
УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ - СКОПЈЕ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

КЛИНИЧКИ И ЕТИОЛОШКИ АСПЕКТИ НА
АТИПИЧНИТЕ ПНЕВМОНИИ

д-р Патриција Каламарас

Скопје, 2019

ИЗВАДОК

Вовед. Пневмонијата е акутно воспаление на белодробниот паренхим, а може да биде предизвикана од разновидни микроорганизми. Клинички се манифестира со зголемена температура, кашлица, отежнато дишење и бодежи во градите.

Терминот „атипична пневмонија“ потекнува од раните години на минатиот век и го означува синдромот на CAP, со клиничка слика и епидемиолошки карактеристики различни од тие кај пациентите со типична пневмонија.

Цел. Основна цел на истражувањето беше да се утврди честотата на поединечните атипични патогени како причинители на атипичните пневмонии кај возрасната популација и да се направи споредба на резултатите од серолошките и молекуларните микробиолошки методи при етиолошкото дијагностицирање на атипичните пневмонии.

Материјал и методи. Испитувањето претставува ретроспективно-проспективна студија. Во ретроспективниот дел од студијата беа анализирани податоци од 629 пациенти што биле лекувани од атипични пневмонии и беше направен увид за застапеноста на атипичните пневмонии, најчестите причинители, сезонската дистрибуција и дистрибуцијата на пациентите според полот, возраста, националноста, социоекономскиот статус, местото на живеење и професијата. Во проспективниот дел од студијата беа анализирани 103 пациенти со атипична пневмонија. При поставувањето на етиолошката дијагноза, беа земени примероци од крв од сите 103 пациенти. За да се идентификува патогенот, беше изработен PneumoSlide® Vircell тест, како и стандардните лабораториски анализи (седиментација, крвна слика со периферна размаска, CRP, AST, ALT, тотален, директен и индиректен билирубин). При контролниот преглед по три месеци, кај сите 103 пациенти беа земени примероци од крв, беше изработен PneumoSlide® Vircell тест. Од пациентите кај кои резултатите од серолошката анализа беа позитивни, а немаа клиничка слика на атипична пневмонија, беше земен спутум и за да се идентификува патогенот, од спутумот беа изработени молекуларни анализи Seeplex® PneumoBacter ACE Detection Multiplex-PCR System и RV 12 ACE detection.

Резултати. Во ретроспективниот дел од студијата, како најчест причинител на атипичната пневмонија беше докажан патогенот *Legionella pneumophila*, со преваленција од 42,5 %, а втора по зачестеност беше *Mycoplasma pneumoniae*, потврдена кај 34,5 % од пациентите. Најчести симптоми со кои се манифестираше болеста кај испитаниците беа: кашлица – 98,0 %, отежнато дишење – 96,8 %, замор, слабост или малаксаност – 96 %, температура – 71,8 % и болки во градите – 69,8 %. Сезонска појава беше утврдена кај атипичните пневмонии предизвикани од *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae*. Пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* беа сигнификантно постари од пациентите со атипична пневмонија со други причинители, додека пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* беа сигнификантно помлади од пациентите со атипична пневмонија со други причинители.

Во проспективниот дел од студијата како најчест причинител беше потврдена *Legionella pneumophila* кај 40 %, а потоа *Mycoplasma pneumoniae* кај 35,6 %. Во клиничката слика доминантни симптоми беа: кашлица – 95,6 %, тешкотии при дишењето – 93,3 %, замор, слабост или малаксаност – 91,1 %, температура повисока од 37°C – 38,7 % и болки во градите – 48,9 %.

Компаративната анализа на одредени демографски, клинички и лабораториски параметри помеѓу *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae* покажа дека и двата причинителя почесто предизвикуваат атипична пневмонија кај мажите. Помладите пациенти значајно почесто беа инфицирани со *Legionella pneumophila*, а постарите со *Mycoplasma pneumoniae* ($p=0,023$). Значително почесто беше регистриран коморбидитет кај пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* ($p=0,044$). Овие пациенти значително почесто имале брадикардија, абдоминална болка ($p=0,026$), гадење ($p=0,0002$), зголемени вредности на AST ($p=0,025$) и ALT ($p=0,011$).

Тестирањето на дијагностичката вредност на пневмослајдот, при што како златен стандард беше земена молекуларната метода ПВР, покажа дека сензитивноста на пневмослајдот за откривање на *Legionella pneumophila* изнесуваше 85 %, специфичноста 96,3 %, а глобалната точност на тестот 91,5 %. Сензитивноста на пневмослајдот за откривање на *Mycoplasma pneumoniae* изнесуваше 88,9 %, специфичноста 98,8 %, а глобалната точност 91,7 %.

Заклучок. Најчести причинители на атипичните пневмонии кај пациентите анализирани во студијата беа *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae*.

Пневмослајдот претставува добар дијагностички тест за откривање на пациенти со атипични пневмонии.

ПВР има многу атрибути коишто го прават корисен дијагностички тест за пневмонија, но, тоа е скапа метода која не е достапна во најголем број лаборатории. Пред ПВР и другите методи за амплифицирање на нуклеинската киселина да станат рутински дијагностички алатки, прво треба да се утврдат стандардизираните протоколи за нивна употреба.

Клучни зборови: пневмонија, патогени, атипична, пневмослајд, полимераза верижна реакција.

ABSTRACT

Introduction Pneumonia is an acute inflammation of the lung parenchyma, and can be caused by a variety of microorganisms. Clinically is manifested with increased fever, cough, wheezing and chest tightness.

The term "atypical pneumonia" dates back to the early years of the last century and marks the CAP syndrome, with clinical picture and epidemiological characteristics other than those in patients with typical pneumonia.

Purpose The main aim of the study is to determine the frequency of certain atypical pathogens as the cause of atypical pneumonia in the adult population and to compare the results of serological and molecular microbiological methods in the aetiological diagnosis of atypical pneumonia.

Material and methods The examination is a retrospective-prospective study. In the retrospective part of the study, data from 629 patients treated as atypical pneumonias were analyzed and was made insight into the prevalence of atypical pneumonias, the most common causes, seasonal distribution and distribution of patients by gender, age, nationality, socioeconomic status, place of residence and profession.

In the prospective part of the study, 103 patients with atypical pneumonia were analyzed. When setting the aetiological diagnosis, blood samples were taken from all 103 patients. To identify the pathogen, a PneumoSlide® Vircell test was performed, as well as standard laboratory analyzes (sedimentation, blood count with peripheral smear, CRP, AST, ALT, total, direct and indirect bilirubin).

In the three-month follow-up check examination in all 103 patients, blood samples were taken from the PneumoSlide® Vircell test. From patients in whom the results of the serological analysis were positive and had no clinical picture of atypical pneumonia, sputum was taken and in order to identify the pathogen, molecular analyzes of the Seeplex® PneumoBacter ACE Detection Multiplex-PCR System and RV 12 ACE detection were made from the sputum.

Results In the retrospective part of the study, the pathogen Legionella pneumophila, with a prevalence of 42.5 %, was proven as the most common cause of atypical pneumonia, and the second most common was Mycoplasma pneumoniae, confirmed in 34.5 % of patients. The most frequent symptoms of the disease were: cough - 98.0 %, wheezing - 96.8 %, fatigue, weakness or malaise - 96 %, temperature - 71.8 % and pain in the chest - 69.8 %.

Season occurrence was established in atypical pneumonia caused by Legionella pneumophila and Mycoplasma pneumoniae. Patients with atypical pneumonia caused by Legionella pneumophila were significantly older than patients with atypical pneumonia with other causes, while patients with atypical pneumonia caused by Mycoplasma pneumoniae were significantly younger than patients with atypical pneumonia with other causes.

In the **prospective part of the study**, the most common cause was *Legionella pneumophila* in 40 %, and then *Mycoplasma pneumoniae* at 35.6 %. In the clinical picture, the dominant symptoms were: cough - 95.6 %, difficulty breathing - 93.3 %, fatigue, weakness or malaise - 91.1 %, temperature higher than 37°C - 86.7 % and chest pain - 48.9 %.

Comparative analysis of certain demographic, clinical and laboratory parameters between *Legionella pneumophila* and *Mycoplasma pneumoniae* showed that both causes more often cause atypical pneumonia in men.

Younger patients were significantly more infectious with *Legionella pneumophila*, and older with *Mycoplasma pneumoniae* ($p = 0.023$). Comorbidity was significantly more commonly reported in patients with atypical pneumonia caused by *Legionella pneumophila* ($p = 0.044$). These patients significantly increased bradycardia, abdominal pain ($p = 0.026$), nausea ($p = 0.0002$), elevated AST values ($p = 0.025$) and ALT ($p = 0.011$).

Testing the diagnostic value of the pneumoslide test, where the molecular method of the PCR was taken as a gold standard, showed that the sensitivity of the pneumoclide to detect *Legionella pneumophila* was 85 %, the specificity was 96.3 %, and the global test accuracy was 91.5 %. The sensitivity of the pneumoslide test to detect *Mycoplasma pneumoniae* was 88.9 %, the specificity was 98.8 %, and the global accuracy was 91.7 %

Conclusion

The most common causes of atypical pneumonia in the patients analyzed in the study were *Legionella pneumophila* and *Mycoplasma pneumoniae*.

PneumoSlide test is a good diagnostic test in detecting patients with atypical pneumonia.

PCR has many attributes that make a useful diagnostic test for pneumonia, but it is an expensive method that is not available in most of the laboratories. Prior to PCR and other methods for amplifying nucleic acid to become routine diagnostic tools, standardized protocols for their use should be established first.

Key words: pneumonia, pathogens, apical, pneumoslide test , polymerase chain reaction.

1. ВОВЕД

Пневмонијата е акутно воспаление на белодробниот паренхим, а може да биде предизвикано од разновидни микроорганизми. Клинички се манифестира со зголемена температура, кашлица, отежнато дишење и бодежи во градите [1,2,3].

Пневмониите можат да се поделат според разни обележја, како епидемиолошки, клинички патолошки, патоморфолошки, рендгенографски. Етиолошката поделба е најточна, но не е секогаш можна [1]. Според причинителот, пневмониите се поделени на бактериски и атипични - небактериски (интерстициски) пневмонии [1,2,3].

Според местото на настанување, пневмониите се делат на вонболнички (пневмонии од општата популација) и болнички (хоспитални) пневмонии. Акутните вонболнички пневмонии, или пневмониите стекнати во заедницата (Community acquired pneumonia – CAP) се последица од градскиот начин на живот и се потенцијално тешки инфекции [1,2,3].

Причинителите на пневмониите се многубројни. Во општата популација, надвор од болниците, како најчест причинител на бактериските пневмонии се јавува *Streptococcus pneumoniae* (80-95 % од пневмониите), а поретко *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и анаеробните бактерии [1, 2]. Најважен причинител на небактериските, атипични пневмонии е *Mycoplasma pneumoniae* [1-4].

Терминот „атипична пневмонија“ потекнува од раните години на минатиот век и го означува синдромот на CAP, со клиничка слика и епидемиолошки карактеристики различни од тие кај пациентите со типична пневмонија [3, 4].

Историски преглед

Појавата на терминот атипична пневмонија се поврзува со времето кога познавањето за микробиолошките причинители на пневмониите ги надминало *Streptococcus pneumoniae* и *Mycobacterium tuberculosis*. Сè до четириесеттите години на дваесеттиот век се мислело дека бактериите се единствени причинители на пневмониите и со откривањето на сулфонамидите и пеницилинот се сметало дека проблемот со терапијата на пневмониите е решен. Набргу станало јасно дека овие антибиотици не дејствуваат на некои пневмонии. Клиничкото разјаснување на

атипичните пневмонии било овозможено дури со откривање на причинителите на овие заболувања, кои биле означени како „атипични патогени“ [3, 4].

Терминот атипична пневмонија за првпат се споменува во **Нотнагеловата** енциклопедија од практична медицина од 1903 год. и во **Британското медицинско списание** (British Medical Journal) од 1910 год. Во 1911 год., Џеј Перкинс објавил текст на оваа тема и атипичните пневмонии ги дефинирал како случаи на пневмонија кај кои специфичните причинители не биле познати, а кај пациентите биле забележани различни карактеристики и неправилен клинички тек на болеста. Томас Хастингс и Волтер Нилс (1911), Перси Кид (1912) и Ернест Глин (1913) го употребувале терминот атипична пневмонија за да означат разновидна група пневмонии што се разликувале од типичната лобарна пневмонија. Во дваесеттите и триесеттите години на дваесеттиот век, терминот атипични пневмонии бил повеќе прифатен и се појавил во повеќе прикази на невообичаени **синдроми** на пневмонија [5].

Откривањето на некои болести и на нивните причинители овозможило понатамошно разјаснување на атипичните пневмонии. Во 1929/30 год. е откриена пситакозата, во 1933 вирусот на инфлуенца, а во 1935 год. Q-треската. Истовремено било регистрирано постоење на еден тип небактериска пневмонија што се јавувала сè почесто и тоа со епидемски карактер и со специфичен клинички тек. За да се назначи важноста на воспалителниот процес во белите дробови и неговото примарно значење за болеста, како и за да се направи разлика од бактериските пневмонии, од 1938 год. овие пневмонии почнале да се означуваат како примарни атипични. За пошироко популаризирање на терминот атипични пневмонии заслужен е Хобарт Реиман, лекар од Филадельфија [5].

Во четириесеттите години од дваесеттиот век, атипичната пневмонија веќе се дефинирала како посебен ентитет. Особено голем број заболени од овие пневмонии бил забележан меѓу војниците во Втората светска војна, па во САД биле вложени огромни средства за истражување на причинителите. Синдромот на атипична пневмонија бил опишуван како заболување со карактеристичен постепен почеток, со општи и респираторни симптоми, белодробни промени кои повеќе се манифестирале на рендгенографиите отколку на преглед, со различно времетраење и тежина и со најчесто поволан исход. Карактеристично било и отсуството на позитивен одговор на сулфонамиди и пеницилин, како и недостиг на лабораториски докази за инфекција со пневмококи или други познати патогени [5].

Со усовршување на лабораториските техники за докажување на патогените, се утврдило дека причинителот на пситакоза орнитоза не е вирус, дека причинителот на Q-треската е рикеција, а на примарните атипични пневмонии микоплазмата, и небактериските пневмонии почнале да ги именуваат според причинителот. Во втората половина на дваесеттиот век, неколку новооткриени агенси се дефинирани како причинители на атипичните пневмонии. Во 1942 год. Мејер ја открил орнитозата. Во 1944 Итон и сор. ја откриле *M pneumoniae*, која денес се смета за архетипски причинител на атипичните пневмонии. Во периодот од 1950 до 1967 год. откриени се голем број респираторни вируси, причинители на пневмонии (аденовируси, параинфлуенца вируси), па овие пневмонии биле наречени вирусни. Иако пситакозата, која е предизвикана од *Chlamydia psittaci*, првпат била опишана во осумдесеттите години од 19 век и добро утврдена во триесеттите години од 20 век, пневмонијата предизвикана од *Chlamydia pneumoniae* е препознаена дури во осумдесеттите години на дваесеттиот век и потврдена како нов вид во 1989 год. (Грејстон). Појавата на пневмонија меѓу делегатите на Конвенцијата на американската легија во Филадельфија во 1976 год, привлекла внимание кон легионелозата. Потоа, *Legionella spp.* биле препознаени како чести причинители на спорадични и епидемски појави на пневмонија во светот [5].

Класификација на пневмониите

Во учебникот за интерна медицина на Харисон, пневмонијата е дефинирана како инфекција на пулмоналниот паренхим предизвикана од различни организми. Се наведува дека пневмонијата не е единствена болест, туку група на специфични инфекции, секоја со различна епидемиологија, патогенеза, презентација и клинички тек [6]. Во учебникот на Харисон е опишана патолошката демаркација помеѓу лобарната пневмонија и бронхопневмонијата, но се наведува заклучок дека е најдобро класификацијата на пневмонијата да се базира врз предизвикувачкиот микроорганизам. Во овој учебник, исто така, е наведено и дека специфичната микробиолошка етиологија останува непозната кај повеќе од една третина од пациентите. Кај децата, често, крвната култура е единствениот тест што се прави за да обезбеди специфична дијагноза, која може да биде позитивна само кај 5-10 % од пациентите и до 20 % кај најтешко болните пациенти [6].

Табела 1. Методи за класификација на пневмониите, нивни предности и недостатоци

Класификација	Опис на класификација	Предности	Недостатоци
СЗО	Пневмонија: Возраст 2-59 месеци со кашлица или тешко дишење и брзо дишење и/или градите. Тешка пневмонија: пневмонија со знак за опасност	Клинички: едноставна програмска имплементација за водење на третман Истражувања: лесно е да се запишат пациентите и наодите директно се генерализираат	Клинички: нема дефиниција за етиологија, високо ниво на емпириска антибиотска терапија Истражување: многу хетерогени, вклучувајќи вирусни, бактериски и други етиологии
NIH (National Heart, Lung and Blood Institute - USA)	Стеknати во заедница / болница, поврзани со здравствена заштита, аспирација и атипични (предизвикани од <i>Legionella</i> , <i>Mycoplasma</i> , <i>Chlamydia</i>)	Клинички: едноставна, емпириска терапија Истражувања: лесно е да се запишат пациентите, наодите се директно генерализирани	Клинички: мала дефиниција на етиологијата или патологијата, емпириска антибиотска терапија Истражување: хетерогени фенотипови
Патолошка	Акутно воспаление на белодробниот паренхим, воспалителен алвеоларен инфилтрат	Клинички: решавање на случаи на тешка дијагноза Истражување: високо хомогени	Клинички: ограничена достапност и релевантност Истражување: тешко е да се запишат пациентите
СЗО (Меѓународна статистичка класификација на болести и поврзани здравствени проблеми 10-та ревизија)	Користи клинички и лабораториски дијагнози со позната или непозната етиологија и многу потенцијални класификации	Клинички: не се користи клинички, првенствено се користи за ревизија и администрација Истражување: анализи на клиничките бази на податоци	Клинички: ограничена важност Истражување: мала дефиниција на етиологијата, хетерогена, несистематска
Харисон	Инфекција на пулмоналниот паренхим од различни патогени, а не една болест. Не се препорачуваат термини лобарна или бронхопневмонија. Клинички категории: стекната во заедница, нозокомијална, аспирација	Клинички: поттикнува етиолошка дијагноза и води емпириска терапија Истражување: етиолошката дијагноза обезбедува хомогеност, наодите се директно генерализирани	Клинички: тешко е да се потврди етиологијата, значителна емпириска антибиотска терапија Истражување: тешко е да се запишат пациентите со една етиологија, клиничките категории даваат хетерогена етиологија и фенотип
Клиничка	Карактеристики: Возраст, акутен/хроничен, бронхиолитис, нозокомијален, повторлив, коморбидитет, поврзани со ХИВ, компликации, сериозност, морталитет	Клинички: повеќе влезови за водење на третман Истражување: може да биде лесно да се запишат пациентите, флексибилни, може да дефинираат	Клинички: нема етиологија, емпириска терапија Истражување: хетерогеност, нестандардизирана, тешко е да се генерализира

		„важни“ подгрупи	
Радиографија на градниот кош	Интерстицијален/алвеоларен/лобарен/воздушен бронхограм СЗО: густа, мека консолидација на целите бели дробови или на дел од лобусот; често со воздушни бронхограми и можеби плеврален излив	Клинички: поддржува вирусна или бактериска етиологија, идентификува компликации Истражување: некоја хомогеност и усогласеност со етиологијата, стандардизирани	Клинички: достапност, време, трошоци Истражување: да се запишат некои тешкотии на пациентите, хетерогена етиологија, неспособна да открие коинфекција
Ултразвук	Субуплерна консолидација, Б-линии, абнормалности на плевралната линија, плеврален излив, воздушен бронхограм	Клинички: брзо, без зрачење, за компликации Истражување: поедноставно од радиографија, некоја хомогеност	Клинички: достапност, без етиологија Истражување: откривање во периферни белодробни, нестандардизирани, хетерогеност
Микробиолошка	Култура на крв, белодробна/плеврална аспирација, бронхоалвеоларна лаважа Бактериска – вирусна – коинфекција	Клинички: насочува специфична терапија Истражување: хомогена	Клинички: бавно, ограничено откривање Истражување: тешко е да се запишат пациентите
Серологија/антиген	Крв, урина, назофарингеален примерок (<i>Legionella</i> , <i>S. pneumoniae</i>)	Рапиден, патоген-специфичен	Опсег/чувствителност на тестови, погрешна класификација
CRP	Високиот CRP корелира со бактериска етиологија	Зголемена чувствителност за бактериска болест	Оптималниот праг е нејасен, нема етиологија

* Табелата е преземена од Mackenzie Pneumonia 2016; 8:14

Недостигот на прифатена, широко разбрана и најчесто употребувана дефиниција за пневмонијата, предизвикува фундаментален проблем каде што поврзаните, но хетерогени патолошки состојби и клинички фенотипови се класифицирани лошо. Недостигот на јасна класификација резултира со потешкотии во клиничкото одлучување. Големината на овој проблем е најочигледна во вообичаената неможност да се идентификуваат инфективните организми што предизвикуваат инфекција на белите дробови, што налага емпирииска антибиотска терапија. Доколку може да се направи конкретна дијагноза, ќе може да се обезбеди специфична терапија која би била со слична ефикасност на терапијата со широк спектар [7]. Со тоа би се избегнале милиони рецепти за антибиотици со широк спектар, а би се избегнал и придружниот ризик од создавање отпорност на антибиотици.

Според Мекензи, во секојдневната пракса пневмонијата треба да се дефинира како акутна инфекција на паренхимот на белите дробови од еден или од неколку коинфицирачки патогени, но со исклучок на добро дефинираната состојба на

бронхиолитисот, чија основна причина е скоро секогаш вирусен агенс [6]. Треба да се прифати дека дефинирањето на пневмонијата како група на специфични (ко)инфекции со различни карактеристики е идеално, но во моментот има ограничена употреба, бидејќи идентификацијата на етиолошките организми кај поединци, често, не е можна. Според истиот автор, класификациите на пневмонијата во клиничката пракса се ограничени со достапните средства, но можат да бидат поконкретни со користење на пристапите опишани во табелата 1 и на нивни комбинации (табелата не е комплетна листа на сите достапни пристапи) [6,7,8].

Атипична пневмонија и атипични патогени

Атипичната пневмонија се карактеризира со благи иницијални симптоми и оскудна продукција на спутум. Болеста започнува постепено, може да помине со блага клиничка манифестација, но и да се манифестира со тешка клиничка слика, а поретко и со летален исход. Симптомите можат да бидат специфични или неспецифични, како главоболка, миалгија, артралгија, малаксаност, губиток на апетит, брадикардија, потење. Чувството на студ се јавува ретко, а температурата е средна (38-39 °C). Кашлицата е најчест респираторен симптом кој е присутен во 80 % од случаите, сува, пролонгирана и иритирачка, и обично се јавува по 3 до 6 дена. Проследена е со диспнеа во 60-70 % од случаите, плеврална болка кај 60 %, продукција на спутум, оскудна или мукозна, кај 50 % и хемоптизис кај 15 % [3, 4]. Специфична е дискрепанцата помеѓу малиот наод на аускултација (дискретни бронхитични суви и стругави хркулки) и обемените промени што се гледаат на рендгенографиите и се многу помасивни од она што би се очекувало, имајќи ја предвид општата состојба на пациентот. Атипичните пневмонии немаат карактеристичен радиолошки наод. Кај голем дел постои лобарна или сегментна инфилтрација. Поретко се забележуваат нерамномерни перибронхијални сенки, дифузни нодуларни или како брусено мат-стакло инфилтрации. Мутилобарното ширење е карактеристично за *Legionella spp.* и *Mycoplasma pneumoniae* [1,4]. При нативна графика се гледаат билатерални ретикуларни, интерстицијални сенки, особено изразени околу хилусите на белите дробови. Повлекувањето на радиографските промени најчесто е по осум недели, но варира од две недели до неколку месеци, во зависност од возраста на пациентот, тежината на пневмонијата, присуството на претходно белодробно заболување, како и од патогениот причинител [1,3]. Нереспираторните симптоми можат да бидат уште позабележливи и да ја замаскираат

дијагнозата. Присутно е и екстрапулмонално зафаќање на различни органи и нема терапевтски ефект на антибиотската пеницилинска терапија [1, 2].

Според податоците објавени од Светската здравствена организација, секоја година се регистрираат 450 милиони случаи на пневмонија, а околу 4 милиони луѓе умираат од оваа болест, што претставува 7 % од вкупниот морталитет од 57 милиони луѓе. Инциденцата е најголема кај децата помлади од 5 години и кај возрасни постари од 75 години [9,10,11]. Атипичните пневмонии претставуваат приближно 15 % од сите САР [2]. Атипичните причинители на САР се на 2. 3. и 4. место по зачестеност од причинителите на пневмонии во општата популација. Тоа наметнува потреба од следење, евалуација, анализа и приспособување на препораките за терапија на пневмониите донесени од здруженијата [12,13].

Терминот атипични пневмонии, низ историјата на неговото постоење, не бил униформно прифатен. Со текот на времето акцентот од дефинирањето на атипичните пневмонии како синдром бил префрлен на специфичниот микроорганизам, причинител на болеста. Денес концептот на „атипичните патогени“ е прифатен, но не постои нивна усогласена листа [3, 4, 14, 15]. Терминот опфаќа различни микроорганизми вклучувајќи вируси, атипични микробактерии, *Francisella tularensis* и долга низа бактерии. Повеќето автори ги сметаат *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Legionella spp.* и *Coxiella burnetii*, како клучни патогени кои може да причинат атипична пневмонија, а не се утврдуваат со рутинските методи.

Направени се бројни студии за атипичните причинители на САР, а инциденцата значително се разликува за секој од овие причинители. Овие разлики се должат на возраста на пациентите, критериумите за хоспитализација, применетите дијагностички методи и дијагностичките критериуми за крајната дијагноза [1-19]. Според податоците од литературата, како најчести причинители на атипичните пневмонии се јавуваат *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* и *Legionella pneumophila* и предизвикуваат околу 40 % од случаите [15]. Веројатноста дека ќе се развие атипична пневмонија се зголемува со возраста [15, 17]. Според публикуваните податоци, атипичните патогени како причина за егзитус, застапени се со: *Legionella spec.* во 14,7 %; *Chlamydia pneumoniae* 9,8 %; *Chlamydia psittaci* 0 %; *Mycoplasma pneumoniae* 1,4 %; *Coxiella burnetii* 0,5 %. Во вкупниот морталитет од САР атипичните причинители се застапени со: *Legionella spec.* 4,8 %; *Chlamydia pneumoniae* 1,1 %; *Chlamydia psittaci* 0 %; *Mycoplasma pneumoniae* 0,8 %; *Coxiella burnetii* 0,1 % [20].

Mycoplasma pneumoniae најчесто е изолиран патоген кај атипичните пневмонии, но се јавува и како предизвикувач на голем број други респираторни заболувања, вклучувајќи, трахеобронхитис и инфекции на горните респираторни патишта. Само 3 до 10 % од пациентите заразени со *M. pneumoniae* развиваат пневмонија. Посебен ризик за развој на атипична пневмонија со блага клиничка манифестација (walking pneumonia) постои кај децата. Пневмониите предизвикани од *M. pneumoniae* се јавуваат во текот на целата година, но може да се јават и како периодични епидемии во мали заедници. Пренесувањето е со контакт од човек на човек, а инфекцијата се шири полека, најчесто во затворени заедници. Почетокот е подмолен, во текот на неколку дена до недела. Може да претходат симптоми на горниот респираторен тракт, како болки во грлото, кивавица, секрет од носот или затнатост. Симптомите вклучуваат главоболка, која се зголемува при кашлање, малаксаност, миалгија, пирексија. Кашлицата е сува, пароксизмална и се влошува навечер. Клиничкиот тек на пневмонијата обично е благ и самоограничувачки. Чести се пулмоналните компликации кои вклучуваат ефузија, емпием, пневмоторакс и респираторен дистрес синдром. Се јавуваат и екстрапулмонални манифестации. Промените на кожата можат да се јават во вид на erythema multiforme, erythema nodosum, макулопапуларни и везикуларни ерупции и уртикарија. Невролошките промени вклучуваат асептичен менингитис, церебрална атаксија, енцефалитис, Гилен-Бареов синдром (Guillain-Barré syndrome) и трансверзен миелитис. Создавањето ладни аглутинини може да доведе до хемолитичка анемија, особено при висок титар на *Mycoplasma pneumoniae*. Ретко можат да се јават компликации како перикардитис, миокардитис, панкреатитис и полиартритис [1].

Култивирањето на *Mycoplasma pneumoniae* има ниска осетливост и е долготрајно. Може да трае од 4 дена до неколку недели, па не се препорачува во рутинското дијагностицирање. Обично се култивира на подлоги од агар, 14 дена во анаеробни услови на температура од 37 °C [21]. Пневмониите предизвикани од *M. pneumoniae* најчесто се докажуваат со серолошки тестови. IgG антитела може да не бидат откриени во првата недела, но нивното ниско ниво може да биде детектибилно и до 4 години по инфекцијата. Затоа треба да се докаже значителниот пораст на нивниот титар, што значи ретроградно поставување на дијагнозата. Раната дијагноза со серолошки методи се темели на откривање на IgM антитела кои се појавуваат во првата недела на болеста, а можат да се откријат со помош на тест на аглутинација на микрочестички (МАГ) и со методата ELISA [3, 4]. Откривање на IgM антитела е задоволителна метода кај децата. Иако овие пневмонии се почести кај децата, можат да се јават и во понапредната возраст, најверојатно како последица на реинфекции,

бидејќи имунитетот на *Mycoplasma pneumoniae* е со ограничено траење. Затоа, кај возрасните, како осетлива метода може да се користи одредувањето на IgA антитела, кои, исто така, се формираат рано во болеста [3, 4]. Иако со методата ELISA можат да се докажат IgG, IgM и IgA антитела, се јавува проблем со специфичноста, бидејќи постои вкрстена реакција со *Mycoplasma genitalium*, вид кој е најсроден со *Mycoplasma pneumoniae* [20-29].

Chlamydia pneumoniae е облигатен интрацелуларен организам способен за перзистентна латентна инфекција. Луѓето се единствен познат резервоар. Пренесувањето е преку контакт со респираторни секрети, со инкубација од неколку недели. Предизвикува ларингити, фарингити, синусити и атипични пневмонии. До возраст од 20 години, половина од луѓето во САД имаат детектабилно ниво на антитела кон *Chlamydia pneumoniae* [1, 15]. Антитела се присутни кај 75 % од постарите луѓе. Инфекцијата со *Chlamydia pneumoniae* е почеста кај постарите пациенти со други заболувања отколку кај здравите луѓе [15]. Карактеристични симптоми се болки во грлото, главоболка и кашлица која може да трае со месеци. Спутумот е оскуден и обично е присутна слаба треска. Радиографиите на градниот кош покажуваат помалку екстензивни инфилтрати, споредено со тие кај другите причинители на атипични пневмонии [1, 15]. Повеќето случаи се умерени. Морталитетот изнесува 9 % и смртта обично е поврзана со секундарна инфекција или коморбидно заболување [1, 15].

Култивирање на *Chlamydia pneumoniae* се врши на клеточните култури (Herp-2, HL) кои по инкубацијата се бојат со специфични флуоресцентно обележени антитела, со чија помош се откриваат бактерии кои се размножуваат во клетките (инклузии). Оваа метода е изискувачка и недоволно чувствителна. Потполно задоволителна серолошка метода нема, но се препорачува микроимунофлуоресценција. Заради кинетиката на серолошкиот одговор, понекогаш е тешко да се интерпретираат резултатите добиени со серолошки анализи и да се направи разлика помеѓу акутна и мината инфекција. Имуитетот на *Chlamydia pneumoniae* е со ограничено траење, па можни се реинфекции без создавање на IgM антитела. Значителен пораст на IgG антитела се јавува подоцна и заради неможноста за добивање на примерок од серум од ковалесцентната фаза по 4-8 недели, не е можно да се докаже. Понатаму, кај околу 50 % од возрасната популација присутни се IgG антитела [4, 15, 23, 30]. Затоа е тешко да се постави дијагноза на акутна инфекција само врз основа на серолошките анализи.

Mycoplasma pneumoniae и *Chlamydia pneumoniae* може да се култивираат од респираторниот секрет во специјален вирусен медиум, но дијагнозата најчесто е серолошка [4].

Legionella spp. се интрацелуларни организми. Најпатоген вид е *Legionella pneumophila* и идентификувани се неколку серотипови. Серотипот 1 е поврзан со најголем број пневмонии кај луѓето, предизвикани од *Legionella pneumophila*. Инфекцијата се случува по изложување на легионела организмите во околината. Пренос од човек на човек не е забележан. *Legionella pneumophila* најчесто ја има во слатките води и во вештачките водени системи, во влажна почва. Примарна средина за развој на легионелата можат да бидат системите за загревање и ладење вода, поради температурата помеѓу 32 и 45 °C, стагнирање на водата и присуството на седимент и амеби. Кондензаторите, разладните кули, опремата за респираторна терапија, тушевите се поврзани со епидемии на *Legionella pneumophila*. Ризик-факторите за развој на легионела вклучуваат и состојби што го намалуваат имунитетот на организмот, како хепатална или бубрежна слабост, дијабетес, малигнитет. Болеста покажува голем спектар симптоми, од блага кашлица и слаба треска, до силна треска, изменет ментален статус и респираторна инсуфициенција. Неспецифичните симптоми можат да се јават рано во болеста и вклучуваат главоболка, болки во мускулите, анорексија и слабост [1, 4, 15]. Кај 20-40 % од случаите присутна е дијареја или други гастроинтестинални симптоми. Чест наод е леукоцитоза, а во спутумот се наоѓаат бројни инфламаторни клетки без одредена преобладајација [1, 4, 15]. Меѓу атипичните пневмонии, легионелозата има најтежок клинички тек, особено ако не се започне благовремено со терапија. Екстрапулмоналните манифестации се ретки, но може да се јават миокардитис, перикардитис, гломерулонефритис, панкреатитис и перитонитис. Смртноста изнесува 14 % [12].

Според литературата, инфекциите предизвикани од *Legionella spp.* се смета дека се почести отколку што навистина се дијагностицираат. *Legionella* може да се култивира на „casitone-yeast“ екстракт (CYE) агар од спутум или респираторен секрет [4]. Со серолошки методи дијагнозата се поставува само ретроспективно. Главното ограничување на серолошките методи е доцното настанување на сероконверзија, кај поголем број случаи по 3 до 4 недели, а понекогаш и по 10 недели. И во случај да е достапен серум од ковалесцентната фаза, тој може да е земен прерано, што резултира со лажно негативни резултати. Затоа се препорачува земање на дополнителен серум од ковалесцентната фаза. IgM антителата не се сигурен показател на акутната инфекција, бидејќи можат да перзистираат долго време. Друг недостаток на серолошката дијагностика е невозможност за откривање на сите видови и серогрупи на *Legionella spp.* Сероконверзијата за *Legionella pneumophila* серотип 1 се смета за високо предиктивна, но осетливоста и специфичноста на сероконверзијата за другите видови и

серогрупи не е целосно потврдена. *Legionella* може да се дијагностицира со директни флуоресцентни антитела (DFA) на спутумот или респираторните секрети, плевралната течност или на примерок од белодробното ткиво. Од различните серолошки методи што се достапни, индиректната имуофлуоресценција се смета за стандардна референтна метода. Тестот со индиректни флуоресцентни антитела (IFA) со титар $\geq 1:512$ е исто така дијагностички. Корисен е и *Legionella* антиген-тестот. Ако тој е позитивен, се потврдува *Legionella pneumophila* (серотип 1), но негативен тест не значи отсуство на легионелоза. Тестот е негативен кај видовите што не се *Legionella pneumophila* и не се серотип 1, чија фреквенција зависи од географската дистрибуција. Предноста на антиген-тестот е тоа што останува позитивен од неколку недели до неколку месеци, долго по клиничкото повлекување на болеста. Основен недостаток е тоа што е ограничен на еден вид, *Legionella pneumophila* (серотип 1), иако тој се смета за најчест [31-35].

Инфекцијата со *Chlamydia psittaci* е честа меѓу домашните и дивите птици. Повеќето, но не сите заболувања кај луѓето се поврзани со контакт со птици. Пренесувањето настанува со вдишување на микроорганизмот од прашина од пердуви или исушен фецес. Инфекцијата може да биде асимптоматска, но и тешка, дури и фатална. Инкубацијата е во просек до две недели. Симптомите се треска, главоболка, болки во мускулите и зглобовите, малаксаност и анорексија. Респираторните симптоми (кашлица) се јавуваат на крајот од првата и втората недела од болеста. Кај помладите пациенти болеста има поблаг тек. Кај повозрасните, чести се компликациите како респираторна инсуфициенција, тромбоза и инфаркт на белите дробови [1,4,15].

