

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΑΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

18^ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ
ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ
ΧΗΜΕΙΑΣ
15-17/10/2020

Η ΠΡΟΣΦΟΡΑ ΤΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ ΣΤΗΝ
ΠΑΝΔΗΜΙΑ ΤΗΣ COVID-19

ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ
ΤΩΝ ΑΘΗΡΟΓΟΝΩΝ
ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΩΝ
ΜΕΙΩΣΗΣ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ:
ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ ΒΑΣΕΙ ΣΥΝΑΙΝΕΣΗΣ
ΤΗΣ EAS ΚΑΙ ΤΗΣ EFLM.

ΛΕΓΙΩΝΕΛΛΩΣΗ - ΕΝΑΣ
ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ
ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ

Παραμονές 2021. Η βροχή πέφτει με ορμή, σα δαντελένια, πλεγμένη μ' ασημένια κλωστή κουρτίνα. Μέσα στο τρομαγμένο 2020, «τα όνειρά μας για ένα κόσμο διαφορετικό, καλύτερο, μείναν ορφανά πριν προλάβουν να μεγαλώσουν, τα περιμαζεύει ένα ένα η μνήμη των ανθρώπων, όπως ο υπάλληλος του ορφανοτροφείου περιμαζεύει από τους δρόμους τα εγκαταλελειμμένα παιδιά... Μοιάζουμε σήμερα με τους αλχημιστές του Μεσαίωνα: βάλαμε μια χύτρα πάνω στη φωτιά της Ιστορίας, ρίξαμε μέσα ένα σωρό ετερόκλητα στοιχεία, ανακατεύουμε και περιμένουμε να δούμε το αποτέλεσμα. Ο καθένας μας το φαντάζεται διαφορετικό... Προσωπικά, πιστεύω ότι κείνο που θα βγει στο τέλος από τον αλχημιστικό μας άμβυκα θα 'ναι κάτι που κανείς μας δε θα 'χει φανταστεί ή ελπίσει. Αυτή η στιγμή θυμίζει τη γυναίκα που κοιλοπονάει: ποιος μπορεί να ξέρει τα χαρακτηριστικά του παιδιού που θα γεννηθεί;»¹ Όμως πάντα με συναρπάζουν, «μου αρέσουν οι ιστορίες των ανθρώπων που επιβίωσαν, που ξεπερνούν τα εμπόδια. Δεν μπορούμε να ζήσουμε με φόβο. Ο φόβος οδηγεί σε ένα μέλλον, όπου η ζωή είναι μια σκοτεινή εμπειρία.»² «Ακούστε με, είμαι του καιρού μου και όλων των καιρών»³

Σε αυτό το τεύχος περιλαμβάνονται ο απολογισμός του 18ου Πανελληνίου Συνεδρίου Κλινικής Χημείας, το δημοσίευμα της εφημερίδας «Το Βήμα» για την προσφορά των εργαστηρίων στην πανδημία της Covid-19 και ενδιαφέροντα άρθρα για τις συστάσεις της EFLM και της EAS για τον προσδιορισμό των λιποπρωτεϊνών και τη νόσο των λεγεωναρίων.

Καλή χρονιά σε όλους, γεμάτη με ελπίδες που θα πραγματοποιηθούν.

Ανδριανή Γρηγοράτου.

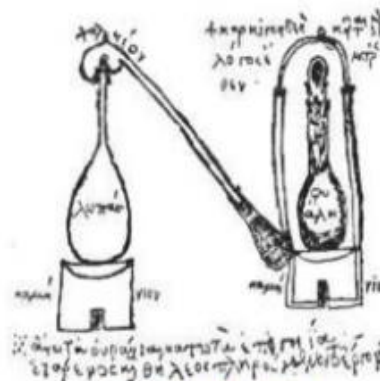
1 Άρης Φακίνος (Μαρούσι 1935- Παρίσι 1998), Το όνειρο του πρωτομάστορα Νικήτα, Εκδ. Καστανιώτη, 1998.

2 Ζαμπιέλ Αλιέντε (Λίμα, Περού 1942-) Χιλιανή μυθιστοριογράφος. I love stories of survival about people who overcome obstacles... We can't live in fear. Fear stimulates a future that makes living in the present a dark experience». (France24, interview with AFP, 8/6/2020, <https://www.afp.com/en>).

3 Κωστής Παλαμάς (Πάτρα, 1859 - Αθήνα, 1943). Οι νύχτες του Φήμιου (1931-1932). Εκδ. Εστία, Αθήνα 1935.

http://www.getty.edu/research/exhibitions_events/exhibitions/alchemy/images/9_1024.jpg

<https://www.wikiwand.com/en/Alembic>



Alembic of Zosimos of Panopolis

8²⁴ ΤΟ ΒΗΜΑ **ΥΓΕΙΑ**

ΚΥΡΙΑΚΗ 6 ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΥ 2020

Το ενδιαφέρον του κοινού παραμένει ζωντό για να μάθει τι σημαίνει αντιγόνο και αντίσωμα, τι είναι η μοριακή εξέταση PCR, τι είναι το mRNA, τι είναι η καταγίδα κυτταροκινών



ΤΟΥ
ΧΡΗΣΤΟΥ ΚΡΟΥΠΗ

Χάρη στα πρώτα ενθαρρυντικά στοιχεία αποτελεσματικότητας των υπό μελέτη εμβολίων για την πρόληψη της COVID-19, αρχίζουν να διαφαίνονται οι πρώτες αχτίδες αισιοδοξίας: θα μπορούσαμε να επανακτήσουμε την κοινωνικότητα μας, θα μπορούσαμε να ξαναπαξιδέψουμε, να παρακολουθήσουμε θέατρο και κινημα-



τογράφο. Η λαίλαπα της COVID-19 ήταν καταστροφική για τις ζωές ορισμένων συνανθρώπων μας και άφησε τραύματα σε πολλούς άλλους, αλλά δεν μπορεί να συγκριθεί με την Ισπανική γρίπη, τη βουβονική πανώλη του Μεσαίωνα και άλλες αντίστοιχες παγκόσμιες πανδημίες. Μια κοινή διαπίστωση είναι ότι για το παραπάνω, βασικό ρόλο έπαιξε η Επιστήμη, η ορθολογική και τεκμηριωμένη χρήση της. Πέραν της καθολικής αναγνώρισης της ηρωικής προσπάθειας των θεραπόντων ιατρών, νοσηλευτών και άλλων εργαζομένων στην πρώτη γραμμή της μάχης, το ενδιαφέρον του κοινού παραμένει ζωηρό για να μάθει τι σημαίνει αντιγόνο και αντίσωμα, τι είναι η μοριακή εξέταση

ΠΡΟΣΕΓΓΙΖΟΝΤΑΣ ΤΗΝ COVID-19 ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

γαστρία. Η διαπίστωση των εργαστηρίων και ο έλεγχος όλων των ειδών των μεθόδων είτε προκύπτουν από in house είτε από εμπορικά αντιδραστήρια (η επικύρωσή τους δηλαδή) έχουν ανατεθεί από το κράτος στο Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης (ΕΣΥΔ). Αυτός ο έλεγχος εί-

PCR, τι είναι το mRNA, τι είναι η κατάγίδα κυταροκινών. Σε αυτό βοήθησαν και τα εκτενή δημοσιογραφικά ρεπορτάζ που κάλυπταν τηλεοπτικά την πανδημία και παρουσιάζαν επιστήμονες να εκτελούν πειράματα, να μεταγγίζουν («πιπετάρουν») υγρά από το ένα σαλινγόριο στο άλλο, να παρατηρούν κύτταρα στο μικροσκόπιο.

Τι διαβάσαμε

Σε αυτό το άρθρο θα επιχειρηθεί ανασκόπηση των δεδομένων που μας έκαναν περήφανους – όλους εμάς τους εργαστηριακούς επιστήμονες – και θα προταθούν ιδέες για το 2021 σε ανάλογες έκτακτες καταστάσεις αναφορικά με την εργαστηριακή προσέγγιση:

- Έγινε έγκαιρη αναγνώριση του «εχθρού» από μοριακούς και κλινικούς ιολόγους: η γενετική αλληλουχία του SARS-CoV-2 ταυτοποιήθηκε σε χρόνο-ρεκόρ.
- Σχεδιάστηκαν μοριακές μεθοδολογίες PCR για την ανίχνευση του κορωνοϊού

τά τους με κατάλληλες χημικές τροποποιήσεις από την ερευνήτρια Katalin Karik (αναμένεται και η έγκριση πολλών άλλων στο μέλλον).

Διαπιστώσεις - προτάσεις

Το «πάντρεμα» βασικής και εφαρμοσμένης επιστημονικής έρευνας ήταν καθοριστικό λοιπόν, στο να μπορέσει η ανθρωπότητα να αναχατίσει την πανδημία και να ελπίζει ότι ο SARS-CoV-2 θα αποτελεί παρελθόν σε σύντομο χρονικό διάστημα. Ακολουθούν ορισμένες προτάσεις ή διαπιστώσεις χρήσιμες στην ελληνική πραγματικότητα:

- Απαιτείται επικαιροποίηση προγραμμάτων σπουδών Ιατρικών Σχολών της χώρας ώστε οι νέοι ιατροί μας να προλάβουν όλες τις νέες εξελίξεις στους βασικούς Επιστημών (Βιοχημείας, Μο-

ριακής Βιολογίας, Γενετικής, Ανοσολογίας κ.λπ.). Προτείνεται η πιστοποίηση των βιοεπιστημόνων που αναπτύσσουν ή εφαρμόζουν κάθε είδους -omics τεχνολογίας για κλινική χρήση (genomics, proteomics, transcriptomics, lipidomics, metabolomics κ.λπ.).

- Όπως προκύπτει από τον Κανονισμό των in vitro ιατροτεχνολογικών προϊόντων IVD 2017/746 στην Ευρώπη και από τους αντίστοιχους κανονισμούς του FDA στις ΗΠΑ, υπάρχει η δυνατότητα να εκτελούνται σε ειδικές καταστάσεις (όπως πανδημίες) διαγνωστικές εξετάσεις με «in house» μεθόδους (δηλαδή με κοινά αντιδραστήρια ή άλλα που μπορούν να παραχθούν εντός των εργαστηρίων). Είναι πολύ πιο οικονομικές μέθοδοι σε σχέση με τις «εμπορικές» μεθόδους, που όμως είναι τυποποιημένες και τα αντιδραστήριά τους μπορούν να παραχθούν αξιόπιστα σε

να για την ώρα εθελοντικός, προτείνεται όμως στο μέλλον να επιβλέπει εθνικές προσπάθειες καταπολέμησης λοιμώξεων και να είναι υποχρεωτικός για τα κλινικά εργαστήρια ώστε να αυξηθεί η ποιότητα των παρεχόμενων αποτελεσμάτων και να μειωθούν τα «ψευδώς» αρνητικά ή θετικά αποτελέσματα.

- Σε ορισμένες περιπτώσεις, προτείνεται η χρήση παρακλινικών εξετάσεων (point of care testing) με δυνατότητα άμεσου αποτελέσματος εντός 15-20 λεπτών είτε μοριακού είτε ανοσολογικού (έρχεται η χρήση και αξιόπιστων αντιγονικών rapid tests) π.χ. σε πληθυσμιακό έλεγχο, στα Τμήματα Επειγόντων Περιστατικών, σε απομακρυσμένα Κέντρα Υγείας. Και στην περίπτωση αυτή απαιτείται η χρήση επικυρωμένων μεθόδων από κατάλληλα διαπιστευμένους φορείς. Τέτοιες αξιόπιστες προσπάθειες έχουν ήδη ξεκινήσει στη χώρα μας, π.χ. το IRIS-CoV χρηματοδοτούμενο πρόγραμμα από ΕΕ για μοριακή μεθόδους από το Τμήμα

και άρχισαν να εφαρμόζονται σε ευρεία κλίμακα: η μαζική χρήση των τεστ αυτών συσχετίστηκε ισχυρά με την καλύτερη αντιμετώπιση της πανδημίας σε πολλά κράτη.

● Μελετήθηκαν βιοχημικοί και αιματολογικοί βιοδείκτες οι οποίοι βοήθησαν τους κλινικούς ιατρούς να ανταλλάσσονται έγκαιρα τη μεταστροφή του ιού και να τροποποιούν ανάλογα το θεραπευτικό σχήμα.

● Μελετήθηκαν οι αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών του ιού με υποδοχείς σε ανθρώπινα κύτταρα και σχεδιάστηκαν μονοκλωνικά θεραπευτικά αντισώματα για την πρόληψη φάση της λοίμωξης, όπως αυτά που έλαβε ο πρόεδρος Τραμπ.

