



ΚΕΝΤΡΟ ΕΛΕΓΧΟΥ &  
ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ (ΚΕΕΛΠΝΟ)

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΥΓΕΙΑΣ

# Ενημερωτικό Δελτίο

Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων  
Αγράφων 3- 5, Μαρούσι, 15123, 210 5212000

Σεπτέμβριος 2013 Αρ. 31/ Έτος 3ο ISSN 1792-9016

Αρ. 31

## Μοριακή Περιβαλλοντική Μικροβιολογία

Οι μικροοργανισμοί εγκαταστάθηκαν στον πλανήτη μας πολύ πριν από οποιοδήποτε άλλο ανώτερο οργανισμό. Κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των ειδών κατάφεραν να αποικίσουν όλα τα διαφορετικά μικροπεριβάλλοντα, όπως το έδαφος και το γλυκό και αλμυρό νερό, ενώ κατάφεραν να εκμεταλλευτούν ιδιαίτερα ενδιαιτήματα, αναπτύσσοντας συχνά συμβιωτικές σχέσεις με φυτά, ζώα αλλά και τον άνθρωπο. Μέχρι πρόσφατα ο κύριος τρόπος μελέτης των μικροοργανισμών και της σχέσης τους με το περιβάλλον, γινόταν με τις αποκαλούμενες «κλασικές» ή «συμβατικές» τεχνικές. Αυτές βασίζονται κυρίως στην καλλιέργεια επιλεγμένων μικροβίων σε θρεπτικά καλλιεργητικά υλικά, την απομόνωσή τους από τα τεχνητά αυτά περιβάλλοντα και τη μελέτη των ιδιοτήτων που ήδη έχουν ή ενδεχομένως αναπτύσσουν σ' αυτό το απομονωμένο «τεχνητό» περιβάλλον. Επομένως, η εικόνα που έχουμε για τους περιβαλλοντικούς μικροοργανισμούς αλλοιώνεται από την ανάγκη να τους καλλιεργήσουμε σε κάποιο τεχνητό περιβάλλον.

Οι σύγχρονες μέθοδοι έχουν το πλεονέκτημα ότι επιτρέπουν τη μελέτη των μικροοργανισμών χωρίς την ανάγκη καλλιέργειάς τους. Το οπλοστάσιο των εργαλείων μας περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό μοριακών τεχνικών. Οι περισσότερες από αυτές βασίζονται στην ανάλυση των αλληλουχιών του DNA των μικροβίων, αλλά ταχύτατα αναπτύσσονται τεχνικές για τη μελέτη του RNA και των πρωτεϊνών που απομονώνονται από περιβαλλοντικά δείγματα. Σε γενικές γραμμές μπορούμε να πούμε ότι η έρευνα κατευθύνεται προς τη μοριακή ανάλυση μακρομορίων που εκχυλίζονται από περιβαλλοντικά δείγματα και μελετώνται ως σύνολο και όχι μεμονωμένα. Αυτός ο τρόπος μεθοδολογικής ανάλυσης εκφράζεται με τους όρους proteomics ή genomics, ανάλογα με το είδος του υπό μελέτη εκχυλίσματος.

Η συνολική ανάλυση και μελέτη των μακρομορίων που εκφράζουν οι διάφοροι μικροοργανισμοί στο φυσικό περιβάλλον, στο οποίο ενδιαίτουν, επιτρέπει την ακριβέστερη και ευρύτερη αποκάλυψη των ιδιοτήτων και λειτουργιών τους, χωρίς να υπεισέρχεται ο τεχνητός παράγοντας της «εργαστηριακής αλλοτρίωσής τους». Επιπλέον, η ανάλυση είναι κατά κανόνα ταχύτερη και οι αριθμοί των δειγμάτων που αναλύονται είναι μεγαλύτεροι. Στο εγγύς μέλλον είναι πολύ πιθανό να δούμε τις πρώτες μοριακές μελέτες, οι οποίες θα περιλαμβάνουν την ταυτόχρονη μοριακή ανάλυση όλων των μικροοργανισμών που αποικίζουν συγκεκριμένα ενδιαιτήματα, όπως για παράδειγμα τη μοριακή ανάλυση των γονιδιωμάτων όλων των μικροβίων που αποικίζουν συγκεκριμένα καλλιεργητικά εδάφη ή της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου ή της στοματικής κοιλότητας (microbiomics).

**Αθανάσιος Τσακρής, Καθηγητής Μικροβιολογίας,  
Παν/μιο Αθηνών**

## Περιεχόμενα

- Κυρίως θέμα: Εφαρμογές Μοριακής Επιδημιολογίας στην Επιτήρηση 2
- Δεδομένα επιδημιολογικής επιτήρησης Αυγούστου 6
- Ειδικές συμμετοχές 10
- Νέα από τη διεθνή βιβλιογραφία 23
- Ενδιαφέρουσες δραστηριότητες 26
- Επερχόμενα συνέδρια 27
- Συνέντευξη 28
- Μύθοι και αλήθειες 31
- Επιδημίες στον κόσμο 32
- Νέα από τη Διοίκηση 33
- Το αίνιγμα του μήνα 34



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΥΓΕΙΑΣ

## Επιλογές

Η μοριακή επιδημιολογία, ο πιο σύγχρονος κλάδος της επιδημιολογίας, χρησιμοποιείται ολοένα και περισσότερο στην επιτήρηση και πρόληψη των νοσημάτων. Ενημερωθείτε, μεταξύ άλλων, για τις εφαρμογές της στη διερεύνηση επιδημιών και στη διερεύνηση λοιμώξεων στις ΜΕΘ.

*Περισσότερα στις σελίδες 10,14*

Στη Συνέντευξη του Μήνα φιλοξενούμε την Πρόεδρο του ΔΣ του ΚΕΕΛΠΝΟ και Καθηγήτρια Δημόσιας Υγείας Τζένη Κρεμαστινού. Η Κυρία Κρεμαστινού στήριξε εξ αρχής, με θέρμη, την έκδοση του Ενημερωτικού Δελτίου ΚΕΕΛΠΝΟ και τις συνεχείς προσπάθειες βελτίωσης και εμπλουτισμού της ύλης του. Στο παρόν Τεύχος μοιράζετε μαζί μας τις εμπειρίες από την Προεδρία της στον Οργανισμό και μας εξηγεί με διορατικότητα ποιες είναι οι προοπτικές της Δημόσιας Υγείας στη σύγχρονη εποχή.

*Περισσότερα στη σελίδα 28*

## Εφαρμογές Μοριακής Επιδημιολογίας στην Επιτήρηση

### Εισαγωγή

Η Μοριακή Επιδημιολογία είναι η μελέτη της συμβολής γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, που ανιχνεύονται σε μοριακό επίπεδο, στην αιτιολογία, την κατανομή της συχνότητας και την πρόληψη των νοσημάτων σε ανθρώπινους πληθυσμούς. Αποτελεί τη σύζευξη της μοριακής βιολογίας με την επιδημιολογία. Η εφαρμογή τεχνικών της μοριακής βιολογίας σε επιδημιολογικές δραστηριότητες, όπως η επιτήρηση νοσημάτων, η διερεύνηση εξάρσεων κρουσμάτων και η αναγνώριση τρόπων μετάδοσης και παραγόντων κινδύνου επικουρεί σημαντικά στη βελτίωση της ποιότητας των δεδομένων παρέχοντας πιο ευαίσθητες και ειδικές μετρήσεις [1].

Όσον αφορά στη συμβολή της μοριακής επιδημιολογίας στην επιτήρηση, δηλαδή στη συστηματική και συνεχιζόμενη συλλογή, ανάλυση και ερμηνεία στοιχείων με προσανατολισμό την πράξη δημόσιας υγείας, η συνεχής ανάπτυξη μοριακών μεθόδων παρέχει νέα εργαλεία για ενισχυμένη επιτήρηση και διερεύνηση εξάρσεων κρουσμάτων λοιμωδών νοσημάτων. Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου καθορίζεται σημαντικά από τη φύση του επιδημιολογικού «προβλήματος» που προκύπτει και χρήζει αντιμετώπισης, όπως επίσης και από το χρονικό και γεωγραφικό πλαίσιο στο οποίο θα εφαρμοστεί η μέθοδος. Για παράδειγμα, στη διερεύνηση εξάρσεων κρουσμάτων, η μέθοδος θα πρέπει να έχει τη δυνατότητα να διακρίνει τα κρούσματα χωρίς επιδημιολογική σύνδεση και ιδεατά να διακρίνει στενά σχετιζόμενα ευρήματα, τα οποία θα συνηγορούν υπέρ της μετάδοσης από άτομο σε άτομο. Συγχρόνως, η μέθοδος θα πρέπει να γίνεται κατ' απανάληψη και με χαμηλό κόστος, να είναι ταχεία και εύκολη στη χρήση και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Όταν η μέθοδος χρησιμοποιείται στα πλαίσια επιδημιολογικής επιτήρησης, θα πρέπει να παράγει αποτελέσματα με επαρκή σταθερότητα στο χρόνο, ώστε να επιτρέπεται η εφαρμογή αποτελεσματικών μέτρων ελέγχου του λοιμώδους νοσήματος [5].

Η μοριακή επιδημιολογία έχει εφαρμογές στην επιτήρηση αρκετών λοιμωδών νοσημάτων, συμπεριλαμβανομένων της ιλαράς, της μηνιγγίτιδας και της λοίμωξης από τον ιό του Δυτικού Νείλου.

### Ιλαρά

Ενώ η ιλαρά παραμένει μια σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας σε παιδιά στις αναπτυσσόμενες χώρες, ο αριθμός των θανάτων από ιλαρά παγκοσμίως μειώθηκε κατά 71% μεταξύ 2000 και 2011 κυρίως λόγω της αποτελεσματικότητας του εμβολίου [8]. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει συμπεριλάβει την ιλαρά στα λοιμώδη νοσήματα προς εξάλειψη έως το έτος 2020. Συγκεκριμένα, στην περιοχή της Ευρώπης έχει τεθεί ως στόχος να σταματήσει η αυτόχθονη μετάδοση της ιλαράς έως το 2015.

Εν όψει του στόχου της εξάλειψης της ιλαράς, έχει μεγάλη σημασία να εκτιμηθεί η κυκλοφορία του άγριου τύπου του ιού της ιλαράς [2]. Για την ανίχνευση του ιού και των διαφορετικών γονοτύπων του είναι απαραίτητη η γενετική ανάλυση, η οποία είναι ουσιώδης για την κατανόηση της επιδημιολογίας και την επιτήρηση του νοσήματος. Η ύπαρξη ενός συστήματος εργαστηριακής επιτήρησης σε συνδυασμό με τη λειτουργία του συστήματος υποχρεωτικής δήλωσης νοσημάτων είναι θεμελιώδης για την ανίχνευση των κρουσμάτων, καθώς η εργαστηριακή διάγνωση είναι απαραίτητη για την επιβεβαίωση των περιπτώσεων της ιλαράς, ειδικότερα, όταν η επίπτωση της ιλαράς είναι χαμηλή και οι περισσότερες περιπτώσεις ασθενών, που εμφανίζουν εξάνθημα και πυρετό, οφείλονται σ' άλλα νοσήματα ή σύνδρομα [3]. Επίσης, τα αποτελέσματα της γενετικής ανάλυσης υποβοηθούν την ταξινόμηση του κρούσματος σε ενδημικό ή αυτόχθονο, μια σημαντική πληροφορία τόσο για την επιτήρηση όσο και για τη διαχείριση του κρούσματος. Εφόσον συλλεχθούν επαρκείς επιδημιολογικές πληροφορίες και γίνει γνωστός ο γονότυπος του ιού των εργαστηριακά επιβεβαιωμένων περιπτώσεων, το κρούσμα ταξινομείται ως ενδημικό ή εισαγόμενο, ανάλογα με το αν ο γονότυπος, ο οποίος ανευρέθηκε, ανήκει στους ενδημικούς γονότυπους ή όχι. Μέσω της χρήσης των γενετικών αναλύσεων στην επιτήρηση είναι εφικτό να παρακολουθούνται στο χρόνο οι κυκλοφορούντες γονότυποι του ιού σε μια συγκεκριμένη χώρα ή περιοχή και με τον τρόπο αυτό να επιβεβαιώνεται ή όχι η διακοπή της μετάδοσης της ιλαράς που οφείλεται σε ενδημικό γονότυπο του ιού. Η παροχή ενδείξεων για την απουσία των

ενδημικών γονοτύπων είναι ένα από τα κριτήρια για την επιβεβαίωση της εξάλειψης της ιλαράς σε μια χώρα ή περιοχή και οι ενδείξεις αυτές προέρχονται αποκλειστικά από την τυποποίηση των γονοτύπων [4].

Επιπλέον, τα δεδομένα που παρέχονται από τη μοριακή ανάλυση βοηθούν να επιβεβαιωθούν οι πηγές του ιού ή παρέχουν ενδείξεις για την πιθανή πηγή των περιπτώσεων του νοσήματος με άγνωστη πηγή. Επίσης, τα ευρήματα των γενετικών αναλύσεων βοηθούν στο να συνδεθούν ή να χαρακτηριστούν ως μη συνδεδεμένες περιπτώσεις του νοσήματος ή εξάρσεις κρουσμάτων. Όλες αυτές οι πληροφορίες είναι πολύτιμες για τις πολιτικές ελέγχου του νοσήματος και η συμβολή των μοριακών μεθόδων είναι ουσιαστική στην αποτίμηση της αποτελεσματικότητας των μέτρων ελέγχου της ιλαράς.

### Μηνιγγίτιδα

Η αντιμετώπιση και η πρόληψη της διασποράς της μηνιγγίτιδας, που αποτελεί μια αρκετά σοβαρή μεταδοτική ασθένεια, απαιτεί ακριβή και ταχεία διάγνωση, η οποία επιτυγχάνεται με την εφαρμογή μοριακών τεχνικών. Η βακτηριακή μηνιγγίτιδα ευθύνεται για το μεγαλύτερο μέρος της νοσηρότητας, με το μηνιγγιτιδόκοκκο (*Neisseria meningitidis*), τον πνευμονιόκοκκο (*Streptococcus pneumoniae*) και τον αιμόφιλο της ινφλουέντζας τύπου b (*Haemophilus influenzae* type b) να ευθύνονται για πάνω από το 75% όλων των κρουσμάτων βακτηριακής μηνιγγίτιδας.

Μέσω μοριακών τεχνικών, όπως η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR), η ανίχνευση, τυποποίηση και ταυτοποίηση του λοιμογόνου παράγοντα επιτυγχάνεται σε λιγότερο από δύο ώρες, βελτιώνοντας σημαντικά την επιβεβαίωση των κρουσμάτων και την επιτήρηση του νοσήματος [7].

Όσον αφορά στη μοριακή τυποποίηση του κάθε λοιμογόνου παράγοντα, χρησιμοποιούνται διάφορες μοριακές τεχνικές. Τεχνικές όπως ο προσδιορισμός των γονοτυπικών χαρακτηριστικών με τη μέθοδο της αλληλούχησης του γονιδίου *porA* και η ανίχνευση του γονιδίου *gna1870* που κωδικοποιεί τη λιποπρωτεΐνη, που δεσμεύει τον παράγοντα H του ανθρώπινου συμπληρώματος (Factor H Binding Protein, fHbp), βοηθούν σημαντικά στην ανάπτυξη των εμβολίων κατά της μηνιγγίτιδας από μηνιγγιτιδόκοκκο. Άλλες τεχνικές, όπως ο προσδιορισμός της αλληλουχίας πολυγενετικού τόπου (Multilocus Sequence Typing, MLST) και ο πολλαπλασιασμός μεταβλητού μεγέθους επαναλαμβανόμενων περιοχών του γονιδιώματος (Variable Number Tandem Repeat analysis, VNTR) βοηθούν στην επιδημιολογική παρακολούθηση της εξέλιξης του μικροοργανισμού και στη διερεύνηση συρροής κρουσμάτων αντίστοιχα.

Η μοριακή ταυτοποίηση των κλινικών δειγμάτων και η τυποποίηση ως προς τους συχνότερους οροτύπους του στρεπτόκοκκου της πνευμονίας, που ευθύνεται για ένα υψηλό ποσοστό της επίπτωσης και θνητότητας από μηνιγγίτιδα στα παιδιά, βελτιώνει σημαντικά την επιδημιολογική επιτήρηση του νοσήματος παρέχοντας χρήσιμη πληροφορία για την κυκλοφορία των οροτύπων που δεν περιλαμβάνονται στο επταδύναμο συζευγμένο εμβόλιο.

Όσον αφορά στη χρήση μοριακών τεχνικών για την ανίχνευση του αιμόφιλου της ινφλουέντζας τύπου b, που προκαλεί σοβαρή διεισδυτική νόσο σε παιδιά κάτω των πέντε ετών, η ταυτοποίηση και τυποποίηση έχει συμβάλει σημαντικά στην εκτίμηση της επίπτωσης μέσω της επιτήρησης των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων και στην εκτίμηση της αποτελεσματικότητας του εμβολίου [7].