Бидејќи *Chlamydia psittaci* тешко се изолира, дијагнозата е серолошка со „tube agglutination test“ (ТА) [4, 36].

Q-треската е рикетиоза предизвикана од *Coxiella burnetii*, која е екстремно отпорна и инфективна и претставува честа зооносна инфекција во светот. Најчест животински резервоар се овците, козите и копитарите. Преносот обично е поврзан со професионално изложување и вдишување аеросоли создадени од течности што се излучуваат при породување или од плацентата од заболените животни. Инфекцијата може да помине незабележано, но може да развие и тежок клинички тек. Вообичаена манифестација е акутната респираторна инфекција, често проследена со пневмонија. Инкубацијата е 2 до 3 недели, а болеста започнува нагло, со слика слична на грип, со треска, силна главоболка, болки во мускулите и зглобовите, фотофобија, сомноленција, горнореспираторни потешкотии, сува кашлица и плеврална болка. Треската трае 7 до

14 дена. Болеста често напредува до атипична пневмонија и поретко до акутен респираторен дистрес синдром. Понекогаш може да се јави грануломатозен хепатитис. Најчести компликации се плевралните воспалителни реакции, ендокардитис, орхитис, епидидимитис и ретко енцефалитис [1,15, 37].

Дијагнозите на туларемија и Q-треска, исто така се серолошки, бидејќи овие организми се високо инфективни, опасни и тешки за изолирање. Кај пациентите што не биле изложени на контакт, акутното покачување на IgM/IgG е дијагностичко. Потврдувањето на овие зоонози се базира на четирикратно зголемување на титарот меѓу акутниот и конвалесцентниот примерок, во период од 4 недели. Перзистирањето на висока IgG вредност укажува на хронична Q-треска [4].

Од респираторните вируси, **аденовирусите** се најчести предизвикувачи на пневмонии. Овие ДНК-вируси предизвикуваат горнореспираторни инфекции и коњуктивит. Најчесто загрозени се доенчињата и децата. Инфекции се можни во текот на целата година, но фреквентноста е најголема во зимските месеци. Најчести симптоми се кашлица, зголемена температура, ринореа, болно грло, насолзени очи. Покрај пневмонија, клиничката манифестација може да биде во вид на акутни горнореспираторни инфекции проследени со треска и ринореа, фарингокоњуктивит со цервикален лимфаденит, дијареја и цистит. Трансмисијата може да се одвива преку инхалација на вируси, инфекција на очите со нечиста вода, крпи или прсти [1, 3, 4, 15]. Аденовирусите се изолираат со употреба на CsCl градиент. Изолираните вируси се лизираат со протеиназа K и се екстрахира ДНК. Се култивираат на HEK 293 и HDF клетки [38].

Параинфлуенца вирусите се РНК-вируси кои најчесто предизвикуваат горнореспираторни инфекции, како настинка и болно грло, но и круп (опструктивен ларинготрахеобронхитис) кај малите деца, како и бронхитис, бронхолитис и пневмонија, особено кај предучилишните и училишните деца. Епидемиите се карактеристични за летните месеци. Примарните вирусни пневмонии често се придружени со бактериска инфекција. Најчести симптоми се ринореа, црвени и отечени очи, кучешко кашлање, засипнат глас, температура, треска, намален апетит, повраќање и дијареја. Пренесувањето е најчесто со директен контакт преку секрет од инфицирана личност [1, 3, 4, 9, 15]. Култивирањето на овие вируси се изведува на LLC-MK2 клетки [39].

Респираторниот синцициски вирус (РСВ) припаѓа на РНК-вирусите и најчесто предизвикува инфекции кај доенчињата и децата помали од 5 години. Тоа е високо контагиозен вирус што се пренесува преку аеросоли при кивање и кашлање. РСВ-

инфекцијата не остава имунитет и можни се мултипли РСВ-инфекции. Вирусот ја оштетува респираторната слузница и создава некротизирачки бронхиолитис, бронхиоларни опструкции, фокални ателектази и жаришта на пневмонија. Болеста е особено тешка кај пациентите со хронични белодробни заболувања. Кај децата, болеста се карактеризира со висока температура, кашлица, забрзано и отежнато дишење, млитавост, намален апетит [1, 3, 4, 9, 15]. Култивирањето се изведува на WI-38 или MRC-5 хумани белодробни фибробласти, плус примарни RhMK и HEp-2 клетки [40].

Инфлуенца вирусите (тип А, Б, Ц) се РНК-вируси што предизвикуваат високо контагиозна самоограничувачка инфекција на респираторниот тракт. Епидемиите се карактеристични за зимските месеци. Симптомите се: зголемена температура, главоболка, малаксаност, мачнина, болки во мускулите, намален апетит, кашлица, ринореа, болно грло, гадење, повраќање, дијареја. Болеста може да доведе до животозагрозувачки компликации, особено кај мали деца, стари луѓе и хронично болни. Инфекцијата се пренесува по капков пат [1, 3, 4, 9, 15]. Изолирањето на вирусите на инфлуенца е важно за дијагностицирање на респираторните заболувања кај животните и луѓето, а претставува и суштински елемент во развојот и производството на вакцините. Бидејќи инфлуенцата е предизвикана од зоонотичен вирус, потребно е да се врши надзор на видовите што претставуваат резервоар за вирусот (водни птици), домаќините што го пренесуваат (потполошки, свињи) и кај погодените цицачи, вклучувајќи ги и луѓето. Два од поттиповите на хемаглутинин (НА) од вирусот на инфлуенца А (Н5 и Н7), можат да се развијат во високо патогени некои видови живина; некои НР Н5 и Н7 видови предизвикуваат смртоносна инфекција кај луѓето. Кај водните птици, изолатите со низок патоген вирус на птичји грип (LPAI) се добиваат првенствено од клоака (или измет); кај домашната живина, вирусот почесто се обновува од респираторниот тракт отколку од клоакалните примероци; кај цицачите, вирусот најчесто се изолира од респираторниот тракт, а во случаи на високо патоген птичји грип (HPAI) од крвта и од внатрешните органи на заразени птици. Постапките за изолирање на вирус се изведуваат со инокулација на клинички примероци во ембрионирани јајца (првенствено пилешки јајца) или врз различни примарни или континуирани системи за ткивна култура. Успешната изолација на вирусот на инфлуенца зависи од квалитетот на примерокот и од соодветноста на методата на култивирање со типот на примерокот [41].

Дијагностицирање на атипичните пневмонии

Поставувањето дијагноза на атипичните пневмонии се базира врз анализа на бројни параметри, при што е потребна клиничката евалуација, рендгенографиите на белите дробови, лабораториски и микробиолошки анализи [1, 3, 4, 15].

Култивирањето на атипичните патогени е тешко, бара големо познавање и современи лаборатории, а има ограничено клиничко влијание [1, 2, 3, 4]. Идентификацијата на овие организми може да се направи серолошки, со директно антигенско откривање и со молекуларни методи [19-25]. Клиничката симптоматска дијагноза е основна за да се спроведе одредено специфично тестирање. Притоа, важни се и анамнестичките податоци како информации за контакт со птици или патување во ризични региони. Долгата сува кашлица комбинирана со нелобарни радиографски промени и одреден модел на зафаќање на органите, може да укажат на одреден патоген. При серолошките анализи кај пациентите со атипична пневмонија, дијагностички е покачен титарот на IgM. При серолошките анализи кај пациентите со минато изложување, титарот на IgG е покачен. Четирикратното зголемување на титарот на IgG укажува на инфекција и е дијагностичко за акутна инфекција.

Методата што ќе се употреби за дијагностицирање на причинителот на атипичната пневмонија зависи од возраста на пациентот, времето на еволуција на болеста, стапката на екскреција на микроорганизмот, квалитетот на лабораториските анализи и искуството на персоналот. Кога се одредува методата што ќе се користи за дијагностицирање на респираторните инфекции, мора да се внимава на инциденцата на заболувањето во географската област и преваленцијата на различни микроорганизми зависно од сезоната. Методата што ќе се употреби зависи и од стадиумот на болеста. Во напреднатите фази, кога екскрецијата на микроорганизми е мала, се препорачуваат серолошки методи. Кај инфекциите со ниска инциденца, примарната инфекција може да се јави во текот на целиот живот. Битно е да се знае возраста на зафатената популација. Општо земено, кај децата постои екскреција на поголемо количество микроорганизми и тие создаваат IgM антители против патогените одговорни за инфекцијата. Кај возрасните, екскрецијата е пооскудна, а создавањето IgM може да изостане поради бројните претходни контакти со микроорганизмот.

Серолошки методи

Серолошките методи овозможуваат директно откривање на антигени (микроорганизмите) или докажување непознати антигени со познати антители во

клиничкиот примерок. Друга можност е утврдување на микробни антиген специфични антитела [1, 3, 4, 43].

Сите имунолошки методи ја користат високо специфичната реакција на врзување на антителата и антигените. За да се утврди дали доаѓа до ова врзување, мора да постои систем кој овозможува визуелизирање, односно мерење на оваа интеракција, што се постигнува со врзување на „маркер“ за антителото. Флуоресцин изотиоцијанатот осветлен со ултравиолетови зраци има особина да флуоресцира, што е искористено за визуелизирање на реакциите на антиген антителото. Имунофлуоресценцијата се изведува како директна (микробиолошка дијагноза, откривање на антигени) или индиректна (серолошка дијагноза, откривање на специфични антитела). Кај индиректната имунофлуоресценција антителата од серумот на пациентот се докажуваат така што капка од серумот се нанесува на предметно стакленце на кое се наоѓа фиксиран и инактивиран антиген. Потоа се додава коњугат составен од антихумани имуноглобулини врзани за флуоресцин изотиоцијанат. Комплексот антиген-антитело-антиантитело ќе флуоресцира со зелена боја. Овие реакции се многу осетливи, даваат брзи и сигурни резултати, за што е потребна релативно мала количина антигени и антитела.

Во Р Македонија, за дијагностицирање на атипичните патогени најчесто се користат серолошките анализи (PneumoSlide[®] Vircell тест) [44]. PneumoSlide[®] Vircell е индиректен имунофлуоресцентен тест кој овозможува откривање на IgG и IgM антитела од серум на пациент за 9 поединечни атипични патогени одеднаш: *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Legionella pneumophila*, *Chlamydia pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, *Respiratory Syncytial Virus (RSV)*, *Adenovirus*, *Influenza A*, *Influenza B*, *Parainfluenza virus (серотипови 1, 2, 3)*. Овие причинители не растат на вештачки хранителни подлоги, односно, не можат да се култивираат од материјал од пациентите, па за нивно докажување се користат серолошки методи со кои се утврдуваат специфични антитела во серумот на пациентите. Присуството на IgM антитела укажува на акутна инфекција, а присуството на IgG антитела зборува за контакт на домаќинот со конкретниот микроорганизам во изминатите неколку месеци, но може да значи и актуелна инфекција со предизвикувачот, што може да се докаже со четирикратен пораст на антителата [3, 4, 14, 15]. Тестот е лесен за изведување. Гледањето на флуоресцентен микроскоп е едноставно бидејќи има помалку параметри што полесно се препознаваат. Тестот содржи бунарче со Нер-2 клетки што овозможува идентификација на серумите со антицелуларни или антинуклеарни антитела кои би

можеле да предизвикаат неспецифични реакции и да направат тестот да не биде валиден.

Молекуларни методи

Методите на молекуларната биологија се значајна поддршка на традиционалните техники. Тие се брзи, точни и сигурни и не зависат од променливите услови на раст на микроорганизмите [1, 19, 45, 46].

Полимераза верижна реакција (ПВР) (Polymerase chain reaction PCR) се базира на селективно умножување на специфични сегменти од ДНК. Со оваа метода мали количини на ДНК присутна во некој примерок, се амплифицираат *in vitro* до количина која е потребна за понатамошна анализа со електрофореза, хибридизација и сл. Постапката е развиена во 1983 год. од страна на Кери Мулис (добитник на Нобелова награда за хемија за неговата работа за **ПВР**). ПВР сега претставува честа и неопходна техника која се користи во лабораториите за медицински и биолошки истражувања за различни цели. Се состои од повторувачки циклуси од кои секој се состои од 3 реакции, а секоја од нив се одвива на одредена температура, со одредено времетраење кое претходно се регулира на апаратот во кој се одвива реакцијата: 1. денатурација на ДНК се одвива на висока температура (пример 95-100 °C), со што се одвојуваат двата ланци на ДНК; 2. приспособување на олигонуклеотидните прајмери на одредена регија на генот или геномот на двата поединечни фрагмента на ДНК, на пониска температура (пример 37-65 °C) и 3. елонгација или синтеза на нов ланец на ДНК со помош на *Taq*DNK полимераза (обично на 72 °C). Реакцијата се изведува во микротуби/капилари, обично во 50 µl или 20 µl раствор кој содржи ДНК, нуклеотиди и термостабилна *Taq*DNK полимераза. Времетраењето на секој чекор изнесува 45 секунди до 1,5 минути. Визуелизирањето на продуктот на ПВР се прави во агарозен гел со одредена концентрација и со додавање боја (етидиум бромид), пуфер и маркер, во електрично поле. По електрофорезата, гелот се става на транслуминатор и, според флуоресценцијата, се гледа до каде отпатувале продуктите од ПВР. Големината на продуктите се одредува индиректно, споредувајќи ја со употребениот маркер [47].

Покрај конвенционалната ПВР, со која се открива присуство на патогени, но не разликуваат живи од мртви клетки, денес постојат и нејзини бројни модификации. Мултиплекс ПВР се базира на умножување на поголем број гени или генски фрагменти со истовремено користење на повеќе сетови на прајмери ПВР во реално време (Real Time) подразбира откривање на производите на ПВР во текот на експоненцијалната

фаза, кога умножувањето на ДНК е најбрзо, а реакцијата во оваа фаза е високо специфична и точна. Принципот на методата се заснова врз откривање и квантификација на флуоресцентната репортерска боја чија емисија е директно пропорционална на количината производи на ПВР. Предности на ПВР-методата во реално време (Real Time) се: аналитичка и дијагностичка точност, висока осетливост, брзина на изведување на анализата, универзалност на подготовката на примероците за анализа [48].

2. МОТИВ

Во текот на последниве декади, атипичните патогени прераснаа во главни причинители на заболувања на долните респираторни патишта. Во Р Македонија, досега не се правени големи студии од кои би се добиле податоци за инциденцата и преваленцијата на атипичните патогени кај нашата популација.

Во секојдневната пракса, за одредување на соодветна терапија на атипичните пневмонии, неопходно е одредување на патогенот, особено во случаите кај кои постои несовпаѓање помеѓу клиничката слика и серолошкиот наод. Причинителите на атипичните пневмонии не растат на вештачки хранителни подлоги, односно, не можат да се култивираат од материјал од пациентите, па за нивно докажување се користат серолошки и молекуларни методи. Затоа, утврдувањето на ефикасноста на методите што се користат за откривање на атипичните патогени е од особено значење.

Сето ова, како и долгогодишното искуство во работата со пациенти со атипични пневмонии, претставува мој мотив за ангажирање во оваа проблематика.

3. ХИПОТЕЗА

Претпоставка на ова истражување беше дека серолошките анализи се особено ефикасни за утврдување на атипичните патогени кај пациентите со клиничка дијагноза на атипична пневмонија.

Молекуларните методи се употребуваат како „златен стандард“ при откривање на патогените кај пациентите со атипична пневмонија, особено кај оние кај кои при контролата постои несовпаѓање помеѓу клиничката слика и резултатите од серолошките анализи.

4. ЦЕЛИ

Општа цел

1. Да се утврди честотата на поединечните атипични патогени како причинители на атипичните пневмонии кај возрасната популација и да се направи споредба на резултатите од серолошките и од молекуларните микробиолошки методи при етиолошко дијагностицирање на атипичните пневмонии.

Специфични цели

1. Да се прикажат демографските карактеристики на атипичните пневмонии кај возрасната популација (дистрибуција на пациентите според полот, возраста, националноста, социоекономскиот статус, местото на живеење).
2. Да се утврдат најчестите причинители за атипични пневмонии кај возрасната популација и нивната сезонска дистрибуција.
3. Да се утврдат клиничките карактеристики на атипичните пневмонии.
4. Да се утврди точноста на серолошката метода (PneumoSlide[®] Vircell тест) во дијагностицирање на атипичните пневмонии во однос на молекуларната метода ПВР (Multiplex-PCR System) како референтен тест, преку пресметување на сензитивноста, специфичноста, предиктивните вредности и глобалната точност на тестот.
5. Да се направи правилна терапевтска проценка врз основа на резултатите од молекуларната метода ПВР, при контрола на пациентите без клиничка слика на атипична пневмонија, а со позитивен серолошки тест (PneumoSlide[®] Vircell тест).

5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Испитувањето претставува ретроспективно-проспективна студија која беше спроведена на Одделот за инфективни болести и фебрилни состојби при ЈЗУ ГОБ 8 Септември. Серолошката анализа со примена на PneumoSlide® Vircell тест беше реализирана во ЈЗУ ГОБ 8 Септември, а молекуларната анализа со употреба на PCR - Seeplex PneumoBacter ACE Detection kit во Институтот за јавно здравје, Скопје.

Ретроспективен дел на студијата

Ретроспективниот дел на студијата го опфати периодот од 6. 2013 до 6. 2015 год.

Анализирани беа податоци од 629 пациенти што биле лекувани од атипични пневмонии на Одделот за инфективни болести и фебрилни состојби при ЈЗУ ГОБ 8 Септември. Податоците беа обезбедени од специјалистичките извештаи и од евидентните листи направени при изработка на серолошките анализи. Од овие податоци беше направен увид за застапеноста на атипичните пневмони, најчестите причинители, сезонската дистрибуција и дистрибуцијата на пациентите според полот, возраста, националноста, социоекономскиот статус, местото на живеење и професијата.

Проспективен дел на студијата

Проспективниот дел од студија претставува пресечна студија (cross sectional study) и се одвиваше во периодот од 6. 2015 до 6. 2017 година.

Анализирани беа 103 пациенти со атипична пневмонија на Одделот за инфективни болести и фебрилни состојби при ЈЗУ ГОБ 8 Септември. Кај сите пациенти беа забележани податоци за полот, возраста, националноста, социоекономскиот статус, местото на живеење и професијата, според приложениот прашалник (прилог 1). Секој пациент беше известен писмено и потпиша согласност за учество во истражувањето (прилог 2).

Инклузивни критериуми:

Во студијата беа вклучени пациенти со клиничка работна дијагноза на атипична пневмонија, постари од 18 години кои се согласија да учествуваат во студијата.

Клиничката дијагноза на атипичната пневмонија беше поставена врз основа на присуството на благи иницијални симптоми на болеста, пролонгирана кашлица со

оскудна продукција на спутум, отсуство на реакција на β лактамска терапија и дискрепанца помеѓу клиничката слика и радиолошкиот наод.

Ексклузивни критериуми:

Пациентите помлади од 18 години, со температура над 40 °C, продуктивна кашлица, брз развој на болеста, тераписки брз ефект, не беа вклучени во студијата.

Пациентите од кои не можеше да се земе примерок од спутум, исто така беа исклучени од студијата.

Направени беа следниве анализи:

- При поставување на етиолошката дијагноза беа земени примероци од крв од сите 103 пациенти. За да се идентификува патогенот, беше изработен PneumoSlide® Vircell тест, како и стандардните лабораториски анализи (седиментација, крвна слика со периферна размаска, CRP, AST, ALT, топален, директен и индиректен билирубин).
- При контролниот преглед по три месеци, кај сите 103 пациентите беа земени примероци од крв, изработен беше PneumoSlide® Vircell тест. Од пациентите кај кои резултатите од серолошката анализа беа позитивни, а немаа клиничка слика на атипична пневмонија, беше земен спутум и за да се идентификува патогенот, од спутумот беа изработени молекуларни анализи: Seeplex® PneumoBacter ACE Detection Multiplex-PCR System и RV 12 ACE detection.

1. Серолошка анализа

Серолошката анализа беше направена со употреба на PneumoSlide® Vircell тест за да се утврди застапеноста на следниве патогени причинители: *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Chlamydia pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, *Respiratory Syncytial Virus*, *Adenovirus*, *Influenza A*, *Influenza B* и *Parainfluenza virus* (сепотипови 1, 2, 3). Овој тест е специјално дизајниран и со примена на индиректна имунофлуоресцентна техника овозможува утврдување на антитела кон посочените микроорганизми.

✓ Китот за изработка на тестот *содржи:*

Десет стакленца Vircell PneumoSlide со по 10 бунарчиња со нанесени антигени;

- Vircell PBS: 1 шишенце со PBS во прав со pH 7.2;

- Vircell PneumoSlide IgM позитивна контрола: 500 мл од позитивен контролен серум (со натриум азид);
- Vircell PneumoSlide IgM негативна контрола: 500 мл од негативен контролен серум (со натриум азид);
- Vircell anti-human IgG FITC конјугат: 2 шишенца со 1,1 мл антихуман IgG флуоресцин коњугат со фосфатен пуфер со Еван сино, натриум азид и протеински стабилизатор;
- Vircell медиум за покривање: 3 мл минерално масло за покривање, пуфериран со глицерол;
- Vircell anti-human IgG глобулин (сорбент): 1 шишенце со 1,5 мл сорбент (козји антихуман IgG).

✓ *Потребен материјал* за изведување на тестот: микропипети, термостат, дестилирана вода, покровни стакленца, водена комора.

✓ *Постапка*

Сите реагенси треба да бидат на собна температура.

- Содржината од шишенцето Vircell PBS се раствора во 1 л дестилирана вода и се протресува.
- Разредување на серумите: секој серум се разредува 1/128 и 1/256; се става по 10 μ l серум во епрувета со 1270 μ l и 2550 μ l PBS 2. Контролните серуми 3 и 4 не се разредуваат.
- Се става по 20 μ l од 1/128 разредување во бунарчињата 1, 2, 3, 4 и по 20 μ l серум од 1/256 разредување во бунарчињата 5, 6, 7, 8, 9 и 10 (ако се работи контрола се става по 20 μ l неразредена позитивна и негативна контрола на посебни стакленца).
- Стакленцата се инкубираат во водена комора 30 мин. на температура од 37 °C.
- Стакленцето се испира со тенок млаз PBS (млазот не е насочен кон бунарчињата) и се остава да стои во PBS уште 10 мин.
- Кратко се потопува во дестилирана вода.
- Се суши на воздух.
- Се додаваат 20 μ l anti-human IgG FITC коњугат 5 во секое бунарче.
- Стакленцата се инкубираат во водена комора 30 мин. на 37 °C.
- Стакленцето се испира со тенок млаз PBS (млазот не е насочен кон бунарчињата) и се остава да стои во PBS уште 10 мин.
- Кратко се потопува во дестилирана вода.

- На исушеното стакленце се додава мала капка од минерално масло и се покрива со покровно стакленце.
- Се гледа на флуоресцентен микроскоп на зголемување 400 пати или се чува на 2-8 °C најмногу до 24 часа.

Материјалот треба да се зема со венوپунктура од квалификуван персонал во асептични услови. Примероците од серумот треба да се чуваат на температура од 2 до 8 °C или да се смрзнат (-20 °C), доколку тестот не може да се изведе во рок од 7 дена. Примероците не смеат повторувано да се замрзнуваат. Не треба да се користи хиперлипиден или контаминиран серум. Примероците што содржат партикули претходно треба да се центрифугираат.

При толкувањето на резултатите присуството на IgM укажува на акутна инфекција, а присуството на IgG антитела на мината инфекција со испитуваниот патоген.

Лажно позитивен IgM пневмослајд:

- Присуство на антицелуларни или антинуклеарни антитела. Овие антитела се присутни кај некои автоимуни заболувања. Во тие случаи бунарчето 10 може да покаже позитивно флуоресцентно бојење и бунарчињата што содржат клетки (2, 5, 6, 7, 8, 9, 10) ќе покажат флуоресценција. Во овие случаи треба да се применат други техники. За тестот да се смета за невалиден, бунарчето 10 треба да покажува интензивно флуоресцентно бојење.
- Непридржување до постапката за употреба на тестот, особено при испирање и инкубација.

Лажно негативен IgM пневмослајд:

- Ако примерокот е земен многу рано на почетокот од болеста, кога IgM сè уште не се појавиле.
- При реинфекција со вирус кој предизвикува респираторни заболувања кај возрасната популација, IgM не се јавуваат секогаш.
- Непридржување до постапката за изведување на тестот.

2. Молекуларна анализа

Изолација на ДНК и РНК

Како материјал за работа беше користена бактериска ДНК/РНК изолирана од спутум од пациентите со продуктивна кашлица. За таа цел беше изведена претходна обработка на примерокот со додавање на NALC-NaOH+ и додавање на PBS (фосфатен пуфер). Изолацијата на ДНК/РНК беше изведувана по пропишаниот протокол за работа на Pure Link Genome DNK (Life Technologies) isolation – комерцијалниот кит. Изолираната ДНК беше растворена во 55 µl пуфер за елуција и понатаму користена за анализа на *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis* и *Chlamydophila pneumoniae*.

Истиот материјал беше користен за откривање на вирусните причинители: *Influenzae A/B virus*, *Human Respiratory syncytialvirus A/B*, *Human Parainfluenza virus 1/2/3*, *Human adenovirus*, *Human metapneumavirus*, *human Coronavirus 229 E/NL63/OC43/HKU1* и *Human rhinovirus A/B*. Во оваа студија беа користени само податоците за *Influenzae A/B virus*, *Human Respiratory syncytialvirus A/B*, *Human Parainfluenza virus 1/2/3*, *Human adenovirus*.

Молекуларно откривање на бактериските причинители

Молекуларното откривање на присуство на гореспоменатите бактериски видови беше изведувано со примена на квалитативна мултиплекс ПВР-метода (PCR Polymerase chain reaction) - Seeplex PneumoBacter ACE Detection kit (Seegene, Korea). Методата овозможува во реакција, во една тубичка симултано да се открие присуството на една или повеќе бактерии што се содржани во китот. По изведената реакција на умножување на целната секвенца, откривањето се изведуваше со пуштање на продуктот на реакцијата на агарозна гел електрофореза. Визуализација на добиените фрагменти се правеше со УВ-осветлување, а величината на фрагментите беше откриена со примена на стандарден ладер со познати големини на фрагментите. Присуството на фрагменти со големина 583, 472, 349, 259, 201, 154 укажуваат на присуство на *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis* и *Chlamydophila pneumoniae* последователно.

Молекуларно откривање на вирусните причинители

Откривањето на вирусните причинители се изведуваше со примена на RV 12 ACE detection A и Б-китот. Имено се работи за две независни мултиплекс реакции во кои се вклучени интерни контроли за потврда на квалитетот на изолираниот материјал и од кои во сетот А се откриваат: *Human metapneumovirus*, *Human adenovirus*, *human Coronavirus 229 E/NL63* и *Human Parinfluenza virus 1/2/3* (749, 534, 375, 264, 188 и 139 бп), а во сетот Б се откриваат: *Influenza B*, *Human corona virus OC43/HKU1*, *Human Rhinovirus A/B*, *Human Respiratory syncytial virus A*, *influenza A virus* и *Human Respiratory syncytial B* (754, 578, 394, 273, 206 и 143 бп).

Статистичка анализа

Статистичката анализа на податоците беше направена во статистичките програми Statistica for Windows 7,0 и SPSS 17,0.

Категориските варијабли се прикажани со апсолутни и релативни броеви. Квантитативните варијабли со симетрична дистрибуција ќе бидат прикажани со просек, минимални и максимални вредности.

За споредување на анализираните варијабли беа користени непараметарски (Pearson Chi square test, Yates Pearson Chi square test) и параметарски тестови (Student t-test for independent samples).

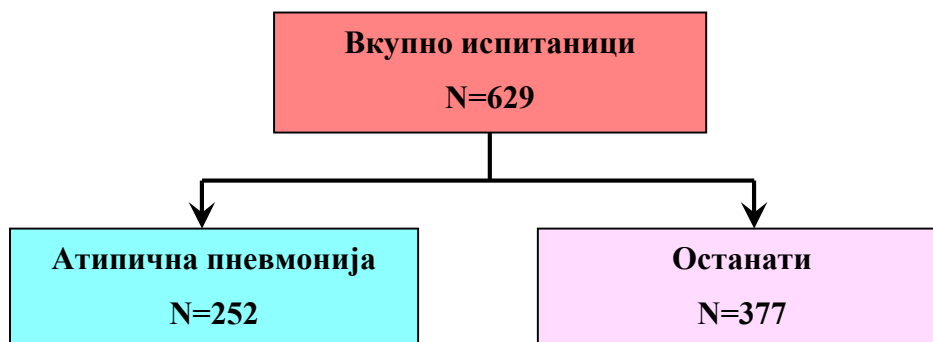
Статистичка сигнификантност беше дефинирана на ниво на $p < 0,05$.

6. РЕЗУЛТАТИ

Во овој дел од истражувањето се прикажани резултатите добиени со обработка и анализа на 732 испитаници, пациенти од Одделот за инфективни болести и фебрилни состојби при ЈЗУ ГОБ 8 Септември, со работна дијагноза пневмонија, од кои 629 се анализирани ретроспективно, за период од три години, а 103 собрани проспективно.

I. РЕЗУЛТАТИ ОД РЕТРОСПЕКТИВНИОТ ДЕЛ НА СТУДИЈАТА

Во ретроспективниот дел од истражувањето беа вклучени 629 пациенти со работна дијагноза пневмонија, од кои како атипични пневмонии беа потврдени 40,1 % (252 пациенти) (слика 1).

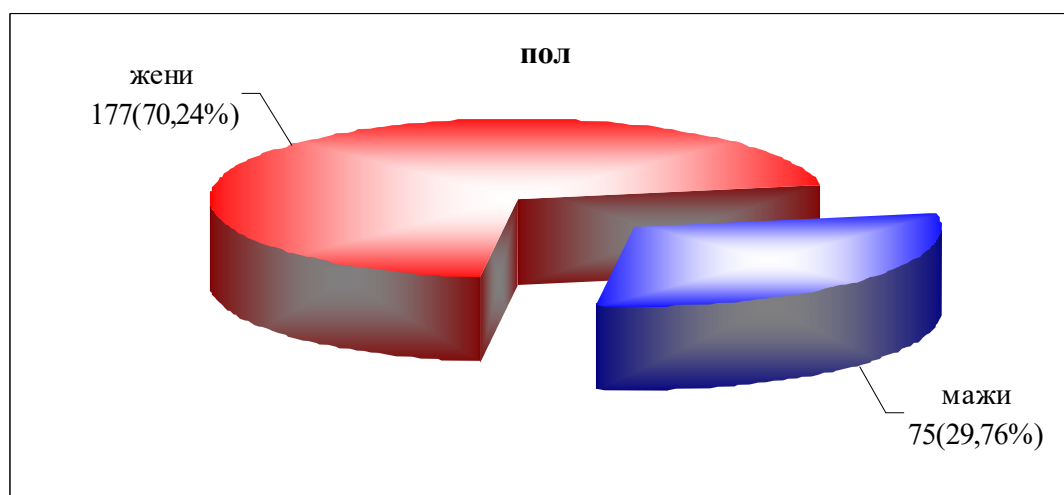


Слика 1: Опис на примерокот од ретроспективната анализа

Половата структура на испитаниците ја сочинуваа мнозинство на пациенти од женски пол – 70,2 % (177). Машките пациенти беа застапени со 29,8 % (75) испитаници (табела 1, слика 2).

Табела 1. Дистрибуција на испитаниците според полот

пол	n (%)
мажи	75 (29,76)
жени	177 (70,24)
Вкупно	252



Слика 2. Дистрибуција на испитаниците според полот

Возраста на пациентите се движеше во интервал од 18 до 92 години, просечната возраст на пациентите беше $47,13 \pm 16,2$ години.

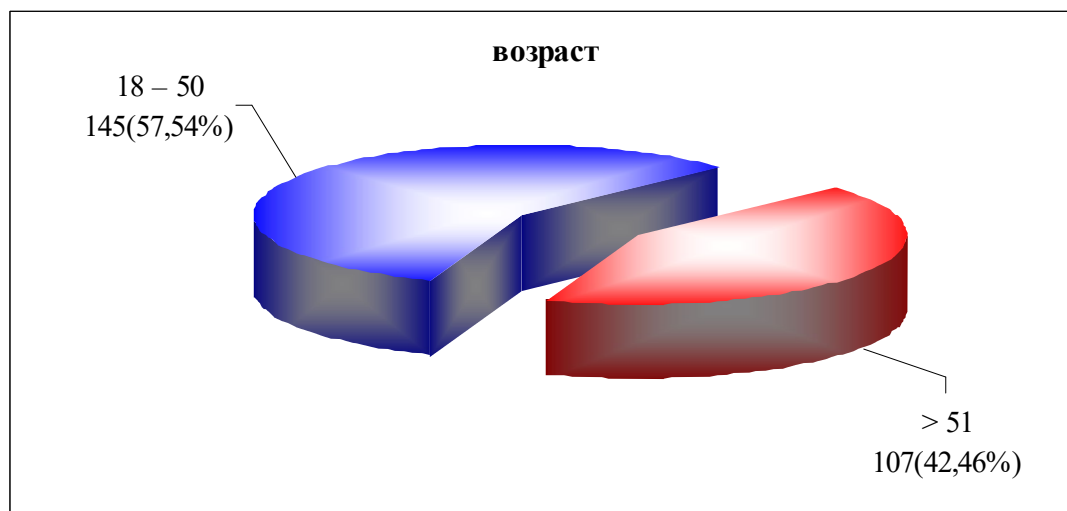
Анализата на возраста на пациентите во 6 возрасни групи покажа дека најпогодена беше групата на возраст од 41 до 50 години, со 21,4 % (54) заболени, следена од возрасната група од 51 до 60 години, со 18,65 % (47) пациенти. Најмала фреквенција на атипични пневмонии беше регистрирана кај пациентите постари од 71 година – 6,75 % (17) (табела 2,3,слика 3).

Табела 2. Дистрибуција на испитаниците според возрасните групи

возраст	n (%)
18 – 30	47 (18,65)
31 – 40	44 (17,46)
41 – 50	54 (21,43)
51 – 60	47 (18,65)
61 – 70	43 (17,06)
> 71	17 (6,75)
mean \pm SD (47,13 \pm 16,2)	min – max (18 – 92)

Табела 3. Дистрибуција на испитаниците помлади и постари од 50 години

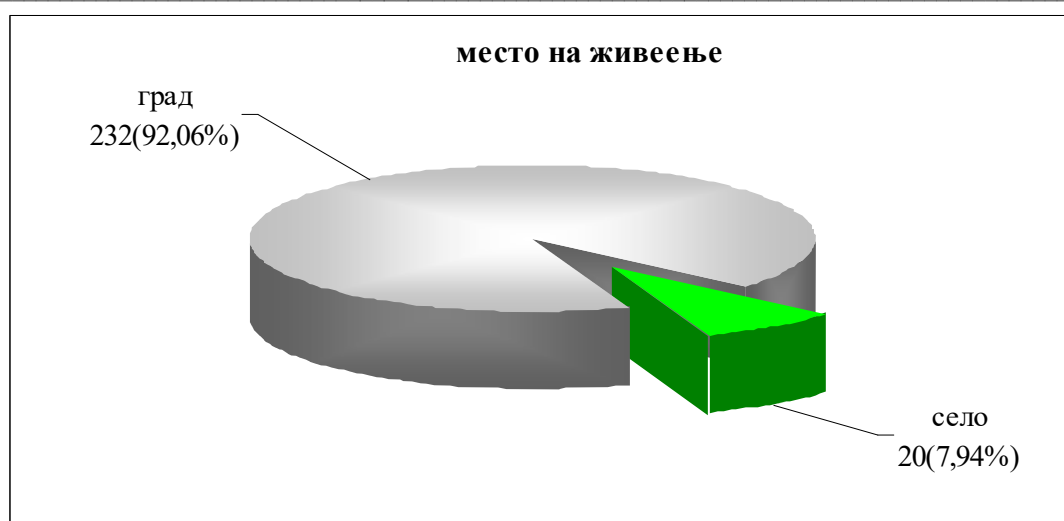
возраст	n (%)
18 – 50	145 (57,54)
> 51	107 (42,46)

**Слика 3. Дистрибуција на испитаниците помлади и постари од 50 години**

Во структурата според местото на живеење, доминираа пациентите од урбана средина, односно 92,1 % (232) пациенти беа со место на живеење во град, наспроти 7,9 % (20) кои беа од село (табела 4, слика 4).