● Χρησιμοποιήθηκαν καινοτόμες προσεγγίσεις στον τομέα των προληπτικών εμβολίων: η βιοχημικός καθηγήτρια Sarah Gilbert κλωνοποίησε γονίδιο του κορωνοϊού σε αναπνευστικό ιό χιμπαζί με στόχο τη μέγιστη ανοσολογική αντίδραση (εμβόλιο Astra-Zeneca), επίσης είμαστε έτοιμοι να υποδεχθούμε τα πρώτα mRNA εμβόλια όπως της Pfizer/BioNTech και της Moderna καθώς μειώθηκε η αντιγονικότη-



Επιβάλλεται η αναβάθμιση των κλινικών εργαστηρίων στη χώρα μας: το υπουργείο Υγείας οφείλει να συμπεριλάβει στις επιτροπές που θα συσταθούν για τον σκοπό αυτόν μη ιατρούς επιστήμονες και τεχνολόγους ώστε να σχεδιάσουν μοντέρνα, ποιοτικά κλινικά εργαστήρια του 21ου αιώνα

ευρεία κλίμακα από εταιρείες-κολοσσούς. Καθώς η μοριακή μέθοδος PCR δεν ανήκει στην ίδια κατηγορία κόστους με τη μέτρηση σακχάρου ή χοληστερόλης, είναι εύλογη η πρόταση ανάπτυξης τέτοιων in house μεθοδολογιών από τα ελληνικά ερευνητικά ιδρύματα ώστε να χρησιμοποιηθούν είτε έως ότου προκύψει αφθονία φθηνών εμπορικών αντιδραστηρίων είτε σε επιλεγμένους χώρους (σχολεία, ειδικές δομές κ.λπ.). Αξίζει να αναφερθεί το παράδειγμα του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου του Chicago, το οποίο ανέπτυξε in house PCR μέθοδο ανίχνευσης SARS-CoV-2 κόστους 10 δολαρίων και την εφαρμόζει 2 φορές την εβδομάδα σε όλους τους φοιτητές και το προσωπικό του Πανεπιστημίου.

● Οι παραπάνω μέθοδοι μπορούν να εφαρμοστούν είτε σε εργαστήρια αναφοράς (Παστέρ, ΕΚΠΑ, ΑΠΘ) είτε σε κατάλληλα διαπιστευμένα εργαστήρια του Δημοσίου (Τριτοβάθμια Νοσοκομεία, Ακαδημαϊκά και Ερευνητικά Ιδρύματα) και του ιδιωτικού τομέα, σύμφωνα με το πρότυπο ISO15189 για τα κλινικά ερ-

ακή ισομετρική μετσοο απο το 1μημα Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης με χρήση 3D εκτυπωτή για την παραγωγή εξοπλισμού (καθηγήτρια Η. Γκιζελί), το πρόγραμμα του Δημοκρέτου για την ανίχνευση αντισωμάτων με κατάλληλους βιοαισθητήρες κ.λπ.

Επιβάλλεται λοιπόν η αναβάθμιση των κλινικών εργαστηρίων στη χώρα μας: το υπουργείο Υγείας οφείλει να συμπεριλάβει στις επιτροπές που θα συσταθούν για τον σκοπό αυτόν μη ιατρούς επιστήμονες και τεχνολόγους ώστε σε αμοιβαία συνεργασία με τους εργαστηριακούς ιατρούς και με τα ερευνητικά εργαστήρια να σχεδιάσουν μοντέρνα, ποιοτικά κλινικά εργαστήρια του 21ου αιώνα στη χώρα μας που θα καλύπτουν όλες τις διαγνωστικές in vitro ανάγκες που καθημερινά πολλαπλασιάζονται.

Ο κ. Χρήστος Κρούνης είναι αναπληρωτής καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής Διαγνωστικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ και επικεφαλής αξιολογητής Εθνικό Σύστημα Διαπίστευσης.

https://www.tovima.gr/printed_post/proseggizontas-crtin-covid-19-crsto-ergastirio/

Το εξαιρετικά ενδιαφέρον 18^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας (15- 17 Οκτωβρίου 2020), με κεντρικό θέμα τη συμβολή του εργαστηρίου στη διαχείριση του βαρέως πάσχοντος έγινε διαδικτυακά. Είχαμε συνολικά 1250 συμμετοχές, κυριολεκτικά από όλη την Ελλάδα – από το Σουφλί έως την Κυπαρισσία και την Ιεράπετρα, από τη Χίο έως τους Γόννους της Λάρισσας και τη Ζάκυνθο, από την Κόνιτσα έως τη Σπερχειάδα και την Κάρπαθο, από την Άρτα και τη Σκόπελο έως τη Σύμη, από τη Μήλο έως την Ελασσόνα και τη Λευκάδα – αλλά και από την Κύπρο, το Abu Dhabi στα Ενωμένα Αραβικά Εμιράτα, τη Σουηδία, το Βουκουρέστι, τη Βουλγαρία, τη Βοσνία, τη Μεγάλη Βρετανία και τις Κάννες.



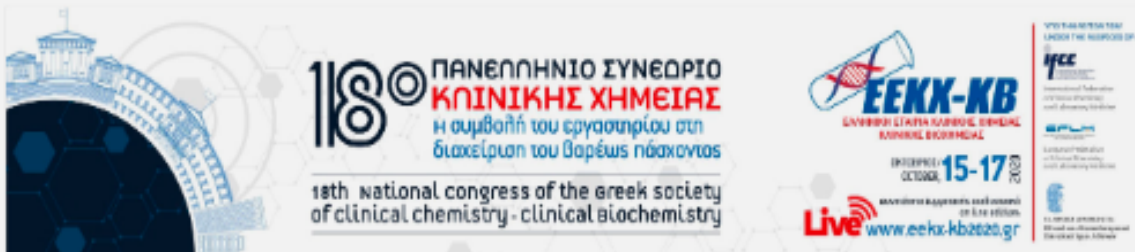


18th Annual Conference of the Greek Society of Clinical Chemistry - Clinical Biochemistry

by *Christos Tsatsanis*

*Professor, Department of Clinical Chemistry,
Medical School, University of Crete*

*Head of the Laboratory of Clinical Chemistry - Biochemistry,
University General Hospital of Heraklion, Crete, Greece*



The 18th Annual Conference of the Greek Society of Clinical Chemistry-Clinical Biochemistry took place between the 15th to 17th of October and was successfully organized for the first time as an online event, due to restrictions imposed because of the pandemic.

This year the Conference focused on "The role of the clinical laboratory in the management of the critically ill patient", a topic that was timely due to Covid19 pandemic. A carefully balanced program with few selected presentations from international experts in each topic resulted in a vibrant program that covered a broad range of laboratory and clinical aspects on the management of critically ill patients, ranging from the management of sepsis in the ICU to diagnosis and management of renal disease in critically ill patients.

A symposium organized by EQALM-Trace Med Lab on "Standardization and Harmonization in Clinical Chemistry" updated participants on the latest developments in the area. To provide closer insight on the role of the clinical laboratory in the management of Covid19, during the last day of the symposium experts in the field of SARS CoV2 detection and Covid19 patient management provided the latest information on the battle against the disease.

Despite the lack of the in-person interaction between the delegates, the meeting provided an opportunity to reach a large number of scientists and students within and outside the country. The participation far exceeded expectations, and, with integration of the EQALM-Trace Med Lab Symposium, the conference attracted a large number of international participants.

Such a successful meeting paved the way to organize hybrid meetings in the future to outreach a wider audience in the field of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.

Ποσοτικός προσδιορισμός των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών για την εφαρμογή στρατηγικών μείωσης των λιπιδίων: συστάσεις βάσει συναίνεσης της EAS και της EFLM

Μετάφραση-Προσαρμογή:

Ευγενία Κώνστα, Χημικός, MSc Κλινικής Χημείας, PhD, Πανεπιστημιακός Υπότροφος του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών ΠΑ.Δ.Α., ΕΣΕΑΠ «Διεργαστηριακό Σχήμα Ελέγχου Ικανότητας Διαγνωστικών Εργαστηρίων»

Πρωτότυπος τίτλος:

“Quantifying atherogenic lipoproteins for lipid-lowering strategies: consensus-based recommendations from EAS and EFLM”
EFLM Consensus Paper, Clin Chem Lab Med 2019

EAS (European Atherosclerosis Society): Ευρωπαϊκή Εταιρεία Αθηροσκλήρωσης

EFLM (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine): Ευρωπαϊκή Ομοσπονδία Κλινικής Χημείας και Εργαστηριακής Ιατρικής

Εισαγωγή

Η ολική χοληστερόλη (total cholesterol-TC), τα τριγλυκερίδια (triglycerides-TG), η HDL χοληστερόλη (high-density lipoprotein cholesterol-HDL), η LDL χοληστερόλη (low-density lipoprotein cholesterol-LDL) και η υπολογιζόμενη non-HDL (= σύνολο - HDL) αποτελούν τον κύριο λιπιδικό πάνελ και μπορούν να μετρηθούν σε κατάσταση μη νηστείας. Η LDL είναι ο πρωταρχικός στόχος των θεραπειών μείωσης των λιπιδίων. Στη νέα εποχή των πολύ χαμηλών συγκεντρώσεων LDL-χοληστερόλης (LDL), που επιτυγχάνονται με πιο εντατικές και νέες θεραπείες μείωσης των λιπιδίων, η αυξανόμενη προσοχή επικεντρώνεται στην αξιολόγηση του υπολειπόμενου κινδύνου που σχετίζεται με τα λιπίδια της αθηροσκληρωτικής καρδιαγγειακής νόσου (ASCVD) χρησιμοποιώντας επιπλέον βιοδείκτες πέραν του LDL.

Μια σημαντική προϋπόθεση για την αντιμετώπιση των σημερινών και μελλοντικών προκλήσεων της πρόληψης ASCVD είναι η εναρμόνιση του λιπιδικού και λιποπρωτεϊνικού προφίλ στον ορό, τα οποία προκύπτουν από καθιερωμένες και αναδυόμενες εργαστηριακές δοκιμές και τεχνικές. Για το σκοπό αυτό, ομάδα εμπειρογνομώνων της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Αθηροσκλήρωσης (EAS) και της Ευρωπαϊκής Ομοσπονδίας Κλινικής Χημείας και Εργαστηριακής Ιατρικής (EFLM) δημοσίευσε πρόσφατα συστάσεις για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών σε δείγματα αίματος μη νηστείας και νηστείας. Αυτό το άρθρο συνοψίζει τις συστάσεις με βάση τη συναίνεση αυτής της ομάδας εμπειρογνομώνων που στόχευαν στην παροχή κατάλληλης καθοδήγησης σχετικά με τις προ-αναλυτικές, αναλυτικές και μετα-αναλυτικές φάσεις των εργαστηριακών δοκιμών αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών.

Οι βασικές συστάσεις δίνονται στον παρακάτω Πίνακα 1.

Table 1: Key EAS/EFLM recommendations for testing of atherogenic lipoproteins [1, 2].

Pre-preanalytical phase (test ordering)

Comprehensive testing of atherogenic lipoproteins should include tests to assess the risk conferred by LDL particles, remnant particles, and, in selected cases, Lp(a).

Preanalytical phase (test sampling)

Fasting is not routinely required for assessing the lipid profile.

Consider fasting sample when nonfasting TG are ≥ 4.5 mmol/L (400 mg/dL); however, this is not a requirement.

Take 2–3 serial blood specimens, at least 1 week apart, to allow to average for biological variation (importantly when test results are near the treatment decision thresholds).^a

Analytical phase (test measurement)

Follow-up of measured or calculated LDLC and non-HDLc of a patient, from baseline to on-treatment measurements, should be ideally performed with the same method (and preferably the same laboratory).^b

Clinicians should be notified when the laboratory test changes from a method to another.

The Martin-Hopkins equation may be preferable for calculation of LDLc in patients with low LDLc concentration < 1.8 mmol/L (70 mg/dL) and/or TG concentration 2.0–4.5 mmol/L (175–400 mg/dL), and in nonfasting samples.

Direct LDLc assays should be used for calculation of RemnantC and for assessment of LDLc when TG concentration is ≥ 4.5 mmol/L (400 mg/dL).

Lp(a)-corrected LDLc should be assessed at least once in patients with suspected or known high Lp(a), or if the patient shows a poor response to LDL-lowering therapy.

ApoB assays currently provide the most accurate measurement of overall burden of atherogenic particles in the fasting and nonfasting state.

Postanalytical phase (test reporting)

Laboratories should automatically calculate and report non-HDLc on all lipid profiles; RemnantC could also be reported.

Laboratory reports should flag abnormal concentrations based on decision thresholds.

Extremely high concentrations beyond the reference limits should alert clinicians (interpretative commenting on test report).

Post-postanalytical phase (test interpretation and use)

LDLc is the primary target of lipid-lowering therapy.

When LDLc goal is achieved, non-HDLc or apoB should be preferred as secondary treatment targets in patients with TG 2–10 mmol/L (175–880 mg/dL), diabetes, obesity or metabolic syndrome.

^aAvoid measurements within ~2 months after acute myocardial infarction, acute trauma, surgery, acute infection or inflammatory illness, or pregnancy. Patients should maintain their usual diet in the preceding 2 weeks, and avoid strenuous exercise. ^bRemove serum from cells (centrifugation) within 3 h of blood sampling, and perform lipid measurements within 1–2 days of collection. However, before measurement specimens can safely be stored at 4 °C for 3 days, at –20 °C for 1 month, and at –80 °C for 1–2 years.

