα των χειλιών και δυσκολία στην αναπνοή)
- Μετρονιδαζόλη (είναι και αντιπρωτοζωικό) (ξηροστομία και πόνο στο λαιμό, στο στόμα και τη γλώσσα).

18. Ανθελμινθικά:

Μεμπενταζόλη (άλγος στο λαιμό και εμβοή ότων).

19. Φάρμακα που επιδρούν στη σύνθεση, το μεταβολισμό και την απορρόφηση της χοληστερόλης:

- Χολεστυραμίνη (ερεθισμό της γλώσσας και εμβοή των ότων)
- Λοβαστατίνη (δυσκολία στην αναπνοή, οίδημα στο πρόσωπο και τα χείλη)
- Προβουκόλη (οίδημα στο πρόσωπο και το στόμα, μούδιασμα ή κνησμό στο πρόσωπο και εμβοή των ότων).

Προβλήματα στην επικοινωνία από τη λήψη φαρμάκων

1. Αναστολείς της κυκλοοξυγενάσης του αραχιδονικού οξέος:

Οι αναστολείς της κυκλοοξυγενάσης του αραχιδονικού οξέος είναι μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη αναλγητικά, όπως το ακετυλοσαλικυλικό οξύ, η σαλικυλική χολίνη, δικλοφενάκη, φενοπροφένη, ιμπουπροφένη, κετοπροφένη, μεκλοφαιναμικό, ναπροξένη, σουλιντάκ, φλουρμπροφένη. Μπορεί να προκαλέσουν αλλαγές στην ακοή, εμβοή ότων, δυσκολία στην αναπνοή, σύγχυση και διαταραχές μνήμης.

2. Οπιοειδείς αγωνιστές:

Οι οπιοειδείς αγωνιστές χρησιμοποιούνται στην αντιμετώπιση του πόνου (ναρκωτικά αναλγητικά: κωδεΐνη, υδρομορφόνη, μεπεριδίνη), στην αναισθησία (νευροληπτο-αναλγησία: φαιτανύλιο), ως αντιβηχικά (υδροκωδόνη) και σε γαστρεντερικές διαταραχές (λοπεραμίδη). Μπορεί να προκαλέσουν ξηροστομία, οίδημα στο πρόσωπο, εμβοή των ότων, αναπνευστική καταστολή, σύγχυση, προβλήματα πρόσφατης μνήμης, αποπροσανατολισμό, αποσύνδεση της προσοχής, διαταραχή της σκέψης, διαταραχή του λόγου, αφασία.

3. Τοπικά αναισθητικά:

Η λιδοκαΐνη (δυσκολία στην αναπνοή, εμβοή ότων, ευφορία, νευρική και έντονη ανησυχία).

4. Αντιμυκητιασικά:

Η αμφοτερικίνη B, τέλος, μπορεί να προκαλέσει λαχάνιασμα, εμβοή ότων, ίλιγγο και απώλεια ακοής.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι θεραπευτές που θέτουν τη διάγνωση και βοηθούν στην περίθαλψη ατόμων που παρουσιάζουν διαταραχές της ομιλίας και της γλώσσας, είναι εξοικειωμένοι με τις αρνητικές φαρμακολογικές επιδράσεις ορισμένων φαρμάκων στην ομιλία, τη γλώσσα και το σύστημα κατάποσης. Οι επιδράσεις αυτές όμως παρουσιάζουν διακυμάνσεις από ασθενή σε ασθενή σε συνάρτηση με τη δόση και τη φάση της ασθένειας. Ένας αυξανόμενος αριθμός φαρμάκων προσφέρει ανακούφιση στη συντριπτική πλειοψηφία των πρωτογενών ασθενειών, όμως οι επιδράσεις των φαρμάκων αυτών στην ομιλία, τη γλώσσα και την κατάποση έχουν απασχολήσει την έρευνα σε περιορισμένο μόνο βαθμό. Η παρούσα ανασκόπηση προσπαθεί να κάνει μία επι-

σκόπηση αυτών των φαρμάκων, να υπογραμμίσει δηλαδή θεμελιώδη κλινικά συμπτώματα, τα οποία μερικές φορές δε συνδέονται, ή δε συνδέονται αποκλειστικά με ενδογενείς διαταραχές του λόγου και της κατάποσης, αλλά και με την πρόσληψη φαρμάκων. Η επιτακτική ανάγκη δημιουργίας μιας γλωσσοπαθολογικής φαρμακολογίας αναδύθηκε από την επιθυμία συνδυασμού των γνώσεων γύρω από τα φάρμακα με την προσπάθεια επίλυσης των καθημερινών προβλημάτων που εμφανίζονται στην κλινική πρακτική της γλωσσοπαθολογίας. Εκτός από τις ανεπιθύμητες ενέργειες των φαρμάκων που ήδη αναφέρθηκαν υπάρχει και η θετική πλευρά η οποία αφορά στην ύπαρξη ενός αριθμού φαρμάκων, τα οποία παρουσιάζουν θεραπευτικό αποτέλεσμα σε κάποιες διαταραχές της ομιλίας, όπως, για παράδειγμα, η προπρανολόλη, η οποία χρησιμοποιείται ήδη στην αντιμετώπιση της οφειλόμενης σε μυϊκό τρόπο σπασμοδικής δυσφωνίας¹¹, ενώ επιπρόσθετα έχουν αναφερθεί και φάρμακα τα οποία βοηθούν αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση του τραυλισμού¹².

ABSTRACT

Proios H, Artemis N. Drug actions on communication and swallowing. A new "logopathological pharmacology". *Hell Iatr* 2004, 70: 36-42.

The majority of drugs used for diseases not relevant to speech and language disturbances (e.g., some antiulcer and some antibacterial drugs), and practically all drugs that act on the central and peripheral nervous system, may influence the communication capabilities of patients either directly, causing for example dysarthria and tinnitus, or indirectly, causing memory, concentration and cognitive problems. The present review attempts to emphasize the need to construct a new "logopathological pharmacology" with subject matter these new drug actions on communication and swallowing.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. AARP Pharmacy Service Prescription Drug Handbook, 2nd ed., New York: Harper Perennial, 1992.
2. Arky R. Physician's Desk Reference. Montvale, NJ: Medical Economics Data Production Co. 48th ed., 1994.
3. Bhatnager SC. Neuroscience: For the study of Communicative Disorders, 2nd ed., Lippincott Williams & Wilkins 2002: 1-373.
4. Margolis S. (ed.) The Johns Hopkins Handbook of Drugs. New York: Rebus, Inc. 1993.
5. Vogel D, Carter, J. The effects of drugs on communication disorders, San Diego, CA: Singular Publishing Group, Inc 1995.
6. Miller RM, Groher ME. Medical Speech Pathology. Aspen Publishers, Inc. 1990: 1-396.
7. Burdavari S. (ed.) The Merck Index. Rahway, NJ: Merck & Co. 11th ed., 1993.
8. Rang HP, Dale MM. Pharmacology, Livingstone Churchill, Medical Division of Longman Group 1987.
9. Παναγής, Γ.Θ. Γέφυρα προσέγγισης ανάμεσα στην Ψυχολογία και τη Φαρμακολογία, Ψυχολογία, 2002, 9: 396-407.
10. Avorn, J. Neuroleptic drug exposure and treatment of parkinsonism in the elderly: A case-control study. The American Journal of Medicine 1995, 99: 48-54.
11. Rosenfield DB. Pharmacologic approaches to speech motor disorders. In Vogel D. and Cannito M.P., editors: Treating disordered speech motor control, Austin TX 1991, Pro-Ed.
12. Avallone DM. Drug therapy for stutterers: A review of research, American Archive Rehabilitative Therapy, 1975, 23: 4-7.

Αλληλογραφία:

Χ. Πρώιου
Μητροπόλεως 52
546 21 Θεσσαλονίκη

Corresponding author:

H. Proios
52, Mitropoleos Str.
546 21 Thessaloniki
Greece

Απομόνωση στελεχών *Escherichia coli* O157: H7 από τρόφιμα ζωικής προέλευσης και παραγωγικά ζώα

Α. Ντόντορου¹, Χ. Παπαδοπούλου¹, Γ. Φιλιούσης², Ε. Οικονόμου¹,
Ι. Αποστόλου¹, Γ. Ζάκας¹, Α. Σαλαμούρα¹, Α. Κανσουζίδου³,
Σ. Λεβειδιώτου¹

¹ Μονάδα Μικροβιολογίας Τροφίμων, Εργαστήριο Μικροβιολογίας,
Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα

² Εργαστήριο Μικροβιολογίας Τροφίμων, 406 Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο, Ιωάννινα

³ Εθνικό Κέντρο Αναφοράς, Μικροβιολογικό Εργαστήριο,
Νοσοκομείο Ειδικών Παθήσεων, Θεσσαλονίκη

Περίληψη. Η παρουσία της *Escherichia coli* O157: H7 σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης και παραγωγικά ζώα, αναζητήθηκε στην περιοχή της ΒΔ Ελλάδας. Εξακόσια πενήντα πέντε δείγματα μη παστεριωμένου αγελαδινού, πρόβειου και γίδιου γάλακτος, νωπού μοσχαρίσιου κιμά, χάμπουργκερς, σάντουιτς αλλαντικών, χωριάτικων λουκάνικων και χοιρινών εντέρων έτοιμων για την παρασκευή παραδοσιακών εδεσμάτων (κοκορέτσι), καθώς και τριακόσια πενήντα ένα δείγματα κοπράνων ζώων, εξετάστηκαν με τις μεθόδους της κλασικής καλλιέργειας, του ανοσομαγνητικού διαχωρισμού και της PCR. Το βακτήριο απομονώθηκε από ένα από τα 122 (0,8%) δείγματα πρόβειου γάλακτος, 1 από τα 92 (1,1%) χωριάτικα λουκάνικα, ένα από τα 50 (2%)

δείγματα παραδοσιακών εδεσμάτων και από ένα από τα 82 (1,2%) δείγματα κοπράνων αιγών. Τα στελέχη που απομονώθηκαν από τα τρόφιμα δεν ζύμωναν τη σορβιτόλη, ήταν MUG αρνητικά και έφεραν τα γονίδια για τις βεροτοξίνες VT1 και VT2. Το στέλεχος που απομονώθηκε από τα κόπρανα αίγας ήταν MUG θετικό, μια ιδιαίτερα σπάνια βιοχημική ιδιότητα και έφερε το γονίδιο για τη βεροτοξίνη VT2. Τα στελέχη που απομονώθηκαν εξετάστηκαν και βρέθηκαν ευαίσθητα σε οκτώ αντιβιοτικά (αμπικιλίνη, χλωραμφαινικόλη, καναμυκίνη, ναλιδιξικό οξύ, νορφλοξασίνη, στρεπτομυκίνη, σουλφαμεθοξαζόλη-τριμεθοπρίμη και τετρακυκλίνη). *Ελλην Ιατρ 2004, 70: 43 - 49.*

Η *Escherichia coli* O157:H7 αποτελεί ένα ολοένα και συχνότερο αίτιο γαστρεντερικής νόσου και περιλαμβάνεται στα σημαντικότερα εντερικά παθογόνα του ανθρώπου. Η *E.coli* O157:H7 αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά ως εντερικό παθογόνο το 1982, οπότε και προκάλεσε δύο μεγάλες επιδημίες αιμορραγικής κολίτιδας στις Η.Π.Α.¹ Από τότε μέχρι σήμερα, το βακτήριο θεωρήθηκε υπεύθυνο για εκατοντάδες επιδημίες αλλά και μεμονωμένα περιστατικά παγκοσμίως. Η *E.coli* O157:H7 μπορεί να προκαλέσει αιμορραγική κολίτιδα, αιμολυ-

τικό ουραιμικό σύνδρομο, θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα και σε σοβαρές περιπτώσεις, θάνατο². Δεξαμενή του βακτηρίου στη φύση αποτελούν υγιή βοοειδή³, ενώ η κατανάλωση ατελώς ψημένου βοείου κρέατος^{1,4} και μη παστεριωμένου αγελαδινού γάλακτος⁵, είναι οι σημαντικότεροι τρόποι μετάδοσής του στον άνθρωπο. Ωστόσο, και άλλα είδη τροφίμων έχουν ενοχοποιηθεί κατά καιρούς για τη μετάδοση της *E.coli* O157:H7 στον άνθρωπο, όπως το γίδινο γάλα και τυρί^{6,7}, τα λουκάνικα⁸, το γιαούρτι⁹, τα σάντουιτς κρεατικών¹⁰, κα-

θώς και ο μη παστεριωμένος μηλίτης οίνος και ο χυμός μήλου^{11,12}.

Στη χώρα μας, δεν υπάρχουν πολλά στοιχεία για την παρουσία της *E.coli* O157:H7 τόσο σε ανθρώπους, όσο και σε ζώα και τρόφιμα. Στην Ελλάδα δεν έχει συμβεί καμία επιδημία εξαιτίας του βακτηρίου, ενώ τα τελευταία 15 χρόνια έχουν καταγραφεί στα αρχεία του Εθνικού Κέντρου Αναφοράς, τέσσερα σποραδικά περιστατικά σε ανθρώπους.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η αναζήτηση στελεχών της *E.coli* O157:H7 σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης, συμπεριλαμβανομένων κάποιων παραδοσιακών ελληνικών εδεσμάτων και ο έλεγχος της μικροβιοφορίας στα παραγωγικά ζώα.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Συλλογή των δειγμάτων: Η συλλογή των δειγμάτων τροφίμων έγινε από εκτροφές γαλακτοπαραγωγικών ζώων, από σουπερμάρκετ, καταστήματα λιανικής πώλησης και καντίνες στρατοπέδων, κατά τα έτη 2000 και 2001. Τα τρόφιμα ομαδοποιήθηκαν σε τέσσερις κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία περιελάμβανε 339 δείγματα μη παστεριωμένου γάλακτος (116 δείγματα αγελαδινού, 122 δείγματα πρόβειου και 100 δείγματα γίδινου γάλακτος). Η δεύτερη κατηγορία περιελάμβανε δείγματα κρέατος που δεν είχαν υποστεί θερμική επεξεργασία και συγκεκριμένα 50 ωμά προμαγειρευμένα μοσχαρίσια μπιφτέκια (χάμπουργκερς), 61 σάντουιτς που περιείχαν ζαμπόν ή γαλοπούλα, ανάμικτες σαλάτες λαχανικών με μαγιονέζα και μαρούλι, καθώς και 64 δείγματα νωπού μοσχαρίσιου κιμά. Η τρίτη κατηγορία περιελάμβανε δείγματα αλλαντικών και συγκεκριμένα 92 χωριάτικα λουκάνικα, ενώ η τέταρτη κατηγορία περιελάμβανε 50 δείγματα χοιρινών εντέρων που χρησιμοποιούνταν για την παρασκευή παραδοσιακών εδεσμάτων, όπως το κοκορέτσι.

Όλα τα δείγματα τροφίμων συλλέγονταν κάτω από άσηπτες συνθήκες σε αποστειρωμένους περιέκτες και μεταφέρονταν στο εργαστήριο στους 4°C τα νωπά και στους -4°C τα καταψυγμένα τρόφιμα, μέσα σε ισόθερμα κιβώτια. Τα νωπά τρόφιμα εξετάζονταν αμέσως μετά την άφιξή τους στο εργαστήριο, ενώ τα καταψυγμένα αποθηκεύονταν στους -18°C και εξετάζονταν μετά την απόψυξή τους.

Τα δείγματα των κοπράνων ζώων συλλέχθηκαν από εκτροφές αγελάδων (99 δείγματα), προβάτων (171 δείγματα) και αιγών (81 δείγματα). Τα δείγματα κοπράνων συλλέγονταν με βαμβάκοφόρους στυλεούς από το απευθυμένο των ζώων και μεταφέρονταν στο εργαστήριο σε αποστειρωμένους περιέκτες στους -4°C.

Καλλιέργεια και απομόνωση της *E.coli* O157:H7: Ποσότητα 25 g από κάθε δείγμα τροφίμου προστίθετο σε 225 ml ζωμού tryptone soya broth (TSB/CM129, Oxoid, UK), το οποίο περιείχε 20 mg/l novobiocin (Novobiocin/N1628, Sigma, Germany). Ακολουθούσε ομογενοποίηση σε αναδευτήρα τύπου stomacher για τουλάχιστον δύο λεπτά και επώαση του δείγματος στους 37°C για 16-18 ώρες. Μετά την επώαση, εφαρμόζονταν η μεθοδολογία του ανοσομαγνητικού διαχωρισμού σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας

(Dynal, Norway). Στη συνέχεια, δύο ποσότητες 50 μl από το κάθε δείγμα τροφίμου, ενοφθαλμίζονταν σε Sorbitol Mac Conkey Agar (SMAC Agar, Merck, Germany), το οποίο περιείχε 0,05 mg Cefixime και 2,5 mg Tellurite (CT Supplement 109202, Merck), καθώς και σε Fluorocult Agar (Fluorocult Agar/104036, Merck). Τέλος, ακολουθούσε επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες. Μετά την επώαση, εξετάζονταν οι αποικίες ως προς τη ζύμωση της σορβιτόλης και την παρουσία β-γλυκουρονιδάσης. Οι ύποπτες αποικίες εξετάζονταν για τις βιοχημικές τους ιδιότητες με το σύστημα API 20E (API 20E/20100, Biomerieux, France).

Για τα δείγματα κοπράνων ζώων, εφαρμόζονταν η μεθοδολογία της κλασικής καλλιέργειας με το ίδιο προεμπλουτιστικό υλικό και στα ίδια στερεά θρεπτικά υποστρώματα όπως περιγράφηκαν και για τα δείγματα των τροφίμων.

Ορολογική ταυτοποίηση: Όλες οι σορβιτόλη-αρνητικές αποικίες από το CT-SMAC Agar, καθώς και όλες οι MUG-αρνητικές αποικίες από το Fluorocult Agar, δοκιμάζονταν ορολογικά με σωματίδια latex καλυμμένα με αντιορό ειδικό για την *E.coli* O157.

Μέθοδος PCR: Από τα δείγματα τροφίμων 55 δείγματα και συγκεκριμένα, 22 δείγματα πρόβειου γάλακτος, 16 δείγματα αγελαδινού γάλακτος και 17 χωριάτικα λουκάνικα, εξετάστηκαν και με τη μέθοδο της PCR. Για τη μέθοδο αυτή χρησιμοποιήθηκαν τα αντιδραστήρια AutoBax-E. Coli O157:H7 του αυτοματοποιημένου κλειστού συστήματος PCR, BAX (Qualicon, Wilmington, Del), στο οποίο έγινε η εξέταση των δειγμάτων αυτών.

Ταυτοποίηση, φαγοτυπία, ανίχνευση παραγωγής τοξινών: Τα στελέχη της *E.coli* O157:H7 που απομονώθηκαν, στάλθηκαν στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς (Θεσσαλονίκη) και στο Special Projects Lab (Laboratory for Enteric Pathogens, CPHLS, UK) για την *E.coli* O157:H7, για φαγοτυπία και ανίχνευση παραγωγής τοξινών. Η ανίχνευση της παραγωγής τοξινών από τα στελέχη, πραγματοποιήθηκε με multiplex PCR (SPL, CPHLS).

Ευαισθησία στα αντιβιοτικά: Τα στελέχη της *E.coli* O157:H7 που απομονώθηκαν, δοκιμάστηκαν ως προς την ευαισθησία τους σε οκτώ αντιβιοτικά (αμπικιλίνη, χλωραμφαινικόλη, καναμυκίνη, ναλιδιξικό οξύ, νορφλοξασίνη, στρεπτομυκίνη, σουλφαμεθοξαζόλη-τριμεθοπρίμη και τετρακυκλίνη) με τη μέθοδο Kirby-Bauer¹³.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τα δείγματα των τροφίμων που εξετάστηκαν, απομονώθηκαν τρία στελέχη της *E.coli* O157:H7, ένα από τα 122 δείγματα πρόβειου γάλακτος (0,8%), ένα από τα 92 χωριάτικα λουκάνικα (1,1%) και ένα από τα 50 δείγματα παραδοσιακών εδεσμάτων (2%). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 1. Και τα τρία στελέχη δε ζύμωναν τη σορβιτόλη και δεν παρήγαγαν β-γλυκουρονιδάση, έδιναν συγκόλληση με τον ειδικό αντιορό και έφεραν τα γονίδια και για τις δύο τοξίνες (VT1, VT2). Το στέλεχος που απομονώθηκε από το πρόβειο γάλα ανήκε στο φαγότυπο 21/28, ενώ τα άλλα δύο στελέχη ανήκαν στο φαγότυπο 21. Τα

Πίνακας 1. Απομόνωση στελεχών της E. coli O157:H7 από τρόφιμα

Είδος τροφίμου	Αρ. δειγμάτων	Αρ. θετικών δειγμάτων (%)	Αρ. απομονωθέντων στελεχών	Παραγωγή VT1, VT2
Πρόβειο γάλα	122	1 (0,8)	1	1
Αγελαδινό γάλα	116	0 (0)	-	-
Γίδινο γάλα	100	0 (0)	-	-
Νωπός κιμάς	64	0 (0)	-	-
Χάμπουργκερς	50	0 (0)	-	-
Σάντουιτς	61	0 (0)	-	-
Κοκορέτσι	50	1 (2)	1	1
Λουκάνικα	92	1 (1,1)	1	1

Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά των στελεχών της E.coli O157:H7 που απομονώθηκαν

Είδος δείγματος	Ζύμωση σορβιτόλης	MUG	VT1	VT2	Φάγος	Συγκόλληση με αντιορό
Πρόβειο γάλα	-	-	+	+	21/28	+
Λουκάνικο	-	-	+	+	21	+
Κοκορέτσι	-	-	+	+	21	+
Κόπρανα αίγας	-	+	-	+	14	+

στελέχη της E.coli O157:H7 που απομονώθηκαν ήταν ευαίσθητα και στα οκτώ αντιβιοτικά στα οποία δοκιμάστηκαν.

Από τα δείγματα των κοπράνων ζώων απομονώθηκε ένα στέλεχος της E.coli O157:H7 από τα 81 δείγματα κοπράνων αιγών που εξετάστηκαν (1,2%). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 2. Το στέλεχος δε ζύμωνε τη σορβιτόλη, αλλά παρήγε β-γλυκουρονιδάση, έδινε συγκόλληση με τον ειδικό αντιορό και έφερε το γονίδιο μόνο για τη βεροτοξίνη VT2. Τέλος, το στέλεχος ανήκε στο φαγότυπο 14. Τα χαρακτηριστικά των στελεχών της E.coli O157:H7 που απομονώθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 2.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν αρκετές αναφορές από έρευνες σχετικά με την παρουσία της E.coli O157:H7 σε διάφορα είδη τροφίμων (Πίν. 3). Στην Αίγυπτο, ποσοστό 6% των δειγμάτων νωπού αγελαδινού γάλακτος που εξετάστηκαν, βρέθηκαν μολυσμένα με E.coli O157:H7¹⁴. Στην Αυστρία αναφέρεται ποσοστό 3% μολυσμένου αγελαδινού γάλακτος¹⁵, ενώ στη Γερμανία μόλις 0,3%¹⁶. Αντίθετα, σε αντίστοιχες έρευνες στις Η.Π.Α.¹⁷, στη Βρετανία¹⁸ και στην Ολλανδία¹⁹, δεν απομονώθηκε κανένα στέλεχος της E.coli O157:H7 από τα εξετασθέντα δείγματα νωπού αγελαδινού γάλακτος. Όσον αφορά στο μη παστεριωμένο πρόβειο και γίδινο γάλα, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στη Βρετανία δεν απομονώθηκε

κανένα στέλεχος του βακτηρίου²⁰, σε αντίθεση με τη δική μας εργασία στην οποία απομονώθηκε ένα στέλεχος από το πρόβειο γάλα (0,8%), αλλά κανένα από το γίδινο γάλα.

Έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί και σε λουκάνικα, όπου το ποσοστό απομόνωσης της E.coli O157:H7 από αυτά είναι: στη Γαλλία 0,4%²¹, στην Αργεντινή 4,8% για τα νωπά λουκάνικα και 3,3% για εκείνα που έχουν υποστεί ξήρανση²². Στη δική μας έρευνα, ποσοστό 1,1% από τα χωριάτικα λουκάνικα που εξετάστηκαν βρέθηκαν μολυσμένα με E.coli O157:H7.

Όσον αφορά στα χάμπουργκερς, στην Κολομβία αναφέρεται ποσοστό μόλυνσής τους 8,7%²³, ενώ αντίθετα στη Βραζιλία²⁴ δεν απομονώθηκε κανένα στέλεχος του βακτηρίου από τα εξετασθέντα δείγματα, όπως και στη δική μας εργασία.

Δείγματα νωπού μοσχαρίσιου κιμά εξετάστηκαν σε αρκετές χώρες για την παρουσία E.coli O157:H7. Στη Δανία αναφέρεται ποσοστό μόλυνσης του κιμά 0,3%²⁵, στην Ολλανδία 1,1%²⁶ και στην Ελβετία 0%²⁷, όπως και στη δική μας έρευνα. Αντίστοιχες έρευνες σε σάντουιτς και δείγματα από κοκορέτσι δεν αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία.

Η μικροβιοφορία της E. coli O157 σε παραγωγικά ζώα έχει αναφερθεί σε πολλές χώρες. Συγκεκριμένα, 16,6% των αγελάδων στην Ιταλία²⁸, 12,9% στη Βρετανία²⁹, 11,1% στην Ολλανδία³⁰, 10,8% στη Γερμανία³¹, 9% στην Ισπανία³², 6,5% στην Κολομβία²³, 1,8% στην Ιαπωνία³³, 1,3% στη

Πίνακας 3. Απομόνωση στελεχών της E.coli O157 από τρόφιμα σε διάφορες χώρες

Χώρα	Αγελαδ. γάλα (%)	Πρόβειο γάλα (%)	Γίδινο γάλα (%)	Μοσχ. κρέας (%)	Λουκάνικα (%)	Χάμπουργκερς (%)
Αίγυπτος	6*			6*		
Αργεντινή				3,8**	4,8-3,3**	0**
Αυστρία	3***					
Βρετανία	0****	0****	0****			
Βραζιλία						0+
Γαλλία					0,4++	
Γερμανία	0,3+++					
Δανία				0,3++++		
Ελβετία				0 ^s		
Ελλάδα	0	0,8	0	0	1,1	0
Η.Π.Α.	0 ^{ss}					
Κολομβία						8,7 ^{ssss}
Ολλανδία	0 ^{ssss}			1,1 ^{ssss}		

*Abdul-Raouf et al, 1996, **Chinen et al, 2001, ***Allerberger και Dierich, 1997, ****Coia et al, 2001

+Silveira et al, 1999, ++Vernozy-Rozard et al, 1997, +++Klie et al, 1997, ++++Boel et al, 1997

^sFantelli και Stephan 2001, ^{ss}Ansary και Kaspar, 1997, ^{ssss}Matta και V'squez, 1998, ^{sssss}Heuvelink et al, 1998

Φινλανδία³⁴, 1% στο Χονγκ Κονγκ³⁵, 1,1% στη Σουηδία³⁶, 0,3% στη Νορβηγία³⁷ και 0,13% στην Ταϊβάν³⁸ είναι φορείς αυτού του βακτηρίου. Σε παρόμοιες έρευνες στην Ουγκάντα³⁹ και στην Πολωνία⁴⁰ δεν απομονώθηκε κανένα στέλεχος της E. coli O157, όπως και στη δική μας εργασία.

Ανάλογη έρευνα στις Η.Π.Α. αποκάλυψε ποσοστό φορείας των προβάτων έως και 31% το μήνα Ιούνιο⁴¹ ενώ μια άλλη μελέτη στη Βρετανία αναφέρει πολύ χαμηλότερο ποσοστό (7,4%) του βακτηρίου²⁹. Αντίθετα, στη Νορβηγία κανένα στέλεχος της E. coli O157 δεν απομονώθηκε από τα πρόβατα⁴², όπως διαπιστώθηκε και στη δική μας εργασία.

Απομόνωση στελεχών της E. coli O157 από κόπρανα αγών σπάνια έχει αναφερθεί. Για πρώτη φορά αναφέρθηκε απομόνωση του βακτηρίου από αίγες το 1994 στη Βρετανία οπότε και προκάλεσε επιδημία σε ανθρώπους⁴³ και το 1995 πάλι από επιδημία στην Τσεχία⁶.

Η απομόνωση στελεχών της E.coli O157:H7, τόσο από τρόφιμα όσο και από παραγωγικά ζώα, αναφέρεται για πρώτη φορά στην Ελλάδα. Έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 1994 σε 187 δείγματα κοπράνων μοσχαριών αγελάδων και πουλερικών, καθώς και σε 87 δείγματα νωπού και καταψυγμένου κιμά, δεν αναφέρει απομόνωση στελεχών του βακτηρίου⁴⁴. Η ίδια ομάδα ερευνητών, αναφέρει την απομόνωση ενός στελέχους E.coli O157:H7, από τα κόπρανα βρέφους εννέα μηνών με μη αιμορραγική διάρροια⁴⁵. Το βακτήριο αναζητήθηκε στη χώρα μας και στο περιβάλλον και στο προσωπικό του μαγειρίου ενός νοσοκομείου στη Θεσ-

σαλονίκη, χωρίς επίσης να απομονωθεί κάποιο στέλεχος⁴⁶. Τέλος, η E.coli O157:H7 αναζητήθηκε στην Ελλάδα και σε δείγματα πόσιμοι και επιφανειακών νερών, χωρίς θετικό αποτέλεσμα⁴⁷.