Табела 4. Дистрибуција на испитаниците според местото на живеење

Место на живеење	n (%)
град	232 (92,06)
село	20 (7,94)
Вкупно	252

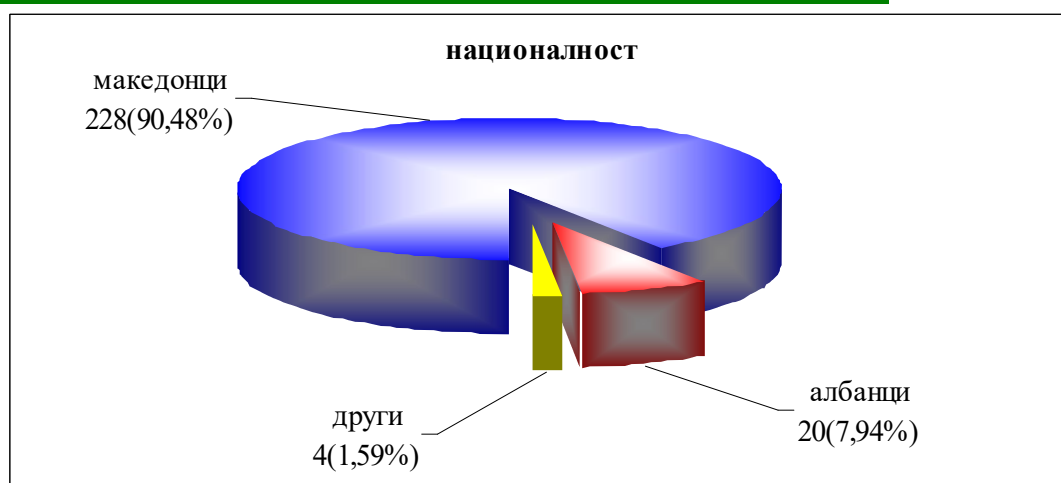


Слика 4. Дистрибуција на испитаниците според местото на живеење

Етничката структура на пациентите беше презентирана со 90,5 % (228) Македонци, 7,9 % (20) пациенти од албанска националност, 1,6 % (4) пациенти беа со друга етничка припадност (табела 5, слика 5).

Табела 5. Дистрибуција на испитаниците според националноста

Националност	n (%)
Македонци	228 (90,48)
Албанци	20 (7,94)
други	4 (1,59)
Вкупно	252

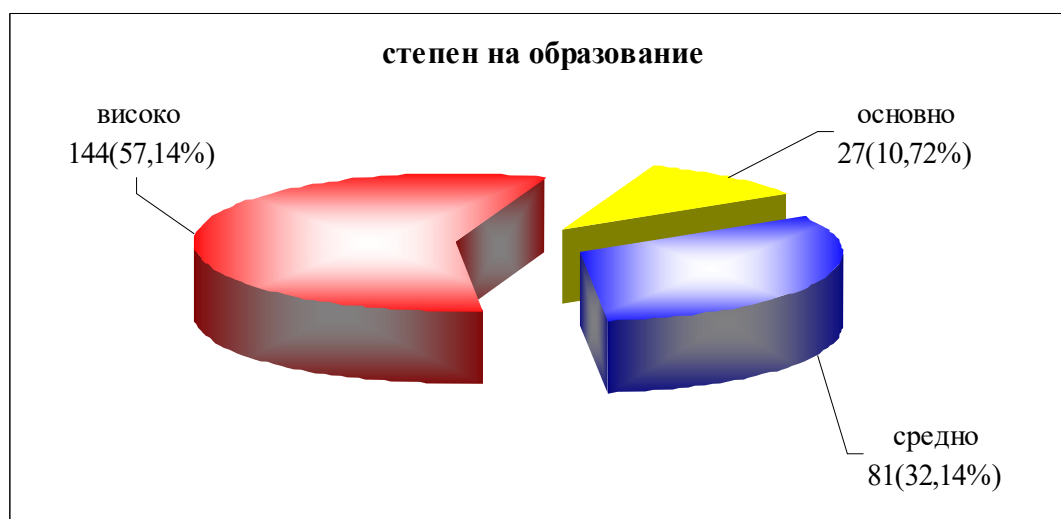


Слика 5. Дистрибуција на испитаниците според националноста

Повеќе од половина испитаници, односно 57,1 % (144) имаа високо образование. Со средно образование беа 32,1 % (81) пациенти, останатите 10,7 % (27) имаа основно образование (табела 6, слика 6).

Табела 6. Дистрибуција на испитаниците според степенот на образование

Степен на образование	n (%)
основно	27 (10,72)
средно	81 (32,14)
високо	144 (57,14)
Вкупно	252



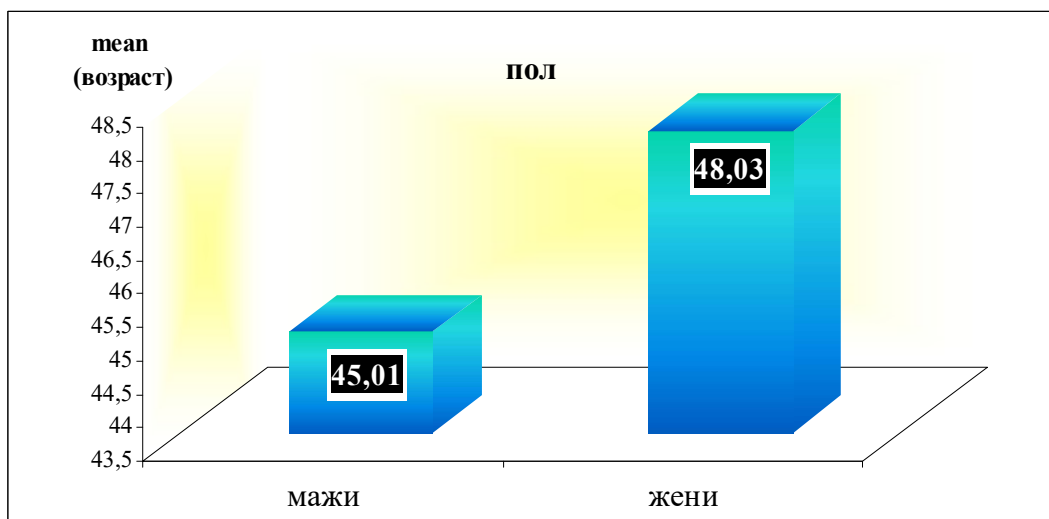
Слика 6. Дистрибуција на испитаниците според степенот на образование

Жените и мажите со атипична пневмонија значително се разликуваа во однос на просечната возраст ($p=0,032$). Жените беа на просечна возраст од $48,03 \pm 15,7$, и беа значајно постари од мажите, со просечна возраст од $45,01 \pm 17,1$ (табела 7, слика 7).

Табела 7. Возраст на испитаниците според полот

Пол	Descriptive Statistics (возраст)			p-level
	mean \pm SD	std err	min – max	
мажи	45,01 \pm 17,1	1,247	18 – 82	p=0,032
жени	48,03 \pm 15,7	0,749	18 – 92	

p (Student t-test)



Слика 7. Просечна возраст на испитаниците според полот

Анализата на испитаниците според возрастните групи, покажа дека во групата машки пациенти најчесто беше застапена најмладата возрастна група, од 18 до 30 години, со 24 % (24) испитаници, додека во групата женски пациенти, најчесто застапена беше возрастната група од 41 до 50 години, со 25,4 % (45) испитаници. И во двете групи најмалку беа пациентите постари од 71 година – 5,3 % (4) машки и 7,3 % (13) женски пациенти.

Тестираните разлики во возрастната дистрибуција помеѓу машките и женските пациенти не беа статистички значајни (p=0,11) (табела 8.).

Табела 8. Возрасни групи на испитаниците според полот

Возраст	Пол		p-level
	мажи	жени	
18 – 30	18 (24)	29 (16,38)	p=0,11
31 – 40	17 (22,67)	27 (15,25)	
41 – 50	9 (12)	45 (25,43)	
51 – 60	12 (16)	35 (19,77)	
61 – 70	15 (20)	28 (15,83)	
> 71	4 (5,33)	13 (7,34)	
Вкупно	75	177	

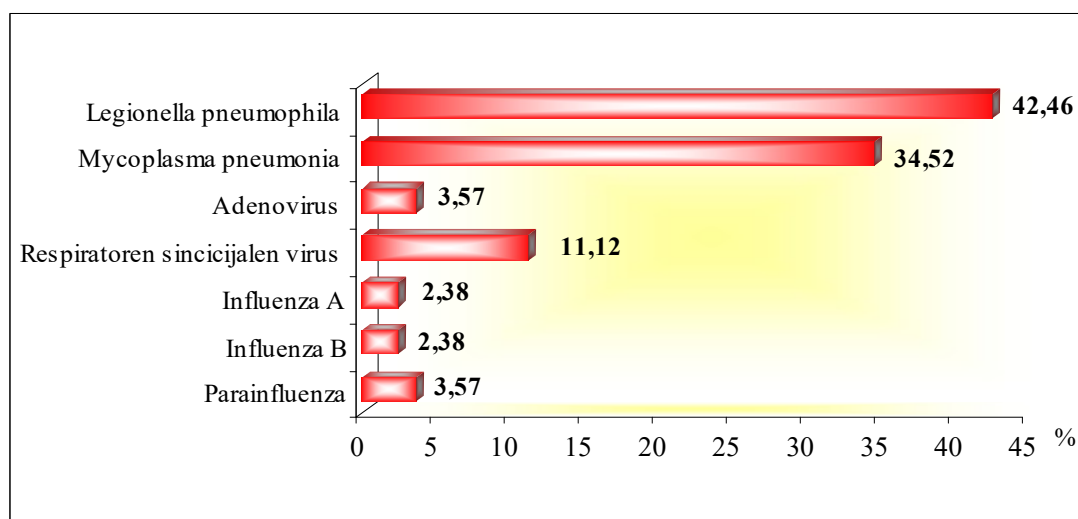
Chi-square = 8,98, df=5, p=,1097

Во испитуваниот контингент на пациенти со атипична пневмонија, како нејзини причинители беа потврдени *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Adenovirus*, РСВ, *Influenza A u B* и *Parainfluenza*.

Како најчест причинител на атипична пневмонија беше докажан патогенот *Legionella pneumophila*, со преваленција од 42,5 %, односно потврден кај 107 пациенти. Втор по зачестеност беше атипичниот патоген *Mycoplasma pneumoniae*, потврден кај 34,5 % (87 пациенти). Кај 11,1 % (28 пациенти), причинител на атипичната пневмонија беше патогенот РСВ. Останатите 4 причинители имаа ниска преваленција, аденовирусот од 3,6 %, односно кај 9 пациенти, параинфлуенцата со идентична застапеност, инфлуенцата А и В имаа преваленција од 2,4 %, односно беа потврдени кај 6 пациенти (табела 9, слика 8).

Табела 9. Застапеност на причинителите на атипични пневмонии

Причинител	n (%)
<i>Legionella pneumophila</i>	107 (42,46)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	87 (34,52)
Adenovirus	9 (3,57)
PCV	28 (11,12)
Influenza A	6 (2,38)
Influenza B	6 (2,38)
Parainfluenza (серотипови 1,2,3)	9 (3,57)
Вкупно	252



Слика 8. Застапеност на причинителите на атипични пневмонии

Во табелата 10 се прикажани иследувањата направени кај пациентите со атипична пневмонија.

Табела 10. Структура на иследувањата

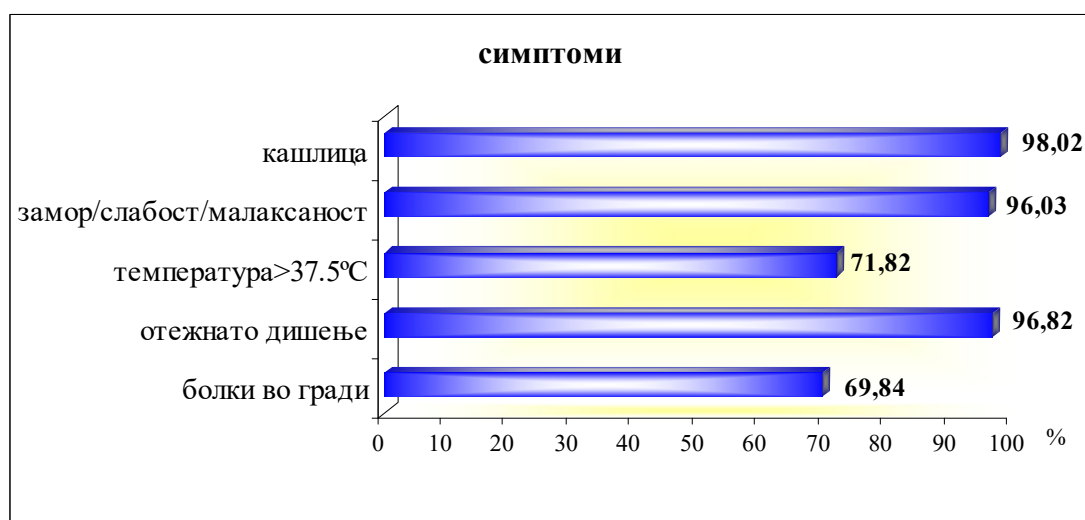
Варијабла	n (%)
РТГ	252 (100)
брис од нос	8 (3,17)
брис од грло	7 (2,78)
лабораторија	252 (100)
спирометрија	60 (23,81)
ЕКГ	252 (100)
алерготест	30 (11,9)
гасни анализи	14 (5,55)
спутум	8 (3,17)
КТМ	4 (1,59)
Рида Панел2	6 (2,38)
Вкупно	252 (100)

Најчестите симптоми со кои се манифестираше болеста кај испитаниците беа: кашлица – 98,0 % (247 пациенти), отежнато дишење – 96,8 % (244 пациенти), замор,

слабост или малаксаност – 96 % (242 пациенти), температура – 71,8 % (181 пациенти) и болки во градите – 69,8 % (176 пациенти) (табела 11, слика 9).

Табела 11. Застапеност на симптомите на атипична пневмонија

Варијабла	n (%)
кашлица	247 (98,02)
замор/слабост/малаксаност	242 (96,03)
температура >37,5 °C	181 (71,82)
отежнато дишење	244 (96,82)
болки во градите	176 (69,84)

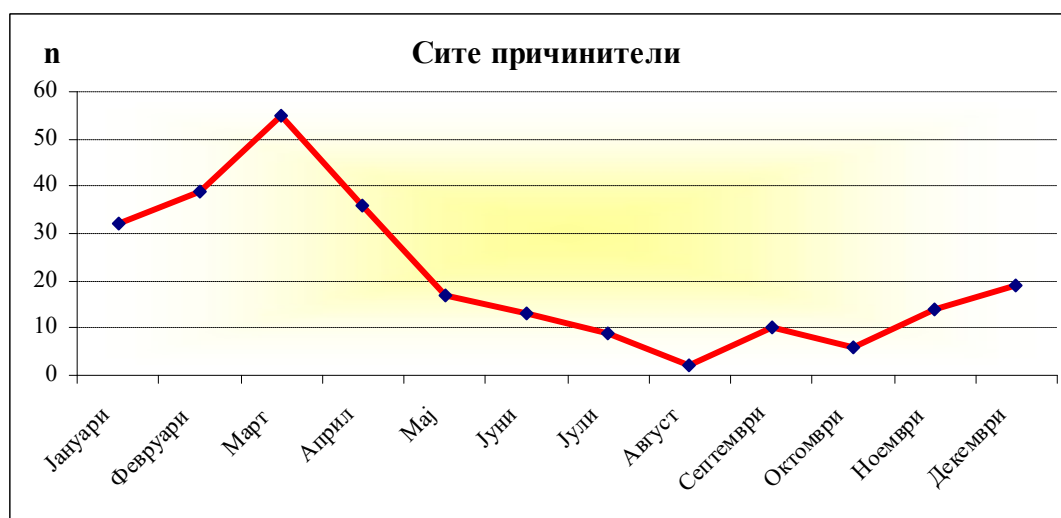


Слика 9. Застапеност на симптомите на атипична пневмонија

Анализата на сезонската дистрибуција на заболените со атипична пневмонија покажува дека најголем број заболени биле регистрирани во месец март – 21,8 % (55 пациенти), а најмал во август – 0,8 % (2 пациенти). Поголем број на заболени беше регистриран во февруари, април и јануари – 15,5 % (39 пациенти), 14,3 % (36 пациенти) и 12,7 % (32 пациенти) консеквентно (табела 12).

Табела 12. Сезонска појава на атипични пневмонии предизвикани од сите причинители

Сезонска појава/ Сите причинители	n (%)
Јануари	32 (12,7)
Февруари	39 (15,48)
Март	55 (21,82)
Април	36 (14,28)
Мај	17 (6,75)
Јуни	13 (5,16)
Јули	9 (3,57)
Август	2 (0,79)
Септември	10 (3,97)
Октомври	6 (2,38)
Ноември	14 (5,55)
Декември	19 (7,54)

**Слика 10. Сезонска појава на атипични пневмонии предизвикани од сите причинители**

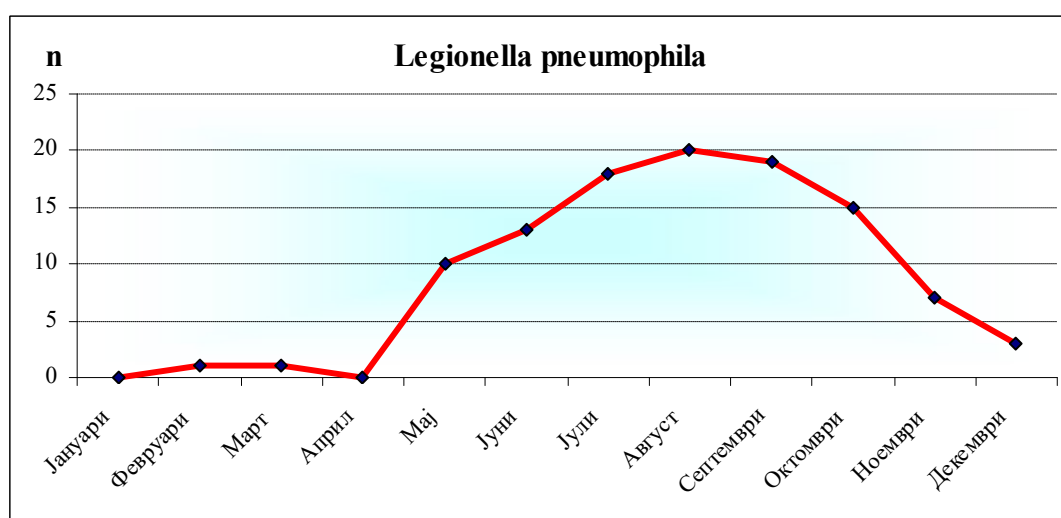
Табелата 13 ја прикажува сезонската дистрибуција на атипичните пневмонии предизвикани од *Legionella pneumophila*. Се забележува дека најголем број на инфицирани со овој причинител се регистрирани во август, септември и јули – 18,3 % (20 пациенти), 17,8 % (19 пациенти) и 16,8 % (18 пациенти) консеквентно. Поголем број

на инфицирани со *Legionella pneumophila*, исто така беа регистрирани во октомври и во летниот месец јуни – 14 % (15 пациенти) и 12,15 % (13 пациенти) следствено. Мал број пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* беа регистрирани во зимските и во пролетните месеци.

Ваквата дистрибуција на заболени укажува на сезонска појава на атипични пневмонии предизвикани од *Legionella pneumophila* (табела 13, слика 11).

Табела 13. Сезонска појава на атипични пневмонии - *Legionella pneumophila*

Сезонска појава/ <i>Legionella pneumophila</i>	n (%)
Јануари	0
Февруари	1 (0,93)
Март	1 (0,93)
Април	0
Мај	10 (9,35)
Јуни	13 (12,15)
Јули	18 (16,82)
Август	20 (18,69)
Септември	19 (17,76)
Октомври	15 (14,02)
Ноември	7 (6,54)
Декември	3 (2,81)

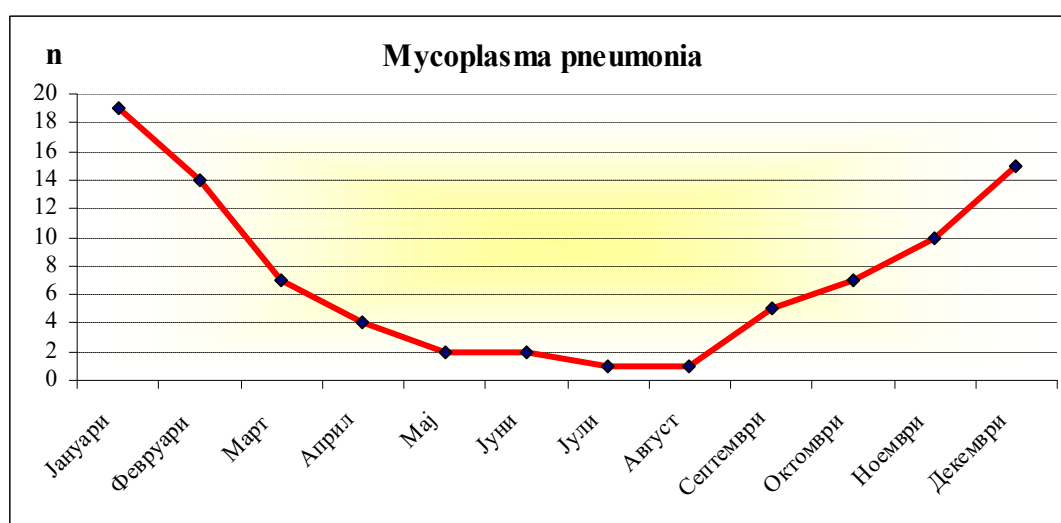


Слика 11. Сезонска појава на атипични пневмонии - *Legionella pneumophila*

Резултатите во табелата 14 покажуваат дека поголем број пациенти инфицирани со *Mycoplasma pneumoniae* беа дијагностицирани во есен, зима и во пролет. Така, во јануари се дијагностицирани најмногу пациенти – 21,8 % (19), следено од 17,2 % (15 пациенти) дијагностицирани во декември, 16,1 % (14 пациенти) дијагностицирани во февруари. И во есенските и во пролетните месеци бројот на инфицирани со овој причинител беше поголем во однос на летните месеци (табела 14, слика 12).

Табела 14. Сезонска појава на атипични пневмонии - *Mycoplasma pneumoniae*

Сезонска појава/ <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	n (%)
Јануари	19 (21,84)
Февруари	14 (16,09)
Март	7 (8,05)
Април	4 (4,6)
Мај	2 (2,3)
Јуни	2 (2,3)
Јули	1 (1,15)
Август	1 (1,15)
Септември	5 (5,75)
Октомври	7 (8,05)
Ноември	10 (11,49)
Декември	15 (17,24)

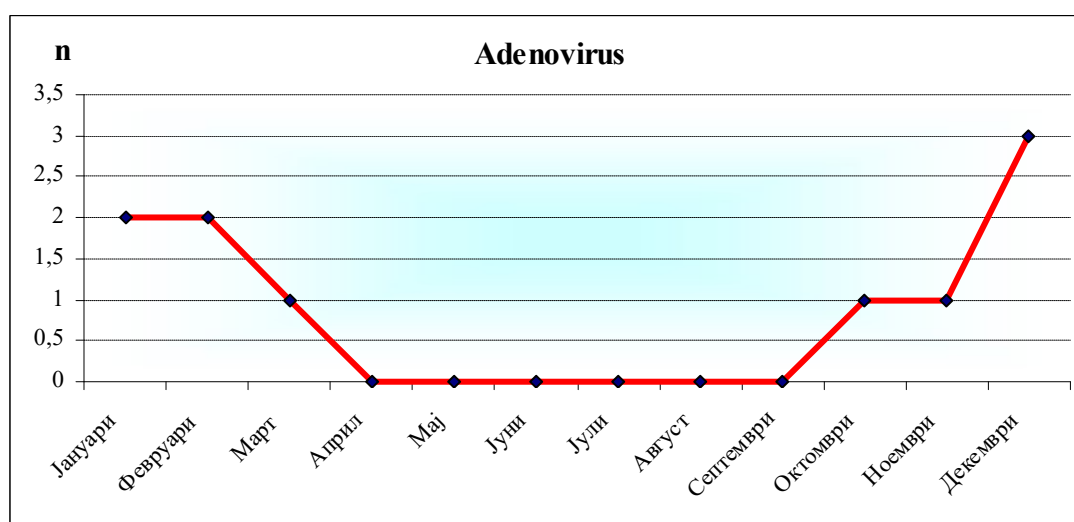


Слика 12. Сезонска појава на атипични пневмонии - *Mycoplasma pneumoniae*

Во табелата 15 е прикажана сезонската дистрибуција на пациентите со атипична пневмонија предизвикана од аденовирус. Се забележува дека во летните месеци, односно во месеците мај, јуни, јули и август не беа регистрирани пациенти инфицирани со аденовирус (табела 15, слика 13).

Табела 15. Сезонска појава на атипични пневмонии - *Adenovirus*

Сезонска појава/ <i>Adenovirus</i>	n
Јануари	2
Февруари	2
Март	1
Април	0
Мај	0
Јуни	0
Јули	0
Август	0
Септември	0
Октомври	1
Ноември	1
Декември	3



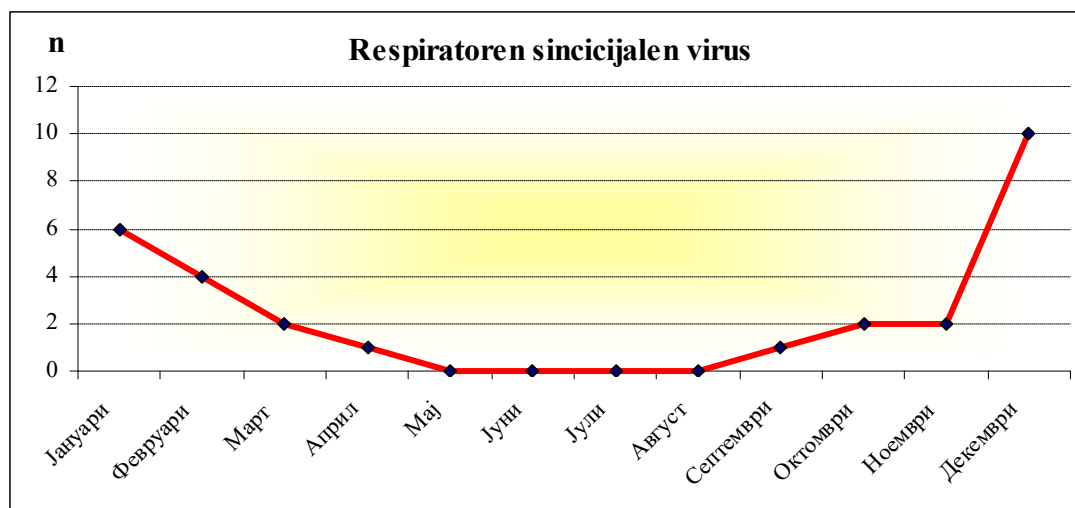
Слика 13. Сезонска појава на атипични пневмонии - *Adenovirus*

Според сезонската дистрибуција на пациентите инфицирани со РСВ, најголем број пациенти има во декември – 35,7 % (10 пациенти), потоа јануари и февруари –

21,4 % (6 пациенти), и 14,3 % (4 пациенти) консеквентно. Според зачестеноста на пријавените пациенти со атипична пневмонија предизвикана од РСВ, следуваат месеците март, октомври и ноември, со подеднаков број на инфицирани – 7,1 % (2 пациенти) (табела 16, слика 14).

Табела 16. Сезонска појава на атипични пневмонии - РСВ

Сезонска појава/ РСВ	n (%)
Јануари	6 (21,43)
Февруари	4 (14,29)
Март	2 (7,14)
Април	1 (3,57)
Мај	0
Јуни	0
Јули	0
Август	0
Септември	1 (3,57)
Октомври	2 (7,14)
Ноември	2 (7,14)
Декември	10 (35,71)

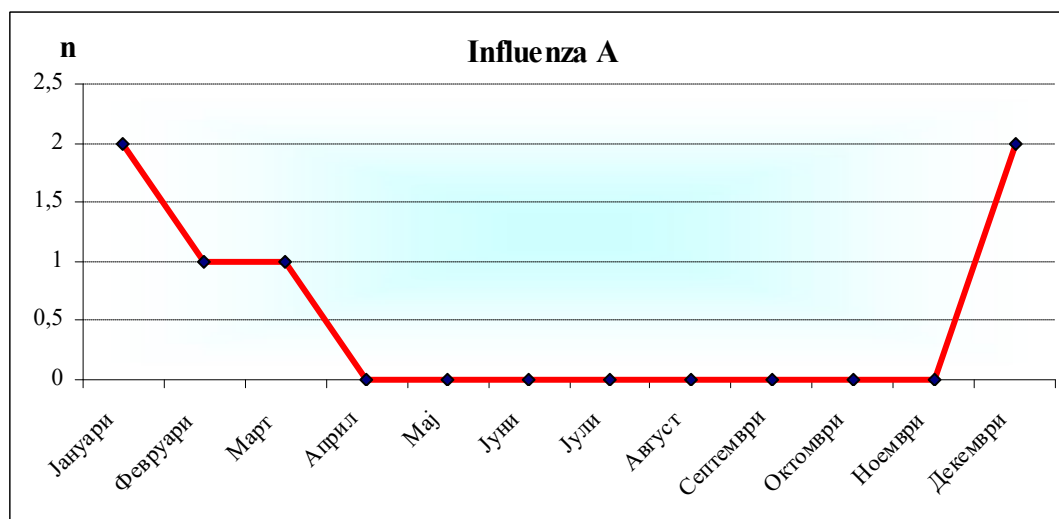


Слика 14. Сезонска појава на атипични пневмонии - РСВ

Сезонската дистрибуција во зимските месеци беше изразена кај пациентите инфицирани со инфлуенца А и инфлуенца Б. Од вкупно 6 пациенти со атипична пневмонија предизвикана од овие причинители, 2 се регистрирани во јануари, исто толку во декември, 1 во февруари и 1 пациент во март (табела 17, слика 15).

Табела 17. Сезонска појава на атипични пневмонии - Influenza A

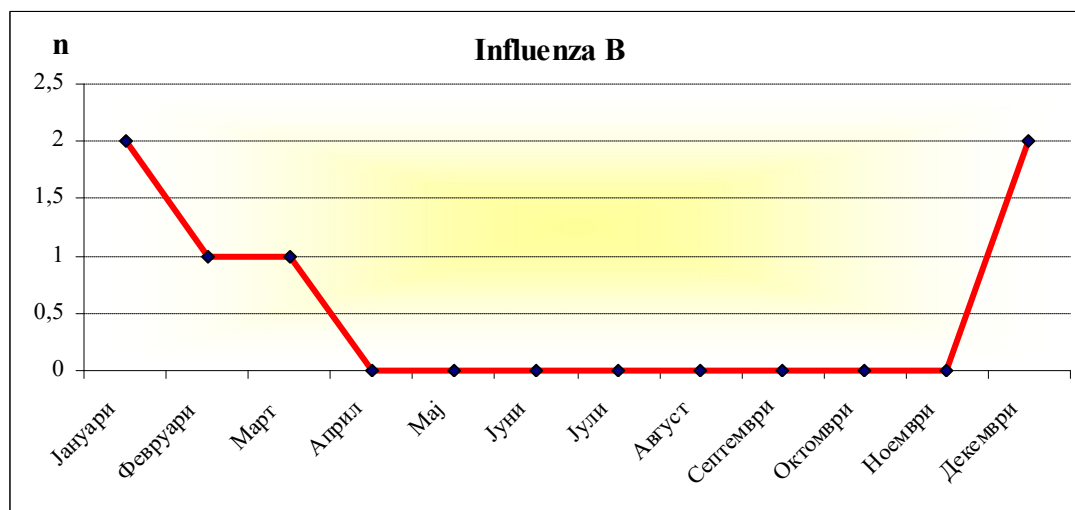
Сезоност/ Influenza A	n
Јануари	2
Февруари	1
Март	1
Април	0
Мај	0
Јуни	0
Јули	0
Август	0
Септември	0
Октомври	0
Ноември	0
Декември	2



Слика 15. Сезонска појава на атипични пневмонии - Influenza A

Табела 18. Сезонска појава на атипични пневмонии - Influenza B

Сезонска појава/ Influenza B	n
Јануари	2
Февруари	1
Март	1
Април	0
Мај	0
Јуни	0
Јули	0
Август	0
Септември	0
Октомври	0
Ноември	0
Декември	2



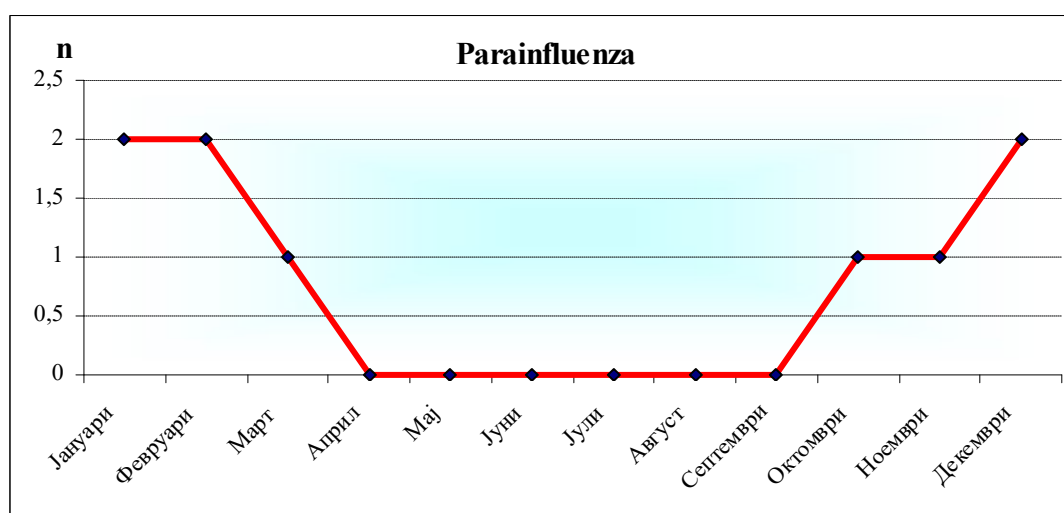
Слика 16. Сезонска појава на атипични пневмонии - Influenza B

Во јануари беа регистрирани 2 пациенти инфицирани со параинфлуенца, во декември, 2 пациенти, февруари 2 пациенти и по еден пациент во март, октомври и ноември, односно дистрибуција на атипичните пневмонии чиј причинител е

параинфлуенца (серотиповите 1, 2, 3) е изразена во есен, зима и во рана пролет (табела 19, слика 17).

Табела 19. Сезонска појава на атипични пневмонии - Parainfluenza

Сезонска појава/ Parainfluenza (серотипови 1, 2, 3)	n (%)
Јануари	2
Февруари	2
Март	1
Април	0
Мај	0
Јуни	0
Јули	0
Август	0
Септември	0
Октомври	1
Ноември	1
Декември	2



Слика 17. Сезонска појава на атипични пневмонии - Parainfluenza

Кашлица имаа 98,1 % (105 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*, 98,8 % (86 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од

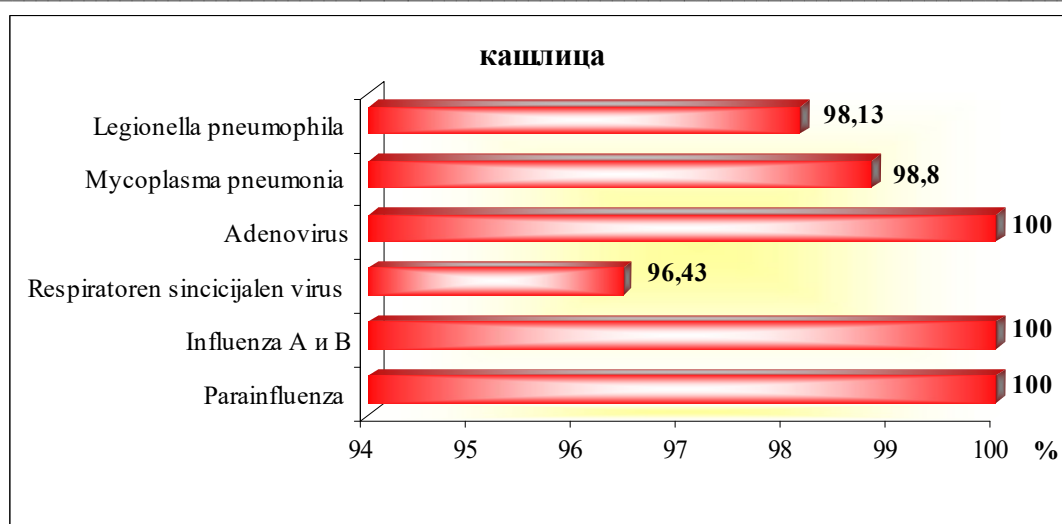
Mycoplasma pneumoniae, сите пациенти со атипична пневмонија предизвикана од аденовирус, 96,4 % (27 пациенти) пациенти со атипична пневмонија предизвикана од РСВ, сите пациенти со атипична пневмонија предизвикана од инфлуенца А и Б, и параинфлуенца (серотипови 1,2,3).