I. Ποιες αθηρογόνες λιποπρωτεΐνες πρέπει να μετρηθούν;

Σύσταση – I

- Ο διεξοδικός έλεγχος των αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών θα πρέπει να χρησιμοποιεί έναν βιοδείκτη ή μια ομάδα πολλαπλών δεικτών για την εκτίμηση του κινδύνου ASCVD, που σχετίζεται όχι μόνο με LDLPs αλλά και με τα υπόλοιπα σωματίδια π.χ. Lp (a) σωματίδια (σε επιλεγμένες περιπτώσεις).

- Οι συστάσεις για την επιλογή των δοκιμών αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών σε διαφορετικές κλινικές καταστάσεις συνοψίζονται στον Πίνακα 4.

Table 4: Recommendations for the clinical indications for lipid and (apo)lipoprotein quantitation [1, 4].

	ASCVD risk estimation	Dyslipidemia characterization	Treatment choice	Treatment target
Primary tests				
TC ^a	YES ^a	Optional ^b	Optional ^b	Optional ^b
HDLC ^c	YES ^a	YES	NO	NO
TG	YES	YES	YES	NO
LDLC	YES	YES	YES	YES
RemnantC ^d	Optional ^a	Optional ^a	NO	Optional ^a
Non-HDLC ^e	YES	NO ^f	NO	YES ^g
Additional tests				
ApoB ^h	YES ^a	YES ^a	NO	Optional ^a
Lp(a)	YES ⁱ	YES ⁱ	Not yet ^j	Not yet ^j

^aIn nonfasting samples this will also include cholesterol in chylomicrons and their remnants; however, in the majority of individuals chylomicrons are rapidly converted into remnants (within 5–10 min) after delivery from lymph to the blood stream. ^bTo be considered in a minimal lipid profile (TC and TG only) or when LDLC is not available. ^cOr ApoA-I if available. ^dIn combination with TC, if HDLC is entered as a separate variable in the risk estimation model. Ratios of TC/HDLC, non-HDLC/HDLC, or apoB/apoA-I which reflect the balance between atherogenic and neutral lipoproteins can be considered as an alternative for risk estimation, but not for diagnosis or as treatment targets. The components of the ratio have to be managed separately. ^eRemnantC, calculated as TC – HDLC – LDLC, is all cholesterol found in TG-rich lipoproteins: VLDL, IDL, and, in the nonfasting state, additionally chylomicron remnants. RemnantC is included in non-HDLC, but non-HDLC does not differentiate between LDLC and RemnantC. RemnantC is the part of non-HDLC in addition to LDLC that needs reduction in some patients. Directly measured LDLC should preferably be used in the calculation of RemnantC, or RemnantC could be measured directly. ^fNon-HDLC, calculated as TC – HDLC, is all cholesterol in atherogenic lipoproteins: LDL, remnants, and Lp(a). None of the hyperlipidemias can be characterized by non-HDLC because the composite marker does not differentiate between the atherogenic lipoprotein-cholesterol fractions. ^gIn patients with mild-to-moderate hypertriglyceridemia, 2–10 mmol/L (175–880 mg/dL), diabetes, obesity or metabolic syndrome. ^hOr advanced LDLP measurement if available. ⁱAt least once in each adult person's lifetime, especially in patients with premature ASCVD (men <55 years, women <60 years), family history of premature ASCVD and/or elevated Lp(a), FH, recurrent ASCVD despite optimal lipid-lowering treatment. ^jUnless approved treatment is available to substantially reduce Lp(a) concentration and Lp(a)-related risk.

II. Ποιο είναι το τυπικό λιπιδικό προφίλ;

Σύσταση – II

- Το «τυπικό λιπιδικό προφίλ» που χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη καρδιαγγειακού κινδύνου περιλαμβάνει τα TC, TG, HDLC, LDLC, non-HDLc και προαιρετικά - εάν χρησιμοποιείται άμεσα μετρούμενο LDLC - υπολογίζεται το RemnantC. Ένα «ελάχιστο λιπιδικό προφίλ» που περιλαμβάνει μόνο TC και TG μπορεί να εξεταστεί σε χώρες όπου το κόστος είναι ένα σημαντικό ζήτημα, όπως είναι οι αναπτυσσόμενες χώρες.

- Ένα «διευρυμένο λιπιδικό προφίλ», συμπεριλαμβανομένων των Lp (a) ή apoB, θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε επιλεγμένες περιπτώσεις (βλ. Πίνακας 4). «Προηγμένα λιπιδικά προφίλ», όπως υποκατηγορίες λιποπρωτεϊνών και προφίλ απολιποπρωτεϊνών, έχουν εισαχθεί σε ορισμένα εργαστήρια, αλλά η προστιθέμενη αξία τους σε κλινικό περιβάλλον πρέπει ακόμη να επικυρωθεί.

III. Πότε χρησιμοποιούνται δείγματα αίματος νηστείας και μη νηστείας;

Σύσταση – III

- Η νηστεία δεν απαιτείται συνήθως για τον προσδιορισμό ενός λιπιδικού προφίλ.

- Σε ασθενείς στους οποίους ένα αρχικό λιπιδικό προφίλ (σε κατάσταση μη νηστείας) δείχνει συγκέντρωση TG $\geq 4,5$ mmol/L, θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί επαναλαμβανόμενο λιπιδικό προφίλ σε κατάσταση νηστείας για την αξιολόγηση της συγκέντρωσης TG. Ωστόσο, δεν είναι κάτι που απαιτείται.

IV. Είναι αξιόπιστες οι μετρήσεις ή οι υπολογισμοί της LDLC;

Σύσταση – IV

- Η τροποποιημένη εξίσωση Martin-Hopkins μπορεί να είναι η προτιμότερη για τον υπολογισμό της cLDLC κυρίως σε ασθενείς με: χαμηλή συγκέντρωση LDLC $< 1,8$ mmol/L και / ή συγκεντρώσεις TG 2,0-4,5 mmol/L και σε κατάσταση μη νηστείας.

- Οι προσδιορισμοί dLDLC θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του RemnantC και για την αξιολόγηση της LDLC όταν η συγκέντρωση TG είναι $\geq 4,5$ mmol/L (ή $\geq 4,0$ mmol/L με εθνική συναίνεση σε ορισμένες χώρες). Ωστόσο, οι άμεσες δοκιμασίες δεν θα οδηγήσουν απαραίτητα σε ακριβέστερη αξιολόγηση της LDLC σε κάθε ασθενή.

- Η διόρθωση της μετρούμενης Lp (α)-χοληστερόλης ή της υπολογιζόμενης LDLC θα πρέπει να εφαρμόζεται σε ασθενείς με γνωστή ή ύποπτη υψηλή συγκέντρωση Lp(a) ή εάν ο ασθενής παρουσιάζει κακή ανταπόκριση στη θεραπεία μείωσης της LDL.

V. Σφάλματα δοκιμής LDLC: είναι κλινικά σχετικά;

Σύσταση – V

- Η παρακολούθηση των λιπιδικών προφίλ κατά τη θεραπεία σε έναν ασθενή θα πρέπει ιδανικά να πραγματοποιείται με την ίδια μέθοδο (και κατά προτίμηση στο ίδιο εργαστήριο) για την ελαχιστοποίηση της παρερμηνείας της επίδρασης της θεραπείας.
- Οι κλινικοί γιατροί θα πρέπει να ενημερώνονται από το εργαστήριο όταν η δοκιμή αλλάζει από μία μέθοδο σε άλλη, π.χ. μέσω ενημερωτικών δελτίων. Αυτό θα ενισχύσει την ευαισθητοποίηση των κλινικών για τις αλλαγές στις μεθόδους ως πιθανή αιτία αβάσιμων αποτελεσμάτων των εξετάσεων.
- Οι μέθοδοι ανάλυσης και οι περιορισμοί τους πρέπει πάντα να περιγράφονται σε οποιαδήποτε δημοσίευση κλινικών δοκιμών ή επιδημιολογικών μελετών. Σε μετα-αναλύσεις συσχετίσεων λιπιδικών δοκιμών με αποτελέσματα, είναι κρίσιμο να επαληθευτεί η συγκρισιμότητα των ποσοτικών δεδομένων των προσδιορισμών που χρησιμοποιούνται σε κάθε δοκιμή.
- Η τιμή LDLC ενός ασθενούς κοντά στα όρια θεραπευτικών αποφάσεων θα πρέπει ιδανικά να επιβεβαιωθεί με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (≥ 2) με την ίδια μέθοδο και στη συνέχεια να υπολογίζεται ο μέσος όρος αυτών. Συχνά, η επαναλαμβανόμενη τιμή του τεστ είναι χαμηλότερη λόγω της βελτιωμένης διατροφής μετά την πρώτη εξέταση, εάν ο ασθενής γνωρίζει ότι έχει αυξημένη LDLC. Στην περίπτωση αυτή, η δεύτερη τιμή πρέπει να γίνει αποδεκτή για τη λήψη αποφάσεων.

VI. Είναι άλλες μετρήσεις αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών αξιόπιστες?

Σύσταση – VI

- Η μέτρηση της ApoB είναι ανώτερη από τις μετρήσεις των LDLC και non-HDLc και των υπολογισμών για την αξιολόγηση της έκθεσης σε αριθμούς σωματιδίων αθηρογόνων λιποπρωτεϊνών στην κυκλοφορία του αίματος.
- Η ApoB συνιστάται για την αξιολόγηση κινδύνου και μπορεί να προτιμάται σε σχέση με την non-HDLc (εάν υπάρχει) σε άτομα με ήπια έως μέτρια υπερτριγλυκεριδαμία (2-10 mmol/L), διαβήτη, παχυσαρκία ή μεταβολικό σύνδρομο ή πολύ χαμηλή LDLC <1,8 mmol/L.
- Όπως η non-HDLc, η apoB μπορεί πάντα να μετρηθεί σε κατάσταση μη νηστείας και δεν επηρεάζεται από τη βιολογική μεταβλητότητα των TG.

VII. Μπορεί η μέτρηση της apoB να αντικαταστήσει το τυπικό λιπιδικό προφίλ για παρακολούθηση θεραπειών μείωσης λιπιδίων;

Σύσταση – VII

- Σήμερα, δεν υπάρχουν επαρκή αποδεικτικά στοιχεία από τις διάφορες μελέτες για να υποστηριχθεί η αντικατάσταση του τυπικού λιπιδικού προφίλ (με υπολογισμό των cLDLC και non-HDLc) με μία μόνο μέτρηση της apoB για την παρακολούθηση και καθοδήγηση θεραπειών μείωσης λιπιδίων.

- Η κλινική αποτελεσματικότητα της LDLc-καθοδηγούμενης διαχείρισης του καρδιαγγειακού κινδύνου βασίζεται σε μεγάλο βαθμό στην τεκμηρίωση. Όλες οι οδηγίες συμφωνούν ότι η LDLc παραμένει ο πρωταρχικός στόχος των στρατηγικών μείωσης των λιπιδίων για την πρόληψη της ASCVD. Η μείωση της LDLc σε συγκεντρώσεις κάτω από 1,8 mmol/L σε ασθενείς με υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο ή 1,4 mmol/L σε ασθενείς με πολύ υψηλό κίνδυνο (ή κατά $\geq 50\%$ εάν αυτοί οι στόχοι δεν μπορούν να επιτευχθούν) είναι κρίσιμης σημασίας.

VIII. Πρέπει η non-HDLc ή η apoB να χρησιμοποιηθούν ως επιπρόσθετες δοκιμές σε συνδυασμό με την LDLc σε στρατηγικές μείωσης λιπιδίων;

Σύσταση – VIII

- Η χρήση της non-HDLc ή της apoB θα πρέπει να θεωρείται ως δείκτης της αποτελεσματικότητας της θεραπείας που στοχεύει στην LDLc. Για αυτόν τον σκοπό, κάθε αναφορά λιπιδικού προφίλ θα πρέπει να προσθέτει αυτόματα την non-HDLc. Αυτή η προσέγγιση για παρακολούθηση του ασθενούς πλεονεκτεί στο ότι δεν απαιτείται νηστεία και έτσι αυξάνει την άνεση και την συμμόρφωση του ασθενούς.

- Σε συγκέντρωση TG $\geq 4,5$ mmol/L, μια κατάσταση κατά την οποία δεν συνιστάται η χρήση cLDLC κατά Friedewald ή κατά Martin-Hopkins και επίσης το dLDLC είναι πιθανό να είναι ανακριβές, μπορεί να ληφθεί υπόψη ο υπολογισμός της non-HDLc αντί της μέτρησης dLDLC για την αξιολόγηση της θεραπευτικής απάντησης.

IX. Πώς πρέπει να γίνεται η αναφορά των προφίλ των αθηρογόνων λιπιδίων;

Σύσταση – IX

- Η επισήμανση των λιπιδικών προφίλ στις εργαστηριακές αναφορές πρέπει πάντα να βασίζεται στα όρια αποφάσεων. Στα παιδιά, η αναφορά των διαστημάτων αναφοράς είναι σχετική.

- Στις εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις, θα πρέπει να ενεργοποιείται αυτόματα ειδοποίηση για την έναρξη άμεσων διαγνωστικών ερευνών.

