

**Φυματίωση:
η επιδημιολογική διερεύνηση κρουσμάτων
με μοριακές τεχνικές**

Λουκία Ζέρβα

*Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας
Αττικό Νοσοκομείο, Πανεπιστήμιο Αθηνών*

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Από τα τέλη του 1980: εφαρμογή μοριακών τεχνικών στην μελέτη της επιδημιολογίας της φυματίωσης

Προηγουμένως : φαινοτυπικά χαρακτηριστικά

(ρυθμός ανάπτυξης, μορφολογία αποικιών, βιοχημικές ιδιότητες, τυποποίηση με φάγους, αντοχή σε αντιμικροβιακά)

⇒ **εξαιρετικά χαμηλή διακριτική ικανότητα**

Η διαφοροποίηση κλινικών στελεχών μέσω του γενετικού τους αποτυπώματος (δηλαδή ο προσδιορισμός του γονότυπου) υποστηρίζει ή αποκλείει την επιδημιολογική «σχέση» μεταξύ ασθενών

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

μοριακή επιδημιολογική διερεύνηση κρουσμάτων TB
→ ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΣΤΕΛΕΧΩΝ

1η Αρχή

- Τα στελέχη εκείνων των ασθενών, οι οποίοι μολύνθηκαν από την ΙΔΙΑ ΠΗΓΗ, θα παρουσιάζουν τον ΙΔΙΟ ΓΟΝΟΤΥΠΟ (επομένως θα αποτελούν ΜΙΑ ΟΜΑΔΑ, cluster)
- Ενώ τα στελέχη των ασθενών, οι οποίοι ΔΕΝ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ επιδημιολογικά, θα παρουσιάζουν ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ (και επομένως ΜΟΝΑΔΙΚΟ) ΓΟΝΟΤΥΠΟ το καθένα

Μοριακή Επιδημιολογία Φυματίωσης

1. Μεθοδολογία
2. Κλινική Χρησιμότητα
3. Αποτελέσματα από την Ελλάδα

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΒ

- Πληθώρα μεθόδων γονοτυποποίησης στην φυματίωση
- Οι τρεις κύριες μέθοδοι :

1) **IS6110- RFLP** (Restriction Fragment Length Polymorphism)

- η πρότυπη μέθοδος με την μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα (αλλά μειονεκτήματα)

2) **MIRU** (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units)

- η νέα μέθοδος, εξαιρετική διακριτική ικανότητα

3) **Spoligotyping** (Spacer Oligonucleotide Typing)

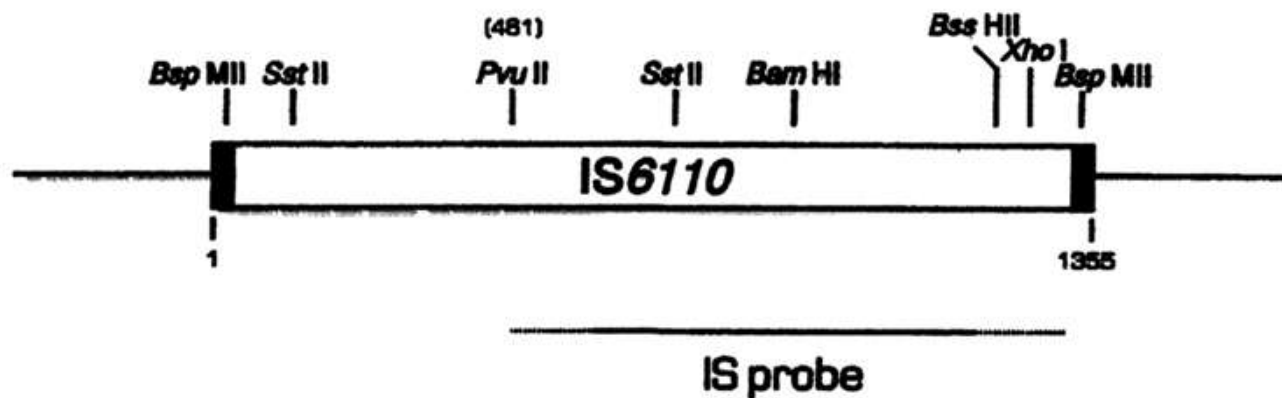
- μικρότερη διακριτική ικανότητα (αλλά η πιο εύκολη)