Резултатите од статистичката анализа покажаа дека кашлицата беше несигнификантно различно регистрирана кај пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*, споредено со пациентите со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($p=0,15$); кај пациентите со атипична пневмонија предизвикана со *Mycoplasma pneumoniae*, споредено со пациентите со атипична пневмонија предизвикана од други други причинители ($p=0,83$); кај пациентите со атипична пневмонија предизвикана со аденовирус, споредено со пациентите со атипична пневмонија предизвикана од други други причинители ($p=0,7$); кај пациентите со атипична пневмонија предизвикана од РСВ, споредено со пациентите со атипична пневмонија со други причинители ($p=0,94$); кај пациентите со атипична пневмонија предизвикана од инфлуенца А и Б споредено со пациентите со атипична пневмонија предизвикана од други други причинители ($p=0,26$), како и кај пациентите со атипична пневмонија предизвикана од параинфлуенца, споредено со пациентите со атипична пневмонија предизвикана од други други причинители ($p=0,43$) (табела 20, слика 18).

Табела 20. Фреквенција на кашлицата кај испитаниците во зависност од причинителот на атипичната пневмонија

Варијабла кашлица	p-level		
	IgM +	IgM -	
<i>Legionella pneumophila</i>			
не	2 (1,87)	3 (2,07)	Yates $X^2=0,12$
да	105 (98,13)	142 (97,93)	p=0,73
вкупно	107	145	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>			
не	1 (1,2)	4 (2,43)	Yates $X^2=0,05$
да	86 (98,8)	161 (97,57)	p=0,83
вкупно	87	165	
Adenovirus			
не	0	4 (1,65)	Yates $X^2=0,94$
да	9 (100)	239 (98,35)	p=0,33
вкупно	9	243	
PCV			
не	1 (3,57)	4 (1,79)	Yates $X^2=0,01$
да	27 (96,43)	220 (98,21)	p=0,94
вкупно	28	224	
Influenza A и B			
не	0	5 (2,03)	Yates $X^2=1,27$
да	6 (100)	241 (97,97)	p=0,26
	6	246	
Parainfluenza (серотипови 1, 2, 3)			
не	0	5 (2,06)	Yates $X^2=0,61$
да	9 (100)	238 (97,94)	p=0,43
вкупно	9	243	

X^2 (Chi-square test)



Слика 18. Фреквенција на кашлицата кај испитаниците во зависност од причинителот на атипичната пневмонија

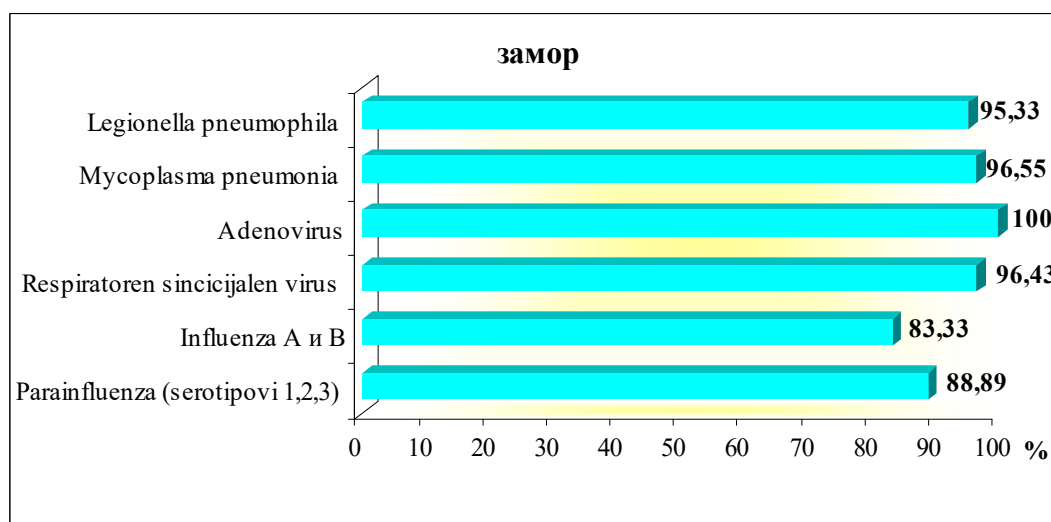
Заморот беше симптом кај 95,3 % (102 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*; кај 96,55 % (84 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae*; кај сите пациенти со атипична пневмонија предизвикана од аденовирус; кај 96,4 % (27 пациенти) пациенти со атипична пневмонија предизвикана од РСВ; кај 83,3 % (5 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од инфлуенца А и Б; 88,9 % (8 пациенти) пациенти со атипична пневмонија предизвикана од параинфлуенца (серотипови 1, 2, 3).

Статистички несигнификантна беше разликата во зачестеноста на заморот меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* и оние со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($p=0,63$); меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* и оние со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($p=0,97$); меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од аденовирус и оние со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($p=0,8$); меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од РСВ и оние со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($p=0,69$); меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од инфлуенца А и Б и оние со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($p=0,58$), и меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од параинфлуенца (серотипови 1,2,3) и оние со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($p=0,8$) (табела 21, слика 19).

Табела 21. Фреквенција на заморот и малаксаноста кај испитаниците во зависност од причинителот на атипична пневмонија

Варијабла	IgM		p-level
	+	-	
Legionella pneumophila			
не	5 (4,67)	5 (3,45)	Yates $X^2=0,03$
да	102 (95,33)	140 (96,55)	p=0,87
вкупно	107	145	
Mycoplasma pneumoniae			
не	3 (3,45)	7 (4,24)	Yates $X^2=0,00$
да	84 (96,55)	158 (95,76)	p=0,97
вкупно	87	165	
Adenovirus			
не	0	10 (4,12)	Yates $X^2=0,06$
да	9 (100)	233 (95,88)	p=0,8
вкупно	9	243	
PCV			
не	1 (3,57)	9 (4,02)	Yates $X^2=0,16$
да	27 (96,43)	215 (95,98)	p=0,69
	28	224	
Influenza A и B			
не	1 (16,67)	9 (3,66)	Yates $X^2=0,31$
да	5 (83,33)	237 (96,34)	p=0,58
вкупно	6	246	
Parainfluenza (серотипови 1,2,3)			
не	1 (11,11)	9 (3,71)	Yates $X^2=0,06$
да	8 (88,89)	234 (96,29)	p=0,8
вкупно	9	243	

X^2 (Chi-square test)



Слика 19. Фреквенција на заморот и малаксаноста кај испитаниците во зависност од причинителот на атипична пневмонија

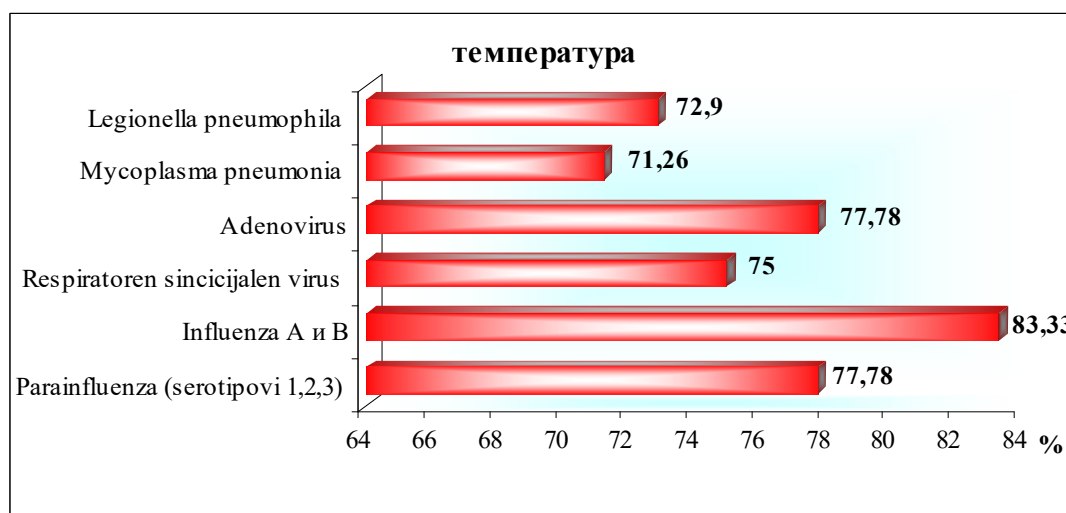
Висока температура имаа 71,9 % (77 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*; 71,3 % (62 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae*; 77,8 % (7 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од аденовирус; 71,4 % (20 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од РСВ; 83,3 % (5 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од инфлуенца А и Б и 77,8 % (7 пациенти) пациенти со атипична пневмонија предизвикана од параинфлуенца (серотипови 1,2,3).

Не беше регистрирана статистички сигнификантна разлика во зачестеноста на температурата меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* и оние со атипична пневмонија од други причинители ($p=0,74$); меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* и предизвикана од други причинители ($p=0,89$); меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од аденовирус и оние со атипична пневмонија од други причинители ($p=0,98$); меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од РСВ и оние со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($p=0,69$); меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од инфлуенца А и Б и пациентите со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($p=0,86$), и меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од параинфлуенца (серотипови 1,2,3) и оние со атипична пневмонија од другите причинители ($p=0,98$) (табела 22, слика 20).

Табела 22. Фреквенција на зголемената температура кај испитаниците во зависност од причинителот на атипична пневмонија

Варијабла температура	IgM		p-level
	+	-	
<i>Legionella pneumophila</i>			
не	29 (27,1)	42 (28,97)	$X^2=0,11$
да	78 (72,9)	103 (71,03)	$p=0,74$
вкупно	107	145	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>			
не	25 (28,74)	46 (27,88)	$X^2=0,02$
да	62 (71,26)	119 (72,12)	$p=0,89$
вкупно	87	165	
Adenovirus			
не	2 (22,22)	69 (28,39)	Yates $X^2=0,0$
да	7 (77,78)	174 (71,61)	$p=0,98$
вкупно	9	243	
PCV			
не	7 (25)	64(28,57)	$X^2=0,16$
да	21 (75)	160 (71,43)	$p=0,69$
	28	224	
Influenza A и B			
не	1 (16,67)	70 (28,45)	Yates $X^2=0,03$
да	5 (83,33)	176 (71,55)	$p=0,86$
вкупно	6	246	
Parainfluenza (серотипови 1, 2, 3)			
не	2 (22,22)	69 (28,39)	$X^2=0,0$
да	7 (77,78)	174 (71,61)	$p=0,98$
вкупно	9	243	

 X^2 (Chi-square test)



Слика 20. Фреквенција на зголемената температура кај испитаниците во зависност од причинителот на атипична пневмонија

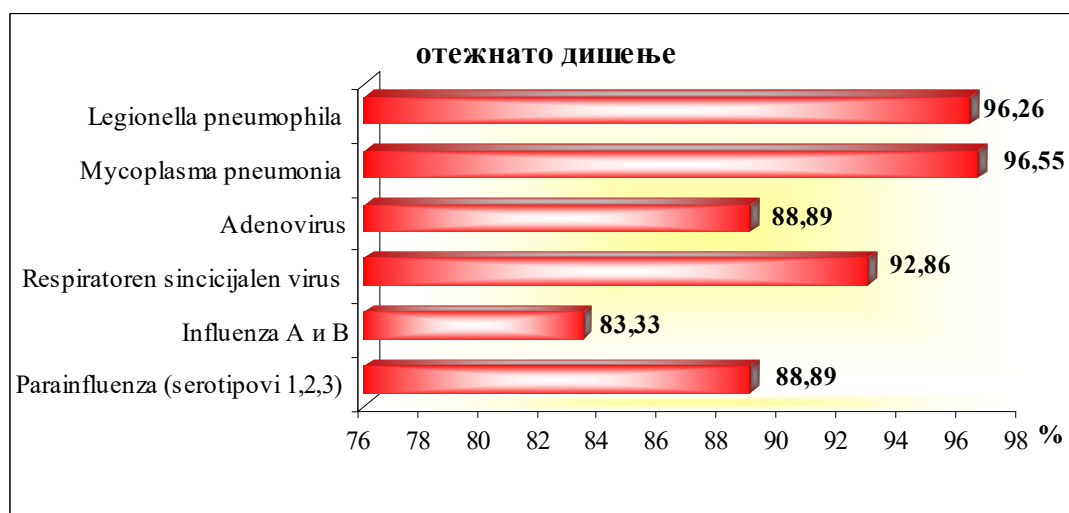
Со отежнато дишење беа 96,3 % (103 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*; 96,55 % (84 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae*; 88,9 % (9 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од аденовирус; 92,9 % (26 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од РСВ; 83,3 % (5 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од инфлуенца А и Б; 88,9 % (8 пациенти) пациенти со атипична пневмонија предизвикана од параинфлуенца (серотипови 1,2,3).

Аденовирусот, како причинител на атипичната пневмонија, незначително поретко од другите причинители, во клиничката слика кај овие пациенти се презентираше со појава на диспнеја (88,89 % наспроти 97,12 %, $p=0,83$); РСВ како причинител на атипичната пневмонија, незначително поретко од другите причинители, во клиничката слика кај овие пациенти се презентираше со појава на диспнеја (92,86 % наспроти 97,32 % %, $p=0,4$); инфлуенцата А и Б како причинител на атипична пневмонија незначително поретко од другите причинители, во клиничката слика кај овие пациенти се презентираше со појава на диспнеја (83,33 % наспроти 97,15 %, $p=0,87$); параинфлуенцата, како причинител на атипичната пневмонија, незначително поретко од другите причинители во клиничката слика кај овие пациенти се презентираше со појава на диспнеја (88,89 % наспроти 97,12 % $p=0,83$) (табела 23, слика 21).

Табела 23. Фреквенција на диспнеја кај испитаниците во зависност од причинителот на атипична пневмонија

Варијабла	отежнато дишење		p-level
	IgM +	IgM -	
<i>Legionella pneumophila</i>			
не	4 (3,74)	4 (2,76)	Yates $X^2=0,01$
да	103 (96,26)	141 (97,24)	p=0,94
вкупно	107	145	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>			
не	3 (3,45)	5 (3,03)	Yates $X^2=0,04$
да	84 (96,55)	160 (96,97)	p=0,84
вкупно	87	165	
Adenovirus			
не	1 (11,11)	7 (2,88)	Yates $X^2=0,17$
да	8 (88,89)	236 (97,12)	p=0,68
вкупно	9	243	
PCV			
не	2 (7,14)	6 (2,68)	Yates $X^2=0,49$
да	26 (92,86)	218 (97,32)	p=0,48
	28	224	
Influenza A и B			
не	1 (16,67)	7 (2,85)	Yates $X^2=0,53$
да	5 (83,33)	239 (97,15)	p=0,47
вкупно	6	246	
Parainfluenza (серотипови 1,2,3)			
не	1 (11,11)	7 (2,88)	Yates $X^2=0,17$
да	8 (88,89)	236 (97,12)	p=0,68
вкупно	9	243	

X^2 (Chi-square test)



Слика 21. Фреквенција на диспнеја кај испитаниците во зависност од причинителот на атипична пневмонија

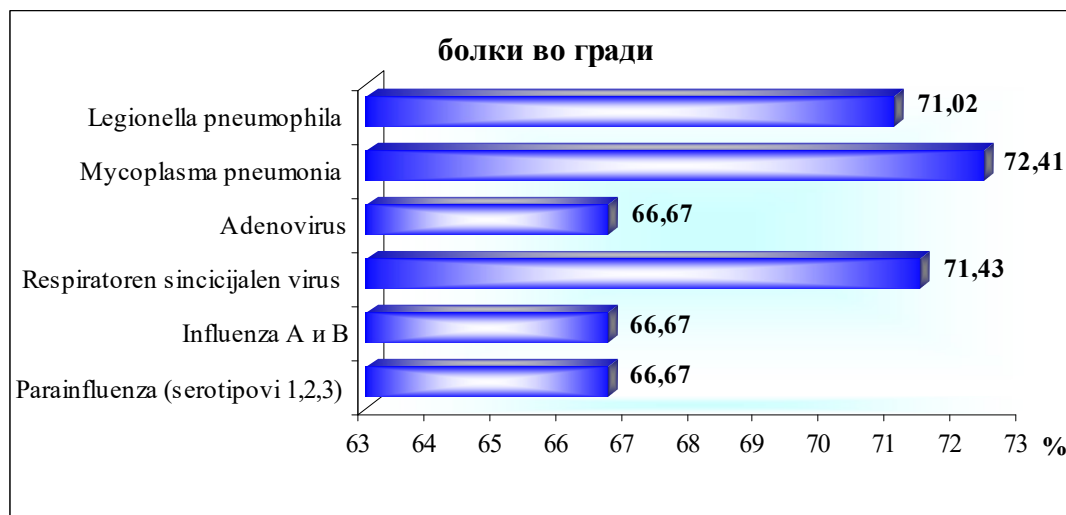
На болки во градите се жалеа 71 % (76 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*; 72,4 % (63 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae*; 66,7 % (6 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од аденовирус; 71,4 % (20 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од РСВ; 66,7 % (4 пациенти) со атипична пневмонија предизвикана од инфлуенца А и Б; 66,7 % (6 пациенти) пациенти со атипична пневмонија предизвикана од параинфлуенца (серотипови 1,2,3).

Зачестеноста на болка несигнификантно почесто се манифестираше меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* и пациентите со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($p=0,72$); меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* и пациентите со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($p=0,52$); меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од РСВ и пациентите со атипична пневмонија предизвикана од другите причинители ($p=0,85$). Зачестеноста на болка во градите несигнификантно различно беше регистрирана меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од аденовирус и од други причинители ($p=0,87$); меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од инфлуенца А и Б и од другите причинители ($p=0,78$), и меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од параинфлуенца (серотипови 1, 2, 3) и од другите причинители ($p=0,87$) (табела 24, слика 22).

Табела 24. Фреквенција на болки во градите кај испитаниците во зависност од причинителот на атипична пневмонија

Варијабла	p-level		
	IgM +	IgM -	
<i>Legionella pneumophila</i>			
не	31 (28,97)	45 (31,03)	$X^2=0,12$
да	76 (71,02)	100 (68,97)	$p=0,72$
вкупно	107	145	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>			
не	24 (27,59)	52 (31,52)	$X^2=0,42$
да	63 (72,41)	113 (68,48)	$p=0,52$
вкупно	87	165	
Adenovirus			
не	3 (33,33)	73 (30,04)	Yates $X^2=0,03$
да	6 (66,67)	170 (69,96)	$p=0,87$
вкупно	9	243	
PCV			
не	8 (28,57)	68 (30,36)	$X^2=0,04$
да	20 (71,43)	156 (69,64)	$p=0,85$
	28	224	
Influenza A и B			
не	2 (33,33)	74 (30,08)	Yates $X^2=0,08$
да	4 (66,67)	172 (69,92)	$p=0,78$
вкупно	6	246	
Parainfluenza (серотипови 1, 2, 3)			
не	3 (33,33)	73 (30,04)	$X^2=0,03$
да	6 (66,67)	170 (69,96)	$p=0,87$
вкупно	9	243	

 X^2 (Chi-square test)



Слика 22. Фреквенција на болки во градите кај испитаниците во зависност од причинителот на атипична пневмонија

Резултатите од истражувањето покажаа сигнификантна асоцијација на полот со атипичната пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* ($p=0,0019$), и со атипичната пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* ($p=0,01$).

Машките пациенти значајно почесто од женските имаа атипична пневмонија чиј причинител е *Legionella pneumophila* (57,3 % наспроти 36,2 %), додека значајно поретко имаа атипична пневмонија пациентите чиј причинител е *Mycoplasma pneumoniae* (22,7 % наспроти 39,55 %).

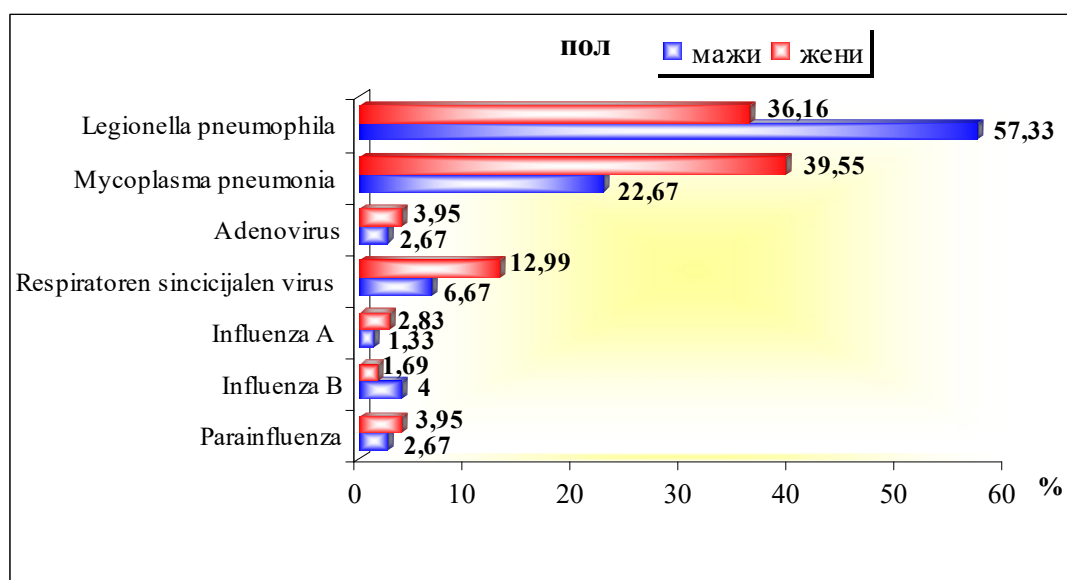
Машките и женските пациенти имаа слична процентуална застапеност на причинителите аденовирус (2,7 % наспроти 3,95 %), инфлуенца А (1,3 % наспроти 2,8 %), и параинфлуенца (2,7 % наспроти 3,95 %).

РСВ незначајно почесто беше предизвикувач на атипична пневмонија кај женските пациенти (13 % наспроти 6,7 %, $p=0,14$), а инфлуенца Б кај машките пациенти (4 % наспроти 1,7 %, $p=0,52$) (табела 25, слика 23).

Табела 25. Дистрибуција на причинителите на атипична пневмонија во зависност од полот на испитаниците

Варијабла		пол		p-level
		мажи n (%)	жени n (%)	
<i>Legionella pneumophila</i>	IgM +	43 (57,33)	64 (36,16)	$X^2=9,67$ p=0,0019
	IgM -	32 (42,67)	113 (63,84)	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	IgM +	17 (22,67)	70 (39,55)	$X^2=6,64$ p=0,01
	IgM -	58 (77,33)	107 (60,45)	
Adenovirus	IgM +	2 (2,67)	7 (3,95)	Yates $X^2=0,02$ p=0,89
	IgM -	73 (97,33)	170 (96,05)	
PCB	IgM +	5 (6,67)	23 (12,99)	$X^2=2,14$ p=0,14
	IgM -	70 (93,33)	154 (87,01)	
Influenza A	IgM +	1 (1,33)	5 (2,83)	Yates $X^2=0,07$ p=0,8
	IgM -	74 (98,67)	172 (97,17)	
Influenza B	IgM +	3 (4,0)	3 (1,69)	Yates $X^2=0,42$ p=0,52
	IgM -	72 (96)	174 (98,31)	
Parainfluenza (серотипови 1,2,3)	IgM +	2 (2,67)	7 (3,95)	Yates $X^2=0,02$ p=0,89
	IgM -	73 (97,33)	170 (96,05)	

X^2 (Chi-square test)



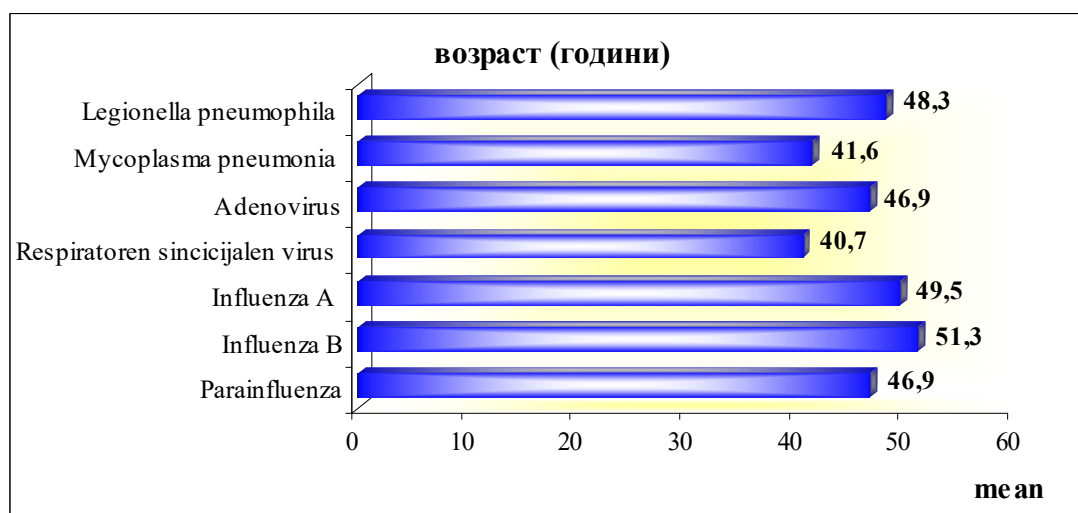
Слика 23. Дистрибуција на причинителите на атипична пневмонија во зависност од полот на испитаниците

Резултатите од статистичката анализа за двата најчести причинители покажаа дека постарите пациенти почесто се инфицирани со *Legionella pneumophila*, додека *Mycoplasma pneumoniae* почесто беше најдена кај помладите пациенти, односно, пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* беа значително постари од пациентите со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($48,3 \pm 17,2$ наспроти $45,6 \pm 14,7$; $p=0,038$), додека пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* беа значително помлади од пациентите со атипична пневмонија предизвикана од други причинители ($43,6 \pm 15,7$ наспроти $48,9 \pm 16,2$; $p < 0,0001$). Статистички сигнификантна беше разликата во возраста меѓу пациентите со атипична пневмонија предизвикана од РСВ и предизвикана од други причинители ($40,7 \pm 13,4$ наспроти $48,1 \pm 16,4$; $p < 0,001$), односно овој причинител беше најден значајно почесто кај помладите пациенти.

Табела 26. Возраст на испитаниците во зависност од причинителот на атипична пневмонија

Варијабла		возраст				p-level
		n	mean \pm SD	std err	min – max	
<i>Legionella pneumophila</i>	IgM +	107	48,3 \pm 17,2	0,9	18 – 92	t=2,1
	IgM -	145	45,6 \pm 14,7	0,89	18 – 82	p=0,038
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	IgM +	87	41,6 \pm 15,7	1,01	18 – 92	t=4,0
	IgM -	165	48,9 \pm 16,2	0,8	18 – 86	p=0,00007
Adenovirus	IgM +	9	46,9 \pm 14,7	3,1	18 – 75	t=0,25
	IgM -	243	47,75 \pm 16,6	0,7	18 – 92	p=0,8
PCV	IgM +	28	40,7 \pm 13,4	1,6	19 – 92	t=3,6
	IgM -	224	48,1 \pm 16,4	0,7	18 – 92	p=0,0003
Influenza A	IgM +	6	49,5 \pm 18,0	4,6	19 – 75	t=0,6
	IgM -	246	47,1 \pm 16,2	0,6	18 – 92	p=0,56
Influenza B	IgM +	6	51,3 \pm 16,6	4,3	28 – 82	t=1,0
	IgM -	246	47,0 \pm 16,2	0,6	18 – 92	p=0,3
Parainfluenza (серотипови 1,2,3)	IgM +	9	46,9 \pm 13,8	2,9	27 – 73	t=0,05
	IgM -	243	47,1 \pm 16,3	0,7	18 – 92	p=0,96

t (Student t-test)



Слика 24. Просечна возраст на испитаниците во зависност од причинителот на атипична пневмонија

Пациентите со атипична пневмонија чиј причинител беше аденовирусот, беа незначајно помлади од другите пациенти ($46,9 \pm 14,7$ наспроти $47,75 \pm 16,6$; $p=0,8$), како и пациентите чиј причинител беше параинфлуенцата ($46,9 \pm 13,8$ наспроти $46,9 \pm 13,8$; $p=0,96$), додека возраста на пациентите со атипична пневмонија предизвикана од инфлуенца А и Б беше неначајно поголема од другите пациенти ($49,5 \pm 18,0$ наспроти $47,1 \pm 16,2$; $p=0,66$, $51,3 \pm 16,6$ наспроти $47,0 \pm 16,2$; $p=0,3$ консеквентно) (табела 26. слика 24).

Атипичните пневмонии предизвикани од *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* и РСВ беа сигнификантно поврзани со возраста на пациентите.

За $p=0,0001$ беше потврдена статистички сигнификантна различна возраст меѓу пациентите со атипична пневмонија чиј причинител е *Legionella pneumophila* и другите пациенти. Споредено со другите причинители, *Legionella pneumophila* значајно почесто беше потврдена кај пациентите постари од 50 години (57 % наспроти 31,7 %).

За $p=0,003$ беше потврдена статистички сигнификантна разлика во возраста меѓу пациентите со атипична пневмонија чиј причинител е *Mycoplasma pneumoniae* и другите пациенти. Споредено со другите причинители, *Mycoplasma pneumoniae* значајно почесто беше потврдена кај пациентите помлади од 50 години (42,1 % наспроти 24,3 %).

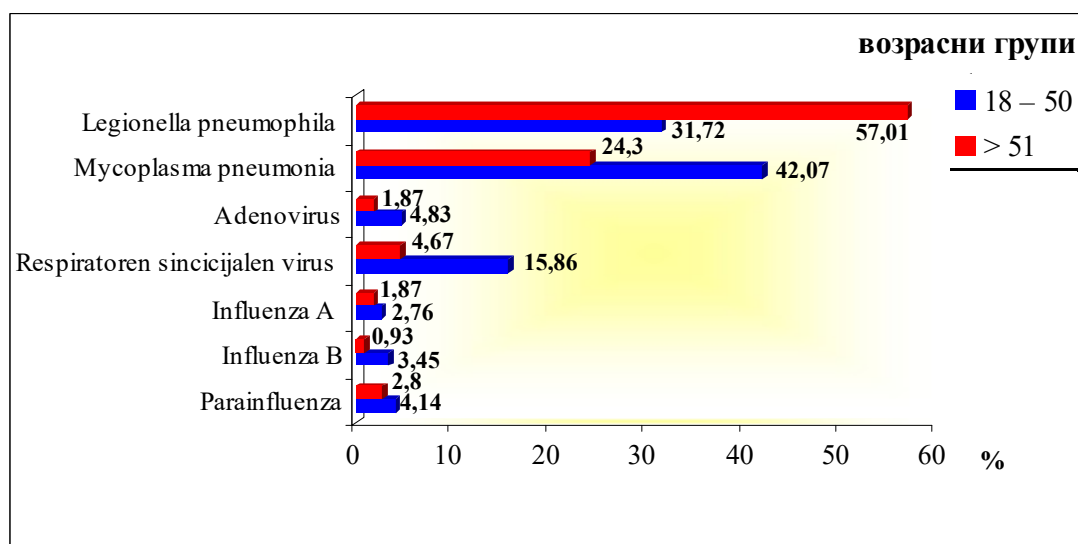
Кај испитаниците помлади од 50 години, статистички значајно почесто беа дијагностицирани и атипични пневмонии предизвикани од РСВ (15,9 % наспроти 4,7 %; $p=0,005$).

Другите причинители несигнификантно различно се потврдија кај пациентите од двете возрастни групи.

Табела 27. Дистрибуција на испитаниците помлади и постари од 50 години, во зависност од причинителот на атипична пневмонија

	возрасни групи		p-level
	18 – 50 n (%)	> 51 n (%)	
<i>Legionella pneumophila</i>			
IgM +	46 (31,72)	61 (57,01)	$X^2=16,1$
IgM -	99 (68,28)	46 (42,99)	$p=0,00006$
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>			
IgM +	61 (42,07)	26 (24,3)	$X^2=8,6$
IgM -	84 (57,93)	81 (75,7)	$p=0,003$
Adenovirus IgM			
IgM +	7 (4,83)	2 (1,87)	Yates $X^2=0,82$
IgM -	138 (95,17)	105 (98,13)	$p=0,36$
PCV IgM			
IgM +	23 (15,86)	5 (4,67)	$X^2=7,8$
IgM -	122 (84,14)	102 (95,33)	$p=0,005$
Influenza A IgM			
IgM +	4 (2,76)	2 (1,87)	Yates $X^2=0,0$
IgM -	141 (97,24)	105 (98,13)	$p=0,97$
Influenza B IgM			
IgM +	5 (3,45)	1 (0,93)	Yates $X^2=0,77$
IgM -	140 (96,55)	106 (99,07)	$p=0,38$
Parainfluenza (серотипови 1, 2, 3) IgM			
IgM +	6 (4,14)	3 (2,8)	Yates $X^2=0,05$
IgM -	138 (95,86)	104 (97,2)	$p=0,82$

X^2 (Chi-square test)



Слика 25. Дистрибуција на испитаниците помлади и постари од 50 години, во зависност од причинителот на атипична пневмонија

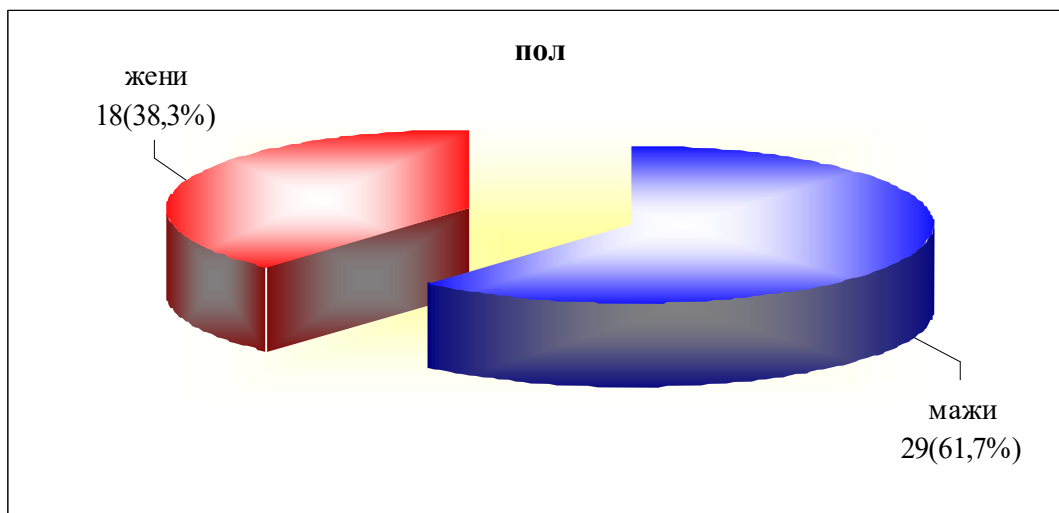
II. РЕЗУЛТАТИ ОД ПРОСПЕКТИВНИОТ ДЕЛ НА СТУДИЈАТА

Во проспективниот дел од истражувањето беа вклучени 103 пациенти од Одделот за инфективни болести и фебрилни состојби при ЈЗУ ГОБ 8 Септември, со дијагноза за пневмонија, од кои со атипична пневмонија беа 45,6, % (47 пациенти).

Во оваа група проспективно следени пациенти со атипична пневмонија, 61,7 % (29) беа од машки пол, 38,3 % (18) пациенти беа од женски пол (табела 28, слика 26).

Табела 28. Полова дистрибуција на испитаниците

пол	n (%)
мажи	29 (61,7)
жени	18 (38,3)
Вкупно	47



Слика 26. Полова дистрибуција на испитаниците

Просечната возраст на пациентите од оваа анализирана група изнесуваше $39,7 \pm 14,3$ години. Најмладиот пациент беше на возраст од 18 години, најстариот имаше 82 години.