Συμπεράσματα και μελλοντικές ερευνητικές προτεραιότητες

Οι συστάσεις των EAS και EFLM παρέχουν καθοδήγηση για τη χρήση σύγχρονων δοκιμών λιπιδίων, λιποπρωτεϊνών και απολιποπρωτεϊνών ώστε να βοηθήσουν τους κλινικούς ιατρούς στις στρατηγικές τους για την πρόληψη της ASCVD. Αυτές

οι συστάσεις λαμβάνουν υπόψη τα πλεονεκτήματα και τις αδυναμίες των δοκιμών προκειμένου να γίνουν ιατρικά χρήσιμες δοκιμές, όπως ορίζεται από την ομάδα εργασίας αξιολόγησης δοκιμών της EFLM.

Ο υπολογισμός των non-HDLc και RemnantC από το τυπικό λιπιδικό προφίλ, η «διευρυμένη» μέτρηση των apoB και Lp(a), καθώς και η «προηγμένη» μέτρηση της LDLP έχουν τη δυνατότητα να αντιμετωπίσουν κλινικές ανάγκες που δεν ικανοποιούνται με την μέτρηση της LDLc, ενώ μπορούν να πραγματοποιηθούν σε δείγματα μη νηστείας. Ερευνητική προτεραιότητα αποτελεί η διερεύνηση κατά πόσον οι διαγνωστικές πληροφορίες που παρέχονται από τα «διευρυμένα» ή «προηγμένα» λιπιδικά προφίλ μπορούν να αλλάξουν επαρκώς την κλινική διαχείριση ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος (και το κόστος) του ASCVD σε μεγαλύτερο βαθμό από την τυπική προσέγγιση που έχει ως επίκεντρο την LDLc.

Ο διαβήτης και η κοιλιακή παχυσαρκία, διαταραχές στις οποίες βασίζεται η κλινική έκφραση σύνθετων δυσλιπιδαιμιών χωρίς αυξημένη LDLc, επιτυγχάνουν διαστάσεις επιδημίας. Ως εκ τούτου, οι αναδυόμενες και προηγμένες δοκιμές λιποπρωτεϊνών πιθανότατα θα γίνουν όλο και πιο χρήσιμες στο μέλλον. Αυτό υπογραμμίζει την ανάγκη για την τυποποίηση και την επικύρωση προηγμένων δοκιμών λιποπρωτεΐνης, όπως NMR- ή κινητικότητα ιόντων βασισμένα στον αριθμό και το μέγεθος των LDLP και VLDL, και τα πολύπλοκα LC-MSMS προφίλ απολιποπρωτεΐνης, οι οποίες έχουν τη δυνατότητα να γίνουν ευρέως διαθέσιμες ιατρικές εξετάσεις.

Αυτές οι νέες τεχνολογίες παρέχουν συμπληρωματικές διαγνωστικές πληροφορίες σχετικά με την περίπλοκη μοριακή βάση των δυσλιπιδαιμιών και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να εξερευνήσουν και να αξιολογήσουν την ακρίβεια των ιατρικών προσεγγίσεων για τον εντοπισμό καλύτερων και εξατομικευμένων θεραπευτικών επιλογών σε ασθενείς με υψηλό κίνδυνο ASCVD.

ΛΕΓΙΩΝΕΛΛΩΣΗ - ΕΝΑΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ

Μαριλένα Σταμούλη, Βιοχημικό Εργαστήριο, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών

Εισαγωγή

Ο όρος λεγιωνέλλωση περιλαμβάνει δύο κλινικά σύνδρομα που προκαλούνται από τα βακτήρια του γένους *Legionella*. Το πρώτο ονομάζεται πυρετός Pontiac και είναι μια ήπια αυτοπεριορισμένη βραχείας διάρκειας νόσος, ενώ το δεύτερο ονομάζεται νόσος των Λεγεωνάριων και είναι μια οξεία πνευμονία. Η νόσος των Λεγεωνάριων περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1976, όταν κατά την διάρκεια συνεδρίου στις ΗΠΑ, παρουσιάστηκε επιδημία πνευμονίας σε μεγάλο αριθμό βετεράνων της Αμερικανικής Λεγεώνας [1]. Αναφέρθηκαν τότε συνολικά 221 κρούσματα, από τα οποία τα 34 κατέληξαν σε θάνατο. Το βακτήριο-αιτιολογικός παράγοντας της επιδημίας, που ήταν άγνωστο στην αρχή, ονομάστηκε *Legionella*, προς τιμήν των βετεράνων που νόσησαν [1]. Μέχρι σήμερα έχουν χαρακτηριστεί 50 είδη *Legionella*, από τα οποία τα 19 έχουν συσχετιστεί με λοιμώδη νοσήματα. Η *L. pneumophila* είναι το πιο κοινό παθογόνο και περιέχει 16 υποομάδες. Σύμφωνα με τα επιδημιολογικά δεδομένα η πλειοψηφία των περιπτώσεων της νόσου (84%) προκαλείται από την *L. pneumophila* υποομάδα 1 (SG1). Ακολουθούν τα είδη *L. longbeachae* and *L. bozemanii* στα οποία αποδίδεται το 3.9% και το 2.4% των περιπτώσεων αντίστοιχα [2]. Η *L. pneumophila* είναι υδατογενές παθογόνο και αποικίζει τις σωληνώσεις και τα δίκτυα ύδρευσης, γεγονός που συνιστά κίνδυνο για τη δημόσια υγεία [2, 3]. Τις τελευταίες δεκαετίες η νόσος μελετάται με μεγάλο ενδιαφέρον, λόγω της αύξησης των κρουσμάτων παγκοσμίως.

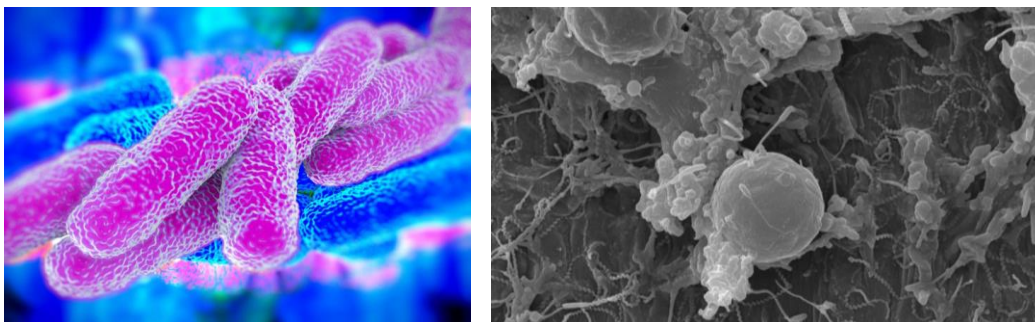
Γενικά χαρακτηριστικά και οικολογία

Η *Legionella* είναι μη σπορογόνο, υποχρεωτικά αερόβιο, Gram αρνητικό βακτήριο, μήκους 2 ως 20 μm. Το κυτταρικό της τοίχωμα είναι λεπτό και αποτελείται από μεγάλο αριθμό διακλαδισμένων λιπαρών οξέων και από ουβικινόνες [2]. Ο μεγάλος αριθμός λιπαρών οξέων καθιστά δύσκολη τη χρώση της, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα Gram αρνητικά βακτήρια. Δίνει αρνητική αντίδραση ουρεάσης και θετική αντίδραση καταλάσης. Χρησιμοποιεί ως πηγές ενέργειας αμινοξέα, άνθρακα και οργανικές χημικές ουσίες, ενώ δεν οξειδώνει ή ζυμώνει τους υδατάνθρακες [2,4]. Η κινητικότητα της είναι περιορισμένη. Φέρει μια ή δύο πολικές βλεφαρίδες, ωστόσο η παρουσία βλεφαριδοφόρων βακτηρίων συσχετίζεται με τη θερμοκρασία [2].

Το φυσικό περιβάλλον επιβίωσης και ανάπτυξης της είναι το υδάτινο περιβάλλον. Η *Legionella* βρίσκεται σε ποικίλες υδάτινες πηγές (λίμνες, ποτάμια, ρυάκια), σε υπόγεια νερά, στα τροπικά δάση, σε θαλασσινό νερό αλλά και στα τεχνητά συστήματα νερού. Σε υπόγεια νερά θερμοκρασίας μικρότερης των 20°C, μπορεί να βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, καθιστώντας πολύ δύσκολη την ανίχνευση της [2,3,4]. Η παρουσία της, εκτός από το υδάτινο περιβάλλον, είναι τεκμηριωμένη και στον αέρα με την μορφή αερολύματος. Οι μετεωρολογικές συνθήκες στο περιβάλλον, όπως υγρασία, συννεφιά, ομίχλη και ατμοσφαιρικά κατακρημνίσματα, παίζουν σημαντικό ρόλο στην μεταφορά του αερολύματος και μπορεί να ευνοήσουν την διασπορά του σε μεγάλες αποστάσεις [5, 6]. Επιπλέον, το βακτήριο έχει απομονωθεί από λάσπη, άμμο και υγρό έδαφος που βρίσκεται στις παρυφές ποταμών, από κοπριές ζώων, μείγματα λαχανικών και φυτών που έχουν μετατραπεί σε λίπασμα και από μείγματα χώματος για γλάστρες καλλωπιστικών φυτών [5, 6, 7]. Περίπτωση

μετάδοσης από άνθρωπο σε άνθρωπο έχει αναφερθεί μόνο μια φορά, το 2016 [8]. Δεν υπάρχουν τεκμηριωμένες περιπτώσεις μετάδοσης από τα ζώα στον άνθρωπο, αν και αντισώματα έναντι του βακτηρίου έχουν ανιχνευθεί στον ορό πολλών ειδών ζώων [7].

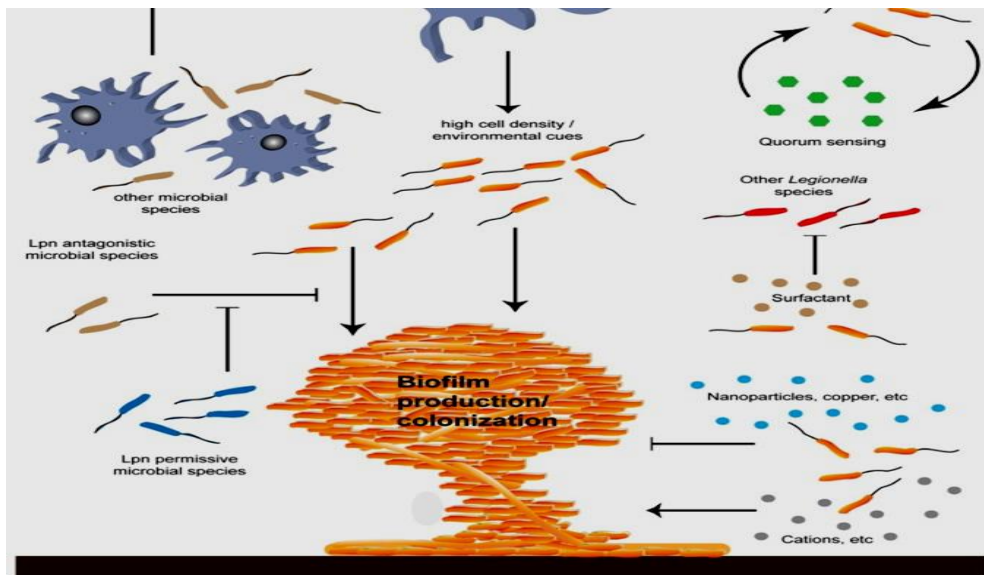
Ο σημαντικότερος παράγοντας για την επιβίωση της *Legionella* είναι η θερμοκρασία. Μπορεί να επιβιώσει σε εύρος θερμοκρασιών από 6°C ως 60°C, με βέλτιστο εύρος 20°C ως 45°C. Σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 20°C δε μπορεί να πολλαπλασιαστεί και παραμένει σε ληθαργική μορφή, ενώ σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 70°C τα βακτήρια καταστρέφονται σχεδόν ακαριαία. Επομένως η *Legionella* μπορεί να επιβιώσει στα δίκτυα ύδρευσης κρύου και ζεστού νερού και να αρχίσει να πολλαπλασιάζεται όταν η θερμοκρασία του νερού βρίσκεται σε ικανοποιητικά επίπεδα [5, 6, 7]. Η ανάπτυξη και ο πολλαπλασιασμός της σε σχέση με τη θερμοκρασία έχουν μελετηθεί από αρκετούς ερευνητές με μοντέλα προσομοίωσης [9,10]. Η *Legionella* μπορεί να επιβιώσει σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως σε υπεριώδη ακτινοβολία, παρουσία χλωρίου, σε μεγάλο εύρος pH (από 2.7 έως 8.3) και παρουσία CO₂ σε συγκέντρωση 2.5% ως 5%. Η παρουσία μετάλλων και ιζημάτων, η συγκέντρωση του ολικού οργανικού άνθρακα, η θολότητα, η παρουσία ασβεστίου και μαγνησίου, η παρουσία αλγών, οργανικών ουσιών και διαφόρων μικροοργανισμών δημιουργούν ιδανικές συνθήκες επιβίωσης [2, 11]. Έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται εντός αμοιβάδων και πρωτόζωων, η παρουσία των οποίων στο νερό την προστατεύει από την επίδραση βιοκτόνων ουσιών και από τη θερμική απολύμανση [12, 13]. Όταν οι περιβαλλοντικές συνθήκες δεν είναι ευνοϊκές, όπως για παράδειγμα σε περίπτωση έλλειψης θρεπτικών συστατικών, οι αμοιβάδες που έχουν μολυνθεί από *Legionella* μετατρέπονται σε κύστεις, επιτρέποντας την επιβίωση της μέχρι οι συνθήκες να αποκατασταθούν [13].