Όσον αφορά στην ευαισθησία των απομονωθέντων στελεχών στα αντιβιοτικά, αντίστοιχες έρευνες αναφέρουν την ύπαρξη στελεχών ανθεκτικών. Συγκεκριμένα, οι Meng και συν., εξέτασαν στελέχη της E.coli O157:H7 που απομονώθηκαν από ανθρώπους, ζώα και τρόφιμα, τα οποία σε ποσοστό 24% ήταν ανθεκτικά σε ένα αντιβιοτικό και 19% σε δύο ή περισσότερα αντιβιοτικά⁴⁸. Επίσης, οι Radu και συν., εξέτασαν 28 στελέχη του βακτηρίου από τρόφιμα και βρέθηκε ότι όλα ήταν ανθεκτικά σε δύο η περισσότερα αντιβιοτικά από τα 14 στα οποία δοκιμάστηκαν⁴⁹.

Η μη απομόνωση, μέχρι τώρα στην Ελλάδα, στελεχών της E.coli O157:H7 από ζώα, τρόφιμα και νερά, ίσως να οφείλονταν στη μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε (μόνο καλλιέργεια σε SMAC, δε χρησιμοποιήθηκε ανοσομαγνητικός διαχωρισμός ούτε μοριακές τεχνικές), καθώς και στον περιορισμένο αριθμό δειγμάτων. Ωστόσο, η απομόνωση τριών στελεχών από τρόφιμα, όπως και ενός στελέχους από κόπρανα αίγας, αποκαλύπτουν την ύπαρξη της E.coli O157:H7 και στη χώρα μας. Η μη καταγραφή επιδημιών σε ανθρώπους ίσως να οφείλεται: α) στις διατροφικές συνήθειες των Ελλήνων, που προτιμούν τα γεύματά τους που περιέχουν κρέας, καλά ψημένα, β) στη μη κατανάλωση απαστερωμένου γάλακτος και τυριών, γ) στην ανάγκη εφαρμογής πιο εξειδικευμένων τεχνικών

(ανοσομαγνητικός διαχωρισμός, μοριακές τεχνικές) για την εργαστηριακή διάγνωση, δ) στην αρκετά χαμηλή συχνότητα φορέας της *E.coli* O157:H7 από τα παραγωγικά ζώα και ε) στην ευαισθησία των υπαρχόντων στελεχών του βακτηρίου σε κοινά αντιβιοτικά.

Συμπερασματικά, θα πρέπει να τονιστεί, ότι παρά τη χαμηλή συχνότητα ανίχνευσης της *E.coli* O157:H7 στη Ελλάδα, θα πρέπει να εφαρμοστεί στρατηγική ελέγχου, τόσο από τις ιατρικές όσο και από τις κτηνιατρικές αρχές, προκειμένου να διασφαλιστεί η δημόσια υγεία.

Ευχαριστίες

Οι συγγραφείς επιθυμούν να ευχαριστήσουν τον Διευθυντή του LEP Colindale CPHLS Dr. Tom Cheasty και τη Dr. Geraldine Willshaw-Smith (Special Projects Lab, CPHLS) για τη επιβεβαίωση και ταυτοποίηση των στελεχών που στάλθηκαν από το Εθνικό Κέντρο Αναφοράς. Επίσης, οι συγγραφείς επιθυμούν να ευχαριστήσουν την κα Βασιλική Οικονόμου, τεχνολόγο εργαστηρίου, για τη συμβολή της στην πραγματοποίηση αυτής της εργασίας, καθώς και τις κτηνιατρικές υπηρεσίες, παραγωγούς ζώων, τα σουπερμάρκετ και ιδιοκτήτες καταστημάτων και καντινών για τη συνεργασία τους στη συλλογή των δειγμάτων της παρούσας εργασίας.

ABSTRACT

Dontorou A, Papadopoulou C, Filiouis G, Ekonomou V, Apostolou I, Zakas G, Salamoura A, Kamsouzidou A, Levidiotou S. Isolation of Escherichia coli O157:H7 in food of animal origin and in productive animals. Hell Iatr 2004, 70: 43 - 49.

The presence of *Escherichia coli* O157:H7 in food of animal origin and in productive animals was investigated in the region of Northwestern Greece. A total of 1001 samples were examined using the standard cultural method and the immunomagnetic separation technique. Specifically 650 samples of various foods including non pasteurized cow's, goats and ewe's milk, minced bovine meat, uncooked frozen hamburgers, meat sandwiches, fresh traditional Greek pork sausages, swine intestines appropriate for traditional Greek kokoretsi and 351 fecal samples collected from goat, sheep and cattle breeding farms in the area of Epirus, Northwestern asayed for *E. coli* serogroup O157:H7. The pathogen was detected in 1 out of 122 (0.8%) samples of ewes' milk, 1 out of 92 (1,1%) fresh sausages and 1 out of 50 (2.0%) swine intestines prepared for ko-

koetsi and in 1 out of 82 (1.,2%) goat fecal samples. The food isolates were non-sorbitol fermenters, MUG-negative, O157 agglutinating, verotoxin producing and carried both VT1 and VT2 genes. The *E. coli* O157:H7 isolate from the goat feces was non sorbitol-fermenter, produced only VT2 and showed a β -glucuronidase positive activity, a rather unusual biochemical feature for the *E. coli* O157:H7 serotype. The isolated strains were tested for antibiotic resistance and were found to be susceptible to 8 antimicrobial agents (ampicillin, chloramphenicol, kanamycin, nalidixic acid, norfloxacin, streptomycin, sulfamethoxazole-trimethoprim, tetracycline).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 1983, 308: 681-5.
2. Tarr PI. *Escherichia coli* O157:H7: clinical, diagnostic and epidemiological aspects of human infection. *Clin Infect Dis* 1995, 20: 1-10.
3. Borzyck AA, Karmali MA, Lior H, Duncan LMC. Bovine reservoir for verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* 1987, i: 98.
4. Willshaw GA, Thirlwell J, Jones AP, Parry S, Salmon RL, Hickey M. Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in beefburgers linked to an outbreak of diarrhea, haemorrhagic colitis and haemolytic uraemic syndrome in Britain. *Lett Appl Microbiol* 1994, 19: 304-7.
5. Martin ML, Shipman LD, Wells JG, et al. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from dairy cattle associated with two cases of hemolytic uraemic syndrome. *Lancet* 1986, i: 1043.
6. Bielaszewska M, Janda J, Bl'hov" K, et al. Human *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with the consumption of unpasteurized goat's milk. *Epidemiol Infect* 1997, 119: 299-305.
7. Deschenes G, Casenave C, Grimont PA, et al. Cluster of cases due to unpasteurized cheese. *Pediatr Nephrol* 1996, 10: 203-5.
8. *FAO/WHO*. Newsletter: outbreak of EHEC infections in Bavaria. 1996, 49/50: 1-2.
9. Morgan D, Newman CP, Hutchinson DN, Walker AM, Rowe B, Majid F. Verotoxin producing *Escherichia coli* O157 infections associated with the consumption of yoghurt. *Epidemiol Infect* 1993, 111: 181-7.
10. McDonnell RJ, Rampling A, Crook S, et al. An outbreak of Vero cytotoxin producing *Escherichia coli* O157 infection associated with takeaway sandwiches. *CDR Wkly* 1997, 7: R201-5.
11. Besser RE, Lett SM, Weber JT, et al. An outbreak of diarrhea and hemolytic uraemic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. *JAMA* 1993, 269: 2217-20.
12. *Centers for Disease Control and Prevention*. Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with

- drinking unpasteurized commercial apple juice-British Columbia, California, Colorado and Washington, October 1996. *Morb Mortal Wkly Rep* 1996, 45: 975.
13. *Bauer AW, Kirby W, Sherris JC, Truck M.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J Clin Pathol* 1966, 45: 493-6.
 14. *Abdul-Raouf UM, Ammar MS, Beuchat LR.* Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from some Egyptian foods. *Int J Food Microbiol* 1996, 29: 423-6.
 15. *Allerberger F, Dierich MP.* Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Austria. In: Proceedings of the 3rd International Symposium and Workshop on Shiga toxin (Verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* Infections. Baltimore, MD, USA, 1997, abstr. V37/I.
 16. *Klie H, Timm M, Richter H, Gallien P, Perlberg KW, Steinruck H.* Detection and occurrence of verotoxin-forming and/or shiga toxin producing *Escherichia coli* (VTEC and/or STEC) in milk. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 1997, 110: 337-41.
 17. *Ansary SE, Kaspar CW.* Survey of retail cheese, dairy processing environments and raw milk for *Escherichia coli* O157:H7. *Lett Appl Microbiol* 1997, 25: 131-4.
 18. *Coia JE, Johnston Y, Steers NJ, Hanson MF.* A survey of the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in raw meat, raw cow's milk and raw-milk cheeses in south-east Scotland. *Int J Food Microbiol* 2001, 66: 63-9.
 19. *Heuvelink AE, Bleumink B, van den Biggelaar FL, Te Giffel MC, Beumer RR, de Boer E.* Occurrence and survival of verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157:H7 in raw cow's milk in The Netherlands. *J Food Prot* 1998, 61: 1597-601.
 20. *Little CL, de Louvois J.* Health risks associated with unpasteurized goat's and ewes' milk on retail sale in England and Wales. A PHLS Dairy Products Working Group Study. *Epidemiol Infect* 1999, 122: 403-8.
 21. *Vernozy-Rozard C, Mazuy C, Ray-Gueniot S, Boutrand-Loei S, Meyrand A, Richard Y.* Detection of *Escherichia coli* O157 in French food using an immunomagnetic separation and the VIDAS *Escherichia coli* O157. *Lett Appl Microbiol* 1997, 25: 442-6.
 22. *Chinen I, Tanaro JD, Miliwebsky E, et al.* Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retail meats in Argentina. *J Food Prot* 2001, 64: 1346-51.
 23. *Mattar S, V'squez E.* *Escherichia coli* O157:H7 in Colombia. *Emerg Infect Dis* 1998, 4: 126-7.
 24. *Silveira NT, Silva N, Contreras C, et al.* Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in hamburgers in Brazil. *J Food Prot* 1999, 62(11): 1333-5.
 25. *Boel J, Aabo S, Mariager B, Jacobsen B.* Prevalence of *Escherichia coli* O157 in meat in Denmark. In: Proceedings of the 3rd International Symposium and Workshop on Shiga toxin (Verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* Infections. Baltimore, MD, USA, 1997, abstr V129/II.
 26. *Heuvelink AE, Zwartkruis-Nahuis JT, Beumer BR, de Boer E.* Occurrence and survival of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in meat obtained from retail outlets in The Netherlands. *J Food Prot* 1999, 62: 1115-22.
 27. *Fantelli K, Stephan R.* Prevalence and characteristics of shigatoxin-producing *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* strains isolated from minced meat in Switzerland. *Int J Food Microbiol* 2001, 70: 63-9.
 28. *Bonardi S, Maggi E, Bottarelli A, et al.* Isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle at slaughter in Italy. *Vet Microbiol* 1999, 67: 203-11.
 29. *Chapman PA, Cerdan-Malo AT, Ellin M, Ashton R, Harkin MA.* *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. *Int J Food Microbiol* 2001, 64 (1-2): 139-50.
 30. *Heuvelink AE, Van den Biggelaar FLAM, de Boer E, et al.* Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 strains from Dutch cattle and sheep. *J Clin Microbiol* 1998, 36: 878-82.
 31. *Montenegro MA, Buelte M, Trunpf T, et al.* Detection and characterization of faecal verotoxin-producing *Escherichia coli* from dairy cattle. *J Clin Microbiol* 1990, 28: 1417-21.
 32. *Blanco M, Blanco J, Blanco JE, Ramos J.* Enterotoxigenic, verotoxigenic, and necrotoxigenic *Escherichia coli* isolated from cattle in Spain. *Am J Vet Res* 1993, 54: 1446-51.
 33. *Miyao Y, Kataoka T, Nomoto T, Kai A, Itoh T, Itoh K.* Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* harbored in the intestine of cattle in Japan. *Veter Microbiol* 1998, 61: 137-43.
 34. *Lahti E, Keshimaki M, Rantala L, Hyvonen P, Siitonen A, Honkanen-Buzalski T.* Occurrence of *Escherichia coli* O157 in Finnish cattle. *Vet Microbiol* 2001, 79,3: 239-51.
 35. *Leung PH, Yam WC, Hg WW, Peiris JS.* The prevalence and characterization of verotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and pigs in an abattoir in Hong Kong. *Epidem Infect* 2001, 126,2: 173-79.
 36. *Albihn A, Zimmerman U, Reh binder V, Jansson C, Tysen E, Engvall A.* Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC)-a nation-wide Swedish survey of bovine faeces. *Epidemiol Santé Anim* 1997,31-32, 04.13.1-04.13.3.
 37. *Vold L, Klungseth Johansen B, Kruse H, Skjerve E, Wasteson Y.* Occurrence of shigatoxigenic *Escherichia coli* O157 in Norwegian cattle herds. *Epidem Infect* 1998, 120: 21-8.
 38. *Lin YL, Chou CC, Pan TM.* Screening procedure from cattle feces and the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in Taiwan dairy cattle. *J Microb Immun Infect* 2001, 34,1: 17-24.
 39. *Kaddu-Mulindw DH, Aisu T, Gleier K, Zimmermann S, Beutin L.* Occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in fecal samples from children with diarrhea and from healthy zebu cattle in Uganda. *Int J Food Microbiol* 2001, 66,1-2: 95-101.
 40. *Osek J, Winiarczyk S.* Prevalence of eae and shiga toxin genes among *Escherichia coli* strains isolated from healthy calves. *J Vet Microb B Infect Dis Vet Public Health* 2001, 48,1: 67-72.
 41. *Kudva IT, Hatfield PG, Hovde CJ.* *Escherichia coli*

- O157:H7 in microbial flora of sheep. *J Clin Microb* 1996, 34: 431-3.
42. *Johnsen G, Wasteson Y, Heir E, Berget OI, Herikstad H.* Escherichia coli O157:H7 in faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. *Int J Food Microb* 2001, 65,3: 193-200.
43. *Shukla R, Slack R, George A, Cheasty T, Rowe B, Scutter J.* Escherichia coli O157 infection associated with a farm visitor center. *CDR* 1995, 5: R86-R90.
44. *Κανσουζίδου-Κανακούδη Α, Λίτκε ΟΜ, Καραμπαξόγλου Δ, Δανηλίδης Β.* Αναζήτηση Escherichia coli O157:H7 σε κόπρανα ζώων και κιμά. *Εφαρμ Κλιν Μικροβ Εργαστ Διάγν* 1994, 9,4: 264-8.
45. *Κανσουζίδου Α, Πανέρη Β, Μπουρελάκης Δ, Δανηλίδης Β.* Εντεροαιμορραγικά κολοβακτηρίδια O157:H7. Υπάρχουν στην Ελλάδα. *Εφαρμ Κλιν Μικροβ Εργαστ Διάγν* 1991, 6,1: 30-4.
46. *Αμπραχίμ Α, Κανσουζίδου Α, Παπά Α, Δανηλίδης Β, Καραϊωάννογλου Π.* Αναζήτηση *Listeria* spp, *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp και *Escherichia coli* O157:H7 στο προσωπικό και στο περιβάλλον του μαγειρείου ενός νοσοκομείου. *Δελτ Ελλην Μικροβ Εταιρ* 1997, 42,1: 141-5.
47. *Arvanitidou M, Constantinidis TC, Katsouyannopoulos V.* Searching for Escherichia coli O157:H7 in drinking and recreational waters in northern Greece. *Water Res* 1996, 30: 493-4.
48. *Meng J, Zhao S, Doyle MP, Joseph SW.* Antibiotic resistance of Escherichia coli O157:H7 and O157:NM isolated from animals, food and humans. *J Food Prot* 1998, 61: 1511-14.
49. *Radu S, Ling O, Rusul G, Karim MI, Nishibuchi M.* Detection of Escherichia coli O157:H7 by multiplex PCR and their characterization by plasmid profiling, antimicrobial resistance, RAPD and PFGE analyses. *J Microbiol Methods* 2001, 46: 131-9.

Αλληλογραφία:

Χ. Παπαδοπούλου
Εργαστήριο Μικροβιολογίας
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
451 10 Ιωάννινα

Corresponding author:

C. Papadopoulou
Microbiology Department
Medical School, University of Ioannina
451 10 Ioannina – Greece

Επιπτώσεις στο αναπνευστικό σύστημα από την επεξεργασία ξηρών φύλλων

Δ. Χλωρός, Λ. Σικλετίδης, Γ. Κυριαζής, Ε. Βλαχογιάννη, Ι. Τσιότσιος, Μ. Κάκουρα

Πνευμονολογική Κλινική ΑΠΘ, Εργαστήριο Έρευνας Παθήσεων από το Περιβάλλον

Περίληψη. Σκοπός της εργασίας ήταν η διερεύνηση των επιπτώσεων της επεξεργασίας ξηρών φύλλων καπνού στο αναπνευστικό σύστημα των εργαζόμενων σε καπνεργοστάσια. Διεθνώς οι σχετικές μελέτες είναι ελάχιστες. Στην Ελλάδα, από τις κυριότερες καπνοπαραγωγούς χώρες του κόσμου, δεν έχουν διεξαχθεί ανάλογες έρευνες επίσης. Μελετήθηκαν 1.020 εποχικοί και μη καπνεργάτες (188 άνδρες και 832 γυναίκες) σε εργοστάσιο της Θεσσαλονίκης. Η μελέτη περιελάμβανε: 1) Συμπλήρωση ειδικού ερωτηματολογίου (British Medical Research Council-MRC, 1986), 2) Σπιρομέτρηση και 3) Ρινομανομέτρηση. Ταυτόχρονα έγινε έλεγχος των επιπέδων της σκόνης του καπνού στον αέρα των εργασιακών χώρων. Ως ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν 469 εργαζόμενοι (87 άνδρες και 382 γυναίκες) σε Νοσοκομείο της Θεσσαλονίκης. Εβδομήντα έξι εργαζόμενοι με ρινικά συμπτώματα υποβλήθηκαν σε: 1) Ειδική ρινική πρόκληση με αντιγόνο της σκόνης του καπνού, 2) Δερματικές δοκιμασίες (prick tests) και 3) Μέτρηση ολικής IgE, ειδικής IgE και ειδικών IgG έναντι πρωτεΐνης καπνού. Βρέθηκαν πολύ υψηλά επίπεδα συ-

νολικής αιωρούμενης σκόνης στον εργασιακό χώρο (από 45,3 έως 54,4 mg/m³). Η συχνότητα της χρόνιας βρογχίτιδας ήταν 8,6% έναντι 20,9% των μαρτύρων. Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια βρέθηκε σε 13 εργάτες (1,3%) και σε 16 μάρτυρες (3,4%). Η FVC, ο FEV₁ και ο λόγος FEV₁/FVC ήταν χαμηλότεροι στην ομάδα ελέγχου, ενώ η FEF_{25-75%} ήταν χαμηλότερη στους εργαζόμενους (ως τιμές % των προβλεπόμενων). Δε βρέθηκαν εργαζόμενοι με βρογχικό άσθμα ή εξωγενή αλλεργική κυψελίτιδα. Ρινίτιδα ανέφερε το 27,3% έναντι 17,9% της ομάδας ελέγχου, ενώ οι ρινικές ροές ήταν 563±211 έναντι 645±321 ml/sec αντίστοιχα. Από τον αλλεργιολογικό έλεγχο των εργαζόμενων με ρινίτιδα βρέθηκε ότι 6 από αυτούς είχαν ευαισθητοποιηθεί στη σκόνη των ξηρών φύλλων καπνού. Συμπεραίνεται ότι η επεξεργασία ξηρών φύλλων καπνού δεν προκαλεί χρόνιες παθήσεις του κατώτερου αναπνευστικού. Αντιθέτως, συχνά παρουσιάζονται προβλήματα των ανώτερων αεροφόρων οδών που σχετίζονται με τα υψηλά επίπεδα ρύπανσης με σκόνη των εργασιακών χώρων. *Ελλην Ιατρ 2004, 70: 50 - 58.*

Πολλοί εργαζόμενοι απασχολούνται στη διαδικασία παραγωγής και επεξεργασίας του καπνού και εκτίθενται σε κινδύνους, που προέρχονται από τα δομικά στοιχεία του φυτού και από τον τρόπο επεξεργασίας των ξηρών φύλλων του. Δύο είναι οι πηγές των ουσιών, που θεωρείται ότι ευθύνονται για τα προβλήματα υγείας των εργαζόμενων σε καπνεργοστάσια: 1) Η σκόνη καπνού που δημιουργείται στους χώρους εργασίας και 2) Οι αλ-

λοιώσεις των φύλλων καπνού, που οφείλονται στην ύγρανση και θέρμανσή τους. Οι μελέτες σχετικά με την επίδραση της επαγγελματικής έκθεσης των εργαζόμενων σε καπνεργοστάσια είναι ελάχιστες. Αναπνευστικές διαταραχές και ειδικότερα δύσπνοια, εμφύσημα και χρόνια βρογχίτιδα έχουν περιγραφεί κατά το παρελθόν¹. Στις επιπτώσεις στην υγεία των εργαζόμενων περιλαμβάνονται, σήμερα, κυρίως η ευαισθητοποίηση σε ουσίες του

εργασιακού περιβάλλοντος και η ανάπτυξη βρογχικού άσθματος²⁻⁴. Ακόμη αναφέρονται εξωγενείς αλλεργικές κυψελιδίτιδες⁵ και αύξηση της συχνότητας αλλεργικής ρινίτιδας⁶. Συνολικά, δεν υπάρχει συμφωνία των ερευνητών για τις επιπτώσεις της απασχόλησης στην επεξεργασία του καπνού στο αναπνευστικό σύστημα⁷.

Στην Ελλάδα, μια από τις κυριότερες καπνοπαραγωγούς χώρες του κόσμου, δεν έχουν διεξαχθεί παρόμοιες επιδημιολογικές έρευνες.

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν ο έλεγχος των επιπέδων ρύπανσης του εργασιακού χώρου και η διερεύνηση των επιπτώσεων της επαγγελματικής έκθεσης στη σκόνη καπνού στο αναπνευστικό σύστημα των καπνεργατών, κατά την εμπορική επεξεργασία ξηρών καπνοφύλλων.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Δείγμα της έρευνας

Καπνεργάτες και μάστρες: Η έρευνα έγινε κατά το χρονικό διάστημα 1996-99, σε καπνεργοστάσιο στην περιοχή της Θεσσαλονίκης. Εξετάστηκαν 1.020 εποχικοί και μη καπνεργάτες (188 άνδρες και 832 γυναίκες) ηλικίας 19-71 ετών (μέσος όρος ηλικίας 45,9±9,8 έτη). Οι εποχικοί εργαζόμενοι απασχολούνταν κατά μέσον όρο 4 μήνες το χρόνο, από το τέλος της άνοιξης μέχρι την αρχή του φθινοπώρου, όσο δηλαδή διαρκεί η περίοδος εμπορικής επεξεργασίας του καπνού. Ο συνολικός χρόνος απασχόλησης μετρήθηκε σε μήνες.

Υπήρχε η σύμφωνη γνώμη του Εργασιακού Σωματίου και της Διεύθυνσης του εργοστασίου, για την έρευνα.

Ως ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν εργαζόμενοι στο Γενικό Νοσοκομείο "Γ. Παπανικολάου" της Θεσσαλονίκης, στο οποίο απασχολούνται 1618 άτομα, από τα οποία επιλέχθηκαν 469 άτομα παρόμοιοι φύλου και ηλικίας με τους καπνεργάτες, δηλαδή 87 άνδρες και 382 γυναίκες ηλικίας 19-67 ετών (μέσος όρος ηλικίας 46,0±13,2 έτη). Αποκλείστηκαν άτομα με ιστορικό τραύματος ή εγχείρησης στο θώρακα, καρδιακού νοσήματος, βρογχικού άσθματος, πνευμονικού νεοπλασματος ή φυματίωσης.

Περιγραφή του εργοστασίου: Στο εργοστάσιο υπάρχουν οι εξής χώροι: 1) Ισόγειο και πρώτος όροφος. Είναι εκτεταμένοι ενιαίοι χώροι, όπου διατίθενται εν παραλλήλω ξύλινες κατασκευές με ράφια. Εκεί αποθηκεύονται τα δέματα τόσο κατά την υποδοχή του ανεπεξεργαστού καπνού, όσο και μετά την επεξεργασία. 2) Ο άνω όροφος είναι και αυτός ενιαίος, με πολλά εξωτερικά ανοίγματα, για να εξασφαλίζεται ο φωτισμός του. Στο χώρο αυτό γίνεται η επεξεργασία των φύλλων καπνού, το ξεσπάγγιασμα (τροφοδοσία), η διάλογη, η ανάμιξη και αναξήραση και η δεματοποίησή τους. Εδώ υπάρχουν ειδικοί πάγκοι, ταινίες μεταφοράς, αναδευτήρες και πρέσες για τη δεματοποίηση.

Οι εργαζόμενοι ήσαν κατά ειδικότητα 5 μεταφορείς, 142 στιβαδόροι, 569 τροφοδότριες, 132 εργάτριες διαλογής, 5 μάστορες, 68 ράπτριες, 38 καθαρίστριες, 37 τεχνικοί ενώ 24 αποτελούσαν το διοικητικό προσωπικό. Τέσσερις ομάδες (τροφοδότριες, εργάτριες διαλογής, ράπτριες, καθαρί-

στριες) εργάζονταν σε συνθήκες ιδιαίτερα επιβαρυνμένες, γι' αυτό σε ορισμένες περιπτώσεις ελέγχθηκαν κάθε μια χωριστά. Οι άλλες 5 ειδικότητες θεωρήθηκαν κατά τη σύγκριση ως μία ομάδα.

2. Μέθοδοι έρευνας

Ιστορικό και έλεγχος αναπνευστικής λειτουργίας: 1) Συμπλήρωση ερωτηματολογίου της Επιτροπής για την Περιβαλλοντική και Επαγγελματική Υγιεινή του Βρετανικού Συμβουλίου Ιατρικών Ερευνών (Medical Research Council-MRC 1986)⁸, κατάλληλου για επιδημιολογικές έρευνες που αφορούν στον έλεγχο του αναπνευστικού συστήματος. Η λήψη του ιστορικού γινόταν σε ένα γραφείο, που παραχώρησε η διεύθυνση του εργοστασίου, όπου οι εργαζόμενοι προσέρχονταν ξεχωριστά και συμπλήρωναν το ερωτηματολόγιο υπό την καθοδήγηση ιατρού. Παρέχονταν οι απαραίτητες διευκρινίσεις, όταν χρειαζόταν. Από την ανάλυση των απαντήσεων υπολογίστηκαν η συχνότητα της χρόνιας βρογχίτιδας και της ρινίτιδας⁹.

2) Σπιρομέτρηση που γινόταν με ξηρό σπιρομέτρο τύπου Vitalograph Ltd, Buckingham, England, σύμφωνα με τις οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρείας Θώρακος (American Thoracic Society)¹⁰. Το σπιρομέτρο βαθμονομούνταν καθημερινά πριν τις σπιρομετρήσεις. Καταγραφόταν ο δυναμικός εκπνευστικός όγκος αέρα στο πρώτο δευτερόλεπτο (Forced Expiratory Volume in one second- FEV₁) και η δυναμική ζωτική χωρητικότητα (Forced Vital Capacity- FVC). Κατόπιν υπολογιζόταν ο λόγος FEV₁/FVC και η δυναμική εκπνευστική ροή μεταξύ 25-75% της FVC (Forced Expiratory Flow 25-75%- FEF_{25-75%}). Χρησιμοποιήθηκαν οι προβλεπόμενες τιμές της European Respiratory Society¹¹. Η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) χαρακτηρίστηκε από την ύπαρξη συμπτωμάτων από το ερωτηματολόγιο του MRC8 και από FEV₁<80% προβλεπόμενων τιμών και FEV₁/FVC <70%, σύμφωνα με τις οδηγίες της Βρετανικής Εταιρείας Θώρακος (British Thoracic Society)¹².

3) Ρινομανομέτρηση με ρινομανόμετρο Rhinotest mP500 της Allergopharma Joachin Ganzer KG Γερμανίας. Με τη μέθοδο της πρόσθιας ρινομανομέτρησης προσδιορίστηκαν οι ρινικές ροές και, έμμεσα, οι ρινικές αντιστάσεις¹³. Οι μετρήσεις γίνονταν σε 150 Pascal (Pa) και οι ροές μετρώταν σε ml/sec. Η βαρύτητα της ρινικής απόφραξης εκτιμήθηκε από τις τιμές της ρινομανομέτρησης^{14,15}.

Μελέτη περιβάλλοντος: Ο έλεγχος των περιβαλλοντικών συνθηκών στο καπνεργοστάσιο διενεργήθηκε με ειδική δειγματοληπτική συσκευή τύπου 13040/1 της CF Casella & Co Ltd, London England, κατάλληλη για τη μέτρηση της συνολικής αιωρούμενης σκόνης στον αέρα του εργασιακού χώρου¹⁶. Η λήψη των δειγμάτων έγινε σε δώδεκα σημεία του χώρου επεξεργασίας (στατικές δειγματοληψίες), τα οποία επιλέχθηκαν μετά από χαρτογράφηση του χώρου εργασίας με φορητό κωνόμετρο τύπου aus JENA γερμανικής κατασκευής. Η ροή αέρα της αναρροφητικής αντλίας της συσκευής ρυθμίστηκε στα 1,9 l/min, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Τα σωματίδια της σκόνης κατακρατούνταν σε ειδικό ηθμό (φίλτρο). Φίλτρο και θήκη μαζί ξυγίζονταν, πριν και μετά από το τέλος της προκαθορισμένης διάρκειας (4 ωρών) περιόδου συλλογής, σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας (με σφάλμα της τάξης του 10-5 g), αφού προηγουμένως είχε

αφαιρεθεί κάθε ίχνος υγρασίας σε ξηραντήριο. Το φίλτρο, που χρησιμοποιήθηκε, ήταν τύπου AA της Millipore Corporation, Bedford MA USA, με διάμετρο πόρων 0,8 μm. Τέλος, υπολογίστηκε η συγκέντρωση της σκόνης (σε mg/m³ αέρα) με αναγωγή του βάρους της σκόνης που συγκρατήθηκε πάνω στο φίλτρο στον όγκο του αέρα που εισροφήθηκε συνολικά.