### Λοίμωξη από τον Ιό του Δυτικού Νείλου

Η λοίμωξη από τον ιό του Δυτικού Νείλου (ΔΝ) προκαλείται έπειτα από νύγμα μολυσμένων κουνουπιών. Ο ιός ανευρίσκεται κυρίως στα πτηνά, που είναι οι κύριοι ξενιστές, ενώ οι άνθρωποι και τα θηλαστικά θεωρούνται ως αδιέξοδοι ξενιστές, καθώς ο τίτλος του ιού στο αίμα τους, κατά τη διάρκεια της ιαιμίας, είναι χαμηλός και δεν επαρκεί για τη μόλυνση των κουνουπιών. Ο ιός προκαλεί ήπια συμπτώματα γριπώδους συνδρομής σε περίπου 20% των ατόμων που μολύνονται, ενώ η πλειονότητα των προσβληθέντων είναι ασυμπτωματικοί. Σοβαρότερες εκδηλώσεις από το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα εμφανίζονται σε λιγότερο από 1%.

Για τον επιτυχή περιορισμό της μετάδοσης της λοίμωξης είναι απαραίτητη η επιτήρηση, η οποία υποβοηθείται σημαντικά από την ανίχνευση του ιού σε βιολογικά δείγματα των ασθενών. Οι μοριακές δοκιμασίες, που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση του ιού, ποικίλλουν ανάλογα με την κλινική φάση της λοίμωξης. Σε ασυμπτωματικά άτομα που έχουν χαμηλή ιαιμία, η μοριακή

μέθοδος, η οποία χρησιμοποιείται (π.χ. στο πλαίσιο ανίχνευσης λοιμώξεων μέσω ενεργής επιτήρησης ατόμων που διαμένουν ή εργάζονται σε περιοχή, όπου είναι γνωστό ότι κυκλοφορεί ο ιός) πρέπει να χαρακτηρίζεται από υψηλή ευαισθησία, ώστε να ανιχνεύει τον ιό ακόμη και σε χαμηλά επίπεδα. Το ιικό φορτίο σε βιολογικά δείγματα ασθενών με ύποπτη λοίμωξη αναμένεται να είναι υψηλότερο από αυτό των ασυμπτωματικών ατόμων και συνεπώς οι μοριακές δοκιμασίες, οι οποίες χρησιμοποιούνται σε αυτές τις περιπτώσεις, δεν είναι απαραίτητο να χαρακτηρίζονται από την ίδια υψηλή ευαισθησία που χαρακτηρίζει τις δοκιμασίες για τη διαλογή ασυμπτωματικών ατόμων [6].

Τα στελέχη του ιού του ΔΝ έχουν φυλογενετικά ομαδοποιηθεί σε επτά διαφορετικούς κλάδους. Στην Ευρώπη κυριαρχεί ο φυλογενετικός κλάδος 1, αλλά σε κάποιες περιοχές οι κλάδοι 1 και 2 αλληλοεπικαλύπτονται. Οι τεχνικές PCR, PCR αντίστροφης μεταγραφής (Reverse Transcription PCR, RT-PCR), RT-PCR σε πραγματικό χρόνο (Real-time PCR) και η δοκιμασία πολλαπλασιασμού νουκλεϊκών οξέων (Nucleic Acid Amplification Tests, NAT) είναι ορισμένες από τις μοριακές μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση του ιού του ΔΝ ανάλογα με τις απαιτήσεις [για παράδειγμα, για το διαχωρισμό μεταξύ των κλάδων 1 και 2 μια καινοτόμος ποσοτική μέθοδος RT-PCR έχει αναπτυχθεί] [6]. Ο φυλογενετικός διαχωρισμός παρέχει σημαντικές πληροφορίες για την προέλευση ή/και τη μετάδοση του ιού σε συγκεκριμένες γεωγραφικές περιοχές. Η κυκλοφορία του ιού σε μια περιοχή συνήθως προηγείται της εμφάνισης μιας έξαρσης κρουσμάτων κατά ένα έτος ή παραπάνω και η αναγνώριση της εμφάνισης ενός συγκεκριμένου στελέχους του ιού στο χώρο και στο χρόνο βοηθάει στην εγκαθίδρυση ενός αποτελεσματικού συστήματος επιτήρησης του νοσήματος [9].

### Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, η μοριακή επιδημιολογία όχι μόνο βελτιώνει την κατανόηση της παθογένειας των νοσημάτων συμβάλλοντας στην αναγνώριση συγκεκριμένων μηχανισμών, μορίων και γονιδίων τα οποία επηρεάζουν τον κίνδυνο ανάπτυξης ενός νοσήματος [1], αλλά επικουρεί την επιδημιολογική επιτήρηση των νοσημάτων παρέχοντας αξιόπιστα δεδομένα με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Επιπρόσθετα, μέσω των αποτελεσμάτων των μοριακών τεχνικών είναι δυνατό να αναγνωριστεί η προέλευση ενός νοσήματος, η οδός διασποράς του και να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα των μέτρων πρόληψης του.

### Βιβλιογραφία

1. Foxman, B & Riley, L 2001, "Molecular Epidemiology: Focus on infection", Am J Epidemiol, vol. 153, no. 12, pp. 1135-1141.
2. Magurano, F, Fortuna, C, Marchi, A, Benedetti, E, Bucci, P, Baggieri, M & Nicoletti, L 2012, "Molecular epidemiology of measles virus in Italy 2002-2007", Virology Journal, 9: 284.
3. Mankertz, A, Mulders MN, Shulga, S, Kremer, JR, Brown, KE, Santibanez, S, Muller, CP, Tikhonova, N, Lipskaya, G, Jankovic, D, Khetsuriani, N, Martin, R & Gavrillin, E 2011, "Molecular genotyping and epidemiology of measles virus transmission in the World Health Organization European Region, 2007-2009", JID, 204, pp. S335-S342.
4. Rota, PA, Brown, K, Mankertz, A, Santibanez, S, Shulga, S, Muller, CP, Hübschen, JM, Siqueira, M, Beirnes, J, Ahmed, H, Triki, H, Al-Busaidy, S, Dosseh, A, Byabamazima, C, Smit, S, Akoua-Koffi, C, Bwogi, J, Bukonya, H, Wairagkar, N, Ramamurty, N, Incomserb, P, Pattamadilok, S, Jee, Y, Lim, W, Xu, W, Komase, K, Takeda, M, Tran, T, Castillo-Solorzano, C, Chenoweth, P, Brown, D, Mulders, MN, Bellini, WJ & Featherstone, D 2011, "Global distribution of measles genotypes and measles molecular epidemiology", JID, 204, pp. S514-S523.
5. Sabat, AJ, Budimir, A, Nashev, D, Sà-Leão, R, Laurent, F, Grundmann, H & Friedrich, AW on behalf of the ESCMID Study Group of Epidemiological Markers (ESGEM) 2013, "Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance", Euro Surveill, vol. 18, no. 4, pii=20380.
6. Sambri, V, Capobianchi, MR, Cavrini, F, Charrel, R, Donoso-Mantke, O, Escadafal, C, Franco, L, Gaibani, P, Gould, EA, Niedrig, M, Papa, A, Pierro, A, Rossini, G, Sanchini, A, Tenorio, A, Varani, S, Vázquez, A, Vocale, C & Zeller, H 2013, "Diagnosis of West Nile Virus human infections: overview and proposal of diagnostic protocols considering the results of external quality assessment studies", Viruses, 5, pp. 2329-2348.
7. Τζανακάκη, Τ, Κεσανόπουλος, Κ, Ξηρογιάννη, Α & Κουρέα-Κρεμασπινού, Τ 2012, "Μοριακή επιδημιολογία της βακτηριακής μηνιγγίτιδας". Διαθέσιμο από: <<http://www2.keelpno.gr/blog/?p=1465>>
8. World Health Organization 2013, Weekly epidemiological record, no. 3, 88, pp. 29-36. Available from: <<http://www.who.int/wer>> [25 September 2013].
9. Zehender, G, Ebranati, E, Bernini, F, Lo Presti, A, Rezza, G, Delogu, M, Galli, M, Ciccozzi, M 2011, "Phylogeography and epidemiological history of West Nile virus genotype 1a in Europe and the Mediterranean basin", Infect Genet Evol, 11(3), pp. 646-653.

**Λάμπρου Αγγελική, RN, MPH, ScD, Υπεύθυνη Γραφείου Εργαστηριακής Επιδημιολογικής Επιτήρησης, ΚΕΕΛΠΝΟ**

## ΑΥΓΟΥΣΤΟΣ 2013

**Πίνακας 1: Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων στο σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων (ΥΔΝ) στο σύνολο της χώρας με ημερομηνία δήλωσης 01/08/2013 – 31/08/2013 και διάμεση τιμή δηλωθέντων κρουσμάτων Ιούλιος 2004–2012 και εύρος τιμών.**

Νόσημα	Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων			
	Αύγουστος 2013	Διάμεση τιμή Αύγουστος 2004–2012	Ελάχιστη τιμή Αύγουστος 2004-2012	Μέγιστη τιμή Αύγουστος 2004-2012
Αλλαντίαση	0	0	0	0
Ανεμευλογιά με επιπλοκές	1	0	0	3
Άνθρακας	0	0	0	1
Βρουκέλλωση	10	20	5	35
Διφθερίτιδα	0	0	0	0
Εγκεφαλίτιδες από αρμπο-ιούς	0	0	0	0
Ελονοσία	3	7	5	13
Ερυθρά	0	0	0	0
Ευλογιά	0	0	0	0
Εχινοκοκκίαση	0	1	0	6
Ηπατίτιδα Α	26	4	2	46
Ηπατίτιδα Β, οξεία & HBsAg(+) σε βρέφη < 12 μηνών	4	4	1	20
Ηπατίτιδα C, οξεία & επιβεβαιωμένο anti-HCV θετικό (α' διάγνωση)	3	1	0	12
Ιλαρά	0	1	0	18
Ιογενείς αιμορραγικοί πυρετοί	0	0	0	2
Κοκκύτης	4	3	1	12
Λεγιονέλλωση	2	4	0	9
Λεισμανίαση	9	3	1	10
Λεπτοσπείρωση	1	5	1	9
Λιστερίωση	0	0	0	4
Λοίμωξη από εντεροαιμορραγικό κολοβακτηρίδιο (EHEC)	0	0	0	0
Λύσσα	0	0	0	0
Μελιοειδωση-Μάλη	0	0	0	0
Μηνιγγίτιδα				
άσηπτη	21	28	20	62
βακτηριακή (εκτός μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου)	12	17	8	30
αγνώστου αιτιολογίας	1	1	0	5
Μηνιγγιτιδοκοκκική νόσος	3	3	1	7
Πανώλη	0	0	0	0
Παρωτίτιδα	0	0	0	2
Πολιομυελίτιδα	0	0	0	0
Πυρετός Q	1	0	0	1
Σαλμονέλλωση (μη τυφο – παρατυφική)	73	149	40	324
Σιγκέλλωση	10	5	0	21
Σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο (SARS)	0	0	0	0
Συγγενής ερυθρά	0	0	0	0

Συγγενής σύφιλη	0	0	0	1
Συγγενής τοξοπλάσμωση	0	0	0	1
Συρροή κρουσμάτων τροφιμογενούς - υδατογενούς νοσήματος	7	11	7	22
Τέτανος / Τέτανος νεογνικός	0	0	0	5
Τουλαραιμία	0	0	0	0
Τριχίνωση	0	0	0	0
Τυφοειδής πυρετός / παράτυφος	3	1	1	9
Φυματίωση	33	52	28	121
Χολέρα	0	0	0	0

**Πίνακας 2: Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων στο σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων (ΥΔΝ) ανά περιφέρεια της χώρας με ημερομηνία δήλωσης 01/08/2013 – 31/08/2013 (Η περιφέρεια ορίζεται με βάση τη διεύθυνση κατοικίας του κρούσματος)**

Νόσημα	Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων													
	Αν. Μακεδονίας και Θράκης	Κεντρικής Μακεδονίας	Δυτικής Μακεδονίας	Ηπείρου	Θεσσαλίας	Ιονίων Νήσων	Δυτικής Ελλάδας	Στερεάς Ελλάδας	Αττικής	Πελοποννήσου	Βορείου Αιγαίου	Νοτίου Αιγαίου	Κρήτης	Άγνωστο
Ανεμευλογιά με επιπλοκές	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Βρουκέλλωση	2	1	1	0	2	0	2	0	1	1	0	0	0	0
Ελονοσία	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1
Ηπατίτιδα Α	24	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Ηπατίτιδα Β, οξεία & HBsAg(+) σε βρέφη < 12 μηνών	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Ηπατίτιδα C, οξεία & επιβεβαιωμένο anti-HCV θετικό (α' διάγνωση)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
Κοκκύτης	0	0	0	0	1	0	0	0	2	1	0	0	0	0
Λεγιονέλλωση	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Λεισμανίαση	1	0	0	0	3	0	1	1	3	0	0	0	0	0
Λεπτοσπείρωση	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Μηνιγγίτιδα														
άσηπτη	2	2	0	1	0	0	1	2	4	0	0	0	7	2
βακτηριακή (εκτός μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου)	0	2	2	0	2	0	0	1	2	0	0	0	3	0
αγνώστου αιτιολογίας	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Μηνιγγιτιδοκοκκική νόσος	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
Πυρετός Q	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Σαλμονέλλωση( μη τυφο – παρατυφική)	10	5	1	3	8	1	6	4	24	0	1	3	2	5
Σιγκέλλωση	0	0	0	0	1	0	0	5	3	1	0	0	0	0
Συρροή κρουσμάτων τροφιμογενούς-υδατογενούς νοσήματος	4	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
Τυφοειδής πυρετός/παράτυφος	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
Φυματίωση	2	7	0	0	3	0	2	4	10	0	0	1	3	1

**Πίνακας 3: Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων στο σύστημα Υποχρεωτικής Δήλωσης Νοσημάτων (ΥΔΝ) ανά φύλο και ηλικιακή ομάδα, για το σύνολο της χώρας, με ημερομηνία δήλωσης 01/08/2013 – 31/08/2013 ( Α: άνδρας, Γ: γυναίκα)**

Νόσημα	Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων ανά ηλικιακή ομάδα και φύλο																				
	<1		1-4		5-14		15-24		25-34		35-44		45-54		55-64		65+		Άγν.		
	Α	Γ	Α	Γ	Α	Γ	Α	Γ	Α	Γ	Α	Γ	Α	Γ	Α	Γ	Α	Γ	Α	Γ	
Ανεμυελογιά με επιπλοκές	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Βρουκέλλωση	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	4	0	0	1	1	0	0	0	0
Ελονοσία	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ηπατίτιδα Α	0	0	4	2	6	2	3	1	1	3	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Ηπατίτιδα Β, οξεία & HBsAg(+) σε βρέφη < 12 μηνών	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Ηπατίτιδα C, οξεία & επιβεβαιωμένο anti-HCV θετικό (α' διάγνωση)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Κοκκύτης	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Λεγιονέλλωση	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
Λεϊσμανίαση	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	2	2	2	0	0	0	0
Λεπτοσπείρωση	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Μηνιγγίτιδα άσηπτη	2	3	0	0	6	1	0	1	0	2	1	2	1	1	0	0	0	1	0	0	0
βακτηριακή (εκτός μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου)	2	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	3	1	0	0	2	1	0	0	0
αγνώστου αιτιολογίας	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Μηνιγγιτιδοκοκκική νόσος	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Πυρετός Q	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Σαλμονέλλωση( μη τυφο – παρατυφική)	11	7	6	11	6	7	0	5	2	3	1	2	2	1	1	0	3	5	0	0	0
Σιγκέλλωση	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0
Τυφοειδής Πυρετός/ παράτυπος	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Φυματίωση	0	0	0	0	0	0	3	0	6	2	5	1	1	0	4	2	6	2	1	0	0

Πρέπει να σημειωθεί ότι τα δεδομένα που παρουσιάζονται για τον Αύγουστο 2013 είναι προσωρινά, μπορεί δηλαδή να υποστούν μικρές τροποποιήσεις και ότι η ερμηνεία τους θα πρέπει να γίνεται με προσοχή, καθώς υπάρχουν ενδείξεις υποδήλωσης στο σύστημα. Το σύστημα ΥΔΝ βασίζεται στους γιατρούς που παρά το φόρτο εργασίας τους, αντιλαμβάνονται τη σημασία της συστηματικής δήλωσης των κρουσμάτων των λοιμωδών νοσημάτων και τους οποίους ευχαριστούμε θερμά για τη συνεργασία τους.

**Τμήμα Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης**

Τα δελτία δήλωσης και οι ορισμοί κρούσματος των παραπάνω νοσημάτων βρίσκονται στην ιστοσελίδα του ΚΕΕΛΠΝΟ ([www.keelpno.gr](http://www.keelpno.gr)).

Σύμφωνα με τα δεδομένα του ΣΥΔΝ, ο αριθμός των κρουσμάτων ηπατίτιδας Α, τα οποία δηλώθηκαν εντός του Αυγούστου, ήταν αυξημένος. Η αύξηση αφορούσε στην περιφέρεια της Ανατολικής Μακεδονίας και Θράκης και συγκεκριμένα στην περιφερειακή ενότητα Ξάνθης (14 συνολικά κρούσματα).

Οκτώ κρούσματα ανήκαν στον πληθυσμό των αθίγγανων στο Δροσερό και τέσσερα τον πληθυσμό των αθίγγανων στην Ηλιόπετρα. Ένα κρούσμα διέμενε στον Πετεινό (η πιθανή πηγή μόλυνσης δεν ανεβρέθηκε) και ένα στην Ξάνθη (κατανάλωση οστρακοειδών ως πιθανή πηγή μόλυνσης).

