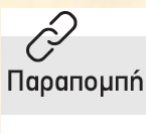


## Ουρολοιμώξεις: ο ρόλος του Μικροβιολογικού Εργαστηρίου

Γεωργία Βρυώνη

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Εργαστήριο Μικροβιολογίας,

ΙΑτρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών



Γ. Βρυώνη. Ουρολοιμώξεις: ο ρόλος του Μικροβιολογικού Εργαστηρίου. *Επιστημονικά Χρονικά* 2017;22(S1): 30-35

Ουρολοίμωξη είναι λοίμωξη που προκαλείται λόγω της εισόδου βακτηρίων σε κάποιο σημείο του ουροποιητικού συστήματος, από την ουρήθρα ως το νεφρικό παρέγχυμα, σε συνδυασμό με τη φλεγμονώδη αντίδραση του ξενιστή, με συνέπεια την πρόκληση πυουρίας. Οι ουρολοιμώξεις διακρίνονται σε εκείνες που εντοπίζονται στο κατώτερο ουροποιητικό (ουρηθρίτιδα, κυστίτιδα) και εκείνες που εντοπίζονται στο ανώτερο ουροποιητικό σύστημα (πυελονεφρίτιδα). **Επιπλεγμένες** θεωρούνται οι ουρολοιμώξεις που αφορούν εγκύους, ανοσοκατασταλαμένους και άτομα με ανατομικές ανωμαλίες στο ουροποιητικό σύστημα ή που φέρουν ουροκαθετήρες. Η επανεμφάνιση βακτηρίων στα ούρα μετά τη θεραπεία μπορεί να οφείλεται σε υποτροπή (συνήθως από ανθεκτικά στην αγωγή βακτήρια, εντός 1-2 εβδομάδων από τη θεραπεία) και επαναλοίμωξη (που παρατηρείται εντός διμήνου από την αγωγή και οφείλεται σε διαφορετικό βακτηριακό στέλεχος). Οι ουρολοιμώξεις είναι από τις συχνότερα απαντώμενες εξωνοσοκομειακές

λοιμώξεις και οι συχνότερες νοσοκομειακές (40%).

Η διάγνωση της ουρολοίμωξης βασίζεται στην κλινική εικόνα του ασθενούς και επιβεβαιώνεται με τις εργαστηριακές εξετάσεις που είναι α) η γενική και β) η καλλιέργεια ούρων. Απαραίτητη προϋπόθεση για την σωστή αξιολόγησή τους είναι το υπό εξέταση δείγμα που φτάνει στο Εργαστήριο να είναι κατάλληλο. **Η μακροσκοπική εξέταση** των φυσικών χαρακτήρων του δείγματος είναι καθοριστική για την αποδοχή του δείγματος. Ούρα θολά με ίζημα λευκωπό και οσμή αμμωνίας κρίνονται ακατάλληλα για εξέταση. Τα πλέον κατάλληλα ούρα είναι τα πρωινά διότι 1) είναι πυκνότερα, γιατί οι νεφροί έχουν μεγαλύτερη συμπυκνωτική ικανότητα κατά τη διάρκεια της νύκτας, 2) είναι πιο πρόσφατα και όξινα και έτσι τα έμμορφα στοιχεία διατηρούνται καλύτερα και 3) έχουν πιο σταθερή σύσταση και ειδικό βάρος από τα ούρα της ημέρας και τέλος 4) είναι ευκολότερη η συλλογή και η συντήρησή τους.

Η **συλλογή του δείγματος** γίνεται μετά από τοπικό καθαρισμό από τα πρώτα πρωινά ούρα, ή σε τυχαίο δείγμα, όταν είναι μια επείγουσα κατάσταση, με τη μέθοδο clean catch (μέσο ρεύμα ούρησης). Χρησιμοποιείται αποστειρωμένο ουροδοχείο και το δείγμα μεταφέρεται για εξέταση εντός δύο ωρών, διαφορετικά φυλάσσεται στο ψυγείο. Στα βρέφη και παιδιά μπορεί να χρησιμοποιηθεί ειδικός αυτοκόλλητος ουροσυλλέκτης μιας χρήσης.