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΒ

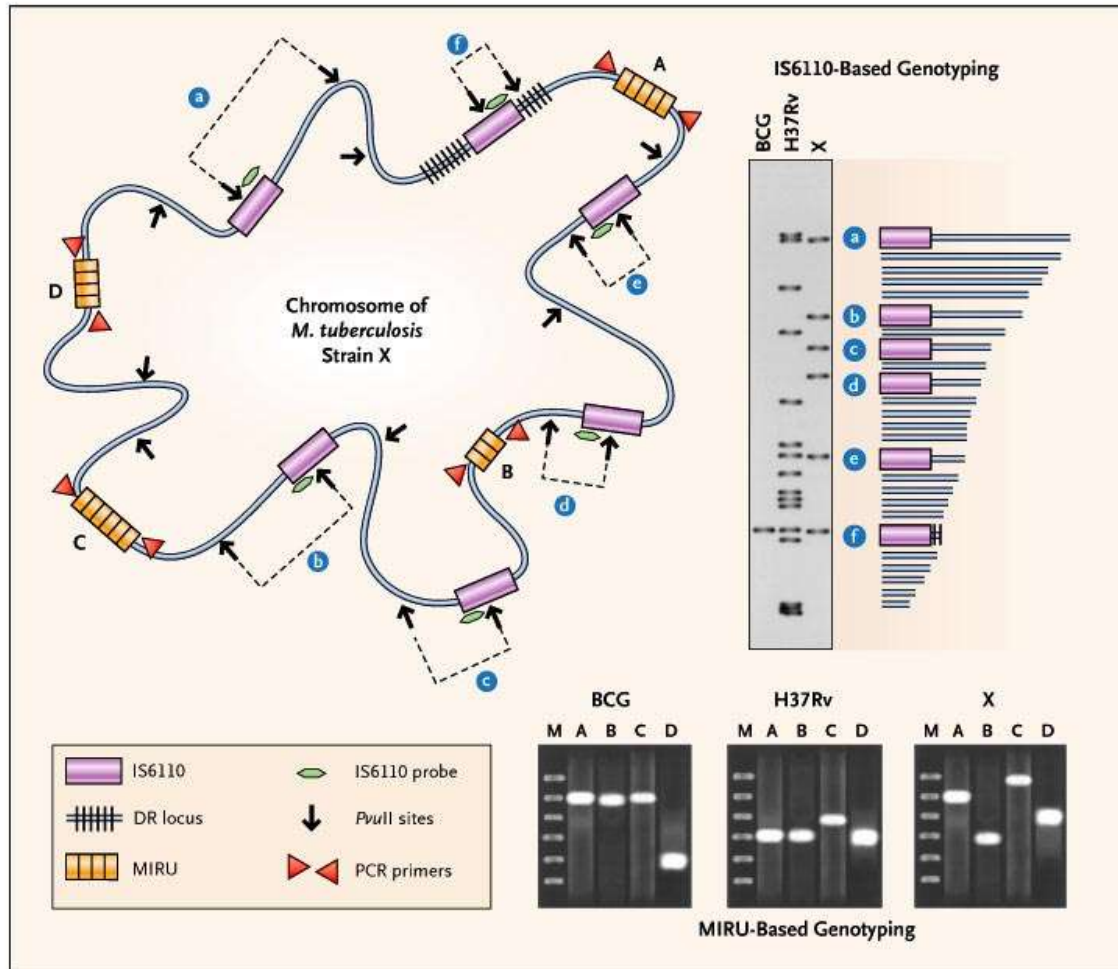
(1) Μέθοδος IS6110 - RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