Συμπερασματικά, η αύξηση των κρουσμάτων ηπατίτιδας Α αφορά κυρίως στον πληθυσμό των αθίγγανων στην περιφερειακή ενότητα Ξάνθης. Η αύξηση αυτή έχει σημειωθεί από τα μέσα Ιουνίου. Το Γραφείο Τροφιμογενών Νοσημάτων του ΚΕΕΛΠΝΟ έχει πραγματοποιήσει επικοινωνία με τη διεύθυνση υγείας της περιφερειακής ενότητας και έχει καταστήσει σαφή την ανάγκη λήψης στοχευμένων, στον εν λόγω πληθυσμό, μέτρων με ιδιαίτερη βαρύτητα στον εμβολιασμό των επίνοσων.

## Η Μοριακή Επιδημιολογία στη Διερεύνηση Επιδημιών

Οι τελευταίες εξελίξεις στην ανάπτυξη μοριακών τεχνολογιών έχουν τροφοδοτήσει παγκοσμίως συζητήσεις για το ρόλο που αυτές θα μπορούσαν να διαδραματίσουν στη βελτίωση της πρόβλεψης, πρόληψης, ανίχνευσης και διαχείρισης των επιδημιών. Τελευταία, υπάρχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τα εργαλεία αλληλούχησης νέας γενιάς (metagenomics), τα οποία είναι σε θέση να παρέχουν βελτιωμένη πληροφόρηση σε σχέση με τις μεθοδολογικές προσεγγίσεις που χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα, με παρόμοιο ή και χαμηλότερο κόστος [1]. Η μεταφορά των νέων τεχνολογιών από τα ακαδημαϊκά ερευνητικά κέντρα στα εργαστήρια αναφοράς και στα εργαστήρια της πρώτης γραμμής έχει ήδη ξεκινήσει.

Αναμένεται σε λίγα χρόνια η ευρεία πρακτική εφαρμογή τους για τη διερεύνηση επιδημιών, με εφαρμογή των νέων τεχνολογιών σε ανθρώπινα δείγματα, καθώς και σε περιβαλλοντικά δείγματα και δείγματα τροφίμων [8]. Μέχρι σήμερα, η χρήση των τεχνικών μοριακής επιδημιολογίας σε περιπτώσεις μελέτης επιδημιών συνήθως καθυστερούσε, ώστε να έχει χρήση πραγματικού χρόνου, ενώ η συστηματική επιτήρηση δε χρησιμοποιούσε αυτές τις τεχνολογίες, με αποτέλεσμα να μην έχει η μοριακή επιδημιολογία ουσιαστική χρήση. Επιπλέον, οι τρέχουσες τεχνικές γονοτύπησης βακτηρίων χαρακτηρίζονται από περιορισμένη αναλυτική ικανότητα, επειδή εστιάζουν μόνο σε μικρές περιοχές του μικροβιακού γονιδιώματος [8]. Ο συνδυασμός του χαμηλού κόστους και της ταχείας ολοκλήρωσης των νέων τεχνολογιών θα επιτρέψει στις τεχνολογίες αλληλούχησης παθογόνων να «διασχίσουν» τη διαχωριστική γραμμή μεταξύ της βασικής έρευνας και της διαγνωστικής μικροβιολογίας [2]. Η αλλαγή αυτή θα μπορούσε να αποτελέσει την πιο σημαντική πρόοδο στη διαγνωστική μικροβιολογία και επιδημιολογική επιτήρηση, μετά από την *in vitro* καλλιέργεια. Πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες, συμπεριλαμβανομένων των επιδημιών χολέρας στην Αϊτή [5] και *E.coli* O104: H4 στη Γερμανία [4], καθώς και επιδημιών MRSA στο Ηνωμένο Βασίλειο [2], ανέδειξαν τη χρησιμότητα των νέων μοριακών τεχνολογιών για την παρακολούθηση των επιδημιών σε πραγματικό χρόνο και τον αποτελεσματικό έλεγχο των λοιμώξεων. Για οργανισμούς των οποίων το ποσοστό των αλλαγών σε επίπεδο γονιδιώματος είναι αρκετά υψηλό, το επίπεδο ανάλυσης που επιτυγχάνεται μπορεί να καταστήσει εφικτή την ανίχνευση των μονοπατιών μετάδοσης των ασθενειών, μεταξύ των κέντρων υγείας, διάφορων κλινικών των νοσοκομείων ή ακόμη και μεταξύ ασθενών που νοσηλεύονται στην ίδια πτέρυγα [2].

Θέματα όπως η εκπαίδευση του προσωπικού, η διαχείριση των δεδομένων, η αποθήκευση και η ερμηνεία τους, η διαθεσιμότητα των βάσεων δεδομένων αναφοράς, η συγκρισιμότητα με ιστορικές βάσεις δεδομένων και τα συστήματα ποιότητας που ενδέχεται να απαιτηθούν αποτελούν ζητήματα πρώτης γραμμής.

Οι νέες τεχνολογίες αλληλούχησης είναι σε θέση σήμερα να παρέχουν σημαντικά οφέλη στη διερεύνηση επιδημιών, αλλά παράλληλα με την εφαρμογή τους θα πρέπει να ληφθούν υπόψη θέματα τυποποίησης και προτυποποίησης των μεθόδων. Η προτυποποίηση των μεθόδων θα πρέπει να γίνεται, όπου είναι δυνατόν, παράλληλα με τη σαφή αξιολόγηση της απόδοσης της μεθόδου για τον εντοπισμό των πηγών μεταβλητότητας και αβεβαιότητας μεταξύ των διαφόρων μεθοδολογιών [8]. Η απαίτηση να κατανοηθούν οι περιορισμοί στη μεθοδολογία της αλληλούχησης ολόκληρου του γονιδιώματος επισημαίνεται σε δεδομένα διαφόρων μελετών, που δείχνουν αποκλίσεις εκτιμήσεις της ποιότητας των δεδομένων από διαφορετικές πλατφόρμες αλληλούχησης.

Η προτυποποίηση στην καταγραφή των πρόσθετων πληροφοριών είναι επίσης αναγκαία. Είναι σαφές ότι, για να είναι όσο το δυνατόν ωφέλιμες οι πληροφορίες που αφορούν τις αλληλουχίες του γονιδιώματος, θα πρέπει να συνδυαστούν με άλλες πληροφορίες από το περιβάλλον, τις κλινικές και το ζωικό κεφάλαιο και οι πληροφορίες αυτές θα πρέπει να συλλέγονται σε πραγματικό χρόνο. Παρά τους περιορισμούς των νέων τεχνολογιών, η συμβολή της μοριακής επιδημιολογίας στην προστασία της δημόσιας υγείας, σε συνδυασμό με τη χρήση των νέων τεχνολογιών της μοριακής βιολογίας, αναμένεται να είναι εντυπωσιακή στις επόμενες δεκαετίες.

## Βιβλιογραφία

1. Koser CU, Ellington MJ, Cartwright EJP, Gillespie SH, Brown NM, et al. Routine Use of Microbial Whole Genome Sequencing in Diagnostic and Public Health Microbiology. *PLoS Pathog* 2012a;8(8): e1002824. doi:10.1371/journal.ppat.1002824
2. Koser CU et al. Rapid Whole-Genome Sequencing for Investigation of a Neonatal MRSA Outbreak, *N Engl J Med* 2012b;366:2267-75.
3. Eyre DW, Golubchik T, Gordon NC et al. A pilot study of a rapid benchtop sequencing of *Staphylococcus aureus* and *Clostridium difficile* for outbreak detection and surveillance, *BMJ Open* 2012;2:e001124.
4. Grad YH, Lipsitch M, Feldgarden M, Arachchi HM, Cerqueira GC, et al. Genomic epidemiology of the *Escherichia coli* O104:H4 outbreaks in Europe, 2011. *Proc Natl AcadSci U S A* 2012;109: 3065-3070.
5. Chin CS, Sorenson J, Harris JB, Robins WP, Charles RC, et al. The origin of the Haitian cholera outbreak strain. *N Engl J Med* 2011;364: 33-42.
6. Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA, Zentz EB, Leopold SR, et al. Prospective genomic characterization of the German enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. *PloS One* 2011;6: e22751. doi:10.1371/journal.pone.0022751
7. Mutreja A, Kim DW, Thomson NR, Connor TR, Lee JH, et al. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature* 2011;477: 462-465.
8. Report of a Workshop held 17th January 2012, London, UK. The Application of Molecular Epidemiology to Investigations of Foodborne Disease Outbreaks: Current Status and Future Plans.
9. Fournier PE, Drancourt M, Raoult D Bacterial genome sequencing and its use in infectious diseases. *Lancet Infect Dis* 2007;7: 711-723.

**Απόστολος Βανταράκης, Πέτρος Κόκκινος**  
**Μονάδα Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας, Εργαστήριο Υγιεινής, Τμήμα**  
**Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών**

## Εκτίμηση της προέλευσης του ιού της Ηπατίτιδας Β (HBV) στον άνθρωπο και στους πιθήκους: η ιστορία μιας αρχαίας λοίμωξης

Οι μελέτες για την προέλευση των παθογόνων έχουν ιδιαίτερη σημασία αναφορικά με τη γνώση της μακρόχρονης αλληλεπίδρασης παθογόνου και ξενιστή. Η γνώση αυτή μπορεί να αποβεί σημαντική για την κατανόηση μηχανισμών ανοσίας, την ανάπτυξη εμβολίων, αλλά και τη γνώση των παραμέτρων της επιδημίας στο παρελθόν. Μέχρι σήμερα η προέλευση του ιού της Ηπατίτιδας Β (HBV) αναφορικά με το πόσο παλιά είναι η επιδημία στον άνθρωπο, καθώς και από που προήλθε ο HBV, παραμένουν ερωτήματα που δεν έχουν απαντηθεί επαρκώς.

Αναφορικά με τη χρονολογική προέλευση του HBV, από δεδομένα προηγούμενων μελετών είχαν διατυπωθεί τρεις διαφορετικές θεωρίες: α) Ότι η HBV λοίμωξη προήλθε από το Νέο Κόσμο και η διασπορά της συνέβη στους υπόλοιπους ανθρώπους τα τελευταία 400 έτη μετά την «ανακάλυψη» της Αμερικής από τους Ευρωπαίους, β) Η διασπορά της HBV λοίμωξης συνέβη παράλληλα με τη διασπορά του σύγχρονου ανθρώπου (*Homo sapiens*) τα τελευταία περίπου 100 kya και γ) ότι η HBV λοίμωξη έχει εξελιχθεί παράλληλα με τα πρωτεύοντα τα τελευταία 10-35 Mya.

Σε μια πρόσφατη μελέτη εκτιμήσαμε τη χρονολογική προέλευση της HBV λοίμωξης στον άνθρωπο συσχετίζοντας δεδομένα της εξελικτικής ιστορίας του παθογόνου και την αντίστοιχη του σύγχρονου ανθρώπου [1]. Βασίζόμενοι σε παρατηρήσεις ότι: α) η χρόνια ηπατίτιδα Β έχει υψηλό επιπολασμό (3%-35%) στους περισσότερους γηγενείς πληθυσμούς ανά την υφήλιο, β) ο ιός παρουσιάζει τη μεγαλύτερη γενετική ετερογένεια στους Αβοριγίνες της Αυστραλίας, γ) η διασπορά του HBV στη Λ. Αμερική σχετίζεται με την εθνικότητα του ξενιστή, δ) συγκεκριμένοι γονότυποι HBV (F/H) εντοπίζονται μόνο στους γηγενείς της Αμερικής και ε) ότι στελέχη HBV από γηγενείς ανά την υφήλιο (Αρκτικός, Ινδονησία, Ειρηνικός) σχηματίζουν ξεχωριστές ομάδες HBV διατυπώσαμε την υπόθεση ότι ο ιός HBV έχει ακολουθήσει την πορεία εξάπλωσης του σύγχρονου ανθρώπου (*Homo sapiens*).

Η υπόθεση αυτή ελέγχθηκε με μεθόδους φυλοδυναμικής και βρέθηκε ότι αποτελεί την πιο πιθανή εξήγηση για την προέλευση του HBV, γιατί προβλέπει με ακρίβεια γνωστές ημερομηνίες για τη διασπορά του σύγχρονου ανθρώπου ανά την υφήλιο. Συγκεκριμένα, τεκμηριώθηκε ότι ο HBV έχει ακολουθήσει τη διασπορά του σύγχρονου ανθρώπου. Η χρονολόγηση του HBV εκτιμήθηκε το διάστημα 33,6 - 47,1 ka και συμφωνεί με τη χρονολόγηση της διασποράς των ανθρώπων εκτός Αφρικής (Out of Africa). Η διασπορά του HBV παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με την αντίστοιχη του ανθρώπου. Για παράδειγμα, η χρονολογική προέλευση του γονότυπου C (26,2 ka), το οποίο αποτελεί τον κυρίαρχο υπότυπο στην Α. Ασία, Πολυνησία και Αυστραλία, είναι παρόμοια με τη χρονολόγηση του διαχωρισμού του ανθρώπου της Α. Ασίας και Αυστραλίας (~30ka). Τα αποτελέσματά μας ήταν επίσης συμβατά με την ταυτοποίηση HBV από μούμια στην Κορέα του 16ου αιώνα [2]. Η αλληλουχία από μούμια δεν είχε χαρακτηριστικά «αρχαίας» αλληλουχίας σε σχέση με τις υπόλοιπες που μελετήσαμε, υποδεικνύοντας έτσι την μακρά ιστορία της HBV λοίμωξης στον άνθρωπο.

Επιπλέον, η χρονική περίοδος της μεγαλύτερης αύξησης της επιδημίας HBV βρέθηκε ότι συμπίπτει με την εκθετική αύξηση του πληθυσμού των σύγχρονων ανθρώπων, η οποία συνέβη πριν περίπου 5,0 ka. Η περίοδος αυτή (Ολόκαινος) χαρακτηρίζεται από την εξάπλωση της γεωργίας και της κτηνοτροφίας ανά την υφήλιο.

Παράλληλα, βάσει του προτεινόμενου μοντέλου για την προέλευση του HBV, τεκμηριώσαμε ότι η μετάδοση της HBV λοίμωξης στο γίββωνα, τον ουρακοτάγκο και τον χιμπαντζή συνέβη από τον άνθρωπο τουλάχιστον πριν 12,8 6,9 και 8,2 ka, αντίστοιχα.

Δεδομένου του προτεινόμενου μοντέλου μας για τη μακρά πορεία συνεξέλιξης του ιού με τον σύγχρονο άνθρωπο, παραμένει ερωτηματικό πώς οι κλινικές εκδηλώσεις της HBV λοίμωξης παρέμειναν κρυφές για τόσο μεγάλο χρονικό διάστημα. Η μόλυνση με τον ιό της ηπατίτιδας Β προκαλεί χρόνια λοίμωξη σε ποσοστό 10% - 80%, ανάλογα με την ηλικία του μολυσμένου πληθυσμού. Επιπλέον, μεταξύ των ατόμων με χρόνια ηπατίτιδα Β, περίπου το 1% -14% διατρέχει κίνδυνο ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκίνου σε διάστημα 30 ετών. Τα παραπάνω δεδομένα εξηγούν την αρχαία συνύπαρξη του παθογόνου στον άνθρωπο, δεδομένου ότι η διάρκεια ζωής των ανθρώπων ήταν μικρότερη από 40 χρόνια, μέχρι πριν από 150-200 έτη. Επιπλέον, ο HBV μπορεί να μεταδοθεί

κάθετα ή οριζόντια (σεξουαλικά, παρεντερικά ή ενδοοικογενειακά), γεγονός που υποδηλώνει ότι ο ιός HBV μπορεί να είχε προκαλέσει εκτεταμένες επιδημίες στο παρελθόν.

Συμπερασματικά, η μελέτη μας χρησιμοποιώντας για πρώτη φορά μεθοδολογία με χρονική βαθμολόγηση από γεγονότα της διασποράς του σύγχρονου ανθρώπου για τον HBV, έδειξε ότι το παθογόνο και ο ξενιστής συνυπάρχουν για ένα χρονικό διάστημα τουλάχιστον 47,1 ka. Το μοντέλο μας υποδεικνύει ότι οι κύριες ταξινομικές ομάδες του HBV (γονότυποι και υπογονότυποι) είναι αποτέλεσμα γεγονότων διασποράς από μικρό αρχικό πληθυσμό (φαινόμενο ιδρυτή - founder effect) του σύγχρονου ανθρώπου, γεγονότα που συνέβησαν μετά την έξοδο του από την Αφρική (Out of Africa). Επίσης, η προέλευση της HBV λοίμωξης σε πρωτεύοντα του Παλαιού κόσμου (Old world) είναι το αποτέλεσμα διαφορετικών μεταδόσεων από ανθρώπους. Η παρούσα προσέγγιση μελέτης της ιστορίας αλληλεπίδρασης παθογόνου και ξενιστή θα μπορούσε να εφαρμοστεί για να αποσαφηνιστεί η προέλευση και άλλων παθογόνων. Αποτελεί ενδιαφέρον ότι στο μεσοδιάστημα δημοσίευσης της μελέτης προέλευσης του HBV μελετήθηκε με παρόμοιο τρόπο και τεκμηριώθηκε η συνεξέλιξη παθογόνου/ξενιστή για το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης [3].