#### Α. ΓΕΝΙΚΗ ΟΥΡΩΝ

Η γενική ούρων είναι ταχεία και φθηνή μέθοδος για την αρχική εκτίμηση πιθανής ουρολοίμωξης. Πρέπει να τονισθεί ότι η παρουσία προυρίας και βακτηριουρίας σε ένα φρέσκο δείγμα ούρων αποτελεί ισχυρή ένδειξη για την παρουσία ουρολοίμωξης.

Φυσιολογικά ανευρίσκονται μέχρι 4 πρσοφαιρία κ.ο.π. Αν βρεθούν >5 κ.ο.π.(ή 25 WBCs/μl) αυτό θεωρείται ουρολοίμωξη. Θα πρέπει να ληφθεί υπ' όψιν ότι ο αριθμός των 4 πρσοφαιριών / κ.ο.π. δεν είναι απόλυτος, αφού σε μεταβολές του ειδικού βάρους των ούρων, όπως E.B. < 1010 ο αριθμός των 4-5 πρσοφαιριών / κ.ο.π. μπορεί να υποδηλώνει παθολογική κατάσταση. Αντίθετα σε πολύ πυκνά ούρα E.B> 1035 αριθμός μέχρι και 8 πρσοφαιριών κ.ο.π μπορεί να θεωρηθεί εντός των ορίων του φυσιολογικού. Η ύπαρξη πρσοφαιριών αποτελεί δείκτη ενεργού

φλεγμονής και βοηθάει στη διάκριση της λοίμωξης από την επιμόλυνση ή τον αποικισμό.

Ο **προσδιορισμός των πρσοφαιριών** μπορεί να γίνει με τους εξής τρόπους:

- Λευκοκυτταρική εστεράση (LE) [στις ταχυ-διαγνωστικές αντιδραστήριες ταινίες ούρων (dipsticks)]
- Μικροσκοπική εξέταση ιζήματος ούρων.

Πρέπει να σημειωθεί όμως ότι ο προσδιορισμός της LE, δεν μπορεί να αντικαταστήσει τη **μικροσκόπηση**. Έτσι, εάν διαπιστώνεται προυρία και υπάρχει από την κλινική εικόνα υπόνοια ουρολοίμωξης, πρέπει να ακολουθεί μικροσκοπικός έλεγχος, ανεξάρτητα από την τιμή LE στο stick ούρων.

Η **ύπαρξη βακτηριουρίας** μπορεί να γίνει με τους εξής τρόπους:

- Αναγωγή νιτρικών (NR) [στις ταχυ-διαγνωστικές αντιδραστήριες ταινίες (dipsticks)]. Προσοχή: αρνητικό αποτέλεσμα αν ουρολοίμωξη από μικρόβια που δεν παράγουν NR, δηλαδή *S. saprophyticus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Candida*)

- Μικροσκοπική εξέταση ιζήματος ούρων

- Gram χρώση αφυγοκέντρητων ούρων

Η μικροσκόπηση και η Gram χρώση σε αφυγοκέντρητα ούρα πρέπει να ακολουθεί σε όλες τις παρακάτω περιπτώσεις:

<b>Παιδιά</b>	με υποτροπιάζουσες ουρολοιμώξεις
<b>Άνδρες ασθενείς</b>	με γνωστές ανωμαλίες ουροποιητικού συστήματος
<b>Γυναίκες με σακχαρώδη διαβήτη ή άλλα χρόνια νοσήματα</b>	αν δεν μπορεί να αποκλειστεί πυελονεφρίτιδα
<b>Ανοσοκατεσταλμένοι</b>	σε αποτυχία θεραπείας
<b>Έγκυες</b>	

Γενικά, η εξέταση LE και NR πρέπει να αποφεύγονται σε:

1. ασθενή με ουροκαθετήρα: συνήθως προυρία (+) και μικρόβια NR(-)
2. ασθενή με νευρογενή κύστη (χρόνια προυρία)
3. θεραπεία με φάρμακα που επηρεάζουν το αποτέλεσμα.

Η παρουσία βακτηρίων στο ίζημα φυγοκεντρημένων ούρων χωρίς χρώση (μεγέθυνση X400), παράλληλα με τη Gram χρώση αποτελεί από τα πιο αξιόπιστες, ταχείες δοκιμασίες για την διάγνωση ή τον αποκλεισμό ουρολοίμωξης.