Εικόνα 1: Φωτογραφίες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο α) *Legionella pneumophila* και β) αποικία σε βιομεμβράνη Πηγή: <https://www.legendnairesdiseaseneews.com/2020/01/2019-legionnaires-outbreaks>

Σημαντικός παράγοντας που ευνοεί την ανάπτυξη της είναι και ο σχηματισμός βιομεμβράνης. Η βιομεμβράνη αναπτύσσεται σε όλα τα τεχνητά και φυσικά συστήματα νερού, από την εναπόθεση οργανικών και ανόργανων ουσιών στις επιφάνειες των σωληνώσεων και των τοιχωμάτων. Οι παράγοντες που ευνοούν το σχηματισμό της είναι η χημική σύσταση του νερού και των υλικών του συστήματος, η μεγάλη περιεκτικότητα του νερού σε άλατα, η παρουσία μικροβίων, η στασιμότητα, η χαμηλή ροή του νερού, η θερμοκρασία και τέλος η ελλιπής συντήρηση του συστήματος [14, 15, 16]. Η *Legionella* ενσωματώνονται στη βιομεμβράνη, όπου αναπτύσσεται με ταχύτατο ρυθμό. Η ενσωμάτωση αυτή της παρέχει τη δυνατότητα επιβίωσης σε αντίξοες συνθήκες, όπως η έλλειψη θρεπτικών συστατικών, οι ακραίες θερμοκρασίες, και η

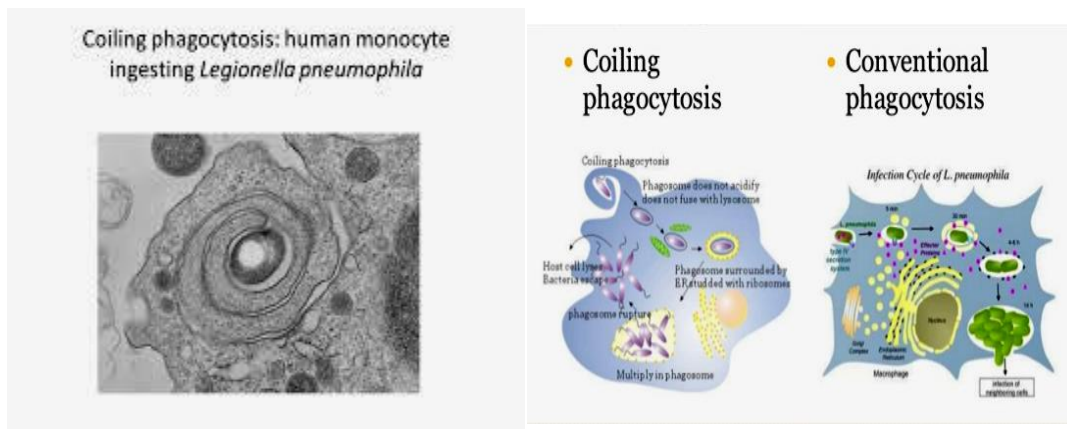
παρουσία βιοκτόνων ουσιών [15, 16]. Απότομες αλλαγές της πίεσης του νερού στο δίκτυο ή αλλαγή του ρυθμού ροής προκαλεί αποκόλληση της βιομεμβράνης στο εσωτερικό των σωληνώσεων, εξάπλωση σε άλλο σημείο του δικτύου και αύξηση της συγκέντρωσης της *Legionella* στο σύστημα. Σε περιβάλλον όπου υπάρχουν ιζήματα, εναπόθεση πέτρας, σκουριά και λάσπη, η μπορεί να δημιουργήσει ραγδαία αναπτυσσόμενες αποικίες οι οποίες αποτελούν σοβαρό κίνδυνο για τη δημόσια υγεία [16].



Εικόνα 2: Σχηματική παράσταση δημιουργίας βιομεμβράνης στα τοιχώματα σωληνώσεων. Πηγή: βιβλιογραφική αναφορά [14]

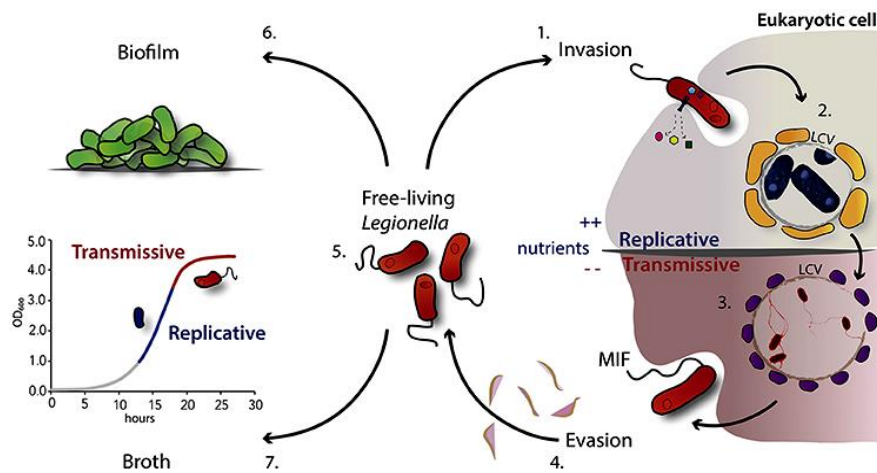
Μοριακά Χαρακτηριστικά

Για το είδος *L. pneumophila* είναι γνωστά αρκετά διαφορετικά στελέχη. Τα τέσσερα πιο σημαντικά από αυτά είναι το στέλεχος Paris, το οποίο προκαλεί επιδημίες σε παγκόσμια κλίμακα, το στέλεχος Lens, το οποίο σχετίζεται με την επιδημία στη Γαλλία το 2004 (συνολικά 87 περιστατικά και 17 θάνατοι), το στέλεχος Philadelphia που απομονώθηκε και αναγνωρίστηκε από την πρώτη επιδημία το 1976 στη Philadelphia των ΗΠΑ και το στέλεχος Corby, που απομονώθηκε από μια μοναδική περίπτωση πνευμονίας. Η αλληλούχηση του γονιδιώματος των τεσσάρων αυτών στελεχών έδειξε σε όλα ένα ενιαίο κυκλικό χρωμόσωμα και στα στελέχη Paris και Lens ένα επιπλέον πλασμίδιο. Το γονιδίωμα της *L. Pneumophila* είναι αρκετά μεγάλο συγκριτικά με άλλα ενδοκυτταρικά παθογόνα [17, 18].



Εικόνα 3: Φωτογραφία σπειροειδούς φαγοκυττάρωσης στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και σχηματική παράσταση τυπικής και σπειροειδούς φαγοκυττάρωσης

Πηγή: https://wiki.ubc.ca/images/d/df/Case_3_Wiki_Summary_Bacterial_Pathogenesis_Nishi.pdf



Εικόνα 4: Ο κύκλος ζωής της Legionella Πηγή: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/1873-3468.12326>

Κύκλος ζωής

Ο κύκλος ζωής της *Legionella* περιλαμβάνει δύο φάσεις. Μία κυτταρική φάση, κατά την οποία τα βακτήρια δεν έχουν λοιμογονικότητα και μία μολυσματική φάση. Κατά την επαφή του βακτηρίου με τον άνθρωπο προσβάλλεται το πνευμονικό παρέγχυμα, κυρίως τα μακροφάγα και τα μονοπύρρηνα κύτταρα. Η είσοδος της *L. pneumophila* στα κύτταρα γίνεται με δύο τρόπους. Ο πρώτος είναι η τυπική διαδικασία της φαγοκυττάρωσης, ενώ ο δεύτερος ονομάζεται σπειροειδής φαγοκυττάρωση (coiling phagocytosis). Κατά τη σπειροειδή φαγοκυττάρωση η *L. pneumophila* περιβάλλεται από ένα σπειροειδές φαγόσωμα. Το φαγόσωμα που προκύπτει δεν μπορεί να λυθεί από τα λυσοσώματα. Αρχικά, περιβάλλεται από κυστίδια του ενδοπλασματικού δικτύου, έπειτα από μιτοχόνδρια και τελικά από ριβοσώματα. Με αυτό τον τρόπο, το βακτήριο επιτυγχάνει την παραμονή και τον πολλαπλασιασμό του στο κύτταρο. Στη συνέχεια ακολουθεί η μολυσματική φάση. Και στις δύο περιπτώσεις φαγοκυττάρωσης τα τελικά στάδια του κύκλου ζωής είναι πανομοιότυπα. Αρχικά, διαρρηγνύεται το φαγόσωμα και έπειτα η κυτταροπλασματική μεμβράνη. Η διάρρηξη αυτή πραγματοποιείται εξαιτίας των πόρων που δημιουργούνται στην επιφάνεια της μεμβράνης. Ύστερα από τη ρήξη του κυττάρου του ξενιστή η *L. pneumophila* είναι ελεύθερη πλέον στο εξωκυτταρικό περιβάλλον. Ο συνολικός χρόνος πολλαπλασιασμού στο κύτταρο ξενιστή είναι μόλις 48 ώρες [19, 20].

Μετάδοση

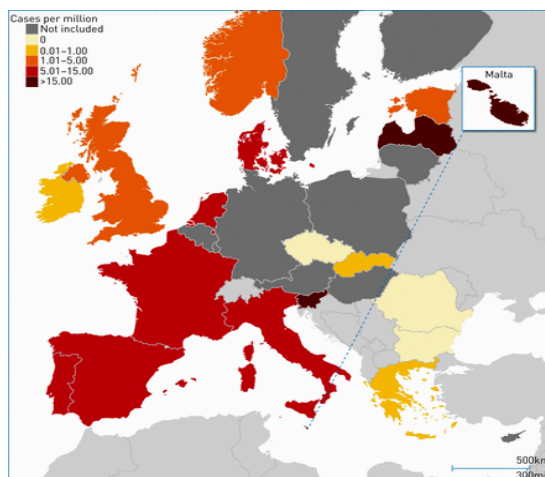
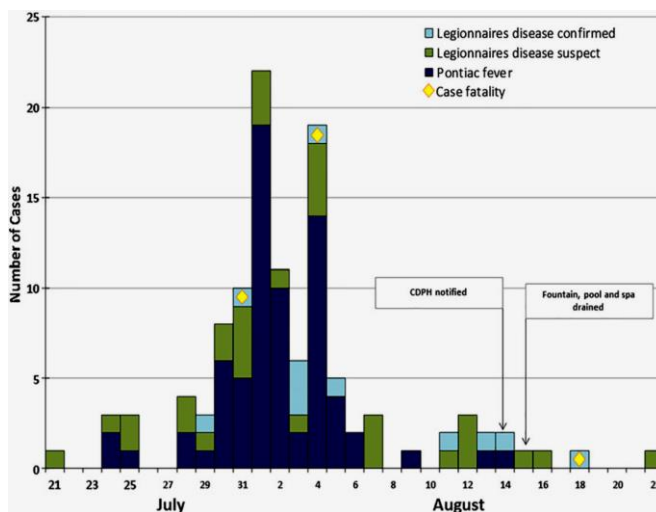
Η *Legionella* είναι υδατογενές παθογόνο, το οποίο μεταφέρεται από το περιβάλλον στον ανθρώπινο οργανισμό με μικρά υδατοσταγονίδια, που ονομάζονται αερολύματα. Τα αερομεταφερόμενα αερολύματα είναι μικρά σε μέγεθος (η διάμετρος τους είναι μικρότερη από 5μm) και όταν εισπνέονται από τον ξενιστή διεισδύουν στο αναπνευστικό σύστημα και εγκαθίστανται στα βρογχιόλια [21]. Το βακτήριο μπορεί να μεταδοθεί μέσω αερολυμάτων από πύργους ψύξης και συστήματα κλιματισμού, συστήματα ύδρευσης μεγάλων κτιριακών συγκροτημάτων όπως είναι οι κατοικίες, τα ξενοδοχεία και τα νοσοκομεία, νερά αναψυχής (σπα, υδρομασάζ, σάουνες), συντριβάνια και τεχνητούς καταρράκτες, φυσικές ιαματικές πηγές, συσκευές δημιουργίας υδρατμών, καταιονιστήρες, πλυντήρια αυτοκινήτων, δεξαμενές κρύου και ζεστού νερού, σωληνώσεις με μικρή ή μηδενική ροή νερού, υγραντήρες, νεφελοποιητές, οδοντιατρικό εξοπλισμό, συστήματα ποτίσματος κήπων και αναπνευστικές συσκευές [22-28].

