

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΤΗΡΗΣΗ
ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ ΒΡΟΥΚΕΛΛΩΣΗΣ
ΣΕ ΓΕΩΡΓΟΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ
ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ ΜΕ ΤΗΝ ΒΟΗΘΕΙΑ
ΜΗΧΑΝΟΓΡΑΦΗΜΕΝΗΣ ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗΣ**

ΧΡΙΣΤΑΚΗ ΣΠ. ΧΑΤΖΗΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΥ
Παιδιάτρου-Επιδημιολόγου

Διδακτορική Διατριβή

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 1997

**Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από το Ιατρικό Τμήμα της Σχολής
Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Κρήτης δε σημαίνει και
αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα.**

**Στους γονείς μου Σπύρο και Ιωάννα και στη
σύζυγο μου Γεωργία, η οποία ακούραστα
με βοήθησε και μου συμπαραστάθηκε**

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1. Ευχαριστίες	6
2. Πρόλογος	7
3. Σύντομο Βιογραφικό σημείωμα	9
4. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
4.1 Ορισμοί	18
4.2 Ιστορική αναδρομή	19
4.3 Μικροβιολογικά δεδομένα	22
4.4 Ανοσολογικά δεδομένα	24
4.5 Ορολογικές μέθοδοι	25
4.6 Παθογένεια	27
4.7 Θεραπεία	30
4.8 Επιδημιολογικοί παράμετροι της βρουκέλλωσης	32
4.9 Προγράμματα πρόληψης - εξάλειψης της βρουκέλλωσης	35
4.10 Ανθρώπινα εμβόλια της βρουκέλλωσης	36
4.11 Μηχανογραφημένη Χαρτογράφηση	38
5. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
5.1 Εισαγωγή	41
5.2 Μεθοδολογία	45
5.3 Διάγραμματική απεικόνιση Α' και Β' Φάσης	47
5.4 Στόχοι του ερευνητικού προγράμματος	49
5.5 Μεθοδολογία Χαρτογράφησης	50
5.6 Α' Φάση Προγράμματος	64
5.7 Β' Φάση Προγράμματος	76
5.8 Στατιστική Ανάλυση	80
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
6.1 Επιδημιολογική μελέτη	
6.1.1 Συμμετοχή	83
6.1.2 Αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος	85
6.1.3 Ενδοδερμική αντίδραση	89
6.1.4 Ιστορικό βρουκέλλωσης	92
6.1.5 Ορολογικός έλεγχος	95
6.1.6 Επιπολασμός	96
6.1.7 Επίπτωση	97
6.1.8 Παράγοντες κινδύνου	99
6.1.9 Απεικόνιση περιπτώσεων βρουκέλλωσης στο χώρο(ΠΜΧ)	101
6.1.10 Χρονική απεικόνιση κρουσμάτων βρουκέλλωσης (ΠΜΧ)	106
6.1.11 Αναζήτηση πηγής μόλυνσης(ΠΜΧ)	111
6.2 Μελέτη ασφάλειας και αποτελεσματικότητας του εμβολίου	
6.2.1 Παρενέργειες εμβολίου	115
6.2.2 Προστατευτική ικανότητα εμβολίου	116

6.3 Μελέτη επιτήρησης-παρακολούθησης της βρουκέλλωσης

6.3.1 Επιτήρηση-παρακολούθηση ανθρώπινου πληθυσμού	117
6.3.2 Επιτήρηση-παρακολούθηση ζωικού πληθυσμού	118

7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

7.1 Συμμετοχή	121
7.2 Αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος	123
7.3 Αξιολόγηση Ενδοδερμικής αντίδρασης	124
7.4 Ορολογικός έλεγχος	125
7.5 Επιπολασμός	125
7.6 Επίπτωση	126
7.7 Παράγοντες κινδύνου	127
7.8 Χρονική απεικόνιση κρουσμάτων	128
7.9 Ασφάλεια και αποτελεσματικότητα εμβολίου	129
7.10 Αξιολόγηση επιτήρησης-παρακολούθησης βρουκέλλωσης	131
7.11 Αξιολόγηση της Μηχανογραφημένης Χαρτογράφησης	133