### Βιβλιογραφία

1. Paraskevis D, Magiorkinis G, Magiorkinis E, Ho SY, Belshaw R, Allain JP, Hatzakis A. Dating the origin and dispersal of hepatitis B virus infection in humans and primates. *Hepatology*. 2013 Mar;57(3):908-16.
2. Kahila Bar-Gal G, Kim MJ, Klein A, Shin DH, Oh CS, Kim JW, Kim TH, Kim SB, Grant PR, Pappo O, Spigelman M, Shouval D Tracing hepatitis B virus to the 16th century in a Korean mummy. *Hepatology* 2012 Nov;56(5):1671-80.
3. Comas I, Coscolla M, Luo T, Borrell S, Holt KE, Kato-Maeda M, Parkhill J, Malla B, Berg S, Thwaites G, Yeboah-Manu D, Bothamley G, Mei J, Wei L, Bentley S, Harris SR, Niemann S, Diel R, Aseffa A, Gao Q, Young D, Gagneux S. Out-of-Africa migration and Neolithic coexpansion of *Mycobacterium tuberculosis* with modern humans. *Nat Genet*. 2013 Oct;45(10):1176-82.

**Δημήτρης Παρασκευής, Λέκτορας Επιδημιολογίας και Προληπτικής Ιατρικής**  
**Εργαστήριο Υγιεινής Επιδημιολογίας και Ιατρικής Στατιστικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ**

## Μοριακή Επιδημιολογία στη Διερεύνηση Λοιμώξεων στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας

Οι ασθενείς που νοσηλεύονται στις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ), συνήθως πάσχουν από σοβαρές παθήσεις επείγοντος, αλλά και χρονίου χαρακτήρα, είναι διασωληνωμένοι και φέρουν διάφορα ξένα σώματα, όπως φλεβικούς καθετήρες, ουροκαθετήρες κλπ. Όλες οι καταστάσεις αυτές τους καθιστούν ευάλωτους σε αποικισμό και επακόλουθη λοίμωξη από παθογόνα μικρόβια. Στις περισσότερες περιπτώσεις, περιορισμένος αριθμός μικροβιακών ειδών προσβάλλουν τους ασθενείς της ΜΕΘ, τα οποία μάλιστα συνήθως έχουν μικρή λοιμογόνο δύναμη και σπάνια προσβάλλουν υγιείς ασθενείς. Επίσης, τα μικρόβια της ΜΕΘ έχουν συχνά ιδιαίτερη ικανότητα να επιβιώνουν σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως και μετά από έκθεση σε απολυμαντικές ουσίες και σε αντιβιοτικά. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι λοιμώξεις στους ασθενείς της ΜΕΘ συνοδεύονται από υψηλή θνητότητα, αυξάνουν τη διάρκεια νοσηλείας και πολλαπλασιάζουν το κόστος για τις υπηρεσίες υγείας.

Τα είδη μικροβίων που αποικίζουν ή προκαλούν λοιμώξεις σε ασθενείς της ΜΕΘ περιλαμβάνουν Gram-θετικά μικρόβια, όπως οι εντερόκοκκοι και οι σταφυλόκοκκοι, Gram-αρνητικά μικρόβια, με συχνότερα τα *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Acinetobacter baumannii* και ζυμομύκητες του γένους *Candida*. Ιδιαίτερα στην Ελλάδα, η πλειονότητα των λοιμώξεων στις ΜΕΘ οφείλονται στα παραπάνω είδη Gram-αρνητικών μικροβίων. Κατά την τελευταία δεκαετία μάλιστα, έχουν αυξηθεί σημαντικά τα στελέχη *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ή *A. baumannii*, τα οποία εμφανίζουν αντοχή στα περισσότερα ή όλα τα διαθέσιμα αντιβιοτικά, κάνοντας την Ελληνική Πολιτεία να εφαρμόσει σε εθνική βάση το σχέδιο "Προκρούστης", με σκοπό να περιορίσει την περαιτέρω διασπορά τους. Τα στελέχη αυτά έχουν προσαρμοστεί αποτελεσματικά στο νοσοκομειακό περιβάλλον και ιδιαίτερα σε αυτό της ΜΕΘ και έχει δείξει σε πολλές μελέτες μοριακής επιδημιολογίας ότι οι επιδημίες στις ΜΕΘ οφείλονται σε λίγους γενετικούς κλώνους.

Λόγω της έλλειψης δραστικών αντιβιοτικών για τη θεραπεία λοιμώξεων από τα στελέχη αυτά, είναι αναγκαία η επιτήρησή τους, τόσο σε επίπεδο συγκεκριμένης ΜΕΘ, αλλά και σε επίπεδο νοσοκομείου ή και εθνικό επίπεδο, με μεθόδους μοριακής επιδημιολογίας. Υπάρχουν αρκετές τεχνικές μοριακής επιδημιολογίας, όπως τεχνικές με βάση την PCR (RAPD, ERIC-PCR, PCR/ESI-MS etc.), την αλληλούχιση (MLST, next-generation sequencing), τη μακροπεριοριστική πέψη και άλλες [1]. Κάποιες από αυτές είναι πιο κατάλληλες για τη διερεύνηση τοπικών επιδημιών (PFGE), ενώ άλλες επιτρέπουν τη σύγκριση στελεχών σε τοπικό, εθνικό ή διεθνές επίπεδο (MLST).

Η αξιολόγηση της μοριακής επιδημιολογικής ανάλυσης βασίζεται σε μία υπόθεση [2]. Όταν αρκετά στελέχη κρίνονται πανομοιότυπα με μία μέθοδο μοριακής τυποποίησης υψηλής ανάλυσης, υποθέτουμε ότι προέρχονται από ένα πρόσφατο κοινό προγονικό στέλεχος διαμέσου μιας αλυσίδας γεγονότων. Όμως, τα αποτελέσματα της μοριακής επιδημιολογίας πρέπει πάντα να συμφωνούν με τα παραδοσιακά επιδημιολογικά δεδομένα. Θα πρέπει να υπάρχουν αλληλοεπικαλυπτόμενες περίοδοι νοσηλείας ή άλλα κοινά επιδημιολογικά χαρακτηριστικά μεταξύ της απομόνωσης πανομοιότυπων στελεχών, π.χ. μια κοινή εξωγενής έκθεση (προσωπικό, περιβάλλον, επεμβατικές διαδικασίες ή φάρμακα). Πιθανώς επίσης θα προκύψουν ασθενείς με πανομοιότυπο στέλεχος, αλλά χωρίς σαφή επιδημιολογική συσχέτιση. Σε τέτοιες περιπτώσεις, μπορεί να υποτεθεί ότι το στέλεχος αυτό εμμένει για μακρό διάστημα στη ΜΕΘ ή, εναλλακτικά, είναι συχνό στο νοσοκομείο, την πόλη, τη χώρα ή και διεθνώς. Παραδείγματα κοινών γενετικών κλώνων που έχουν διασπαρεί σε απομακρυσμένες περιοχές, αποτελούν στελέχη MRSA [3], *K. pneumoniae* που παράγουν KPC καρβαπενεμάση [4], ανθεκτικά στις καρβαπενέμες *A. baumannii* [1] κ.α.

Σε πολλές περιπτώσεις, πολυανθεκτικά στελέχη *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ή *A. baumannii* μπορεί να επιλεγούν από την ενδογενή χλωρίδα του ασθενούς μετά από χρήση αντιβιοτικών. Σε τέτοιες περιπτώσεις, στελέχη από διαφορετικούς ασθενείς αποδεικνύονται, με τεχνικές μοριακής επιδημιολογίας, γενετικώς διαφορετικά. Η μετάδοση όμως των μικροβίων συμβαίνει πιο συχνά στις ΜΕΘ από ασθενή σε ασθενή ή από το περιβάλλον ή το προσωπικό της ΜΕΘ (κυρίως τα χέρια) προς στον ασθενή, με αποτέλεσμα οι μικρές ή μεγαλύτερες επιδημίες που προκύπτουν, να οφείλονται σε γενετικά σχετιζόμενα στελέχη. Η διερεύνηση της πηγής μετάδοσης απαιτεί κλασική επιδημιολογική έρευνα, αλλά επίσης και καλλιέργειες περιβαλλοντικών δειγμάτων, αναζήτηση αποικισμού

ασυμπτωματικών ασθενών και τεχνικές μοριακής επιδημιολογίας. Μόνο αν αποκλειστεί, με μοριακή επιδημιολογία, η παρουσία κλωνικώς συγγενικών στελεχών σε διαφορετικούς ασθενείς, τότε πιθανολογείται η επιλογή ανθεκτικών στελεχών λόγω λήψης αντιβιοτικών. Θα αναφερθούν παρακάτω λίγα σχόλια για τα τρία κύρια Gram-αρνητικά παθογόνα της ΜΕΘ.

Η *P. aeruginosa* βρίσκεται παντού, ιδιαίτερα στα υγρά περιβάλλοντα και συμμετέχει επίσης, στην ενδογενή χλωρίδα των νοσοκομειακών ασθενών. Πρώιμες μοριακές επιδημιολογικές μελέτες έδειχναν ότι δεν υπήρχε κλωνικότητα μεταξύ των ψευδομονάδων, αλλά μετέπειτα υπήρξαν πολυάριθμες αναφορές επιδημιών από λίγους γενετικούς κλώνους [5]. Παρατηρήθηκαν μεταδόσεις *P. aeruginosa* από ασθενή σε ασθενή ή από το περιβάλλον στον ασθενή. Ιδιαίτερα παρατηρήθηκε σε πολλές περιπτώσεις ότι οι βρύσες και οι αποχετεύσεις στις ΜΕΘ ήταν αποικισμένες από κλώνους *P. aeruginosa* που προκαλούσαν επίσης λοιμώξεις ασθενών. Οι μοριακές επιδημιολογικές τεχνικές υπήρξαν γενικά πολύτιμες για την κατανόηση της επιδημιολογίας της *P. aeruginosa* στη ΜΕΘ και επέτρεψαν τη λήψη μέτρων περιορισμού της διασποράς των κλωνικών στελεχών. Η *P. aeruginosa* πάντως εμφανίζει αρκετά μεγάλη γενετική ετερογένεια και δεν υπάρχουν πολλές αναφορές κοινών κλώνων σε διαφορετικές χώρες.

Σχετικά με τα στελέχη *A. baumannii*, η μεγάλη πλειονότητα αυτών που προσβάλλουν ασθενείς στις ΜΕΘ είναι πλέον ανθεκτικά στις καρβαπενέμες, ενώ ο αριθμός γενετικών κλώνων που επικρατούν στις ΜΕΘ είναι πολύ μικρός, σε διεθνές επίπεδο. Πιο συγκεκριμένα, τα τελευταία χρόνια επικρατούν παγκοσμίως οι διεθνείς κλώνοι I και II, με τον κλώνο II να εκτοπίζει σταδιακά τον κλώνο I [1] και τα περισσότερα στελέχη *A. baumannii* από τις ΜΕΘ πλέον να ανήκουν στον κλώνο II. Για το λόγο αυτό, η μοριακή επιδημιολογία πρέπει να χρησιμοποιεί μεθόδους κατάλληλες για διερεύνηση τοπικών επιδημιών (που να διακρίνουν γενετικές μεταβολές που παρατηρούνται μεταξύ συγγενικών στελεχών με την πάροδο του χρόνου), όπως είναι η PFGE, παρά μεθόδους που συγκρίνουν σταθερούς γενετικούς τόπους, όπως είναι η MLST (πιο κατάλληλη για εφαρμογή σε διεθνές επίπεδο).

Τέλος, τα στελέχη *K. pneumoniae* στις ελληνικές και τις διεθνείς ΜΕΘ είναι συχνά ανθεκτικά στις καρβαπενέμες. Ειδικά στην Ελλάδα, τα ανθεκτικά στις καρβαπενέμες στελέχη *K. pneumoniae* έως το 2009 έφεραν γονίδια τύπου *bla<sub>VIM</sub>*, τα οποία σταδιακά αντικαταστάθηκαν από γονίδια τύπου *bla<sub>KPC</sub>*. Τα αντίστοιχα στελέχη συνήθως ανήκουν σε μικρό αριθμό γενετικών κλώνων (όπως ο MLST τύπος ST-258), οπότε η διάκρισή τους με μοριακές επιδημιολογικές τεχνικές είναι σχετικά δύσκολη.

Εν κατακλείδι, η μοριακή επιδημιολογική ανάλυση μίας δεδομένης συρροής λοιμώξεων στη ΜΕΘ, επιτρέπει την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών μετάδοσης. Συχνά, επίσης, αποκάλυπτει περιβαλλοντικές επιμολύνσεις ή μη συμμόρφωση του προσωπικού με τις πρακτικές περιορισμού των λοιμώξεων. Η μοριακή επιδημιολογία είναι επίσης χρήσιμη στην παρακολούθηση της εξέλιξης των λοιμώξεων της ΜΕΘ. Στην παρούσα συγκυρία της έλλειψης πόρων, η μοριακή επιδημιολογία δεν πρέπει να εφαρμόζεται συστηματικά σε όλα τα στελέχη ενός παθογόνου μικροβίου, αλλά κατά προτίμηση να χρησιμοποιείται σε ειδικές διερευνήσεις, όταν πρόκειται να εφαρμοστούν μέτρα περιορισμού των λοιμώξεων.

## Βιβλιογραφία

1. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;41:11-9.
2. Blanc DS. The use of molecular typing for epidemiological surveillance and investigation of endemic nosocomial infections. *Infect Genet Evol*. 2004;4:193-7.
3. Adler A, Chmelnitsky I, Shitrit P, Sprecher H, Navon-Venezia S, Embon A, Khabra E, Paitan Y, Keren L, Halperin E, Carmeli Y, Schwaber MJ. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Israel: dissemination of global clones and unique features. *J Clin Microbiol*. 2012;50:134-7.
4. Grundmann H, Livermore DM, Giske CG, Canton R, Rossolini GM, Campos J, Vatoropoulos A, Gniadkowski M, Toth A, Pfeifer Y, Jarlier V, Carmeli Y; CNSE Working Group. Carbapenem-nonsusceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro surveillance* 2010;15:pii=O19726.
5. Paterson DL. The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis*. 2006;43:S43-8.

**Σπύρος Α. Πουρνάρας, Αναπληρωτής Καθηγητής, Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών**

## Διερεύνηση περιπτώσεων λεγεωνέλλωσης

Οι μοριακές τεχνικές αποτελούν χρήσιμα επιδημιολογικά εργαλεία σε διερεύνηση περιπτώσεων λεγεωνέλλας. Οι απαντήσεις που καλείται να δώσει το εργαστήριο σε μία διερεύνηση είναι:

1. Ανιχνεύεται λεγεωνέλλα στα κλινικά και περιβαλλοντικά δείγματα;
2. Αν ναι, σε ποιους κλώνους ανήκουν τα στελέχη που ανιχνεύθηκαν;
  - Η gold standard μέθοδος για την απομόνωση στελεχών λεγεωνέλλας είναι η καλλιέργεια των δειγμάτων (κλινικών και περιβαλλοντικών). Τα μειονεκτήματα της καλλιέργειας είναι κυρίως δύο:
    - Μειωμένη ανάκτηση όλων των στελεχών λεγεωνέλλας, λόγω της ύπαρξης στελεχών που μπορεί να είναι βιώσιμα, αλλά να μην μπορούν να ανακτηθούν με την καλλιέργεια (viable but not culturable)
    - Είναι χρονοβόρα (10 ημέρες).

Για τους παραπάνω λόγους, σε μία διερεύνηση κρούσματος παράλληλα με την καλλιέργεια το εργαστήριο μπορεί να χρησιμοποιήσει και τις μοριακές μεθόδους ανίχνευσης της λεγεωνέλλας. Η ανίχνευση της λεγεωνέλλας μπορεί να γίνει με:

1. την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR)
2. την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Real-Time PCR ή qPCR), που μπορεί να δώσει και ποσοτικά αποτελέσματα.

Διάφορα κιτ είναι εμπορικά διαθέσιμα και για τις δύο μεθόδους που μπορούν να ανιχνεύσουν τη *Legionella* spp ή/και τη *Legionella pneumophila*.

Οι μοριακές μέθοδοι έχουν το πλεονέκτημα ότι δίνουν αποτελέσματα πιο γρήγορα από την καλλιέργεια (1-2 ημέρες), αλλά το βασικό τους μειονέκτημα είναι ότι δεν μπορούν να διακρίνουν αν το γενετικό υλικό που απομονώθηκε ανήκει σε ζωντανά ή νεκρά μικροβιακά κύτταρα. Προσπάθειες να βρεθούν μέθοδοι μοριακής μικροβιολογίας ισοδύναμες με την καλλιέργεια, όπως η Real-Time PCR, έχουν διενεργηθεί χωρίς πλήρη επιτυχία [1,2]. Σε ό,τι αφορά τα περιβαλλοντικά δείγματα, τα θετικά αποτελέσματα από μοριακή μέθοδο καταδεικνύουν τη διασπορά του μικροοργανισμού στις υδάτινες υποδομές του υπό διερεύνηση κτιρίου, νοσοκομείου ή πλοίου, χωρίς να μπορεί να διαχωριστεί αν ο μικροοργανισμός σε κάθε σημείο είναι ζων ή νεκρός.