Οι μεγαλύτερες επιδημίες της νόσου έχουν συσχετισθεί με την εισπνοή αερολυμάτων προερχόμενα από πύργους ψύξης. Οι πύργοι ψύξης κατά την λειτουργία τους, σχηματίζουν υδατοσταγονίδια τα οποία μεταφέρονται στο περιβάλλον μέσω του απαγωγέα αέρος. Επιπλέον ο σχηματισμός βιομεμβράνης στο εσωτερικό των πύργων ενισχύει την ανάπτυξη των βακτηρίων και την εξάπλωση τους σε άλλο σημείο του κυκλώματος [21,28].

Η έξαρση επιδημιών της νόσου σε νοσοκομεία αποτελεί ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα δημόσιας υγείας. Τα νοσοκομεία αποτελούν ιδανικό χώρο για την μετάδοση της νόσου λόγω του μεγάλου αριθμού ασθενών που ανήκουν στις ομάδες υψηλού κινδύνου, λόγω του συγχρωτισμού και λόγω της παλαιότητας των δικτύων ύδρευσης. Η διασωλήνωση, οι χειρουργικές επεμβάσεις, η χρήση εξοπλισμού όπως οι συσκευές αναρρόφησης, οι ρινογαστρικοί καθετήρες, οι ενδοτραχειακοί σωλήνες, οι υγραντήρες και ο εξοπλισμός αναπνευστικής υποστήριξης, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για την ενδονοσοκομειακή μετάδοση [29, 30].

Συνηθισμένη είναι και η εμφάνιση της νόσου στα ξενοδοχεία, επειδή τα συστήματα ύδρευσης κάποιων ξενοδοχείων είναι παλαιωμένα και μένουν εκτός λειτουργίας για μεγάλο χρονικό διάστημα. Η θερμοκρασία του ζεστού και κρύου νερού δεν

ελέγχεται σωστά λόγω του όγκου των κτιρίων, με αποτέλεσμα τις περισσότερες φορές να είναι κατάλληλη για την ανάπτυξη του βακτηρίου. Το προσωπικό των ξενοδοχείων συνήθως δεν είναι εκπαιδευμένο στον έλεγχο και την αντιμετώπιση των εστιών του βακτηρίου. Τέλος τα θεάματα με νερό που διαθέτουν τα ξενοδοχεία, οι κήποι, τα συντριβάνια, οι πισίνες και οι χώροι υδρομασάζ αποτελούν εστίες μόλυνσης λόγω δημιουργίας αερολυμάτων [24, 27]. Αρκετά είναι και τα περιστατικά σε ταξιδιώτες, οι οποίοι εκτίθενται στο βακτήριο μέσω του πόσιμου νερού, των μολυσμένων υδρομασάζ και κολυμβητικών δεξαμενών, των κλιματιστικών και των νερών αναψυχής στα ξενοδοχεία [31].



Εικόνα 4: α) Επιδημιολογική καμπύλη λεγιονέλλωσης. Επισημαίνονται τα κρούσματα ανά ημερομηνία (συνολικός αριθμός 114). Με γαλάζιο χρώμα σημαίνονται τα επιβεβαιωμένα κρούσματα, με πράσινο τα ύποπτα, με κίτρινο οι θάνατοι και με σκούρο μπλε τα κρούσματα πυρετού Pontiac. Πηγή: βιβλιογραφική αναφορά [39] β) η επίπτωση της νόσου στις χώρες της Ευρώπης. Πηγή: ECDC

Κλινική εικόνα

Ο πυρετός Pontiac είναι μια οξεία, αυτοπεριοριζόμενη, γριπώδης συνδρομή με μηδενική θνητότητα. Τα κύρια συμπτώματα των ασθενών είναι πυρετός και μυαλγία και ο χρόνος επώασης είναι 24 ως 48 ώρες. Οι ασθενείς σε μια εβδομάδα αναρρώνουν πλήρως, χωρίς να υποβληθούν σε θεραπεία. Ο πυρετός Pontiac έχει συσχετιστεί με τα είδη *L. pneumophila*, *L. midadei*, *L. feeleii* και *L. anisa* [32]. Η Νόσος των Λεγεωνάριων εκδηλώνεται με οξεία εμπύρετη συνδρομή και αναπνευστική ανεπάρκεια. Η θνητότητα εκτιμάται σε 10-15%, αλλά υπερβαίνει το 25% σε περιπτώσεις ανοσοκαταστολής. Η περίοδος επώασης διαρκεί 2 ως 10 ημέρες. Η ασθένεια αν δεν αντιμετωπιστεί σωστά μπορεί να αποβεί μοιραία. Την ομάδα υψηλού κινδύνου αποτελούν τα ανοσοκατασταλμένα άτομα, τα νεογνά, οι ηλικιωμένοι, οι ασθενείς με χρόνιες παθήσεις του πνεύμονα, άτομα με έκπτωση του ανοσοποιητικού συστήματος, άτομα που βρίσκονται υπό αγωγή με κορτικοστεροειδή, ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη, ΧΑΠ, νεοπλασματικά νοσήματα, νεφρική ανεπάρκεια και άτομα που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση οργάνων [2, 33]. Ο εργαστηριακός έλεγχος είναι απαραίτητος για τη διάγνωση, δεδομένου ότι μόνο από την κλινική εικόνα είναι αδύνατο να διαχωριστεί το είδος πνευμονίας που προκαλείται από τη *Legionella*, από την πνευμονία που προκαλείται από άλλους αιτιολογικούς παράγοντες. Οι συχνότερες επιπλοκές της νόσου είναι αναπνευστική ανεπάρκεια, οξεία νεφρική ανεπάρκεια, σοκ και πολύ-οργανική ανεπάρκεια. Σε σοβαρές περιπτώσεις παρατηρούνται συμπτώματα νευρολογικής φύσεως, όπως είναι η υπολειπόμενη παρεγκεφαλική δυσλειτουργία και η παλινδρομική αμνησία, σύγχυση, παραλήρημα, κατάθλιψη, αποπροσανατολισμός και παραισθήσεις [34]. Το βακτήριο μπορεί να εξαπλωθεί από το αναπνευστικό σύστημα σε όλο το ανθρώπινο σώμα μέσω αιματογενούς διασποράς από τους πνεύμονες. Η θεραπεία βασίζεται στη χορήγηση αντιβιοτικών. Η *Legionella* είναι ευαίσθητη σε ένα ευρύ φάσμα αντιμικροβιακών παραγόντων. Συνήθως συνιστάται η χορήγηση μιας μακρολίδης σε συνδυασμό με β-λακτάμες, ή κινολόνες [2, 34-36].

Επιδημιολογικά στοιχεία

Η νόσος έχει καταγραφεί παγκοσμίως, ωστόσο παρατηρείται μεγάλη διακύμανση στην συχνότητα εμφάνισης της σε διάφορες χώρες, η οποία μπορεί να αποδοθεί στις διαφορετικές μεθόδους προσδιορισμού των κρουσμάτων, στις διαγνωστικές μεθόδους, στα συστήματα επιτήρησης και στην παρουσίαση αναφορών της κάθε χώρας. Κατά το χρονικό διάστημα 2017-2020 στην Ευρώπη καταγράφηκαν συνολικά 13 επιδημίες με 686 κρούσματα και 13 θανάτους. Οι επιδημίες καταγράφηκαν στην Αγγλία (4), στην Ισπανία (3), στην Ιταλία (2), την Πορτογαλία (2), τη Γαλλία (1) και το Βέλγιο (1). Η μετάδοση έγινε μέσω συστήματος ύδρευσης-παροχής νερού (30,7%), πύργων ψύξης (23,1%) και νερού αναψυχής (23,1%). Η επιδημία με το μεγαλύτερο αριθμό κρουσμάτων αφορά στην Ιταλία και σχετίζεται με μετάδοση μέσω πύργων ψύξης. Η λεγιονέλλωση παρουσιάζει χαμηλότερα ποσοστά στις χώρες της Ευρώπης, σε σχέση με τις ΗΠΑ. Μεταξύ των διαφόρων χωρών υπάρχει μεγάλη ετερογένεια στον αριθμό των κρουσμάτων, με το μεγαλύτερο ποσοστό να αναφέρεται από την Σλοβενία (5,8/100.000 πληθυσμού). Κατά τη χρονική περίοδο 2013 - 2017 παρατηρήθηκε αύξηση του γενικού ποσοστού λεγιονέλλωσης από 1,2/100.000 σε 1,8/100.000. Το 69% των αναφερομένων κρουσμάτων για τις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης αντιστοιχούσε σε 4 χώρες (Γαλλία, Γερμανία, Ιταλία και Ισπανία). Περισσότερο ευάλωτη πληθυσμιακή ομάδα είναι οι άνδρες ηλικίας 65 ετών και άνω. Το αναφερόμενο ποσοστό στην ομάδα αυτή είναι 7,0/100.000 [37-39]. Στην Ευρώπη υπάρχουν 2 φορείς για την παρακολούθηση της νόσου: α) η Ευρωπαϊκή Ομάδα Εργασίας για την Νόσο των Λεγεωνάριων γνωστό ως European Working Group for Legionella Infections (EWGLI) και β) Το Ευρωπαϊκό δίκτυο επιτήρησης της Νόσου των Λεγεωνάριων που συνδέεται με τα ταξίδια (EWGLINET), στο οποίο αναφέρονται όλα τα

κρούσματα της νόσου, που εντοπίζονται στις χώρες-μέλη, και τα οποία συνδέονται με τα ταξίδια. Στην Ελλάδα η νόσος των Λεγεωνάριων αποτελεί νόσημα υποχρεωτικής δήλωσης [40].

Διαχρονικά παρατηρείται αύξηση των κρουσμάτων, η οποία μπορεί να οφείλεται στη βελτίωση των μηχανισμών παρακολούθησης της νόσου, στη γήρανση του πληθυσμού, στις μετακινήσεις και τα ταξίδια μεταξύ των χωρών, καθώς και στην κλιματική αλλαγή. Οι μεταβολές στις καιρικές συνθήκες, οι μεταβολές της θερμοκρασίας και της υγρασίας, οι έντονες βροχοπτώσεις και οι πλημμύρες, έχουν συσχετιστεί με αύξηση της επίπτωσης της νόσου, καθώς επηρεάζουν τόσο την οικολογία της Legionella, όσο και την αυξημένη χρήση συσκευών που παράγουν μικροσταγονίδια, των κλιματιστικών και των πύργων ψύξης. Επιπλέον τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μεγάλη χρήση των νερών αναψυχής ως συνέπεια συνηθειών life-style και προγραμμάτων άθλησης- υγείας-ευζωίας [41,42].

Εργαστηριακή προσέγγιση

Η αντιμετώπιση της νόσου εξαρτάται σημαντικά από την ταχύτητα των εργαστηριακών αποτελεσμάτων, ώστε να είναι δυνατή η έγκαιρη χορήγηση κατάλληλης αντιβιοτικής αγωγής. Μεταξύ των διαφόρων εργαστηριακών μεθόδων, η καλλιέργεια αποτελεί τη μέθοδο αναφοράς. Οι εργαστηριακές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση της Legionella είναι οι παρακάτω:

1. Καλλιεργητική μέθοδος. Η καλλιεργητική μέθοδος χαρακτηρίζεται από μεγάλη ειδικότητα. Η απομόνωση του βακτηρίου πραγματοποιείται σε BCYE άγαρ (buffered charcoal yeast extract agar), που περιέχει το αμινοξύ L-κυστεΐνη. Τα τρυβλία επωάζονται σε θερμοκρασία 36°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) για χρονικό διάστημα 14 ημερών και εξετάζονται κάθε δύο ή τρεις ημέρες. Η ανίχνευση μίας ή περισσοτέρων αποικιών είναι αρκετή για την επιβεβαίωση της διάγνωσης. Το σημαντικότερο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι η ικανότητα ανίχνευσης όλων των ειδών Legionella[2]. Σημαντικά μειονεκτήματά της θεωρούνται ο μεγάλος χρόνος επώασης, η ανάγκη ειδικών καλλιεργητικών υλικών, η αδυναμία παραγωγής πτυέλων από πολλούς ασθενείς και η δυσκολία του μικροβίου να επιβιώνει στις εκκρίσεις του αναπνευστικού συστήματος όταν έχει χορηγηθεί θεραπεία με αντιβιοτικά.
2. Μοριακές Μέθοδοι. Εφαρμόζονται για γονοτυπικές αναλύσεις των κλινικών και των περιβαλλοντικών στελεχών Legionella [2, 42, 43, 44]. Οι τεχνικές που εφαρμόζονται πιο συχνά είναι οι AFLP (Amplified fragment length polymorphism), PFGE (Pulsed field gel electrophoresis), Mab (monoclonal antibody typing), RFLP (Restriction fragment length polymorphism) και MLST (Multilocus sequence typing)
3. PCR Εφαρμόζεται για ανίχνευση του βακτηρίου σε πτύελα, αίμα και ούρα. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε άλλα δείγματα, αλλά με χαμηλότερη ευαισθησία. Η μέθοδος παρέχει αποτελέσματα σε σύντομο χρονικό διάστημα και ανιχνεύει όλα τα είδη και υποομάδες του βακτηρίου [2,45]. Τα περισσότερα εμπορικά κιτ έχουν σαν αλληλουχίες στόχο τα γονίδια 16S rRNA, 23S-5S, 5S rRNA και mip (macrophage inhibitor potentiator gene)
4. Real Time PCR για την ταχεία ανίχνευση των ειδών Legionella σε κλινικά και περιβαλλοντικά δείγματα. Η ταχύτητα και η άμεση ποσοτικοποίηση της μεθόδου προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της καλλιεργητικής και άλλων μοριακών τεχνικών. Η μέθοδος Real Time PCR είναι αρκετά ευαίσθητη και μπορεί να αποτελέσει την καλύτερη μέθοδο ανίχνευσης του βακτηρίου σε περιβαλλοντικά δείγματα και σε δείγματα από τεχνητά συστήματα νερού δεδομένου ότι δεν υπάρχουν παρεμβολές από άλλα βακτήρια στην ανίχνευση της [2, 46, 47].
5. Συνδυασμός Real Time PCR με την τεχνική ανοσομαγνητικού διαχωρισμού αποτελεί μια ακριβή και ευαίσθητη μέθοδο για την ταχεία ποσοτικοποίηση της L. pneumophila σε δείγματα νερού [48]