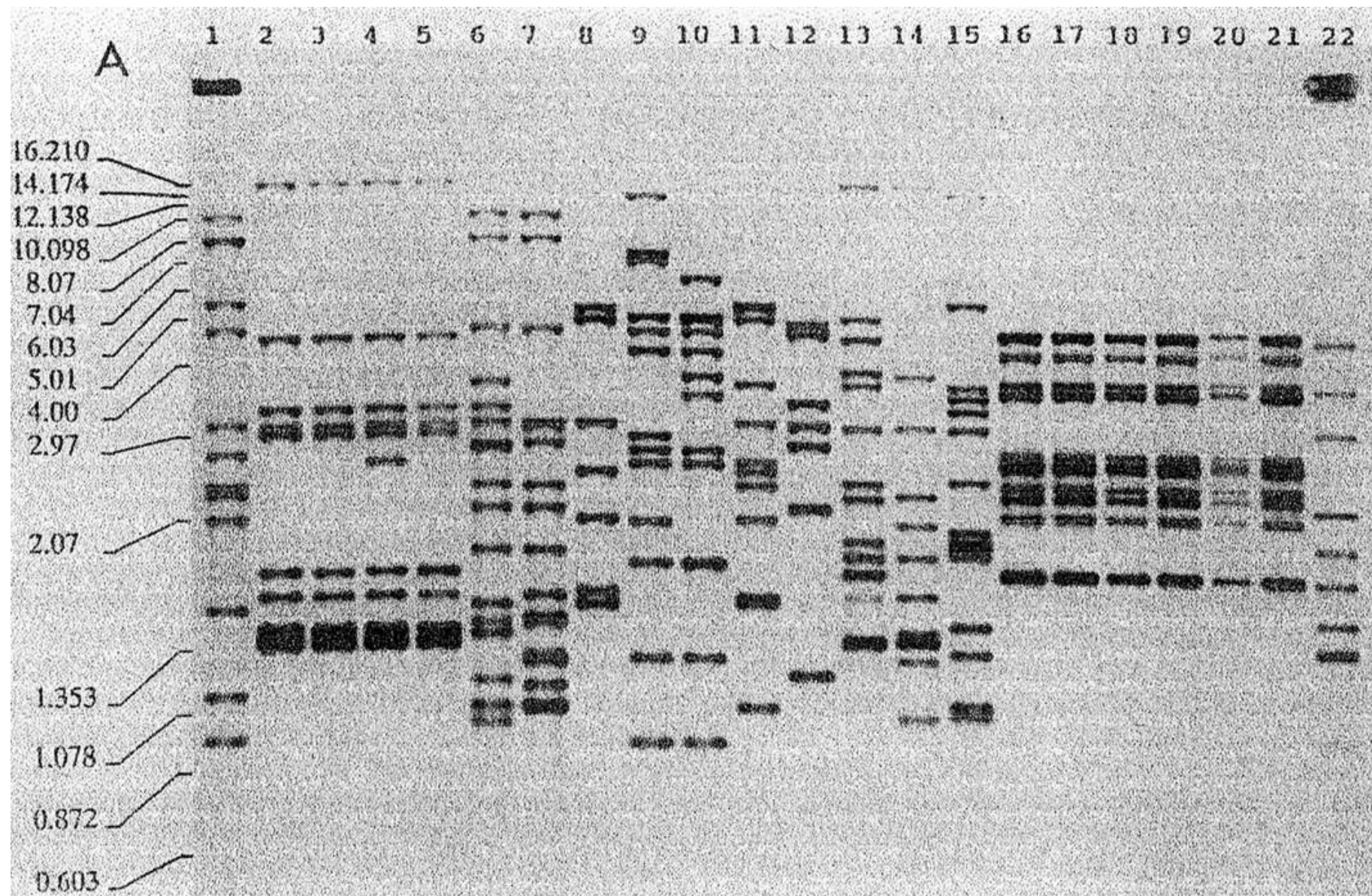
- **Η πρότυπη** (gold standard) αλλά και προτυποποιημένη μέθοδος
(>70.000 αποτυπώματα)
- βασίζεται στον πολυμορφισμό του IS6110 (1.355-bp)
(Insertion Sequence, αλληλουχία εισδοχής)
- πολυμορφισμός: **διαφορετικός αριθμός αντιγράφων** (συνήθως 1-26) και **διαφορετική θέση τους** στο γονιδίωμα του M.tb.
- Ημιπερίοδος ζωής αλλαγών: 3-4 χρόνια

- καλλιέργειες ⇒ εκχύλιση DNA ⇒ επώαση με περιοριστική ενδονουκλεάση *PvuII* (στόχος εντός της αλληλουχίας του IS6110) ⇒ ηλεκτροφόρηση σε γέλη αγαρόζης ⇒ μεταφορά σε μεμβράνη ⇒ υβριδισμός με σημασμένο ανιχνευτή του IS6110



Physical map of the 1.35-kb *M. tuberculosis* insertion element IS6110 (9). The cleavage sites of several restriction enzymes are depicted. *Pvu*II cleaves the element at base pair 461. Therefore, any chromosomal mycobacterial DNA fragment obtained by the recommended standard typing method is larger than 0.9 kb. The closed bars represent the 28-bp inverted repeats bordering IS6110 DNA. The lines to the left and right denote chromosomal DNA.





ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΒ

(1) Μέθοδος IS6110- RFLP

Μειονεκτήματα

- Χρονοβόρα αναμονή (καλλιέργειες και \uparrow DNA)
- περίπλοκη και χρονοβόρα τεχνική
- εάν στέλεχος ≤ 6 αντίγραφα \rightarrow η γονοτυποποίηση δεν είναι αξιόπιστη
- σύγκριση αποτελεσμάτων (και μεταξύ εργαστηρίων) δεν είναι εύκολη