Στο δεύτερο ερώτημα οι απαντήσεις έρχονται από διάφορα πρωτόκολλα μοριακής τυποποίησης. Για τη *Legionella pneumophila*, το ESGLI έχει αναπτύξει διάφορα πρωτόκολλα με τη μέθοδο της διαδοχικής αλληλούχησης του Sequence Based Typing (SBT). ([Sequence-Based Typing \(SBT\) protocol for epidemiological typing of Legionella pneumophila \(Version 5.0\)](#))

Όταν έχει απομονωθεί αποικία *Legionella pneumophila* από την καλλιέργεια, γίνεται ανίχνευση επτά γονιδίων (mir, flaA, mompS, asd, neuA, pilE, proA) με PCR, τα θετικά προϊόντα των οποίων υπόκεινται σε διαδοχική αλληλούχηση (sequencing).

Στην περίπτωση που δεν έχει απομονωθεί στέλεχος λεγεωνέλλας σε κλινικό δείγμα, ακολουθούνται πρωτόκολλα nested-PCR για την ανίχνευση των 7 γονιδίων τα οποία θα υποβληθούν σε sequencing [4].

Τα αποτελέσματα της αλληλούχησης εισέρχονται στη βάση δεδομένων του ESGLI, λαμβάνοντας ένα μοναδικό κωδικό. Ο συνδυασμός των επτά αλληλικών αριθμών οδηγεί σε συγκεκριμένο προφίλ του στελέχους, που ονομάζεται τύπος αλληλούχησης (Sequence Type). Έτσι ένα στέλεχος λέμε ότι ανήκει στον ST 1 ή στον ST 450 κοκ. Όταν το κλινικό στέλεχος έχει τύπο αλληλούχησης ίδιο με κάποιο από τα περιβαλλοντικά στελέχη, τότε μπορούμε να πιθανολογήσουμε ότι η πηγή μετάδοσης ήταν το συγκεκριμένο σημείο. Στον Πίνακα 1 φαίνεται συνοπτικά το αποτέλεσμα της διαδοχικής αλληλούχησης των επτά γονιδίων που το τελικό τους προφίλ ανήκει στον ST 1.

**Πίνακας 1: Προφίλ ST1 μετά από διαδοχική αλληλούχιση 7 γονιδίων Legionella pneumophila οροτύπου 1**

Allele	Length	Average Quality	Correct Size	Exact Match	Quality Test Pass
flaA	448	88.01	yes	1	yes
pilE	474	86.59	yes	4	yes
asd	588	85.35	yes	3	yes
mip	570	86.65	yes	1	yes
mompS	709	79.49	yes	1	yes
proA	505	83.26	yes	1	yes
neuA	474	87.99	yes	1	yes

Αποτέλεσμα: ST1

Άλλες μέθοδοι τυποποίησης της Λεγεωνέλλας εκτός από τον προσδιορισμό γενετικής αλληλουχίας είναι η AFLP [5] και η PFGE [6]. Οι μέθοδοι αυτές χρησιμοποιούνται για όλα τα είδη της Λεγεωνέλλας. Η βασική αρχή τους στηρίζεται στη χρήση περιοριστικών ενζύμων που διασπούν το γενετικό υλικό σε μικρότερα τμήματα διαφόρων μοριακών βαρών, με αποτέλεσμα να δημιουργείται κατά την ηλεκτροφόρηση ένα μοναδικό αποτύπωμα (fingerprint). Η σύγκριση του αποτυπώματος του περιβαλλοντικού με το αντίστοιχο του κλινικού στελέχους μάς οδηγεί στον εντοπισμό της πιθανής εστίας μετάδοσης.

#### Νεότερες εξελίξεις

**Φασματομετρία μάζας - Maldi Toff** (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry).

Η φασματομετρία μάζας με τεχνολογία Maldi -Toff έχει ήδη εφαρμοστεί ως νέα μέθοδος τυποποίησης για τη Λεγεωνέλλα με το νέο φασματογράφο μάζας Maldi -Toff. Η μέθοδος στηρίζεται στη δημιουργία φάσματος πρωτεϊνών και πεπτιδίων αυξανόμενης μάζας ενός μικροβίου, το οποίο οδηγεί σε ένα χαρακτηριστικό συνδυασμό κορυφών, ξεχωριστό για κάθε κλώνο [7].

#### Αλληλούχιση του ολικού γενώματος - Whole Genome Sequencing (WGS)

Η ανάπτυξη της τεχνολογίας αυτής επιτρέπει τον προσδιορισμό της γενετικής αλληλουχίας ολόκληρου του γενώματος ενός μικροβίου με τη χρήση νέων αναλυτών. Η μέθοδος έχει ήδη εφαρμοστεί πιλοτικά για τη διάκριση στελεχών Λεγεωνέλλας, τα οποία σχετίζονται με συρροή κρουσμάτων, με στελέχη που δεν εμπλέκονται σε συρροή. Τα αποτελέσματα ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά, ώστε μελλοντικά να μπορεί να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος ευρύτερα [8].

#### Εμπειρία από διερεύνηση συρροής κρουσμάτων Λεγεωνέλλωσης σε κρουαζιερόπλοιο

Το εργαστήριό μας συμμετείχε σε διερεύνηση συρροής κρουσμάτων λεγεωνέλλωσης σ' ένα κρουαζιερόπλοιο. Τα κλινικά στελέχη ανήκαν στο είδος *Legionella pneumophila* οροτύπου 1. Μεγάλος όγκος περιβαλλοντικών δειγμάτων εισέρχονταν στο εργαστήριό προς καλλιέργεια. Ελάχιστες καλλιέργειες ήταν θετικές για Λεγεωνέλλα που ανήκαν είτε σε άλλους οροτύπους ή σε άλλα είδη.

Καθοριστικής σημασίας ήταν η συνεργασία του εργαστηρίου με τους επόπτες δημόσιας υγείας και τους ειδικούς που έκαναν την εκτίμηση κινδύνου στο πλοίο. Οι εμπειρογνώμονες ζήτησαν να γίνει μοριακή ανίχνευση με PCR στα περιβαλλοντικά δείγματα. Τα προβλήματα που εμφανίστηκαν στην ανίχνευση της Λεγεωνέλλας με PCR ήταν οι αναστολές των περιβαλλοντικών δειγμάτων που οδηγούσαν σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Γι' αυτό το λόγο έγιναν πολλές διαδοχικές αραιώσεις στο γενετικό υλικό που είχε απομονωθεί, έτσι ώστε να προσπεραστεί η δράση των αναστολέων, με αποτέλεσμα να αποκαλυφθούν αρκετά θετικά σημεία. Τα αποτελέσματα βοήθησαν τους ερευνητές στο να επιστήσουν την προσοχή τους σε βάθος σε ορισμένα σημεία, να επαναλάβουν τη δειγματοληψία και να δώσουν οδηγίες για διορθωτικές ενέργειες.

Η επεξεργασία των δειγμάτων της δεύτερης δειγματοληψίας από τα σημεία που οι ερευνητές θεωρούσαν κρίσιμα με ιδιαίτερη προσοχή και επιμονή από το εργαστήριο, οδήγησε τελικά στην απομόνωση στελεχών *Legionella pneumophila* οροτύπου 1 από δύο σημεία του πλοίου. Στη συνέχεια ακολούθησε η διαδοχική αλληλούχισή τους σύμφωνα με το πρωτόκολλο του ESGLI και αποδείχθηκε ότι ανήκαν στον ίδιο κλώνο με αυτό του κλινικού δείγματος. Πραγματοποιήθηκαν οι απαραίτητες διορθωτικές ενέργειες και το πλοίο έκτοτε ακολουθεί πρόγραμμα τακτικών ελέγχων για την ανίχνευση Λεγεωνέλλας. Μέχρι σήμερα δεν έχει εμφανιστεί νέο κρούσμα.

#### Βιβλιογραφία

1. Sa. Bonetta, Si. Bonetta, E. Ferretti, F. Balocco, E., Carraro, 2010. Evaluation of *Legionella pneumophila* contamination in Italian hotel water systems by quantitative real-time PCR and culture methods. J Appl Microbiol., May, 108(5), pp.1576-83.
2. Technical Guidelines for the Investigation, Control and Prevention of Travel Associated Legionnaires' Disease, September 2011 available to [www.esamid.org/fileadmin](http://www.esamid.org/fileadmin)
3. Legionella pneumophila Sequence- Based Typing Available at: [www.hpa-bioinformatics.org.uk/legionella](http://www.hpa-bioinformatics.org.uk/legionella)
4. Ginevra C, Lopez M, Forey F, Reyrolle M, Meugnier H, Vandenesch F, Etienne J, Jarraud S, Molmeret M., 2009. Evaluation of a nested-PCR-derived sequence-based typing method applied directly to respiratory samples from patients with Legionnaires' disease. J Clin Microbiol., Apr, 47(4), pp.981-7.
5. Fry NK, Bangsberg JM, Bergmans A, Bernander S, Etienne J, Franzin L, Gaia V, Hasenberger P, Baladrón Jiménez B, Jonas D, Lindsay D, Mentula S, Papoutsis A, Struelens M, Uldum SA, Visca P, Wannet W, Harrison TG., 2002. Designation of the European Working Group on Legionella Infection (EWGLI) amplified fragment length polymorphism types of Legionella pneumophila serogroup 1 and results of intercentre proficiency testing Using a standard protocol. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. , Oct; 21(10):722-8.
6. Lück C, Fry NK, Helbig JH, Jarraud S, Harrison TG. 2013. Typing methods for legionella. Methods Mol Biol., 954, pp.119-48.
7. Fujinami Y, Kikkawa HS, Kurosaki Y, Sakurada K, Yoshino M, Yasuda J, 2011. Rapid discrimination of Legionella by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Microbiol Res. , Feb 20; 166(2) pp.77-86.
8. Reuter S, Harrison TG, Köser CU, Ellington MJ, Smith GP, Parkhill J, Peacock SJ, Bentley SD, Török ME., 2013. A pilot study of rapid whole-genome sequencing for the investigation of a Legionella outbreak. BMJ Open., Jan 9; 3(1).

**Κατσιαφλάκα Α., Ιατρός Βιοπαθολόγος,  
Τεχνική Υπεύθυνη Μικροβιολογικού Τμήματος, ΠΕΔΥ Θεσσαλίας**

## Μοριακή επιδημιολογία και τροφιμογενείς λοιμώξεις

Οι τροφιμογενείς λοιμώξεις, δηλαδή οι λοιμώξεις που προκαλούνται από την κατανάλωση τροφίμων μολυσμένων με παθογόνα βακτήρια, ιούς ή παράσιτα, αποτελούν ένα πολύ σημαντικό πρόβλημα της δημόσιας υγείας στις αναπτυσσόμενες, αλλά και στις αναπτυγμένες χώρες του κόσμου. Το πιο κοινό σύμπτωμα μιας τροφιμογενούς λοίμωξης είναι η γαστρεντερίτιδα, μπορεί να προκληθούν όμως χρόνιες, απειλητικές για τη ζωή επιπλοκές ακόμη και θάνατος.

Αν και με τη βελτίωση των συνθηκών υγιεινής και διαβίωσης (ψύξη τροφίμων, παστερίωση γάλακτος, αποχτεύσεις κ.λπ.) αναμενόταν μείωση της συχνότητας των τροφιμογενών λοιμώξεων, τις τελευταίες δεκαετίες ο αριθμός των κρουσμάτων και των επιδημιών που καταγράφονται είναι αυξημένος. Στις Η.Π.Α υπολογίζεται ότι ετησίως 1 στους 6 πολίτες θα νοσήσει και 3.000 πολίτες θα πεθάνουν λόγω τροφιμογενούς νοσήματος [1]. Βασική αιτία της αύξησης αυτής είναι η ανάπτυξη του διεθνούς εμπορίου. Τα τρόφιμα παράγονται, επεξεργάζονται και διανέμονται σε περιοχές του πλανήτη που μπορεί να απέχουν χιλιάδες χιλιόμετρα. Αποτέλεσμα αυτού και της μαζικής παραγωγής και διάθεσης τροφίμων είναι ότι οι τροφιμογενείς επιδημίες έχουν αλλάξει ολόκληρη μορφή. Παλαιότερα ήταν εστιασμένες, τοπικές, με μικρό αριθμό κρουσμάτων και η διερεύνηση ήταν εύκολη και απλή. Τώρα οι επιδημίες παρουσιάζουν πολύ μεγάλο αριθμό κρουσμάτων και είναι εκτεταμένες γεωγραφικά. Η διερεύνηση αυτού του τύπου των επιδημιών είναι δύσκολη και πολύπλοκη. Άλλα αίτια αύξησης του αριθμού των τροφιμογενών λοιμώξεων είναι η αστικοποίηση του πληθυσμού, η αύξηση του αριθμού των ταξιδιών, οι αλλαγές στις γεωργικές και κτηνοτροφικές πρακτικές, η αύξηση του αριθμού των ατόμων που ανήκουν στις ευπαθείς ομάδες πληθυσμού, λόγω της αύξησης του μέσου όρου ζωής αλλά και του προσδόκιμου ζωής για τους ανοσοκατασταλμένους. Βασική αιτία αποτελεί και η εμφάνιση και διασπορά των «αναδυόμενων» παθογόνων μικροβίων, που π.χ. απέκτησαν νέους λοιμογόνους παράγοντες (π.χ. το εντεροαιμορραγικό *E.coli*, με τα γονίδια παραγωγής των βερο-τοξινών), ή εμφανίζουν μηχανισμούς αντοχής (και πολυαντοχής) σε αντιβιοτικά, κ.λπ. Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται και αύξηση της δήλωσης και καταγραφής τροφιμογενών λοιμώξεων, κυρίως λόγω της εφαρμογής αλλά και βελτίωσης των συστημάτων επιτήρησης νοσημάτων αλλά και της εφαρμογής εργαστηριακών μεθόδων (κυρίως μοριακών τεχνικών) ανίχνευσης και απομόνωσης παθογόνων μικροβίων που παλαιότερα δεν ήταν εφικτά [2].

Η επιδημιολογική επιτήρηση των τροφιμογενών λοιμώξεων είναι πολύ σημαντικό «όπλο» για την προστασία της δημόσιας υγείας. Η συνεχής και συστηματική συλλογή, ανάλυση και ερμηνεία όλων των δεδομένων που αφορούν στην εμφάνιση και εξάπλωση των τροφιμογενών παραγόντων είναι απαραίτητες διαδικασίες για το σχεδιασμό, την εφαρμογή και την αξιολόγηση των παρεμβάσεων δημόσιας υγείας με τελικό στόχο τον αποτελεσματικό έλεγχο των λοιμωδών νοσημάτων.

Οι βασικοί στόχοι της επιδημιολογικής επιτήρησης είναι :

1. Η έγκαιρη αναγνώριση επιδημιών, ώστε να λαμβάνονται άμεσα τα κατάλληλα μέτρα.
2. Η συνεχής καταγραφή της συχνότητας των τροφιμογενών λοιμώξεων / επιπολασμού αιτιολογικών παραγόντων και η εκτίμηση της νοσηρότητας ή θνησιμότητας που προκαλούν
3. Η έγκαιρη προειδοποίηση για αλλαγές στη συχνότητα τροφιμογενών λοιμώξεων [3]

Στο πλαίσιο των παραπάνω στόχων και με δεδομένα τη διάσπαρτη μορφή τροφιμογενών επιδημιών και της εξάπλωσης ενός παθογόνου μικροβίου μέσω των τροφίμων σε διαφορετικά μέρη του πλανήτη, καθίσταται κρίσιμη και απαραίτητη η δυνατότητα γρήγορης και αξιόπιστης διαφοροποίησης μεταξύ σχετιζόμενων μικροβιακών καλλιεργημάτων (isolates) ώστε να είναι δυνατή έγκαιρα και έγκυρα η ανίχνευση τυχόν κλωνικής διασποράς ενός μικροοργανισμού. Αυτό επιτυγχάνεται με τη διαδικασία της τυποποίησης (typing) των καλλιεργημάτων, δηλαδή της φαινοτυπικής ή/και γονοτυπικής ανάλυσής τους με σκοπό την παραγωγή "αποτυπώματος" (fingerprint) ειδικού για κάθε στέλεχος (strain) ή κλώνο (clone). Οι φαινοτυπικές μέθοδοι που ακόμη εφαρμόζονται για πολλά βακτηριακά είδη (οροτυπία για *Salmonella* spp. και *Escherichia coli*, λυσιτυπία για την *Salmonella* spp., βιοτυπία, αντιβιογράμμα κ.ά.) έχουν συνεισφέρει σημαντικά στην κατανόηση της φυσικής ιστορίας και επιδημιολογίας των μικροβίων, αλλά και στη διερεύνηση επιδημιών. Ωστόσο, λόγω της συχνής ανταλλαγής γενετικού υλικού

μεταξύ των μικροοργανισμών, ένας φαινότυπος δεν αντανakλά πάντα τον γονότυπο ενός μικροοργανισμού. Επιπλέον, δύο καλλιεργήματα με τον ίδιο π.χ. λυσιτύπο, μπορεί να μην συσχετίζονται και αντιστρόφως (χαμηλή διακριτική ικανότητα μεθόδου). Τις τελευταίες δύο δεκαετίες οι φαινοτυπικές μέθοδοι αντικαθίστανται από τις γονοτυπικές (μοριακές) μεθόδους. Οι μοριακές μέθοδοι προσδίδουν "αποτύπωμα" (fingerprint) για κάθε καλλιέργημα σε μοριακό επίπεδο, δηλαδή σε επίπεδο γενετικού υλικού, έχουν υψηλή διακριτική ικανότητα, αναπαραγωγιμότητα και τυποποιητικότητα. Πολλές μοριακές μέθοδοι τυποποίησης εφαρμόζονται πια σε ρουτίνα από πολλά εργαστήρια (Real Time Polymerase Chain Reaction, Pulsed Field Gel Electrophoresis-PFGE, Multi Locus Sequencing Typing-MLST κ.ά.). Για τις μεθόδους αυτές υπάρχουν τυποποιημένα πρωτόκολλα, διενεργούνται διεργαστηριακά προγράμματα ελέγχου ποιότητας και τα αποτελέσματα αναλύονται σε υπολογιστικά προγράμματα και εντάσσονται σε ηλεκτρονικές βάσεις δεδομένων, με σκοπό τη σύγκριση και συσχέτιση των "αποτυπώματων" των καλλιεργημάτων σε τοπικό έως και παγκόσμιο επίπεδο. Κατά τη διερεύνηση επιδημιών συγκρίνονται τα μοριακά "αποτυπώματα" καλλιεργημάτων ασθενών με αυτά που απομονώνονται από το ύποπτο τρόφιμο-προϊόν, για να επιβεβαιωθεί ή να απορριφθεί η υπόθεση ενοχοποίησής του ως αίτιο της επιδημίας, αλλά και με καλλιεργήματα που πιθανά να απομονωθούν κατόπιν ελέγχου στην επιχείρηση παρασκευής του τροφίμου και ίσως και στην αρχική του πηγή (φυτικές, ζωικές παραγωγές) [3, 4].