- Όταν ανευρίσκεται  $\geq 1$  βακτήριο/κ.ο.π. αυτό σημαίνει ουρολοίμωξη και αντιστοιχεί σε 10<sup>4</sup> - 10<sup>5</sup>CFU/ml τουλάχιστον,
- Ευαισθησία / Ειδικότητα >90% (για διάγνωση ουρολοίμωξης),
- Η παρουσία πολλών πλακωδών επιθηλίων και μικροβίων διαφορετικής μορφολογίας υποδηλώνει επιμόλυνση και ζητείται νέο δείγμα.

Στον Πίνακα 1 φαίνονται η διαγνωστική αξία ταινίας ούρων (dipstick), μικροσκοπικής και εξέτασης με ογκομετρικές πλάκες (enhanced urinalysis) στη διάγνωση της ουρολοίμωξης

## B. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΟΥΡΩΝ

Καμία πληροφορία της γενικής ούρων δεν έχει την ευαισθησία και την ειδικότητα της καλλιέργειας ούρων. Στα ούρα γίνεται ποσοτική καλλιέργεια για να προσδιοριστεί ο αριθμός των μικροβίων /ml ούρων (cfu/ml) και να γίνει διάκριση της λοίμωξης από την επιμόλυνση.

## Τεχνική

1. Ανακινείται καλά το δείγμα

2. Λήψη δείγματος με:

- βαθμονομημένο κρίκο (βυθίζεται κάθετα στην επιφάνειά του δείγματος)
- 1μl (0,001ml), ή
- 10μl (0,01ml), όταν η λήψη των ούρων έχει γίνει με επεμβατική μέθοδο, σε έλεγχο μυκητουρίας, σε μεταμοσχευμένους ή ουρολογικούς ασθενείς και σε έλεγχο κυστίτιδας εφήβων και νεαρών γυναικών), ή
- με πιπέτα 10μl ή 1μl

3. Καλλιέργεια:

- σε αιματούχο και McConkey άγαρ
- σε σοκολατόχρωμο αν δείγματα από κυστεοσκόπηση ή προστατικό έκκριμα
- αναερόβια επί υπερηβικής παρακέντηση και
- σε Sarouraud για αναζήτηση μυκήτων

4. Επώαση στους 35-37°C για

- 24 ώρες ή
- 48 ώρες για δείγματα που ελήφθησαν με επεμβατικές τεχνικές, σε ανοσοκατασταμένους, σε καλλιέργεια μυκήτων (*Candida glabrata* επώαση 72 ώρες), αν οι αποικίες είναι δυσδιάκριτες, ή όταν δεν υπάρχει συσχέτιση γενικής ούρων και κλινικών πληροφοριών π.χ. άσηπτη προυρία ή συμπτώματα χωρίς στοιχεία από την καλλιέργεια.

5. Έλεγχος καλλιεργήματος μετά από 18 τουλάχιστον ώρες,

- μέτρηση αποικιών ανά είδος μικροβίου πολλαπλασιάζοντας x1000 ή x100 ανάλογα με την ποσότητα ενοφθαλμισμού (1μl ή 10μl) αντίστοιχα. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε cfu/ml.

6. Ταυτοποίηση μόνο των μικροβίων που θα αξιολογηθούν.

7. Έλεγχος της ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά φάρμακα γίνεται



Δοκιμασία	Ευαισθησία (%)	Ειδικότητα (%)
<b>Dipstick tests</b>		
Λευκοκυτταρική εστεράση	83 (67–94)	78 (64–92)
Αναγωγή νιτρικών	53 (15–82)	98 (90–100)
Λευκοκυτταρική εστεράση <b>Η'</b> νιτρικά	93 (90–100)	72 (58–91)
Λευκοκυτταρική εστεράση <b>ΚΑΙ</b> νιτρικά	45 (30–61)	98 (96–99)
Λεύκωμα	8.1–53.3	83.9–95.1
Αιμοσφαιρίνη	25.5–53.3	85
<b>Μικροσκοπική</b>		
WBCs (>5/hpf ή ο.π. 400x)	73 (32–100)	81 (45–98)
Βακτήρια (χωρίς χρώση)	88 (75–94)	92 (83–96)
Βακτήρια (Gram χρώση)	91 (80–96)	96 (92–98)
<b>Ογκομετρική ανάλυση</b> (με ειδικές ογκομετρικές πλάκες ή πλάκα Neubauer)		
WBCs (>10/μl)	91.2	96.5
WBCs και βακτήρια	89.2	99.4