MIRU clusters for the Beijing genotype

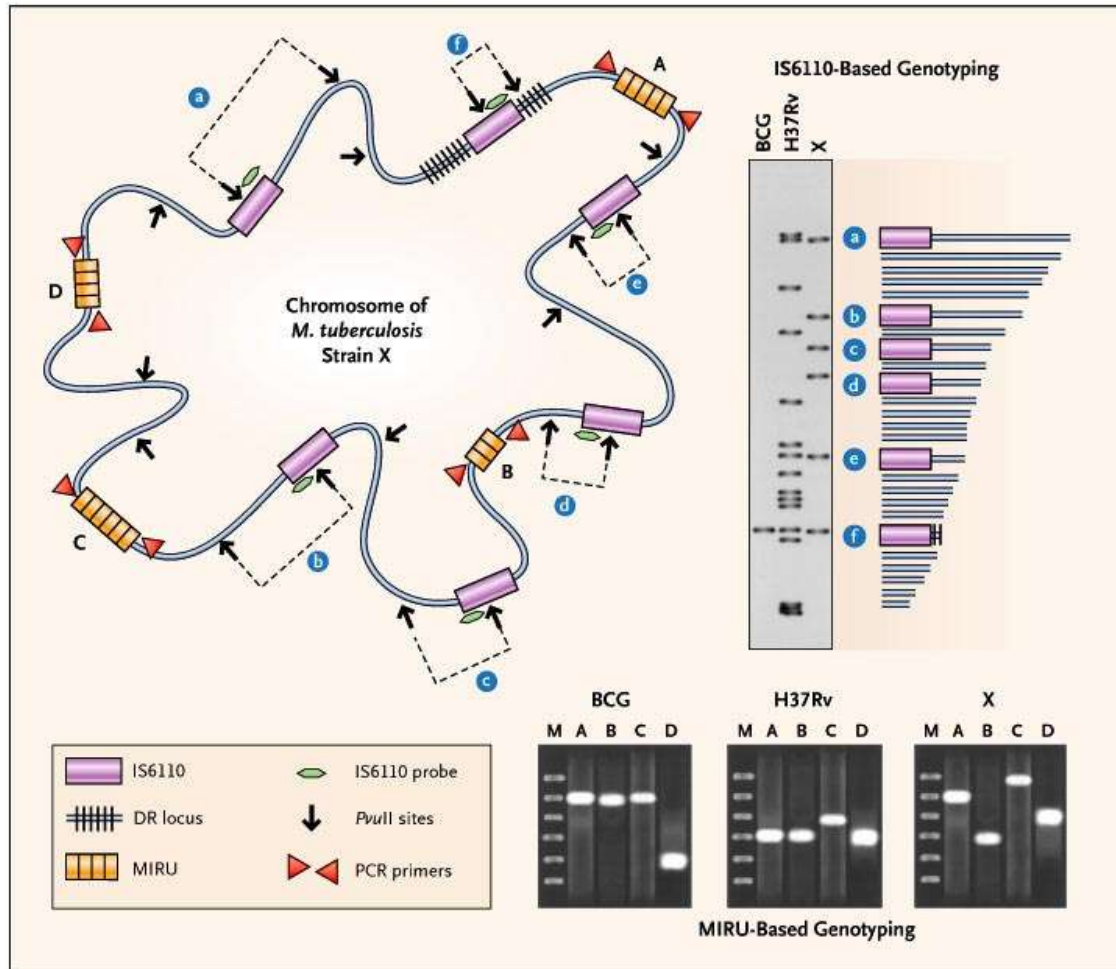
MIRU pattern ^a	No. of isolates in cluster		
	MDR	non-MDR	Total
2233-2517-3533	22	55	77
2223-2517-3543	7	16	23
2233-2517-3532	5	7	12
2233-2517-1531	1	7	8
2223-2517-3533	2	7	9
2233-2517-3433	5	2	7
2233-2617-1531	5	1	6
2233-2517-3534	1	5	6
2233-2518-3533	0	6	6
2233-2517-3553	1	4	5
2233-2517-3543	1	4	5
2234-2517-3532	3	2	5
2233-2517-3523	0	4	4
2133-2517-3533	3	1	4
2233-2515-3533	1	3	4
2233-2516-3533	0	4	4
2233-2516-3534	0	3	3
2033-2517-3534	0	3	3
2233-2517-3633	1	2	3
2232-2517-3533	0	3	3
2033-2517-3533	0	2	2
2233-2517-3542	1	1	2
2233-2518-3553	1	1	2
2223-2517-3532	0	2	2
2233-2516-3733	1	1	2
2233-2217-4433	0	2	2
2223-2517-3544	0	2	2

^a Order of MIRU loci: 2, 4, 10, 16, 20, 23, 24, 26, 27, 31, 39, 40.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ TB

(2) Μέθοδος MIRU (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units)