Το 2011 καταγράφηκε στη Γερμανία μία από τις σοβαρότερες τροφιμογενείς επιδημίες. Αίτιο ήταν μολυσμένα με εντεροαιμορραγικό *E.coli* O104:H4 φύτρα. Καταγράφηκαν συνολικά 3842 νοσήσεις σε 16 χώρες (Ευρώπη και ΗΠΑ), (855 περιστατικά με εντεροαιμορραγικό σύνδρομο και 35 θάνατοι). Η γρήγορη και αξιόπιστη μοριακή επιδημιολογική διερεύνηση της επιδημίας αυτής παρέιχε άμεσα όλες τις πληροφορίες που αφορούσαν στην περιγραφή του παθογόνου μικροβίου: παρουσία γονιδίων λοιμογονικότητας που χαρακτηρίζουν δύο διαφορετικούς παθότυπους *E.coli*, των εντεροαιμορραγικών (Enterohaemorrhagic) και των εντεροσυναθροιστικών (Enteroaggregative), παρουσία γονιδίων αντοχής σε ESBL κ.ά. Οι πληροφορίες αυτές και το μοριακό "αποτύπωμα" που προέκυψε από την εφαρμογή των μεθόδων PFGE και MLST, κοινοποιήθηκαν άμεσα μέσω δομών του ECDC σε όλα τα Εργαστήρια Αναφοράς και στις αρχές δημόσιας υγείας των Ευρωπαϊκών χωρών, αλλά και σε άλλες χώρες, έτσι ώστε να είναι έτοιμα να χαρακτηρίσουν ένα καλλιέργημα *E.coli* ως επιδημικό στέλεχος ή όχι. Η μοριακή επιδημιολογική διερεύνηση έδειξε ότι δύο διαφορετικοί *E.coli* παθότυποι, με εντελώς διακριτούς μηχανισμούς λοιμογονικότητας, μπορούν να ανταλλάσσουν γονίδια λοιμογονικότητας, γεγονός που καταδεικνύει μια εξαιρετικά δυναμική κατάσταση εμφάνισης «νέων» παθογόνων μικροβίων. Σε καλλιέργημα *E.coli* O104 που απομονώθηκε την περίοδο της επιδημίας από Γερμανίδα τουρίστρια στην Ελλάδα, ανιχνεύθηκαν τα γονίδια λοιμογονικότητας και επιπλέον το PFGE "αποτύπωμα" ήταν πανομοιότυπο με αυτό του επιδημικού στελέχους. Στη συγκεκριμένη επιδημία δεν απομονώθηκε το παθογόνο μικρόβιο από τα φύτρα, αλλά ενοχοποιήθηκαν βάσει ισχυρών δεδομένων της περιγραφικής επιδημιολογίας [5]. Από την επιδημία αυτή και μετά, το ECDC αποφάσισε οι τροφιμογενείς επιδημίες να μην διαχωρίζονται σε «επιβεβαιωμένες» (εργαστηριακά) και «πιθανές», αλλά σε επιδημίες με «ισχυρές ενδείξεις» (ακόμα και αν δεν έχουν τεκμηριωθεί εργαστηριακά αλλά μόνο βάσει επιδημιολογικών δεδομένων) και σε αυτές με «αδύναμες ενδείξεις» [6].

Η εφαρμογή μοριακών μεθόδων τυποποίησης των παθογόνων μικροοργανισμών που προκαλούν τροφιμογενείς λοιμώξεις δίνει νέα προοπτική στην επιδημιολογική επιτήρηση και διερεύνηση επιδημιών. Το βέβαιο, όμως, είναι ότι τα αποτελέσματά τους θα πρέπει πάντα να συνεκτιμώνται με τα επιδημιολογικά δεδομένα για την αποτελεσματική και έγκαιρη λήψη μέτρων πρόληψης και αντιμετώπισης των τροφιμογενών λοιμώξεων.

Το Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Σαλμονελλών, Σιγκελλών, βερο-τοξινογόνων *E.coli* της Εθνικής Σχολής Δημόσιας Υγείας-ΚΕΔΥ, σε συνεργασία με το ΚΕΕΛΠΝΟ, παρακολουθεί την διασπορά διαφόρων στελεχών/κλώνων στην Ελλάδα, π.χ. επιτήρηση της πολυανθεκτικής μονοφασικής *Salmonella typhimurium* [7], συμβάλλει με την εφαρμογή μοριακών τεχνικών στην διερεύνηση επιδημικών επεισοδίων και συμμετέχει στο Πρόγραμμα "Food and Water-borne Diseases and Zoonoses" του ECDC για την επιτήρηση στελεχών/κλώνων και διερεύνηση επιδημιών σε Ευρωπαϊκό επίπεδο.

**Βιβλιογραφία**

1. Estimates of Foodborne Illness in the United States. [http://www.cdc.gov/foodborneburden/TauxeRV\\_2002](http://www.cdc.gov/foodborneburden/TauxeRV_2002). Emerging foodborne pathogens. Int J Food Microbiol. 15;78(1-2):31-41.
2. Kourea- Kremastinou, Tz., 2007. Public Health: theory, action,policies. Technogramma, Athens-Greece.
3. Van Belkum A., Tassios PT., Dijkshoorn L., Haeggman S., Cookson B., Fry NK., Fusing V., Green J., Feil E., Gerner-Smidt P., BrisseS, Struelens M.; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Study Group on Epidemiological Markers (ESGEM), 2007. Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. Clin Microbiol Infect. 13 Suppl 3:1-46.
4. Sabat AJ., Budimir A., Nashev D., Sá-Leão R., van Dijnl JM., Laurent F., Grundmann H., Friedrich AW., on behalf of the ESCMID Study Group of Epidemiological Markers (ESGEM),2013. Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. Euro Surveill. 18(4):pii=20380. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20380>
5. Scheutz F., Møller Nielsen E., Frimodt-Møller J., Boisen N., Morabito S., Tozzoli R., Nataro JP., Caprioli A.,2011. Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing Escherichia coli O104:H4 strain causing the outbreak of haemolyticuraemic syndrome in Germany, May to June 2011. Euro Surveill. 16(24):pii=19889. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19889>
6. Updated technical specifications for harmonised reporting of foodborne outbreaks through the European Union reporting system in accordance with Directive 2003/99/EC1.,2011.EFSA Journal 9(4):2101
7. Mandilara G., Lambiri M., Polemis M., Passiotou M., Vatopoulos A.,2013. Phenotypic and molecular characterisation of multiresistant monophasic Salmonella typhimurium (1,4,[5],12:i:-) in Greece, 2006 to 2011. Euro Surveill. 18(22):pii=20496. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20496>

**Μανδηλαρά Γεωργία, Επιστημονική Υπεύθυνη Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Σαλμονελλών, Σιγκελλών, βερο-τοξινογόνων E.coli, ΕΣΔΥ-ΚΕΔΥ-ΚΕΕΛΠΝΟ**

**Public Health Genomics and the New Molecular Epidemiology of Bacterial Pathogens**

M.W. Gilmour M. Graham A. Reimer G. Van Domselaar  
Public Health Genomics 2013;16:25-30

Σ' αυτό το άρθρο οι συγγραφείς αναφέρονται στην επανάσταση που υπόσχεται να φέρει η εισαγωγή των καινούργιων γονιδιωματικών μεθόδων στα εργαστήρια δημόσιας υγείας, μια επανάσταση που έχει ξεκινήσει το νέο πεδίο της «γονιδιωματικής επιδημιολογίας». Η εφαρμογή τους θα βελτιώσει την ικανότητα των εργαστηρίων αυτών να παρέχουν πληροφορίες και αποδεικτικά στοιχεία σχετικά με την εξέλιξη, τη μετάδοση και τη λοιμογόνο δύναμη των βακτηριακών παθογόνων.

Οι υπάρχουσες εργαστηριακές μέθοδοι υποτυποποίησης (όπως η ηλεκτροφόρηση πηκτής αгарόζης σε παλλόμενο πεδίο - PFGE, η αποτύπωση με αλληλούχηση πολλαπλών γενετικών τόπων - MLST κα.) για τη διερεύνηση μετάδοσης μολυσματικών ασθενειών του ανθρώπου από διάφορες πηγές παρέχουν τελικά μόνο ένα κλάσμα του συνόλου της γενετικής πληροφορίας των παθογόνων και, παρόλο που χρησιμοποιούνται ευρέως με επιτυχία, δεν παρέχουν πάντα επαρκή αποδεικτικά στοιχεία για να συνδέουν τις περιπτώσεις νόσου μαζί σε επιδημίες ή να συνδέσουν αυτά τα ανθρώπινα κρούσματα με την πηγή. Εναλλακτικά, η αλληλούχηση ολόκληρου του γονιδιώματος (whole-genome sequencing - WGS) των βακτηριακών παθογόνων ξεπερνάει αυτούς τους περιορισμούς και παρέχει μια πλήρη ανάλυση του γενετικού περιεχομένου των μεμονωμένων παθογόνων στελεχών, επιτρέποντας στα εργαστήρια δημόσιας υγείας να επωφεληθούν από τις συγκριτικές αναλύσεις του συνολικού γενετικού περιεχομένου και να διαχωρίζουν στελέχη σε επίπεδο απλών νουκλεοτιδίων. Επιπλέον, οι τεχνολογικές εξελίξεις με τις προηγμένες πλατφόρμες αλληλούχησης του DNA έχουν μειώσει αισθητά το χρόνο και το κόστος της αλληλούχησης γονιδιώματος ενός παθογόνου στελέχους σε σχέση με την προηγούμενη δεκαετία. Λαμβάνοντας υπόψη αυτές τις εξελίξεις, ένα σχετικό σενάριο εφαρμογής των τεχνολογιών αλληλούχησης γονιδιώματος είναι η στήριξη των ερευνών δημόσιας υγείας.

Όμως, για να υιοθετηθεί ευρέως η γονιδιωματική επιδημιολογία ως μια εφαρμογή της δημόσιας υγείας με την ίδια επιτυχία που έχουν και οι υπάρχουσες μοριακές μέθοδοι τυποποίησης, θα είναι απαραίτητο να αντλήσει πολλές από τις κατευθυντήριες αρχές που οδήγησαν στην αποδοχή και την ευρεία χρήση τους. Έτσι, οι προσεγγίσεις που βασίζονται στην ανάλυση ολόκληρου του γονιδιώματος θα πρέπει να εξελιχθούν και να συμπεριλάβουν τη συγκέντρωση βάσεων δεδομένων με μια πληθώρα γονιδιωμάτων αναφοράς και την προσβασιμότητά τους με ενιαίες παραμέτρους αξιολόγησης από τους ερευνητές της δημόσιας υγείας, την τυποποίηση της μεθόδου και τη διαλειτουργικότητα μεταξύ εργαστηρίων, και κυρίως ένα βάθος και εύρος των δοκιμών σ' έναν πληθυσμό παθογόνου για την ορθή επιδημιολογική έρευνα. Επιπλέον, η υποδομή για την αλληλούχηση γονιδιώματος θα πρέπει να είναι εύκολα προσβάσιμη - απαιτώντας κεφάλαιο και υποστήριξη. Συνεπώς, η γονιδιωματική επιδημιολογία αποτελεί σήμερα μια ερευνητική προσέγγιση που μπορεί να συμπληρώσει, αλλά όχι ακόμη να αντικαταστήσει τις υπάρχουσες μεθόδους τυποποίησης που θεωρούνται ως το χρυσό πρότυπο (gold standard).

Οι συγγραφείς καταλήγουν ότι με τις συντονισμένες προσπάθειες, που βρίσκονται σε εξέλιξη για την ανάπτυξη της τεχνολογίας όπως και πληροφορικών απαιτήσεων, είναι εύκολο να προβλέψει κανείς στο προσεχές μέλλον ότι η γονιδιωματική ανάλυση, κάποια μέρα, θα χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος ρουτίνας στα συστήματα αντιμετώπισης επιδημιών και επιτήρησης δημόσιας υγείας.

**Κρίστο Ιουλιάννα, PhD στη Μοριακή Μικροβιολογία, Περιφερειακό Εργαστήριο Δημόσιας Υγείας Θεσσαλίας**

### **Whole Genome Sequencing versus Traditional Genotyping for Investigation of a Mycobacterium tuberculosis Outbreak: A Longitudinal Molecular Epidemiological Study.**

Roetzer A, Diel R, Kohl TA, Ruckert C, Nubel U, et al. (2013) PLoS Med 10(2): e1001387. doi:10.1371/journal.pmed.1001387

Η κατανόηση της μετάδοσης του *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών ελέγχου της φυματίωσης. Οι παραδοσιακές τεχνικές τυποποίησης του στελέχους στερούνται επαρκούς διακριτικής ικανότητας για τη διερεύνηση μεγάλων επιδημιών. Στο παρόν άρθρο εξετάστηκε η δυνατότητα χρήσης της τεχνικής αλληλούχησης ολόκληρου του γονιδιώματος (whole genome sequencing - WGS) για την ταυτοποίηση αλυσίδων μετάδοσης σχετιζόμενων με επιδημίες.

Κατά τη διάρκεια μιας μακρόχρονης (1997-2010) προοπτικής μοριακής επιδημιολογικής μελέτης, η οποία περιελάμβανε ένα σύνολο 2.301 ασθενών, επιβεβαιώθηκε με τις κλασικές μεθόδους τυποποίησης, ότι μια μεγάλη έξαρση κρουσμάτων προκλήθηκε από ένα στέλεχος MTB της γενεαλογίας Χάρλεμ. Οι συγγραφείς ανέλυσαν και τα 86 απομονωθέντα στελέχη με κλασική τυποποίηση και με ανάλυση WGS. Το κύριο μέτρο των αποτελεσμάτων και των δύο προσεγγίσεων ήταν ο βαθμός συσχέτισης με δεδομένα εντοπισμού μέσω επικοινωνίας (οι πληροφορίες συλλέγονται συνήθως σχετικά με τους ανθρώπους, με τους οποίους ήρθε πρόσφατα σε επαφή ο ασθενής, έτσι ώστε τα άτομα αυτά να ελεγχθούν για φυματίωση και αν νοσούν να τους χορηγηθεί θεραπεία) και τη χώρο-χρονική κατανομή των κρουσμάτων. Η WGS ανάλυση των 86 στελεχών αποκάλυψε 85 πολυμορφισμούς μονών νουκλεοτιδίων [single nucleotide polymorphisms (SNPs): γονιδιακές αλληλουχικές παραλλαγές που διαφέρουν κατά ένα νουκλεοτίδιο], υποδιαιρώντας την επιδημία σε επτά γονιδιακές ομάδες (genome clusters) και επιπλέον 36 μοναδικά στελέχη (με μοναδικά προφίλ SNP).