Ειδικές εξετάσεις: Στάλθηκε σκόνη φύλλων καπνού από το εργασιακό περιβάλλον στα εργαστήρια της Allergopharma Joachim Ganzer KG Γερμανίας για την, κατά παραγγελία, παρασκευή ειδικού αντιγονικού διαλύματος σε μορφή κατάλληλη: 1) Για δερματικές δοκιμασίες (prick tests) και 2) Για ρινική πρόκληση (provocation test).

Οι εργαζόμενοι, που ανέφεραν ρινικά συμπτώματα κατά τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου και δέχτηκαν περαιτέρω έλεγχο, εφόσον δεν παρουσίαζαν εμφανείς διαταραχές της ανατομίας της ρινός ούτε είχαν υποστεί χειρουργικές επεμβάσεις στις ρινικές κόγχες, υποβλήθηκαν σε: 1) Ρινική πρόκληση με το ειδικό αντιγόνο σκόνης φύλλων καπνού, αφού είχε προηγηθεί τοπικός ψεκασμός με φυσιολογικό ορό. Η δοκιμασία χαρακτηριζόταν θετική, αν η πτώση της ροής ήταν μεγαλύτερη από το 40% της αρχικής τιμής¹⁵. 2) Δερματικές δοκιμασίες νυγμού (prick tests) με το ειδικό διάλυμα αντιγόνου σκόνης φύλλων καπνού¹⁷. 3) Αιμοληψία για τη μέτρηση της ολικής IgE και των ειδικών IgE και IgG αντισωμάτων έναντι του αντιγόνου της σκόνης φύλλων καπνού. Ο προσδιορισμός της ολικής IgE στον ορό γινόταν με τη μέθοδο της μικροσωματιδιακής ανοσοενζυμικής ανάλυσης (micro-particle enzyme immunoassay, MEIA), με αντιδραστήρια του οίκου Abbott Laboratories, σε ανάλυτή IMx system του ίδιου οίκου. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης στον ορό της ειδικής IgE έναντι αντιγόνου σκόνης φύλλων καπνού γινόταν με την ανοσοενζυμική μέθοδο (RAST), με χρησιμοποίηση δίσμων κυτταρίνης, επί των οποίων είχαν προσροφηθεί πρωτεΐνες καπνού που προέρχονταν από το καπνεργοστάσιο. Οι δίσκοι παρασκευάστηκαν στα εργαστήρια της Allergopharma Joachim Ganzer KG Γερμανίας. Η ανίχνευση των ειδικών IgG (ιζηματινών) στον ορό έναντι πρωτεϊνικού αντιγόνου καπνού, που παρασκευάστηκε όπως ήδη περιγράφηκε, γινόταν με τη μέθοδο της διπλής ανοσοδιάχυσης (double immunodiffusion, DID) σε αгарόζη¹⁸. Οι εξετάσεις έγιναν στο Ανοσολογικό Εργαστήριο της Πνευμονολογικής Κλινικής του ΑΠΘ. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τα ανάλογα εργαζόμενων στα γραφεία του εργοστασίου χωρίς συμπτώματα ρινίτιδας.

Όσοι εργαζόμενοι ανέφεραν προσβολές δύσπνοιας ή και συριγμού ή είχαν ιστορικό βρογχικού άσθματος υποβλήθηκαν σε: 1) Δοκιμασία αναστρεψιμότητας (σπιρομετρικό έλεγχο πριν και μετά βρογχοδιαστολή με εισπνοή 400 μg σαλβουταμόλης) και 2) Σύστηματική μέτρηση της μέγιστης εκπνευστικής ροής (PEFR) πριν και στο τέλος της εργασίας καθώς και πριν από τη βραδινή κατάκλιση για δύο εβδομάδες,

με ροόμετρο τύπου mini-Wright της Clement Clarke International Ltd. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τα ανάλογα εργαζόμενων στα γραφεία του εργοστασίου χωρίς συμπτώματα άσθματος.

3. Στατιστική ανάλυση

Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων των ποσοτικών μεταβλητών, εφόσον η κατανομή των δεδομένων ήταν κανονική, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία Student's t-test, ενώ για τη σύγκριση των ποιοτικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία χ². Στην περίπτωση συγκρίσεων ποσοτικών δεδομένων μεταξύ περισσότερων από δύο υποομάδες χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA). Για τον έλεγχο γραμμικών τάσεων εφαρμόστηκε η δοκιμασία χ² τροποποιημένη κατά Mantel-Haenszel¹⁹.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μετρήσεις περιβάλλοντος: Έγιναν 12 μετρήσεις σκόνης στο χώρο επεξεργασίας, διάρκειας 4 ωρών η κάθε μια, σε διαφορετικά σημεία του εργοστασίου. Οι ευρεθείσες τιμές της ολικής αιωρούμενης σκόνης κυμαίνονταν από 45,3-54,4 mg/ m³ αέρα.

Δείγμα: Εξετάστηκαν 1.020 καπνεργάτες και 469 μάρτυρες. Η μέση ηλικία εργατών και μαρτύρων δεν παρουσίαζε στατιστικά σημαντική διαφορά. Ως προς τις καπνισματικές συνήθειες: α) Από τους εργαζόμενους κάπνιζε το 34%, ενώ πρώην καπνιστές ήσαν το 2,8% και β) Από τους μάρτυρες κάπνιζε το 35,8%, ενώ πρώην καπνιστές ήσαν το 10,9%. Οι διαφορές ήσαν στατιστικά σημαντικές (p<0,001) λόγω του μεγάλου αριθμού πρώην καπνιστών μεταξύ των μαρτύρων.

Α) Επιδράσεις στο κατώτερο αναπνευστικό σύστημα

Στον πίνακα 1 αναφέρονται τα σπιρομετρικά ευρήματα (m±SD) και το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας των διαφορών μεταξύ εργατών και μαρτύρων.

Η FVC % προβλεπόμενης, ο FEV₁ % προβλεπόμενου και ο λόγος FEV₁/FVC% είχαν χαμηλότερες τιμές στους μάρτυρες σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Η FEF₂₅₋₇₅% προβλεπόμενης ήταν χαμηλότερη στους εργάτες (p<0,01).

Η συχνότητα της χρόνιας βρογχίτιδας βρέθη-

Πίνακας 1. Σπιρομετρικά ευρήματα

	No	FVC, %πρ	FEV ₁ , %πρ	FEF ₂₅₋₇₅ , %πρ	FEV ₁ /FVC, %
Εργάτες	1.020	102 ± 14,9	106,5±17	90,6±19,2	88,3±4,6
Ομάδα ελέγχου	469	99,9±17,3	103,7±18,8	95,6±31,1	83,4±8,4
p		< 0,05	<0,01	< 0,01	< 0,001

Οι τιμές της FVC, του FEV₁ και της FEF₂₅₋₇₅% εκφράζονται επί τοις εκατό των προβλεπόμενων.

κε από την ανάλυση του ερωτηματολογίου του MRC⁸. Διαπιστώθηκε ότι: α) Στους εργατές 8,6% (απλή 5,2%, λοιμώδης 1,4% και αποφρακτική 2,1%) και β) Στους μάρτυρες 20,9% (απλή 12,1%, λοιμώδης 5,1% και αποφρακτική 3,4%). Η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική, $p < 0,001$.

Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, από τις σπυρομετρικές τιμές σύμφωνα με τις οδηγίες της BTS12, διαπιστώθηκε σε 13 εργαζόμενους (1,3%) και 16 μάρτυρες (3,4%), $p < 0,01$. Η χρόνια βρογχίτιδα και η αποφρακτική χρόνια βρογχίτιδα ήταν συχνότερες στους μάρτυρες, επειδή μεταξύ τους υπήρχαν περισσότεροι καπνιστές.

Στον πίνακα 2 φαίνονται το φύλο, η ηλικία, η θέση εργασίας, ο χρόνος απασχόλησης, η καπνισματική συνήθεια και ο έλεγχος της αναπνευστικής λειτουργίας κατά ειδικότητα των καπνεργατών. Η πιθανότητα στατιστικού λάθους, στην άκρα δεξιά στήλη του πίνακα, έχει υπολογιστεί με τη μέθοδο ανάλυσης της διακύμανσης (ANOVA).

Η ηλικία διέφερε ανά ομάδα ($p < 0,001$). Πα-

ρατηρείται, ότι οι υπόλοιποι εργαζόμενοι (στιβαδόροι, υπάλληλοι γραφείων κλπ) που ήσαν στην πλειονότητά τους άνδρες καπνιστές και εργάστηκαν περισσότερο χρόνο, εμφάνισαν χαμηλότερο FEV_1 ($p < 0,001$).

Με την εφαρμογή του μοντέλου πολλαπλής συσχέτισης (multiple regression) βρέθηκε ο FEV_1 επηρεάζεται περισσότερο από το χρόνο απασχόλησης ($p < 0,001$). Ο FEV_1 και ο χρόνος απασχόλησης συσχετίζονται ισχυρότερα στους μη καπνιστές ($p < 0,01$) παρά στους καπνιστές ($p < 0,05$), (Εικ. 1).

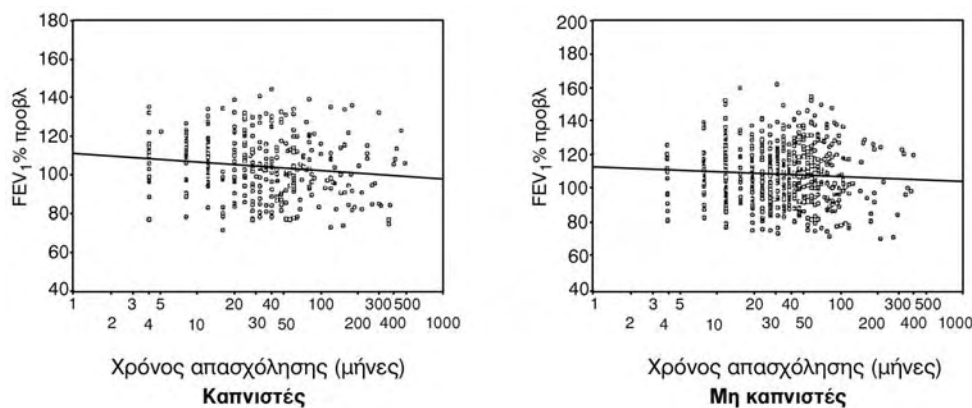
Τόσο στους εικοσιεπτά εργαζόμενους, που ανέφεραν στο ερωτηματολόγιο του MRC προσβολές συριγμού ή και δύσπνοιας ή είχαν ιστορικό βρογχικού άσθματος, όσο και στους δεκατέσσερις άλλους, που δεν παρουσίαζαν παρόμοια συμπτώματα και χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα σύγκρισης, δε διαπιστώθηκε ότι έπασχαν από βρογχικό άσθμα μετά τον έλεγχο.

Β) Επιδράσεις στο ανώτερο αναπνευστικό σύ-

Πίνακας 2. Αναπνευστική λειτουργία και θέση εργασίας

	Εργ. διαλογής	Εργ. τροφοδ.	Ράπτριες	Καθαρίστριες	Λοιποί	p
Αριθμός	132	569	68	38	213	
Άνδρες	0	6	0	0	182	
Γυναίκες	132	563	68	38	31	
Ηλικία	47,6±9,2	47±8,6	42,1±8,7	39,2±9	44,2±12,3	0,001
Χρ.εργασίας (μήνες)	41,6±28	36,8±24,5	52,5±26,9	57,6±57,8	107,7±108,9	
Καπνιστές, %	23,5	23,7	42,6	44,7	63,4	
FVC, %πρ	102±13,3	103,4±14,6	102±14,5	103,6±13,7	97,8±16,2	0,001
FEV_1 , %πρ	106,5±15,4	108,1±16,9	104,6±17	107,9±15,3	102,8±18,1	0,01
FEF_{25-75} , %πρ	88,1±18	91±17,8	82,8±18,2	86,5±15,6	94,5±22,9	0,001
FEV_1/FVC , %	88,6±3,8	88,8±4,4	87,7±4,5	89,2±3,1	86,7±5,5	0,01

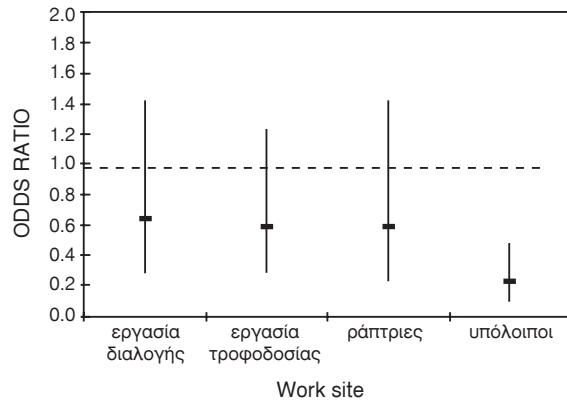
Οι τιμές της FVC, του FEV_1 και της FEF_{25-75} εκφράζονται επί τοις εκατό των προβλεπόμενων.



Εικ. 1. Επίδραση του χρόνου απασχόλησης στον FEV_1 .

Πίνακας 3. Συχνότητα ρινίτιδας και ρινική λειτουργία

	Εργάτες (No=1.020)	Μάρτυρες (No=469)	p
Συχνότητα ρινίτιδας, %	27,3	17,9	<0,001
Flow Sum, ml/sec	563±211	645±321	<0,001
Σοβαρή απόφραξη, %	46,2	36,2	<0,001

**Εικ. 2.** Σχετικός κίνδυνος (odds ratio) για την εμφάνιση σοβαρής ρινικής απόφραξης ανάλογα με τη θέση εργασίας (1=καθαρίστριες).

σημα

Η συχνότητα της ρινίτιδας, το άθροισμα των εισπνευστικών ροών και από τους δύο ρώθωνες (Flow Sum σε ml/sec, m±SD) και η συχνότητα της σοβαρής ρινικής απόφραξης (Flow Sum < 500 ml/sec) φαίνονται στον πίνακα 3.

Μεταξύ των εργατών και των μαρτύρων παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Ο εκτιμώμενος σχετικός κίνδυνος (odds ratio) για την εμφάνιση σοβαρής ρινικής απόφραξης βρέθηκε με βάση 1 στις καθαρίστριες και με πτωτική τάση, 0,64 για τους εργαζόμενους στη διαλογή, 0,59 για τους εργαζόμενους στην τροφοδοσία, 0,58 για τις ράπτριες και 0,22 για τους υπόλοιπους (p<0,001, Εικ. 2).

Στον πίνακα 4 φαίνονται οι σχέσεις θέσης εργασίας, βαριάς ρινικής απόφραξης και μεσοεκπνευστικής ροής. Φαίνεται, ότι τα άτομα που είχαν σοβαρή ρινική απόφραξη είχαν και χαμηλή μεσο-

Πίνακας 4. Θέση εργασίας, σοβαρή ρινική απόφραξη και μεσοεκπνευστική ροή

Θέση εργασίας	No	Flow Sum, <500 ml/sec (%)	FEF _{25-75'} , % προβλ
Εργ. διαλογής	132	52,3	88,1±18,0
Εργ. τροφοδοσίας	569	50,4	91,0±17,8
Ράπτριες	68	50	82,8±18,2
Καθαρίστριες	38	63,2	86,5±15,6
Υπόλοιποι	213	27,2	94,5±22,9

Πίνακας 5. Ευρήματα από τον αλλεργιολογικό έλεγχο

	Ασθενείς (No=76)	Μάρτυρες (No=35)
Ρινική πρόκληση θετική	53/76	3/35
Prick test θετικό	6/76	—
Ολική IgE υψηλή	21/76	3/35
Ανίχνευση ειδικής IgE	4/76	—
Ανίχνευση ειδικής IgG	-	—

εκπνευστική ροή στη σπιρομέτρηση.

Κατά τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου του MRC, 279 (27,3%) εργαζόμενοι ανέφεραν ρινίτιδα. Από αυτούς δέχτηκαν να υποβληθούν σε αναλυτικότερο έλεγχο οι 76, ενώ ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν 35 εργαζόμενοι στα γραφεία της καπνοβιομηχανίας που δεν είχαν σύμφωνα με το ερωτηματολόγιο συμπτώματα ρινίτιδας. Όλοι υποβλήθηκαν σε ειδική ρινική πρόκληση με αντιγόνα σκόνης καπνού, δερματικές δοκιμασίες στη σκόνη του καπνού και σε μέτρηση ολικής IgE, ειδικής IgE και IgG έναντι αντιγόνων σκόνης καπνού. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 5.

Από τα αποτελέσματα φαίνεται, ότι τα άτομα που είχαν ευαισθητοποιηθεί στη σκόνη των ξηρών φύλλων καπνού ήσαν μόλις έξι, από τα οποία τα τέσσερα είχαν θετική και την ειδική IgE.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι ευρεθείσες τιμές της συνολικής αιωρούμενης σκόνης στον εργασιακό χώρο κυμάνθηκαν από 45,3-54,4 mg/m³ αέρα. Αυτές οι τιμές ήσαν υπερβολικά υψηλές σε σύγκριση με ανάλογες μελέτες, όπου οι τιμές κυμαίνονταν σε σχετικά χαμηλά επίπεδα. Μεταξύ αυτών αναφέρονται: Valic και συν.²

0,9-27,5 mg/m³, Lander και Gravesen⁴ 0,27-0,89 mg/m³, Viegí και συν.⁶ 0,7-24,9 mg/m³, Kjaergaard και συν.⁷ 0,02-5,69 mg/m³ και Ghosh και συν.²⁰ 29,37 mg/m³. Πρέπει εδώ να τονιστεί, ότι δεν έχουν καθοριστεί επιτρεπτά επίπεδα έκθεσης στη σκόνη του καπνού.

Από την ανάλυση του ερωτηματολογίου του MRC διαπιστώθηκε, ότι το 8,6% των εργατών και το 20,9% των μαρτύρων παρουσίαζε χρόνια βρογχίτιδα. Η χρόνια βρογχίτιδα ήταν συχνότερη στους μάρτυρες, επειδή οι τελευταίοι υπερερούσαν ως προς την καπνισματική έξη (εν ενεργεία καπνιστές 35,8% έναντι 34% στους εργάτες και πρώην 10,9% έναντι 2,8% αντίστοιχα). Οι Valic και συν.² μελέτησαν 318 μη καπνίστριες εργαζόμενες σε καπνεργοστάσιο με τη χρήση ειδικού ερωτηματολογίου του MRC και βρήκαν συχνότητα χρόνιας βρογχίτιδας 7,5%, ποσοστό συγκρίσιμο με της παρούσας μελέτης. Οι Kjaergaard και συν. μελέτησαν 75 εργαζόμενους σε βιομηχανία κατασκευής πούρων και δε διαπίστωσαν αυξημένη συχνότητα χρόνιας βρογχίτιδας⁷. Αλλά ο Huuskonen και συν.⁵ σε μελέτη 57 εργαζόμενων σε καπνοβιομηχανία διαπίστωσαν υψηλά ποσοστά χρόνιας βρογχίτιδας (22,2%). Ο μικρός αριθμός των εξετασθέντων εργατών στις τελευταίες αυτές μελέτες καθιστά τη σύγκριση με την παρούσα επισφαλής.

Αισθητά μικρότερη από την αναμενόμενη ήταν και η συχνότητα της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας που βρέθηκε σε ποσοστό 1,3% στους εργάτες και 3,4% στους μάρτυρες ($p < 0,01$). Οι Sichletidis και συν.²¹ διαπίστωσαν ανάλογα μικρό ποσοστό αποφρακτικής πνευμονοπάθειας σε έρευνα στη Βόρεια Ελλάδα που κυμαινόταν από 2,4% έως 4% σε ειδικές ομάδες πληθυσμού.

Οι τιμές των FVC % προβλεπόμενης, FEV₁ % προβλεπόμενου και FEV₁/FVC% ήταν χαμηλότερες στους μάρτυρες, εκτός από την FEF₂₅₋₇₅% προβλεπόμενης που ήταν χαμηλότερη στους εργάτες. Φαίνεται, ότι ο συνολικός χρόνος απασχόλησης στο καπνεργοστάσιο επηρέασε με στατιστικά σημαντικό τρόπο την αναπνευστική λειτουργία των εργατών. Με την εφαρμογή του προτύπου ανάλυσης πολλαπλής συσχέτισης βρέθηκε, ότι ο FEV₁ επηρεάστηκε κυρίως από το χρόνο απασχόλησης και λιγότερο από τις καπνισματικές συνήθειες των εργαζόμενων. Η διαπίστωση ότι η εργασία επηρεάζει την αναπνευστική λειτουργία και κυρίως τις μικρές αεροφόρες οδούς βρίσκεται, σε γενικές γραμμές, σε συμφωνία με τα ευρήματα και άλλων συγγραφέων^{6,7,22,23}.

Δε διαπιστώθηκε βρογχικό άσθμα στους εργαζόμενους, γεγονός ωστόσο που μπορεί να οφείλεται στην επίδραση του φαινομένου του «υγιούς εργαζόμενου», δηλαδή της εγκατάλειψης της εργασίας από τους πάσχοντες, ενώ ο υγιής πληθυσμός συνεχίζει να εργάζεται, με αποτέλεσμα την υποεκτίμηση του προβλήματος. Οι προσβολές συριγμού ή και δύσπνοιας στους περισσότερους από τους 27 υπό συζήτηση εργαζόμενους θα μπορούσε να αποδοθούν σε έξαρση χρόνιας βρογχίτιδας. Σε αντίθεση με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, ποσοστό 69% των εργαζόμενων σε βιομηχανία κατασκευής πούρων που μελέτησαν οι Lander και Gravesen ανέφερε συμπτώματα συμβατά με άσθμα σε σχέση με 6% μόνο των μαρτύρων. Το γεγονός αποδόθηκε στα αντιγονικά συστατικά της σκόνης του καπνού⁴. Οι Viegí και συν. σε μελέτη 223 εργαζόμενων σε βιομηχανία κατασκευής σιγαρέττων και πούρων βρήκαν, ότι η συχνότητα ασθματικών συμπτωμάτων στους εργαζόμενους ήταν μεγαλύτερη από εκείνη του γενικού πληθυσμού της περιοχής⁶. Οι Kjaergaard και συν. μελέτησαν 75 εργαζόμενους σε βιομηχανία κατασκευής πούρων και τους συνέκριναν με 50 μάρτυρες. Στον έλεγχο της ευαισθητοποίησης στη σκόνη καπνού των εργαζόμενων με δερματικές δοκιμασίες (prick tests) οι αντιδράσεις, μολονότι συχνότερες σε σχέση με τους μάρτυρες, ήσαν πολύ ελαφρές και χωρίς κλινική σημασία⁷. Η ασυμφωνία των ευρημάτων των παραπάνω μελετών και της παρούσας θα μπορούσε να ερμηνευτεί από τις πιθανές διαφορές των καπνοφύλλων ως προς την προέλευση και την ποικιλία. Είναι γεγονός πάντως, ότι αντιγόνα ικανά να προκαλέσουν το σχηματισμό αντισωμάτων περιέχονται σε εκχυλίσματα φύλλων καπνού²⁴. Πρέπει επίσης να σημειωθεί, ότι δεν υπάρχει στο εμπόριο τυποποιημένο διάλυμα αντιγόνου καπνού, ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα από συγκρίσιμες δοκιμασίες.

Ουδείς από τους μελετηθέντες εργάτες παρουσίασε συμπτώματα εξωγενούς αλλεργικής κυψελίτιδας.

Διαπιστώθηκε, ότι η συχνότητα της ρινίτιδας ήταν 27,3% στους εργαζόμενους και 17,9% στους μάρτυρες. Η διατύπωση ενός ακριβούς ορισμού της ρινίτιδας αποτελεί πολύ δύσκολο πρόβλημα κατά το σχεδιασμό επιδημιολογικών ερευνών για την ανίχνευση του επιπολασμού της. Κατά κάποιον τρόπο ο καθένας έχει «ρινίτιδα», αφού ο ρινικός βλεννογόνος προκαλείται συνεχώς από ποικιλία περιβαλλοντικών ρύπων, ιών και μικροβίων και

στην πραγματικότητα «φυσιολογικός» ρινικός βλεννογόνος δεν υπάρχει²⁵. Οι Sibbald και Rink²⁶ διαπίστωσαν σε δείγμα 5.349 εξετασθέντων ατόμων στο Λονδίνο, ότι ο επιπολασμός της ρινίτιδας ήταν 24%. Οι μελέτες σχετικά με τη συχνότητα της επαγγελματικής ρινίτιδας είναι σπανιότατες. Οι Hytonen και συν. κατά τη διάρκεια περιόδου παρατηρήσεων 5 ετών κατέγραψαν στη Φινλανδία 1.244 νέες περιπτώσεις επαγγελματικής ρινίτιδας²⁷.

Από τη συσχέτιση των ρινικών συμπτωμάτων και των ευρημάτων της ρινομανομέτρησης με την ειδικότητα των εργαζομένων φάνηκε, ότι για την εμφάνιση ρινίτιδας στους εργάτες σημαντικό ρόλο έπαιξε η θέση εργασίας και άρα η πυκνότητα της σκόνης καπνού στον αέρα.

Η χρόνια εισπνοή σκόνης είναι η συνηθέστερη αιτία βλάβης του ρινικού βλεννογόνου, για την πρόκληση της οποίας δεν έχουν τόση σημασία οι μηχανικές ιδιότητες της σκόνης, όσο η χημική της ενέργεια και η περιεκτικότητά της σε μικρόβια. Έχει διαπιστωθεί ότι η έκθεση σε σκόνη των εργαζομένων σε βιομηχανία κατεργασίας ξύλου προκαλεί σοβαρή διαταραχή της ρινικής βλεννοκροσσωτής κάθαρσης²⁸. Αντιθέτως, η εισπνοή αδρανούς σκόνης σε επίπεδα μέχρι και 25 mg/m³ δεν προκαλεί μεταβολές στη ρινική βλεννοκροσσωτή κάθαρση ή στις ρινικές αντιστάσεις²⁹.

Από τη μελέτη των σχέσεων θέσεις εργασίας, μεσοεκπνευστικής ροής και βαρύτητας της ρινικής απόφραξης μπορεί να πιθανολογηθεί, ότι η βλάβη των ανώτερων αναπνευστικών οδών, που εκδηλώνεται ως ρινική δυσλειτουργία, σχετίζεται με την εμφάνιση έκπτωσης της λειτουργίας του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος. Η ελάττωση της μεσοεκπνευστικής ροής μπορεί να οφείλεται σε ενεργοποίηση νευρικών αντανακλαστικών μηχανισμών που συνδέουν τη μύτη με τους βρόγχους³⁰.

Από τον αλλεργιολογικό έλεγχο βρέθηκε, ότι μόνον 6 εργάτες είχαν ευαισθητοποιηθεί και παρουσίαζαν αλλεργική ρινίτιδα στη σκόνη των ξηρών φύλλων καπνού. Οι υπόλοιποι δεν είχαν ευαισθητοποιηθεί στα αντιγόνα της σκόνης καπνού (non sensitized), ούτε βεβαίως μπορεί να θεωρηθούν ως απευαισθητοποιηθέντες (desensitized), δεδομένου ότι σε κανένα δεν ανιχνεύθηκαν IgG έναντι αντιγόνου σκόνης καπνού. Η διαπίστωση θετικής ρινικής πρόκλησης στους υπόλοιπους από τους 53 εργαζόμενους με συμπτωματολογία από τη μύτη, που δεν φαίνεται να είχαν ευαισθητοποιηθεί στα αντιγόνα της σκόνης καπνού, υποδηλώνει μάλλον την παρουσία ιδιοπαθούς (αγγειοκινητικής)

ρινίτιδας. Το γεγονός δε ότι η ρινική πρόκληση ήταν θετική μόνο σε 3 από τους 35 μάρτυρες δείχνει, ότι η πυκνότητα του διαλύματος του αντιγόνου σκόνης καπνού που χρησιμοποιήθηκε δεν ήταν ερεθιστική για το φυσιολογικό ρινικό βλεννογόνο. Οι Valic και συν.² στη μελέτη τους σε 318 μη καπνίστριες εργαζόμενες σε καπνεργοστάσιο βρήκαν ρινική καταροή σε 11%, ποσοστό που δε διέφερε από την ομάδα ελέγχου. Οι Viegli και συν.⁶ αντίθετα διαπίστωσαν, ότι η συχνότητα ρινίτιδας των εργαζομένων ήταν μεγαλύτερη από εκείνη του γενικού πληθυσμού της περιοχής. Οι Gleich και συν.³ ανέφεραν μία περίπτωση αλλεργικής ρινίτιδας και άσθματος που εμφανίστηκε μετά τρία έτη εργασίας στην επεξεργασία φύλλων καπνού. Έχει βρεθεί, ότι η επίδραση καπνού τσιγάρου ή άλλων μηχανικών ή χημικών ερεθισμάτων προκαλεί φλεγμονή του αναπνευστικού βλεννογόνου που οφείλεται σε απελευθέρωση ουσίας P από αμύελες C-νευρικές ίνες³¹. Η φλεγμονή του επιθηλίου των αεραγωγών και η ανάπτυξη ρινικής υπεραντιδραστικότητας συνδέονται στενά³², με αποτέλεσμα την εγκατάσταση μόνιμης δυσλειτουργίας του ρινικού βλεννογόνου. Όμως, δε μπορεί να απορριφθεί το ενδεχόμενο της τοπικής παραγωγής και έκκρισης IgE χωρίς συστηματική ευαισθητοποίηση, υπόθεση που έχει προταθεί για την εξήγηση της αλλεργικής ρινίτιδας σε ασθενείς με αρνητικές δερματικές δοκιμασίες³³.

Η εργασία επιδοτήθηκε από το Κεντρικό Συμβούλιο Υγείας του Υπουργείου Υγείας- Πρόνοιας και Κοινωνικών Ασφαλίσεων.