Во дистрибуцијата според возрасни групи, 17 % (8 пациенти) беа на возраст од 18 до 30 години, 25,5 % (12 пациенти) беа на возраст од 31 до 40 години, 31,9 % (15 пациенти) припаѓаа на возрасната група од 41 до 50 години, во возрасната група од 51

до 60 години беа регистрирани 19,15 % (9 пациенти), еден пациент беше на возраст од 64 година, а 2 беа постари од 71 година (табела 29, 30, слика 27).

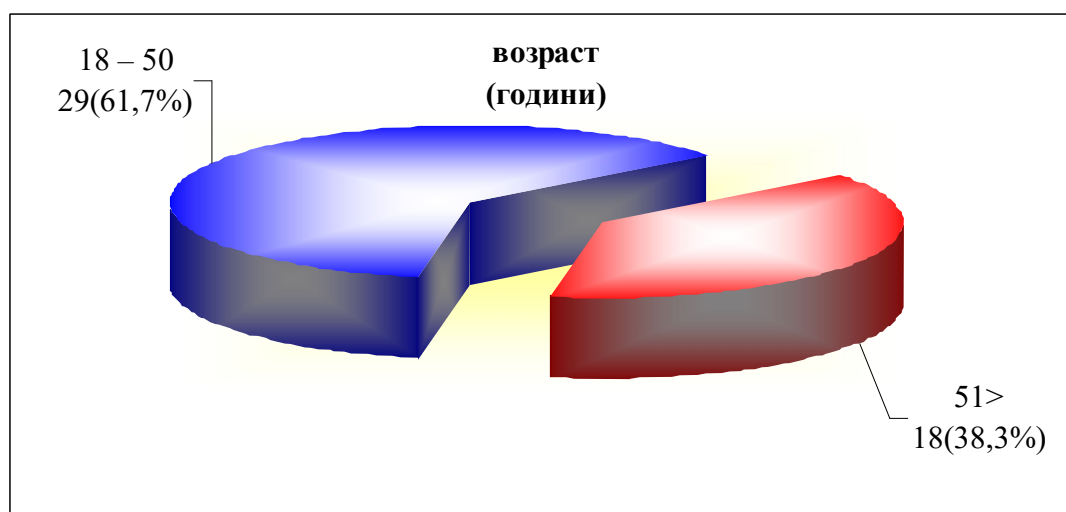
Табела 29. Возраст на испитаниците

Возраст	n (%)
18 – 30	8 (17,02)
31 – 40	12 (25,53)
41 – 50	15 (31,91)
51 – 60	9 (19,15)
61 – 70	1(2,13)
71	2 (4,26)
mean ± SD (39,7 ± 8,3)	min – max (18 – 82)

Мнозинството пациенти беа на возраст до 50 години – 61,7 % (29).

Табела 30. Дистрибуција на испитаниците помлади и постари од 50 години

Возраст	n (%)
18 – 50	29 (61,7)
51>	18 (38,3)



Слика 27. Дистрибуција на испитаниците помлади и постари од 50 години

Во табелата 31 се прикажани иследувањата направени кај пациентите со атипична пневмонија.

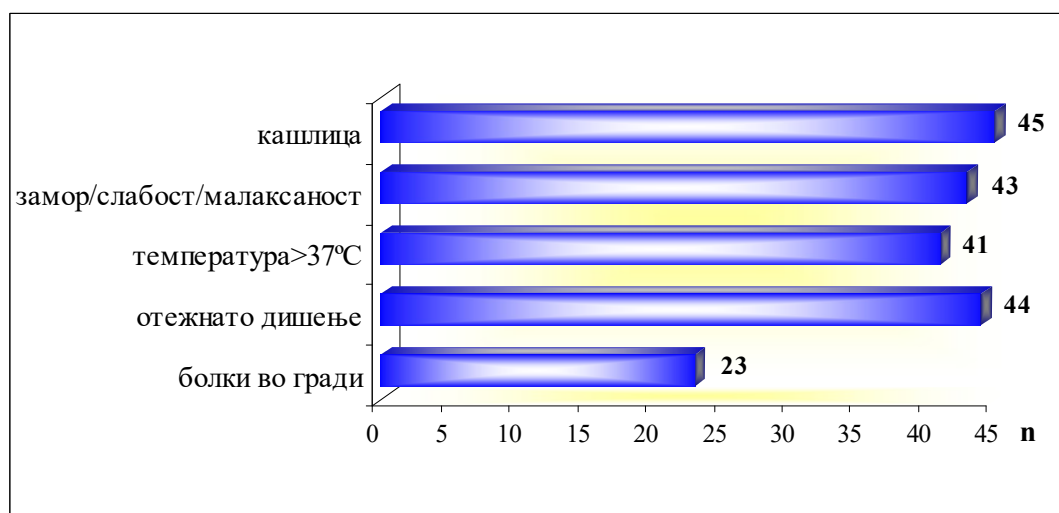
Табела 31. Видови испитувања кај пациентите со атипична пневмонија

Варијабла	n (%)
РТГ	3 (6,38)
брис од нос	2 (4,25)
брис од грло	2 (4,25)
лабораторија	20 (42,55)
спирометрија	11 (23,4)
ЕКГ	47 (100)
алерготест	5 (10,64)
гасни анализи	3 (6,38)
спутум	1 (2,13)
КТМ	1 (2,13)
Рида Панел2	1 (2,13)

Во клиничката слика доминантни симптоми беа: кашлица – 95,6 % (43 пациенти), тешкотии при дишење – 93,3 % (42 пациенти), замор, слабост или малаксаност – 91,1 % (41 пациент), температура повисока од 37 °C – 86,7 % (39 пациенти), и болки во градите – 48,9 % (22 пациенти) (табела 32, слика 28).

Табела 32. Застапеност на симптомите кај пациентите со атипична пневмонија

Варијабла	n (%)
кашлица	45 (95,74)
замор/слабост/малаксаност	43 (91,49)
температура >37 °C	41 (87,23)
отежнато дишење	44 (93,62)
болки во градите	23 (48,94)

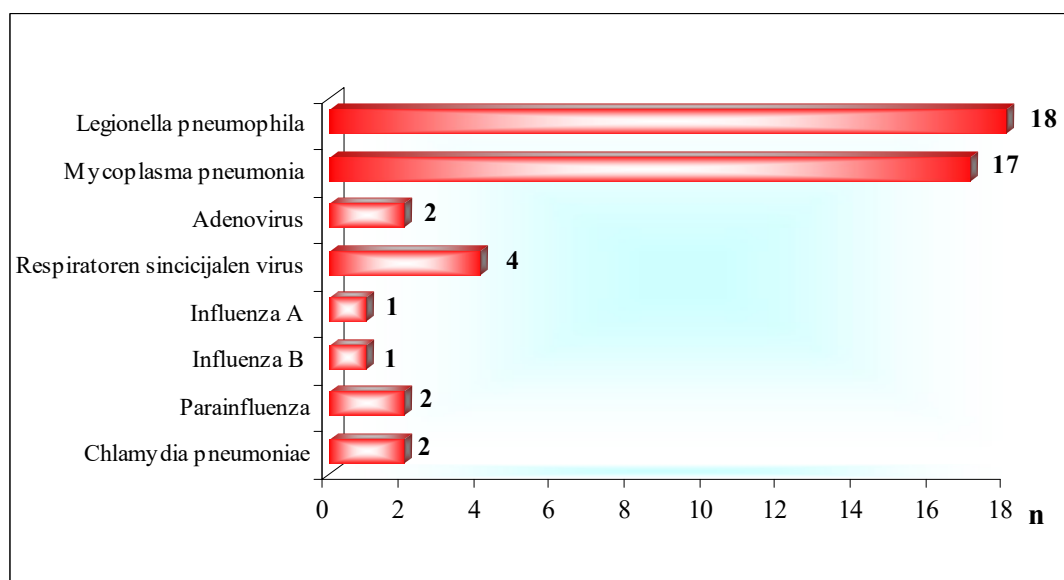


Слика 28. Застапеност на симптомите кај пациентите со атипична пневмонија

Во групата од 47 пациенти со атипична пневмонија кои беа проспективно следени, *Legionella pneumophila* како причинител беше потврдена кај 40 % (18 пациенти), *Mycoplasma pneumoniae* кај 36,2 % (17 пациенти), РСВ кај 11,1 % (4 пациенти). Останатите 5 причинители имаа ниска преваленција, аденовирусот, параинфлуенцата и *Chlamidia pneumoniae* со 4,4 %, односно кај 2 пациенти инфлуенца А и Б, со преваленција од 2,2 %, односно докажани кај 1 пациент (табела 33, слика 29).

Табела 33. Тип на причинител на атипичната пневмонија

Варијабла	n (%)
<i>Legionella pneumophila</i>	18 (40)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	17 (36,17)
Adenovirus	2 (4,44)
РСВ	4(11,11)
Influenza A	1 (2,22)
Influenza B	1 (2,22)
Parainfluenza (серотипови 1, 2, 3)	2 (4,44)
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	2(4,44)



Слика 29. Тип на причинител на атипичната пневмонија

КОМПАРАТИВНА АНАЛИЗА

Legionella pneumophila наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

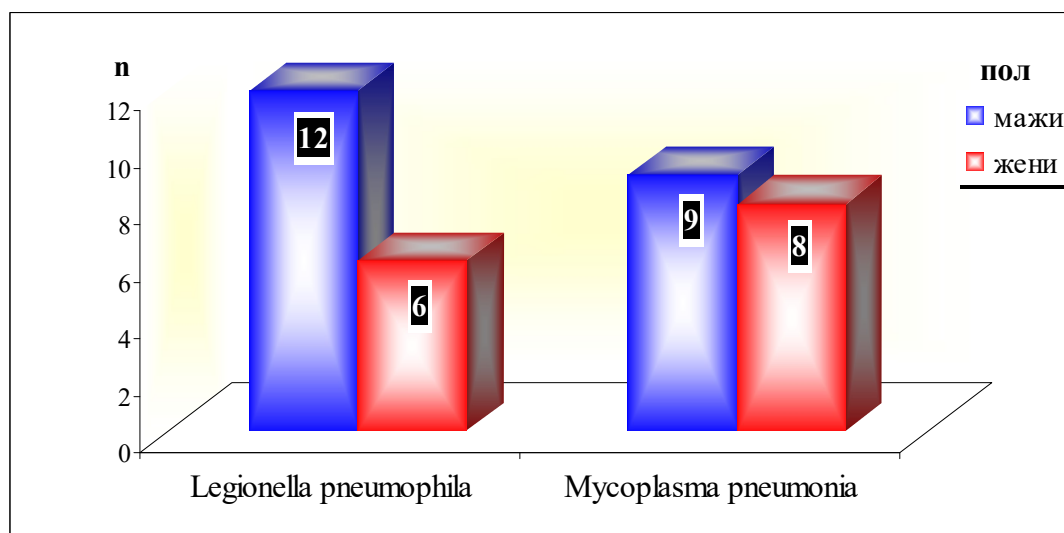
Во овој дел од истражувањето се прикажани резултатите од споредбата на 18 пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* и 17 пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae*, во однос на одредени демографски, клинички и лабораториски параметри.

Во табелата 34 е прикажана половата дистрибуција на пациентите инфицирани со *Legionella pneumophila* и со *Mycoplasma pneumoniae*. Резултатите покажуваат дека и двата причинителя почесто предизвикуваат атипична пневмонија кај мажите. Во групата пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* 12/18 испитаници се од машки пол, во групата пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae*, 9/17 испитаници се од машки пол. И статистичката анализа потврди дека разликата во дистрибуцијата помеѓу машките и женските испитаници со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* или со *Mycoplasma pneumoniae* статистички е несигнификантна ($p=0,41$) (табела 34, слика 30).

Табела 34. Полова дистрибуција - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Варијабла				p-level
пол	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
		n (%)	n (%)	
мажи	21(60)	12 (66,67)	9 (52,94)	$X^2=0,69$
жени	14(40)	6 (33,33)	8 (47,06)	p=0,41 ns
вкупно	35	18	17	

X^2 (Chi-square test)

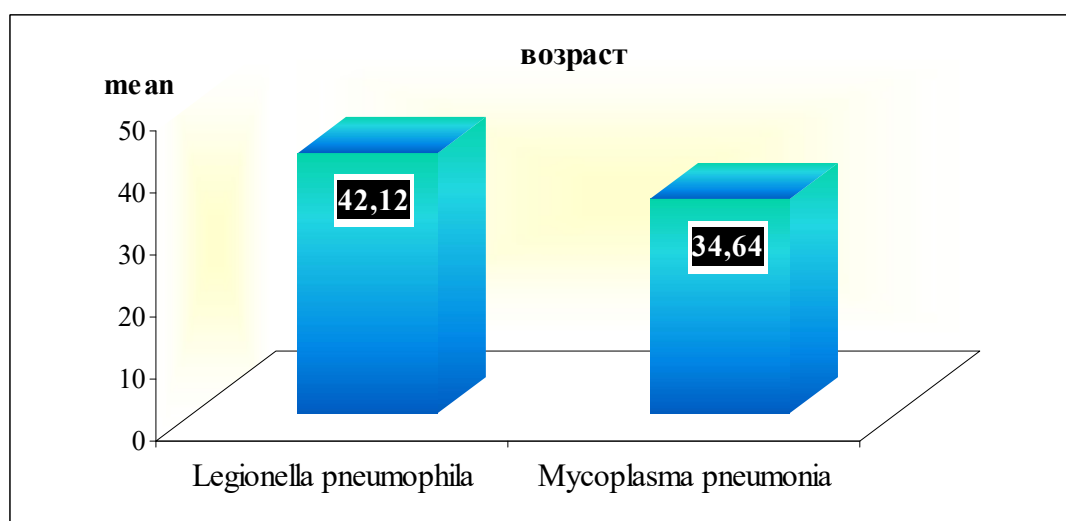
Слика 30. Полова дистрибуција - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Просечната возраст на проспективно следените пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* беше $42,1 \pm 9,9$, додека просечната возраст на пациентите со атипична пневмонија со *Mycoplasma pneumoniae* беше $34,6 \pm 8,6$. Разликата од 7,5 години во просек статистички се потврди како сигнификантна за $p=0,023$. Постарите пациенти значајно почесто се инфицирани со *Legionella pneumophila*, помладите значајно почесто со *Mycoplasma pneumoniae* (табела 35, слика 31).

Табела 35. Возраст на испитаниците - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Варијабла	причинител		p-level
	<i>Legionella pneumophila</i> mean ± SD	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> mean ± SD	
возраст	42,12 ± 9,9	34,64 ± 8,6	0,023

p (Student t-test)

Слика 31. Возраст на испитаниците - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

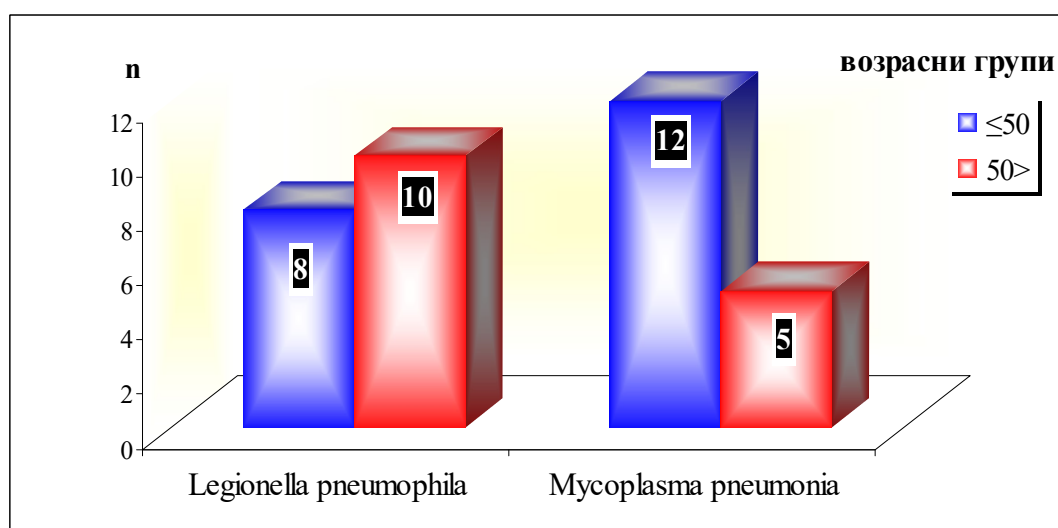
Споредбата на двете групи пациенти во однос на возраста анализирана до и над 50 години, покажува дека пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* почесто од пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* беа на возраст над 50 години – 10/18 наспроти 5/17. Останатите 8/18 пациенти инфицирани со *Legionella pneumophila* и 12/17 со *Mycoplasma pneumoniae* беа на возраст од 50 години и помлади.

Опишаните разлики во дистрибуцијата на возрастните групи до и над 50 години, меѓу пациентите инфицирани со *Legionella pneumophila* и со *Mycoplasma pneumoniae* не беа доволни за да се потврдат и статистички како сигнификантни ($p=0,12$) (табела 36, слика 32).

Табела 36. Возраст на испитаниците - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Возрасни групи	n (%)	Legionella pneumophila		p-level
		n (%)	n (%)	
≤50	20 (57,14)	8 (44,44)	12 (70,59)	$X^2=2,4$
50>	15 (42,86)	10 (55,56)	5 (29,41)	p=0,12
вкупно	35	18	17	

X^2 (Chi-square test)

Слика 32. Возраст на испитаниците - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

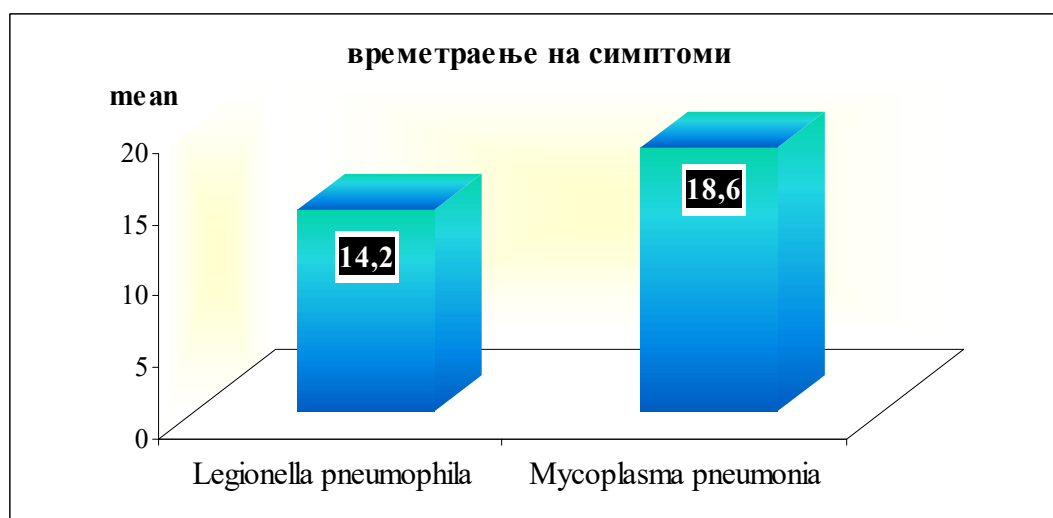
Нашите резултати покажаа сигнификантна разлика во должината на траење на симптомите до приемот за преглед ($p<0,001$).

Во групата пациенти со атипична пневмонија чиј причинител е *Legionella pneumophila*, симптомите просечно траеле околу 2 недели, значајно пократко од просечното траење на симптомите во групата пациенти со атипична пневмонија чиј причинител е *Mycoplasma pneumoniae*, кое изнесува околу 3 недели ($14,2 \pm 2,3$ наспроти $18,6 \pm 2,7$) (табела 37, слика 33).

Табела 37. Времетраење на симптомите - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Варијабла	причинител		p-level
	<i>Legionella pneumophila</i> mean \pm SD	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> mean \pm SD	
времетраење на симптоми	14,2 \pm 2,3	18,6 \pm 2,7	<0,001 sig

p (Student t-test)

Слика 33. Просечно времетраење на симптомите - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Од 34,3 % (12) пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae* беше добиен анамнестички податок за коморбидитетни состојби.

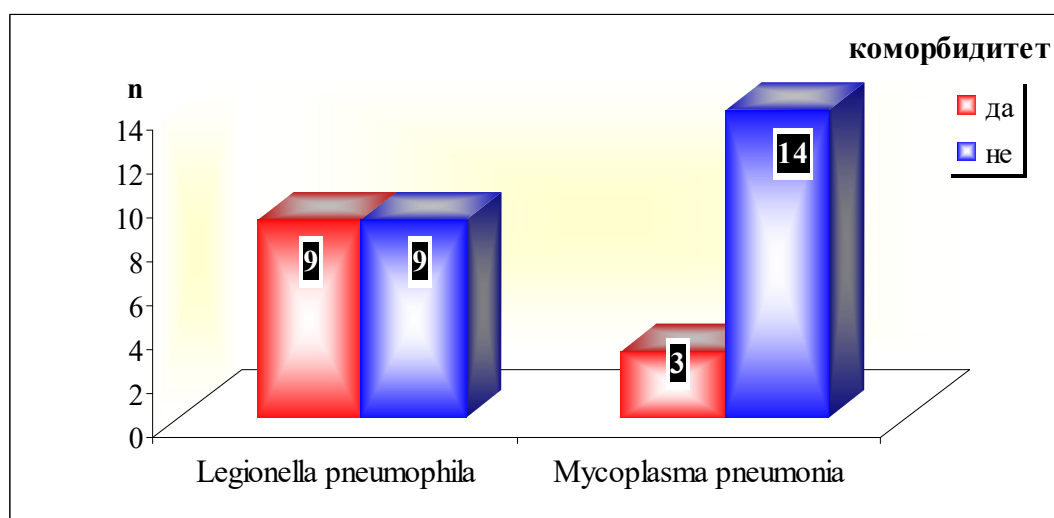
Коморбидитетот сигнификантно почесто беше регистриран кај пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*, споредено со пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* ($p=0,044$).

Придружни хронични состојби имаа половина пациенти од групата инфицирани со *Legionella pneumophila* – 9/18, наспроти 3/17 пациенти од групата инфицирани со *Mycoplasma pneumoniae* (табела 38, слика 34).

Табела 38. Коморбидитет - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Коморбидитет	n (%)			p-level
		<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
		n (%)	n (%)	
да	12 (34,29)	9(50)	3 (23,53)	$X^2=4,06$
не	23(65,71)	9 (50)	14 (76,47)	p=0,044
вкупно	35	18	17	

X^2 (Chi-square test)



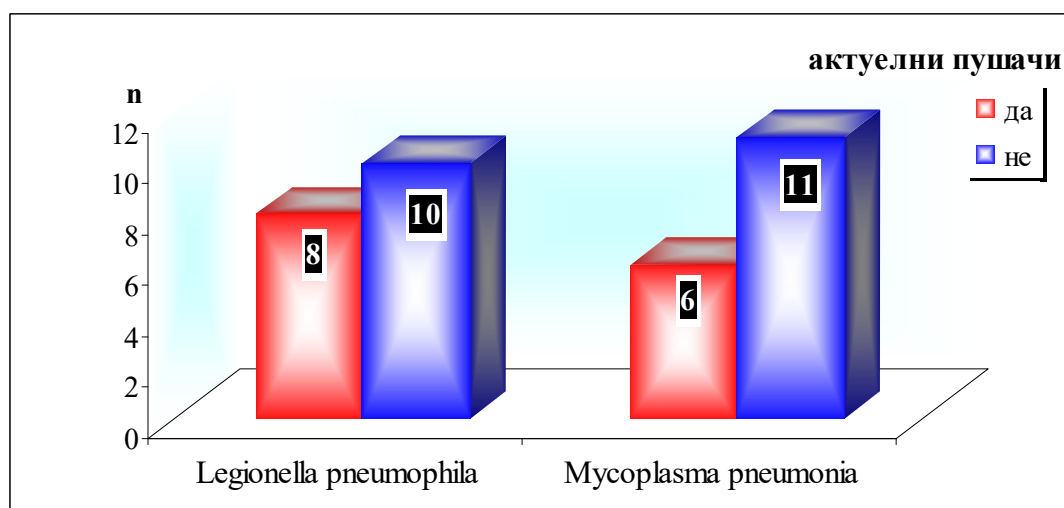
Слика 34. Коморбидитет - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Статус на активни пушачи имаа 40 % (14) испитаници, и тоа, 8/18 пациенти со атипична пневмонија со потврдена *Legionella pneumophila* и 6/17 пациенти со атипична пневмонија со потврдена *Mycoplasma pneumoniae*. Не беше потврдена статистичка сигнификантна разлика меѓу испитаниците актуелни пушачи и непушачи, а во зависност од причинителот на атипичната пневмонија ($p=0,58$) (табела 39, слика 35).

Табела 39. Пушачки статус - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Актуелни пушачи	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	p-level
		n (%)	n (%)	
да	14 (40)	8(44,44)	6 (35,29)	$X^2=0,3$
не	21(60)	10 (55,56)	11 (64,71)	$p=0,58$
вкупно	35	18	17	

X^2 (Chi-square test)

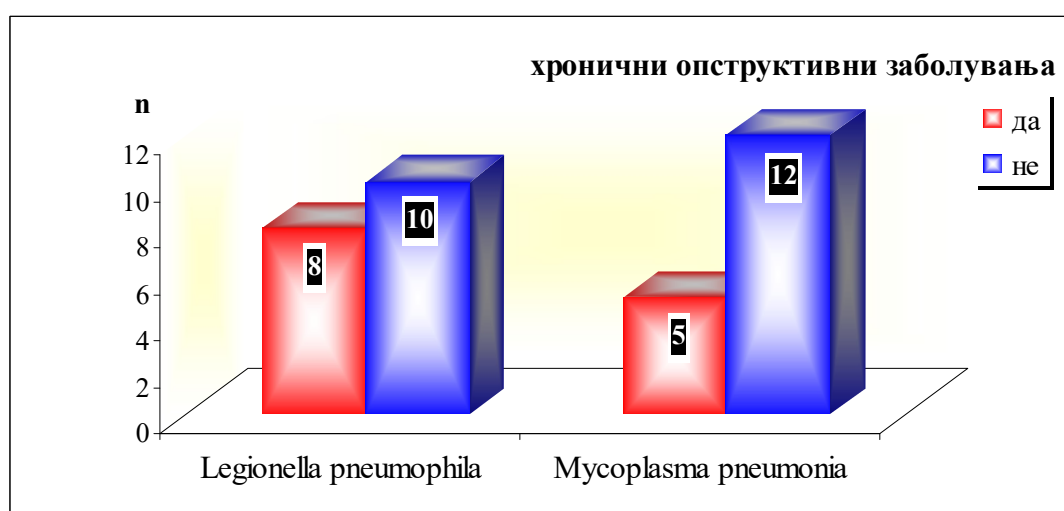
Слика 35. Пушачки статус - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Со историја на хронични опструктивни заболувања беа 37,1 % (13 испитаници). Несигнификантно почесто хронични опструктивни заболувања имаа пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*, споредено со пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* – 8/18 наспроти 5/17, $p=0,36$ (табела 40, слика 36).

Табела 40. Хронични опструктивни заболувања - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Хронични опструктивни заболувања	n (%)			p-level
		<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
		n (%)	n (%)	
да	13 (37,14)	8 (44,44)	5(29,41)	$X^2=0,85$
не	22 (62,86)	10 (55,56)	12 (70,59)	$p=0,36$
вкупно	35	18	17	

X^2 (Chi-square test)



Слика 36. Хронични опструктивни заболувања - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

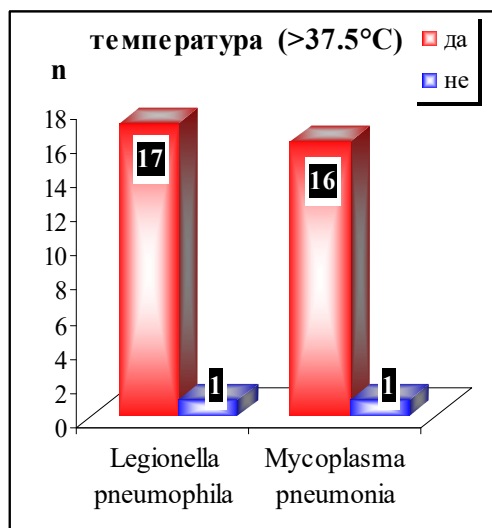
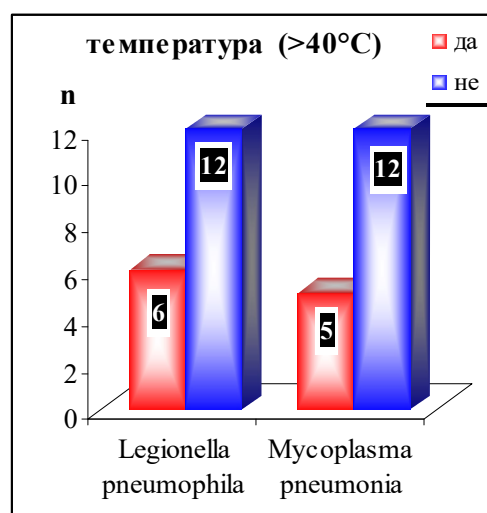
Еден од карактеристичните симптоми на заболувањето беше температурата повисока од 37,5 °C регистрирана кај 94,3 % (33 пациенти), односно само еден пациент од групата со потврдена *Legionella pneumophila* и еден пациент од групата со потврдена *Mycoplasma pneumoniae* беа со нормална телесна температура.

Од 31,4 % (11) пациенти беше добиен анамнестички податок за температура повисока од 40 °C. Во групата инфицирани со *Legionella pneumophila* и со *Mycoplasma pneumoniae* многу висока температура имаа 6/18 и 5/17 пациенти консеквентно.

Тестираната разлика во дистрибуцијата на испитаниците со и без температура повисока од 37,5 °C, и со и без температура повисока од 40 °C во зависност од причинителот на заболувањето статистички беше несигнификантна ($p=0,74$, $p=0,3$ следствено) (табела 41, слика 37, 38).

Табела 41. Зголемена телесна температура - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом	n (%)	p-level		
		<i>Legionella pneumophila</i> n (%)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> n (%)	
температура (>37,5 °C)				
да	33 (94,29)	17 (94,44)	16 (94,12)	Fisher exact, two tailed p=1.0
не	2(5,71)	1 (5,56)	1 (5,88)	
вкупно	35	18	17	
температура (>40 °C)				
да	11 (31,43)	6 (33,33)	5 (29,41)	X ² =0,06 p=0,8
не	24(68,57)	12 (66,67)	12 (70,59)	
вкупно	35	18	17	

X² (Chi-square test)Слика 37. Температура >37,5 °C *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*Слика 38. Температура >40 °C) *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Сите 35 пациенти со атипична пневмонија со потврдена *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae* имаа кашлица (табела 42).

Табела 42. Кашлица - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом			
Кашлица	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
		n (%)	n (%)
да	35 (100)	18 (100)	17 (100)
не	0	0	0
вкупно	35	18	17

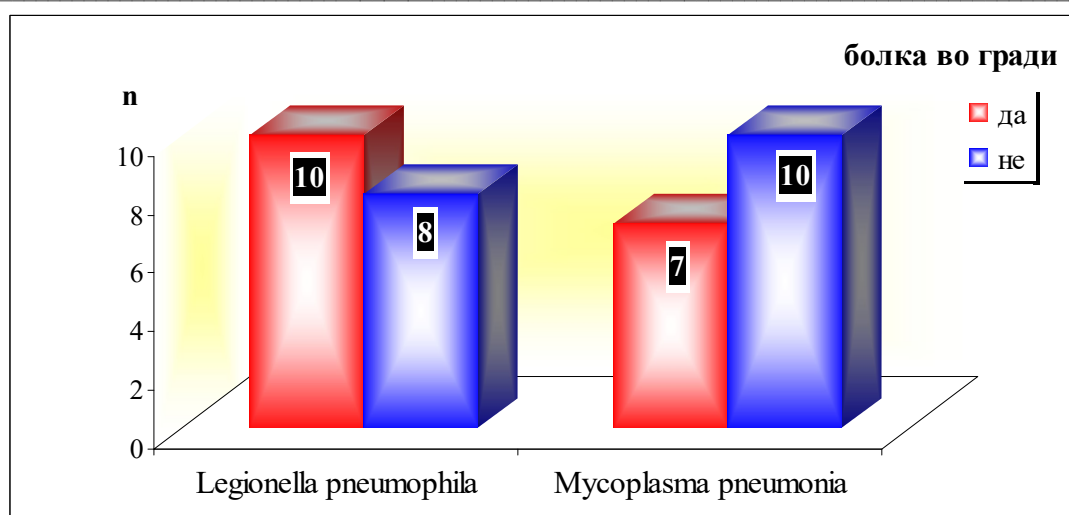
На болка во градите се жалеле 48,6 % (17) пациенти, односно 10/18 од групата инфицирани со *Legionella pneumophila* и 7/17 од групата инфицирани со *Mycoplasma pneumoniae*.

Не беше потврдена статистички сигнификантна разлика во фреквенцијата на болката во градите меѓу двете групи пациенти ($p=0,39$) (табела 43, слика 39).

Табела 43. Болки во градите - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом				p-level
Болка во градите	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
		n (%)	n (%)	
да	17 (48,57)	10 (55,56)	7(41,18)	$X^2=0,72$
не	18 (51,43)	8 (44,46)	10 (58,82)	$p=0,39$
вкупно	35	18	17	

X^2 (Chi-square test)



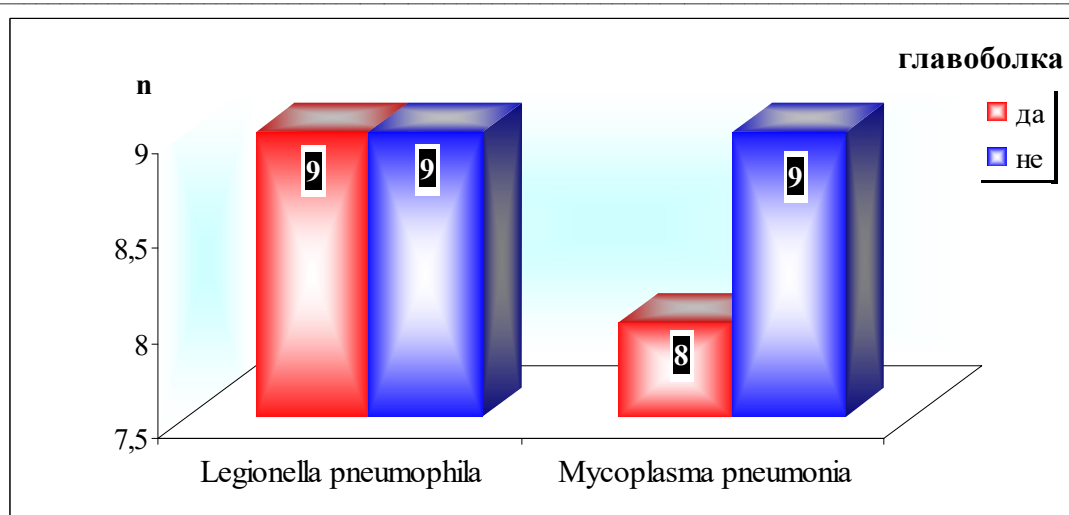
Слика 39. Болки во градите - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Статистички несигнификантна беше разликата меѓу двете групи пациенти во однос на зачестеноста на симптомот главоболка ($p=0,86$). Кај половина пациенти од групата со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* беше присутна главоболка и кај 8/17 пациенти од групата со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae*, односно кај 48,6 % (17) пациенти од двете групи (табела 44, слика 40).