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης με WGS έδειξαν ότι τα πρώτα (κατά χρονολογική σειρά) στελέχη της επιδημίας που απομονώθηκαν το 1997 ήταν κατανομημένα σε λάθος ομάδες με βάση την κλασική γονοτυποποίηση. Το 1998, ένας κλώνος (που ονομάζεται «κλώνος του Αμβούργου» - "Hamburg clone") άρχισε να επεκτείνεται, ανεξάρτητα από τις κοινωνικές και περιβαλλοντικές παραμέτρους που επικρατούσαν κατά την εμφάνιση των πρώιμων περιπτώσεων. Τα μοτίβα ομαδοποίησης που βασίζονται στην ανάλυση του γονιδιώματος ήταν σε μεγαλύτερη συμφωνία με τα στοιχεία εντοπισμού μέσω επικοινωνίας και τη γεωγραφική κατανομή των κρουσμάτων σε σχέση με αυτά που βασίζονται στην κλασική γονοτυποποίηση. Ένας μέγιστος αριθμός τριών SNPs εντοπίστηκαν σε οκτώ επιβεβαιωμένες από άνθρωπο σε άνθρωπο αλυσίδες μετάδοσης, που αφορούσαν 31 ασθενείς. Όπως υπολογίστηκε, το MTB αναπτύσσεται στο περιβάλλον του ξενιστή με χρόνο διπλασιασμού περίπου 22 ώρες (400 γενεές ανά έτος). Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης του γονιδιώματος, η εμφάνιση του κλώνου του Αμβούργου χρονολογείται κατά την περίοδο μεταξύ 1993 και 1997 και, ως εκ τούτου, λίγο πριν την ανακάλυψη της επιδημίας μέσω της επιδημιολογικής παρακολούθησης.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης υποδηλώνουν ότι η ανάλυση WGS παρέχει ένα μέτρο της εξέλιξης του γονιδιώματος του MTB με την πάροδο του χρόνου στο φυσικό περιβάλλον του ξενιστή. Η ανάλυση με WGS αποδεικνύεται ότι υπερέρχει της συμβατικής γονοτυποποίησης για τον εντοπισμό και τη διερεύνηση του MTB σε μικρο-επιδημίες και μπορεί να αποτελέσει την πρότυπη μέθοδο για την ταυτοποίηση αλυσίδων μετάδοσης σε περιπτώσεις επιδημιών.

**Κολοκυθοπούλου Φωτεινή-Αμαλία, Βιολόγος, MSc στη Δημόσια Υγεία, Περιφερειακό Εργαστήριο Δημόσιας Υγείας Θεσσαλίας**

### **Molecular-based surveillance of campylobacteriosis in New Zealand – from source attribution to genomic epidemiology.**

Muellner P, Pleydell E, Pirie R, Baker MG, Campbell D, Carter PE, French NP. Euro Surveill. 2013;18(3):pii=20365. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20365>

Στο παρόν άρθρο περιγράφεται πώς η επιτήρηση της καμπυλοβακτηριδίων σε μοριακή βάση στη Νέα Ζηλανδία συνέβαλε στην υλοποίηση των παρεμβάσεων, οι οποίες οδήγησαν σε μείωση κατά 50% σε καταγεγραμμένα και νοσηλεύόμενα περιστατικά της πιο σημαντικής ζωνόσου της χώρας. Έτσι, από το υψηλό νούμερο των 384 ανά 100.000 πληθυσμού, το 2006, πριν την παρέμβαση, η επίπτωση μειώθηκε κατά 50% το 2008. Μία μείωση που διατηρήθηκε από τότε.

Αυτό το άρθρο παρουσιάζει πολλές πτυχές για την επιτυχή χρήση της επιτήρησης σε μοριακή βάση, συμπεριλαμβανομένης και της διάκρισης μεταξύ επιτήρησης εστιασμένης στον έλεγχο ή στη στρατηγική, καθώς και επιτεύγματα σε σχέση με την απόδοση της πηγής μετάδοσης.

Στην επιτήρηση με στόχο τον έλεγχο, τα μοριακά μέσα τυποποίησης και τα σχετικά μοντέλα προσέγγισης, τα οποία απαιτούνται, θα πρέπει να είναι ικανά να ταυτοποιούν γονοτύπους που υποδεικνύουν μία κοινή πηγή μετάδοσης ή ένα συγκεκριμένο τρόπο μετάδοσης. Για παράδειγμα, η σχέση μεταξύ των γονοτύπων περιβαλλοντικών και κλινικών στελεχών σε μία περίπτωση έξαρσης κρουσμάτων στη Νέα Ζηλανδία παρείχε ενδείξεις ότι η πηγή μετάδοσης της νόσου ήταν η λήψη μη παστεριωμένου γάλακτος, ένας σχετικά σπάνιος παράγοντας κινδύνου. Αυτός ο συνδυασμός επιδημιολογικών πληροφοριών και δεδομένων τυποποίησης οδήγησε σε μία τοπική αντίδραση και πυροδότησε την ήδη υπάρχουσα διαμάχη για την εθνική πολιτική όσον αφορά στη διάθεση μη παστεριωμένου γάλακτος.

Στην επιτήρηση με στόχο τη στρατηγική, τα μοριακά μέσα τυποποίησης και τα σχετικά μοντέλα προσέγγισης, τα οποία απαιτούνται, είναι διαφορετικά και θα πρέπει να είναι ικανά να παρέχουν πληροφορίες σχετικές με την επιδημιολογία ενός παθογόνου σε μακροχρόνια βάση. Τα μοντέλα απόδοσης της πηγής που βασίζονται στη μικροβιακή υποτυποποίηση, καθώς και μοντέλα βασισμένα στη μοριακή μελέτη του πληθυσμού έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί στη Νέα Ζηλανδία. Έτσι αποδείχθηκε ότι ένας μεγάλος αριθμός ανθρώπων περιπτώσεων καμπυλοβακτηριδίων συνδέονταν με κατανάλωση κρέατος πουλερικών, εύρημα που αποτέλεσε την αφορμή για την εφαρμογή παρεμβάσεων.

Ως ένα παθογόνο με πολλαπλούς ξενιστές, το *C. jejuni* συνδέεται με πλήθος παραγόντων κινδύνου. Η εμπειρία στη Νέα Ζηλανδία έδειξε ότι η χρήση μόνο παραδοσιακών προσεγγίσεων για την κατανόηση των σχέσεων μεταξύ επιδημιολογικών μεταβλητών δεν αρκούσε να οδηγήσει σε λήψη αποφάσεων χωρίς τη χρήση μοριακών εργαλείων. Τα δεδομένα αλληλούχησης μπορούν να προσαρμοστούν σε εξελικτικά και επιδημιολογικά μοντέλα για την απόκτηση νέων γνώσεων για την εξέλιξη των παθογόνων, τη φύση των σχέσεων μεταξύ των παθογονικών στελεχών και των ξενιστών, καθώς και τις πτυχές της μετάδοσης στους διαφορετικούς ξενιστές. Με την έλευση των νεότερων τεχνολογιών αλληλούχησης, τέτοιες τεχνικές μπορούν να επεκταθούν και να βελτιωθούν στο πλαίσιο των αναδυόμενων αρχών της γονιδιωματικής επιδημιολογίας.

Ο σκοπός αυτού του άρθρου είναι να συνοψίσει την εμπειρία που αποκτήθηκε στη Νέα Ζηλανδία με την επιτήρηση σε μοριακή βάση της καμπυλοβακτηριδίων και να τονίσει τη σημασία για την περαιτέρω προώθηση της χρήσης των μοριακών εργαλείων στον τομέα της επιτήρησης. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, η εμπειρία αυτή θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν παράδειγμα και για άλλες χώρες, με απαραίτητη προϋπόθεση τη στενή συνεργασία μεταξύ εργαστηρίων και επιδημιολόγων.

**Κολοκυθοπούλου Φωτεινή-Αμαλία, Βιολόγος, MSc στη Δημόσια Υγεία, Περιφερειακό Εργαστήριο Δημόσιας Υγείας Θεσσαλίας**

## Επιστημονικό Workshop

Οργανώθηκε με πολύ μεγάλη επιτυχία στο ΚΕΔΥ στη Βάρη στις 5-6 Σεπτεμβρίου το **Capacity building workshop «Train the trainer»**. Το workshop αυτό που παρακολούθησαν 38 εργαστηριακοί επιστήμονες από ισάριθμα κράτη της Ευρώπης πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο του προγράμματος **«European Survey on Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE)»**, που χρηματοδοτείται από το ECDC. Στόχος του EuSCAPE είναι η επιδημιολογική επιτήρηση των λοιμώξεων από ανθεκτικά στις καρβαπενέμες εντεροβακτηριακά. Από Ελληνικής πλευράς στο EuCARE μετέχει ο καθηγητής μικροβιολογίας της ΕΣΔΥ και επιστημονικός υπεύθυνος του ΚΕΔΥ Α. Βατόπουλος,

Στόχος του Workshop ήταν η πρακτική και θεωρητική εκπαίδευση στις φαινοτυπικές και γενετικές μεθόδους ανίχνευσης των μηχανισμών αντοχής στις καρβαπενέμες στα κυριότερα μικροβιακά είδη. Στους διδάσκοντες περιλαμβάνονται επιστήμονες από πολλές ευρωπαϊκές χώρες, ενώ από ελληνικής πλευράς όλο το επιστημονικό και Τεχνικό Προσωπικό του Εργαστηρίου Αντοχής και Νοσοκομειακών λοιμώξεων του ΚΕΔΥ/ΕΣΔΥ, καθώς και οι Δρ Β. Μιριακού (Ελλ. Ινστ. Παστέρ) και Ειρ. Γαλάνη (Εργαστήριο Ελέγχου Λοιμώξεων, 4<sup>η</sup> Παθολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών).



## Οκτώβριος 2013

## Οκτώβριος 28- Νοέμβριος 1, 2013

## Τίτλος: Ταχεία Αξιολόγηση σε Σύνθετες Επείγουσες Καταστάσεις Δημόσιας Υγείας

Χώρα: Γαλλία

Πόλη: Veyrier du Lac

Ιστοσελίδα: [http://www.ecdc.europa.eu/en/press/events/Lists/Events/ECDC\\_Dispatch.aspx?List=43564830-6b8a-442f-84e7-2495fa49489b&ID=249&RootFolder=%2Fen%2Fpress%2Fevents%2FLists%2FEvents](http://www.ecdc.europa.eu/en/press/events/Lists/Events/ECDC_Dispatch.aspx?List=43564830-6b8a-442f-84e7-2495fa49489b&ID=249&RootFolder=%2Fen%2Fpress%2Fevents%2FLists%2FEvents)

*Γραφείο διεθνών σχέσεων, ΚΕΕΛΠΝΟ*

## Καθηγήτρια Τζένη Κρεμαστινού, Πρόεδρος ΔΣ ΚΕΕΛΠΝΟ



### **Η μοριακή επιδημιολογία είναι ένας σχετικά καινούριος κλάδος στη Δημόσια Υγεία. Σε τι βαθμό θεωρείτε πως έχει αναπτυχθεί στη Χώρα μας;**

Η μοριακή επιδημιολογία είναι ανεπτυγμένη στην χώρα μας τόσο σε επιχειρησιακό όσο και ερευνητικό επίπεδο. Πολλά εργαστήρια αναφοράς χρησιμοποιούν μοριακές μεθόδους στην τυποποίηση μικροοργανισμών και στην παρακολούθηση επιδημικών επεισοδίων όπως η μηνιγγοκοκκική μηνιγγίτιδα, οι σαλμονελλώσεις τα πολυανθεκτικά μικρόβια των νοσοκομείων, οι ιοί της ηπατίτιδας και του HIV, η ελονοσία κ.ά. Επίσης υπάρχει ευρεία συνεργασία με Ευρωπαϊκά και διεθνή δίκτυα επιτήρησης όπου τα μοριακά δεδομένα των Ελληνικών Εργαστηρίων γίνονται αποδεκτά.

### **Κάποιοι θεωρούν ότι η ανάλυση του γενετικού υλικού και άλλων μοριακών παραμέτρων σε μικρόβια και φορείς μικροβίων είναι εντελώς ερευνητικό κομμάτι, που δε σχετίζεται με την πρόληψη και αντιμετώπιση των νοσημάτων. Συμμερίζεστε αυτήν την άποψη;**

Όπως ανέφερα και προηγουμένως οι μοριακές τεχνικές αποτελούν διεθνώς αλλά και στην χώρα μας σημαντικό εργαλείο στην καθημερινή λειτουργία των υπηρεσιών Δημόσιας Υγείας απαντώντας με έγκυρο και έγκαιρο τρόπο σε ερωτήματα όπως η ιχνηλάτηση της προέλευσης ενός μικροοργανισμού, η γεωγραφική κατανομή των υποτύπων, η δυναμική επέκτασης της επιδημίας και τέλος ο τρόπος διασποράς της λοίμωξης μεταξύ ή εντός πληθυσμών. Έτσι πχ. η κατανόηση του τρόπου διασποράς ενός νοσοκομειακού παθογόνου σε ένα νοσοκομείο (πληροφορία απαραίτητη στην διαμόρφωση πολιτικής περιορισμού των νοσοκομειακών λοιμώξεων) γίνεται πλέον μόνο με μοριακές τεχνικές. Επίσης οι μοριακές τεχνικές χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην διάγνωση των ιογενών νοσημάτων και συνεπώς στην παρακολούθηση της επιδημιολογίας τους.

### **Ποιος είναι ο ρόλος του ΚΕΕΛΠΝΟ, στη μοριακή και περιβαλλοντική επιδημιολογία;**

Όλα τα γραφεία του ΚΕΕΛΠΝΟ χρησιμοποιούν δεδομένα μοριακής επιδημιολογίας στην καθημερινή λειτουργία τους, ενώ μοριακές τεχνικές χρησιμοποιούνται στο ΚΕΔΥ αλλά και στα ΠΕΔΥ και στα κέντρα αναφοράς. Πρόσφατο παράδειγμα αποτελεί η ανίχνευση των υποτύπων της ελονοσίας που στηρίχθηκε και σε μοριακές τεχνικές.

### **Κυρία Κρεμαστινού, είστε 3 χρόνια Πρόεδρος του Διοικητικού Συμβουλίου του ΚΕΕΛΠΝΟ, μια δύσκολη περίοδος που συνέπεσε με την οξύτερη οικονομική κρίση στη Χώρα μας, μετά το 2ο Παγκόσμιο Πόλεμο. Μιλήστε μας για αυτήν σας τη σημαντική εμπειρία.**

Ανέλαβα την προεδρία του οργανισμού στην δυσκολότερη περίοδο των τελευταίων ετών γιατί αφενός μεν συνέπεσε με την οικονομική κρίση και την μείωση των κονδυλίων για την Δημόσια Υγεία και το ΚΕΕΛΠΝΟ, αφετέρου δε, με την ανάδειξη λοιμωδών ασθενειών που απαιτήσαν έκτακτα μέτρα Δημ. Υγείας, όπως η πανδημία γρίπης, η ελονοσία, ο ιός του Δυτ. Νείλου, η μικροβιακή αντοχή και οι λοιμώξεις από ανθεκτικά παθογόνα στα νοσοκομεία μας, η πολυανθεκτική φυματίωση, η επιδημία HIV στους χρήστες ενδοφλεβίων ουσιών και τελευταία η λύσσα στα άγρια ζώα. Επιπλέον σημαντικά θέματα Δημόσιας Υγείας δημιούργησε το συνεχιζόμενο μεταναστευτικό ρεύμα. Τα ανωτέρω οδήγησαν σε μια ανάγκη συνεχούς ανεύρεσης κονδυλίων, ιεράρχησης των δαπανών και σε αύξηση του φόρτου εργασίας για το ήδη επιβαρυνμένο και περιορισμένο εξειδικευμένο επιστημονικό προσωπικό του οργανισμού. Επιπλέον η συμμετοχή μας σε διεθνείς φορείς όπως το ECDC, το CDC, η EU και ο WHO απαιτούν συνεχή επικοινωνία και ανταπόκριση σε ύψιστο επιστημονικό επίπεδο. Παρόλα αυτά, σε αυτή τη δύσκολη περίοδο έγιναν επιτυχημένες παρεμβάσεις στην λειτουργία του οργανισμού, όπως η έκδοση του μηνιαίου ενημερωτικού δελτίου, η αναμόρφωση του δικτυακού τόπου, η χρήση κοινωνικών μέσων επικοινωνίας, η επέκταση και βελτίωση της επιδημιολογικής επιτήρησης και παρέμβασης. Στο σημείο αυτό, ιδιαίτερη μνεία πρέπει να κάνω για το πρόγραμμα αντιμετώπισης της ελονοσίας που από ότι φαίνεται ήταν απολύτως επιτυχημένο και πρωτοποριακό. Επίσης είναι καθοριστική η συμμετοχή μας στα Ευρωπαϊκά προγράμματα EPIET, EURHEM με εκπαιδευόμενους στην Ελλάδα και τον ορισμό του ΚΕΕΛΠΝΟ ως εκπαιδευτικού κέντρου του ECDC.

Ακόμη, θεωρώ ουσιαστική την υποστήριξη που δίνεται στα εργαστήρια Δημόσιας Υγείας του ΚΕΕΛΠΝΟ (ΚΕΔΥ, ΠΕΔΥ) και στα Εθνικά Κέντρα Αναφοράς τα οποία αποτελούν ακρογωνιαίο λίθο για την λειτουργία της Δημόσιας Υγείας. Επιπλέον είναι σημαντικές οι δράσεις όπως ο χάρτης υγείας, το Εθνικό αρχείο νεοπλασιών και σπάνιων νοσημάτων, η διεκδίκηση και ανάθεση προγραμμάτων ΕΣΠΑ, η συμμετοχή σε κοινές δράσεις (joint actions) της Ευρωπαϊκής Ένωσης και τα προγράμματα παρέμβασης στην κοινότητα.