- 41 επαναλαμβανόμενες μονάδες διάσπαρτα στο γένωμα του M.tb → ονομάζονται MIRU (Supply, 2000)
- Οι 12 μονάδες είναι πολυμορφικές
- Ο πολυμορφισμός αναφέρεται στον αριθμό των επαναλήψεων ανά μονάδα → επομένως ως προς το μήκος
- Κατηγοριοποίηση του αριθμού των επαναλήψεων σε κάθε ένα από τα 12 MIRU (εφαρμόζοντας 12 μεθόδους PCR και ηλεκτροφόρηση σε αγαρόζη)
- 20 εκατομύρια πιθανούς συνδυασμούς



ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΒ

(2) Μέθοδος MIRU (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units)

ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ

- επειδή βασίζεται σε PCR: δεν χρειάζεται μεγάλη ποσότητα DNA, δεν χρειάζεται καθαρό DNA
 - ⇒ ταχεία λήψη αποτελεσμάτων
- «απλώς» 12 αντιδράσεις PCR ανά στέλεχος
- ψηφιακή έκφραση του αποτελέσματος
- βάση δεδομένων στο διαδίκτυο
- αυτοματισμός !!!!

ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ

- μικρότερη διακριτική ικανότητα από IS6110- RFLP
- βελτίωση μετά την προσθήκη 3 άλλων MIRU

ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΒ ??

ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ ΦΥΜΑΤΙΩΣΗΣ

1. ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΣΤΕΛΕΧΩΝ

1η Αρχή

- Τα στελέχη εκείνων των ασθενών, οι οποίοι μολύνθηκαν από την ΙΔΙΑ ΠΗΓΗ, θα παρουσιάζουν τον ΙΔΙΟ ΓΟΝΟΤΥΠΟ (επομένως θα αποτελούν ΟΜΑΔΑ, cluster)
- Ενώ τα στελέχη των ασθενών, οι οποίοι ΔΕΝ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ επιδημιολογικά, θα παρουσιάζουν ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ (ΜΟΝΑΔΙΚΟ) ΓΟΝΟΤΥΠΟ το καθένα

2η Αρχή

- Ασθενείς με στελέχη που ανήκουν σε ομάδες → **πρόσφατη μετάδοση** της φυματίωσης
- Ασθενείς με στελέχη με μοναδικό γονότυπο → **ενεργοποίηση λοίμωξης που συνέβη στο παρελθόν**

Υπό Δύο Προϋποθέσεις

(1) Ερμηνεία αποτελεσμάτων μαζί με επιδημιολογικά δεδομένα

- μεγάλες πόλεις: ίδιος γονότυπος \Rightarrow πρόσφατη μετάδοση
- αγροτικές περιοχές: ίδιος γονότυπος \Rightarrow όχι απαραίτητα πρόσφατη μετάδοση

(2) Αξιόπιστα αποτελέσματα: \uparrow αριθμός ασθενών, \uparrow χρον διάστημα

- εάν \downarrow αριθμός ασθενών: θα “χάσουμε” τις ομαδοποιημένες περιπτώσεις
- εάν \downarrow χρον διάστημα: η νόσος δεν θα έχει προλάβει να εκδηλωθεί ακόμα

• ΕΡΩΤΗΜΑ: Ποιό είναι το ποσοστό των περιπτώσεων TB που οφείλεται σε πρόσφατη μετάδοση σε μία κοινωνία ?

- σύμφωνα με το CDC: στις αναπτυγμένες χώρες $< 10\%$
- μέχρι το 1994

**Transmission of Tuberculosis in New York City:
An Analysis by DNA Fingerprinting and Conventional Epidemiologic Methods**

Alland D et al. N Engl J Med 1994; 330 : 1710-6

Νοσοκομείο

- 765 κλίνες, μεγαλύτερο νοσοκομείο του Μπρονξ
- καμία επιδημική έξαρση νοσοκομειακής μετάδοσης φυματίωσης

Ασθενείς και Στελέχη

- από 1/12/89 μέχρι 31/12/92 → **37 μήνες**
- έλεγχος αντοχής, **γονοτυποποίηση (με IS6110-RFLP)**, ιστορικά ασθενών

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

n = 104 ασθενείς

- **Group 1** : n = 65 ασθενείς (63%) → **65 μοναδικοί γονότυποι**
→ ενεργοποίηση λανθάνουσας TB ??
- **Group 2** : n = 39 ασθενείς (38%) → **12 ομάδες** (από 2-11 στελέχη)
→ πρόσφατη μετάδοση ??