Табела 44. Главоболка - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом	n (%)	p-level	
		<i>Legionella pneumophila</i> n (%)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> n (%)
Главоболка			
да	17 (48,57)	9 (50)	8(47,06)
не	18 (51,43)	9 (50)	9 (52,94)
вкупно	35	18	17

χ^2 (Chi-square test)



Слика 40. Главоболка - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

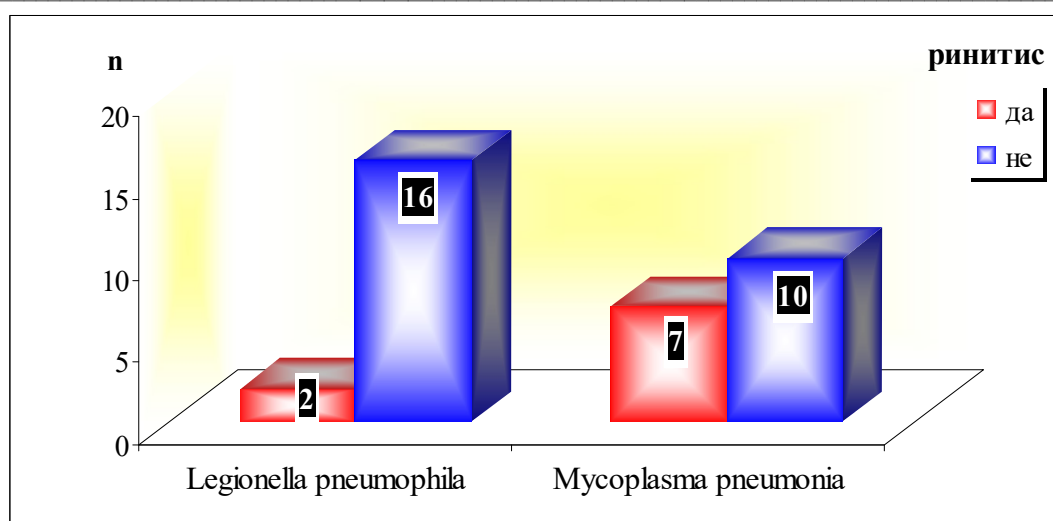
Во групата од 35 проспективно следени пациенти инфицирани со *Legionella pneumophila* и со *Mycoplasma pneumoniae*, ринитис имале 25,7 % (9) пациенти, и тоа почесто пациентите инфицирани со *Mycoplasma pneumoniae*, односно само 2/18 од групата со потврдена *Legionella pneumophila* и 7/17 од групата со потврдена *Mycoplasma pneumoniae*.

Статистичка сигнификантност меѓу двете групи во однос на зачестеноста на ринитисот, беше потврдена за вредност на $p=0,06$. Овој симптом беше незначајно почест кај пациентите со атипична пневмонија чиј причинител беше *Mycoplasma pneumoniae*, споредено со пациентите чиј причинител беше *Legionella pneumophila* (табела 45, слика 41).

Табела 45. Ринитис - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом	n (%)	p-level	
		<i>Legionella pneumophila</i> n (%)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> n (%)
да	9(25,71)	2(11,11)	7(41,18)
не	26 (74,29)	16 (88,89)	10 (58,82)
вкупно	35	18	17

p(Fisher exact, two tailed test)



Слика 41. Ринитис - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

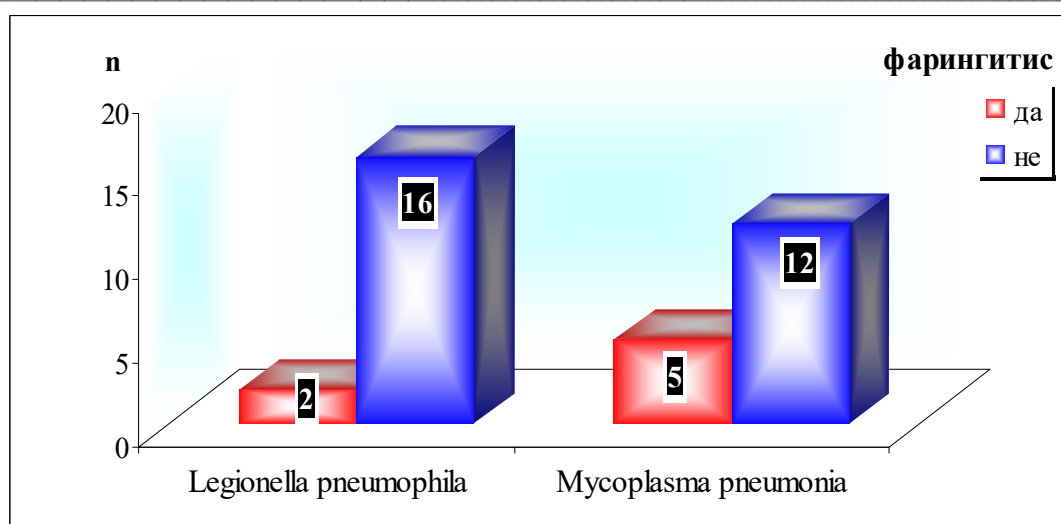
Кај 20 % (7) пациенти беше регистриран наод на фарингитис, од кои 2/18 во групата беа со потврдена *Legionella pneumophila* и 5/17 од групата со потврдена *Mycoplasma pneumoniae*.

Почестиот наод на фарингитис кај пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae*, споредено со пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*, не се потврди како статистички сигнификантен ($p=0,23$) (табела 46, слика 42).

Табела 46. Фарингитис - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом	n (%)	p-level		
		<i>Legionella pneumophila</i> n (%)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> n (%)	
Фарингитис				
да	7 (20)	2(11,11)	5(29,41)	p=0,23
не	28 (80)	16 (88,89)	12 (70,59)	
вкупно	35	18	17	

p(Fisher exact, two tailed test)



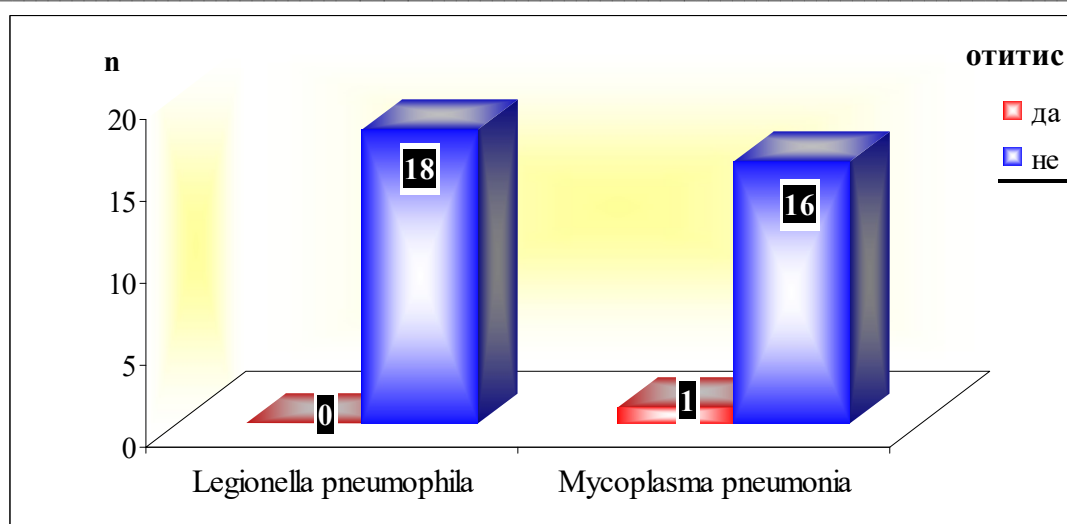
Слика 42. Фарингитис - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Отитис имаше само еден пациент, и тоа од групата атипични пневмонии со *Mycoplasma pneumoniae* (табела 47, слика 43).

Табела 47. Отитис - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом				p-level
Отитис	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
		n (%)	n (%)	
да	1(2,86)	0	1 (5,88)	p=0,49
не	34 (97,14)	18 (100)	16 (94,12)	
вкупно	35	18	17	

p(Fisher exact, two tailed test)



Слика 43. Отитис - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

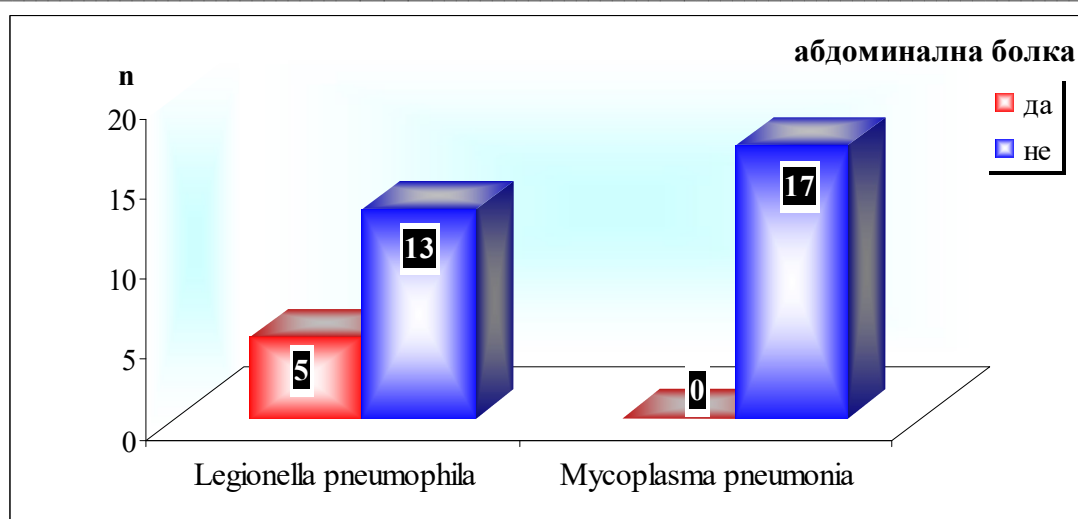
Кај 14,3 % (5) испитаници, во склоп на клиничката слика на заболувањето се манифестираше и абдоминална болка. Кај сите 5 пациенти, причинител на атипичната пневмонија беше *Legionella pneumophila*.

Статистичката анализа потврди дека за вредност на $p=0,045$, појавата на абдоминална болка беше сигнификантно почесто поврзана со *Legionella pneumophila* споредено со *Mycoplasma pneumoniae* (табела 48, слика 44).

Табела 48. Абдоминална болка - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом		p-level		
Абдоминална болка	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	p=0,045
		n (%)	n (%)	
да	5 (14,29)	5 (27,78)	0	
не	30 (85,71))	13 (72,22)	17 (100)	
вкупно	35	18	17	

p(Fisher exact, two tailed test)



Слика 44. Абдоминална болка - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

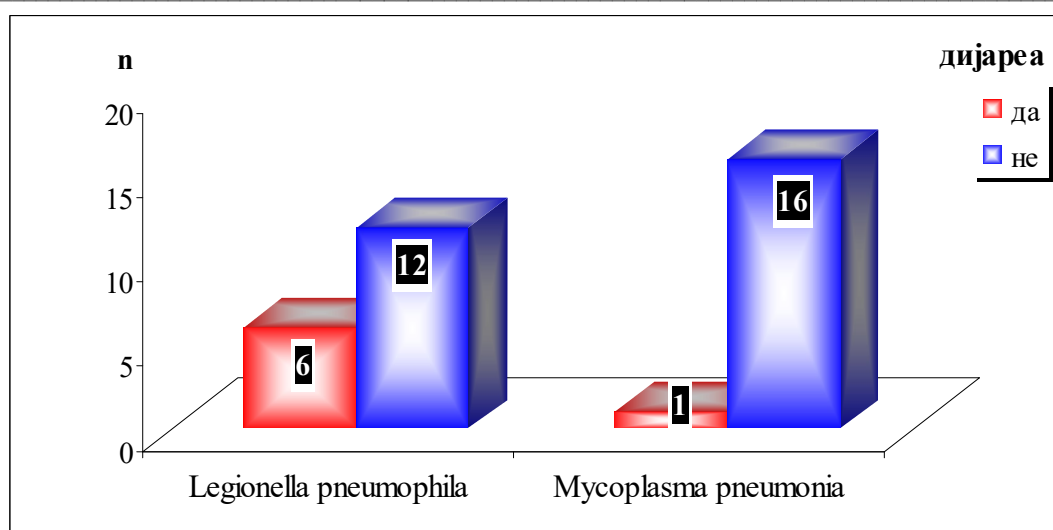
Со дијареја се регистрирани 20 % (7) испитаници, 6/18 со потврдена *Legionella pneumophila* и 1/17 со потврдена *Mycoplasma pneumoniae* (табела 49, слика 45).

При тестирањето на разликата во дистрибуцијата на пациентите со и без дијареја меѓу пациентите инфицирани со *Legionella pneumophila* и со *Mycoplasma pneumoniae*, беше добиена вредност на $p=0,09$, односно почестиот наод на овој симптом во групата пациенти инфицирани со *Mycoplasma pneumoniae* не се потврди како сигнификантен.

Табела 49. Дијареја - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом	n (%)	p-level	
		<i>Legionella pneumophila</i> n (%)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> n (%)
дијареја			
да	7 (20)	6 (33,33)	1 (5,88)
не	28 (80)	12 (66,67)	16 (94,12)
вкупно	35	18	17

p(Fisher exact, two tailed test)



Слика 45. Дијареја - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

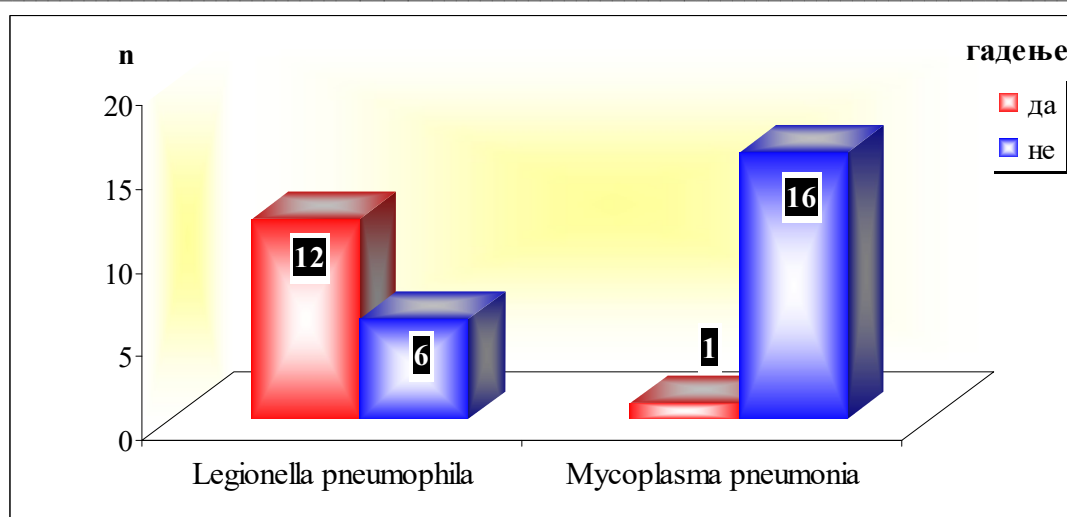
Пациентите со атипична пневмонија чиј причинител е *Legionella pneumophila* сигнификантно почесто од пациентите чиј причинител е *Mycoplasma pneumoniae* имале гадење ($p=0,0002$). Според добиените резултати, гадење имале 12/18 пациенти во групата со потврдена *Legionella pneumophila*, а 1/17 пациенти во групата со потврдена *Mycoplasma pneumoniae*.

Во двете групи заедно, честотата на симптомот гадење беше 37,1 % (13) испитаници (табела 50, слика 46).

Табела 50. Гадење - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом				p-level
Гадење	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
		n (%)	n (%)	
да	13 (37,14)	12 (66,67)	1 (5,88)	$X^2=13,84$
не	22 (62,86)	6 (33,33)	16 (94,12)	$p=0,0002$
вкупно	35	18	17	

X^2 (Chi-square test)



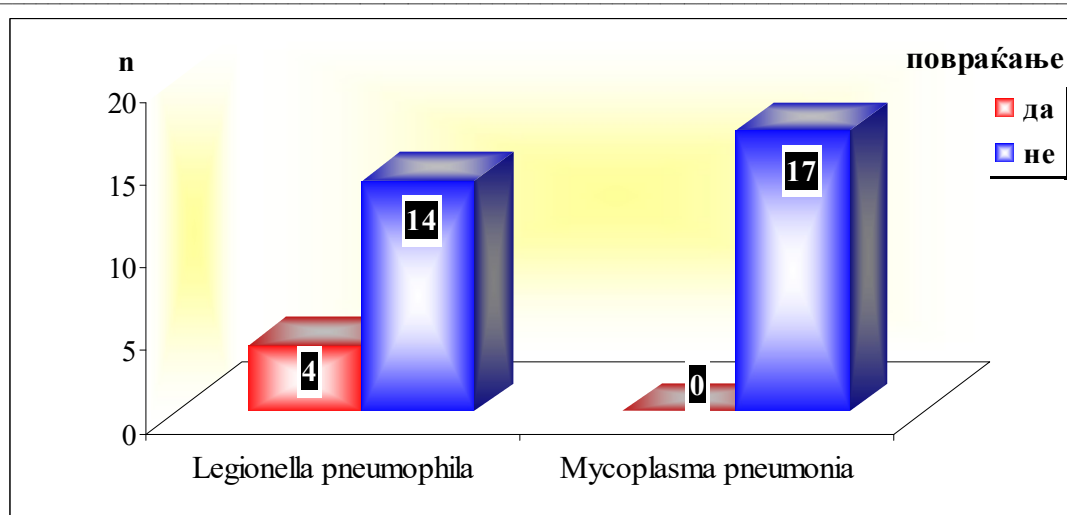
Слика 46. Гадење - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Кај 4 пациенти, сите со атипична пневмонија со причинител *Legionella pneumophila* беше регистрирана појава на повраќање. Со ваков симптом немаше регистрирано пациенти чиј причинител беше *Mycoplasma pneumoniae* (табела 51, слика 47).

Табела 51. Повраќање - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом	n (%)	p-level		
		<i>Legionella pneumophila</i> n (%)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> n (%)	
Повраќање				
да	4 (11,43)	4 (22,22)	0	
не	31 (88,57)	14 (77,78)	17 (100)	p=0,1
вкупно	35	18	17	

p(Fisher exact, two tailed test)



Слика 47. Повраќање - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

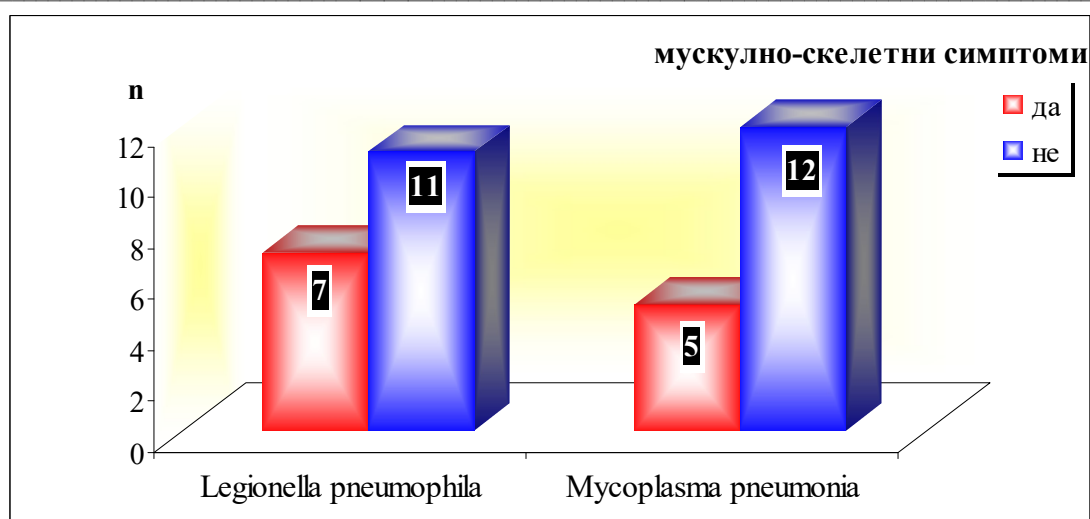
Мускулноскелетни симптоми од типот на миалгии, артралгии и полиартритиси се манифестираа кај 34,3 % (12) испитаници, од кои 7/18 со потврдена *Legionella pneumophila* и 5/17 со потврдена *Mycoplasma pneumoniae*.

Статистичката анализа ја потврди разликата меѓу двете групи како несигнификантна во однос на фреквенцијата на мускулноскелетните манифестации ($p=0,56$) (табела 52, слика 48).

Табела 52. Мускулноскелетни болки - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом				p-level
Мускулноскелетни	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
		n (%)	n (%)	
да	12 (34,29)	7 (38,89)	5 (29,41)	$X^2=0,35$
не	23 (65,71)	11 (61,11)	12 (70,59)	$p=0,55$
вкупно	35	18	17	

X^2 (Chi-square test)



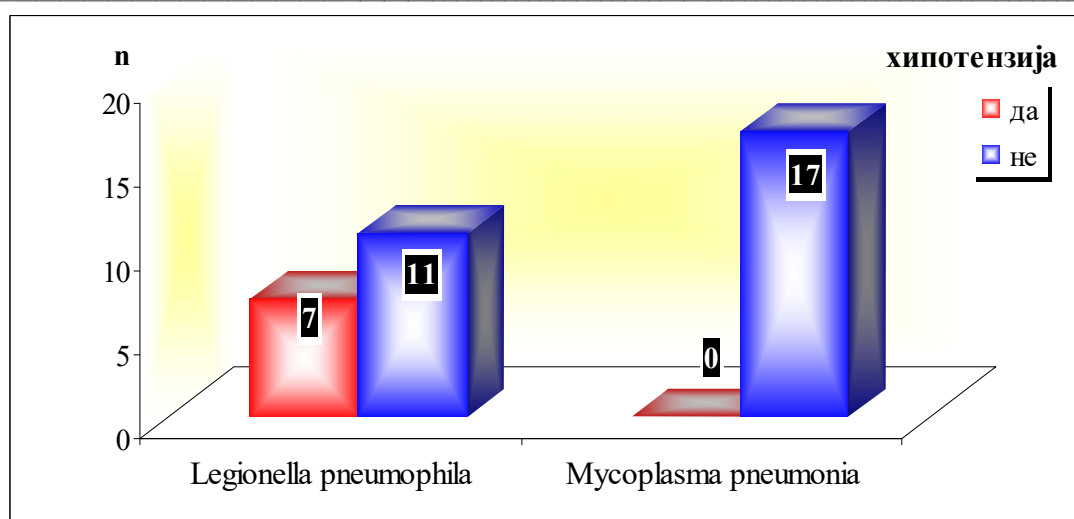
Слика 48. Мускулноскелетни болки - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Во групата анализирани пациенти со атипична пневмонија инфицирани со *Legionella pneumophila* и со *Mycoplasma pneumoniae*, беа регистрирани 20 % (7) пациенти со ниска тензија, сите со изолиран причинител *Legionella pneumophila*. За $p=0,008$ беше потврдена статистички сигнификантна разлика во зачестеноста на хипотензивните пациенти, во зависност од инфицираноста со *Legionella pneumophila* или *Mycoplasma pneumoniae* (табела 53, слика 49).

Табела 53. Хипотензија - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом		p-level		
Хипотензија	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	p=0,008
		n (%)	n (%)	
да	7 (20)	7 (38,89)	0	
не	28 (80)	11 (61,11)	17 (100)	
вкупно	35	18	17	

p(Fisher exact, two tailed test)



Слика 49. Хипотензија - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

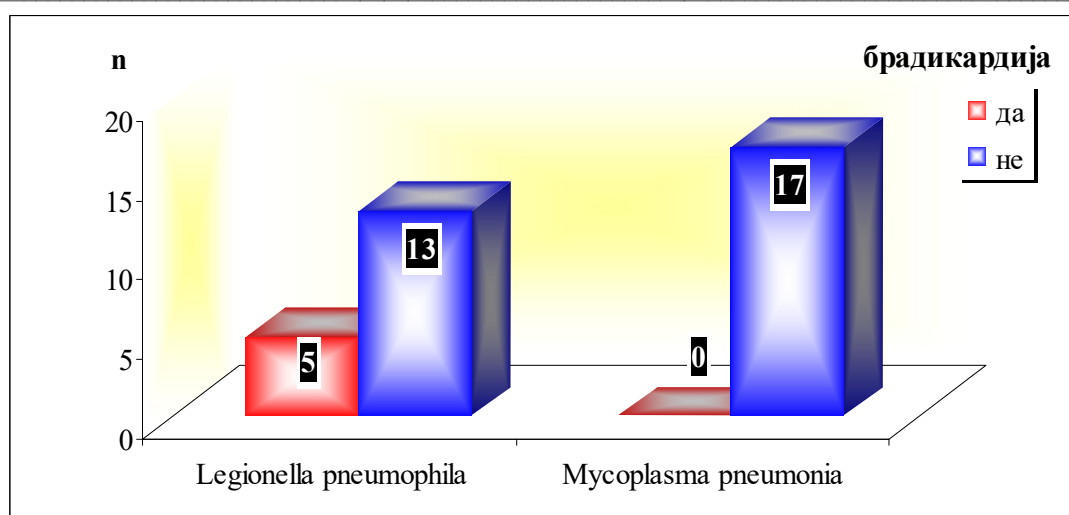
Брадикардични беа 14,3 % (5) пациенти, сите 5 од групата со атипична пневмонија со потврдена *Legionella pneumophila*.

И статистички се потврди дека брадикардијата како симптом сигнификантно почесто се манифестираше кај пациентите инфицирани со *Legionella pneumophila* споредено со пациентите инфицирани со *Mycoplasma pneumoniae* ($p=0,045$) (табела 54 слика 50).

Табела 54. Брадикардија - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Симптом	n (%)	p-level	
		<i>Legionella pneumophila</i> n (%)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> n (%)
да	5 (14,29)	5 (27,78)	0
не	30 (85,71)	13 (72,22)	17 (100)
вкупно	35	18	17

p(Fisher exact, two tailed test)



Слика 50. Брадикардија - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

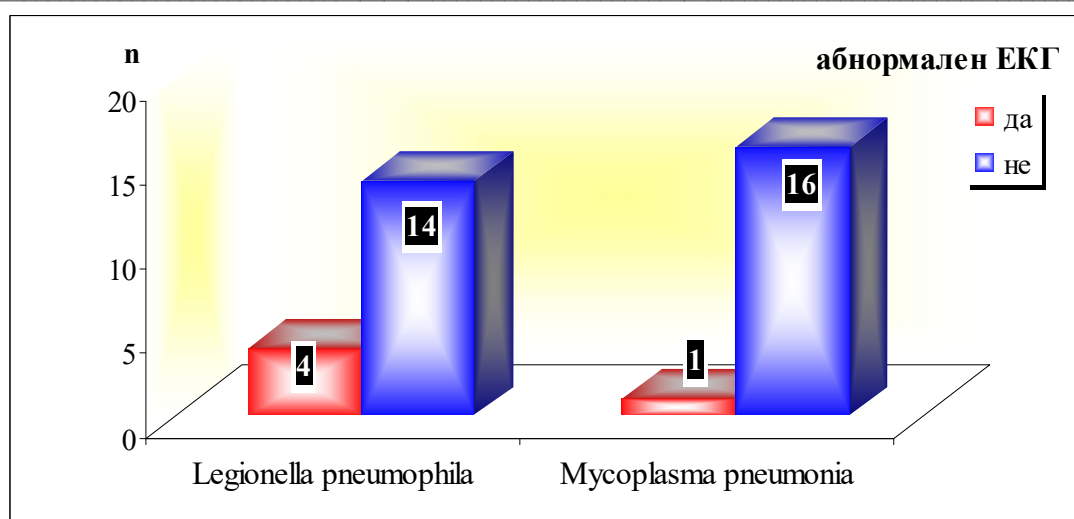
Електрокардиографски наод беше регистриран кај 14,3 % (5) испитаници од двете групи, почесто во групата со откриена *Legionella pneumophila* – 4/18 наспроти 1/17.

Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во наодот на абнормалниот ЕКГ меѓу пациентите со атипична пневмонија чиј причинител беше *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae* ($p=0,19$) (табела 55, слика 37).

Табела 55. Абнормален ЕКГ - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Абнормален ЕКГ	n (%)	p-level		
		<i>Legionella pneumophila</i> n (%)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> n (%)	
да	5 (14,29)	4 (22,22)	1(5,88)	p=0,19 ns
не	30 (85,71)	14 (77,78)	16 (94,12)	
вкупно	35	18	17	

p(Fisher exact, two tailed test)



Слика 51. Абнормален ЕКГ - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

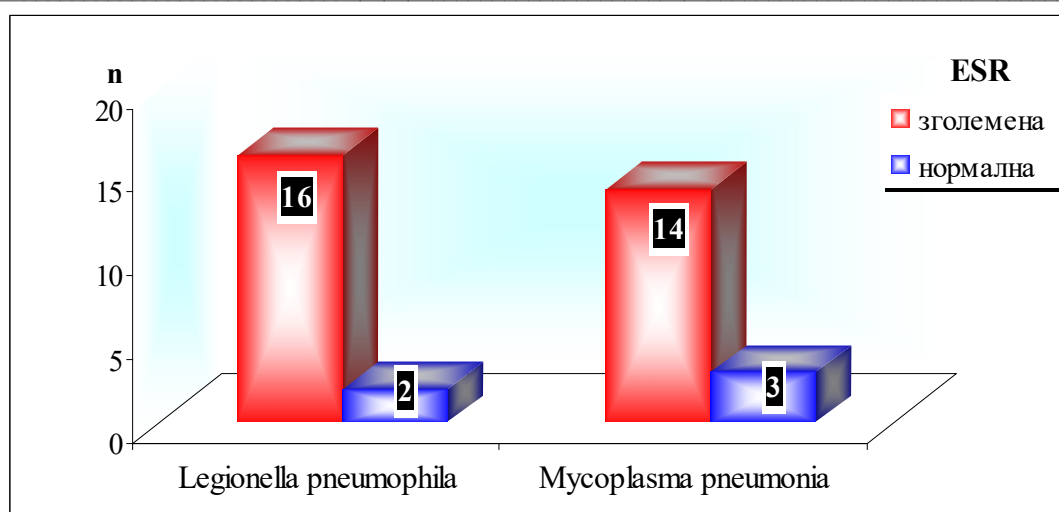
Покачена седиментација на еритроцитите имаа околу 85 % (30) пациенти. И одделно, во двете групи, мнозинството пациенти имаа вредности на седиментацијата повисоки од >20mm/1h, или, 16/18 пациенти инфицирани со *Legionella pneumophila* и 14/17 пациенти инфицирани со *Mycoplasma pneumoniae*.

Статистички несигнификантна беше разликата меѓу двете групи пациенти, во однос на наодот на покачена седиментација на еритроцитите ($p=0,66$) (табела 56, слика 50).

Табела 56. Седиментација на еритроцитите - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Лабораторија				p-level
ESR normal range >20mm/1h	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
		n (%)	n (%)	
зголемена	30 (85,71)	16 (88,89)	14 (82,35)	p=0,66
нормална	5 (14,29)	2 (11,11)	3 (17,65)	
вкупно	35	18	17	

p(Fisher exact, two tailed test)



Слика 52. Седиментација на еритроцитите - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

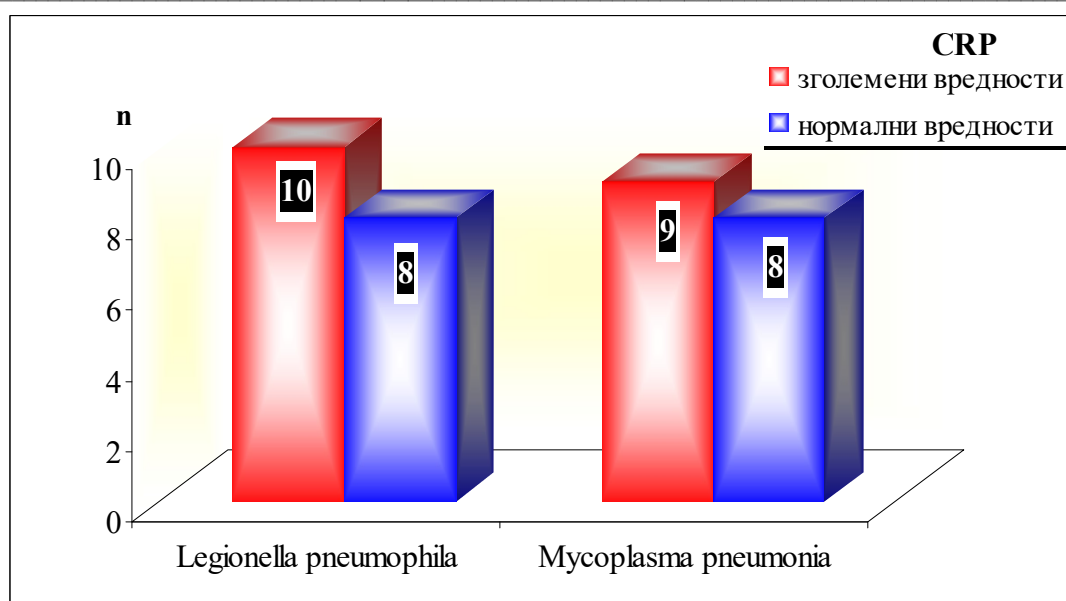
Околу половина од пациентите од групата, 35 анализирани имаа зголемени вредности на CRP. Слична беше дистрибуцијата и во секоја од двете групи, односно, вредности на CRP повисоки од 10mg/L имаа 10/18 пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* и 9/17 пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae*.

Не беше најдена статистички сигнификантна разлика меѓу пациентите инфицирани со *Legionella pneumophila* и со *Mycoplasma pneumoniae*, а во зависност од наодот на покачен CRP ($p=0,88$) (табела 57, слика 53).

Табела 57. CRP - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Лабораторија				p-level
CRP	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i> n (%)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> n (%)	
normal range 10mg/L				
зголемен	19 (54,29)	10 (55,56)	9 (52,94)	$X^2=0,02$
нормален	16 (45,71)	8 (44,44)	8 (47,06)	$p=0,88$
вкупно	35	18	17	

X^2 (Chi-square test)



Слика 53. CRP - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

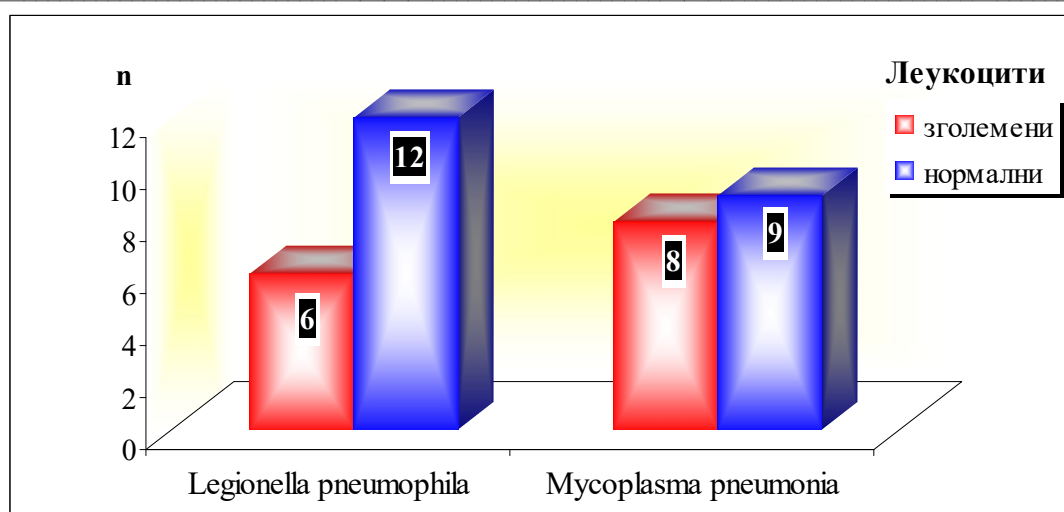
Во оваа анализирана група пациенти со атипична пневмонија инфицирани со *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae*, леукоцитоза имаа 40 % (14) испитаници од 6/18 со потврдена *Legionella pneumophila*, а 8/17 со потврдена *Mycoplasma pneumoniae*.

Тестираната разлика во дистрибуцијата на испитаници со зголемени и со нормални леукоцити меѓу групата со *Legionella pneumophila* и со *Mycoplasma pneumoniae*, статистички беше несигнификантна, односно незначајна ($p=0,4$) (табела 58, слика 54).