**Πίνακας 1.** Διαγνωστική αξία ταινίας ούρων (dipstick), μικροσκοπικής και εξέτασης με ογκομετρικές πλάκες (enhanced urinalysis) στη διάγνωση της ουρολοίμωξης.

ακολουθώντας μια προτυποποιημένη μέθοδο (CLSI/EUCAST). Το άμεσο αντιβιογράμμα γενικά δε συνιστάται. Γίνεται σε επείγουσες περιπτώσεις και είναι αξιόπιστο (95%) σε μονομικροβιακή ανάπτυξη  $\geq 10^5$  cfu/ml. Ακολουθεί επανάληψη με προτυποποιημένη μέθοδο.

8. **Διατήρηση τρυβλίων** σε θερμοκρασία δωματίου 2-3 ημέρες, καθώς και του δείγματος ούρων στο ψυγείο για 24 ώρες για επίλυση τυχόν προβλημάτων που ενδέχεται να προκύψουν.

**Ψευδώς αρνητική καλλιέργεια** μπορεί να συμβεί λόγω προηγούμενης λήψης αντιβιοτικών, παρουσίας αντισηπτικού στα ούρα, διούρησης, ολικής απόφραξης κάτω από το σημείο της λοίμωξης και επί φυματίωσης νεφρού.

#### Αξιολόγηση αποτελεσμάτων (Πίνακας 2)

1. Γενικά ανάπτυξη  $>10^5$ cfu/ml ενός είδους βακτηρίου σε ούρα μέσου ρεύματος ούρησης

(αφορά 95% των περιπτώσεων) είναι ενδεικτική ουρολοίμωξης σε ποσοστό 80-95%.

2. Σε ανάπτυξη  $10^4$ - $10^5$ cfu/ml συνεκτιμώνται οι κλινικές πληροφορίες (πιθανή πυελονεφρίτιδα) και το είδος του μικροβίου.

3. Ανάπτυξη  $\geq 10^4$ cfu/ml μπορεί να είναι κλινικά σημαντική σε Gram(+) βακτήρια(C. urealyticum, S. agalactiae), μύκητες και άλλα μικρόβια αυξημένων διατροφικών απαιτήσεων

4. Ανάπτυξη  $<10^4$ cfu/ml συχνά οφείλεται σε πιθανή επιμόλυνση με χλωρίδα της περιοχής, ιδιαίτερα σε ασυμπτωματικούς ασθενείς ή σε μη σωστή συλλογή δείγματος. Εξαιρέση αποτελεί το οξύ ουρηθρικό σύνδρομο (νεαρές γυναίκες).

5. Σε βακτηριουρία  $<10^5$ cfu/ml έχουμε οξεία κυστίτιδα σε 30-50% των περιπτώσεων.

6. Μικρός αριθμός αποικιών ( $<10^3$  cfu/ml), δηλαδή φλεγμονή χωρίς βακτηριουρία, αξιολογείται σε δείγμα που έχει ληφθεί με υπερηβική παρακέντηση, σε ατελώς θεραπευθείσα ουρολοίμωξη, σε απόφραξη του