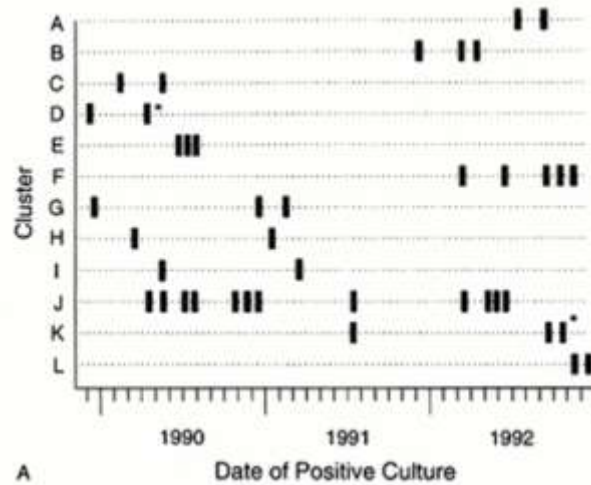
Ανεξάρτητοι Παράγοντες Κινδύνου (για ασθένεια από ομαδοποιημένο στέλεχος)

- HIV (+) (67% έναντι 31%)
- μικρότερη ηλικία, χαμηλότερο εισόδημα
- στέλεχος με R σε τουλάχιστον 1 Φ (49% έναντι 16%)
- στέλεχος MDR (24% έναντι 5%)

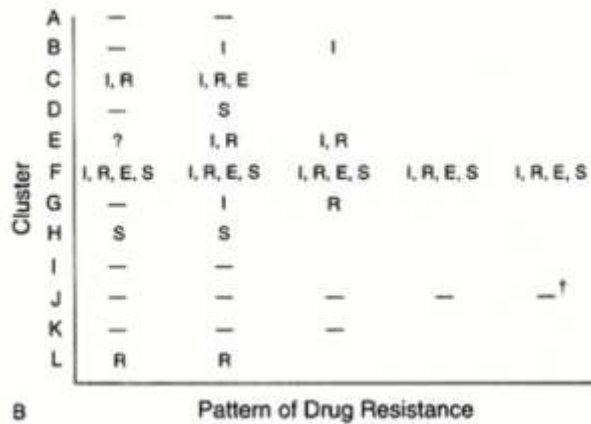
**Transmission of Tuberculosis in New York City:
An Analysis by DNA Fingerprinting and Conventional Epidemiologic Methods**
Alland D et al. N Engl J Med 1994; 330 : 1710-6

**ΕΡΩΤΗΣΗ: Αντιστοιχούν τα αποτελέσματα της
γονοτυποποίησης με τον πραγματικό τρόπο μετάδοσης ?**

- Οι περιπτώσεις με στελέχη που ανήκαν στην ίδια ομάδα παρουσιάσθηκαν σε περιορισμένο σε έκταση χρονικό διάστημα (νέες εστίες έξαρσης)
- Μέσα σε κάθε ομάδα διαπιστώθηκαν οι ίδιοι (ή παρόμοιοι) τύποι αντοχής
- Η ανθεκτικότητα ήταν τότε ασυνήθιστη στην Ν. Υόρκη \Rightarrow ομαδοποίηση ανθεκτικών στελεχών με τον ίδιο γονότυπο \Rightarrow πρόσφατη μετάδοση
- Πολλοί ασθενείς με στέλεχος με μοναδικό γονότυπο \Rightarrow δημογραφικά χαρακτηριστικά συμβατά με ενεργοποίηση παλιάς λοίμωξης (ασθενείς ηλικίας > 50 χρόνων)



A



B

ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΒ

2. ΣΥΜΒΟΛΗ ΣΕ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΕΛΕΓΧΟΥ

- **Μελέτη Επιδημικών Εξάρσεων (ΕΕ)**
 - προϋπόθεση: γονοτυποποίηση + κλασική επιδημιολογική έρευνα
 - απάντηση: πρόκειται για ΕΕ ή για τυχαία ↑ αριθμού περιπτώσεων ΤΒ ?
 - καθορισμός μεγέθους ΕΕ
- **Αναγνώριση πληθυσμών ↑ κινδύνου**
 - HIV (+), μαύρη φυλή, IV ναρκωτικά, άστεγοι, ιατρονοσηλευτικό προσωπικό
- **Αναγνώριση τρόπων μετάδοσης**
 - φυλακή, νοσοκομεία, μπαρ, άσυλα για άστεγους, ιδρυματοποίηση
- **Εστιασμός Μέτρων Ελέγχου για ≠ μετάδοσης**
- **Εκτίμηση Επιτυχίας Προγραμμάτων Ελέγχου**

ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΒ

3. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Επιβεβαίωση Εργαστηριακής Επιμόλυνσης Κλιν. Δείγματος

- συμβαίνει συχνότερα από ό,τι πιστεύαμε
- εύρος ανίχνευσης: 0.1- 65% !!!
- κριτήριο: ίδιος γονότυπος σε 2 στελέχη εντός 7 ημερών
 - συνήθως: χρώση (-), μόνο 1 δείγμα (+) καλλιέργεια
 - ασυμφωνία εργαστηριακών και κλινικών ευρημάτων

(→ καλή επικοινωνία εργαστηρίου - κλινικής)

ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΒ

ΕΡΩΤΗΜΑ

Πού εφαρμόζονται οι τεχνικές αυτές ?