ABSTRACT

Chloros D, Sichletidis L, Kyriazis G, Vlachogianni E, Tsiotsios I, Kakoura M. Effect on the respiratory system of the processing of dried tobacco leaves. Hell Iatr 2004, 70: 50 - 58.

Aim of this study was to examine the pollution levels of the occupational environment and to investigate the effects of the occupational exposure to tobacco dust on the respiratory system of tobacco workers, during the processing of dried tobacco leaves. No such study has been previously conducted in Greece, which is one of the important tobacco producing countries. Cases of 1,020 seasonal and permanent tobacco workers (188 men and 832 women) were studied in a factory of Thessaloniki. The study included: 1) Filling out of a questionnaire (British Medical Research Council 1986), 2) Spirometry

and 3) Rhinomanometry. At the same time, measurement of the tobacco dust levels in the working environment was performed. As controls, 469 (87 men and 382 women) workers of a Thessaloniki hospital were used. Seventy six workers with nasal symptoms underwent: 1) Special nasal provocation test with tobacco dust antigen, 2) Prick tests and 3) Measurement of total IgE, specific IgE and specific IgG against tobacco protein. Very high levels of the total suspended dust were found in the work site air (45.3-54.4 mg/m³). The chronic bronchitis prevalence was 8.6% versus 20.9% in controls. Chronic obstructive pulmonary disease was found in 13 workers (1.3%) and in 16 controls (3.4%). FEV₁% pred, FVC%pred and FEV₁/FVC ratio were lower in controls, whereas FEF₂₅₋₇₅%pred was lower in workers. There were no workers with bronchial asthma or extrinsic allergic alveolitis. Rhinitis was reported in 27.3% versus 17.9% of controls, whereas nasal flows were 563±211 against 645±321 ml/sec, respectively. According to prick tests results, 6 workers were sensitized to the dust of dried tobacco leaves. The results of our study do not support an association between the development of chronic diseases of the lower respiratory system and pollutants associated with the processing of dried tobacco leaves. On the contrary, an association between disorders of the upper airways and tobacco dust in work sites is postulated.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. *International Labour Office*. Encyclopedia of Occupational Health and Safety. ILO, Geneva 1983: 2182-4.
2. *Valic F, Beritic D, Butkovic D*. Respiratory response to tobacco dust exposure. *Am Rev Respir Dis* 1976, 113: 751-5.
3. *Gleich GL, Welsh PW, Yunginer JW, Hyatt RE, Catlett JB*. Allergy to tobacco: an occupational hazard. *N Engl J Med* 1980, 302: 617-9.
4. *Lander F, Gravesen S*. Respiratory disorders among tobacco workers. *Br J Ind Med* 1988, 45: 500-2.
5. *Huuskonen MS, Husman K, Jarvisalo J, Korhonen O, Kotimaa M, Kuusela T, Nordman H, Zitting A, Mantyarvi R*. Extrinsic allergic alveolitis in the tobacco industry. *Br J Ind Med* 1984, 41: 77-83.
6. *Viegi G, Paggiaro PL, Begliomini E, Vaghetti E, Paoletti P, Giuntini C*. Respiratory effects of occupational exposure to tobacco dust. *Br J Ind Med* 1986, 43: 802-8.
7. *Kjaergaard SK, Pedersen OF, Fryndenbergh M, Schonheyder H, Andersen P, Bonde GL*. Respiratory disease and lung function in a tobacco industry. *Arch Environ Health* 1989, 44: 164-70.
8. *Medical Research Council's Committee on Environmental and Occupational Health*. Questionnaire on respiratory symptoms. London 1986.
9. *Medical Research Council Special Committee on Aetiology of Chronic Bronchitis*. Definition and classification of chronic bronchitis for clinical and epidemiological purposes. *Lancet* 1965, 1: 775-9.
10. *American Thoracic Society*. Standardization of spirometry-1987 update. *Am Rev Respir Dis* 1987, 136: 1285-98.
11. *Quanjer PH, Tammeling GL, Cotes JE, Pedersen OF, Peislin R, Yernault JC*. Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party, Standardization of lung function tests, European Community for Steel and Coal, Official statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J* 1993, 6 (Suppl 16): 5-40.
12. *The COPD Guidelines Group of the Standards of Care Committee of the British Thoracic Society*: BTS guidelines for the management of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1997, 52 (Suppl 5): 1-28.
13. *Clement PAR*. Committee report on standardization of rhinomanometry. *Rhinology* 1984, 22: 151-5.
14. *Clement PAR, Hirsch C*. Rhinomanometry-a review. *ORL* 1984, 46: 173-91.
15. *Bachmann W, Bachert C (eds)*. Die behinderte Nasenatmung: Ein diagnostisches Vademekum. Munchen-Deisenhofen, Dusti-Verlag Dr. Karl Feistle, 1987: 25.
16. *General Purpose Personal Sampler*. Instruction Leaflet 3110/TT. CF Casella & Co Ltd, London 1979.
17. The Committee on Skin Test Standardization of the Netherlands Society of Allergology. Report on skin test standardization. *Clin Allergy* 1988, 18: 305-10.
18. *Wilson MR, Karr RM, Salvaggio JE*. Contribution of immunologic techniques to current understanding of occupational lung disease. In: Weil H and Turner-Warwick M (eds). *Occupational Lung Diseases. Research Approaches and Methods*. New York Marcel Dekker Inc, 1981: 125-42.
19. *Dawson-Saunders Bo, Trapp RG*. Basic and Clinical Biostatistics. London Prentice-Hall International (UK) Ltd, 1990.
20. *Ghosh SK, Parikh JR, Gokani VN, Rao NM, Doctor PB*. Occupational health problems among tobacco workers: a preliminary study. *Arch Environ Health* 1985, 40: 318-21.
21. *Sichletidis L, Daskalopoulou E, Tsiotsios I, Chloros D, Ziomas I, Zerefos Ch, Michailidis K, Pechlivanidis Th*. The effects of air pollution on the respiratory system of coal-workers. *Eur Respir J* 1997, 10 (Suppl 25): 229.
22. *Mukhtar M-S R, Rao GMM, Gamra NS, Afan AM, Zendah MI*. Respiratory effects of occupational exposure to tobacco dust. *Respiration* 1991; 58: 271-6.
23. *Speziale M, Fornaciai G, Monechi MV*. Una manifattura di tabacco: indagine ambientale e sanitaria. *Med Lav* 1994; 85: 149-56.
24. *Gleich GL, Welsh PW*. Immunochemical and physicochemical properties of tobacco extracts. *Am Rev Respir Dis* 1979, 120: 995-1001.
25. *van Cauwenberge P*. Diagnosis of rhinitis coexisting with

- asthma. *Eur Respir Rev* 1997, 7: 288-91.
26. *Sibbald B, Rink E*. Epidemiology of seasonal and perennial rhinitis: clinical presentation and medical history. *Thorax* 1991, 46: 895-901.
27. *Hytonen M, Kanerva L, Malmberg H, Martikainen R, Mutanen P, Toikkanen J*. The risk of occupational rhinitis. *Int Arch Occup Environ Health* 1997, 69: 487-90.
28. *Black A, Evans J, Hadfield E, Macbeth R, Morgan A, Walsh M*. Impairment of nasal mucociliary clearance in woodworkers in the furniture industry. *Br J Ind Med* 1974, 31: 10-7.
29. *Andersen IB, Lundqvist GR, Proctor DF, Swift DL*. Human response to controlled levels of inert dust. *Am Rev Respir Dis* 1979, 119: 619-27.
30. *Kaufman J, Wright GW*. The effect of nasal and nasopharyngeal irritation on airway resistance in man. *Am Rev Respir Dis* 1969, 100: 626-30.
31. *Lundberg JM, Saria A*. Capsaicin-induced desensitization of airway mucosa to cigarette smoke, mechanical and chemical irritants. *Nature* 1983, 302: 251-3.
32. *Anggard A*. Perennial rhinitis. In: Lichtenstein LM and Fauci AS (eds). *Current Therapy in Allergy, Immunology and Rheumatology*, 4th ed. St Louis Mosby-Year Book Inc, 1992: 10-7.
33. *Huggins KG, Brostoff J*. Local production of specific IgE antibodies in allergic rhinitis with negative skin tests. *Lancet* 1975, ii: 148-50.

Αλληλογραφία:

Λ. Σιγλετίδης
Κ. Ντηλ 3
546 23 Θεσσαλονίκη

Corresponding author:

L. Sihletidis
3, Ch. Diehl Str.
546 23 Thessaloniki
Greece

Επίπεδα ρεζιστίνης στον ορό γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών

Δ. Πανίδης¹, Γ. Κολιάκος², Α. Κούρτης¹, Δ. Φαρμακιώτης¹,
Τ. Μούσλεχ¹, Δ. Ρούσσοι¹

¹ Τμήμα Ενδοκρινολογίας και Ανθρώπινης Αναπαραγωγής, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, ΑΠΘ

² Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, ΑΠΘ

Περίληψη. Η μελέτη αυτή σχεδιάστηκε με σκοπό: α) την εκτίμηση των επιπέδων της ρεζιστίνης στον ορό γυναικών με PCOS και με φυσιολογικό ή παθολογικό δείκτη μάζας σώματος (BMI), και β) την αναζήτηση πιθανής συσχέτισης των τιμών της ρεζιστίνης με το BMI και με τις ορμονικές και μεταβολικές παραμέτρους. Μελετήθηκαν 90 επιλεγμένες γυναίκες, οι οποίες κατατάχθηκαν σε τρεις ομάδες, ανάλογα με την τιμή του BMI και με την ύπαρξη ή όχι του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών. Η πρώτη ομάδα αποτελούνταν από 35 γυναίκες με PCOS και παθολογικό BMI. Στη δεύτερη ομάδα ανήκαν 35 γυναίκες με PCOS και φυσιολογικό BMI. Η τρίτη, τέλος, ομάδα περιλάμβανε 20 ωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες, χωρίς υπερανδρογοναιμία και με φυσιολογικό BMI. Αιμοληψίες για τον προσδιορισμό της FSH, της LH, της τεστοστερόνης, της Δ4-ανδροστενδιόνης, της DHEA-S, της προλακτίνης, της 17α-υδροξυπρογεστερόνης, της SHBG, της ινσουλίνης,

της ρεζιστίνης και της γλυκόζης, έγιναν μεταξύ της τρίτης και της έκτης ημέρας του εμμηνορρυσιακού κύκλου, στις 9 π.μ., ύστερα από ολονύκτια νηστεία. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι: α) τα επίπεδα της ρεζιστίνης στον ορό των γυναικών της πρώτης ομάδας ήταν σημαντικά υψηλότερα από εκείνα των γυναικών της δεύτερης ομάδας και από εκείνα των γυναικών της τρίτης ομάδας, β) δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στις τιμές της ρεζιστίνης του ορού ανάμεσα στις γυναίκες της δεύτερης και της τρίτης ομάδας, και γ) ο δείκτης μάζας σώματος αποτελούσε το μόνο ανεξάρτητο παράγοντα που επηρέαζε τα επίπεδα ρεζιστίνης. Τα ευρήματα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι η ρεζιστίνη δε φαίνεται να συνδέεται με την αντίσταση στην ινσουλίνη, όταν η αντίσταση στην ινσουλίνη δε συνοδεύεται από παχυσαρκία. Επιπλέον, η ρεζιστίνη δεν παίζει, πιθανότατα, σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του PCOS. *Ελλην Ιατρ 2004, 70: 59 - 65.*

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS), που χαρακτηρίζεται από χρόνια ανωθυλακιορρηξία και υπερανδρογοναιμία, προσβάλλει το 5-10% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας¹. Αποτελεί την κύρια ενδοκρινοπάθεια των γυναικών και τη συχνότερη αιτία ανωθυλακιορρηκτικής υπογονιμότητας². Έτσι, ποσοστό 50-70% των περιπτώσεων με υπογονιμότητα, λόγω ανωθυλακιορρηξίας, εμφανίζει το σύνδρομο των πο-

λυκυστικών ωοθηκών^{3,4}.

Η παθογένεια του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών παραμένει αδιευκρίνιστη⁵. Υψηλό ποσοστό γυναικών με PCOS παρουσιάζει αντίσταση στην ινσουλίνη και αντισταθμιστική υπερινσουλιναίμια, που αποτελούν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του συνδρόμου και ενδέχεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της υπερανδρογοναιμίας. Τόσο οι λεπτόσωμες όσο και οι παχύσαρκες γυναίκες με PCOS παρουσιάζουν ενδεί-

ξεις μειωμένης ευαισθησίας των ιστών στη δράση της ινσουλίνης⁶, αλλά η αντίσταση στην ινσουλίνη και η αντισταθμιστική υπερινσουλιναιμία είναι περισσότερο εκσεσημασμένες στις παχύσαρκες γυναίκες με PCOS^{7,8}.

Η αντίσταση στην ινσουλίνη και η υπερινσουλιναιμία αυξάνουν τον κίνδυνο για πιθανές μακροπρόθεσμες μεταβολικές επιπλοκές. Στις επιπλοκές αυτές περιλαμβάνονται η διαταραχή της ανοχής της γλυκόζης (μέχρι 35%) και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (μέχρι 10%)⁹, η δυσλιπιδαιμία και η καρδιαγγειακή νόσος¹⁰.

Το λιποκύτταρο θεωρείται, πλέον, δυναμικό στοιχείο του συστήματος των ενδοκρινών αδένων, που συντονίζει τον ενεργειακό μεταβολισμό και τροποποιεί την ευαισθησία των ιστών στη δράση της ινσουλίνης, μέσω της έκκρισης ποικιλίας ουσιών, των “λιποκινών”^{11,12}. Από τις ουσίες αυτές, πιο πρόσφατα ανακαλύφθηκε η ρεξιστίνη, πεπτίδιο με 114 αμινοξέα, που πήρε το όνομά του από το γεγονός ότι θεωρήθηκε ο κρίκος ο οποίος συνδέει την παχυσαρκία με το σακχαρώδη διαβήτη¹³. Έτσι, τα επίπεδα της ρεξιστίνης στον ορό αυξάνονται σε διάφορες μορφές παχυσαρκίας, γενετικής ή επίκτητης αιτιολογίας, ενώ ελαττώνονται ύστερα από χορήγηση ροσιγλιταζόνης. Επιπλέον, η χορήγηση αντισωμάτων έναντι της ρεξιστίνης βελτιώνει τα επίπεδα της γλυκόζης και την ανταπόκριση στην ινσουλίνη σε παχύσαρκα, λόγω ειδικής διαίτας, ποντίκια. Ακόμη, η χορήγηση ανασυνδυασμένης ρεξιστίνης σε φυσιολογικά ποντίκια διαταράσσει την ανοχή στη γλυκόζη και την ομαλή δράση της ινσουλίνης. Τέλος, η ινσουλινοεξαρτώμενη πρόσληψη γλυκόζης από τα λιποκύτταρα αυξάνεται ύστερα από αδρανοποίηση της ρεξιστίνης και ελαττώνεται ύστερα από χορήγηση της ορμόνης αυτής¹³.

Με τα παραπάνω δεδομένα οι Steppan και συν.¹³ πρότειναν τη ρεξιστίνη ως τον κρίκο που συνδέει την παχυσαρκία με το σακχαρώδη διαβήτη. Η άποψη, όμως, αυτή δε γίνεται αποδεκτή από όλους τους ερευνητές¹⁴⁻²².

Επειδή υψηλό ποσοστό γυναικών με PCOS παρουσιάζει παχυσαρκία, διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και επειδή η ρεξιστίνη αποτελεί, ενδεχομένως, τον κρίκο που συνδέει την παχυσαρκία με το σακχαρώδη διαβήτη, η μελέτη αυτή σχεδιάστηκε με σκοπό: α) την εκτίμηση των επιπέδων της ρεξιστίνης στον ορό γυναικών με PCOS και με φυσιολογικό ή παθολογικό δείκτη μάζας σώματος (BMI), και β) την

αναζήτηση πιθανής συσχέτισης των τιμών της ρεξιστίνης με το BMI και με τις ορμονικές και μεταβολικές παραμέτρους. Σημειώνεται ότι δεν υπάρχουν άλλες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία, που να αναφέρονται στα επίπεδα ρεξιστίνης ορού σε γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Μελετήθηκαν 90 επιλεγμένες γυναίκες, ηλικίας 14-39 ετών (μέση τιμή±SD: 26,8±4,7 έτη), οι οποίες προσήλθαν στο Εξωτερικό Ιατρείο Γυναικολογικής Ενδοκρινολογίας με ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω συμπτώματα: ολιγομηνόρροια, πρόβλημα γονιμότητας, υπερτρίχωση, ακμή και απόπτωση των τριχών της κεφαλής ανδρικού τύπου. Καμιά από τις γυναίκες δεν παρουσίαζε γαλακτορροια και συστηματικές ή άλλες παθήσεις, που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη λειτουργία του γεννητικού άξονα. Επίσης, καμιά γυναίκα δεν ανέφερε λήψη φαρμάκων το τελευταίο εξάμηνο, που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη λειτουργία του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες.

Οι 90 γυναίκες κατατάχθηκαν σε τρεις ομάδες, ανάλογα με την τιμή του BMI και με την ύπαρξη ή όχι του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών. Η πρώτη ομάδα (Ομάδα I) αποτελούνταν από 35 γυναίκες με PCOS και παθολογικό BMI (μέση τιμή±SD: 32,5±6,6 Kg/m², όρια 25,3 έως 44,9 Kg/m²). Στη δεύτερη ομάδα (Ομάδα II) ανήκαν 35 γυναίκες με PCOS και φυσιολογικό BMI (21,6±1,6 Kg/m², όρια 18,6 έως 24,8 Kg/m²). Η τρίτη, τέλος, ομάδα (Ομάδα III) περιλάμβανε 20 ωοθυλακιορρηκτικές γυναίκες, χωρίς υπερανδρογοναιμία, και με φυσιολογικό BMI (21,6±3,0 Kg/m², όρια 18,3 έως 24,9 Kg/m²).

Η διάγνωση του PCOS στις ασθενείς των Ομάδων I και II στηρίχθηκε στο ιστορικό, στην κλινική εξέταση, στην υπερηχογραφική εκτίμηση των έσω γεννητικών οργάνων και στον προσδιορισμό των βασικών επιπέδων της θυλακιότροπου ορμόνης (FSH), της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH), της τεστοστερόνης (T), της Δ₄-ανδροστενιδιόνης (Δ₄A) και της θειικής δεϋδροεπιανδροστερόνης (DHEA-S). Επιπλέον, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της προλακτίνης (PRL), της 17α-υδροξυ προγεστερόνης, της σφαιρίνης που συνδέει τις ορμόνες του φύλου (SHBG), της ινσουλίνης, της ρεξιστίνης και της γλυκόζης. Τέλος, υπολογίστηκαν ο δείκτης ελεύθερων ανδρογόνων (FAI: Free Androgen Index) και η σχέση γλυκόζης προς ινσουλίνη.

Οι αιμοληψίες για τον προσδιορισμό των παραπάνω παραμέτρων έγιναν μεταξύ της τρίτης και της έκτης ημέρας του εμμηνορροσιακού κύκλου, στις 9 π.μ., ύστερα από ολονύκτια νηστεία. Η γλυκόζη του ορού προσδιορίστηκε με την ενζυμική μέθοδο (GOD/POD). Οι τιμές της LH, της FSH και της PRL μετρήθηκαν με την ανοσοενζυμική μέθοδο (MEIA), οι τιμές της ινσουλίνης, των ανδρογόνων και της 17α-υδροξυ προγεστερόνης με τη ραδιοανοσολογική μέθοδο, ενώ οι τιμές της SHBG με την ανοσοραδιομετρική μέθοδο, με τη βοήθεια έτοιμων αντιδραστηρίων, που φέρονται στο εμπόριο με τη μορφή kits (FSH: Radioisotopic Kit, Nichols Institute Diagnostics, San Juan Capistrano, California, 92675, USA. LH: Radioisotopic Kit, Nichols Institute Diagnostics, San Juan Capistrano, California, 92675, USA. PRL: Radioisotopic Kit,

Nichols Institute Diagnostics, San Juan Capistrano, California, 92675, USA. T: Direct Radio-immunoassay Kit, Sorin, Biomedica. Δ₄A: Gamma Coat [¹²⁵I] Radio-immunoassay Kit, Incstar Corporation. DHEA-S: Direct Radio-immunoassay Solid Phase Coated Tubes, Zer Science Based Industries Ltd. 17α-OH προγεστερόνη: ImmuChem Double Antibody [¹²⁵I] Radio-immunoassay Kit, ICN Pharmaceuticals, Inc. SHBG: [¹²⁵I] Immunoradiometric Assay Kit, Orion Diagnostica. Insulin: Coat-A-count Insulin, Diagnostic Products Corporation). Τέλος, τα επίπεδα της ρεξιστίνης προσδιορίστηκαν με την ανοσοενζυμική μέθοδο, με τη βοήθεια έτοιμων αντιδραστηρίων, που φέρονται στο εμπόριο με τη μορφή kits (Phoenix Pharmaceuticals Inc. Belmont CA).

Για τη σύγκριση των μέσων τιμών χρησιμοποιήθηκε το unpaired t-test, ύστερα από λογαριθμική μετατροπή των τιμών. Οι συσχετίσεις ανάμεσα στη ρεξιστίνη και στις διάφορες παραμέτρους έγιναν με τον υπολογισμό του συντελεστή συσχέτισης Pearson, ύστερα από λογαριθμική μετατροπή των τιμών. Ο βαθμός της ανεξάρτητης συσχέτισης των διαφόρων παραμέτρων στα επίπεδα της ρεξιστίνης εκτιμήθηκε με τη δοκιμασία πολλαπλής εξάρτησης (Multiple regression analysis), ύστερα από λογαριθμική μετατροπή των τιμών. Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS (ver.11.0)

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται τα κλινικά στοιχεία των γυναικών των τριών ομάδων που μελετήθηκαν. Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στην ηλικία μεταξύ των γυναικών των τριών ομάδων. Αντίθετα, οι γυναίκες της Ομάδας I εμφάνιζαν σημαντικά υψηλότερο BMI από εκείνο των γυναικών της Ομάδας II ($p < 0,001$) και της Ομάδας III ($p < 0,001$). Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στο BMI μεταξύ των γυναικών των Ομάδων II και III.

Στον πίνακα 2 καταγράφονται τα επίπεδα της FSH, της LH, της προλακτίνης, της τεστοστερόνης, της Δ₄-ανδροστενδιόνης, της θειικής δεϋδροεπιανδροστερόνης, της 17α-υδροξυπρογεστερόνης, της SHBG, της ινσουλίνης, της γλυκόζης και της ρεξιστίνης, καθώς και ο δείκτης ελεύθερων ανδρογόνων και ο λόγος γλυκόζης προς ινσουλίνη στον ορό των γυναικών των τριών ομάδων που μελετήθηκαν. Οι γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστι-

κών ωοθηκών (Ομάδες I και II) παρουσίαζαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα FSH ορού από τις μάρτυρες (Ομάδα III). Έτσι, οι τιμές της FSH των γυναικών της Ομάδας I ήταν σημαντικά χαμηλότερες από εκείνες των γυναικών της Ομάδας III ($p < 0,05$), όπως και οι τιμές της FSH των γυναικών της ομάδας II ήταν σημαντικά χαμηλότερες από εκείνες των γυναικών της Ομάδας III ($p < 0,01$). Εξάλλου, οι τιμές της LH των λεπτόσωμων γυναικών με PCOS (Ομάδα II) ήταν υψηλότερες από εκείνες των παχύσαρκων γυναικών με PCOS (Ομάδα I) και από εκείνες των μαρτύρων (Ομάδα III). Έτσι, οι τιμές της LH των γυναικών της Ομάδας II ήταν σημαντικά υψηλότερες από εκείνες των γυναικών των Ομάδων I και III ($p < 0,005$ και $p < 0,05$, αντίστοιχα). Τέλος, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της προλακτίνης ορού ανάμεσα στις γυναίκες των τριών ομάδων, μολονότι πέντε γυναίκες της ομάδας I (14,3%) και δύο γυναίκες της Ομάδας II (5,7%) είχαν τιμές προλακτίνης ορού υψηλότερες από το ανώτερο φυσιολογικό όριο.

Οι τιμές της ολικής τεστοστερόνης στον ορό των παχύσαρκων και των λεπτόσωμων γυναικών με PCOS δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους. Οι τιμές αυτές, όμως, ήταν σημαντικά υψηλότερες από ό,τι στις μάρτυρες (Ομάδα I έναντι Ομάδας III: $p < 0,001$, Ομάδα II έναντι Ομάδας III: $p < 0,001$). Παρόμοια ήταν και η σχέση των τιμών της Δ₄-ανδροστενδιόνης (Ομάδα I έναντι Ομάδας III: $p < 0,001$, Ομάδα II έναντι Ομάδας III: $p < 0,001$). Παρόμοια ήταν, τέλος, η σχέση των τιμών της θειικής δεϋδροεπιανδροστερόνης, καθώς δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της ορμόνης ανάμεσα στις Ομάδες I και II, ενώ οι τιμές της θειικής δεϋδροεπιανδροστερόνης στον ορό των γυναικών των ομάδων αυτών ήταν σημαντικά υψηλότερες από εκείνες της Ομάδας III (Ομάδα I έναντι Ομάδας III: $p < 0,001$, Ομάδα II έναντι Ομάδας III: $p < 0,001$). Όσον αφορά τις τιμές του FAI, οι γυναίκες με πολυκυστικές ωοθήκες είχαν σημαντικά υψηλότερες τιμές FAI από ό,τι οι μάρτυρες (Ομάδα I ε-

Πίνακας 1. Κλινικά στοιχεία των γυναικών των τριών ομάδων που μελετήθηκαν (μέση τιμή ± SD, όρια των τιμών)

Κλινικά στοιχεία	Ομάδες ατόμων		
	I	II	III
Αριθμός ατόμων (n)	35	35	20
Διάγνωση	PCOS, παθολογικό BMI	PCOS, φυσιολογικό BMI	Μάρτυρες, φυσιολογικό BMI
Ηλικία (έτη)	26,80±5,2 (14-39)	25,7±4,0 (18-38)	28,6±4,5 (21-36)
BMI (Kg/m ²)	32,5±6,1 (25,3-44,9)	21,6±1,6 (18,6-24,8)	21,6±3,0 (18,3-24,9)

Πίνακας 2. Επίπεδα ορμονών στον ορό των γυναικών των τριών ομάδων που μελετήθηκαν (μέση τιμή \pm SD, όρια των τιμών)

Ορμόνες που μετρήθηκαν	I	Ομάδες απόμων II	III	Φυσιολογικές τιμές
FSH (mIU/ml)	5,6 \pm 2,0 (1,5-10,2)	5,7 \pm 1,4 (3,2-9,0)	6,8 \pm 2,2 (3,6-10,6)	3,6-13,7
LH (mIU/ml)	6,1 \pm 3,2 (1,6-16,2)	9,1 \pm 5,3 (2,4-26,7)	6,3 \pm 2,2 (3,9-10,4)	1,9-11,9
PRL (ng/ml)	13,9 \pm 8,4 (4,8-35,5)	14,5 \pm 6,1 (5,0-31,5)	11,5 \pm 5,1 (4,4-21,6)	3,0-23,2
T (ng/dl)	92,6 \pm 23,9 (60,0-165,0)	93,8 \pm 24,9 (47,0-170,0)	33,4 \pm 10,3 (12,9-45,0)	10-80
Δ_4 A (ng/ml)	3,0 \pm 1,1 (1,2-6,5)	2,9 \pm 1,0 (1,2-6,0)	1,6 \pm 0,4 (1,0-2,2)	0,6-2,7
DHEA-S (ng/ml)	2954,6 \pm 896,6 (1690-5586)	2807,5 \pm 1106,0 (1254-5100)	1380,7 \pm 282,1 (984,0-1949,0)	400-3800
17 α -υδροξυπρογεστερόνη (ng/ml)	1,1 \pm 0,4 (0,4-2,0)	1,1 \pm 0,4 (0,4-2,0)	0,6 \pm 0,2 (0,3-1,0)	0,2-1,0
SHBG (nmol/l)	28,5 \pm 14,6 (11,0-68,0)	38,9 \pm 17,0 (12,0-80,0)	69,4 \pm 24,7 (38,0-110,0)	20,0-120,0
Ινσουλίνη (μIU/l)	14,7 \pm 9,7 (4,0-37,0)	7,9 \pm 3,8 (2,4-20,0)	5,7 \pm 2,0 (3,0-10,0)	4,0-25,0
Γλυκόζη (mg/dl)	91,1 \pm 13,0 (70,0-135,0)	84,2 \pm 10,2 (70,0-113,0)	82,2 \pm 6,8 (75,0-96,0)	70-110
FAI (T σε nmol/l)				
X100/SHBG σε nmol/l)	14,6 \pm 8,3 (3,8-35,3)	10,6 \pm 7,0 (3,7-33,5)	2,0 \pm 1,2 (0,5-4,1)	<5
Γλυκόζη/Ινσουλίνη (Γλυκόζη σε mg/dl-Ινσουλίνη σε μIU/l)	8,9 \pm 5,1 (2,5-20,0)	12,6 \pm 5,2 (4,5-29,2)	15,9 \pm 4,7 (9,0-25,0)	>4,5
Ρεξιστίνη (ng/ml)	19,2 \pm 27,4 (2,1-139,5)	6,6 \pm 8,2 (1,3-49,5)	5,8 \pm 3,5 (1,9-16,5)	—

ναντι Ομάδας III: $p < 0,001$, Ομάδα II έναντι Ομάδας III: $p < 0,05$). Σε αντίθεση, όμως, με ό,τι συνέβαινε με τις τιμές των ολικών ανδρογόνων οι τιμές του FAI των γυναικών της Ομάδας I ήταν σημαντικά υψηλότερες από εκείνες των γυναικών της Ομάδας II ($p < 0,05$).