Табела 58. Леукоцити - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Лабораторија				p-level
Леукоцити	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
normal range 4-10 x10 ⁹ /L		n (%)	n (%)	
зголемени	14 (40)	6 (33,33)	8(47,06)	$X^2=0,69$
нормални	21 (60)	12 (66,67)	9(52,94)	$p=0,41$
вкупно	35	18	17	

X^2 (Chi-square test)



Слика 54. Леукоцити - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

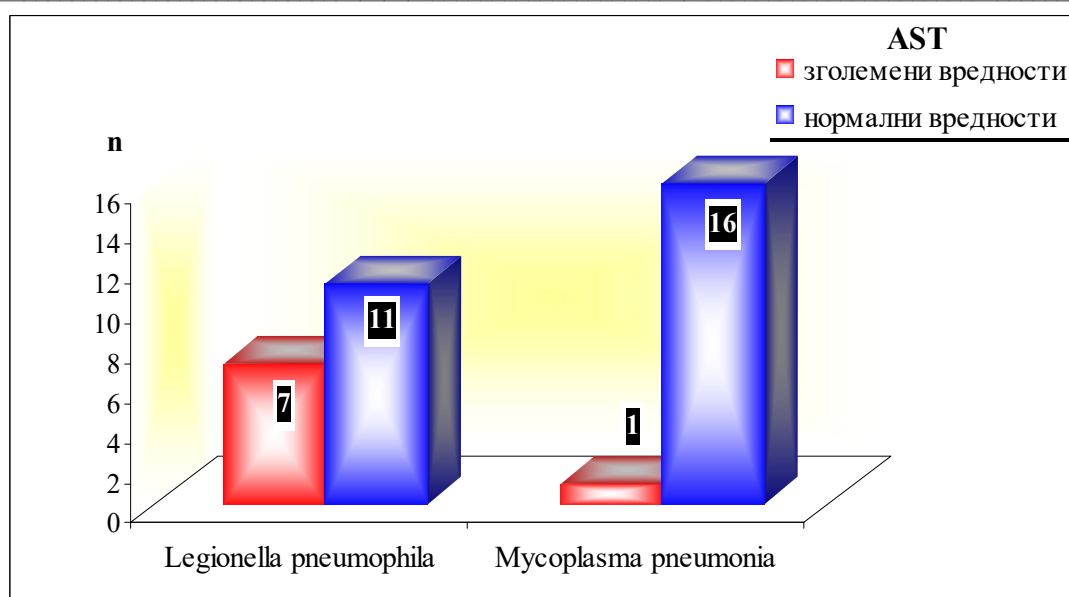
Зголемени вредности на AST-ензимот во серум беа измерени кај 22,9 % (8) испитаници, од кои 7/18 од групата беа со потврдена *Legionella pneumophila* и 1/17 од групата со потврдена *Mycoplasma pneumoniae*.

Статистичката анализа потврди сигнификантна разлика меѓу двете групи во однос на серумските вредности на AST ($p=0,04$). Пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*, значајно почесто од пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* имаа зголемени вредности на AST (табела 59, слика 55).

Табела 59. AST - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Лабораторија				p-level
AST	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i> n (%)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> n (%)	
normal range 5-37 IU/L				
зголемени	8 (22,86)	7 (38,89)	1 (5,88)	
нормални	27 (77,14)	11 (61,11)	16 (94,12)	p=0,04
вкупно	35	18	17	

p(Fisher exact, two tailed test)



Слика 55. AST - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

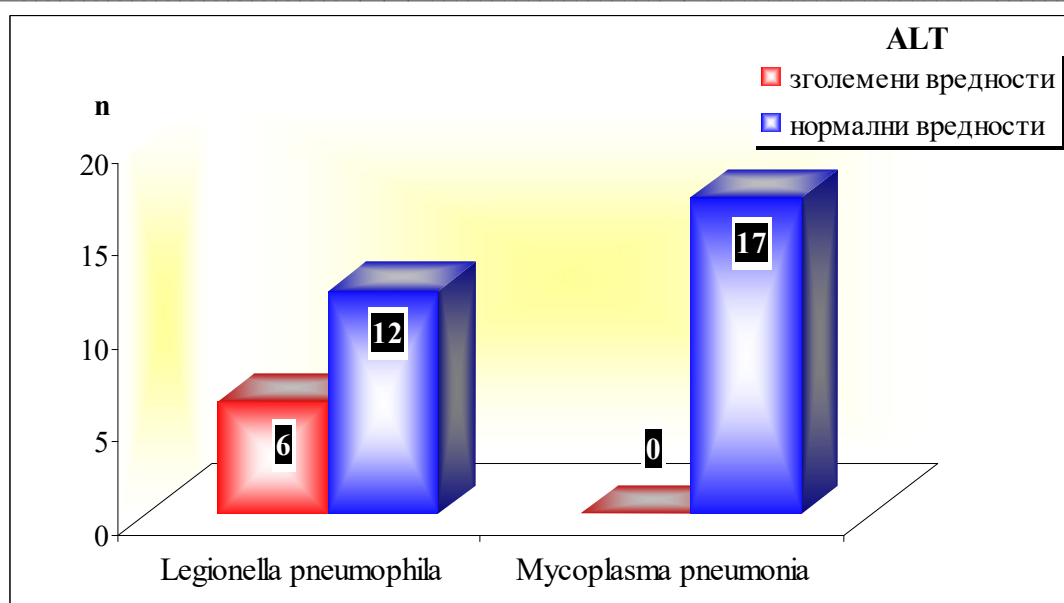
Зголемена активност на ALT беше измерена кај 17,1 % (6) пациенти во групата од 35 со атипична пневмонија. Сите 6 беа со докажано присуство на *Legionella pneumophila*.

За вредност на $p=0,019$ беше потврдена статистички сигнификантна разлика во дистрибуцијата на пациенти со зголемени и со нормални серумски вредности на ALT, меѓу двете групи. Зголемена активност на ALT се манифестираше значајно почесто кај пациентите инфицирани со *Legionella pneumophila*, во споредба со пациентите инфицирани со *Mycoplasma pneumoniae* (табела 60, слика 56).

Табела 60. ALT - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Лабораторија				p-level
ALT	n (%)	<i>Legionella pneumophila</i> n (%)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> n (%)	
normal range 10-63 IU/L				
зголемени	6 (17,14)	6 (33,33)	0	
нормални	29 (82,86)	12 (66,67)	17(100)	$p=0,019$
вкупно	35	18	17	

p(Fisher exact, two tailed test)



Слика 56. ALT - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

Пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* и од *Mycoplasma pneumoniae* имаа несигнификантно различни вредности на седиментацијата на еритроцитите ($p=0,09$), на CRP ($p=0,24$) и леукоцити ($p=0,3$).

Двете групи пациенти имаа сигнификантно различни вредности на ензимите AST ($p<0,001$) и ALT ($p=0,009$). Двата ензима манифестираа значајно повисоки вредности кај пациентите инфицирани со *Legionella pneumophila*.

Табела 61. Просечни вредности на одредени лабораториски параметри - *Legionella pneumophila* наспроти *Mycoplasma pneumoniae*

	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	p-level
ESR	58,82 ± 24,5	47,64 ± 22,9	0,09
CPR	48,3 ± 9,8	3,9 ± 7,73	0,24
WBC	10,32 ± 4,3	9,87 ± 3,9	0,3
AST	63,93 ± 31,91	22,58 ± 17,63	<0,001
ALT	71,22 ± 43,77	27,52 ± 17,13	0,009

Z (Mann-Whitney test)

ДИЈАГНОСТИЧКА ВРЕДНОСТ НА ПНЕВМОСЛАЈДОТ

Во табелата 62 и во табелата 64 се прикажани резултатите од испитуваната валидност на пневмослајдот, како серолошка метода во дијагностицирање на атипичните пневмонии предизвикани од *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae*, при што како златен стандард се зема молекуларната метода ПВР.

Во табелата 62 се анализираните перформанси на пневмослајдот во потврдување на дијагнозата атипична пневмонија чиј причинител е *Legionella pneumophila*.

Како што е прикажано во табелата, вкупно 103 пациенти беа опфатени во анализата. Кај 18 од нив, со ПВР беше потврдено присуство на *Legionella pneumophila*. Со пневмослајд се добиени 18 позитивни наоди, од кои 17 вистински позитивни и 1 лажно позитивен. Со оваа метода се добиени 85 негативни наоди, од кои 84 вистински негативни и 1 лажно негативен наод.

Табела 62. Валидност на пневмослајдот при дијагноза на атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*

Пневмослајд	ПВР +	ПВР -	вкупно
+	17	1	18
-	1	84	85
вкупно	18	85	103

Табела 63. Дијагностички перформанси на пневмослајдот при дијагноза на атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila*

	Value	95 % CI
Сензитивност	94,4 %	71 % to 99,7 %
Специфичност	98,8 %	92,7 % to 99,9 %
Позитивна предиктивна вредност	94,4 %	71 % to 99,7 %
Негативна предиктивна вредност	98,8 %	92,7 % to 99,9 %
Глобална точност	98 %	82,6 % to 99,6 %

Пресметаните перформанси се прикажани во табелата 63, при што се пресметани: сензитивност - 85 %; специфичност - 96,3 %; глобална точност на тестот –

91,5 %; што зборува дека пневмослајдот претставува добар дијагностички тест во откривање на пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* (табела 62, 63).

Во табелата 64 се анализираните перформанси на пневмослајдот во потврдување на дијагнозата атипична пневмонија чиј причинител е *Mycoplasma pneumoniae*. Во групата од 103 пациенти вклучени во анализата, кај 17 беше потврдено присуство на *Mycoplasma pneumoniae*. Со пневмослајд се добиени 17 позитивни наоди, од кои 16 вистински позитивни и 1 лажно позитивен. Со оваа метода се добиени 86 негативни наоди, од кои 85 вистински негативни и 1 лажно негативен.

Табела 64. Валидност на пневмослајдот во дијагнозата на атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae*

Пневмослајд	ПВР +	ПВР -	вкупно
+	16	1	17
-	1	85	86
вкупно	17	86	103

Табела 65. Дијагностички перформанси на пневмослајдот при дијагноза на атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae*

	Value	95 % CI
Сензитивност	94,1 %	69,2 % to 99,7 %
Специфичност	98,8 %	92,8 % to 99,9 %
Позитивна предиктивна вредност	94,1 %	69,2 % to 99,7 %
Негативна предиктивна вредност	98,8 %	92,8 % to 99,9 %
Глобална точност	98,1 %	83,0 % to 99,8 %

Пресметаните перформанси се прикажани во табелата 65, при што се пресметани: сензитивност – 88,9 %, специфичноста - 98,8 %, глобална точност на тестот – 91,7 %, што зборува дека пневмослајдот претставува добар дијагностички тест во детектирање на пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* (табела 64, слика 65).

9. ДИСКУСИЈА

Пневмонијата претставува најтешка воспалителна болест на респираторниот систем. Таа е акутно воспаление на белите дробови кое може да биде предизвикано од бројни причинители. Примарните пневмонии се воспаленија кај здрави личности, без познати или новооткриени потенцијални причинители за настанување на болеста. Секундарните пневмонии се јавуваат кај пациенти со веќе познати или новооткриени потенцијални причинители, најчесто со хронични заболувања на белите дробови и на срцето. Атипичните пневмонии скоро секогаш се примарни и се јавуваат меѓу општата популација, кај претходно здрави луѓе и ретко се комплицираат, па затоа овие пациенти, за разлика од тие со бактериските пневмонии, ретко се хоспитализираат. За атипичните пневмонии карактеристична е и сезонската дистрибуција и епидемиолошкото појавување [49-52].

Во оваа студија, која се состоеше од ретроспективен дел, во кој беа анализирани 629 пациенти и проспективен дел, во кој беа опфатени 103 пациенти, кај 40,1 % и 45,6 % од пациентите беше потврдена атипична пневмонија.

Како најчести причинители на атипична пневмонија беа потврдени *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, РСВ. Аденовирусите, инфлуенца А и Б и параинфлуенца имаа ниска преваленција. Како најчест причинител на атипичната пневмонија беше докажан патогенот *Legionella pneumophila*.

Во секојдневната клиничка пракса треба да се направи навремено препознавање на видот на пневмонијата. На оваа тема се направени бројни студии и е утврдено дека ако кај пациентот со пневмонија постојат и екстрапулмонални наоди, треба да се размислува за атипична пневмонија [49-53]. Понатаму, овие пациенти со САР и екстрапулмонални наоди, треба да се поделат на оние со зоонотична или незоонотична САР. Зоонотичните атипични САР, чии причинители се Q-треска, пситакоза или туларемија, се јавуваат по контакт со соодветни вектори. Исклучок е пситакозата која може да биде последица од контакт со здрави или болни птици заразени со пситакоза. Доколку пациентот со атипична пневмонија има негативна епидемиолошка историја за контакт со пситакоза, Q-треска или туларемија, може да се претпостави дека пациентот има атипична пневмонија предизвикана од *Legionella*, *Mycoplasma pneumoniae* или *Chlamidia pneumoniae* [54-59].

За клиничката диференцијација на атипичните пневмонии, од помош е присуството на симптомите од кои последица на зафатеност се другите органи во

телото (кардијални, хепатални и бубрежни). Но, тоа е само модел на екстрапулмонални симптоми што обезбедува основа за симптоматска дијагноза и нивното присуство, значи само поголема веројатност во поставување на клиничката дијагноза [56-59]. Секој атипичен патоген има различен модел на вклученост на екстрапулмоналните органи. Доколку клиничарот го препознае овој модел, може да ја претпостави и клиничката дијагноза. Во праксата, главен клинички проблем е да се разликува *Legionella* од *S. pneumoniae* и да се диференцира *Legionella* од *M. pneumoniae*. Врз основа на карактеристичниот модел на инволвираност на органите, пациентите со *Legionella* секогаш имаат неколку од следните клинички или лабораториски карактеристики: симптоми од ЦНС (главоболка, ментална конфузија, енцефалопатија, летаргија); кардијални промени (релативна брадикардија); гастроинтестинални манифестации (водена дијареја, абдоминална болка); хепатална инволвираност (минливо покачување на серумските трансаминази); бубрежни симптоми (микроскопска хематурија, зголемен креатинин); зафатеност на мускулите (покачена СРК и алдолаза) и/или промени во електролитниот статус (хипофосфатемија, хипонатремија). Спротивно на тоа, моделот на инволвирање на органите карактеристично за *M. pneumoniae* ја исклучува зафатеноста на ЦНС (освен ретко кај пациентите со менингоенцефалитис); ги вклучува симптомите од горните респираторни патишта (отитис, булозен мирингитис, неексудативен фарингитис); ги исклучува срцевите симптоми (без релативна брадикардија, ретко миокардитис); ги вклучува гастроинтестиналните симптоми (водена дијареја, но не и стомачна болка); ги исклучува хепаталните и мускулните симптоми; ја вклучува зафатеноста на кожата (еритема мултиформе); ги исклучува бубрежните симптоми (ретко гломерулонефритис) и исклучува промени во електролитниот статус. Специфична лабораториска карактеристика на *M. pneumoniae* е високо покачениот титар на ладниот аглутинин ($\geq 1:64$) кај приближно 75 % од пациентите. Очигледно е дека основните карактеристики што прават разлика меѓу *Legionella* и *M. pneumoniae* се присуство на симптоми од ЦНС, срце, хепар, бубрези и електролитен статус кај инфекциите со *Legionella*, а ниту една од нив не е карактеристика на *M. pneumoniae* [52- 61, 63, 64]. Но, секој пациент со *M. pneumoniae* нема покачени вредности на ладните аглутинини, а и таму каде што се јавува тоа е минливо и лесно или умерено изразено. Така, отсуството на зголемени ладни аглутинини не ја исклучува инфекцијата со *M. pneumoniae*, додека високите вредности на титарот на ладните аглутинин титри ($\geq 1:64$) ја исклучуваат инфекцијата со *M. pneumoniae* [54-59].

Моделот на зафаќање на екстрапулмоналните органи не можеше да се примени на пациентите од нашата студија, бидејќи не беа регистрирани соодветни симптоми. Кај пациентите кај кои серолошки беше потврдено присуство на *L. pneumophila* и *M. pneumoniae* доминантни симптоми беа кашлица, тешкотии при дишењето, замор, малаксаност, температура и болки во градите. Не беше утврдена статистички значајна разлика која би укажувала на врска помеѓу патогенот и симптомите. Кај пациентите со потврдена *L. pneumophila*, статистички значително почесто, беа регистрирани појави на абдоминална болка, дијареја, гадење, брадикардија, промени во ЕКГ, покачена седиментација, CRP, AST, ALT и присуство на леукоцитоза.

Меѓу неззоотичките атипични патогени, најверојатно е *Legionella* да биде погрешно дијагностицирана или да се презентира како тешка форма на CAP. Дијагнозата може да се претпостави доколку е присутен типичниот модел на зафатеност на екстрапулмоналните органи. Како и кај другите заболувања, некои од наодите имаат поголемо дијагностичко значење од други. Клиничарот треба да се обиде да направи разлика помеѓу клиничките наоди што се компатибилни со дијагнозата (неспецифични) и оние што се карактеристични во комбинација со неа (специфични). Некои наоди, како што е минливиот благ пораст на серумските трансминази, често поминуваат незабележано, или нивното дијагностичкото значење не се препознава. Ако се исклучат неинфективните причини за порастот на серумските трансминази, и ако Q-треската и пситакозата може да се елиминираат на епидемиолошка основа, единствен неззоотичен атипичен CAP патоген со благо покачени трансминази е легионерската болест. Но, ова не е пресудно за поставување на дијагнозата. Други специфични наоди се хипофосфатемија, хипонатремија, микроскопска хематурија, лесно покачени вредности на серумскиот креатинин, покачени вредности на CRP (≥ 30 единици). Во нашата студија не беа регистрирани пациенти со Q-треска и пситакоза. Во однос на инфекцијата со *L. pneumophila* регистрирана беше сезонска застапеност со најголем број инфицирани во август, септември и јули. Статистички значајно почесто *L. pneumophila* беше потврдена кај пациентите постари од 50 години од машки пол.

Преваленцијата на CAP предизвикана од *S. pneumoniae* и *M. pneumoniae* варира од 3 до 43 % од сите случаи на CAP [60-66]. Во нашата студија беа регистрирани само двајца пациенти со *S. pneumoniae*, а *M. pneumoniae* беше потврдена кај 34,52 % од пациентите од ретроспективниот и кај 36,17 % од пациентите од проспективниот дел на студијата. Овие организми делат слични епидемиолошки и клинички карактеристики [66]. Тежината на клиничката слика на пневмонијата предизвикана од овие патогени

варира зависно од возраста на пациентот, присуството на копатогени или постоењето на коморбидитет [67]. Изолацијата и идентификацијата на *S. pneumoniae* и *M. pneumoniae* е тешка, одзема време, не е рутински достапна и е скапа [68]. Затоа серологијата останува главна дијагностичка алатка во клиничката пракса.

M. pneumoniae е одговорена за широк спектар на непулмонални манифестации, вклучувајќи невролошки, хепатални, кардијални и хематолошки манифестации [69]. Исто така, чести се и симптомите од страна на централниот и периферниот нервен систем [70, 71]. Најчестиот придружен етиолошки агенс претставува *S. pneumoniae*. Во нашата студија најчести симптоми кај пациентите со *M. pneumoniae* беа кашлица, отежнато дишење, замор, слабост, температура и болки во градите. Кај овие пациенти, во однос на симптомите, споредено со пациентите со атипични пневмонии предизвикани од други патогени, статистички значајно почесто беше присуството само ринитис. *M. pneumoniae* предизвикува мал процент на случаи на САР кај хоспитализираните пациенти со инциденца од 3 до 30 % [60, 62, 72-74]. Многу е повисока кај младите возрасни што се третирани како амбулантни пациенти [75]. Според податоците од литературата *M. pneumoniae* е најчеста кај постарите деца, адолесцентите и младите возрасни лица [63-65, 74-76], а мажите се погодени почесто од жените [63-65, 74-76]. Преваленцијата варира од година во година и помеѓу различни географски подрачја и се забележува сезонска дистрибуција [63-65, 74-76]. Инфекцијата со *M. pneumoniae* имала најголема инциденца во есен [60]. Некои студии сугерираат дека нема сезонска варијација кај инфекција со *M. pneumoniae*, сепак, други податоци покажуваат дека инциденцата е најголема во текот на есенските и зимските месеци [77]. Од помалку јасни причини, епидемиите со *M. pneumoniae* се случуваат на секои 3-6 години [77, 78].

Во нашата студија беше утврдено дека *M. pneumoniae* статистички значајно почесто беше присутна во групата пациенти помлади од 50 години, а најмногу пациенти беа дијагностицирани во јануари и декември, што се совпаѓа со повеќето податоци од литературата. Мажите почесто, но не значајно, имаа пневмонија предизвикана од *M. pneumoniae*. Кај пациентите беа регистрирани абнормален ЕКГ, покачена седиментација, покачен CRP и леукоцитоза, но тие не беа статистички значајно поврзани со *M. pneumoniae*. Ова се совпаѓа со податоците од литературата според кои оваа бактерија останува на епителниот од респираторниот систем, предизвикувајќи послаба воспалителна реакција со пониски вредности на CRP и AST радиолошки, кај повеќето пациенти постојат интерстицијални инфилтрати и се забележува плеврален излив. Бројни студии укажуваат дека пневмонијата предизвикана

од овој патоген е обично блага, но во некои случаи може да биде тешка дури и кај нормални здрави лица [78, 79]. Кај речиси една третина од пациентите постојат електрокардиографски промени, но тие, најчесто се минливи и мултифакториелни [79].

Бидејќи резултатите од студијата покажаа дека најчести причинители на атипичните пневмонии беа *L. pneumophila* и *M. pneumoniae*, направена е споредба помеѓу пациентите во однос на одредени параметри, а статистички значајна разлика беше утврдена само за неколку. Пациентите со потврдена *L. pneumophila* беа помлади од 50 години, имаа покусо траење на симптомите до прием за преглед, присутен коморбидитет, појава на абдоминална болка, дијареја, гадење, брадикардија и зголемени вредности на AST и ALT. Пациентите со потврдена *M. pneumoniae* беа помлади од 50 години и почесто имаа ринитис.

За утврдување на патогенот беше користен PneumoSlide® Vircell тест, кој претставува стандарден дијагностички тест во секојдневната пракса за утврдување на причинителите на атипичните пневмонии [80, 81]. Методот се базира на реакција на антитела во примерокот, тестиран со антиген адсорбиран на лизгачка површина. Специфичните антителата присутни во примерокот реагираат со антигенот, а имуноглобулините што не се врзани за антигенот се отстрануваат со перење. Во следниот чекор реагираат комплексите антиген - антитело со антихуман глобулин означен со флуоресцеин. Анализата се прави со имунофлуоресцентен микроскоп. Крвта за анализа се собира во асептички услови со венепункција од страна на квалификуван персонал, со што се обезбедува зачувување на интегритетот на примерокот. При интерпретација на резултатите, реакцијата се смета за позитивна кога јаболко зелена јадрена, цитоплазматична и/или периферна флуоресценција се јавува кај 1-15 % од клетките кај примероци што се тестираат за аденовирус, инфлуенца, VSR или параинфлуенца (периферниот модел е најчест кај слаби примероци; во параинфлуенца и VSR заедно со претходниот модел можат да се видат обоени синцициуми). Јаболко зелена флуоресценција е присутна кај сите бактерии во случај на *Legionella*, *Chlamydomphila* или *Coxiella*, а јаболко зелена флуоресценција присутна е во периферијата од клетката кај примероци позитивни за *Mycoplasma*. Реакцијата е негативна кога нема флуоресценција за *Legionella*, *Chlamydomphila* и *Coxiella* и кога се препознава црвен клеточен модел за *Mycoplasma*, аденовирус, инфлуенца А и Б, VSR и параинфлуенца [81, 82].

Присуството на флуоресценција во сите клетки или во бунарот 10 вклучува присуство на антинуклеарни или антицелуларни антитела и резултатите не треба да се

сметаат за позитивни, туку потребна е примена на алтернативна техника. Кај пациентите со инфекција со нелегионела, често се наоѓаат вкрстено-реактивни антитела и внимателно треба да се оценат позитивните резултати земајќи ги предвид симптоматологијата и резултатите на IgM. Поради овие причини се препорачува IgM-позитивните примероци на *Legionella* 1/12 да се титрираат од 1/12 до 1/192, а само титри повисоки или еднакви на 1/96 да се сметаат за значајни. Резултатите различни од наведеното во ова не треба да се сметаат за позитивни [80, 81].

Пневмослајдот IgG е посоодветен како тест за скрининг. Кај високо превалентни болести, можно е да се најдат неколку позитивни резултати во еден примерок. IgM е позитивен не подолго од три месеци, па пневмослајдот IgM е многу погодна техника поради неговата висока специфичност, но може да покаже ниска чувствителност при реинфекции. Според податоците од литературата, сензитивноста и специфичноста на пневмослајдот IgM изнесуваат соодветно: *Mycoplasma pneumoniae* (96,8 %; 100 %), *Legionella pneumophila* (94,4 %; 98,4), *Chlamydia pneumoniae* (100 %; 98 %), *Coxiella burnetii* (100 %; 97,6 %), *Respiratory Syncytial Virus* (93,8 %; 100 %), *Adenovirus* (85,7 %; 97 %), *Influenza A* (94,1 %; 96,4 %), *Influenza B* (100 %; 96,6 %) и *Parainfluenza virus* (серотипови 1, 2, 3) (100 %; 96,3 %) [80, 81]. Истовремената употреба на пневмослајдот IgG и IgM е идеално за дијагностицирање на скорешни инфекции: пневмослајдот IgM во првиот примерок кај возрасните и кај првиот и вториот примерок кај деца, и пневмослајдот IgG во вториот примерок кај возрасни. IgG и IgM антителата покажуваат поинакво однесување за време на примарните инфекции и реинфекции. За време на примарните инфекции, IgG и IgM се појавуваат во речиси сите случаи (IgM се појавува пред IgG). При реинфекции, IgM антителата не се појавуваат во сите случаи, па затоа откривањето на IgG е единствената метода што е корисна за поставување на дијагноза. Високите титри на IgG може да постојат кај многу болести во текот на целиот живот на пациентот, додека IgM, генерално, е мерлив само кај серум, 2 или 3 месеци по инфекцијата, и затоа е соодветен маркер на скорешната инфекција. Резултатите од пневмослајдот треба да се користат заедно со клиничката евалуација и со другите дијагностички постапки. Овој тест не укажува на местото на инфекција. Примероците собрани многу рано во текот на инфекцијата немаат забележливи (детектабилни) нивоа на IgG. Во такви случаи се препорачува да се направи анализа на IgM или да се зема втор примерок од 14 до 21 ден и подоцна да се тестира паралелно со оригиналниот примерок за да се утврди сероконверзија. Резултатите во откривањето на IgG кај новороденчињата, мора да се толкуваат со претпазливост, бидејќи мајчиниот IgG се

пренесува пасивно од мајката на фетусот пред раѓањето. IgM анализите обично се покорисни индикатори на инфекција кај децата под 6-месечна возраст [80].

Во нашата студија е направена анализа на валидноста на пневмослајдот, како серолошка метода во дијагностицирање на атипичните пневмонии предизвикани од *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae*, при што како „златен стандард“ се зема молекуларната метода ПВР.

Од 103 пациенти што беа опфатени во анализата, кај 18 беше потврдено присуство на *L. pneumophila*. Со пневмослајд се добиени 18 позитивни наоди, од кои 17 вистински позитивни, а 1 лажно позитивен. Со оваа метода се добиени 85 негативни наоди, од кои 84 вистински негативни и 1 лажно негативен. Од тоа пресметана е: сензитивност од 94,4 %, специфичност 98,8 %, а глобална точност на тестот 98 %, што зборува дека пневмослајдот претставува добар дијагностички тест во детектирање на пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *L. pneumophila* и се совпаѓа со публикуваните резултати [80, 81]. Кај 17 од 103 испитувани пациенти беше потврдено присуство на *M. pneumoniae*. Со пневмослајд се добиени 17 позитивни наоди, од кои 16 вистински позитивни и 1 лажно позитивен. Со оваа метода се добиени 86 негативни наоди, од кои 85 вистински негативни и 1 лажно негативен. Пресметаните перформанси покажуваат сензитивност од 94,1 %, специфичноста е 98,8 % и глобалната точност на тестот 98,1 %, што зборува дека пневмослајдот претставува добар дијагностички тест во откривање на пациенти со атипична пневмонија предизвикана од *M. pneumoniae* и се совпаѓа со податоците од литературата [80, 81].

Точноста на пневмослајдот беше потврдена со ПВР-анализа. ПВР претставува атрактивна алатка за дијагностицирање на причинителите на пневмонија. Може да открие минимални количини од нуклеинската киселина од сите потенцијално патогени предизвикувачи на пневмонија, не зависи од одржливоста на целните микроорганизми, помалку е условена од претходно применетата антимикуробна терапија отколку методите базирани на култура и дава брзи резултати. Покрај тоа, технолошкиот напредок овозможува ПВР да биде сè подостапна за лабораториите надвор од специјалните терциерни центри. Развојот на ПВР-технологијата во реално време, овозможува тестирањето да биде изведено за помалку од 1 час во еден сад за реакција, со што се намалува шансата за контаминација. Овие предности можат ја направат ПВР идеален дијагностички тест за пневмонија [82, 83], но постојат и некои недостатоци кои вклучуваат ограничена способност за изведување тестови за антимикуробна осетливост, како и недостиг на изолатна архива, доколку е потребно понатамошно тестирање.

Точното познавање на клиничката чувствителност на ПВР-анализите е попречено од недостигот на соодветен дијагностички „златен стандард“ за повеќето инфекции. Ова е проблем со ПВР бидејќи таа е посензитивна техника од повеќето, дијагностички тестови базирани на култура. На сензитивноста може да влијае присуството во примероци на ПВР-инхибитори од непозната природа, што предизвикува лажно негативни резултати [84]. Овие инхибитори може да се откриваат со вклучување на специфични позитивни внатрешни контроли, кои треба да бидат дел од секоја ПВР-анализа. Малите количини на примероците што се користат, исто така можат да бидат причина за намалување на сензитивноста, што се подобрува со зголемување на волуменот на примерокот во реакционата мешавина или преку концентрирање на примерокот.

Најголем проблем со кој се соочуваат ПВР-анализите е ризикот од лажно позитивни резултати. Ова е во голема мера последица на екстремната чувствителност на ПВР и може да е резултат од контаминација со егзоген материјал или од откривање на ниски нивоа на колонизирани организми во примерокот. Исто така, лажно позитивните резултати може да бидат резултат на амплификација на микроорганизми кои имаат сличен геном-секвенци со целниот микроорганизам. Лажно позитивните наоди може да се избегнат со употреба на соодветни контроли, добра лабораториска практика за спречување на контаминација и потврда на сите позитивни резултати со независен метод. Целната секвенца од нуклеинската киселина кај сите новопроизведени ПВР-анализи треба да биде проверена за специфичност со помош на алатки како што се Basic Local Alignment Sequence Tool (достапна на: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Ова е корисна вежба дури и за претходно објавените секвенци за ПВР-анализи, бидејќи грешките во објавувањето на прајмер секвенците, резултира со трансфер на грешките на анализите што ги користат други истражувачи [85].

Сензитивноста и специфичноста, исто така, може да бидат под влијание на видот на ПВР-есејот. *Nested* ПВР е генерално почувствителен од *single-step*, но кај *nested* ПВР постои зголемен ризик од контаминација, бидејќи по првата фаза треба да се отворат реакционите туби за да се додадат реагенси за вториот круг од амплификацијата. Мултиплекс ПВР-есеите кои амплифицираат повеќе од една целна секвенца во иста реакциска туба, генерално се помалку чувствителни од анализите во еден чекор. Специфичноста на мултиплекс ПВР, исто така, може да се намали ако температурите на загревање за индивидуалните парови на прајмери не се идентични. Употребата на хибридизација со специфични сонди, флуоресценција или ЕИА за да се откријат продуктите на амплификација, ја гарантираат специфичноста на ПВР-

производот и на тој начин може да се зголеми чувствителноста, во споредба со стандардната визуализација на ПВР-продуктите по електрофореза на агар гел.

Од суштинско значење е ПВР-протоколите да бидат сигурни и доволно соодветни за да се користат надвор од истражувачките лаборатории (репродуктивност). За жал, најчесто е тешко да се споредат наодите од различни истражувања дури и кога се користи истата цел на ПВР. Клиничките примероци често се од различни популации на пациенти и протоколите се разликуваат во однос на подготовката на мострата, природата на контролите и условите на ПВР. Постои вистинска потреба за постандардизиран пристап кон дијагностичкото тестирање, како што се на пример, објавените препораки за тестирањето на *Chlamydia* кај пневмонија [86].

Чувствителноста на ПВР варира зависно од типот на тестираниот примерок. За пневмонија се користат и респираторни и нереспираторни примероци. Повеќето студии ги евалуираат примероците од долниот дел на респираторниот тракт (особено примероците од спутумот и бронхоалвеоларната лаважа), кои најверојатно имаат најголем дијагностички придонес. Мострите добиени со трансторакална иглена аспирација имаат помал ризик од контаминација во споредба со другите методи [87-91], но оваа метода не се практикува често. ПВР е особено корисна за откривање на патогени за кои не е познато дека го колонизираат човековиот респираторен тракт, како што се видовите на *Legionella*, за кои позитивниот резултат е доказ за инфекција. Главно ограничување на земањето примероци е тоа што може да биде тешко да се добијат. На пример, помалку од една половина од пациентите со легионелоза произведуваат спутум [92], а инвазивните процедури, како што е бронхоскопијата, се изведуваат само за неколку избрани пациенти. За некои патогени што не го колонизираат орофарингсот, може да се користат брисови од грло или примероци од орално измивање, кои обично лесно се добиваат.

Патогените може да се детектираат и во примероци од крв (цела крв, серум, плазма и периферни леукоцити) и урина, но корисноста на секој примерок ќе се разликува зависно од специфичноста на тестираниот патоген и од фазата на болеста. Примероците што се земаат од горниот дел на респираторниот тракт имаат предност, што обично лесно се добиваат од сите пациенти.

Примена на ПВР за дијагноза на специфичните патогени

Mycoplasma pneumoniae. *M. pneumoniae* е префинет организам и неговото култивирање на вештачки медиуми е макотрпен и бара многу време. Како резултат на тоа, лабораториската дијагноза на инфекцијата со *M. pneumoniae* во голема мера се потпира на серолошкото тестирање. Иако постојат неодамнешни подобрувања, особено со развојот на IgM-антителата, чувствителноста и специфичноста на серолошките испитувања сè уште не е оптимална [93]. Ограничувањата на конвенционалните дијагностички тестови поттикнале бројни студии за употребата на ПВР за да се обезбеди брза и чувствителна метода за откривање на *M. pneumoniae* [95-108]. Иако овие студии користат различни ПВР-анализи, популации на пациенти и типови примероци, наодите се генерално конзистентни. ПВР е почувствителна и значително побрза од анализите со култура. Во принцип, постои добра корелација помеѓу резултатите од ПВР и резултатите од серолошките тестирања, иако повеќето студии објавуваат дека значителен број од примероците се позитивни само со 1 од овие 2 методи. За ПВР-анализата прикладни се примероците и од горниот и од долниот респираторен тракт. Од интерес е дека примероците од горниот дел на респираторниот тракт (брисеви од грлото и назофарингсот) се чини дека се преферирани типови на примероци поради високата чувствителност и соодветност, а брисевите од грло може да имаат уште една предност над назофарингеалните аспирати како резултат на повисоката стапка на ПВР-инхибиторите кај вторите [101]. Во текот на анализата на голема епидемија на инфекција со *M. pneumoniae* во затворена заедница, 15 % од пациентите сè уште имале ДНК на *M. pneumoniae* во грлото и 2-6 недели по започнувањето на антибиотската терапија [109]. ПВР-тестирањето на примероци добиени со иглена трансторакална аспирација се чини дека е специфична, но помалку е чувствителна споредено со примероците од горните респираторни патишта [103]. ПВР од примероците од брис од може да бидат најдобриот постоечки дијагностички тест за *M. pneumoniae*, но пред да почнат широко да се употребуваат потребни се стандардизирани протоколи.

Legionella spp. Овие видови не го колонизираат респираторниот тракт, па според тоа, откривањето на бактериите *Legionella* во клинички примероци, укажува на инфекција. Од оваа причина, а со оглед на големите недостатоци на другите дијагностички тестови за *Legionella* [92], постои значителен интерес во истражувањето на улогата на ПВР за дијагностицирање на легионелозата. ПВР прво се користел за откривање на видовите *Legionella* во животната средина во примероци од вода, но сега

успешно се користи и како тест за различни клинички примероци. При тестирање на примероци од долниот респираторен систем, постојано се покажува дека ПВР има чувствителност еднаква или поголема од таа на културите [109-115]. Конзистентен наод во повеќето студии е идентификација на примероци кои се ПВР позитивни, но негативни при анализа на културата. Не е разјаснето дали тоа претставува контаминација или зголемена чувствителност на ПВР.