8. Αγγλική περίληψη 137**9. Βιβλιογραφικές αναφορές** 140

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

WHO	: World Health Organization
FAO/WHO	: Food and Agriculture Organization
ΠΑΗΟ/WHO	: Panamerican Health Organization
MZCC/WHO	: Mediterranean Zoonoses Control Centre
CDC	: Centre for Diseases Control
iIDR	: Ενδοδερμική αντίδραση
ΠΜΧ	: Πρόγραμμα Μηχανογραφημένης Χαρτογράφησης
ΜΧ	: Μηχανογραφημένη χαρτογράφηση
ΕΘ	: Εκατοστιαία θέση

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε κάτω από την επίβλεψη του καθηγητή της μικροβιολογίας Γιάννη Τσελέντη, με τον οποίο συνεργάζομαι από το 1988. Τον θεωρώ δάσκαλο μου και θέλω να τον ευχαριστήσω για τη βοήθεια, τις ευκαιρίες που μου έδωσε και για όσα με δίδαξε μέχρι σήμερα.

Καθοριστική ήταν η συμβολή του φίλου μου Γιώργου Παναγάκου, Επιχειρησιακού ερευνητή, προγραμματιστή, στη δημιουργία του προγράμματος μηχανογραφημένης χαρτογράφησης. Πραγματικά θεωρώ τύχη για μένα να συνεργαστώ μαζί του το 1988 και να δημιουργήσουμε ένα πρόγραμμα, που για τα δεδομένα της εποχής εκείνης, ήταν πρωτοποριακό.

Δε θα ήταν δυνατή η εκτέλεση αυτής της διατριβής χωρίς την υποστήριξη του προσωπικού του εργαστηρίου της μικροβιολογίας στο πανεπιστημιακό νοσοκομείο Ηρακλείου. Ιδιαίτερα θέλω να ευχαριστήσω τον Θωμά Μπάμπαλη, που ανέλαβε μέρος των εργαστηριακών εξετάσεων.

Πρέπει να ευχαριστήσω τους γιατρούς: Γκουτζιάνα Γεωργία, Βούλγαρη Παναγιώτη, Καστρίτη Ηλία, Λαδάκη Χαράλαμπο, Μανέτα Στυλιανό και Ελπιδοφόρο Σωτηριάδη, οι οποίοι με βοήθησαν στη συλλογή του υλικού και στις μηνιαίες επισκέψεις. Επίσης στη συλλογή του υλικού (δημογραφικά στοιχεία) και στην καταχώρηση των στοιχείων σε ηλεκτρονικό υπολογιστή βοήθησαν σημαντικά η Τζέλλα Καποπούλου και ο Δελαγραμμάτικας Γιάννης. Θέλω να τους ευχαριστήσω όλους από την καρδιά μου. Θα μου μείνουν αξέχαστες οι στιγμές που ζήσαμε στην ορεινή Φωκίδα.

Θέλω επίσης να ευχαριστήσω τη διευθύντρια του μικροβιολογικού εργαστηρίου του Νομαρχιακού Νοσοκομείου Άμφισσας Παπούλια Εφη και τους κτηνιάτρους της περιοχής, με τους οποίους είχα άριστη συνεργασία και με βοήθησαν σημαντικά.

Σημαντική ήταν η βοήθεια που μου παρείχε το προσωπικό του Μεσογειακού Κέντρου Ζωνόσων (MZCC/WHO), Αριάδνη Μελέκογλου, Χριστίνα Τσαγκάρη, Νίκος Χαρίσης και ιδιαίτερα ο διευθυντής του, Αρίσταρχος Σεϊμένης, στην αναζήτηση Ελληνικής και ξένης βιβλιογραφίας.

Τέλος θέλω να ευχαριστήσω τή φιλόλογο κυρία Μαρία Ακακίου, για την επιμέλεια και διόρθωση του τελικού κειμένου.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η βρουκέλλωση είναι μια από τις σημαντικότερες και πιο γνωστές ζωνόσους και απασχολεί, για πολλά χρόνια, κτηνιατρικές και υγειονομικές υπηρεσίες πολλών χωρών. Ακόμη και σήμερα αποτελεί σημαντικό κοινωνικο-οικονομικό πρόβλημα για περισσότερες από 120 χώρες συμπεριλαμβανομένων και των μεσογειακών χωρών (Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis, 1986, MZCC/WHO 1992). Η πραγματική έκταση του προβλήματος είναι δύσκολο να εκτιμηθεί, γιατί σε πολλές χώρες δεν είναι υποχρεωτική η δήλωση του νοσήματος στις υγειονομικές αρχές. Επίσης στις χώρες που η δήλωση του είναι υποχρεωτική το νόσημα υποδηλώνεται (under-reported). Διάφοροι ερευνητές υπολογίζουν τα πραγματικά κρούσματα 10-20 φορές περισσότερα από τα δηλωμένα (Wise, 1980, Foulon et al., 1981). Υπάρχει όμως η γενική εντύπωση ότι το πρόβλημα αυξάνεται παρά τον έλεγχο του νοσήματος σε πολλές προηγμένες χώρες.