6. Άμεσος ανοσοφθορισμός (Direct Fluorescent Antigen-DFA), είναι μια ταχεία μέθοδος ανίχνευσης του βακτηρίου σε πτύελα, βρογχικές εκκρίσεις και ιστολογικά δείγματα. Ο χρόνος επίδοσης του αποτελέσματος είναι 2-4 ώρες, αλλά η μέθοδος έχει περιορισμένη ευαισθησία, απαιτεί μεγάλο αριθμό βακτηρίων για την απεικόνιση και μπορεί να δώσει ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω των διασταυρούμενων αντιδράσεων με άλλα βακτήρια και μύκητες. Επιπλέον απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό και μεγάλη εμπειρία [2]. Η ειδικότητα της είναι περίπου 94%, το δε αποτέλεσμα πρέπει να εκτιμάται σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα.
7. Ταχεία ανοσοχρωματογραφία μεμβράνης για την ανίχνευση του αντιγόνου του βακτηρίου Legionella υποομάδα 1 στα ούρα. Τα αντιγόνα που ανιχνεύονται στα ούρα αποτελούν συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος του βακτηρίου της Legionella και ανιχνεύονται ήδη από την πρώτη ημέρα μετά την έναρξη των συμπτωμάτων. Τα δύο συχνότερα χρησιμοποιούμενα τεστ που έχουν υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, όσον αναφορά την L.pneumophila υποομάδας 1 (SG1), είναι το ICT Binax Now Legionella Urinary Antigen και το EIA Binax Legionella Urinary Antigen EIA. Είναι γρήγορη μέθοδος και σημαντικό πλεονέκτημα είναι το γεγονός ότι το αποτέλεσμα δεν επηρεάζεται από τη λήψη αντιβιοτικών. Βασικό μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί το γεγονός ότι αφορά αποκλειστικά τη L.pneumophila υποομάδας 1, ωστόσο το μειονέκτημα αυτό δεν υποβαθμίζει την αξία της μεθόδου, δεδομένου πως αυτό το στέλεχος ευθύνεται για το 90% των περιπτώσεων της νόσου [2,49,50]. Η ευαισθησία της μεθόδου είναι 79,7% και η ειδικότητα 100%. Ο χρόνος επίδοσης του αποτελέσματος είναι 15 λεπτά, δεν απαιτείται ειδικός εξοπλισμός, ούτε εμπειρία. Η συμπύκνωση των ούρων φαίνεται ότι αυξάνει σημαντικά την ευαισθησία της μεθόδου.
8. Έμμεσος ανοσοφθορισμός IFA (Indirect immunofluorescent assays) χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της L.pneumophila και της L.longbeachae. Αξιολογείται ως θετικός ο τίτλος αντισωμάτων που είναι ίσος ή μεγαλύτερος από 1/128 [2, 50]
9. ELISA (enzyme-linked immunosorbent assays) Χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgG και IgM. Μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι σημαντικό ποσοστό (13%-40%) των ασθενών με αποδεδειγμένη λοίμωξη δεν αναπτύσσει ανιχνεύσιμα αντισώματα [2,50]
10. Real-time loop-mediated isothermal amplification (LAMP) η μέθοδος επιτρέπει το διαχωρισμό μεταξύ L.pneumophila και των υπολοίπων ειδών Legionella. Εφαρμόζεται και σε κλινικά και σε περιβαλλοντικά δείγματα [51,52]
11. Φασματοφωτομετρία μάζας (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry-MALDI-TOF-MS), Χρησιμοποιείται ευρέως τα τελευταία χρόνια, ως απλή, γρήγορη και οικονομικά προσιτή μέθοδος ταυτοποίησης πολλών ειδών μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων και των ειδών και στελεχών της Legionella [53]. Η ταυτοποίηση των μικροοργανισμών βασίζεται σε ανάλυση του πρωτεϊνικού τους προφίλ. Μειονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι απαιτείται πρώτα απομόνωση με καλλιέργεια και ότι δεν είναι εφικτός ο προσδιορισμός του ορότυπου.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται μια σύνοψη όλων των εργαστηριακών μεθόδων που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της λεγιονέλλωσης.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ	ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΧΡΟΝΟΣ	ΑΝΙΧΝΕΥΕΙ	ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ	ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ	ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	ΕΙΔΙΚΟΤΗΤ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ	ΠΤΥΕΛΑ ΒΡΟΓΧΙΚΕΣ ΕΚΚΡΙΣΕΙΣ ΙΣΤΟΙ ΑΙΜΑ ΑΡΘΡΙΚΟ ΥΓΡΟ	3-14 ΗΜΕΡΕΣ	ΌΛΑ ΤΑ ΕΙΔΗ LEGIONELLA	ΑΝΙΧΝΕΥΕΙ ΌΛΑ ΤΑ ΕΙΔΗ ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΟΡΟΤΥΠΟΥΣ ΤΗΣ LEGIONELLA	ΜΕΓΑΛΟΣ ΧΡΟΝΟΣ ΕΠΙΘΑΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΑΠΟΙΚΙΩΝ ΚΥΜΑΙΝΟΜΕΝΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΟ ΕΙΔΟΣ	10 ΩΣ 80	~100
ΑΝΤΙΓΟΝΟ ΣΤΑ ΟΥΡΑ	ΟΥΡΑ	3-4 ΩΡΕΣ	LEGIONELLA PNEUMOPHILA SG1	ΜΙΚΡΟΣ ΧΡΟΝΟΣ ΔΕΙΓΜΑ ΕΥΚΟΛΑ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟ	ΑΝΙΧΝΕΥΕΙ ΜΟΝΟ ΤΟ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ	70-90	95-100
ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ (ELISA ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟΣ)	ΟΡΟΣ	1 ΗΜΕΡΑ	ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΠΟΛΛΩΝ ΟΡΟΤΥΠΩΝ	ΧΡΗΣΙΜΗ ΓΙΑ ΑΝΑΔΡΟΜΙΚΗ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ	ΑΠΑΙΤΕΙ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΥΠΟΚΕΙΜΕΝΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ	40-80	95-100
ΑΜΕΣΟΣ ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟΣ	ΠΤΥΕΛΑ ΒΡΟΓΧΙΚΕΣ ΕΚΚΡΙΣΕΙΣ ΙΣΤΟΣ ΑΙΜΑ	ΠΕΡΙΠΟΥ 2 ΩΡΕΣ	ΠΟΛΛΑ ΕΙΔΗ ΚΑΙ ΟΡΟΤΥΠΟΥΣ		ΔΥΣΚΟΛΙΑ ΣΤΗΝ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΛΟΓΩ ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ	25-75	95-100
ΜΕΘΟΔΟΣ ΣΥΓΚΟΛΛΗΣΗΣ	ΑΠΟΙΚΙΕΣ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ	1-2 ΩΡΕΣ	ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΕΙΔΟΥΣ ΚΑΙ ΟΡΟΤΥΠΟΥ		ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ	> 89	> 97
MAB blotting	ΑΠΟΙΚΙΕΣ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ	1-2 ΩΡΕΣ	L. pneumophila sg1		ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗ ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ	ΑΓΝΩΣΤΗ	ΑΓΝΩΣΤΗ
PCR ΚΛΑΣΣΙΚΗ ΚΑΙ REAL TIME	ΟΠΟΙΟΔΗΠΟΤΕ ΔΕΙΓΜΑ ΑΠΟ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ	4-6 ΩΡΕΣ	ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΟΛΛΩΝ ΕΙΔΩΝ LEGIONELLA ΚΑΙ	ΓΡΗΓΟΡΗ ΚΑΙ ΕΥΡΕΩΣ ΔΙΑΔΕΟΜΕΝΗ ΜΕΓΑΛΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	ΔΑΠΑΝΗΡΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΕΜΒΟΛΕΣ ΑΠΟ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ	30-100	95-100

	ΑΠΟΜΟΝΩΘΕΙ DNA		L.PNEUMOPHILA SG1	ΜΕΓΑΛΗ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ			
ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ MALDI-TOF	ΑΠΟΙΚΙΑ ΑΠΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ	30 ΛΕΠΤΑ	ΟΛΑ ΤΑ ΕΙΔΗ	ΓΡΗΓΟΡΗ ΜΕΘΟΔΟΣ	ΑΠΑΙΤΕΙ ΕΚΠΑΙΔΕΥΜΕΝΟ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟ	90-99	ΑΓΝΩΣΤΗ
					ΑΠΑΙΤΕΙ ΑΚΡΙΒΟ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟ		
ISOTHERMAL AMPLIFICATION	ΟΠΟΙΟΔΗΠΟΤΕ ΔΕΙΓΜΑ ΑΠΟ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΑΠΟΜΟΝΩΘΕΙ DNA	1 ΩΡΑ	ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΠΟΛΛΩΝ ΕΙΔΩΝ LEGIONELLA ΚΑΙ L.PNEUMOPHILA SG1	ΓΡΗΓΟΡΗ ΜΕΘΟΔΟΣ	ΜΕΘΟΔΟΣ ΥΠΟ ΑΝΑΠΤΥΞΗ	~ 100	>90
					ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΛΙΓΕΣ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ		

Συμπεραίνουμε από όλα τα παραπάνω ότι από τις εργαστηριακές μεθόδους για τη διάγνωση της νόσου των λεγεωναρίων, η καλλιέργεια παραμένει η μέθοδος αναφοράς. Η ανίχνευση του αντιγόνου της Legionella στα ούρα, αποτελεί μία ασφαλή επιλογή, διότι εξασφαλίζει άριστα αποτελέσματα από τις πρώτες ημέρες της νόσου, δεν επηρεάζεται από τη χορήγηση αντιβιοτικών και εφαρμόζεται σε εύκολα διαθέσιμο δείγμα [2, 54].

Συνοψίζοντας μπορούμε να πούμε ότι η παρουσία της Legionella είναι πολύ διαδεδομένη τόσο στο φυσικό όσο και στο αστικό περιβάλλον, όπου δημιουργούνται σε πολλά σημεία ιδανικές συνθήκες για την ανάπτυξη της. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στους χώρους όπου υπάρχουν ευπαθείς ομάδες. Τα πιο σύγχρονα εργαλεία για την ελαχιστοποίηση της μετάδοσης της νόσου βασίζονται στην ανάλυση κινδύνου, στην προσέγγιση της διαχείρισης κτιρίου (building management), στη συνεχή παρακολούθηση της ποιότητας του νερού και στην τακτική συντήρηση των εγκαταστάσεων και των συστημάτων ύδρευσης. Σε χώρους όπου υπάρχουν ευπαθείς ομάδες (ΜΕΘ, μονάδες μεταμόσχευσης, βρεφονηπιακοί σταθμοί, μονάδες φροντίδας ηλικιωμένων, μονάδες νοσηλείας ογκολογικών ασθενών κλπ) θα πρέπει να υπάρχει διαρκής επαγρύπνηση. Η προσέγγιση θα πρέπει να είναι πολύ-επίπεδη και να λαμβάνονται υπόψη περιβαλλοντικές παράμετροι, η πολυπλοκότητα στην αρχιτεκτονική του συστήματος ύδρευσης, όλες οι πιθανές διαδρομές της έκθεσης αλλά και το είδος του πληθυσμού που εκτίθεται στο βακτήριο και η ευαισθησία αυτού. Η βελτίωση των υφιστάμενων εργαστηριακών δοκιμασιών καθώς και η ανάπτυξη νέων τεχνολογιών με αυξημένη ευαισθησία και ειδικότητα θα συνεισφέρουν σημαντικά στην αντιμετώπιση της νόσου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Fraser DW, Tsai TR, et al. 1977. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. N Engl J Med, 297:1189-1197.
2. Jomehzadeh N, Moosavian M, Saki M, Rashno M. Legionella and legionnaires' disease: An overview. J Acute Dis 2019; 8(6): 221-232.
3. Burillo A, Pedro-Botet ML, Bouza E. Microbiology and epidemiology of Legionnaire's disease. Infect Dis Clin N Am 2017; 31(1): 7-27.