- αρχικά σε ερευνητικά εργαστήρια
- σε εργαστήρια που υποστηρίζονται από κρατικά Προγράμματα Ελέγχου ΤΒ
- Οργανωμένο Δίκτυο στις ΗΠΑ, Ολλανδία, Σκανδιναβία
 - ταχεία γονοτυποποίηση **ΟΛΩΝ** των στελεχών ως ρουτίνα

Η επιδημιολογία της πνευμονικής φυματίωσης σε ασθενείς δύο νοσοκομείων της Αθήνας

Δ. Χούχουλα¹, Ν. Σκαρμούτσου^{1,2}, Ε. Φαβίου³, Ε. Φακίρη², Σ. Νικολάου³, Χ. Βλέτσα², Β. Ταμβάκης³, Ε. Παπαφράγκας², Σ. Καναβάκης³, Γ. Βουρλή¹, ΠΘ Τάσιος¹, Ν. Λεγάκης¹, Α. Ζέρβα¹

¹ Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Αθηνών, ² Εργαστήριο Μικροβιολογίας, “Σισμανόγλειο” Νοσοκομείο, ³ Κέντρο Αναφοράς Μυκοβακτηριδίων, Νοσοκομείο “Σωτηρία”, Αθήνα

Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 23:52-62, 2006

- **διαδοχικοί ασθενείς με διάγνωση TB (και θετική καλλιέργεια) στα δύο μεγαλύτερα πνευμονολογικά νοσοκομεία της Αθήνας**
 - 1) Νοσ. Σωτηρία: 01/09/2002 - 01/07/2003 (10 μήνες)
 - 2) Νοσ. Σισμανόγλειο: 01/10/2002 - 01/08/2004 (23 μήνες)
- **το πρώτο στέλεχος που απομονώθηκε από κάθε ασθενή**

«Η επιδημιολογία της πνευμονικής φυματίωσης σε ασθενείς δύο νοσοκομείων της Αθήνας»

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ (1)

Απομόνωση και Ταυτοποίηση

- ενδεδειγμένη επεξεργασία κλινικού δείγματος
- εμβολιασμός σε στερεά (Loewenstein-Jensen) και υγρά (MGIT 960, Becton Dickinson) θρεπτικά υλικά
- ταυτοποίηση με βιοχημικές δοκιμασίες και υβριδισμό (Accuprobe *M. tuberculosis*, GeneProbe)

Έλεγχος Ευαισθησίας

- Isoniazid (INH), Rifampin (RIF), Ethambutol (EMB), Streptomycin (SM) και Pyrazinamide (PZA)
- μέθοδος των αναλογιών σε Loewenstein-Jensen άγαρ (INH σε 0.2 και 1.0, RIF σε 40, EMB σε 2 και 4, SM σε 5 και 10 µg/ml)
- BACTEC MGIT 960, Becton Dickinson (INH σε 0.1 και 0.4, RIF σε 1, EMB σε 5.0 και 7.5, SM σε 1.0 και 4.0, PZA σε 100 µg/ml)

«Η επιδημιολογία της πνευμονικής φυματίωσης σε ασθενείς δύο νοσοκομείων της Αθήνας»

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ (2)

Δημογραφικά, Ερωτηματολόγιο, Κλινικά και Εργαστηριακά Δεδομένα

- Συνέντευξη ασθενών, ιατρικοί φάκελλοι, αρχεία εργαστηρίων, επαφή με κλινικό γιατρό
- Ηλικία, φύλο, τόπος διαμονής, **τόπος γέννησης, εθνικότητα (Ελληνες ή αλλοδαποί)**, χρονολογία εισόδου στην Ελλάδα και χώρα προέλευσης για αλλοδαπούς, επάγγελμα, κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο,
- Εντόπιση νόσου (πνευμονική, εξωπνευμονική, γενικευμένη), αποτέλεσμα οξεάντοχης χρώσης κλινικού δείγματος, αποτέλεσμα εξέτασης Mantoux
- Παρουσία ανοσοκαταστολής, άλλης χρόνιας νόσου, κατάχρηση ουσιών (αλκοόλ, ενδοφλέβιες ναρκωτικές ουσίες), ιδρυματοποίηση (φυλακή, ψυχιατρική κλινική, κατάλυμα για λαθρομετανάστες), ιστορικό προηγούμενη έκθεσης στην TB (κοινωνική ή επαγγελματική), τεκμηριωμένη διάγνωση TB στο παρελθόν, ημερομηνία διάγνωσης και λήψη ενδεικνυόμενης θεραπείας
- Διατήρηση ανωνυμίας ασθενών