Στους ανθρώπους το στέλεχος που θεωρείται περισσότερο παθογόνο είναι η *Brucella melitensis*. Προκαλεί νοσηρότητα που εκφράζεται με ημεραργίες και δαπάνες σε νοσήλια και θεραπευτική αγωγή, καθώς και μόνιμες βλάβες της υγείας μέχρι και με το θάνατο σε μερικές παραμελημένες περιπτώσεις. Στα ζώα προκαλεί κυρίως αποβολές με αποτέλεσμα μειωμένη παραγωγή κρέατος και γάλακτος. Έχει υπολογιστεί από την FAO/WHO ετήσια απώλεια στην παραγωγή γάλακτος που ανέρχεται σε 30 εκατομμύρια τόνους. Η συγκεκριμένη (προαναφερόμενη) απώλεια οφείλεται στις ζωνόσους. Η ποσότητα αυτή είναι τεράστια, αφού είναι ικανή να θρέψει 200 εκατομμύρια παιδιά με δύο ποτήρια γάλα την ημέρα.

Πρόκειται για νόσημα με σημαντικό κόστος, που ταλαιπωρεί για πολλά χρόνια την ανθρωπότητα, και για τον λόγο αυτό γίνονται συντονισμένες προσπάθειες τόσο σε τοπικό επίπεδο, όσο και διεθνώς, για την αντιμετώπιση του εφαρμόζοντας προγράμματα πρόληψης. Τα διάφορα προγράμματα πρόληψης έχουν σαν κύριο στόχο τους την εξάλειψη ή τον έλεγχο του νοσήματος στα ζώα και κατά συνέπεια την εξάλειψη του νοσήματος στους ανθρώπους.

Η εξάλειψη του νοσήματος στα ζώα δεν είναι εύκολος στόχος. Χρειάζεται πολύς χρόνος για να επιτύχουν τα προγράμματα ελέγχου, απαιτούν εξειδικευμένο προσωπικό, έχουν αυξημένο κόστος και χρειάζονται πολιτικές αποφάσεις από την κρατική εξουσία (Alausa 1980, Roux 1979).

Στην Ελλάδα την δεκαετία 1979-1988 δηλώθηκαν στις υπηρεσίες του υπουργείου υγείας 5958 κρούσματα σε ανθρώπους, από τα οποία, τα περισσότερα, κατεγράφησαν σε γεωργοκτηνοτροφικές περιοχές.

Οροεπιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι η βρουκέλλωση είναι ενδημική σε πολλές περιοχές της Ελλάδος (Μάνετας Σ., 1984; Manetas et al., 1989) και

αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα υγείας. Για τους λόγους αυτούς αποφασίσαμε να διερευνήσουμε επιδημιολογικά τη βρουκέλλωση σε ενδημική περιοχή και να εγκαταστήσουμε σύστημα παρακολούθησης (surveillance) με στόχο την πρόληψη του νοσήματος στους ανθρώπους. Για να εξυπηρετηθούν καλύτερα οι στόχοι του προγράμματος, αποφασίσθηκε να αναπτυχθεί και χρησιμοποιηθεί πρόγραμμα μηχανογραφημένης χαρτογράφησης και να δοκιμαστούν κλινικά η ενδοδερμική αντίδραση (IDR test) και το εμβόλιο της βρουκέλλωσης για ανθρώπους (human brucellosis vaccine). Το ερευνητικό πρόγραμμα υποστηρίχθηκε πλήρως μηχανογραφικά με τη δημιουργία διαφόρων εφαρμογών σε Η/Υ, με σκοπό να διευκολυνθεί κάθε στάδιο του προγράμματος.