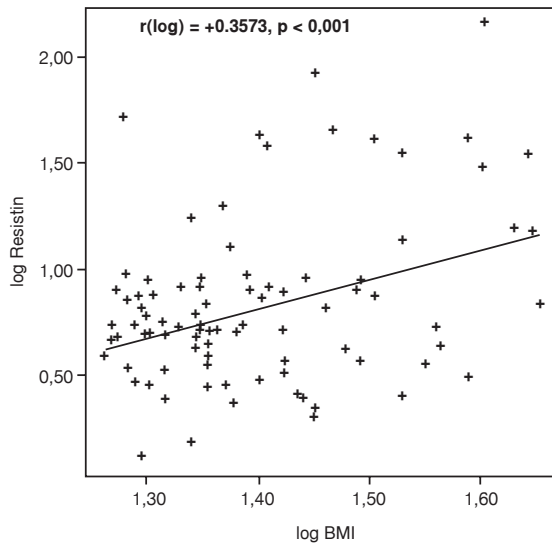
Οι τιμές της 17 α -υδροξυπρογεστερόνης στον ορό των γυναικών των τριών ομάδων παρουσιάζονται στον πίνακα 2. Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις τιμές της 17 α -υδροξυπρογεστερόνης στον ορό των παχύσαρκων (Ομάδα I) και των λεπτόσωμων (Ομάδα II) γυναικών με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών. Οι γυναίκες, όμως, των Ομάδων I και II είχαν σημαντικά υψηλότερες τιμές 17 α -υδροξυπρογεστερόνης από εκείνες των γυναικών της Ομάδας III (Ομάδα I έναντι Ομάδας III: $p < 0,001$, Ομάδα II έναντι Ομάδας III: $p < 0,001$).

Τα επίπεδα της SHBG στον ορό των γυναικών της Ομάδας I ήταν σημαντικά χαμηλότερα από εκείνα των γυναικών της Ομάδας II ($p < 0,005$) και από εκείνα των γυναικών της Ομάδας III ($p < 0,001$). Επιπλέον, τα επίπεδα της σφαιρίνης αυτής στον ορό των γυναικών της Ομάδας II ήταν σημαντικά χαμηλότερα από εκείνα των γυναικών της Ομάδας III ($p < 0,001$). Οι τιμές της ινσουλίνης, εξάλλου, στον ορό των γυναικών με PCOS (Ομάδες I και II) ήταν σημαντικά υψηλότερες από ό,τι στις μάρτυρες (Ομάδα III) (Ομάδα I έναντι Ομάδας III: $p < 0,001$, Ομάδα II έναντι Ομάδας III: $p <$

0,05). Σημειώνεται ότι οι τιμές της ορμόνης αυτής στον ορό των γυναικών της Ομάδας I ήταν σημαντικά υψηλότερες από εκείνες των γυναικών της Ομάδας II ($p < 0,001$). Επιπλέον, οι τιμές της γλυκόζης στον ορό των γυναικών της Ομάδας I ήταν σημαντικά υψηλότερες από εκείνες των γυναικών της ομάδας II ($p < 0,05$) και από εκείνες των γυναικών της Ομάδας III ($p < 0,005$). Οι τιμές, όμως, της γλυκόζης των γυναικών της Ομάδας II δεν διέφεραν σημαντικά από εκείνες των γυναικών της Ομάδας III. Τέλος, ο λόγος της γλυκόζης προς ινσουλίνη στις γυναίκες της Ομάδας I ήταν σημαντικά χαμηλότερος από εκείνον των γυναικών των Ομάδων II και III ($p < 0,001$ και $p < 0,001$, αντίστοιχα), και ο λόγος της γλυκόζης προς ινσουλίνη στις γυναίκες της Ομάδας II ήταν σημαντικά χαμηλότερος από εκείνον των γυναικών της Ομάδας III ($p < 0,05$).

Τα επίπεδα της ρεξιστίνης στον ορό των γυναικών των τριών Ομάδων που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 2. Οι μέσες τιμές της ρεξιστίνης στον ορό των γυναικών της Ομάδας I ήταν σημαντικά υψηλότερες από εκείνες των γυναικών της Ομάδας II ($p < 0,005$) και από εκείνες των γυναικών της Ομάδας III ($p < 0,05$). Οι τιμές της ορμόνης αυτής στον ορό των γυναικών της ομάδας II δεν παρουσίαζαν σημαντικές διαφορές από εκείνες των γυναικών της Ομάδας III.

Ο υπολογισμός του συντελεστή συσχέτισης Pearson, που έγινε ύστερα από λογαριθμική μετατροπή των τιμών, έδειξε ότι υπήρχε σημαντική θε-



Εικ. 1. Συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα της ρεζιστίνης στον ορό των 90 γυναικών και στις τιμές του δείκτη μάζας σώματος (ύστερα από λογαριθμική μετατροπή των τιμών).

τική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα της ρεζιστίνης και στις τιμές του BMI (Εικ. 1, $p < 0,001$), στις τιμές της ινσουλίνης ($p < 0,01$) και στις τιμές της γλυκόζης ($p < 0,05$), και σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της ρεζιστίνης και των τιμών της SHBG ($p < 0,05$), καθώς και μεταξύ των επιπέδων της ρεζιστίνης και των τιμών του λόγου γλυκόζης προς ινσουλίνη ($p < 0,05$). Δεν βρέθηκε συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα της ρεζιστίνης και στις τιμές των γοναδοτροπινών, όπως και ανάμεσα στα επίπεδα της ρεζιστίνης και στα επίπεδα των ανδρογόνων. Στη συνέχεια, με τη δοκιμασία πολλαπλής εξάρτησης (Multiple regression analysis), ύστερα από λογαριθμική μετατροπή των τιμών, βρέθηκε ότι ο δείκτης μάζας σώματος αποτελεί τον ανεξάρτητο παράγοντα, που επηρεάζει τα επίπεδα της ρεζιστίνης ($p < 0,001$). Ανεξάρτητη από το BMI συσχέτιση, στατιστικά σημαντική, των υπολοίπων παραγόντων (ινσουλίνη, γλυκόζη, λόγος γλυκόζης προς ινσουλίνη, SHBG) με τη ρεζιστίνη δεν διαπιστώθηκε.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι λεπτόσωμες και οι παχύσαρκες γυναίκες των Ομάδων I και II εμφάνιζαν το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών, δεδομένου ότι παρουσίαζαν χρόνια ανωοθυλακιορρηξία (λιγότεροι από έξι εμμηνορροσιακοί κύκλοι σε 12 μήνες) και υπερανδρογοναιμία. Επιπλέον, αποκλείστηκαν τα γνωστά

αίτια υπερανδρογοναιμίας και διαταραχές του εμμηνορροσιακού κύκλου όπως το προλακτίνωμα, η συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων, το σύνδρομο Cushing και οι αρρενοποιητικοί όγκοι των ωοθηκών και των επινεφριδίων²³. Οι γυναίκες της τρίτης ομάδας είχαν φυσιολογικούς ωοθυλακιορρηκτικούς κύκλους (προγεστερόνη αίματος σε δύο συνεχόμενους κύκλους υψηλότερη από 10 ng/ml) και δεν παρουσίαζαν υπερανδρογοναιμία.

Τα επίπεδα της ρεζιστίνης στις παχύσαρκες γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (Ομάδα I) ήταν σημαντικά υψηλότερα τόσο από εκείνα των λεπτόσωμων γυναικών με το σύνδρομο (Ομάδα II, $p < 0,005$), όσο και από εκείνα των μαρτύρων (Ομάδα III, $p < 0,05$) (Πίν. 2). Δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στις τιμές της ρεζιστίνης ανάμεσα στις λεπτόσωμες γυναίκες με PCOS (Ομάδα II) και στις μάρτυρες (Ομάδα III). Η παρατήρηση αυτή συμφωνεί με το εύρημα του Savage και των συνεργατών του²¹, οι οποίοι διαπίστωσαν αυξημένη έκφραση του γονιδίου της ρεζιστίνης (επίπεδα mRNA) στο υποδόριο λίπος παχύσαρκων ατόμων, σε σχέση με την έκφραση του γονιδίου της ρεζιστίνης στο υποδόριο λίπος λεπτόσωμων ατόμων. Στη συγκεκριμένη, όμως, μελέτη δε διαπιστώθηκε συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση του γονιδίου της ρεζιστίνης σε απομονωμένα ανθρώπινα λιποκύτταρα και στο δείκτη μάζας σώματος. Οι συγγραφείς ερμηνεύουν το εύρημα αυτό διατυπώνοντας την άποψη ότι η απουσία συσχέτισης ανάμεσα στην έκφραση του γονιδίου της ρεζιστίνης σε απομονωμένα λιποκύτταρα και στο BMI, οφείλεται είτε στη μεταβολή των επιπέδων mRNA κατά την απομόνωση των λιποκυττάρων ή, πιθανότερα, στη μεγαλύτερη συμβολή των στρωματικών στοιχείων του λιπώδη ιστού στην παραγωγή και στην έκκριση της ρεζιστίνης. Σημειώνεται ότι στη δική μας μελέτη βρέθηκε υψηλή θετική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα της ρεζιστίνης στον ορό και στις τιμές του δείκτη μάζας σώματος (Εικ. 1, $p < 0,001$).

Ο ρόλος της ρεζιστίνης στην ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη παραμένει αδιευκρίνιστος. Ορισμένοι ερευνητές υποστήριξαν την άποψη ότι η ρεζιστίνη αποτελεί τον κρίκο που συνδέει την παχυσαρκία με την αντίσταση στην ινσουλίνη^{13,24-32}. Η άποψη, όμως, αυτή δεν είναι καθολικά αποδεκτή¹⁴⁻²². Με τα ευρήματα της δικής μας μελέτης είναι δύσκολο να υποστηρίξουμε τη μία ή την άλλη θέση. Πρέπει, πάντως, να σημειωθεί ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στα επίπεδα της ρεζιστίνης ανάμεσα στις λεπτόσωμες γυναίκες με PCOS (Ο-

μάδα II) και στις λεπτόσωμες μάρτυρες (Ομάδα III), μολονότι οι λεπτόσωμες γυναίκες με PCOS παρουσίαζαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ινσουλίνης νηστείας και σημαντικά χαμηλότερο λόγο γλυκόζης προς ινσουλίνη από εκείνα των μαρτύρων. Με το εύρημα αυτό θα μπορούσαμε να υποστηρίξουμε ότι η ρεζιστίνη δε φαίνεται να συνδέεται με την αντίσταση στην ινσουλίνη, όταν η αντίσταση στην ινσουλίνη δε συνοδεύεται από παχυσαρκία.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι παχύσαρκες γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών (Ομάδα I) παρουσίαζαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ρεζιστίνης στον ορό τόσο από τις λεπτόσωμες γυναίκες με το σύνδρομο (Ομάδα II, $p < 0,005$) όσο και από τις μάρτυρες (Ομάδα III, $p < 0,05$). Ο υπολογισμός του συντελεστή συσχέτισης Pearson, που έγινε ύστερα από λογαριθμική μετατροπή των τιμών, έδειξε σημαντική θετική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα της ρεζιστίνης και στις τιμές του BMI (Σχ. 1, $p < 0,001$), στις τιμές της ινσουλίνης ($p < 0,01$) και στις τιμές της γλυκόζης ($p < 0,05$), και σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της ρεζιστίνης και των τιμών της SHBG ($p < 0,05$), καθώς και μεταξύ των επιπέδων της ρεζιστίνης και των τιμών του λόγου γλυκόζης προς ινσουλίνη ($p < 0,05$). Με τη δοκιμασία, όμως, πολλαπλής εξάρτησης (Multiple regression analysis) βρέθηκε ότι ο δείκτης μάζας σώματος αποτελεί τον ανεξάρτητο παράγοντα, που επηρεάζει τα επίπεδα της ρεζιστίνης ($p < 0,001$). Ανεξάρτητη από το BMI συσχέτιση, στατιστικά σημαντική, των υπολοίπων παραγόντων (ινσουλίνη, γλυκόζη, λόγος γλυκόζης προς ινσουλίνη, SHBG) με τη ρεζιστίνη δεν διαπιστώθηκε. Τα αποτελέσματα αυτά στηρίζουν τη θέση ότι η ρεζιστίνη σχετίζεται με την αντίσταση στην ινσουλίνη, όπως αυτή εκτιμήθηκε με τον αδρό δείκτη του λόγου γλυκόζης προς ινσουλίνη, μόνον όταν υπάρχει παχυσαρκία και όχι ανεξάρτητα από αυτή.

Ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης, που δεν έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία, ήταν ότι στις γυναίκες με το σύνδρομο των πολυκυστικών ωοθηκών δε διαπιστώθηκαν υψηλά επίπεδα ρεζιστίνης, όταν οι γυναίκες αυτές δεν εμφάνιζαν παχυσαρκία. Έτσι, δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στα επίπεδα της ρεζιστίνης ανάμεσα στις λεπτόσωμες γυναίκες με PCOS (Ομάδα II) και στις μάρτυρες (Ομάδα III). Επιπλέον, δε διαπιστώθηκε συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της ρεζιστίνης και των τιμών των ανδρογόνων και των γοναδοτροπινών. Τέλος, ο μό-

νος ανεξάρτητος παράγοντας που παρουσίαζε υψηλή θετική συσχέτιση, στατιστικά σημαντική, με τη ρεζιστίνη ήταν ο δείκτης μάζας σώματος. Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν υπέρ της άποψης ότι η ρεζιστίνη δε φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του συνδρόμου των πολυκυστικών ωοθηκών.

ABSTRACT

Panidis D, Koliakos G, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouslech T, Roussos D. Serum resistin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Hell Iatr* 2004, 70: 59-65.

This study was designed in order to measure serum resistin levels in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) and assess possible correlations of resistin to the hormonal and metabolic parameters of the syndrome. We studied 90 selected women who were classified as follows: Group I: 35 women with PCOS (BMI > 25 Kg/m²). Group II: 35 women with PCOS (BMI < 25 Kg/m²). Group III: 20 ovulating women without hyperandrogenemia (BMI < 25 Kg/m²). Blood samples were collected between the 6th and the 9th day of the menstrual cycle, at 9:00 a.m., after an overnight fast. Serum levels of FSH, LH, PRL, 17 α -hydroxy-progesterone, SHBG, androgens, insulin, resistin and glucose were measured. It was found that resistin levels were found to be significantly increased in group I compared to those of group II and those of group III. No significant difference in resistin levels was found between groups II and III, despite significant differences in insulin levels, and the glucose/insulin ratio. Multiple regression analysis showed that resistin levels do not correlate with any parameter independent of BMI. Based on the above findings, we presume that resistin is unlikely to be a major determining factor of PCOS-associated insulin resistance and is not actively involved in the pathogenesis of the syndrome.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1995, 333: 853-61.
2. Homburg R. Polycystic ovary syndrome-from gynaecological curiosity to multisystem endocrinopathy. *Hum Reprod* 1996, 11: 29-39.
3. Adams J, Polsen DW, Franks S. Prevalence of polycystic ovaries in women with anovulation and idiopathic hirsutism. *Br Med J* 1986, 293: 355-59.

4. Hull MG. Epidemiology of infertility and polycystic ovarian disease: endocrinological and demographic studies. *Gynaecol Endocrinol* 1987, 1: 235-45.
 5. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997, 18: 774-800.
 6. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 1989, 38: 1165-74.
 7. Franks S. Polycystic ovary syndrome: a changing perspective. *Clin Endocrinol* 1989, 31: 87-120.
 8. Dunaif A. Molecular mechanisms of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. *Semin Reprod Endocrinol* 1994, 12: 15-20.
 9. Ehrmann DA, Barnes RB, Rosenfield RL, Cavaghan MK, Imperial J. Prevalence of impaired glucose tolerance and diabetes in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes Care* 1999, 22: 141-6.
 10. Futterweit W. Polycystic ovary syndrome: clinical perspectives and management. *Obstet Gynaecol Surv* 1999, 54: 403-13.
 11. Vernon RG, Denis RGP, Sorensen A. Signals of adiposity. *Dom An Endocrinol* 2001, 21: 197-214.
 12. Steppan CM, Lazar MA. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 2002, 13: 18-22.
 13. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001, 409: 307-12.
 14. Way JM, Gorgun CZ, Tong Q, Uysal KT, Brown KK, Harrington WW, et al. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Biol Chem* 2001, 276: 25651-3.
 15. Juan CC, Au LC, Fang VS, Kang SF, Ko YH, Kuo SF, et al. Suppressed gene expression of adipocyte resistin in an insulin-resistant rat model probably by elevated free fatty acids. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 289: 1328-3.
 16. Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Isoproterenol inhibits resistin gene expression through a G(S)protein-coupled pathway in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2001, 500: 60-3.
 17. Le Lay S, Boucher J, Rey A, Castan-Laurell I, Krief S, Ferre P, et al. Decreased resistin expression in mice with different sensitivities to a high-fat diet. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 289: 564-7.
 18. Martinez JA, Margareto J, Marti A, Milagro FI, Larrarte E, Moreno Aliaga MJ. Resistin overexpression is induced by a beta3 adrenergic agonist in diet-related overweightness. *J Physiol Biochem* 2001, 57: 287-8.
 19. Levy JR, Davenport B, Clore JN, Stevens W. Lipid metabolism and resistin gene expression in insulin-resistant Fischer 344 rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002, 282: E626-3.
 20. Nagaev I, Smith U. Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 285: 561-4.
 21. Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Puig AV, et al. Resistin / Fizz3 Expression in Relation to Obesity and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-γ. *Diabetes* 2001, 50: 2199-202.
 22. Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, Luft FC, Sharma AM. Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obesity Research* 2002, 10: 1-5.
 23. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: Towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP, Merriam GE, eds. Hershman SM, series ed. *Polycystic Ovary Syndrome. Current Issues in Endocrinology and Metabolism*. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1992: 377.
 24. Kim KH, Lee K, Soo Y, Moon YS, Sul HS. A cysteine-rich adipocyte tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 2001, 276: 1152-6.
 25. Li J, Yu X, Pan W, Unger RH. Gene expression profile of rat adipose tissue at the onset of high fat diet obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002, 282: E1334-41.
 26. Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator activated receptors: Nuclear control of metabolism. *Endocr Rev* 1999, 20: 649-88.
 27. Nolan JJ, Ludvik B, Beerdsen P, Joyce M, Olefsky J. Improvement in glucose tolerance and insulin resistance in obese subjects treated with troglitazone. *N Eng J Med* 1994, 331: 1188-93.
 28. Moore GB, Chapman H, Holder JC, Lister CA, Piercy V, Smith SA, et al. Differential regulation of adipocytokine mRNAs by rosiglitazone in db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 286: 735-41.
 29. Haugen F, Jorgensen A, Drevon CA, Trayhurn P. Inhibition by insulin of resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2001, 507: 105-8.
 30. Li Y, Lazar MA. Differential gene regulation by PPAR gamma agonist and constitutively active PPA Rgamma. *Mol Endocrinol* 2002, 16 : 1040-8.
 31. McTernan CL, McTernan PG, Harte AL, Levick PL, Barnett AH, Kumar S. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. *Lancet* 2002, 359: 46-7.
 32. McTernan PG, McTernan CL, Chetty R, Jenner K, Fisher FM, Laurer MN, et al. Increased resistin gene and protein expression in human abdominal adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metabol* 2002, 87: 2407-10.
- Αλληλογραφίας:*
 Α. Κούρτις
 Αριστοτέλους 45,
 552 36, Πανόραμα Θεσσαλονίκη
- Corresponding author:*
 Α. Kourtis
 45, Aristotelous
 552 36 Panorama
 Thessaloniki Greece

Τραχειοστομία σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς Σύγκριση χειρουργικής και διαδερμικής τεχνικής

Ι. Κεσίσογλου, Ν. Δεληγιαννίδης, Δ. Αποστολίδης, Ε. Βόλακλη,
Χ. Σκούρτης, Ο. Γαμβρός

Γ Χειρουργική Κλινική ΑΠΘ, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας Αναισθησιολογίας,
Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη

Περίληψη. Η τραχειοστομία είναι η επέμβαση που κρίνεται απαραίτητη σε ασθενείς που βρίσκονται σε παρατεταμένη διασωλήνωση για αναπνευστική υποστήριξη. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να συγκρίνει τα αποτελέσματα δύο διαφορετικών τεχνικών τραχειοστομίας. Μελετήθηκαν αναδρομικά 200 ασθενείς, 129 άνδρες και 71 γυναίκες, οι οποίοι νοσηλεύθηκαν σε πολυδύναμη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) τριτοβάθμιου νοσοκομείου σε διάρκεια τριών ετών. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες από 100 αρρώστους η κάθε μια, με παρόμοια δημογραφικά στοιχεία. Στους ασθενείς της ομάδας Α εκτελέστηκε χειρουργική τραχειοστομία, ενώ στους ασθενείς της ομάδας Β εκτελέστηκε διαδερμική τραχειοστομία κατά Griggs. Η κύρια παθολογία εισόδου καθώς και η βαρύτητα της νόσου, όπως εκτιμήθηκε με την κλίμακα APACHE II, ήταν όμοια και στις δύο ομάδες. Όλοι οι ασθενείς ήταν ήδη διασωληνωμένοι και βρισκόταν σε μηχανικό αε-

ρισμό. Στην ομάδα Α η τραχειοστομία εκτελέστηκε από την ίδια ομάδα χειρουργών υπό συνθήκες γενικής αναισθησίας και μυοχάλασης. Στην ομάδα Β όλες οι διαδερμικές τραχειοστομίες έγιναν από ιατρούς της ΜΕΘ, υπό τις ίδιες συνθήκες με την ομάδα Α. Δεν υπήρξε θάνατος ή άλλη επιπλοκή απειλητική για τη ζωή σχετιζόμενη με την επέμβαση σε καμιά από τις δύο ομάδες. Συμπεραίνεται ότι και οι δύο μέθοδοι τραχειοστομίας έχουν υψηλό ποσοστό ασφάλειας, έχουν μικρό ποσοστό κινδύνου και μικρά ποσοστά επιπλοκών, όμως η διαδερμική μέθοδος θεωρείται ταχύτερη και γίνεται ευκολότερα στην κλίνη του ασθενούς. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα τελευταία χρόνια η διαδερμική τεχνική να εφαρμόζεται συστηματικά, περιορίζοντας την εφαρμογή της χειρουργικής μεθόδου σε περιπτώσεις τεχνικών δυσκολιών.

Ελλην Ιατρ 2004, 70: 66 - 72.

Η τραχειοστομία είναι μια αρχαία χειρουργική διαδικασία η οποία αναπτύχθηκε με τους αιώνες. Η τραχειοστομία είναι πιθανόν να εκτελούνταν στην αρχαία Αίγυπτο. Το γεγονός αυτό υποστηρίχθηκε με βάση εικονογραφημένα στοιχεία, αλλά δεν έχει αποδειχτεί. Η Σχολή του Ασκληπιού ήταν δημιουργός της επέμβασης¹ και η πρώτη εκλεκτική τραχειοστομία αποδίδεται στους Ασκληπιάδες της Βιθυνίας το 100 π.Χ. περίπου². Η τραχειοστομία θεωρούνταν μια πολύ επικίνδυνη επέμβαση μέχρις ότου το 1909 ο Chevalier Jackson³

περιέγραψε τη σύγχρονη τεχνική της χειρουργικής τραχειοστομίας (ΧΤ). Ο Jackson έδωσε έμφαση στην εκτέλεση μεγάλης τομής, στην καλή παρασκευή, τη διατομή του ισθμού του θυρεοειδούς και, σε μια μεταγενέστερη δημοσίευσή του, την αποφυγή της διατομής του πρώτου και του δεύτερου δακτυλίου της τραχείας⁴.

Αν και με την πάροδο του χρόνου η επέμβαση καθιερώθηκε, η ανάπτυξη της ενδοτραχειακής διασωλήνωσης διευκόλυνε σημαντικά την επέμβαση, καταργώντας τον επείγοντα χαρακτήρα της σε

πολλές περιπτώσεις. Επίσης, ο έλεγχος της διφθερίτιδας με την ανοσοποίηση του πληθυσμού και η ύπαρξη αντιβιοτικών για την αντιμετώπιση των φλεγμονών των ανώτερων αναπνευστικών οδών έκαναν την τραχειοστομία μια εκλεκτική επέμβαση για τους περισσότερους ασθενείς. Οι ενδείξεις της επέμβασης επεκτάθηκαν πέραν της οξείας απόφραξης του αεραγωγού και περιέλαβαν τη θεραπεία της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας, μετά από τη διαπίστωση ότι η τραχειοστομία μειώνει το νεκρό χώρο των πνευμόνων⁵, παρέχει πρόσβαση για την απομάκρυνση των πνευμονικών εκκρίσεων σε πολλές παθολογικές καταστάσεις και βελτιώνει την άνεση του ασθενούς κατά τη διάρκεια της βαθμιαίας ανασύνδεσης/αποδέσμευσης από τον αναπνευστήρα. Πιθανόν η πιο δραματική ιατρική πρόοδος που αποδίδεται στην τραχειοστομία ήταν η αντιμετώπιση της αναπνευστικής παράλυσης από πολυομυελίτιδα, με την εφαρμογή της τραχειοστομίας για την παροχή αερισμού με θετική πίεση⁶.

Οι ενδείξεις της τραχειοστομίας ξεκαθάρισαν κατά την δεκαετία του 1960 οπότε και εισήχθησαν η χρήση της αναρρόφησης με άσηπτες συνθήκες και οι αλλαγές στον τραχειοσωλήνα⁷. Εμφανίστηκαν οι τραχειοσωλήνες με αεροθάλαμο, οι οποίοι όμως προκάλεσαν νέα προβλήματα όπως η στένωση της τραχείας, η απόφραξη του τραχειοσωλήνα από την πρόπτωση του αεροθαλάμου, ακόμη και έξοδο του τραχειοσωλήνα, επιπλοκές που κατέληγαν μερικές φορές σε θανάτους⁸. Η εισαγωγή των αεροθαλάμων χαμηλής πίεσης για τους σωλήνες τραχειοστομίας σίγουρα βοήθησε στη μείωση των επιπλοκών αυτών, επιτρέποντας έτσι την παρατεταμένη διασωλήνωση. Άρχισε τότε μια νέα διαμάχη σχετικά με τη συνολική διάρκεια της διασωλήνωσης. Επίσης ο κατάλληλος χρόνος για τη διενέργεια της τραχειοστομίας σε διασωληνωμένους ασθενείς δεν έχει ακόμη οριστεί σαφώς⁹.

Η μέθοδος εκτέλεσης της χειρουργικής τραχειοστομίας παρέμεινε η ίδια χωρίς παραλλαγές, μέχρι την περίοδο κατά την οποία αναπτύχθηκε η τεχνική της διαδερμικής τραχειοστομίας (ΔΤ) από τους Sheldon και συν το 1957¹⁰ και από τους Toye και Weinstein το 1969¹¹. Το 1985 οι Ciaglia και συν¹² περιέγραψαν μια τεχνική ΔΤ με τη χρήση διαστολέων οι οποίοι διεκβάλλονται πάνω από ένα οδηγό σύρμα, δημιουργώντας έτσι μια στομία στην οποία εφαρμόζει ένας στάνταρντ τραχειοσωλήνας. Από τότε και άλλες τεχνικές ΔΤ έχουν προταθεί, όπως η τεχνική που περιγράφηκε από τους

Griggs και συν.¹³, κατά την οποία χρησιμοποιείται μια τροποποιημένη αιμοστατική λαβίδα Kelly για τη δημιουργία μιας στομίας με τη διαστολή των δακτυλίων της τραχείας.

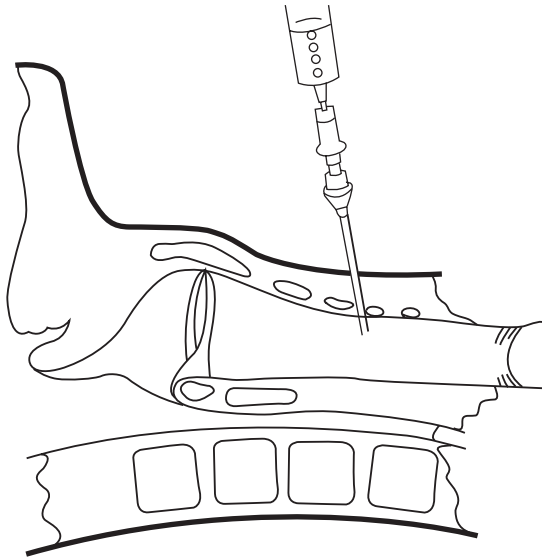
Η μελέτη αυτή παρουσιάζει τα αποτελέσματα της σύγκρισης δύο τεχνικών τραχειοστομίας, της χειρουργικής και της διαδερμικής τεχνικής, που εκτελέστηκαν από την ίδια ομάδα χειρουργών και αναισθησιολόγων στα πλαίσια της πολυδύναμης Μονάδας Εντατικής Θεραπείας ενός τριτοβάθμιου γενικού νοσοκομείου.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

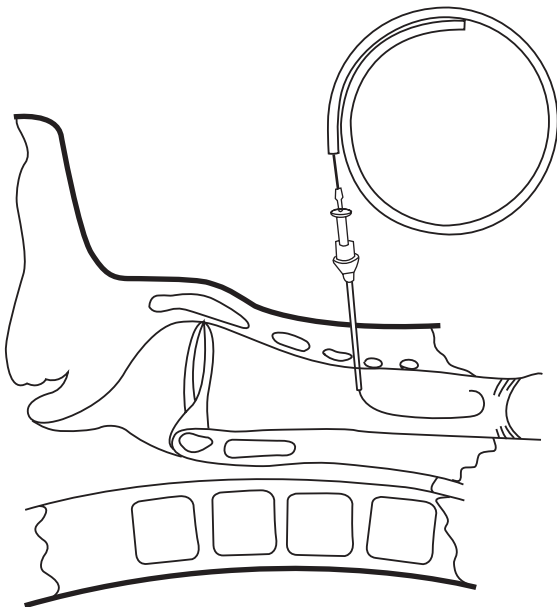
Στη μελέτη περιλήφθηκαν αναδρομικά 200 ασθενείς, οι οποίοι νοσηλεύτηκαν σε πολυδύναμη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) τριτοβάθμιου γενικού νοσοκομείου σε χρονικό διάστημα τριών ετών. Από αυτούς οι 129 ήταν άνδρες και οι 71 γυναίκες. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Στην πρώτη ομάδα (Ομάδα Α) περιλήφθηκαν 100 ασθενείς, 58 άνδρες και 42 γυναίκες ηλικίας από 3 έως 89 ετών με μέσο όρο τα $57,6 \pm 19,8$ έτη. Στην δεύτερη ομάδα (Ομάδα Β) περιλήφθηκαν 100 επίσης ασθενείς, 71 άνδρες και 29 γυναίκες, ηλικίας από 15 έως 77 ετών με μέσο όρο τα $49,8 \pm 18,3$ έτη.