4. Kelsie M. Carlson, Laura A. Boczek, Soryong Chae and Hodon Ryu. Legionellosis and Recent Advances in Technologies for Legionella Control in Premise Plumbing Systems: A Review *Water* 2020; 12: 676
5. Van Heijnsbergen E et al. Confirmed and Potential Sources of Legionella Reviewed. *Environmental Science and Technology*. American Chemical Society 2015;49(8):4797–4815.
6. Borella P, Guerrieri E, Marchesi I, Bondi M and Messi P. Water ecology of Legionella and protozoan: environmental and public health perspectives *Biotechnology Annual Review* 2005 Elsevier B.V. Volume 11, ISSN: 1387-2656 DOI: 10.1016/S1387-2656(05)11011-4
7. Graham FG, Hales S, White PS and Baker MG. Global seroprevalence of legionellosis - a systematic review and meta-analysis *Scientific Review Reports* (2020) 10:7337
8. Correia AM, Ferreira JS, Borges V, et al. Probable person to person transmission of Legionnaires' disease. *N Engl J Med*. 2016;374(5):497-498.
9. Yehonatan Sharaby, Sarah Rodriguez-Martvnez, Olga Oks, Marina Pecellin, et al. Temperature-Dependent Growth Modeling of Environmental and Clinical Legionella pneumophila Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis (MLVA) Genotypes Applied and Environmental Microbiology 2017;83:8 e03295-16
10. Kerry A. Hamilton Mark T. Hamilton, William Johnson, Patrick Jjemba, Zia Bukhari, Mark LeChevallier, Charles N. Haas, and P. L. Gurian R Risk-Based Critical Concentrations of Legionella pneumophila for Indoor Residential Water Uses *Environ. Sci. Technol*. 2019; 53:4528–4541
11. Takashi Nishida, Natsuko Nakagawa, Kenta Watanabe, Takashi Shimizu, and Masahisa Watarai Attenuated Legionella pneumophila Survives for a Long Period in an Environmental Water Site *Hindawi BioMed Research International* 2019, Article ID 8601346, doi.org/10.1155/2019/8601346
12. (Fields et al., 2002)
13. Muhammad Atif Nisar, Kirstin E. Ross, Melissa H. Brown, Richard Bentham and Harriet Whiley Legionella pneumophila and Protozoan Hosts: Implications for the Control of Hospital and Potable Water Systems *Pathogens* 2020; 9: 286; doi:10.3390/pathogens9040286
14. Mena Abdel-Nour, Carla Duncan, Donald E. Low and Cyril Guyard. Biofilms: The Stronghold of Legionella pneumophila *Int. J. Mol. Sci*. 2013;14: 21660-21675
15. Chaabna et al. Molecular diversity and high virulence of Legionella pneumophila strains isolated from biofilms developed within a warm spring of a thermal spa. *BMC Microbiology* 2013; 13:17.
16. Arwa Abu Khweek and Amal O. Amer. BIOFILM Factors Mediating Environmental Biofilm Formation by Legionella pneumophila *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2018;8: Article 38
17. Gomez-Valero L, Buchrieser C. Genome dynamics in Legionella: the basis of versatility and adaptation to intracellular replication. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;3(6):a009993.
18. Joseph S, Cox D, Wolf B et al. Dynamics of genome change among Legionella species. *Sci Rep* 6, 33442 (2016).
19. Gomez-Valero L, Buchrieser C. Intracellular parasitism, the driving force of evolution of Legionella pneumophila and the genus Legionella. *Genes Immun*. 2019;20(5):394-402.
20. Andree Hubber and Craig R. Roy Modulation of Host Cell Function by Legionella pneumophila Type IV Effectors *Annual Review of Cell and Developmental Biology* Vol. 26:261-283
21. Aaron J. Prussin, David Otto Schwake and Linsey C. Marr Ten Questions Concerning the Aerosolization and Transmission of Legionella in the Built Environment *Department Build Environ*. 2017; 123: 684–695.
22. D Yunana, A Branch, K H Tng, I Bradley, L Zappia, P Le-Clech Legionella Exposure Risk in Groundwater Treatment Plants *water e-journal on line journal of the Australian water association vol4 no 4*, 2019

23. Jeanne Couturier, Christophe Ginevra, Didier Nesa, Marine Adam, et al Transmission of Legionnaires' Disease through Toilet Flushing Emerging Infectious Diseases. www.cdc.gov/eid 2020;26(7): 1526- 1528
24. Chochlakis D, Sandalakis V, Keramarou M, Tselentis Y and Psaroulaki A. Legionellosis: a walk-through to identification of the source of infection Cent Eur J Public Health 2017; 25 (3): 235–239
25. Petti S, Vitali M. Occupational risk for Legionella infection among dental healthcare workers: meta-analysis in occupational epidemiology. BMJ Open 2017;7:e015374.
26. Giulia Oliva, Tobias Sahr and Carmen Buchrieser. The Life Cycle of *L. pneumophila*: Cellular Differentiation Is Linked to Virulence and Metabolism *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2018;8:Article 3
27. Leoni E, Catalani F, Marini S, Dallolio L. Legionellosis Associated with Recreational Waters: A Systematic Review of Cases and Outbreaks in Swimming Pools, Spa Pools, and Similar Environments. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2018; 15:1612.
28. Thornley CN et al. Legionella longbeachae detected in an industrial cooling tower linked to a legionellosis outbreak, New Zealand, 2015; possible waterborne transmission? *Epidemiology and Infection* 2017; 145: 2382–2389.
29. Soda EA et al. Vital Signs: Health Care-Associated Legionnaires' Disease Surveillance Data from 20 States and a Large Metropolitan Area — United States, 2015. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report* 2017; 66: 584–589
30. Yiailouros P, Papadouri T, Karaoli C, Papamichael E, Zeniou M, Pieridou-Bagatzouni D, Papageorgiou G, et al. First Outbreak of Nosocomial Legionella Infection in Term Neonates Caused by a Cold Mist Ultrasonic Humidifier, *Clinical Infectious Diseases*, 2013;57(!):48–56
31. Eugenia Yakunin, Eszter Kostyal, Vered Agmon, Itamar Grotto, Lea Valinsky and Jacob Moran-Gilad A Snapshot of the Prevalence and Molecular Diversity of Legionella pneumophila in the Water Systems of Israeli Hotels *Pathogens* 2020; 9: 414
32. Remen T, Mathieu L, Hautemaniere A, Deloge-Abarkan M, Hartemann P, Zmirou-Navier D. Pontiac fever among retirement home nurses associated with airborne legionella . *J Hosp Infect.* 2011; 78(4):269-273.
33. A. Dias, P. Dionísio, F. Lopes, C. Costa, J. Carvalho, G. Carvalho, A. Cysneiros, et al. Clinical presentation of Legionnaires' disease during an outbreak: The typical presentation of an atypical pathogen *European Respiratory Journal* Sep 2015; 46 (suppl 59): PA2589
34. Naoyuki Miyashita, Futoshi Higa, Yosuke Aoki , Toshiaki Kikuchi, Masafumi Seki et al. Clinical presentation of Legionella pneumonia: Evaluation of clinical scoring systems and therapeutic efficacy *J Infect Chemother* 2017;23: e 727-e732
35. Puri S, Boudreaux-Kelly M, Walker JD, Clancy JC and Decker BK. Clinical Presentation of Community-Acquired Legionella pneumonia Identified by Universal Testing in an Endemic Area *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2020; 17: 533
36. David S, Afshar B, Mentasti M, Ginevra C, Podglajen I et al. Seeding and Establishment of Legionella pneumophila in Hospitals: Implications for Genomic Investigations of Nosocomial Legionnaires' Disease *Nosocomial Legionnaires' Disease. CID* 2017;64 : 1251- 1259
37. Weiss D, Boyd C, Rakeman J, Greene S, et al. A Large Community Outbreak of Legionnaires' Disease Associated With a Cooling Tower in New York City, 2015 *Public Health Reports* 2017; 132(2): 241-250
38. Faccini M, Giampiero Russo A, Bonini M, Tunesi S, Murtas R et al. Large community-acquired Legionnaires' disease outbreak caused by Legionella pneumophila serogroup 1 in Italy, July to August 2018 www.eurosurveillance.org
39. ECDC Surveillance Report 2017
40. Shamika S. Smith, Kathy Ritger, Usha Samala, Stephanie R. Black, Margaret Okodua, Loretta Miller, Natalia A. Kozak-Muiznieks, Lauri A. Hicks et al. Legionellosis Outbreak Associated With a Hotel Fountain . *OFID.* 1

41. Á Díaz-Flores, JC Montero, FJ Castro, EM Alejandres, C Bayón, I Solís, R Fernández-Lafuente G Rodríguez. Comparing methods of determining Legionella spp. in complex water matrices BMC Microbiology 2015;15: Article number: 91
42. David M. Pierre, Julianne Baron, Victor L. Yu and Janet E. Stout Diagnostic testing for Legionnaires' disease Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 2017;16, Article number: 59
43. Harriet Whiley and Michael Taylor. Legionella detection by culture and qPCR: Comparing apples and oranges, Critical Reviews in Microbiology, 2016;42: 65-74
44. Hamilton KA, Hamilton MT, Johnson W, Jjemba P, Bukhari Z et al. Risk-Based Critical Concentrations of Legionella pneumophila for Indoor Residential Water Uses. Environ. Sci. Technol. 2019; 53:4528–4541
45. Kelsie M. Carlson, Laura A. Boczek, Soryong Chae and Hodon Ryu. Legionellosis and Recent Advances in Technologies for Legionella Control in Premise Plumbing Systems: A Review. Water 2020;12:676
46. Bram MW Diederer, Jan A J W. Kluytmans, Christina M. Vandenbroucke-Grauls and Marcel F. Peeters. Utility of Real-Time PCR for Diagnosis of Legionnaires' Disease in Routine Clinical Practice. Journal of Clinical Microbiology 2008;671-677
47. Avni T, Bieber A, Green H, Steinmetz T, Leibovici L, Paul M. Diagnostic accuracy of PCR alone and compared to urinary antigen testing for detection of Legionella spp.: a systematic review. J Clin Microbiol 2016;54:401–411.
48. Mercante JW, Winchell JM. Current and emerging Legionella diagnostics for laboratory and outbreak investigations. Clin Microbiol Rev 2015;28:80 –118.
49. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, Richter SS, Gilligan PH, Thomson RB, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). Clin Infect Dis 2013; 57:e22– e121.
50. Jarraud S, Descours G, Ginevra C, Lina G, Etienne J. 2013. Identification of *Legionella* in clinical samples. Methods Mol Biol 954:27–56.
51. Moosavian M, Seyed-Mohammadi S, Saki M, Shahi F, Khoshkholgh Sima M, Afshar D, Barati S. Loop-mediated isothermal amplification for detection of Legionella pneumophila in respiratory specimens of hospitalized patients in Ahvaz, southwest Iran. Infect Drug Resist. 2019;12:529-534
52. Lu X, Mo ZY, Zhao HB, Yan H, Shi L. LAMP-based method for a rapid identification of Legionella spp. and Legionella pneumophila. Appl Microbiol Biotechnol. 2011;92(1):179–187.
53. Fujinami Y, Kikkawa HS, Kurosaki Y, Sakurada K, Yoshino M, Yasuda J. Rapid discrimination of Legionella by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Microbiol Res. 2011;166(2):77-86.
54. Isabelle Barrette Comparison of Legiolert and a Conventional Culture Method for Detection of Legionella pneumophila from Cooling Towers in Québec Journal of Aoac International 2019; 102(4): 1235-1240

«Αλλάζει κάπως ο ρυθμός, ο σκοπός γίνεται λυπητερός αλλά μένει συγκρατημένος, το τραγούδι ρωτάει πού να βρίσκονται και τι να κάνουν τάχα σήμερα κείνοι που δούλεψαν σκληρά, μέρα και νύχτα, για τη γέφυρα, οι χτίστες, οι εργάτες και οι μαραγκοί, όλοι οι παλιοί καλοί σύντροφοι. Δε θα ξανασμίξουν, αλίμονο, ποτέ πια. Σε κανένα γιατί, αποκρίνεται το τραγούδι, δε θα ξανανητήσουν τα ντιντινίσματα από τα σύνεργά τους, δε θα ξανακουστούν πάνω σε άλλη σκαλωσιά τα πειράγματα, τα γέλια, οι μικροκαυγάδες τους... Ποιός ξέρει όμως, ίσως να τους δοθεί να ξαναβρεθούν ... να πιάσουν κουβέντα και να ξαναθυμηθούνε τα παλιά, να βάλουνε μετά μπρος χορούς και τραγούδια. »

Άρης Φακίνος, Το όνειρο του πρωτομάστορα Νικήτα, Εκδ. Καστανιώτη, 1998.