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Γεννήθηκα στο χωριό Κάτω Ζώδια της Κύπρου στις 16-5-1961. Αποφοίτησα το Παγκύπριο Γυμνάσιο το 1979 με άριστα (19/20). Στο διάστημα 1979 έως 1981 υπηρέτησα την στρατιωτική μου θητεία. Το 1981 εγγράφηκα, μετά από εισαγωγικές εξετάσεις στην Ιατρική Σχολή Αθηνών. Το 1986 παρακολούθησα το τρίμηνο της Παθολογίας στο Νοσοκομείο St. Helen's στην Μ. Βρετανία.

Τον Ιούνιο του 1987 απέκτησα το πτυχίο της Ιατρικής με βαθμό λίαν καλώς (8/10). Από τον Αύγουστο του 1987 μέχρι τον Ιανουάριο του 1988 εργάστηκα στο τμήμα Πρώτων Βοηθειών (Casualty Department) της πολυκλινικής "Ευαγγελίστρια" στη Λευκωσία Κύπρου.

Στις 5-3-1988 διορίστηκα στο Νοσοκομείο Δυτικής Αττικής, για να ειδικευτώ στην Παιδιατρική. Παρέμεινα στο Νοσοκομείο αυτό μέχρι τις 15-11-1989. Στο διάστημα αυτό παρακολούθησα νυκτερινά μαθήματα προγραμματισμού ηλεκτρονικών υπολογιστών στο ΕΛ.ΚΕ.ΠΑ. (DBASE III plus, αρχές εμπειρών συστημάτων, SPSS).

Στη συνέχεια απασχολήθηκα αποκλειστικά σε Ερευνητικό Πρόγραμμα το οποίο έγινε σε συνεργασία του Ινστιτούτου Pasteur Γαλλίας και του Πανεπιστημίου Κρήτης. Το Ερευνητικό Πρόγραμμα αφορούσε την αποτελεσματικότητα του εμβολίου της βρουκέλλωσης για χρήση σε ανθρώπους και τη γενικότερη επιδημιολογική μελέτη της βρουκέλλωσης σε δύο νομούς της Ελλάδος. Κατά την περίοδο 5-3-1989 έως 28-12-1990 εργάστηκα παράλληλα στο Πανεπιστήμιο Κρήτης, για την εκπόνηση της διδακτορικής μου διατριβής, η οποία συνεχίστηκε μέχρι το 1994.

Στο διάστημα από 28-12-1990 έως 19-4-1993 συνέχισα την ειδίκευση στην παιδιατρική στην Α παιδιατρική κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών, στο νοσοκομείο "Αγία Σοφία". Μετά την απόκτηση της ειδικότητας του παιδίατρου άσκησα το επάγγελμα στην περιοχή της Δυτικής Αττικής (Αιγάλεω). Παράλληλα τα τελευταία χρόνια συμμετείχα σαν έμμισθος ερευνητής : 1) στην ομάδα εργασίας για τη μελέτη της περιγεννητικής θνησιμότητας στην Ελλάδα της Ελληνικής Εταιρείας Περιγεννητικής Ιατρικής και 2) Στο Ευρωπαϊκό ερευνητικό πρόγραμμα επιδημιολογικής διερεύνησης των ρικετσιώσεων στην Κύπρο (Πανεπιστήμιο Μασσαλίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης και Κτηνιατρικές υπηρεσίες Κύπρου).

Τον Φεβρουάριο του 1996 επιλέγηκα ανάμεσα σε άλλους Ευρωπαίους γιατρούς, για να συμμετέχω σε Ευρωπαϊκό Πρόγραμμα Εκπαίδευσης στην Παρεμβατική Επιδημιολογία, το οποίο έχει διάρκεια 2 χρόνων. Από τον Ιούνιο του 1996 μετά από εισαγωγική σειρά μαθημάτων διάρκειας 3 εβδομάδων στη Γαλλία, εγκαταστάθηκα στην Μεγάλη Βρετανία στο Κέντρο Ελέγχου Λοιμώξεων

και Υγιεινής Περιβάλλοντος της Σκωτίας. Στο κέντρο αυτό ασχολήθηκα με την επιδημιολογική διερεύνηση της φυματίωσης και της γαστρεντερίτιδας από ροταϊό χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα μηχανογραφημένης χαρτογράφησης. Επίσης συμμετείχα στην διερεύνηση επιδημιών όπως: γαστρεντερίτιδα από σαλμονέλα και κολοβακτηρίδιο O157.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ

1. Σπούλου Β., Ρουμελιώτου Α., Παπαχριστόπουλος Α., **Χατζηχριστοδούλου Χ.**, Παπαεαγγέλου Γ. Ενδοοικογενειακή Διασπορά του ιού Ηπατίτιδας Β. 27^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο 1989
2. Παπαεαγγέλου Β., Ρουμελιώτου Α., Σπούλου Β., **Χατζηχριστοδούλου Χ.**, Γερούκη Ζ., Σμυρλής Α. Επιδημία Ηπατίτιδας Α σε χωριό της Πελοποννήσου. 28^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο 1990
3. Θ.Α. Μπαμπάλης, Σ.Ε.Μανέτας, **Χ.Σ. Χατζηχριστοδούλου**, Π.Ι. Βούλγαρης, Η. Καστρίτης, Γεωργία Π. Γκουτζιάνα, Ι.Γ. Τσελέντης. Οροεπιδημιολογική μελέτη της COXIELLA BURNETTI στο νομό Φωκίδας. 18^ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 1992
4. Εφη Παπούλια, Γεωργία Γκουτζιάνα, Ε. Σωτηριάδης, **Χατζηχριστοδούλου Χ.**, Θεοδώρα Λιακοπούλου, Ασημίνα Ζαχαριάδη. Επίπεδα λιπιδίων ορού σε μαθητές ηλικίας 6-11 ετών της περιοχής Αμφισσας. Συσχέτιση με διατροφικές συνήθειες & άλλους παράγοντες. 18^ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 1992
5. Θ. Μπάμπαλης, Σ. Μανέτας, **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Π. Βούλγαρης, Χ. Λαδάκης, Α. Γκίκας, Ι. Τσελέντης. Οροεπιδημιολογική μελέτη για τη RICKETTSIA CONORII (RC) σε γεωργοκτηνοτροφικές περιοχές της Ελλάδος. 18^ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 1992
6. **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Γ. Παναγάκος, Ι. Τσελέντης. Ανάπτυξη ενός προτύπου προγράμματος χαρτογράφησης σε ηλεκτρονικό υπολογιστή (H/Y) χρήσιμοι για επιδημιολογικές έρευνες (INFOMAP). Εφαρμογή στην Βρουκέλλωση. 18^ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 1992

7. **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Θ. Μπάμπαλης, Γεωργία Γκουτζιάνα, Π. Βούλγαρης, Ε. Σωτηριάδης, Ι. Τσελέντης. Επιδημιολογική μελέτη ανθρωποζωνοσόων σε παιδιά γεωργοκτηνοτροφικής περιοχής της Ελλάδος.
30° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, 1992
8. Πολυτίμη Παναγιωτοπούλου-Γαρταγάνη, **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Ε. Χαροκόπος, Αναστασία Κάππου, Ι. Μεσσαριτάκης. Προβλήματα σε παιδιά με ήπιο ή μέτριο βρογχικό άσθμα κατά την θεραπεία τους με βρογχοδιασταλτικά φάρμακα στο σπίτι.
30° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, 1992
9. Σταυρούλα Κωσταρίδου, Αγλαΐα Γιαννούλια-Καραντανά, Μαγδαληνή Δοιτσίνη, **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Ελένη Γεωργάκη, Χ. Κατερέλος, Ι. Μεσσαριτάκης. Αίτια & αντιμετώπιση της αρτηριακής υπέρτασης στα παιδιά.
30° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, 1992
10. Πολυτίμη Παναγιωτοπούλου-Γαρταγάνη, Ε. Χαροκόπος, **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Ι. Μεσσαριτάκης. Η χορήγηση νατριούχου χρωμογλυκίνης σε μορφή αεροζόλης με τη βοήθεια αεροθαλάμου σε παιδιά προσχολικής ηλικίας με βρογχικό άσμα.
31° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, 1993.
11. Ε. Μάνδουλα, Χ. **Χατζηχριστοδούλου**, Α. Αντσακλής, Μ. Μαμόπουλος, Δ. Αναγνωστάκης . Γεννήσεις και περιγεννητική θνησιμότητα στην δεκαετία 1981-1990 μέσα από τα στοιχεία της εθνικής στατιστικής υπηρεσίας.
Πανελλήνιο συνέδριο περιγεννητικής ιατρικής, 1994
12. Α. Χατζηπαναγής, Σ. Γιουρούκος , **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Χ. Καττάμης. Εγκεφαλική παράλυση στην Ελλάδα Επιδημιολογικά στοιχεία . Πρόδρομη ανακοίνωση.
32° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, 1994
13. Δ. Αναγνωστάκης, Π. Κλεάνθους, **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Α. Λουρίδα, Ε. Μάνδουλα. Οι δείκτες φλεγμονής στις νεογνικές λοιμώξεις εξαρτώνται από το μικροβιακό παράγοντα.
32° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, 1994
14. Α. Χατζηπαναγής , Σ. Γιουρούκος, **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Χ. Καττάμης. Κινητική εξέλιξη παιδιών με εγκεφαλική παράλυση.

33° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, 1995

15. Σ. Μέλος, **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Νένα Μάνδουλα, Μ. Μαμόπουλος, Δ Αναγνωστάκης. Εφαρμογή των Ηλεκτρονικών Υπολογιστών (Η/Υ) στην Περιγεννητική Φροντίδα: Τα πρώτα βήματα στην Ελλάδα.
33° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, 1995

16. **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Ζωή Γερούκη, Βίκυ Κουκού, Ασπασία Θερμού, Δώρα Λιάρου, Μαρία Ζαχείλα, Ελένη Λιάκου, Μ. Βάβλας. Επιπολασμός Ηπατίτιδας Α και Β στην περιοχή Αγίας Βαρβάρας Δυτικής Αττικής. Οροεπιδημιολογική μελέτη.
33° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, 1995

17. **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Ι. Τσελέντης. Συστήματα παρακολούθησης - επιτήρησης των λοιμωδών νοσημάτων.
Ιατρική Εταιρεία Κύπρου. Οκτώβριος 1995.

18. Σ. Γιουρούκος, Α. Χατζηπαναγής, **Χ. Χατζηχριστοδούλου**. Επιληψία σε παιδιά με εγκεφαλική παράλυση. Πανελλήνιο Συνέδριο Νευρολογίας, Αθήνα, 1996.

- 19 Δ. Αλεξίου, **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Ζ. Γερούκη, Β. Κουκού, Α. Θερμού, Δ. Λιάρου, Μ. Ζαχείλα, Ε. Λιάκου, Μ. Βάβλας. Επιδημιολογική διερεύνηση της φυματίωσης χρησιμοποιώντας την ενδοδερμική αντίδραση και πρόγραμμα ενεργητικής αναζήτησης περιπτώσεων .
34° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, 1996

20. Π. Οικονομίδης, Φ. Λουκαΐδης, **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Γ. Λοϊζίδης, Β. Κουρουκλή, Α. Ψαρουλάκη, Γ. Μούστρας, Α. Γιαννάκης, Ι. Τσελέντης. Πρόγραμμα Επιδημιολογικής διερεύνησης Των Ρικετσιώσεων στην Κύπρο.
32° Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Μάιος, 1996.

21. Α. Ψαρουλάκη, Φ. Λουκαΐδης, Ι. Μανιατάς, **Χ. Χατζηχριστοδούλου**, Σ. Ζερβός, Α. Χατζηπαναγής, Ι. Τσελέντης. Ανίχνευση και ταυτοποίηση Ρικετσιών από κρότωνα στην Κύπρο χρησιμοποιώντας την τεχνική PCR-RFLP. 32° Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Μάιος 1996.

1. Babalis T., Tissot-Dupou H., Tselentis Y., **Hadjichristodoulou Ch.**, Rault D. *Rickettsia conorii* in Greece: comparison of an immunofluorescent assay and western blotting for seroepidemiology. *An J of Tropical Medicine and Hygiene* 48 (6):784-792, 1993
2. **Ch. Hadjichristodoulou**, P.Voulgaris, L.Toulieries, Th.Babalis, S.Manetas, G.Goutziana, I.Kastritis, I.Tselentis. Tolerance of intradermal reaction test and Human Brucellosis Vaccine. *European Journal of Clinical Microbiology* 13(2): 129-134, 1994.
3. S.Youroukos, A. Hatzipanagis, **C. Hatzichristodoulou**, C. Kattamis. Motor Milestones in Children with Cerebellar Palsy. *Developmental Medicine & Child Neurology (Abstract)*, S72, vol .72/ 2 ,1995
4. Youroukos S., Hadjipanagis A., **Hadjichristodoulou Ch.** Motor Milestones in Children with Cerebellar Palsy. *Neuropaediatrics*, Submitted 1997.
5. Hadjipanagis A., **Hadjichristodoulou Ch.**, Youroukos S. Epilepsy in Patients with Cerebellar Palsy. *Developmental Medicine & Child Neurology* (accepted 1997)
6. Yiannis Tselentis, **Christos S. Hadjichristodoulou**, George Panagakos, Elpidophoros Soteriades, Panagiotis Voulgaris, Ilias Kastritis , Georgia Goutziana, Ekaterini Charvalos. An Application of Prototype Computerized Mapping Program in the Epidemiological Study of model zoonosis in 8 Greek Villages. *Epidemiology and Infection* 1997 (under publication).
7. **Hadjichristodoulou Ch.**, Soteriades E., Goutzianna G., Loukaidou M., Babalis Th. Antoniou M., Tselentis Y.. Surveillance of Brucellosis in a Rural Area of Greece. Application of the Computerised Mapping Programme. *European Journal of Epidemiology*. Submitted 1997.
8. **Hadjichristodoulou Ch.**, Babalis Th., Goutzianna G., Soteriades E., Loukaidou M., Voudouris N., O'Brien S., Tselentis Y.. Epidemiological Study of Brucellosis, Mediterranean Spotted Fever and Q Fever, in Children, in a Rural Area of Greece. *Scandinavian journal of infectious diseases*. Submitted in 1997