Στους ασθενείς της Ομάδας Α εκτελέστηκε χειρουργική τραχειοστομία από την ίδια ομάδα χειρουργών. Σε 34 ασθενείς η επέμβαση διενεργήθηκε στο χειρουργείο (ποσοστό 34%), ενώ σε 66 περιπτώσεις εκτελέστηκε στην κλίνη του ασθενούς στη ΜΕΘ (ποσοστό 66%). Η επέμβαση έγινε σε όλες τις περιπτώσεις υπό συνθήκες γενικής αναισθησίας και μυοχάλασης από δύο χειρουργούς παρουσία ενός αναισθησιολόγου. Η τραχειοστομία γινόταν στην τυπική θέση. Για την παρακολούθηση του ασθενούς γινόταν έλεγχος της αρτηριακής πίεσης, του καρδιακού ρυθμού και του κορεσμού του περιφερικού αίματος σε οξυγόνο. Χρησιμοποιήθηκαν τραχειοσωλήνες υψηλού όγκου και χαμηλής πίεσης. Για τους άνδρες χρησιμοποιήθηκαν τραχειοσωλήνες εσωτερικού διαμετρήματος 9 mm και για τις γυναίκες τραχειοσωλήνες εσωτερικού διαμετρήματος 8 mm.

Στους ασθενείς της Ομάδας Β εκτελέστηκε διαδερμική τραχειοστομία κατά Griggs¹³ η οποία βασίζεται στην τεχνική Howard Kelly (Portex Ltd, UK). Η μέθοδος συνίσταται στην παρακέντηση της τραχείας μεταξύ του κρικοειδούς χόνδρου του λάρυγγα και του πρώτου δακτυλίου της τραχείας μετά από την εκτέλεση μικρής εγκάρσιας τομής 1,5 έως 2 εκατοστών και την απόσυρση του προϋπάρχοντος ενδοτραχειικού σωλήνα στο ύψος των φωνητικών χορδών (Εικ. 1). Μετά την είσοδο της βελόνας εντός της τραχείας διεκβάλλεται σύρμα τύπου Seldinger με εύκαμπτο άκρο σχήματος J (Εικ. 2). Μια ειδικά διαμορφωμένη αιμοστατική λαβίδα Howard-Kelly, στην οποία έχει αυξηθεί η κλίση και έχει δημιουργηθεί ένα κεντρικό κανάλι από την κορυφή μέχρι το μέσον των σκελών της, προωθείται κατά μήκος του σώματος μέσω των μαλακών μορίων μέχρι να γίνει αισθητή κάποια αντίσταση. Τα σκέλη της λαβίδας διανοίγονται για την εκτέλεση διαστολής των ιστών προ της τραχείας. Η λαβίδα συγλίσσεται και προωθείται εκ νέου μέχρι να εισέλθει στην τραχεία (Εικ. 3). Για την



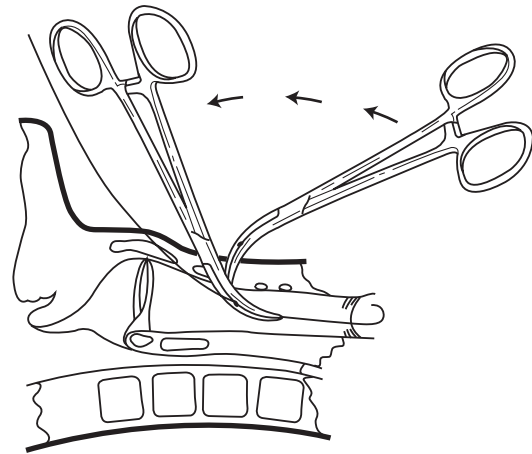
Εικ. 1. Παρακέντηση της τραχείας.



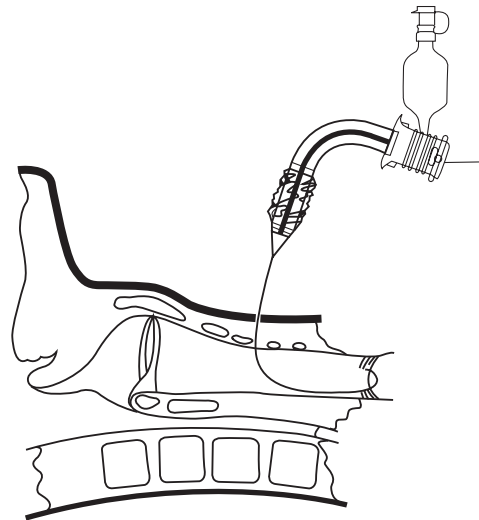
Εικ. 2. Εισαγωγή οδηγού σύρματος J.

προετοιμασία της στομίας η λαβίδα διανοίγεται τόσο όσο είναι η τομή του δέρματος. Κατόπιν η λαβίδα αποσύρεται και με οδηγό το σύρμα εισάγεται εντός της τραχείας ο τραχειοσωλήνας μαζί με ένα κατάλληλο τροκάρ (Εικ. 4). Τέλος αποσύρεται το σύρμα και το τροκάρ και φουσκώνεται ο αεροθάλαμος του τραχειοσωλήνα.

Σε όλους τους ασθενείς της ομάδας Β η ΔΤ εκτελέστηκε στην κλίνη του ασθενούς στη ΜΕΘ (ποσοστό 100%) από την ίδια ομάδα αναισθησιολόγων. Σε όλες τις περιπτώσεις εγκαταστάθηκε το ίδιο monitoring, όπως και για τους ασθενείς της πρώτης ομάδας. Τέλος, χρησιμοποιήθηκαν παρόμοιοι τραχειοσωλήνες υψηλού όγκου και χαμηλής πίεσης και παρόμοιοι εσωτερικού διαμετρήματος όπως και στην ομάδα Α.



Εικ. 3. Εισαγωγή ειδικά διαμορφωμένης λαβίδας Kelly.



Εικ. 4. Εισαγωγή του τραχειοσωλήνα.

Η βαρύτητα της κατάστασης των ασθενών και των δύο ομάδων εκτιμήθηκε με την χρήση του συστήματος APACHE II. Οι τιμές ήταν παρόμοιες και για τις δύο ομάδες: 10 έως 38 με μέση τιμή $21,8 \pm 6,2$. Επίσης η παθολογία εισόδου των ασθενών στη ΜΕΘ ήταν παρόμοια και για τις δύο ομάδες (Πίν. 1).

Στους ασθενείς της ομάδας Α στους οποίους εκτελέστηκε χειρουργική τραχειοστομία, η επέμβαση έγινε μεταξύ της 1^{ης} και της 29^{ης} ημέρας από τη διασωλήνωση της τραχείας (μέσος όρος $14,3 \pm 7,3$ ημέρες). Αντίστοιχα στους ασθε-

Πίνακας 1. Παθολογία εισόδου των ασθενών στη ΜΕΘ

ΚΝΣ (εκτός καώσεων)	33%
Αναπνευστικό σύστημα	11%
Καρδιαγγειακό σύστημα	11%
Γαστρεντερικό σύστημα	6%
Τραυματικές καώσεις	40%
Πολυοργανική ανεπάρκεια	2%
Καρδιακή ανακοπή	4%

νείς της ομάδας Β όπου εκτελέσθηκε διαδερμική τραχειοστομία, η επέμβαση έγινε ανάμεσα στην 1^η και την 18^η ημέρα (μέσος όρος 6,8±3,7 ημέρες) από τη διασωλήνωση της τραχείας.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τα προγράμματα Microsoft Excel και GraphPad InStat και για τη σύγκριση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμασίες Anova και Fisher Exact test.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σε όλες τις περιπτώσεις η τραχειοστομία διενεργήθηκε με επιτυχία και στις δύο ομάδες των ασθενών. Δεν υπήρξε κανένας θάνατος σε καμιά από τις δύο ομάδες που να σχετίζεται με την επέμβαση. Επίσης σε καμιά από τις δύο ομάδες δεν παρατηρήθηκε κάποια επιπλοκή απειλητική για τη ζωή των ασθενών, όπως καρδιοαναπνευστική ανακοπή, πνευμοθώρακας ή πνευμομεσοθωράκιο. Στην πρώτη ομάδα ασθενών που υποβλήθηκαν σε κλασική τραχειοστομία παρατηρήθηκαν 4 περιπτώσεις (ποσοστό 4%) αιμορραγίας μετεγχειρητικά. Σε όλες τις περιπτώσεις η αιμορραγία προερχόταν από τριχοειδή αγγεία του υποδορίου και αντιμετωπίστηκε με πίεση τοπικά. Σε 6 ασθενείς της δεύτερης ομάδας (ποσοστό 6%), που υποβλήθηκαν σε διαδερμική τραχειοστομία, παρατηρήθηκαν τεχνικές δυσκολίες κατά την εκτέλεση της τραχειοστομίας: σε 3 υπήρξαν προβλήματα κατά την εισαγωγή του οδηγού σύρματος, σε έναν ασθενή ο τραχειοσωλήνας εισήλθε παρατραχειακά και χρειάστηκε επανατοποθέτησή του, σε έναν ασθενή το μήκος του τραχειοσωλήνα ήταν ακατάλληλο και τέλος σε έναν άλλον υπήρξαν δυσκολίες κατά την προσπέλαση της τραχείας. Σε 14 περιπτώσεις (ποσοστό 14%) παρατηρήθηκε αιμορραγία κατά τη διάρκεια της επέμβασης. Σε 2 ασθενείς η αιμορραγία ήταν σημαντική και απαιτήθηκε χειρουργική παρέμβαση, ενώ στους υπόλοιπους 12 η αιμορραγία ήταν μικρή και αντιμετωπίστηκε μόνο με την εφαρμογή πίεσης τοπικά. Τέλος, σε έναν ασθενή (ποσοστό 1%) παρατηρήθηκε ο σχηματισμός υποδορίου εμφυσήματος το οποίο δεν απαιτήσε θεραπευτική παρέμβαση και σε έναν άλλο (ποσοστό 1%) παρατηρήθηκε λοίμωξη του τραύματος η οποία αντιμετωπίστηκε συντηρητικά (Πίν. 2).

Πίνακας 2. Επιπλοκές τραχειοστομίας

	Ομάδα Α (ΧΤ)	Ομάδα Β (ΔΤ)
Αιμορραγία	4	14
Υποδόριο εμφύσημα	-	1
Λοίμωξη στομίας	-	1

Από τη σύγκριση των επιπλοκών ανάμεσα στις δύο ομάδες παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p < 0,05$). Επίσης, στατιστικώς σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε κατά τη σύγκριση του χρόνου διασωλήνωσης πριν από την εκτέλεση της τραχειοστομίας ($p < 0,001$).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αν και η ανάπτυξη της ενδοτραχειακής διασωλήνωσης έχει μειώσει την ανάγκη εκτέλεσης της τραχειοστομίας, η επέμβαση αυτή είναι μια από τις συχνότερα εκτελούμενες επεμβάσεις στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας¹⁴. Οι παραδοσιακές ενδείξεις για την εκτέλεση τραχειοστομίας φαίνονται στο πίνακα 3.

Ο πιο κοινός τύπος ασθενή στον οποίο γίνεται τραχειοστομία σήμερα είναι αυτός που εξαρτάται από τον αναπνευστήρα ή απαιτεί παρατεταμένο μηχανικό αερισμό εξαιτίας των αιτιών που φαίνονται στον πίνακα 4.

Στους ασθενείς αυτούς η αντικατάσταση της ενδοτραχειακής διασωλήνωσης με τραχειοστομία παρέχει πολλά πλεονεκτήματα, όπως φαίνεται στον πίνακα 5.

Ενώ η χειρουργική τραχειοστομία (ΧΤ) είναι μια καταξιωμένη από το χρόνο επέμβαση, η διαδερμική τραχειοστομία (ΔΤ) αποτελεί μια ελκυστική εναλλακτική λύση για πολλούς λόγους. Από την αρχική περιγραφή της το 1985, η ΔΤ έτυχε ευρείας αποδοχής σαν μια μέθοδος που δημιουργεί μια εκλεκτική χειρουργική προσπέλαση στους αεραγωγούς των ασθενών που απαιτούν μακροχρόνια αναπνευστική υποστήριξη¹⁶. Όμως η ΔΤ δεν

Πίνακας 3. Ενδείξεις τραχειοστομίας

1. Ασθενής ανίκανος να ελέγξει τη γλώσσα
2. Κάταγμα κάτω γνάθου
3. Οίδημα στοματοφάρυγγα ή γλωττίδας
4. Μη ελεγχόμενη ρινορραγία
5. Ασταθής θώρακας
6. Νευρολογικές βλάβες
7. Σκληρωτική, ακίνητη κάτω γνάθος
8. Κακοήθεις όγκοι του στοματοφάρυγγα

Πίνακας 4. Αίτια εκτέλεσης τραχειοστομίας

1. Νευρομυϊκές διαταραχές
2. Χρόνιες αποφρακτικές πνευμονοπάθειες
3. Οιδηματώδης βλάβη των πνευμόνων
4. Πολυοργανική ανεπάρκεια
5. Πνευμονία ανθεκτική στη θεραπεία

Πίνακας 5. Πλεονεκτήματα από την εκτέλεση τραχειοστομίας¹⁵

Ειδικά

1. Πρόληψη της εισρόφησης από το φάρυγγα ή το γαστρεντερικό
2. Ευκολότερη αναρρόφηση των εκκρίσεων
3. Ευκολότερη μακροχρόνια αναπνευστική υποστήριξη
4. Μείωση του αναπνευστικού νεκρού χώρου

Γενικά

1. Μείωση του τραυματισμού του λάρυγγα από ενδοτραχειακό σωλήνα
2. Διευκόλυνση της νοσηλευτικής φροντίδας (αναρρόφηση, στοματική υγιεινή)
3. Καλύτερη ανοχή από τον ασθενή, λιγότερη καταστολή, και μεγαλύτερη κινητικότητα
4. Μακροχρόνια προστασία του αεραγωγού (γρήγορη μεταφορά από τη ΜΕΘ)
5. Ευκολότερη βαθμιαία αποσύνδεση/αποδέσμευση

είναι δυνατόν να εφαρμοστεί σε κάθε περίπτωση και οι αντενδείξεις για την εφαρμογή της φαίνονται στον πίνακα 6.

Τα πλεονεκτήματα της ΔΤ, σύμφωνα με τους υποστηρικτές της, περιλαμβάνουν μικρότερη τομή στο δέρμα^{12,17} και μικρότερη παρασκευή και κατώσεις των ιστών^{18,19}, με αποτέλεσμα τη μικρότερη αιμορραγία^{20,21}, λιγότερες φλεγμονές²², λιγότερα προβλήματα από την τραχεία,²³ καλύτερο κοσμητικό αποτέλεσμα²⁴ και τέλος τη δυνατότητα εκτέλεσής της από τους γιατρούς της ΜΕΘ στην κλίνη του ασθενούς, γεγονός που μειώνει την εξάρτηση από γιατρούς άλλων ειδικοτήτων (χειρουργούς, ΩΡΛ) και της διαθεσιμότητας χειρουργικής αίθουσας. Σε διάφορες συγκριτικές μελέτες επισημάνθηκε ότι η ΔΤ εμφανίζει λιγότερες άμεσες και απώτερες επιπλοκές σε σχέση με την ΧΤ²⁰, σε άλλες όμως μελέτες δεν σημειώθηκε μείωση των επιπλοκών²². Επίσης παρατηρήθηκε αύξηση των περιεγχειρητικών επιπλοκών και της θνητότητας σε μελέτες όπου η ΔΤ έγινε από γιατρούς που δεν είχαν εμπειρία με την τεχνική²⁵.

Σε καμιά από τις δύο σειρές των ασθενών που

Πίνακας 6. Αντενδείξεις διαδερμικής τραχειοστομίας

1. Άμεση προσπέλαση του αεραγωγού. Αν και η τεχνική μπορεί να εκτελεσθεί ταχέως από πεπειραμένο προσωπικό, η αντιμετώπιση πρώτης εκλογής είναι η κρικοθυρεοτομή.
2. Δύσκολη ανατομία, βραχύς και παχύς τράχηλος, ευμεγέθους θυρεοειδής ή ανικανότητα ψηλάφησης των ημικρικών της τραχείας.
3. Φλεγμονή κοντά ή στη θέση της τραχειοστομίας.
4. Η διαταραχές της αιμόστασης είναι σχετική αντένδειξη.
5. Ύπαρξη κακοήθειας τοπικά.

υποβλήθηκαν σε τραχειοστομία δεν υπήρξε κάποια επιπλοκή απειλητική για τη ζωή. Στην ομάδα των ασθενών που υποβλήθηκαν σε ΧΤ παρατηρήθηκε σε 4 περιπτώσεις (ποσοστό 4%) μικρή αιμορραγία άμεσα μετεγχειρητικά που αντιμετωπίστηκε με την εφαρμογή πίεσης τοπικά. Στην ομάδα των ασθενών που υποβλήθηκαν σε ΔΤ παρατηρήθηκε αιμορραγία σε 14 περιπτώσεις (ποσοστό 14%). Η αντιμετώπισή της δεν αποτέλεσε σοβαρό πρόβλημα καθώς μόνο σε δύο περιπτώσεις απαιτήθηκε η τοποθέτηση αιμοστατικών ραφών, ενώ στους υπόλοιπους ασθενείς η άσκηση τοπικής πίεσης ήταν αρκετή για την παύση της αιμορραγίας. Επίσης σε έναν μόνο ασθενή της ίδιας ομάδας παρατηρήθηκε λοίμωξη του τραύματος η οποία αντιμετωπίστηκε συντηρητικά. Όσον αφορά τα τεχνικά προβλήματα κατά την διάρκεια της επέμβασης, δεν υπήρξε κανένα σε ασθενή της ομάδας της ΧΤ. Αντιθέτως σε 6 ασθενείς της ομάδας της ΔΤ υπήρξαν τεχνικές δυσκολίες κατά την εκτέλεση της τραχειοστομίας.

Παρά το γεγονός ότι από τη σύγκριση των επιπλοκών μεταξύ των δύο ομάδων παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$), τόσο ο αριθμός όσο και η βαρύτητα των επιπλοκών στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ΔΤ, ευρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα, διότι η μέθοδος αυτή άρχισε να εφαρμόζεται μετά την πάροδο ικανού χρόνου από την έναρξη λειτουργίας της ΜΕΘ του νοσοκομείου μας, περίοδο κατά την οποία διενεργούνταν μόνο ΧΤ από την ίδια ομάδα χειρουργών συνεπικουρούμενων από τους ίδιους αναισθησιολόγους. Έτσι υπήρξε επαρκές χρονικό διάστημα για την εξοικείωση από το προσωπικό της ΜΕΘ με τη μέθοδο.

Ο χρόνος εκτέλεσης της τραχειοστομίας σε ασθενείς διασωληνωμένους υπό τεχνητό αερισμό παραμένει ένα θέμα συζήτησης. Οι Dulgueron και συν.² σε μια εκτεταμένη μετα-ανάλυση σχετικά με τη χειρουργική και τη διαδερμική τραχειοστομία αναφέρουν ότι στις δημοσιεύσεις από το 1960 έως το 1984 η διάρκεια της διαλαρυγγικής διασωλήνωσης προ της εκτέλεσής της ΧΤ ήταν $4 \pm 3,6$ ημέρες κατά μέσο όρο, ενώ από το 1985 έως το 1996 ήταν αντίστοιχα $12,7 \pm 5,2$ ημέρες. Αντίστοιχα για τους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ΔΤ η διάρκεια της διασωλήνωσης πριν από την επέμβαση ήταν $13,1 \pm 3,9$ ημέρες. Ομοίως στην μετα-ανάλυση από τους Freeman και συν.¹⁶ δε βρέθηκε διαφορά στο χρόνο της διασωλήνωσης πριν από την εκτέλεση της τραχειοστομίας ανάμεσα στις ομάδες των ασθενών που υποβλήθηκαν σε ΧΤ και ΔΤ. Στην πα-

ρούσα μελέτη ο χρόνος της διαλαρυγγικής διασωλήνωσης πριν από την επέμβαση ήταν $14,3 \pm 7,3$ ημέρες για τους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ΧΤ και $6,8 \pm 3,7$ για εκείνους που υποβλήθηκαν σε ΔΤ. Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικά σημαντική ($p < 0,001$). Αιτία για τη διαφορά αυτή είναι αφενός μεν η εξάρτηση από τους χειρουργούς (αδυναμία ανεύρεσής τους, έλλειψη χρόνου από μέρους τους) και αφετέρου η έλλειψη διαθέσιμης αίθουσας χειρουργείου, ιδιαίτερα στις πρώτες επεμβάσεις της σειράς αυτής. Το πρόβλημα αυτό παρακάμφθηκε εν μέρει όταν αποκτήθηκε ο κατάλληλος εξοπλισμός (εργαλεία, διαθερμία, φωτισμός) και η εμπειρία εκ μέρους του προσωπικού της ΜΕΘ. Γι' αυτό και οι τελευταίες χειρουργικές τραχειοστομίες εκτελέστηκαν στην κλίνη του ασθενούς. Αντίθετα, οι ΔΤ εκτελέστηκαν από τους ίδιους αναισθησιολόγους οι οποίοι εργάζονται στη ΜΕΘ και έχουν την δυνατότητα να επιλέξουν οι ίδιοι το χρόνο εκτέλεσής τους.

Η ΔΤ είναι λοιπόν μια ελκυστική μέθοδος για πολλούς λόγους. Μπορεί να εκτελεστεί στην κλίνη του ασθενούς^{20,21}, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο της μετακίνησης του ασθενούς μακριά από ένα περιβάλλον αυξημένης επιτήρησης και ασφάλειας^{26,27}. Ένα ακόμη πλεονέκτημα της μεθόδου είναι και η μείωση του κόστους που σχετίζεται με τη χρήση αίθουσας χειρουργείου και την απασχόληση νοσηλευτικού προσωπικού²⁸. Τέλος, μειώνει την εξάρτηση από τις χειρουργικές ειδικότητες και απαλείφει την ανάγκη εκτέλεσης προγραμματισμένης χειρουργικής επέμβασης, μειώνοντας ως εκ τούτου το χρόνο αναμονής των ασθενών για να υποβληθούν σε τραχειοστομία²⁹.

ABSTRACT

Kesisoglou I, Deligiannidis N, Apostolidis D, Volaki E, Skourtis Ch, Gamvros O. Tracheostomy in critically ill patients. Comparison between surgical and percutaneous technique. Hell Iatr 2004, 70: 66-72.

Tracheostomy is one of the more commonly performed operations in patients under long time intubation and mechanical ventilation support. In this study the results of two different tracheostomy techniques are compared. Two hundred patients (129 males and 71 females) were included in the study. The patients were admitted in the ICU of a general hospital during a three years period. The patients were separated in two groups of 100 patients

each with identical demographic data. In patients of group A a surgical tracheostomy was performed, while in patients of group B a transcutaneous Griggs tracheostomy was performed. The admittance pathology according to APACHE II score was the same in the two groups. The tracheostomy in group A was performed by the same team of surgeons under general anesthesia. In group B all tracheostomies were performed by the ICU doctors, under the same conditions as previously. No death or other complication threatening patients' lives connected to the procedure, were observed in this series. It is assumed that both methods of tracheostomy have a high safety percentage, low risk and low complication rate, but the percutaneous technique is faster and is more easily performed on patient's bed. As a result the percutaneous technique is performed regularly during the last years, and the classical technique is limited only in case of technical difficulties.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bennet MW, Bodenham AR. Percutaneous tracheostomy. Clin Intensive Care 1993, 4(6): 270-5.
2. Dulguerov P, Gysin C, Perneger T, Chevrolet J-C. Percutaneous or surgical tracheostomy: a meta-analysis. Crit Care Med 1999, 27(8): 1617-25.
3. Jackson C. Tracheostomy. Laryngoscope 1909, 19: 285.
4. Jackson C. High tracheostomy and other errors, the chief causes of chronic laryngeal stenosis. Surg Gynecol Obstet 1921, 32: 392-400.
5. Carte BN, Giuseppi T. Tracheostomy, a useful procedure in thoracic surgery with particular reference to its employment in crushing injury of the thorax. J Thorac Surg 1951, 21: 495-503.
6. Lassen HCA. A preliminary report on the 1952 epidemic of poliomyelitis in Copenhagen with special reference to the treatment of acute respiratory insufficiency. Lancet 1953, i: 37-40.
7. Head JM. Tracheostomy in the management of respiratory problems. N Engl J Med 1960, 264: 587-91.
8. Watts JM. Tracheostomy in modern practice. Br J Surg 1963, 50: 954-75.
9. Heffner JE. Timing of tracheostomy in mechanically ventilated patients. Am Rev Respir Dis 1993, 147: 768-71.
10. Sheldon CH, Pudenz RH, Tichy FY. Percutaneous tracheostomy. JAMA 1957, 165: 2068-70.
11. Toye FJ, Weinstein JD. A percutaneous tracheostomy device. Surgery 1969, 384-9.
12. Ciaglia P, Firsching R, Syniec C. Elective percutaneous dilatational tracheostomy: a new and simple bedside procedure. A preliminary report. Chest 1985, 87: 715-9.
13. Griggs WM, Worthley LIG, Gilligan JE, et al. A simple percutaneous tracheostomy technique. Surg Gynecol Obstet 1990, 170: 534-5.

14. *van Heurn LW*. When and how should we do a tracheostomy? *Curr Opin Crit Care* 2000, 6(4): 267-70.
15. *Soni N*. Percutaneous tracheostomy: how to do it. *Br J Hosp Med* 1997, 57(7): 339-45.
16. *Freeman B, Isabella K, Lin N, Buchman T*. A meta-analysis of prospective trials comparing percutaneous and surgical tracheostomy in critically ill patients. *Chest* 2000, 118(5): 1412-8.
17. *Friedman Y, Mayer AD*. Bedside percutaneous tracheostomy in critically ill patients. *Chest* 1993, 104: 532-5.
18. *Toye FJ, Weinstein JD*. Clinical experience with percutaneous tracheostomy and cricothyroidotomy in 100 patients. *J Trauma* 1986, 26: 1034-40.
19. *Delany S, Stokes J*. Percutaneous dilatational tracheostomy: One's year experience. *N Z Med J* 1991, 104: 188-9.
20. *Friedman Y, Fildes J, Mizock B, et al*. Comparison of percutaneous and surgical tracheostomies. *Chest* 1996, 110: 480-5.
21. *Hill BB, Zweng TN, Maley RH, et al*. Percutaneous dilatational tracheostomy: report of 356 cases. *J Trauma* 1996, 40: 238-44.
22. *Crofts SL, Alzeer A, McGuire PG, et al*. A comparison of percutaneous and operative tracheostomies in intensive care patients. *Can J Anaesth* 1995, 9: 775-9.
23. *Ivatury R, Siegel JH, Stahl WA, et al*. Percutaneous tracheostomy after trauma and critical illness. *J Trauma* 1992, 32: 133-40.
24. *Winkler WB, Karnik R, Seelman O, et al*. Bedside percutaneous dilatational tracheostomy with endoscopic guidance: experience with 71 ICU patients. *Intensive Care Med* 1994, 20: 476-9.
25. *Wang MB, Berke GS, Ward PH, et al*. Early experience with percutaneous dilatational tracheostomy. *Laryngoscope* 1992, 102: 157-62.
26. *Smith I, Fleming S, Cernainu A*. Mishaps during transport from the intensive care unit. *Crit Care Med* 1990, 18: 278-81.
27. *Cobean R, Beals M, Moss, C, Bredenberg CE*. Percutaneous dilatational tracheostomy: a safe, cost-effective bedside procedure. *Arch Surg* 1996, 131(3): 265-71.
28. *McHenry CR, Raeburn CD, Lange RL, Priebe PP*. Percutaneous tracheostomy: a cost-effective alternative to standard open tracheostomy. *Am Surg* 1997, 63(7): 646-51.
29. *Friedman Y, Mizock B*. Percutaneous versus surgical tracheostomy: procedure of choice or choice of procedure. *Crit Care Med* 1999, 27(8): 1684-5.