Главниот недостаток при испитување на спутумот е тоа што само помалку од една половина од пациентите со легионелоза произведуваат спутум [92]. Ова го поттикнало истражувањето за улогата од ПВР во тестирањето на други видови примероци. ДНК од *Legionella* може да се открие во примероци од урина добиени од заморчиња и луѓе со легионелоза [116-122]. Со употреба на 5S rRNA ПВР-есеј, Хелбиг и сор. [118] откриле ДНК од *Legionella* во примероци од урина добиени од 42 од 58 пациенти со потврдена легионелоза и заклучиле дека уринарната ПВР се надополнува со други брзи дијагностички тестови, особено за откривање на уринарен антиген. Други истражувачи што користеле слични ПВР-анализи, регистрирале чувствителност од 46 % и 86 % при тестирање на мостри од урина [117, 122], додека други забележале чувствителност од само 30 % кога при анализа бил користен 16S рРНК ПВР [121]. Иако Линдзи и сор. [123] откриле ДНК на *Legionella* во акутна и рековалесцентна фаза во примероци од серумот добиени од 5 пациенти со легионелоза, други забележале чувствителност за серумски ПВР од само 30 % и 43 % [117, 124]. Брисевите од грло, исто така, може да бидат соодветен примерок за ПВР-тестирање, што е анализирано во студија во која се пронајдени позитивни примероци на *Legionella* за 5 од 6 пациенти со легионелоза [125]. Потребни се понатамошни испитувања на примероците кои не се од респираторниот тракт за да се утврди нивната улога во дијагнозата на легионелозите. Чувствителноста на ПВР може да се зголеми при тестирање на примероци добиени рано во текот на болеста и при тестирање на повеќе примероци од секој пациент [126].

Развојот на оптимален ПВР-тест е усложнет со интермитентна контаминација на некои комерцијални китови за екстракција на ДНК со ДНК *Legionella* [126]. Употребата на овие китови за обработка на примероци може да резултира со лажно позитивни резултати, што ја нагласува важноста на вклучување соодветни контроли за секој тест што се употребува. Од сите заеднички патогени за пневмонија, видовите *Legionella* најверојатно претставуваат најголем ризик за контаминација на ПВР, со оглед на животната средина на организмот. ПВР може да се смета за тест на избор за докажување на легионелоза кај пациентите што произведуваат спутум, но, како и за ПВР-анализите за другите патогени, треба да се развијат стандардизирани протоколи.

Chlamidia. Употребата на клеточни култури за откривање на *C. pneumoniae* претставува технички тежок процес кој одзема многу време. Дијагнозата на *C. pneumoniae* во голема мера се потпира на серолошки тестови кои користат микроимунофлуоресценција [86]. Серолошката дијагноза на *C. pneumoniae* бара тестирање на серумските примероци од акутна и рековалесцентна фаза на болеста. Затоа, дијагнозата може да се направи само ретроспективно.

Овие ограничувања поттикнале многуми истражувачи да ја анализираат употребата на ПВР за дијагностицирање на *C. pneumoniae*. За жал, и покрај употребата на идентични протоколи, резултатите од различни студии се контрадикторни и наодите од едни лаборатории не се потврдуваат од други. За да се испита поврзаноста помеѓу *C. pneumoniae* и кардиоваскуларните заболувања, како примероци за анализа се користени васкуларни ткива и примероци од серум [127]. При испитувањата на пневмониите речиси се користени примероци од респираторниот систем [128]. Општо земено, ПВР се чини дека е чувствителна исто колку и тестирањето со култура, но тешко е да се процени специфичноста бидејќи недостасува соодветен „златен стандард“ [128]. ДНК на *C. pneumoniae* може да се открие во примероци од горниот и долниот респираторен систем, но не е јасно кој респираторен примерок е најсоодветен за ПВР-тестирање. Според некои истражувачи, постои повисока стапка на позитивна ПВР за примероци од горниот дел на респираторниот тракт [129], но ова може да е одраз на колонизација, а не на болест. Употребата на високо чувствителни ПВР-техники може да го засили откривањето на *C. pneumoniae* чија клиничка релевантност е нејасна. Една неодамнешна интерлабораториска студија во која е користен стандардизиран протокол, ја доведува до прашање сигурноста на вгнездената ПВР-анализа на *C. pneumoniae* поради високиот ризик од контаминација [130]. Резултатите на ПВР мора да бидат интерпретирани во контекст на клиничката слика на пациентот и заедно со резултатите од другите анализи. Од страна на американските центри за контрола на болести и превенција (Атланта, Џорџија) и Општиот канадски лабораториски центар за контрола на болести (Отава, Онтаарио, Канада) [15] препорачан е стандардизиран пристап кон дијагностичко тестирање на *C. Pneumonia*. Развиени се ПВР-анализи за откривање на *Chlamydia psittaci*, иако искуството за нивната употреба за дијагноза на човечка пситакоза е ограничено [131-133]. Пошироката употреба на овие анализи, несомнено, ќе овозможи идентификација на многу случаи што не биле идентификувани на друг начин.

Респираторни вируси. Кај пациент со вирусна инфекција пневмонијата може да се јави како примарна вирусна пневмонија или секундарно, на бактериска инфекција.

Кога систематски се проценуваат, вирусите сочинуваат околу 30 % од патогените, идентификувани кај возрасни, и околу 70 % кај децата, хоспитализирани со пневмонија стекната во заедница [134, 135]. Како најчести причинители се јавуваат респираторниот синцицијален вирус, инфлуенца вирусите тип А и Б, параинфлуенца вирусите и аденовирусите. Во моментот, во лабораториите за дијагностицирање на вирусни респираторни инфекции, најчесто се користат методи на имуофлуоресценција, култивирање на вируси и методите за откривање на антигени. Постојат ПВР-анализи за сите важни респираторни вируси, но во оваа фаза, улогата на ПВР за дијагноза на пневмонија останува неизвесно, бидејќи повеќето студии се фокусираат на недодефинирани или инфекции на респираторниот тракт што не се пневмонии, особено кај децата. ПВР, најверојатно, ќе ја подобри способноста за дијагностицирање на вирусните пневмонии, но потребни се студии со доволен број пациенти. Во моментот, главните клинички апликации на ПВР се за дијагноза на специфични вирусни пневмонии за кои ПВР е најпосакувана дијагностичка метода (на пример, хантавирусен пулмонален синдром) и за дијагноза на пневмонии кај имуносупримираните пациенти. Респираторните вируси сè повеќе се препознаваат како важни причинители на тешки болести на долните дишни патишта кај пациентите третирани за хематолошки малигноми [136, 137]. Кај овие пациенти, ПВР е почувствителен за откривање на респираторните вируси отколку што се култивирањето на вирусите, откривањето на антигени и серолошкото тестирање [138]. Употребата на ПВР нуди можност за рана дијагноза и третман.

8. ЗАКЛУЧОЦИ

Оваа истражување претставуваше ретроспективно-проспективна студија која беше спроведена на Одделот за инфективни болести и фебрилни состојби при ЈЗУ ГОБ 8 Септември.

Од резултатите на истражувањето можат да се изведат следните заклучоци:

I. Ретроспективен дел на студијата

Во испитуваниот контингент на пациенти со атипична пневмонија, како нејзини причинители беа потврдени *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Adenovirus*, *PCB*, *Influenza A u B* и *Parainfluenza*.

Како најчест причинител на атипична пневмонија беше докажан патогенот *Legionella pneumophila*, со преваленција од 42,5 %.

Втор по зачестеност беше атипичниот патоген *Mycoplasma pneumoniae*, потврдена кај 34,5 % од пациентите.

Најчести симптоми со кои се манифестираше болеста кај испитаниците беа: кашлица – 98,0 %, отежнато дишење – 96,8 %, замор, слабост или малаксаност – 96 %, температура – 71,8 % и болки во градите – 69,8 %.

Сезонска појава беше утврдена кај атипичните пневмонии предизвикани од *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae*.

Машките пациенти значајно почесто имаа атипична пневмонија чиј причинител е *Legionella pneumophila* ($p=0,0019$).

Пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* беа значително постари од пациентите со атипична пневмонија со други причинители, додека пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Mycoplasma pneumoniae* беа значително помлади од пациентите со атипична пневмонија предизвикана од други причинители. *PCB* беше најден значајно почесто кај помлади пациенти ($p=0,0003$).

II. Проспективен дел од студијата

Како причинители на атипичната пневмонија во оваа група беа потврдени *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Adenovirus*, *PCB*, *Chlamidia pneumoniae*, *Influenza A u B* и *Parainfluenza*.

Legionella pneumophila како причинител беше потврдена кај 40 %, *Mycoplasma pneumoniae* кај 35,6 % и РСВ кај 11,1 % од пациентите. Останатите 5 причинители имаа ниска преваленција.

Во клиничката слика доминантни симптоми беа: кашлица – 95,6 %, тешкотии при дишењето – 93,3 %, замор, слабост или малаксаност – 91,1 %, температура повисока од 37 °С – 86,7 % и болки во градите – 48,9 %.

Компаративната анализа на одредени демографски, клинички и лабораториски параметри помеѓу *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae* покажаа дека и двата причинителя почесто предизвикуваат атипична пневмонија кај мажите. Помладите пациенти значајно почесто беа инфицирани со *Legionella pneumophila*, а постарите со *Mycoplasma pneumoniae* ($p=0,023$).

Постоеше сигнификантна разлика во должината на траење на симптомите до прием за преглед ($p<0,001$). Кај пациентите со атипична пневмонија чиј причинител беше *Legionella pneumophila*, симптомите просечно траеле околу 2 недели, а кај атипичните пневмонии чиј причинител беше *Mycoplasma pneumoniae*, околу 3 недели.

Коморбидитетот, значително почесто беше регистриран кај пациентите со атипична пневмонија предизвикана од *Legionella pneumophila* ($p=0,044$). Овие пациенти значително почесто имале брадикардија, абдоминална болка ($p=0,026$), гадење ($p=0,0002$), зголемени вредности на АСТ ($p=0,025$) и АЛТ ($p=0,011$).

Ринитисот беше значајно почест кај пациентите со атипична пневмонија чиј причинител беше *Mycoplasma pneumoniae* ($p=0,048$).

Тестирањето на дијагностичката вредност на пневмослајдот, при што како златен стандард беше земена молекуларната метода ПВР, покажа дека пневмослајдот претставува добар дијагностички тест во откривање на пациенти со атипични пневмонии предизвикани од *Legionella pneumophila* и *Mycoplasma pneumoniae*.

Сензитивноста на пневмослајдот за откривање на *Legionella pneumophila* изнесуваше 85 %, специфичноста 96,3 %, а глобалната точност на тестот 91,5 %.

Сензитивноста на пневмослајдот за откривање на *Mycoplasma pneumoniae* изнесуваше 88,9 %, специфичноста 98,8 %, а глобална точност 91,7 %.

ПВР има многу атрибути коишто го прават корисен дијагностички тест за пневмонија, но, тоа е скапа метода која не е достапна во најголем број од лабораториите. Пред ПВР и другите методи за амплифицирање на нуклеинската киселина да станат рутински дијагностички алатки, прво треба да се утврдат стандардизирани протоколи за нивна употреба.

9. ЛИТЕРАТУРА

1. Болдвин ДР, Макферлајн ЦТ. Пневмонија стекната во заедница. Во: Коен Ц, Паудерли ВЦ, уредници. Инфективни болести. Скопје: Табернакул; 2012. стр.369-80.
2. Кондова-Топузовска И. Акутни вонболнички пневмонии. Во: Ивановски Љ, уредник. Инфективни болести. Скопје: Катедра за инфектологија, Медицински факултет; 2012. стр.177-87.
3. Basarab M, Macrae B, Curtis CM. Atypical pneumonia. *Curr Opin Pulm Med* 2014, 20:247–51.
4. Cunha BA. The atypical pneumonias: clinical diagnosis and importance. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12 (Suppl. 3): 12-24.
5. Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch DR. Viral pneumonia. *Lancet* 2011; 377: 1264–75.
6. Mackenzie G. The definition and classification of pneumonia. *Pneumonia* 2016; 8:14.
7. van der Eerden MM, Vlasploder F, de Graaff CS, Groot T, Bronsveld W, Jansen HM, et al. Comparison between pathogen directed antibiotic treatment and empirical broad spectrum antibiotic treatment in patients with community acquired pneumonia: a prospective randomised study. *Thorax*. 2005;60: 672–8.
8. World Health Organisation. Revised WHO classification and treatment of childhood pneumonia at health facilities - Evidence Summaries. Geneva: World Health Organisation; 2014. World Health Organisation website; Available from http://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/child-pneumonia-treatment/en/. Google Scholar
9. Murdoch DR, Stephen T Chambers ST. Atypical pneumonia—time to breathe new life into a useful term? *Lancet Infect Dis* 2009; 9: 512–9.
10. Rudan I, Boschi-Pinto C, Biloglav Z, Mulholland K, Campbell H. Epidemiology and etiology of childhood pneumonia. *Bull World Health Organ* 2008; 86: 408–16.
11. WHO. Revised global burden of disease 2002 estimates. 2004. available on http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates_regional_2002_revised/en/
12. IDSA guidelines available on <http://www.idsociety.org/Index.aspx>
13. Lim WS, Baudouin SV, George RC, et al. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults: update 2009. *Thorax* 2009; 64 (Suppl 3):iii1–iii55.

14. Blasi F. Atypical pathogens and respiratory tract infections. *Eur Respir J* 2004; 24: 171–81.
15. Thibodeau KP, Viera AJ. Atypical Pathogens and challenges in community-acquired pneumonia. *Am Fam Physician*. 2004; 69(7):1699-707.
16. Miyashita N, Kawai Y, Akaike H, et al. Influence of age on the clinical differentiate of atypical pneumonia in adults. *Respirology* 2012; 17:1073-9.
17. Miyashita N, Kawai Y, Akaike H, Ouchi K, Hayash T, Kurihara T, Okimoto N. Influence of age on the clinical differentiation of atypical pneumonia in adults. *Respirology* 2012; 17:1073-9.
18. Biscevic-Tokic J, Tokic N, Musanovic A. Pneumonia as the most common lower respiratory tract infection. *Med Arh*. 2013; 67(6): 442-5.
19. Cheng YJ, Lin KY, Chen CC, Huang YL, Liu CE, Li SY. Zoonotic atypical pneumonia due to *Chlamydophila psittaci*: First reported psittacosis case in Taiwan. *JFMA* 2013; 112: 430 – 3.
20. Fine MJ, Auble TE, Yealy DM, Hanusa BH, Weissfeld LA, Singer DE, Coley CM, Marrie TJ, Kapoor WN. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med*. 1997; 336(4):243-50.
21. Testing for Mycoplasma by Culture Isolation достапно на <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/testing-for-mycoplasma.html>
22. Cho MC, Kim H, An D, Lee M, Noh SA, Kim MN, Chong YP, Woo JH. Comparison of sputum and nasopharyngeal swab specimens for molecular diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, and *Legionella pneumophila*. *Ann Lab Med*. 2012; 32(2): 133–8.
23. Khanna M, Fan J, Pehler-Harrington K, Waters C, Douglass P, Stallock J, Kehl S, Henrickson KJ. The Pneumoplex Assays, a Multiplex PCR-Enzyme Hybridization Assay That Simultaneous Detection of five Organisms, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia (Chlamydophila) pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Legionella micdadei*, and *Bordetella pertussis*, and Its Real-Time Counterpart. *Journal of Clinical Microbiology* 2005; 43(2):565-71.
24. She RC, Thurber A, Hymas WC, et al. Limited utility of culture for *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydophila pneumoniae* for diagnosis of respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2010; 48:3380–2.

25. Lai CH, Chang LL, Lin JN, et al. High seroprevalence of *Mycoplasma pneumoniae* IgM in acute Q fever by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *PloS One* 2013; 8:e77640.
26. Thurman KA, Walter ND, Schwartz SB, et al. Comparison of laboratory diagnostic procedures for detection of *Mycoplasma pneumoniae* in community outbreaks. *Clin Infect Dis* 2009; 48:1244–9.
27. Chen ZR, Yan YD, Wang YQ, Zhu H, Shao XJ, Xu J, et al. Epidemiology of community-acquired *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract infections among hospitalized Chinese children, including relationships with meteorological factors. *Hippokratia* 2013; 17: 20–6.
28. Busson L, Van den Wijngaert S, Dahma H, et al. Evaluation of 10 serological assays for diagnosing *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 76:133–7.
29. Raty R, Ronkko E, Kleemola M. Sample type is crucial to the diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia by PCR. *J Med Microbiol* 2005; 54 (Pt 3): 287–91.
30. Kumar S, Hammerschlag MR. Acute respiratory infection due to *Chlamydia pneumoniae*: current status of diagnostic methods. *Clin Infect Dis* 2007; 44:568–76.
31. Shimada T, Noguchi Y, Jackson JL, et al. Systematic review and metaanalysis: urinary antigen tests for legionellosis. *Chest* 2009; 136:1576–85.
32. Svarrer CW, Luck C, Elverdal PL, Uldum SA. Immunochromatic kits Xpect *Legionella* and BinaxNOW *Legionella* for detection of *Legionella pneumophila* urinary antigen have low sensitivities for the diagnosis of Legionnaires' disease. *J Med Microbiol* 2012; 61 (Pt 2):213–7.
33. Murdoch DR, Podmore RG, Anderson TP, et al. Impact of routine systematic polymerase chain reaction testing on case finding for Legionnaires' disease: a prepost comparison study. *Clin Infect Dis* 2013; 57:1275-81.
34. Diederer BM, Kluytmans JA, Vandenbroucke-Grauls CM, Peeters MF. Utility of real-time PCR for diagnosis of Legionnaires' disease in routine clinical practice. *J Clin Microbiol* 2008; 46:671–7.
35. Shimada T, Noguchi Y, Jackson JL, et al. Systematic review and metaanalysis: urinary antigen tests for legionellosis. *Chest* 2009; 136:1576–85.
36. Branley JM, Roy B, Dwyer DE, Sorrell TC. Real-time PCR detection and quantitation of *Chlamydophila psittaci* in human and avian specimens from a veterinary clinic cluster. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; 27:269–73.

37. Wielders CC, Kampschreur LM, Schneeberger PM, et al. Early diagnosis and treatment of patients with symptomatic acute Q fever do not prohibit IgG antibody responses to *Coxiella burnetii*. *Clin Vaccine Immunol* 2012;19:1661–6.
38. Cell Culture - Adenovirus Techniques достапно на https://www.abmgood.com/marketing/knowledge_base/cell_culture_adenovirus_techniques.php
39. Indumathi et al. Isolation & molecular characterization of human parainfluenza virus in Chennai, India. *Indian J Med Res.* 2015; 142(5): 583-90.
40. Arens MQ, Swierkosz EM, Schmidt RR, Armstrong T, Rivetna KA. Enhanced isolation of respiratory syncytial virus in cell culture. *J Clin Microbiol.* 1986; 23(4): 800-2.
41. Krauss S, Walker D, Webster RG. Influenza virus isolation. *Methods Mol Biol.* 2012;865:11-24.
42. Monto AS. Epidemiology of viral respiratory infections. *Am J Med.* 2002; 112: 4S-12S.
43. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, 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.
44. Pneumoslides IgM available on www.yumpu.com/en/document/view/24142915/pneumoslides-igm-dossier-vircell
45. Pierce VM, Elkan M, Leet M, et al. Comparison of the Idaho Technology FilmArray system to real-time PCR for detection of respiratory pathogens in children. *J Clin Microbiol* 2012; 50:364–71.
46. Gaydos CA. What is the role of newer molecular tests in the management of CAP? *Infect Dis Clin North Am* 2013; 27:49–69.
47. Петровска М, уредник. Практикум по медицинска микробиологија и паразитологија (второ издание). Скопје: Катедра по микробиологија со паразитологија, Институт за микробиологија и паразитологија, Медицински факултет; 2002.
48. PneumoBacterACE Detection available on http://www.seegene.com/neo/en/products/respiratory/seeplex_PneumoBacter.php
49. Kuzman I. Pneumonias: Pathogens and Diagnostics. *MEDICUS* 2005;14 (1):71-82.
50. Kuzman I. Podjela pneumonija. U: Kuzman I. (ur.) Pneumonije - uzročnici, dijagnostika, liječenje. Zagreb: Medicinska naklada 1999; 12-8.

51. Kuzman I. Diferencijalna dijagnoza. Vo: Kuzman I. (ur.) Pnevmonije - uzročnici, dijagnostika, liječenje. Zagreb: Medicinska naklada 1999; 77-80.
52. Marrie TJ. Epidemiology of mild pneumonia. *Semin Respir Infect* 1998; 13:3-7.
53. Cunha BA. The atypical pneumonias: clinical diagnosis and importance. *CMI* 2006; 2 (Suppl. 3): 12–24.
54. Cunha BA. *Pneumonia Essentials*. Royal Oak, MI: Physicians Press, 2006.
55. Cunha BA. Community-acquired pneumonia: diagnostic and therapeutic considerations. *Med Clin North Am* 2001; 85: 43–77.
56. Cunha BA. The extrapulmonary manifestations of community-acquired pneumonias. *Chest* 1998; 112: 945.
57. Marrie TJ, ed. *Community-Acquired Pneumonia*. New York: Kluwer Academic, 2001.
58. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 6th edn. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005.
59. Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. *Infectious Diseases*, 3rd edn. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2004.
60. Puljiz I, Kuzman I, Dakovic –Rode O, Schonwald N, Mise B. Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae pneumonia: comparison of clinical, epidemiological characteristics and laboratory profiles *Epidemiol. Infect.* 2006; 134:548–55.
61. File TM, Tan JS. Chlamydia pneumoniae pneumonia. *Sem Resp Crit Care Med* 2000; 21: 285–94.
62. Kauppinen M, Saikku P. Pneumonia due to Chlamydia pneumoniae: prevalence, clinical features, diagnosis, and treatment. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 244–52.
63. Porath A, Schlaffer F, Lieberman D. The epidemiology of community-acquired pneumonia among hospitalized adults. *J Infect* 1997; 34: 41–8.
64. Kaupinnen MT, Herva E, Kujala P, Leinonen M, Saikku P, Syrjala T. The etiology of community-acquired pneumonia among hospitalized patients during a Chlamydia pneumoniae epidemic in Finland. *J Infect Dis* 1995; 172: 1330-5.
65. Socan M, Marinic-Fiser N, Kraigher A, Kotnik A, Logar M. Microbial aetiology of community-acquired pneumonia in hospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18: 777-82.
66. Nelson CT. Mycoplasma and Chlamydia pneumonia in pediatrics. *Semin Respir Infect* 2002; 17: 10–4.

67. Ruiz M, Ewig S, Marcos MA, et al. Etiology of community-acquired pneumonia: impact of age, comorbidity, and severity. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 397–405.
68. Schneeberger PM, Dorigo-Zetsma JW, van der Zee A, van Bon M, van Opstal JL. Diagnosis of atypical pathogens in patients hospitalized with community-acquired respiratory infection. *Scand J Infect Dis* 2004; 36: 269–73.
69. Wisniewska-Ligier M, Wozniakowska-Gesicka T, Sobanska A, Wierzbicka E. Extrapulmonary complications of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Przegl Lek* 2003; 60: 832–5.
70. Pfausler B, Engelhardt K, Spiss H, Taferner E, Schmutzhard E. Post-infectious central and peripheral nervous disease complicating *Mycoplasma pneumoniae* infection. Report of three cases and review of the literature. *Eur J Neurol* 2002; 9: 93-6.
71. Delmas MC, Gauthier C, Rapin F. Neurologic manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Arch Pediatr* 1996; 3: 573-5.
72. Kuzman I, Petricevic I. Clinical and epidemiological features of acute respiratory infections caused by *Mycoplasma pneumoniae*. *Lijec Vjesn* 1990; 112: 216-21.
73. Bohte R, van Furth R, van den Broek PJ. Aetiology of community-acquired pneumonia: a prospective study among adults requiring admission to hospital. *Thorax* 1995; 50: 543-7.
74. Lieberman D, Schlaeffer F, Lieberman D, Horowitz S, Horowitz O, Porath A. *Mycoplasma pneumoniae* community-acquired-pneumonia: a review of 101 hospitalized adult patients. *Respiration* 1996; 63: 261– 6.
75. Marrie TJ. Epidemiology of mild pneumonia. *Semin Resp Infect* 1998; 13: 3–7.
76. Lieberman D, Ben-Yaakov M, Lazarovich Z, et al. *Chlamydia pneumoniae* community-acquired pneumonia: a review of 62 hospitalized adult patients. *Infection* 1996; 24: 109–14.
77. O’Handley JG, Gray LD. The incidence of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *J Am Board Fam Pract* 1997; 10: 425-9.
78. Dominguez A, Minguell S, Torres J, Serrano A, Vidal J, Salleras L. Community outbreak of acute respiratory infection by *Mycoplasma pneumoniae*. *Eur J Epidemiol* 1996; 12: 131-4.
79. Takiguchi Y, Shikama N, Aotsuka N, Koseki H, Terano T, Hirai A. Fulminant *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *Intern Med* 2001; 40: 345-8.
80. Pneumoslide IgM достапно на <https://en.vircell.com/products/pneumoslide/>

81. El-Sahrigy SAF, Abdel-Rahman AMO, Abou Shady EAE, Attia HR, Gomaa HE. **Pneumoslides-M Technique for Rapid Detection of Atypical Pathogens in Critically ILL Children with Lower Respiratory Tract Infections** JMS 2006; 6: 793-9.
82. Murdoch DR. Nucleic acid amplification test for the diagnosis of pneumonia. Medical microbiology 2003; 36:1162-70.
83. Saranglao A, Smith PR. Diagnostic tests for CAP: current approaches and future perspectives. Expert Rev Mol Diagn 2002; 2:329-36.
84. Wilson IG. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. Appl Environ Microbiol 1997; 63:3741-51.
85. Murdoch DR, Anderson TP, Beynon KA, et al. Evaluation of a PCR assay for the detection of *Streptococcus pneumoniae* in respiratory and non-respiratory samples from adults with community-acquired pneumonia. J Clin Microbiol 2003; 41:63-6.
86. Dowell SF, Peeling RW, Boman J, et al. Standardizing *Chlamydia pneumoniae* assays: recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention (USA) and the Laboratory Centre for Disease Control (Canada). Clin Infect Dis 2001; 33:492-503.
87. Falguera M, Nogue's A, Ruiz-Gonzalez A, Garcia M, Puig T, Rubio-Caballero M. Transthoracic needle aspiration in the study of pulmonary infections in patients with HIV. Chest 1994; 106:697-702.
88. Ruiz-Gonzalez A, Falguera M, Nogue's A, Rubio-Caballero M. Is *Streptococcus pneumoniae* the leading cause of pneumonia of unknown etiology? A microbiologic study of lung aspirates in consecutive patients with community-acquired pneumonia. Am J Med 1999; 106:385-90.
89. Garcia A, Roso'n B, Pe'rez JL, et al. Usefulness of PCR and antigen latex agglutination test with samples obtained by transthoracic needle aspiration for diagnosis of pneumococcal pneumonia. J Clin Microbiol 1999; 37:709-14.
90. Lorente ML, Falguera M, Nogue's A, Gonzalez AR, Merino MT, Caballero MR. Diagnosis of pneumococcal pneumonia by polymerase chain reaction (PCR) in whole blood: a prospective clinical study. Thorax 2000; 55:133-7.
91. Vuori-Holopainen E, Salo E, Saxe'n H, et al. Etiological diagnosis of childhood pneumonia by use of transthoracic needle aspiration and modern microbiological methods. Clin Infect Dis 2002; 34:583-90.
92. Murdoch DR. Diagnosis of *Legionella* infection. Clin Infect Dis 2003; 36:64-9.

93. Waites KB, Taylor-Robinson D. *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 1999:782–94.
94. Williamson J, Marmion BP, Worswick DA, et al. Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection. 4. Antigen capture and PCR gene amplification for detection of the mycoplasma: problems of clinical correlation. *Epidemiol Infect* 1992; 109:519–37.
95. Skakni L, Sardet A, Just J, et al. detection of *Mycoplasma pneumoniae* in clinical samples from pediatric patients by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; 30:2638–43.
96. Kai M, Kamiya S, Yabe H, Takakura I, Shiozawa K, Ozawa A. Rapid detection of *Mycoplasma pneumoniae* in clinical samples by the polymerase chain reaction. *J Med Microbiol* 1993; 38:166–70.
97. de Barbeyrac B, Bernet-Poggi C, Fe'brer F, Renaudin H, Dupon M, Be'be'ar C. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma genitalium* in clinical samples by the polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 1993; 17(Suppl 1):S83–9.
98. Luneberg E, Jensen JS, Frosch M. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* by polymerase chain reaction and nonradioactive hybridization in microtiter plates. *J Clin Microbiol* 1993; 31:1088–94.
99. Tjhie JHT, van Kuppeveld FJM, Roosendaal R, et al. Direct PCR enables detection of *Mycoplasma pneumoniae* in patients with respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 1994; 32:11–6.
100. Blackmore TK, Reznikov M, Gordon DL. Clinical utility of the polymerase chain reaction to diagnose *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Pathology* 1995; 27:177–81.
101. Reznikov M, Blackmore TK, Finlay-Jones JJ, Gordon DL. Comparison of nasopharyngeal aspirates and throat swab specimens in a polymerase chain reaction based test for *Mycoplasma pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14:58–61.
102. Ieven M, Ursi D, Van Bever H, Quint W, Niesters HGM, Goossens H. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* by two polymerase chain reactions and role of *M. pneumoniae* in acute respiratory tract infections in pediatric patients. *J Infect Dis* 1996; 173:1445–52.
103. Falguera M, Nogues A, Ruiz-Gonzalez A, Garcia M, Puig T. Detection of *Mycoplasma pneumoniae* by polymerase chain reaction in lung aspirates from patients with community-acquired pneumonia. *Chest* 1996; 110:972–6.

104. Kessler HH, Dodge DE, Pierer K, et al. Rapid detection of *Mycoplasma pneumoniae* by an assay based on PCR and probe hybridization in a nonradioactive microwell plate format. J Clin Microbiol 1997; 35:1592–4.
105. Abele-Horn M, Busch U, Nitschko H, et al. Molecular approaches to diagnosis of pulmonary diseases due to *Mycoplasma pneumoniae*. J Clin Microbiol 1998; 36:548–51.
106. Dorigo-Zetsma JW, Zaat SAJ, Wertheim-van Dillen PME, et al. Comparison of PCR, culture, and serological tests for diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract infection in children. J Clin Microbiol 1999; 37:14–7.
107. Honda J, Yano T, Kusaba M, et al. Clinical use of capillary PCR to diagnose *Mycoplasma pneumoniae*. J Clin Microbiol 2000; 38:1382–4.
108. Dorigo-Zetsma JW, Verkooyen RP, van Helden HP, van der Nat H, van den Bosch JM. Molecular detection of *Mycoplasma pneumoniae* in adults with community-acquired pneumonia requiring hospitalization. J Clin Microbiol 2001; 39:1184–6.
109. Waring AL, Halse TA, Csiza CK, Carlyn CJ, Musser KA, Limberger RJ. Development of a genomics-based PCR assay for detection of *Mycoplasma pneumoniae* in a large outbreak in New York state. J Clin Microbiol 2001; 39:1385–90.
110. Jaulhac B, Nowicki M, Bornstein N, et al. Detection of *Legionella* spp. in bronchoalveolar lavage fluids by DNA amplification. J Clin Microbiol 1992; 30:920–4.
111. Kessler HH, Reinthaler FF, Pschaid A, et al. Rapid detection of *Legionella* species in bronchoalveolar lavage fluids with the EnviroAmp *Legionella* PCR amplification and detection kit. J Clin Microbiol 1993; 31:3325–8.
112. Matsiota-Bernard P, Pitsouni E, Legakis N, Nauciel C. Evaluation of commercial amplification kit for detection of *Legionella pneumophila* in clinical specimens. J Clin Microbiol 1994; 32:1503–5.
113. Lisby G, Dessau R. Construction of a DNA amplification assay for detection of *Legionella* species in clinical samples. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13:225–31.
114. Jonas D, Rosenbaum A, Weyrich S, Bhakdi S. Enzyme-linked immunoassay for detection of PCR-amplified DNA of legionellae in bronchoalveolar fluid. J Clin Microbiol 1995; 33:1247–52.
115. Weir SC, Fischer SH, Stock F, Gill VJ. Detection of *Legionella* by PCR in respiratory specimens using a commercially available kit. Am J Clin Pathol 1998; 110:295–300.

116. Cloud JL, Carroll KC, Pixton P, Erali M, Hillyard DR. Detection of *Legionella* species in respiratory specimens using PCR with sequencing confirmation. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1709–12.
117. Maiwald M, Schill M, Stockinger C, et al. Detection of *Legionella* DNA in human and guinea pig urine samples by the polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14:25–33.
118. Murdoch DR, Walford EJ, Jennings LC, et al. Use of the polymerase chain-reaction to detect *Legionella* DNA in urine and serum samples from patients with pneumonia. *Clin Infect Dis* 1996; 23:475–80.
119. Helbig JH, Engelsta" dter T, Maiwald M, Uldum SA, Witzleb W, Luck PC. Diagnostic relevance of the detection of *Legionella* DNA in urine samples by the polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18:716–22.
120. Murdoch DR, Jennings LC, Light GJ, Chambers ST. Detection of *Legionella* DNA in guinea pig peripheral leukocytes, urine and plasma by the polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18:445–7.
121. Matsiota-Bernard P, Waser S, Vrioni G. Detection of *Legionella pneumophila* DNA in urine and serum samples from patients with pneumonia. *Clin Microbiol Infect* 2000; 6:223–5.
122. Socan M, Kese D, Marinic-Fiser N. Polymerase chain reaction for detection of legionellae DNA in urine samples from patients with community-acquired pneumonia. *Folia Microbiol (Praha)* 2000; 45:469–72.
123. Lindsay DS, Abraham WH, Fallon RJ. Detection of *mip* gene by PCR for diagnosis of Legionnaires' disease. *J Clin Microbiol* 1994; 32:3068–9.
124. Matsiota-Bernard P, Vrioni G, Nauciel C. Use of the polymerase chain reaction for the detection of *Legionella pneumophila* DNA in serum samples. *Clin Infect Dis* 1997; 25:939.
125. Ramirez JA, Ahkee S, Tolentino A, Miller RD, Summersgill JT. Diagnosis of *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, or *Chlamydia pneumoniae* lower respiratory infection using the polymerase chain reaction on a single throat swab specimen. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1996; 24:7–14.
126. van der Zee A, Peeters M, de Jong C, et al. Qiagen DNA extraction kits for sample preparation for *Legionella* PCR are not suitable for diagnostic purposes. *J Clin Microbiol* 2002; 40:1126.

127. Boman J, Hammerschlag MR. *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis: critical assessment of diagnostic methods and relevance to treatment studies. Clin Microbiol Rev 2002; 15:1–20.
128. Boman J, Gaydos CA, Quinn TC. Molecular diagnosis of *Chlamydia pneumoniae* infection. J Clin Microbiol 1999; 37:3791–9.
129. Verkooyen RP, Willemse D, Hiep-van Casteren SCAM, et al. Evaluation of PCR, culture, and serology for diagnosis of *Chlamydia pneumoniae* respiratory infections. J Clin Microbiol 1998; 36:2301–7.
130. Apfalter P, Assadian O, Blasi F, et al. Reliability of nested PCR for detection of *Chlamydia pneumoniae* DNA in atheromas: results from a multicenter study applying standardized protocols. J Clin Microbiol 2002; 40:4428–34.
131. Tong CYW, Sillis M. Detection of *Chlamydia pneumoniae* and *Chlamydia psittaci* in sputum samples by PCR. J Clin Pathol 1993; 46:313–7.
132. Essig A, Zucs P, Susa M, et al. Diagnosis of ornithosis by cell culture and polymerase chain reaction in a patient with chronic pneumonia. Clin Infect Dis 1995; 21:1495–7.
133. Messmer TO, Skelton SK, Moroney JF, Daugharty H, Fields BS. Application of a nested, multiplex PCR to psittacosis outbreaks. J Clin Microbiol 1997; 35:2043–6.
134. Laing R, Slater W, Coles C, et al. Community-acquired pneumonia in Christchurch and Waikato 1999–2000: microbiology and epidemiology. N Z Med J 2001; 114:488–92.
135. Drummond P, Clark J, Wheeler J, Galloway A, Freeman R, Cant A. Community acquired pneumonia—a prospective UK study. Arch Dis Child 2000; 83:408–12.
136. Whimbey E, Englund JA, Couch RB. Community respiratory virus infections in immunocompromised patients with cancer. Am J Med 1997; 102:10–8.
137. Ljungman P. Respiratory virus infections in bone marrow transplant recipients: the European perspective. Am J Med 1997; 102:44–7.
138. van Elden LJR, van Kraaij MGJ, Nijhuis M, et al. Polymerase chain reaction is more sensitive than viral culture and antigen testing for the detection of respiratory viruses in adults with hematological cancer and pneumonia. Clin Infect Dis 2002; 34:177–83.