Τρόπος συλλογής	1 στέλεχος	2 στελέχη	3 στελέχη
<b>Μέσου ρεύματος Εξωτερικοί ασθενείς</b>	<10 <sup>4</sup> (ταυτοποίηση) ≥10 <sup>4</sup> ή 10 <sup>3</sup> σε γυναίκες 14-30 ετών (ταυτοποίηση-αντιβιογράμμα)	<10 <sup>5</sup> cfu/ml (ταυτοποίηση) ≥10 <sup>5</sup> cfu/ml (ταυτοποίηση και αντιβιογράμμα)	Καταγραφή του αριθμού επανάληψη-επιμόλυνση-Νευρογενής κύστη αποικισμός
<b>Καθετηριασμός ≥65 ετών Νοσηλεύόμενοι</b>	<10 <sup>4</sup> (ταυτοποίηση) ≥10 <sup>4</sup> (ταυτοποίηση και αντιβιογράμμα)	<10 <sup>5</sup> (ταυτοποίηση) >10 <sup>5</sup> (ταυτοποίηση και αντιβιογράμμα το προεξάρχον)	Λευκά κ.φ όπως και στους εξωτερικούς ασθενείς Συμπτώματα όπως σε 2 παθογόνα
<b>Καθετήρας προσωρινός ή Υπερηβική παρακέντηση ή Κυστεοσκόπηση ή Μυκητιάσεις</b>	10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup> με μικρόβια της φυσιολογικής χλωρίδας, δέρματος-ουροποιογεννητικού ≥10 <sup>3</sup> (ταυτοποίηση) ή ≤10 <sup>3</sup> ουροπαθγόνα ταυτοποίηση και αντιβιογράμμα)	<10 <sup>3</sup> (ταυτοποίηση) ≥10 <sup>3</sup> ουροπαθγόνα Ταυτοποίηση και αντιβιογράμμα	≤10 <sup>4</sup> (ταυτοποίηση) ≥10 <sup>4</sup> (ταυτοποίηση - αντιβιογράμμα) Επικοινωνία με τον παθολόγο

**Πίνακας 2.** Αξιολόγηση αποτελέσματος καλλιέργειας ούρων

ουροποιητικού, σε παρουσία Gram θετικών βακτηρίων ή βραδέως αναπτυσσόμενων μικροβίων, σε οξύ ουρηθρικό σύνδρομο των γυναικών (ακόμα και με ανάπτυξη 10<sup>2</sup>cfu/ml), σε ουρολοίμωξη στα παιδιά (ιδιαίτερα στα αγόρια), σε χρόνιες ουρολοιμώξεις, σε αιματογενή πυελονεφρίτιδα, σε αναγκαστική διούρηση και προστατίτιδα. Σε συμπτωματικούς άνδρες αξιολογείται ανάπτυξη ≥10<sup>3</sup>cfu/ml με πύουρα, ενώ σε ασυμπτωματικούς θεωρείται αποικισμός.

7. Ανάπτυξη ≥10<sup>5</sup> cfu/ml ≤ 2 μικροβίων σε συμπτωματικούς ασθενείς χωρίς πύουρα συνιστάται επανάληψη της καλλιέργειας, γιατί μπορεί να είναι αρχόμενη ουρολοίμωξη ή μπορεί να αφορά ανοσοκατασταλμένους υπό χημειοθεραπεία ή μεταμοσχευμένους

8. Ανάπτυξη >10<sup>5</sup>cfu/ml 2 ουροπαθόνων αξιολογείται σχεδόν μόνο σε ουρολογικούς ασθενείς (5% των περιπτώσεων).

9. Ανάπτυξη 2 ή περισσότερων μικροβίων (1 ουροπαθόγονο ≥10<sup>5</sup> cfu/ml και τα άλλα ≤10<sup>4</sup> cfu/ml ) μπορεί να αξιολογηθεί το πρώτο,

εφόσον ο άρρωστος είναι συμπτωματικός. Ανάπτυξη 2 ή περισσότερων μικροβίων ≥10<sup>5</sup> cfu/ml συνήθως οφείλεται σε επιμόλυνση, ιδιαίτερα σε ασυμπτωματικούς ασθενείς.

10. Πολυμικροβιακή βακτηριουρία ανιχνεύεται σε νευρογενή κύστη και μόνιμους ουροκαθετήρες, συχνά χωρίς λοίμωξη.

11. Ανάπτυξη γαλακτοβακίλλων, διφθεροειδών, στρεπτοκόκκων μπορεί να αξιολογηθεί εφόσον είναι μονομικροβιακή ανάπτυξη σε επανειλημμένα δείγματα.

12. Ασυμπτωματική βακτηριουρία εκτιμάται μόνο στις εγκύους γιατί υπάρχει μεγαλύτερος κίνδυνος πυελονεφρίτιδας και σε ουρολογικούς ασθενείς προεγχειρητικά.