Αλληλογραφία:

Ι. Κεσίσογλου
Αρτέμιδος 3
570 10 Πεύκα
Θεσσαλονίκη

Corresponding author:

Ι. Kesisoglou
3, Artemidos Str.
570 10 Pefka
Thessaloniki

Σπονδυλοδισκίτιδα και παρασπονδυλικό απόστημα από βρουκέλλα. Περιγραφή τριών περιπτώσεων

Π. Νικολαΐδης¹, Σ. Μεταλλίδης¹, Π. Κολλάρας¹, Α. Σοφός¹,
Α. Δρεβελέγκας², Α. Τσώνα¹, Ε. Κουμεντάκη¹, Α. Τουρκαντώνης¹

¹ Α' Παθολογική Κλινική, Τμήμα Λοιμώξεων, Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ

² Ακτινολογικό Εργαστήριο, Νοσοκομείο ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη

Περίληψη. Περιγράφονται τρεις περιπτώσεις ασθενών με σπονδυλοδισκίτιδα και σύγχρονη ανάπτυξη παρασπονδυλικών αποστημάτων από βρουκέλλα. Η εντόπιση των βλαβών και στους τρεις ασθενείς ήταν στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης. Η διάγνωση της νόσου βασίστηκε στις ορολογικές δοκιμασίες της βρουκέλλωσης (τίτλος αντισωμάτων >1:160) και σε απεικονιστικές ακτινολογικές μεθόδους όπως η αξονική και μαγνητική τομογραφία. Η αγωγή ήταν τριπλή από την έναρξη λόγω των παρασπονδυλικών αποστημάτων. Οι δυο πρώτοι ασθενείς έλαβαν στρεπτομυκίνη για 21 ημέρες μαζί με δοξυκυκλίνη και ριφαμπικίνη, ενώ ο τρίτος ασθενής έλαβε δοξυκυκλίνη, ριφαμπικίνη και τριμεθοπρίμη - σουλφαμεθοξαζόλη. Η μέση διάρ-

κεια θεραπείας ήταν 130 ημέρες με πλήρη ύφεση της νόσου. Τα συμπτώματα, ευρήματα και εργαστηριακά ήταν μη ειδικά στην σπονδυλοδισκίτιδα από βρουκέλλα, με αποτέλεσμα να υπάρχει μεγάλη καθυστέρηση από την έναρξη των συμπτωμάτων μέχρι τη διάγνωση. Είναι γενικά αποδεκτό, ότι η διάρκεια θεραπείας της σπονδυλοδισκίτιδας είναι μεγαλύτερη από την απλή βρουκέλλωση. Όμως ακόμα και σήμερα η διάρκεια και το είδος της θεραπείας στηρίζονται στην κλινική εμπειρία. Οι υποτροπές είναι λιγότερες στα τριπλά σχήματα. Αναπτύσσονται τα διαγνωστικά και θεραπευτικά προβλήματα της νόσου μετά από ανασκόπηση της σύγχρονης βιβλιογραφίας.

Ελλην Ιατρ 2004, 70: 73 - 79.

Η βρουκέλλωση είναι μια ζωνοσός που προκαλείται από τα μικρόβια του γένους *Brucella*. Είναι μια συστηματική λοίμωξη που μπορεί να προσβάλλει πολλά όργανα και ιστούς. Η λοίμωξη του ανθρώπου προκύπτει από επαγγελματική επαφή με μολυσμένο ζώο ή από κατανάλωση μολυσμένου γάλακτος, γαλακτοκομικών προϊόντων ή μολυσμένων ιστών.

Η σπονδυλίτιδα από βρουκέλλα είναι η πιο σημαντική από τις οστεοαρθρικές επιπλοκές, αφορά συχνότερα τους ηλικιωμένους και σπάνια μπορεί να οδηγήσει στην δημιουργία παρασπονδυλικών αποστημάτων ή αποστημάτων στον νωτιαίο σωλήνα¹. Είναι δύσκολη στην διάγνωση και απαιτείται υψηλός δείκτης υποψίας. Κύριο σύμπτωμα

είναι ο πόνος στην σπονδυλική στήλη. Δεν υπάρχουν σαφείς απόψεις για το είδος, τον αριθμό και την διάρκεια της θεραπείας. Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν καθίσταται σαφές αν τα τριπλά σχήματα θεραπείας (στρεπτομυκίνη + δοξυκυκλίνη + ριφαμπικίνη) υπερτερούν των κλασικών διπλών σχημάτων ως προς την αποτελεσματικότητα. Επίσης δεν υπάρχουν στοιχεία για την ακριβή διάρκεια της θεραπείας και οι περισσότεροι συγγραφείς στηρίζονται στην κλινική ανταπόκριση, καθώς τα απεικονιστικά ευρήματα υποχωρούν με πολύ βραδύ ρυθμό. Παραμένει πάντα το πρόβλημα της μη αποτελεσματικής διεύθυνσης της στρεπτομυκίνης στα οστά και το ερώτημα κατά πόσο είναι απαραίτητη στα σχήματα θεραπείας.

Στην εργασία αυτή περιγράφονται, λόγω σπανιότητας, τρεις περιπτώσεις σπονδυλοδισκίτιδας με ταυτόχρονο σχηματισμό παρασπονδυλικών αποστημάτων από *Brucella* και αναπτύσσονται τα διαγνωστικά και θεραπευτικά προβλήματα της νόσου.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τρεις περιπτώσεις με σπονδυλίτιδα από *Brucella* διαγνώστηκαν στην Α' Παθολογική Κλινική, ΑΠΘ στη διάρκεια 1999-2000.

Η διάγνωση της βρουκέλλωσης έγινε και στις τρεις περιπτώσεις με την αύξηση του τίτλου (>160) της τυποποιημένης συγκολλητινοαντίδρασης για την *Brucella* (αντίδραση Wright) και την αύξηση του τίτλου της Coombs για μελιταίο. Η διάγνωση της σπονδυλίτιδας έγινε με βάση τα κλινικά συμπτώματα και τις απεικονιστικές ακτινολογικές μεθόδους.

Οι ασθενείς υποβλήθηκαν στον καθιερωμένο εργαστηριακό έλεγχο τόσο κατά την διάρκεια της νοσηλείας τους, όσο και κατά την διάρκεια της παρακολούθησης.

Απεικονιστικά κατά τη διαγνωστική προσέλαση έγιναν και στους τρεις ασθενείς σπινθηρογράφημα οστών με ραδιενεργό τεχνήτιο, αξονική τομογραφία και μαγνητική τομογραφία. Η παρακολούθηση των ασθενών έγινε με την βοήθεια της μαγνητικής τομογραφίας και σε μία από τους ασθενείς έγινε επιπλέον ολοσωματικό σπινθηρογράφημα με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι κοκκιοκυττάρων (Leukoscan).

Η διάρκεια της θεραπείας στηρίχτηκε στην κλινική ανταπόκριση των ασθενών, την εργαστηριακή και την απεικονιστική αξιολόγηση.

Περίπτωση πρώτη

Γυναίκα 66 ετών νοσηλεύτηκε σε περιφερικό γενικό νοσοκομείο λόγω διάχυτου κοιλιακού άλγους και πυρετού (έως 38°C, χωρίς ρίγος) από 20μέρου. Ιστορικό αρτηριακής υπέρτασης.

Από τον εργαστηριακό έλεγχο προέκυψαν: Λευκά αιμοσφαίρια 10300/μL, ουδετερόφιλα 62%, TKE 64 mm/h, αιματοκρίτης 34,9 %, SGOT 45 U/L, SGPT 49 U/L, ALP 150 mg/dl, LDH 470 mg/dl, CRP 5 mg/dl και Wright 1/320.

Η αξονική τομογραφία κοιλίας ήταν φυσιολογική. Ανέφερε τη βρώση μη ελεγχμένων γαλακτοκομικών προϊόντων και διαμονή σε ενδημική περιοχή για μελιταίο. Με την διάγνωση της βρουκέλλωσης (στηρίχτηκε στην αύξηση του τίτλου της τυποποιημένης συγκολλητινοαντίδρασης για τη *Brucella* - αντίδραση Wright →1/160 σε συνδυασμό με το επιδημιολογικό κριτήριο) έγινε έναρξη διπλού σχήματος με στρεπτομυκίνη (1 g x 1 im για 21 ημέρες) και δοξυκυκλίνη (100 mg x 2 p.o.). Η ασθενής παρουσίασε ύφεση του πυρετού και έλαβε εξιτήριο. Μετά 10ήμερο παρουσίασε έντονη οσφυαλγία και ισχιαλγία αριστερά με φλεγμονώδη χαρακτήρα του πόνου (πόνος που παρουσίαζε ύφεση κατά την κινητοποίηση, επιδείνωση με την κατάκλιση και επίσης πρωινή δυσκαμψία). Εισαγωγή στην κλινική μας με την πιθανή διάγνωση σπονδυλίτιδας από *Brucella*.

Στο σπινθηρογράφημα οστών (ραδιενεργό τεχνήτιο) παρατηρήθηκε θερμή βλάβη στα παρακείμενα τμήματα των O₂-O₃ σπονδύλων και στο O₄-O₅ διάστημα με χαρακτηρισά δι-σπίτιδας και ερολαγονίτιδα άμφω.



Εικ. 1. Οσφυϊκή Μοίρα Σπονδυλικής Στήλης (ΟΜΣΣ), Μαγνητική Τομογραφία σε T1 ακολουθία, επιμήκης τομή. Προσβολή του μεσοσπονδύλιου διαστήματος O₂-O₃, των παρακείμενων σπονδυλικών σωμάτων και επέκταση της φλεγμονής προς τον πρόσθιο επιμήκη σύνδεσμο.

Στην αξονική τομογραφία οσφυϊκής μοίρας σπονδυλικής στήλης (ΟΜΣΣ) παρατηρήθηκε στο ύψος του O₂-O₃ μεσοσπονδύλιου διαστήματος προσπονδυλική εξεργασία με πυκνότερες μαλακών μοριών και μικρό υποπυκνωτικό τμήμα.

Στην μαγνητική τομογραφία ΟΜΣΣ παρατηρήθηκε δι-άβρωση του πρόσθιου κάτω τμήματος του O₂ και του πρόσθιου άνω του O₃ σπονδύλου με συνοδές αλλοιώσεις και παθολογικό εμπλουτισμό του δίσκου, παρουσία προσπονδυλικής μάζας με περιφερικό παθολογικό εμπλουτισμό και κεντρικές νεκρώσεις, που επεκτείνεται στο ύψος των O₂-O₃ σπονδύλων, διόγκωση του τελικού τμήματος του μυελικού κώνου και της ιππουρίδας με ασαφροποίηση του επισκληρίδιου λίπους που θέτει την υπόνοια επέκτασης της φλεγμονής ενδοκαναλικά (Εικ. 1).

Με τη διάγνωση της σπονδυλοδισκίτιδας από βρουκέλλα και τη συμπλήρωση 20 ημερών αγωγής με στρεπτομυκίνη, η ασθενής συνέχισε με διπλό σχήμα: δοξυκυκλίνη + ριφαμπικίνη (600 mg x 2 από του στόματος). Δυο μήνες μετά, παρά την θεραπεία η ασθενής παρουσίασε επέκταση της παρασπονδυλικής μάζας στη μαγνητική τομογραφία και ετέθει σε τριπλό σχήμα με προσθήκη στην αγωγή της τριμεθοπρίμης - σουλφαμεθοξαζόλης (800 + 160 mg x 2 p.o.). Η ασθενής παρουσίασε βελτίωση. Η συνολική διάρκεια θεραπείας ήταν 150 ημέρες.

Περίπτωση δεύτερη

Γυναίκα 47 ετών, προσήλθε για επίμονη οσφυαλγία από διμήνου με συνοδό μυϊκή αδυναμία των κάτω άκρων και ισχιαλγία δεξιά. Το άλγος είχε φλεγμονώδη χαρακτήρα Πα-



Εικ. 2. ΟΜΣΣ, Μαγνητική Τομογραφία σε T1 ακολουθία, επιμήκης τομή. Στένωση μεσοσπονδύλιου διαστήματος O_3-O_4 με προβολή του δίσκου, ανωμαλία της παραφής των επιφανειών των παρακείμενων σπονδυλικών σωμάτων και χαμηλό σήμα ενδεικτικό του οιδήματος.

ρουσίασε πυρέτιο έως $37,8^{\circ}\text{C}$ που καλύπτονταν από τη συνεχή χορήγηση αντιρευματικών-ανalgητικών. Από την νευρολογική εξέταση διαπιστώθηκαν ελαττωμένα αντανακλαστικά των κάτω άκρων. Υπήρχε ιστορικό πολιομυελίτιδας σε παιδική ηλικία και οστεοπόρωση από 5ετίας. Σε μαγνητική τομογραφία ως εξωτερική ασθενής προ τριμήνου βρέθηκε κήλη μεσοσπονδύλιου δίσκου αριστερά στο ύψος O_3-O_4 σπονδύλου και συνεστήθη χειρουργική αποκατάσταση. Αναφέρει βρώση μη ελεγμένων γαλακτοκομικών προϊόντων.

Από τον εργαστηριακό έλεγχο διαπιστώθηκαν: Λευκά αιμοσφαίρια $6000/\mu\text{L}$, Ουδετερόφιλα 70%, Hct 36%, CRP 12 mg/dl, TKE 64 mm/h, Wright 1/800.

Στο σπινθηρογράφημα οστών παρατηρήθηκε έντονη πρόσληψη του ραδιενεργού ισότοπου (τεχνητίο) στον O_3-O_4 σπόνδυλο και τις ιερολαγόνιες άμφω.

Στην μαγνητική τομογραφία ΟΜΣΣ παρατηρήθηκε παθολογικός εμπλουτισμός των σπονδυλικών σωμάτων και των σύστοιχων δίσκων (O_3-O_4), παθολογικός εμπλουτισμός αφορούσε του προσπονδυλικού χώρου όπισθεν του προσθίου επιμήκους συνδέσμου και του παρασπονδυλικού χώρου που επεκτείνεται αριστερά προς τον σύστοιχο ψοίτη και περιβάλλει το έλυτρο των O_3-O_4 ριζών (Εικ. 2, 3).

Με τη διάγνωση της σπονδυλοδισκίτιδας από *Brucella* έγινε έναρξη τριπλού σχήματος με στρεπτομυκίνη (1 g x 1 im. για 21 ημέρες), ριφαμπικίνη (600 mg x 2 p.o.) και δοξυκυκλίνη (100 mg x 2 p.o.). Είκοσι μέρες μετά την έναρξη της αγωγής παρουσίασε άλγος στη δεξιά κατά γόνυ άρθρωση με συλλογή υγρού στον υπεργοναδικό σύνδεσμο. Η καλλιέργεια του υγρού ήταν αρνητική για βρουκέλλα και χαρακτηρίστηκε αντιδραστική αρθρίτιδα από τη βρουκέλλα. Προστέθηκε στην



Εικ. 3. Εγκάρσια τομή στο ως άνω διάστημα σε T1 ακολουθία μετά έγχυση παραμαγνητικής ουσίας. Παρατηρείται παθολογικός εμπλουτισμός του μεσοσπονδύλιου δίσκου ως και των παρακείμενων παρασπονδυλικών μαλακών μοριών με σχηματισμό μικροαποστημάτων.

αγωγή τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη (800+160 mg x 2 από του στόματος) σε αντικατάσταση της στρεπτομυκίνης. Λόγω της επιμονής των συμπτωμάτων η διάρκεια της θεραπείας ήταν 150 ημέρες. Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης παρατηρήθηκε προοδευτική πτώση του τίτλου της Wright και βελτίωση των απεικονιστικών ευρημάτων στην MRI.

Περίπτωση τρίτη

Άνδρας 25 ετών, νοσηλεύτηκε σε ορθοπαιδική κλινική λόγω άλγους στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης, με αντανάκλαση στην κάτω κοιλία από 40μέρου. Ο ασθενής δεν παρουσίασε νευρολογική σημειολογία και ο πόνος είχε φλεγμονώδη χαρακτήρα. Δεν αναφέρει επαφή με ζώα ή βρώση μη ελεγμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, αλλά ήταν κάτοικος ενδημικής περιοχής για μελιταίο.

Από τον εργαστηριακό έλεγχο προέκυψαν: Λευκά αιμοσφαίρια $7230/\mu\text{L}$, Ουδετερόφιλα 54%, Hct 41,3%, TKE 12 mm/h, CRP 0,1 mg/dl, Wright 1/360, αντίδραση Coombs για βρουκέλλωση 1/1280.

Στο σπινθηρογράφημα οστών παρατηρήθηκε αυξημένη καθήλωση του ραδιοφαρμάκου στον O_3 σπόνδυλο.

Στην αξονική ΟΜΣΣ παρατηρήθηκε παρουσία δύο λυτικών αλλοιώσεων με σκληρυντικό όριο στις αρθρικές επιφάνειες των O_2 και O_3 σπονδύλων και ανάπτυξη παρασπονδυλικής μάζας μαλακών μοριών δεξιά. Ο ασθενής διακομίστηκε στην κλινική μας.

Σε μαγνητική τομογραφία ΟΜΣΣ παρατηρήθηκε προβολή των παρακείμενων αρθρικών επιφανειών στο μεσοσπονδύλιο διάστημα O_2 και O_3 υπό μορφή αυξημένου σήματος και παθολογικού εμπλουτισμού ο οποίος επεκτείνεται προς τα δεξιά, όπου εντός του δεξιού ψοίτη παρατηρούνται μικροαποστημάτια (Εικ. 4).

Με την διάγνωση της σπονδυλίτιδας από *Brucella*, έγινε



Εικ. 4. Η μαγνητική τομογραφία της ΟΜΣΣ σε T2 ακολουθία δείχνει αυξημένο σήμα σπονδυλικών σωμάτων O₂-O₃ ως και του μεσοσπονδύλιου δίσκου, χαρακτηριστικό του οιδήματος αυτών.

έναρξη θεραπείας τριπλού σχήματος με ριφαμπικίνη (600 mg x 2 από του στόματος), δοξυκυκλίνη (100 mg x 2 p.o.) και τριμεθοπρίμη – σουλφαμεθοξαζόλη (800+160 mg x 2 από του στόματος). Η διάρκεια της θεραπείας ήταν 90 ημέρες με προοδευτική ελάττωση του τίτλου της οροαντίδρασης Wright και υποχώρηση των κλινικών εκδηλώσεων και βελτίωση στην MRI.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η βρουκέλλα είναι μικρός, μη κινητός, gram αρνητικός κοκκοβάκιλος, που δε σχηματίζει σπόρους. Υπάρχουν τέσσερα είδη βρουκέλλας, που προκαλούν λοίμωξη στον άνθρωπο. Η *B. melitensis* είναι η περισσότερο παθογόνος και ακολουθείται από την *B. suis*, την *B. abortus* και την *B. canis*. Παγκοσμίως η *B. melitensis* είναι η συνηθέστερη αιτία βρουκέλλωσης.

Η επίπτωση της βρουκέλλωσης στον άνθρωπο σχετίζεται άμεσα με τον επιπολασμό της νόσου στα ζώα. Κύριος στόχος των προγραμμάτων πρόληψης είναι ο έλεγχος του νοσήματος στα ζώα. Στην Ελλάδα το 1975 άρχισε να εφαρμόζεται πρόγραμμα καταπολέμησης της νόσου στα ζώα. Τα επόμενα χρόνια ελαττώθηκε σημαντικά ο επιπολασμός του νοσήματος στα ζώα και από το 1982 παρατηρήθηκε σημαντική ελάττωση των περιπτώσεων βρουκέλλωσης στον άνθρωπο. Το 1990 άρχισε

η εφαρμογή του προγράμματος εκρίζωσης της νόσου στα ζώα, που όμως δεν εφαρμόστηκε πλήρως, με αποτέλεσμα από το 1994 την αύξηση των περιπτώσεων της νόσου στον άνθρωπο².

Το 1998 δηλώθηκαν στο Εθνικό Κέντρο Επιδημιολογικής Παρακολούθησης και Παρέμβασης (ΕΚΕΠΑΠ) 439 περιπτώσεις βρουκέλλωσης. Παράλληλα στο Σύστημα Εργαστηριακής Παρακολούθησης του ΕΚΕΠΑΠ δηλώθηκαν 637 θετικές ορολογικές εξετάσεις και 38 απομονώσεις βρουκέλλας. Βέβαια αν και η δήλωση της βρουκέλλωσης είναι υποχρεωτική στην Ελλάδα, πιστεύεται ότι ο πραγματικός αριθμός περιπτώσεων είναι μεγαλύτερος από αυτόν που δηλώνεται³.

Οστεοαρθρικές επιπλοκές της βρουκέλλωσης αναφέρονται σε ποσοστό 20-60 % των ασθενών⁴. Το φάσμα των οστικών και αρθρικών εκδηλώσεων περιλαμβάνει αρθρίτιδα, σπονδυλίτιδα, οστεομυελίτιδα, τενοντίτιδα και θυλακίτιδα. Η ιερολαγονίτιδα είναι η πιο συχνά αναφερόμενη επιπλοκή. Οι περιφερικές αρθρώσεις που προσβάλλονται πιο συχνά είναι τα ισχία, τα γόνατα και οι αγκώνες. Η σπονδυλίτιδα αφορά συχνότερα τους ηλικιωμένους και μπορεί να οδηγήσει σπάνια στην δημιουργία παρασπονδυλικών αποστημάτων.

Η σπονδυλοδισκίτιδα από βρουκέλλα είναι ασυνήθης στις αναπτυσσόμενες χώρες, όπου η βρουκέλλα έχει εκριζωθεί στα ζώα, όμως περιγράφεται σε περιοχές όπου η νόσος ενδημεί, όπως η Μεσόγειος, η Λατινική Αμερική και η Μέση Ανατολή.

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν μόνο 5 μεγάλες σειρές με σπονδυλοδισκίτιδα από βρουκέλλα από το 1974 έως το 1999⁴⁻⁸. Αφορούν σε ενήλικες ηλικίας 50-60 ετών, κυρίως άνδρες που ζουν σε ενδημικές περιοχές και έχουν επαγγελματική ενασχόληση με ζώα ή καταναλώνουν μη παστεριωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα. Η συχνότερη εντόπιση είναι η οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης (70-80%) και ακολουθεί η αυχενική και θωρακική μοίρα. Τα κυριότερα συμπτώματα είναι ο πόνος (95-100%) και ο πυρετός (60-85%) Η ανάπτυξη παρασπονδυλικών αποστημάτων ή φλεγμονωδών μαζών κυμαίνεται από 6-85%⁴. Η *Brucella melitensis* είναι η πιο συχνή αιτία οστεομυελίτιδας και ακολουθούν η *Brucella suis* και *Brucella abortus*.

Η διάγνωση της σπονδυλίτιδας από βρουκέλλα είναι δύσκολη, γιατί τα συμπτώματα και ευρήματα είναι μη ειδικά, με αποτέλεσμα να υπάρχει μεγάλη καθυστέρηση από την έναρξη των συμπτωμάτων μέχρι τη διάγνωση. Στην διεθνή βιβλιογρα-

φία το διάστημα αυτό είναι 70 ημέρες (SD=63)⁴. Στις τρεις περιπτώσεις που περιγράψαμε το διάστημα αυτό ήταν 68 ημέρες (SD=53).

Το κύριο σύμπτωμα είναι ο πόνος στην περιοχή της σπονδυλικής στήλης, με εντόπιση στην οσφυϊκή μοίρα. Επειδή η οσφυαλγία είναι πολύ συχνό σύμπτωμα στο γενικό πληθυσμό, είναι πολύ σημαντικό να αποσαφηνίζεται ο χαρακτήρας του πόνου, δηλαδή εάν είναι μηχανικός ή φλεγμονώδης. Φλεγμονώδης είναι ο πόνος που εκδηλώνεται αυτόματα, δεν υποχωρεί με την ανάπαυση και συνοδεύεται από έντονη πρωινή δυσκαμψία. Στις λοιμώδεις σπονδυλίτιδες ο πόνος είναι χαρακτηρισικά φλεγμονώδης⁵.

Ο πυρετός δεν είναι συνήθως υψηλός και σε αρκετές περιπτώσεις μπορεί να μην υπάρχει ή να καλύπτεται από τη συνεχή χορήγηση αναλγητικών, όπως συνέβη με την ασθενή της 2^{ης} περίπτωσης. Η απώλεια βάρους, η κακουχία και η ανορεξία είναι μη ειδικά συμπτώματα, που πρέπει όμως να εγείρουν την υπόνοια της φλεγμονώδους αιτιολογίας του πόνου. Η συνοδός ιερολαγονίτιδα είναι ένας δείκτης φλεγμονώδους αιτιολογίας της βλάβης.

Τα εργαστηριακά ευρήματα είναι συνήθως μη ειδικά, όπως ήπια αναιμία, ως αποτέλεσμα της παρατεταμένης λοίμωξης και μέτρια αυξημένη ΤΚΕ που ανευρίσκονται στην πλειονότητα των περιπτώσεων. Η C-ντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) είναι μετρίως αυξημένη⁵.

Οι θετικές καλλιέργειες αίματος είναι διαγνωστικές και πρέπει να λαμβάνονται πολλαπλά δείγματα αίματος πάντοτε. Η βρουκέλλα όμως απομονώνεται σε αναλογία μόνο 20-50% των περιπτώσεων λοίμωξης από *B. abortus* και 10-70% για την *B. melitensis*². Η καλλιέργεια του μεσοσπονδύλιου δίσκου ή οστικών τμημάτων που αφαιρούνται χειρουργικά ή έπειτα από αναρρόφηση με βελόνη, μπορεί να οδηγήσουν στην απομόνωση του μικροοργανισμού.

Η διάγνωση της βρουκέλλωσης μπορεί να στηριχθεί σε ορολογικές δοκιμασίες, όπως είναι η αύξηση του τίτλου της συγκολλητινοαντίδρασης Wright ή η έμμεση Coombs. Όλες σχεδόν οι ορολογικές δοκιμασίες ανιχνεύουν αντισώματα έναντι του λιποπυσακαχαρίτη της εξωτερικής μεμβράνης του μικροβίου. Για την οξεία βρουκέλλωση θεωρείται θετικός τίτλος της αντίδρασης Wright > 1:160. Μετά την ίαση μπορεί να διατηρηθεί τίτλος 1:80 ή και ψηλότερος έως και 5 χρόνια. Άτομα με ιαθείσα βρουκέλλωση μπορεί να εμφανίσουν τίτλο έως και 1:160 κατά την διάρκεια εμπύρετων νοσημάτων, ο

οποίος υποχωρεί σε 7-10 ημέρες. Η αρνητική Wright δεν αποκλείει την νόσο. Τα αποτελέσματα των διαφόρων ορολογικών δοκιμασιών παρουσιάζουν κάποιες διαφορές στην οξεία και στην χρόνια νόσο. Στην αρχή της νόσου παράγονται IgM αντισώματα και στην συνέχεια, περίπου τη δεύτερη εβδομάδα εμφανίζονται IgA και IgG αντισώματα. Έτσι στην οξεία νόσο θετικοποιείται πρώτα η αντίδραση Wright (IgM, IgG2), ενώ στη χρόνια βρουκέλλωση, όπου παραμένουν μόνο τα IgG αντισώματα, η αντίδραση Wright μπορεί να είναι αρνητική και η έμμεση Coombs να είναι θετική (ανιχνεύει μη ειδικές συγκολλητίνες IgG1, IgG2 και IgA)².

Τα απεικονιστικά ευρήματα είναι χρήσιμα για τον καθορισμό της βλάβης και διακρίνονται σε τοπικά και διάχυτα.

Στην πρώτη περίπτωση παρατηρείται μια εστία τοπικής αλλοίωσης ή σκληρίας στο πρόσθιο και άνω τμήμα του σπονδύλου λόγω της μεγάλης αιμάτωσης στην περιοχή αυτή. Η ύπαρξη της τοπικής σκληρίας υποδηλώνει τη βραδεία εξέλιξη της νόσου. Ο παρακείμενος μεσοσπονδύλιος δίσκος και τα παρακείμενα μαλακά μόρια είναι φυσιολογικά. Στην τοπική αυτή προσβολή η διαφορική διάγνωση παλαιών αλλοιώσεων από ενεργό νόσο γίνεται με βάση το ιστορικό, τα εργαστηριακά ευρήματα, το σπινθηρογράφημα οστών και την μαγνητική τομογραφία.

Στην περίπτωση της διάχυτης προσβολής προσβάλλεται ολόκληρο το σώμα του σπονδύλου ή παρακείμενων σπονδύλων, παρατηρείται η ύπαρξη μάζας μαλακών μορίων, που επεκτείνεται είτε παρασπονδυλικά, είτε στον επισκληρίδιο χώρο. Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύονται καλύτερα με τη μαγνητική τομογραφία όπου παρατηρούνται περιοχές χαμηλού σήματος στις T₁ εικόνες, υψηλού στις T₂ και παθολογικός εμπλουτισμός μετά την έγχυση παραμαγνητικής ουσίας. Ο εμπλουτισμός αφορά στον ή στους παρακείμενους σπονδύλους, το μεσοσπονδύλιο δίσκο και τα παρακείμενα μαλακά μόρια.

Η διαφορική διάγνωση με την φυματιώδη σπονδυλίτιδα, με βάση τα απεικονιστικά ευρήματα, αν και δεν είναι ειδική, μπορεί να στηριχθεί στο γεγονός ότι στη σπονδυλίτιδα από βρουκέλλωση ο σπόνδυλος διατηρεί το σχήμα του, δεν παρατηρούνται εκσεσημασμένα παρασπονδυλικά αποστήματα, προσβάλλει κυρίως την οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και μπορεί να παρατηρηθεί η ύπαρξη αερίων εντός του μεσοσπονδύλιου δίσκου.

Η θεραπεία της σπονδυλοδισκίτιδας από βρουκέλλα δεν είναι σαφής ως προς το είδος, τον αριθμό και την διάρκεια των χρησιμοποιούμενων αντιβιοτικών. Εναπόκειται στην εμπειρία του γιατρού η επιλογή του καταλληλότερου θεραπευτικού σχήματος.

Είναι γενικά αποδεκτό, ότι η διάρκεια της θεραπείας της σπονδυλίτιδας από βρουκέλλα είναι μεγαλύτερη από αυτή της απλής βρουκέλλωσης. Η μέση διάρκεια θεραπείας στη σειρά των Solera et al (1999) ήταν 120 ημέρες (45-535) και το 83% των ασθενών έλαβαν αγωγή για περισσότερο από 90 ημέρες⁴. Στις περιπτώσεις που περιγράψαμε η μέση διάρκεια θεραπείας ήταν 130 ημέρες (90-150).

Ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος συνδυασμός αντιβιοτικών είναι η τετρακυκλίνη (κυρίως η δοξυκυκλίνη 100 mg x 2 p.o.) με αμινογλυκοσίδη (κυρίως στρεπτομυκίνη 1 g x 1 im, τουλάχιστον για 14 με 21 ημέρες)⁹. Αυτός ο συνδυασμός προκαλεί βελτίωση των συμπτωμάτων σε ποσοστό 60 - 90 % των ασθενών¹. Πολύ συχνό είναι και το τριπλό σχήμα με την προσθήκη της ριφαμπικίνης (600 mg x 2 p.o.) στο παραπάνω σχήμα⁴. Άλλα φάρμακα, που μπορεί να χρησιμοποιηθούν με μικρότερα ποσοστά επιτυχίας, είναι η σιπροφλοξασίνη (500 mg x 2 p.o.)¹⁰ και η τριμεθοπρίμη - σουλφαμεθοξαζόλη (800 + 160 mg x 2 p.o.)¹¹.

Όταν υπάρχουν παρασπονδυλικές μάζες αυξάνεται το ποσοστό αποτυχίας του διπλού σχήματος¹. Αποτυχίες που οφείλονται σε ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά είναι σπάνιες.

Στις περιπτώσεις που περιγράψαμε, λόγω των παρασπονδυλικών αποστημάτων η αγωγή ήταν τριπλή από την έναρξη. Οι δυο πρώτοι ασθενείς έλαβαν στρεπτομυκίνη για 21 ημέρες μαζί με δοξυκυκλίνη και ριφαμπικίνη, ενώ ο τρίτος ασθενής έλαβε δοξυκυκλίνη, ριφαμπικίνη και τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη.

Στην 1^η περίπτωση, λόγω της επιδείνωσης της παρασπονδυλικής μάζας, προστέθηκε στην αγωγή μετά 2μηνο τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη. Στην 2^η περίπτωση λόγω της αντιδραστικής αορτίτιδας που παρουσιάστηκε, προστέθηκε τριμεθοπρίμη - σουλφαμεθοξαζόλη.

Η χειρουργική παρέμβαση σπάνια ενδείκνυται, εκτός από τις περιπτώσεις με νευρολογική σημειολογία.

Η θνητότητα είναι σπάνια και περιορίζεται σε περιπτώσεις με τετραπληγία ή επέκταση της φλεγμονής στην κοιλιακή αορτή.

Οι υποτροπές κυμαίνονται διεθνώς από 4-

55%¹⁻⁵. Σημαντικό ρόλο στις διαφορές που εμφανίζονται στις διάφορες σειρές παίζει το είδος, ο αριθμός και η διάρκεια της θεραπείας. Η εφαρμογή τριπλών σχημάτων ελαττώνει το ποσοστό των υποτροπών.

ABSTRACT

Nikolaidis P, Metallidis S, Kollaras P, Sofos A, Drevelegas A, Tsona A, Koumentaki E, Tourkantonis A. Spondylitis and paravertebral abscess due to Brucella. Report of three cases. Hell Iatr 2004, 70: 73 - 79.

We describe three cases of patients who had brucellar spondylitis and paravertebral abscesses. In all three patients the findings were in the lumbar region of the spine. Diagnosis was based on serological findings (titers of antibodies to Brucella of >1:160) and imaging procedures such as CT and MRI. The treatment was triple since the beginning due to the paravertebral abscesses. The first two patients received streptomycin for 21 days combined with doxycycline and rifampin, while the third patient received doxycycline, rifampin and trimethoprim-sulfamethoxazole. The mean duration of treatments was 130 days until the complete remission of the disease. The symptoms, signs and laboratory results are not specific for brucellar spondylitis, which may lead to a very long period of investigation from the start of symptoms to the final diagnosis. It is a generally accepted concept that the duration of the spondylitis' treatment should be longer than that of the common brucellosis. But even today the duration and the type of treatment are completely based to clinical experience. The number of relapses is reduced when triple regimens are used. In this article the therapeutic and diagnostic problems of this disease are discussed after review of the current bibliography.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Pina MA, Ara PR, Madrego PJ, Juyol MC, Capaelo JL. Brucellar epidural abscess, Eur J Neurol 1999, 6: 87-9.
2. Κανσουζίδου Α. Εργαστηριακή διάγνωση βρουκέλλωσης. Επιδημιολογικό Δελτίο Λοιμωδών Νοσημάτων Ελλάδος 1998, 3: 2-3.
3. Επιδημιολογικό Δελτίο Λοιμωδών Νοσημάτων Ελλάδος. Η Βρουκέλλωση στην Ελλάδα 1998, 3: 1,7.
4. Solera J, Lozano E, Martinez-Alfaro E. Brucellar Spondylitis : Review of 35 cases and literature survey. Clin Infect Dis 1999, 29: 1440-49.
5. Colmenero JD, Jimenez-Mejias ME, Sanchez-Lora FJ, et al. Pyogenic, tuberculous and brucellar vertebral osteomy-

- elitis: a descriptive and comparative study of 219 cases. *Ann Rheum Dis* 1997; 56: 709-15.
6. *Lifeso RM, Harder E, McCorkell SJ*. Spinal brucellosis. *J Bone Joint Surg Br* 1985, 67: 345-51.
7. *Ariza J, Gudiol F, Valverde J, et al*. Brucellar spondylitis. A detailed analysis based on current findings. *Rev Infect Dis* 1985, 7: 656-64.
8. *Tekkok IH, Berker M, Ozcan OE, Ozgen T, Akalin E*. Brucellosis of the spine. *Neurosurgery* 1993, 33: 838-44.
9. *Solera J, Rodriguez-Zapata M, Geijo P, et al*. Doxycycline - rifampin versus doxycycline - streptomycin in treatment of human brucellosis due to *Brucella melitensis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995, 39: 2061-7.
10. *Agalar C, Usbutun S, Turkyilmaz R*. Ciprofloxacin and rifampicin versus doxycycline and rifampicin in the treatment of brucellosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999, 18,8: 535-8.
11. *Malik GM*. Early clinical response to different therapeutic regimens for human brucellosis. *Am J Trop Med Hyg* 1998, 58,2: 190-1.

Αλληλογραφία:

Π. Νικολαΐδης
Α' Παθολογική Κλινική
Τμήμα Λοιμώξεων
Στ. Κυριακίδη 1
540 06 Θεσσαλονίκη

Corresponding author:

P. Nikolaidis
A' Medical Department
Infections Section
AHEPA Hospital
Aristotle University of Thessaloniki
1, St. Kyriakidi Str.
540 06 Thessaloniki
Greece

Οι συνέπειες του καπνού από την καλλιέργεια, επεξεργασία... έως την κατανάλωση

Γεώργιος Ηλονίδης

Δ' Παθολογική Κλινική ΑΠΘ, Νοσοκομείο «Ιπποκράτειο», Θεσσαλονίκη

Το έναυσμα για τη συγγραφή αυτού του άρθρου δόθηκε από την ενδιαφέρουσα εργασία των Χλωρού και συν.¹ που δημοσιεύεται στο παρόν τεύχος.

Στις αρχές του 16^{ου} αιώνα οι Agricola και Paccellus διατυπώνουν τις πρώτες ιατρικές παρατηρήσεις για επαγγελματικά νοσήματα. Στις αρχές του 18^{ου} αιώνα το 1713, ο Ramazzini² πρώτος περιγράφει τα επεισόδια δύσπνοιας σε εργαζομένους σε μύλους και το ίδιο χρονικό διάστημα έγραψε για νοσήματα σχετιζόμενα με τους εργαζομένους σε καπνό.

Η αλματώδης ανάπτυξη της βιομηχανίας και βιοτεχνίας είχε ως τίμημα την αύξηση των περιπτώσεων με αναπνευστικά προβλήματα, με πρώτη το βρογχικό άσθμα, που ονομάζεται επαγγελματικό άσθμα, που αμεσότητα συνδέθηκε με την επαγγελματική έκθεση του ατόμου σε συγκεκριμένες ουσίες. Ο αριθμός των καταγραφόμενων ουσιών που ευθύνονται για το επαγγελματικό άσθμα και γενικά οι εκδηλώσεις από το αναπνευστικό διαρκώς αυξάνονται ως τίμημα της βιομηχανικής και τεχνολογικής εξέλιξης.

Οι Ghosh και συν.³ παρατήρησαν ότι σημαντικό ποσοστό των αγροτών που καλλιεργούν καπνό εμφανίζουν συμπτώματα που αποδίδονται στην απορρόφηση της νικοτίνης των πράσινων φύλλων του καπνού από το δέρμα "green symptoms" και αφορούν τη ναυτία, κεφαλαλγία, εμέτους, ζάλη, επιπεφυκίτιδα και ερεθισμό των χειλέων.

Η επαγγελματική έκθεση στον καπνό, όπως αυτή των καπνεργατών δεν σχετίζεται με την επαγγελματική νόσο των αγροτών που καλλιεργούν καπνό⁴. Η επαγγελματική έκθεση των καπνεργατών εκδηλώνεται με μια σειρά συμπτωμάτων που αφορούν το αναπνευστικό όπως ο βήχας,

ο συριγμός, η δύσπνοια, η καταρροή και αυτοτελή νοσήματα όπως το βρογχικό άσθμα, η χρόνια βρογχίτιδα, ρινίτιδα, εξωγενή αλλεργική κυψελίτιδα, διάχυτη πνευμονική ίνωση⁴.

Η σκόνη καπνού μπορεί να περιέχει βακτηρίδια, ενδοτοξίνες, σπόρους μυκήτων, γύρεις, ακάρεα. Αυτή η σκόνη μπορεί να είναι αιτία αλλεργικών εκδηλώσεων από το ανώτερο και κατώτερο αναπνευστικό σύστημα, ενώ ο καπνός τσιγάρου σε ευαισθητοποιημένα άτομα έναντι χημικών ουσιών αυξάνει σημαντικά την πιθανότητα επαγγελματικού άσθματος^{5,6}. Οι Vali και Beri⁷ επισημαίνουν ότι η συχνότητα εμφάνισης και η βαρύτητα των συμπτωμάτων σχετίζονται άμεσα με το περιβάλλον εργασίας και ειδικότερα με την επάρκεια συστημάτων εξαερισμού, την υγρασία του χώρου και κυρίως με τη συγκέντρωση σωματιδίων της σκόνης που απομένει ως υπόλειμμα της επεξεργασίας των ξηρών φύλλων καπνού.

Εντυπωσιακά είναι τα αποτελέσματα των Lander και Gravesen⁸ που βρήκαν ότι το 69% των εργαζομένων σε καπνό παρουσίασαν συμπτωματολογία επαγγελματικού άσθματος και χρόνιας βρογχίτιδας. Σε αυτή τη μελέτη διαπιστώθηκε ότι σε εβδομαδιαία παρακολούθηση οι ημερήσιες μεταβολές της PEF_R (μεγίστης εκπνευστικής ροής) ήταν 14,3% στους εργάτες, ενώ στην ομάδα μαρτύρων το ποσοστό των διακυμάνσεων ήταν 9,8%. Επίσης, στην ίδια μελέτη διαπιστώθηκε σημαντική πτώση της FVC (δυναμική ζωτική χωρητικότητα), όπως του FEV₁ (δυναμικός εκπνευστικός όγκος αέρα στο πρώτο δευτερόλεπτο).

Οι Veigi και συν.⁹ διαπίστωσαν εκδηλώσεις από το ανώτερο αναπνευστικό σύστημα, όπως η ρινίτιδα και το κατώτερο αναπνευστικό σύστημα,

όπως αυτές της συρίττουσας αναπνοής και δύσπνοιας και σε εργαζομένους με την παρασκευή τσιγάρων και πούρων μη σχετιζόμενες με την επεξεργασία φύλλων καπνού.

Οι Mukhtar και συν.¹⁰ διαπίστωσαν σε καπνεργάτες βλάβη των μικρών αεραγωγών που αποδόθηκε στη σκόνη καπνού. Οι διαταραχές της αναπνευστικής λειτουργίας δεν συσχετίστηκαν με τη διάρκεια έκθεσης στα φύλλα καπνού.

Οι Mustajbegovic και συν.⁴ διαπίστωσαν σημαντική επικράτηση των χρόνιων αναπνευστικών συμπτωμάτων στους καπνεργάτες. Το 6,2% παρουσίασε επαγγελματικό άσθμα. Οι τιμές του FEV₁ και της FEF₅₀ και FEF₂₅ (δυναμική εκπνευστική ροή) μεταξύ 25-50%, της FVC ήταν σημαντικά μικρότερες των προβλεπόμενων τιμών. Τα ευρήματα δείχνουν τη σαφή επίδραση της σκόνης καπνού στους μικρούς αεραγωγούς.

Τα ευρήματα των Χλωρού και συν.¹ διαφέρουν από αυτά των αναφερθέντων ερευνητών. Είναι αξιοπαρατήρητο και εκφράζει περισσότερο την πραγματικότητα η εργασία αυτή, για το βασικό λόγο του μεγάλου αριθμού των περιπτώσεων που μελετήθηκαν. Η συχνότητα της χρόνιας βρογχίτιδας όπως και αυτή της αποφρακτικής πνευμονοπάθειας ήταν μεγαλύτερη στην ομάδα μαρτύρων, προφανώς λόγω της σαφούς υπεροχής των καπνιστών στην ομάδα αυτή. Οι τιμές FEF 25-75% λίγο απέχουν από τις προβλεπόμενες τιμές. Η ανεύρεση των διαταραχών στους μικρούς αεραγωγούς έχει επισημανθεί και από τους Mokhart και συν.¹⁰.

Εκείνο που κάνει εντύπωση από την εργασία των Χλωρού και συν.¹ είναι η αυξημένη συχνότητα ρινίτιδας (27,3%). Φαίνεται από δεδομένα της σύγχρονης βιβλιογραφίας, ότι είναι το μεγαλύτερο ποσοστό ρινίτιδας σε εργαζομένους σε παρόμοιους χώρους. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη πυκνότητα της αιωρούμενης σκόνης στο χώρο εργασίας που είναι η αιτία του υψηλού ποσοστού ρινίτιδας. Πράγματι καμία από τις δημοσιευθείσες εργασίες δεν παρουσιάζει τόσο σημαντικές ποσοτήτες αιωρούμενης σκόνης στον χώρο εργασίας. Ίσως αυτό να αποτελεί βάσιμο λόγο για την αυξημένη συχνότητα της ρινίτιδας και πιθανό να αποδίδεται σε χημικό ερεθισμό.

Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας διαφαίνεται ότι οι επιπτώσεις στους εργαζομένους στην παρασκευή τσιγάρων και πούρων δεν έχει σοβαρές συνέπειες στην υγεία.

Είναι όμως ηθική υποχρέωση δίχως υποκρισία αλλά και υπερβολές να επισημανθούν επιπε-

δικά μέρος των συνεπειών της χρήσης καπνού. Οι θάνατοι οι οφειλόμενοι στο κάπνισμα είναι περισσότεροι από το άθροισμα των θανάτων από τα πυροβόλα όπλα, τα ναρκωτικά, τις αυτοκτονίες, το AIDS και τα αυτοκινητιστικά ατυχήματα^{11,12}. Το 90% των καρκίνων του πνεύμονα οφείλονται στη χρήση καπνού.

Οι ετήσιοι θάνατοι στις ΗΠΑ ανέρχονται σε 410.000 ενώ στην Ε.Ε. στις 500.000 και σχεδόν στα 2.000.000 στις αναπτυσσόμενες χώρες. Οι καπνοβιομηχανίες μιλούν για θέσεις εργασίας και ελευθερίες του ατόμου. Στις δημοκρατίες όμως η άσκηση ενός δικαιώματος όπως το κάπνισμα εμπεριέχει και μια ευθύνη, η ανάληψη της οποίας προϋποθέτει την πληροφόρηση¹². Συνεπώς είναι αδήριτη ανάγκη του κάθε χρήστη καπνού να γνωρίζει τις συνέπειες της συνήθειάς του ώστε να μπορεί να αναλάβει συνειδητά την ευθύνη της συνέχισης της¹².

Η εργασία των Χλωρού και συν.¹ είναι μια παράσταση ενός έργου, όπου δεν καταγράφονται σοβαρές συνέπειες στην υγεία των εργαζομένων στην επεξεργασία φύλλων καπνού. Η άλλη όψη όμως δηλαδή η κατανάλωση προϊόντων καπνού εκφράζει ανάγλυφα μια ζοφερή πραγματικότητα της χρήσης του καπνού που διαχρονικά προκαλεί μη αναστρέψιμες βλάβες της υγείας και είναι μια συνεχής απειλή της ζωής των πολιτών.

ABSTRACT

Ilonidis G. Health consequence from cultivation, processing... use of tobacco products. *Hell Iatr* 2004, 70: 80-82.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Χλωρός Δ, Σιγλετίδης Α, Κυριαζής Γ, Βλαχογιάννη Ε, Τσιότσος Ι, Κακούρα Μ. Επιπτώσεις στο αναπνευστικό σύστημα από την επεξεργασία ξηρών φύλλων καπνού. *Ελληνική Ιατρική* 2004, 70, 1.
2. Ramazzini B. Disease of workers. New York: NY Ilafner Publishing Company, 1964: 14-51.
3. Ghosh SK, Saiyed HN, Gokani VN, et al. Occupational health problems among workers handling Virginia tobacco. *Int Arch Occup Environ Health* 1986, 58: 47-52.
4. Mustajbegovic J, Zuskin E, Schachter N, Kern J, et al. Respiratory findings in Tobacco Workers. *Chest* 2003, 123;5: 1740-48.
5. Blair A, Bemey BW, Heid MF, et al. Causes of death among workers in the tobacco industry. *Arch Environ Health* 1983, 38: 223-28.
6. Frew JA. Advances in environmental and occupational disease 2003. *J Allergy Clin Immunol* 2004, 113: 1161-66.
7. Valic F, Beritic D, Butkovic D. Respiratory response to

- tobacco dust exposure. *Am Rev Respir Dis* 1976, 113: 751-55.
8. *Lander F, Gravesen S.* Respiratory disorders among tobacco workers. *Br J Ind Med* 1988, 45: 500-2.
9. *Viegi G, Paggiaro PL, Begliomini E, et al.* Respiratory effects of occupational exposure to tobacco dust. *Br J Ind Med* 1986, 43: 802-8.
10. *Mukhtar MSR, Rao EMM, Gamra NS, et al.* Respiratory effects of occupational exposure to tobacco dust. *Respiration* 1991, 58: 271-76.
11. *Rivara FP, Ebel BE, Garrison MM, Christakis DA, et al.* Prevention of smoking-related deaths in the United States. *Am J Prev Med* 2004, 27,2: 118-25.
12. *Ρούσσος Χ.* Κάπνισμα: Η μεγάλη επιδημία (Η πολιτική και ηθική ευθύνη των γιατρών). *Πνεύμων* 2000, 1: 1323-35.
- Αλληλογραφία:*
G. Ηλονίδης
Δ' Παθολογική Κλινική ΑΠΘ
Νοσοκομείο Ιπποκράτειο
Αλ. Παπαναστασίου, 50
544 54 Θεσσαλονίκη
- Corresponding author:*
G. Ilonidis
D' Department of Medicine
Aristotle University
Hippokratio Hospital
50, Al. Papanastasiou Str.
544 54 Thessaloniki
Greece

Αντιβιοτικοάντοχα βακτήρια και δημόσια υγεία

Παύλος Κοΐδης

Κτηνιατρική Σχολή ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη

Στο τεύχος 70, 1, 2004 της Ελληνικής Ιατρικής περιλαμβάνεται και η ερευνητική εργασία με τίτλο “Απομόνωση στελεχών *Escherichia coli* O157:H7 από τρόφιμα ζωικής προέλευσης και παραγωγικά ζώα”. Η προαναφερόμενη εργασία είναι πολύ καλά δομημένη, με σωστή μεθοδολογία και πρόφατη βιβλιογραφία. Επίσης τα αποτελέσματά της θεωρούνται πολύ ενδιαφέροντα διότι για πρώτη φορά ανιχνεύθηκε σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης η *Escherichia coli* O157:H7 που θεωρείται από άποψη δημόσιας υγείας ως ένα από τα σπουδαιότερα τροφιογενή παθογόνα βακτήρια για τον άνθρωπο.

Παίρνοντας αφορμή από την εργασία θεώρησα σκόπιμο να αναφερθώ σε ένα σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας που έχει σχέση με την αντιβιοτικοαντοχή που αναπτύσσουν πολλά τροφιογενή παθογόνα βακτήρια απέναντι στις διάφορες αντιμικροβιακές ουσίες που χρησιμοποιούνται σήμερα στην κλινική πράξη. Αυτό σημαίνει πρακτικά ότι πολλά αντιβιοτικά δεν μπορούν να θεραπεύσουν την υγεία των ανθρώπων και των ζώων.

Είναι γνωστό ότι η αντοχή στα αντιβιοτικά που επιδεικνύουν τα παθογόνα βακτήρια του ανθρώπου, αποδίδεται κυρίως στην αλόγιστη χρήση των αντιβιοτικών στην ιατρική, ωστόσο υποστηρίζεται η άποψη ότι και η χρήση των αντιβιοτικών στην κτηνιατρική συμβάλλει στο πρόβλημα για πολλά παθογόνα βακτήρια^{1,2}.

Η εισαγωγή των αντιβιοτικών στην κτηνιατρική πράξη συνέβαλλε σημαντικά στην βελτίωση της υγείας και της παραγωγικότητας των ζώων τις τελευταίες δεκαετίες. Παρά την εντατική και μερικές φορές μη σωστή χρήση τους, τα αντιβιοτικά εξακολουθούν να παραμένουν αποτελεσματικά ενάντια στους περισσότερους λοιμογόνους παράγοντες. Ωστόσο η απώλεια της δραστητικότητάς τους

εξαιτίας της ανάπτυξης της αντιβιοτικοαντοχής γίνεται όλο και πιο συχνή. Είναι σαφές ότι παθογόνα βακτήρια του ανθρώπου και των ζώων εμφανίζονται όλο και πιο ανθεκτικά σε αντιβιοτικά της πρώτης γραμμής συμπεριλαμβανομένων των ευρέως φάσματος κεφαλοσπορινών, αμινογλυκοσιδών και φλουοροκινολονών^{3,4}.

Η χρήση και η κατάχρηση των αντιβιοτικών σε ιατρική και κτηνιατρική οδήγησε στην αύξηση της συγκέντρωσής τους στο φυσικό περιβάλλον. Αυτό διευκόλυνε την ανάπτυξη ανθεκτικότητας τόσο στα παθογόνα όσο και στα μη παθογόνα βακτήρια. Η αυξημένη παρουσία ανθεκτικών μικροβίων στο περιβάλλον (ρέοντα απόβλητα, υπόνομοι, χώμα) συνιστά μια τεράστια πηγή ανθεκτικών μικροβίων, από όπου η ανθεκτικότητα μπορεί να μεταφερθεί σε ανθρώπους και ζώα⁵⁻⁹.

Η ανάπτυξη παθογόνων ανθεκτικών στα αντιβιοτικά βακτηρίων στα ζώα αποτελεί κίνδυνο όχι μόνο για την υγεία των ζώων, αλλά επηρεάζει και τη δημόσια υγεία, όταν αυτά μεταφέρονται στον άνθρωπο ως σπιτογενείς μολυσματικοί παράγοντες^{3,10,11}.

Τα περισσότερα επιστημονικά δεδομένα τα τελευταία 10 χρόνια, υποστηρίζουν την άποψη ότι ο άνθρωπος μολύνεται με τα αντιβιοτικοάντοχα στελέχη των παθογόνων βακτηρίων των ζώων με την κατανάλωση μολυσμένων ζωικών τροφίμων και από το περιβάλλον. Τα ζωικά τρόφιμα μολύνονται με αντιβιοτικοάντοχα βακτήρια, παθογόνα ή μη, κατά τη διαδικασία προετοιμασίας του σφαγίου (κατά τον εκσπλαχνισμό) ή αργότερα κατά τη διαδικασία της προετοιμασίας του. Ωστόσο πρέπει να αναφερθεί ότι υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι πηγή αντιβιοτικοανθεκτικών βακτηρίων στη φάρμα μπορεί να είναι ο ίδιος ο άνθρωπος ή και άλλα ζώα ακόμη και πτηνά που με

τα απόβλητά τους μολύνουν το περιβάλλον και ότι η παρουσία ανθεκτικών βακτηρίων στα ζώα είναι ανεξάρτητη της θεραπείας με αντιβιοτικά. Επομένως τρόφιμα μολυσμένα με αντιβιοτιοάντοχα βακτήρια μπορεί να προέρχονται από ζώα στα οποία δεν χορηγήθηκαν αντιβιοτικά. Τέλος επιδημιολογικές μελέτες αποδεικνύουν τη μόλυνση του ανθρώπου μετά από επαφή με ζώα συντροφιάς στα οποία χορηγήθηκαν αντιβιοτικά για θεραπευτικούς λόγους^{2,6,9,12-14}.

Η κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων οδηγεί σε μόλυνση του ανθρώπου με βακτήρια παθογόνα και ανθεκτικά σε ένα ή περισσότερα αντιβιοτικά που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία του. Μερικά σημαντικά τροφομογενή παθογενή βακτήρια, είναι κάποια που ανήκουν στα γένη *Salmonella*, *Campylobacter*, καθώς και η εντεροτοξικογόνος *Escherichia coli*. Αυτά όλα είναι βακτήρια ικανά να προκαλέσουν σοβαρές λοιμώξεις^{4,15-17}.

Το πρόβλημα της αντιβιοτικοανθεκτικότητας είναι διεθνές. Η επιστημονική κοινότητα έχει την υποχρέωση να επαγρυπνεί. Η Αμερικανική Εταιρεία Μικροβιολογίας από την πλευρά της αποτρέπει αντιμικροβιακές ουσίες που χρησιμοποιούνται θεραπευτικά στον άνθρωπο, να χορηγούνται μη θεραπευτικά στα ζώα. Οι Phillips και συν.² υποστηρίζουν ότι οι προσπάθειες πρέπει να επικεντρωθούν στην αποτροπή μεταφοράς όλων των παθογόνων τροφιομογενών βακτηρίων ανεξαρτήτως αντιβιοτικοαντοχής με την εφαρμογή «σωστής υγιεινής πρακτικής» στη φάρμα, στο σφαγείο, στην επεξεργασία και διάθεση των τροφίμων και τέλος από τον καταναλωτή. Σε όλες σχεδόν τις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης από αρκετά χρόνια έχουν αναπτυχθεί δίκτυα ελέγχου για την αντιμετώπιση του προβλήματος.

Η νομοθεσία για την προστασία της δημόσιας Υγείας από πλευράς Κτηνιατρικής, προβλέπει:

- Υπεύθυνο κτηνίατρο της κτηνοτροφικής μονάδας του οποίου ένα από τα καθήκοντά του θα είναι και οι έλεγχοι των χρόνων αναμονής των φαρμάκων που χορηγούνται στα ζώα.
- Τήρηση βιβλίου νοσηλείας των ζώων στην εκτροφή.
- Υποχρεωτική συνταγογράφηση.

ABSTRACT

Koidis P. Antibiotic resistant bacteria and public health. *Hell Jatr* 2004, 70: 83 - 84.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Casewell M, Friis C, Marco E, McMullin P, Phillips I. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *J Antimicrob Chemother*, 2003, 52: 159-61.
2. Phillips I, Casewell M, Cox T, De Groot B, Friis C, Jones R, Nightingale C, Preston R, Waddell J. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J Antimicrob Chemother* 2004, 53: 28-52.
3. McDermott PF, Zhao S, Wagner DD, Simjee S, Walker RD, White DG. The food safety perspective of antibiotic resistance. *Anim Biotechnol* 2002, 13(1): 71-84.
4. Μεθενίτου Γ. Ανθεκτικότητα μικροβίων έναντι αντιμικροβιακών παραγόντων στον άνθρωπο από τη διατροφική αλύσιδα. 3ο Παν. Συμπόσιο Υγιεινής και Τεχνολογίας τροφίμων. Αθήνα.
5. Alonso A, Sanchez P, Martinez JL. Environmental selection of antibiotic resistance genes. *Environ Microbiol* 2001, 3(1): 1.
6. Laxminarayan R. Antibiotic resistance: An emerging environmental health treat. *Resources for the future*, August-Issue Brief 2002: 9-19.
7. Lipsitch M, Singer RS, Levin BR. Antibiotics in agriculture: When is it time to close the barn door? *PNAS* 2002, 99(9): 5752-4.
8. Anonymous. FAO/OIE/WHO Expert Workshop on Non-Human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance: Scientific assessment. Geneva, 2003, 1-5.
9. Kümmerer K. Significance of antibiotics in the environment. *J Antimicrob Chemother* 2003, 52: 5-7.
10. Threlfall JE, Ward LR, Frost JA, Willshaw GA. The emergence and spread of antibiotic resistance in foodborne bacteria. *Int J Food Microbiol* 2000, 62: 1-5.
11. Van den Bogaard AE, Stobberingh EE. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. *Int J Food Microbiol* 2000, 14: 327-35.
12. Danielsen M. Antibiotic resistance in food. *BIO forum Europe*, (Mar), 2003.
13. Langsrud S, Sidhu MS, Heir E, Holck AL. Bacterial disinfectant resistance - a challenge for the food industry. *Int Biodeter & Biodegrad*, 2003, 51(4): 283-290.
14. Παπαδοπούλου Χ, Σακκάς Η, Γκεσούλη Ε, και συν. Ευαισθησία στα αντιβιοτικά στελεχών βακτηρίων και απομονώθηκαν από τρόφιμα ζωικής προέλευσης. 3ο Παν. Συμπόσιο Υγιεινής και Τεχνολογίας τροφίμων, Αθήνα 2004.
15. Levy SB. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother* 2002, 49: 25-30.
16. White DG, Zhao S, Simjee S, Wagner DD, McDermott PF. Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *Microb Infect* 2002, 4: 404-12.
17. Στέρης Β, Ιωσηφίδου Ε. Αντιβιοτικοαντοχή και ασφάλεια τροφίμων. Συμπόσιο Υγιεινής και Τεχνολογίας τροφίμων. Αθήνα 2004.