### **Πόσο σημαντικός ή καθοριστικός μπορεί να είναι ο ρόλος του ΚΕΕΛΠΝΟ στην αποτελεσματική προάσπιση της Δημόσιας Υγείας σήμερα; Στο μέλλον;**

Δεν μπορεί να υπάρξει Δημόσια Υγεία στην χώρα μας αλλά και σε οιαδήποτε χώρα του κόσμου χωρίς αντίστοιχο του ΚΕΕΛΠΝΟ οργανισμό. Η ανάγκη για την ύπαρξη τέτοιων φορέων οδήγησε και στην δημιουργία σε ευρωπαϊκό επίπεδο ενός Κεντρικού Ευρωπαϊκού Οργανισμού Δημόσιας Υγείας (ECDC). Οι οργανισμοί σαν το ΚΕΕΛΠΝΟ υπηρετούν μεταξύ άλλων ανάγκες επιτήρησης και διάγνωσης λοιμωδών νοσημάτων, αναγνώρισης και παρέμβασης σε επιδημίες, εκπαίδευσης και έκδοσης επιστημονικών οδηγιών, καθώς και τεχνογνωσίας και παροχή τεχνικής βοήθειας σε σχετικά θέματα υγείας. Εδώ να τονίσω ότι, το ΚΕΕΛΠΝΟ επεκτείνεται τα τελευταία χρόνια παρά τις οικονομικές συγκυρίες και σε θέματα που αφορούν τα χρόνια νοσήματα όπως η προσπάθεια για την δημιουργία του Εθνικού αρχείου Νεοπλασιών και καταγραφής σπάνιων νοσημάτων. Φιλοδοξώ στο άμεσο μέλλον να χτίσουμε πάνω σε αυτήν την δημιουργία και άλλες δράσεις όπως η μελέτη και πρόληψη των ανισοτήτων υγείας εστιάζοντας στη δυνατότητα επιλογών και του τρόπου ζωής (διατροφή, κάπνισμα, φυσική άσκηση κλπ) που τεκμηριωμένα επηρεάζουν τα χρόνια αλλά και τα λοιμώδη νοσήματα.

### **Είστε μια πολυπράγμων γυναίκα με τεράστια εμπειρία στη Δημόσια Υγεία. Προς τα πού βλέπετε να κατευθύνονται οι εξελίξεις και οι προτεραιότητες σε αυτόν τον Τομέα, τόσο στην Ελλάδα όσο και διεθνώς;**

Η Δημόσια Υγεία δεν είναι μονοσήμαντη έννοια αλλά εξαρτάται από ποικιλία κοινωνικο-οικονομικών παραγόντων. Η Δημόσια Υγεία έχει αμφίδρομη σχέση με την ανάπτυξη και την παραγωγικότητα ενός κράτους. Είναι γνωστό ότι παγκοσμίως το 80% των θανάτων οφείλεται στα χρόνια νοσήματα. Η μοντέρνα Δημόσια Υγεία διεθνώς βασίζεται πάνω στους άξονες πρόληψης και προαγωγής της υγείας, πρόληψης και διαχείρισης των χρόνιων νόσων ελέγχου του περιβάλλοντος καθώς και στην αντιμετώπιση των κοινωνικών καθοριστών της υγείας. Δεν πρέπει όμως να παραβλέπουμε τα λοιμώδη νοσήματα τα οποία ταχύτατα μπορεί να οδηγήσουν σε

απρόβλεπτες έκτακτες καταστάσεις και απαιτούν συνεχή ετοιμότητα για την διάγνωση και αντιμετώπισή τους ιδιαίτερα σε περιόδους κρίσης. Ο έλεγχος και η διαχείριση κυρίως των χρόνιων αλλά και των λοιμωδών νοσημάτων αυξάνει το υγιές προσδόκιμο επιβίωσης του πληθυσμού και θα πρέπει να αποτελεί βασική μας επιδίωξη. Προς αυτές τις κατευθύνσεις θα κινηθεί τα επόμενα χρόνια η Δημόσια Υγεία παγκοσμίως.

**Τι θα είχατε να συμβουλευέστε τους επιστήμονες δημόσιας υγείας, ειδικά σε αυτήν την περίοδο της οικονομικής στενότητας που βιώνουμε;**

Για να δικαιώσουν την θέση τους πρέπει να κατανοήσουν την ταυτότητα του λειτουργού Δημόσιας Υγείας, να φροντίζουν να είναι καλά ενημερωμένοι, να είναι γνώστες της τρέχουσας επιστημονικής πραγματικότητας, να έχουν τη δυνατότητα να ιεραρχούν τα προβλήματα και να εφευρίσκουν λύσεις βασιζόμενοι στα επιστημονικά δεδομένα ιδιαίτερα σε μια περίοδο οικονομικής στενότητας. Επίσης είναι πολύ σημαντικό να έχουν την ικανότητα επικοινωνίας με το κοινό με σταθερές επιστημονικές απόψεις για τα θέματα που εισηγούνται ή προτείνουν.

**Τέλος, τι ήταν εκείνο που σας τράβηξε στη Δημόσια Υγεία, όταν ξεκινήσατε την καριέρα σας; Θα προτείνατε σε νέα παιδιά να ασχοληθούν με συναφή του Τομέα σας επαγγέλματα και γιατί;**

Η αγάπη για την Δημόσια Υγεία ήταν το κύριο κίνητρο. Η κλινική ιατρική δίνει μεν την ικανοποίηση της διάγνωσης και της θεραπείας αλλά η Δημόσια Υγεία στην οποία πίστεψα βλέπει τα πράγματα από υψηλότερο επίπεδο σε σχέση με την κλινική ιατρική. Η ενασχόληση μου με την Δημόσια Υγεία από την αρχή της καριέρας μου στο Εργαστήριο Υγιεινής και Επιδημιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και στην συνέχεια στην ΕΣΔΥ μου έδωσε την δυνατότητα να εκπαιδευθώ και να συμμετέχω στον σχεδιασμό και στην υλοποίηση γενικότερων στρατηγικών και πολιτικών για την υγεία του πληθυσμού. Θεωρώ τον εαυτό μου ευτυχή που δάσκαλοι μου στον χώρο της Δημόσιας Υγείας ήταν ο καθηγητής Δημήτρης Τριχόπουλος και ο αείμνηστος καθηγητής Γεώργιος Παπαευσταγγέλου. Ακολουθώντας το παράδειγμα τους και κατά την διάρκεια της καριέρας μου στοχεύω πάντα στην απελευθέρωση των δυνάμεων των συνεργατών μου και στην περαιτέρω ανάπτυξη τους. Στους νέους επιστήμονες θα πρότεινα να ασχοληθούν με το λειτούργημα της Δημόσιας Υγείας λόγω των οριζόντων που ανοίγονται (εθνικών και διεθνών) αλλά και της προαναφερθείσας προσέγγισης της υγείας από ένα υψηλότερο σκαλί που προσβλέπει κυρίως στην πρόληψη και στην προαγωγή της υγείας. Χρειάζεται όμως να βρίσκουν ικανοποίηση από τον ρόλο τους, βασιζόμενοι στη συνεχή επιστημονική κατάρτιση και επαγρύπνηση σε μια περίοδο όπου οι απολαβές (οικονομικές και συναισθηματικές) στον χώρο μας είναι περιορισμένες.

Ευχαριστούμε θερμότατα.

**Επιμέλεια: Φίλιππος Κουκουριτάκης**

## Μύθοι και αλήθειες για τη Μοριακή Βιολογία

Μύθοι	Αλήθειες
Η Μοριακή Βιολογία χρησιμεύει μόνο στην έρευνα	Η μοριακή βιολογία έχει δεσπόζουσα θέση στην καθημερινή πρακτική των ΕΔΥ
Η μοριακή επιδημιολογία είναι πάντα απαραίτητη στην κατανόηση μιας επιδημίας	Η μοριακή επιδημιολογία λειτουργεί όταν η κλασική επιδημιολογία δεν επαρκεί για τη διευκρίνιση μιας επιδημίας
Η μοριακή επιδημιολογία (η τυποποίηση) αντικαθιστά την κλασική επιδημιολογία	Η μοριακή επιδημιολογία δρα επικουρικά στην επιδημιολογία. Η επιδημιολογική σχέση ΔΕΝ αντικαθίσταται από την γενετική ομοιότητα
Η μοριακή επιδημιολογία είναι ακριβή	Οι τεχνικές είναι ακριβές, όμως η σωστή επιλεκτική χρήση της ελαττώνει το συνολικό κόστος της αντιμετώπισης μιας επιδημίας
Είναι δυνατή η ανίχνευση – καλλιέργεια όλων των μικροοργανισμών σε ένα περιβαλλοντικό δείγμα	Ένα μικρό μόνο κλάσμα των μικροβιακών ειδών που ζουν στο περιβάλλον είναι καλλιεργήσιμο. Τα υπόλοιπα μπορούμε να τα υποπτευθούμε από την απομόνωση DNA
Η μοριακή τυποποίηση αποδεικνύει πάντα την κλωνικότητα	Οι τεχνικές μοριακής τυποποίησης έχουν συγκεκριμένη ευαισθησία και ειδικότητα, που πρέπει να γνωρίζει ο ερευνητής
Τα μικροβιακά αίτια νοσοκομειακών λοιμώξεων προέρχονται πάντα από το περιβάλλον	Πολλές νοσοκομειακές λοιμώξεις οφείλονται σε μικροοργανισμούς της χλωρίδας του ασθενούς (ενδογενείς λοιμώξεις)
Κατά τη διάρκεια μιας επιδημίας τα μικρόβια μένουν αναλλοίωτα	Τα μικρόβια υφίστανται μεταλλαγές και ανασυνδυασμούς ανά πάσα στιγμή, γεγονός που πρέπει να συνυπολογίζει ο ερευνητής
Όσο πιο αποστειρωμένο είναι το περιβάλλον, τόσο καλύτερα για τους ανθρώπους	Το περιβάλλον πρέπει να είναι καθαρό, όχι αποστειρωμένο. Αποστείρωση απαιτείται στο περιβάλλον συγκεκριμένων ασθενών (μεταμόσχευση μυελού κλπ.)

**Αλκιβιάδης Βατόπουλος, Καθηγητής Μικροβιολογίας, ΕΣΔΥ**

## Επιδημίες στον κόσμο Σεπτέμβριος 2013

### Νέος κοροναϊός (MERS-CoV) [1]

Από τον Σεπτέμβριο 2012 έως τα τέλη Σεπτεμβρίου 2013 έχουν αναφερθεί στον ΠΟΥ 130 εργαστηριακά επιβεβαιωμένα κρούσματα με λοίμωξη από MERS-CoV, συμπεριλαμβανομένων 58 θανάτων. Τα κρούσματα εντοπίζονται σε χώρες στη Μέση Ανατολή όπως η Ιορδανία, το Κατάρ, η Σαουδική Αραβία και τα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα. Επιπλέον, κρούσματα αναφέρθηκαν στη Γαλλία, στη Γερμανία, στην Ιταλία, στο Ηνωμένο Βασίλειο και στην Τυνησία. Όλα τα κρούσματα που αναφέρθηκαν στην Ευρώπη και στη Βόρειο Αφρική είτε μεταφέρθηκαν εκεί για θεραπεία ή νόσησαν μετά την επιστροφή τους από τη Μέση Ανατολή. Ωστόσο, στη Γαλλία, στην Ιταλία, στο Ηνωμένο Βασίλειο και στην Τυνησία υπήρξε περιορισμένη τοπική μετάδοση μεταξύ των στενών επαφών που δεν είχαν ταξιδέψει στη Μέση Ανατολή, αλλά είχαν έρθει σε επαφή με ασθενή που επέστρεψε πρόσφατα από τη Μέση Ανατολή. Σύμφωνα με τον ΠΟΥ δεν υπάρχουν συστάσεις για έλεγχο στις πύλες εισόδου ή περιορισμοί σε σχέση με το εμπόριο ή τα ταξίδια.

### Ερυθρά [2]

Από την αρχή του 2013 έως την 1η Σεπτεμβρίου αναφέρθηκαν στην Πολωνία 36751 κρούσματα ερυθράς. Τα κρούσματα εντοπίζονται σ' όλη τη χώρα.

Από την αρχή του 2013 έως τις 18 Σεπτεμβρίου αναφέρθηκαν στην Ιαπωνία 14033 κρούσματα ερυθράς. Ο μεγαλύτερος αριθμός κρουσμάτων εντοπίζεται στις περιοχές Osaka και Tokyo Metropolis. Στην Ιαπωνία η επίπτωση της νόσου είναι μεγαλύτερη την άνοιξη και το καλοκαίρι.

### Πολιομυελίτιδα [2]

Από τον Απρίλιο 2013 έως τις 26 Σεπτεμβρίου αναφέρθηκαν 174 κρούσματα πολιομυελίτιδας στη Σομαλία. Πρόκειται για τα πρώτα κρούσματα από άγριο ιό πολιομυελίτιδας που αναφέρονται από το 2007.

Επίσης, 14 κρούσματα ανακοινώθηκαν στην Κένυα. Είναι τα πρώτα κρούσματα από άγριο ιό πολιομυελίτιδας, τα οποία αναφέρονται από τον Ιούλιο 2011. Ένα από τα κρούσματα που αναφέρθηκαν τον Ιούλιο εντοπίστηκε στην περιοχή Somali Region της Αιθιοπίας. Πρόκειται για το πρώτο κρούσμα από άγριο ιό πολιομυελίτιδας που αναφέρθηκε στην Αιθιοπία από το 2008.

### Χρήσιμοι σύνδεσμοι

1. World Health Organization (WHO). Στο: <http://www.who.int/csr/don/> [προσπέλαση 1 Οκτωβρίου 2013]
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Στο: <http://wwwnc.cdc.gov/travel/notices/outbreak-notices/> [προσπέλαση 1 Οκτωβρίου 2013]

**Γραφείο Ταξιδιωτικής Ιατρικής  
Τμήμα Παρεμβάσεων σε Χώρους Παροχής Υπηρεσιών Υγείας**

## Εκπαιδευτικό σεμινάριο Eurosurveillance στο πλαίσιο του Συνεδρίου ESCAIDE με παρουσίαση-διάλεξη από τον Καθηγητή Εμ. Γαλανάκη

Στα πλαίσια του Συνεδρίου ESCAIDE, διοργανώνεται το [Eurosurveillance scientific seminar](#). Θα πραγματοποιηθεί από 12:00 έως 13:30 στις 6 Νοεμβρίου 2013 στη Στοκχόλμη, σε διάλειμμα του ESCAIDE. Ο καθηγητής Εμμανουήλ Γαλανάκης από το Πανεπιστήμιο Κρήτης θα δώσει ζωντανή παρουσίαση με τίτλο: «Should we fire healthcare workers who decline vaccination?» (Να «πυροβολήσουμε» τους επαγγελματίες υγείας που αρνούνται τον εμβολιασμό;).

Θα ακολουθήσει ζωντανή συζήτηση με ειδικό Προεδρείο. Η είσοδος και παρακολούθηση είναι ελεύθερη. Λεπτομέρειες για εγγραφή σε αυτό το Συνέδριο θα βρείτε στο [ESCAIDE website](#).

**Αίνιγμα του μήνα  
Σεπτέμβριος 2013**

«Πότε ολοκληρώθηκε και από ποια ομάδα η ολοκληρωμένη ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος;»

Οι απαντήσεις θα αποστέλλονται στην ακόλουθη ηλεκτρονική διεύθυνση:  
**info-quiz@keelpno.gr**

Η απάντηση στο αίνιγμα Αυγούστου: Α) 0 - 4

Για περισσότερες πληροφορίες δείτε ενδεικτικά:  
Εθνικό Σχέδιο δράσης για τα ατυχήματα 2008-2012 <http://www.moh.gov.gr/articles/health/domes-kai-drasesis-gia-thn-ygeia/ethnika-sxedia-drashs/95-ethnika-sxedia-drashs>

**Απάντησαν σωστά: 2 άτομα**

**Επιστημονικός Υπεύθυνος Έκδοσης:**

Χ. Χατζηχριστοδούλου

**Επιστημονική Επιτροπή:**

Ν. Βακάλης  
Ε. Βογιατζάκης  
Π. Γαργαλιάνος- Κακολύρης  
Μ. Δαιμονάκου- Βατοπούλου  
Ι. Λεκάκης  
Χ. Λιονής  
Α. Πανταζοπούλου  
Β. Παπαευαγγέλου  
Γ. Σαρόγλου  
Α. Τσακρής

**Υπεύθυνοι έκδοσης:**

Τ. Κουρέα- Κρεμαστινού  
Πρόεδρος ΚΕΕΛΠΝΟ  
Θ. Παπαδημητρίου  
Διευθυντής ΚΕΕΛΠΝΟ

**Συντονισμός ύλης:**

Φ. Κουκουριτάκης  
Μ. Φωτεινέα

**Συντακτική ομάδα:**

Ρ. Βώρου  
Θ. Γεωργακοπούλου  
Ε. Καραταμπάνη  
Φ. Κουκουριτάκης  
Κ. Μέλλου  
Τ. Πατουχέας  
Β. Ρουμελιώτη  
Β. Σμέτη  
Μ. Φωτεινέα  
Ε. Χατζηπασχάλη

**Γραφιστική επιμέλεια:**

Ε. Λαζανά

**Επιμέλεια κειμένων:**

Ρ. Βώρου  
Γ. Μελιγκώνης  
Δ. Παπαβέντσης