«Η επιδημιολογία της πνευμονικής φυματίωσης σε ασθενείς δύο νοσοκομείων της Αθήνας»

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ (1)

Συνολικά **250 ασθενείς με TB** :

Νοσ. Σωτηρία $\Rightarrow n = 147$ (59%) ασθενείς

Νοσ. Σισμανόγλειο $\Rightarrow n = 103$ (41%) ασθενείς

$\Rightarrow n = 172$ (68.8%) ΕΛΛΗΝΕΣ

$\Rightarrow n = 78$ (**31.2%**) ΑΛΛΟΔΑΠΟΙ

«Η επιδημιολογία της πνευμονικής φυματίωσης σε ασθενείς δύο νοσοκομείων της Αθήνας»
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ (3)

Γονοτυποποίηση στελεχών *M. tuberculosis*

- όλα τα στελέχη από το Νοσ. Σωτηρία
- **Μέθοδος MIRU** (Mazars E, Proc Natl Acad Sci 2001, 98: 1901-1906)
- και λίγα επιλεγμένα στελέχη από το Νοσ. Σισμανόγλειο

Στελέχη «Σωτηρίας»

- 147 στελέχη: 98 Έλληνες, 49 αλλοδαποί [9 στελέχη MDR]

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

- **2.500 PCR αντιδράσεις για προσδιορισμό των MIRU**
- 143 μοναδικοί γονότυποι
- 2 γονοτυπικές ομάδες (με δύο ασθενείς η κάθε μία)
⇒ σε σύνολο 147 ασθενών: μόνο 4 με πρόσφατη μετάδοση (2,7%)

«Η επιδημιολογία της πνευμονικής φυματίωσης σε ασθενείς δύο νοσοκομείων της Αθήνας»

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ (2)

1η Ομάδα (MIRU: 2231 2614 3321)

- Έλληνας άνδρας 44 ετών και Έλληνας άνδρας 75 ετών
- τόπος κατοικίας Πόλη Α (280.000 κάτοικοι)
- 1 στέλεχος ανθεκτικό σε 5 Φ, 1 στέλεχος ευαίσθητο μόνο σε EMB
- χρονικό διάστημα παραλαβής δειγμάτων: ίδια μέρα
- συγγένεια 1ου βαθμού

2η Ομάδα (MIRU: 2241 2514 3323)

- Έλληνας άνδρας 40 ετών και Έλληνας άνδρας 45 ετών
- τόπος κατοικίας Πόλη Β (12.000 κάτοικοι),
- ίδιο επάγγελμα: οικοδόμοι
- ευαίσθητα στελέχη
- χρονικό διάστημα παραλαβής δειγμάτων: 5 μήνες

«Η επιδημιολογία της πνευμονικής φυματίωσης σε ασθενείς δύο νοσοκομείων της Αθήνας» ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ (3)

- Σισμανόγλειο: 5 ασθενείς από την ίδια ψυχ. κλινική (Κλινική Α)
→ Μετάδοση ??
- Ανάλυση όλων των στελεχών ιδρυματοποιημένων ασθενών δύο νοσοκομείων
- 19 ασθενείς [Φυλακές (n=5), ψυχ. κλινικές (n=12), κατάλυμα λαθρομεταναστών (n=2)]

3η Ομάδα (MIRU: 2321 2512 3323)

- περιελάμβανε 7 ασθενείς (όλοι νοσηλευόμενοι ψυχ. κλινικών)
 - Κλινική Α (5 ασθενείς), Κλινική Β (1 ασθενής), Κλινική Γ (1 ασθενής)
 - 6 στελέχη R σε [INH + SM], 1 στέλεχος R σε [INH + SM + EMB]
 - χρονικό διάστημα παραλαβής δειγμάτων: 13 μήνες
 - Κλινικές Α, Β και Γ βρίσκονται στην Αθήνα
-
- **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ:** εξελισσόμενη επιδημική έξαρση σε τρεις τουλάχιστον ψυχιατρικές κλινικές της Αθήνας από INH-R στέλεχος M.tb.

Συμπέρασμα

Η εφαρμογή των μοριακών τεχνικών πάντα ΜΑΖΙ με τις συμβατικές επιδημιολογικές μελέτες:

- ⇒ καλύτερο χαρακτηρισμό της μετάδοσης
- ⇒ βελτίωση του ελέγχου της φυματίωσης