Τέλος, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων εξαρτάται και από τον τρόπο λήψης του δείγματος δεδομένου ότι:

1. σε δείγματα με επεμβατική μέθοδο (υπερηβική παρακέντηση, άμεσο καθετηριασμό, λήψη με χειρουργική διαδικασία ή από ασθενή υπό αντιμικροβιακή αγωγή) η καλλιέργεια είναι

θετική όταν η ανάπτυξη είναι  $\geq 10^2$ cfu/ml με 1 παθογόνο. Επίσης είναι θετική σε 2 παθογόνα με ανάπτυξη  $\geq 10^5$  cfu/ml το καθένα, καθώς και με 2 ή περισσότερα μικρόβια (1 ουροπαθογόνο  $\geq 10^5$  cfu/ml που αξιολογείται και τα άλλα  $< 10^4$ cfu/ml), πιθανή λοίμωξη αν έχουμε οποιαδήποτε ανάπτυξη με 1 παθογόνο και επιμόλυνση σε μη παθογόνα ή ανάπτυξη 3 ή περισσότερων μικροβίων  $\geq 10^5$  cfu/ml. Ειδικά για τον άμεσο καθετηριασμό από την κύστη το όριο των  $\geq 10^2$ cfu/ml καλύτερα να εφαρμόζεται όταν υπάρχουν συμπτώματα και στοιχεία στη

γενική ούρων. Διαφορετικά ασφαλέστερο είναι το όριο  $\geq 10^3$ cfu/ml

2. σε δείγματα από ουροκαθετήρα η καλλιέργεια είναι θετική αν έχουμε  $\geq 10^4$ cfu/ml με 1 παθογόνο, πιθανή αν έχουμε ανάπτυξη  $\geq 10^3$ cfu/ml με 1 παθογόνο (αν έχουμε 2 είναι επιμόλυνση), επιμόλυνση με  $\geq 500$  cfu/ml και αρνητική  $< 500$  cfu/ml. Σε ασθενείς με καθετήρα μακράς διάρκειας και σε αυτούς με νευρογενή κύστη παρατηρείται πολυμικροβιακή ανάπτυξη.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Urinary tract infection: diagnosis guide for primary care, UK National Standard Methods, 2014 (<https://www.gov.uk/government/publications/urinary-tract-infection-diagnosis>)
2. UK Standards for Microbiology Investigations Investigation of Urine. Issued by the Standards Unit, Microbiology Services, PHE, Bacteriology, B 41, Issue no: 7.2, Issue date: 18.07.14. Pages: 1 - 46.
3. Isenberg HD. Urine Cultures. Procedures / Guidelines for the Microbiology Laboratory. 2010, p. 3.12.1-3.12.31
4. Nicolle LE et al. Infectious Diseases Society of America Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Asymptomatic Bacteriuria in Adults. Clinical Infectious Diseases 2005; 40:643-54
5. Gupta K et al. International Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Acute Uncomplicated Cystitis and Pyelonephritis in Women: A 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. Clinical Infectious Diseases 2011;52:e103-e120
6. Guidelines on Urological Infections, European Association of Urology 2014: <http://www.uroweb.org/guidelines/online-guidelines/> (ISBN 978-90-79754-70-0)
7. Κατευθυντήριες οδηγίες για τη διάγνωση και την εμπειρική θεραπεία των λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος. Κατευθυντήριες Οδηγίες για τη Διάγνωση και την Εμπειρική θεραπεία των Λοιμώξεων. ΕΕΛ και ΚΕΕΛΠΙΝΟ 2015, σελ. 67-82.
8. Bitsori M, Galanakis E. Pediatric urinary tract infections: diagnosis and treatment. Expert Rev Anti Infect Ther 2012;10:1153-1164
9. Schulz L, Hoffman RJ, Pothof J, Fox B. Top Ten Myths Regarding the Diagnosis and Treatment of Urinary Tract Infections. J Emerg Med. 2016;51:25-30

Συγγραφέας επικοινωνίας

Γεωργία Βρυώνη, E-mail: [gvrioni@med.uoa.gr](mailto:gvrioni@med.uoa.gr)