9. **Hadjichristodoulou Ch.**, Peter Christie, Sarah O'Brien. Pulmonary Tuberculosis and Deprivation in Hospitalised Patients in Scotland. British Medical Journal. Submitted in 1997.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΤΗ ΞΕΝΗ

1. Babalis T., Tselentis Y., **Hadjichristodoulou Ch.**, Rault D. Etude. Seroepidemiologique de rickettsia conorii et coxiella la Buruettii en Greece . 12th interdisciplinary Meeting on antinfection chemotherapy: 1991 Paris.
2. **Ch. Hadjichristodoulou**. Tolerance of IDR and Human Brucellosis Vaccine and efficacy of Human Brucellosis Vaccine. MZCC/WHO Brucellosis consultation workshop, Heraklion , October 1992
3. P. Panaghiotopoulou-Gartagani, E. Charocopos, **Ch. Hadjichristodoulou** J. Messaritakis . Sodium cromoglycate mdi administered by aerochamber in recurrently wheezy preschool children Paediatric Respiratory disease, Oslo, January 1993
4. **Ch. Hadjichristodoulou**. Experience gained from the use of reporting systems. MZCC/WHO workshop on brucellosis surveillance. Heraklion, October 1993.
5. S.Youroukos, A. Hatzipanagis, **C. Hatzichristodoulou**, C. Kattamis. Motor Milestones in Children with Cerebelar Palsy. The 1st Congress of the European Paediatric Neurology Society (EPNS) March 19-23, 1995.
6. **Hadjichristodoulou Ch.**, Panagakos G., Babalis Th., Voulgaris P., Tselentis Y. Epidemiological Study and Surveillance of Brucellosis in 8 rural villages using the Computerised Mapping Programme., 3th European Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases, May, 1996.
7. Loukaides F., **Hadjichristodoulou Ch.**, Psaroulaki A., Economides P., Tselentis Y. European Epidemiological study of Mediterranean Spotted fever in Cyprus. 3th European Congress on Chemotherapy and Infectious Diseases, May, 1996.

8. Youroukos S., Hadjipanagis A., **Hadjichristodoulou Ch.**. Epileptic Syndroms in Children with Central Motor Deficiency.
23rd Congress of Epilepsia, 1997.

9. **Hadjichristodoulou Ch.** Applications of Geographical Information Systems in Epidemiology. Monthly Lectures in Scottish Centre of Infection and Environmental Health, February, 1997.

ΒΡΑΒΕΥΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

- 1. Α' Βραβείο Πανελληνίας Ιατρικής Εταιρείας για την καλύτερη ερευνητική εργασία στο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 1996.**
Ανίχνευση και ταυτοποίηση Ρικετσιών από κρότωνα στην Κύπρο χρησιμοποιώντας την τεχνική PCR-RFLP.
- 2. Α' Βραβείο Προληπτικής Παιδιατρικής της Ελληνικής Παιδιατρικής Εταιρείας, 1996.**
Επιδημιολογική διερεύνηση της φυματίωσης χρησιμοποιώντας την ενδοδερμική αντίδραση και πρόγραμμα ενεργητικής αναζήτησης περιπτώσεων .

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΟΡΙΣΜΟΙ

Βρουκέλλωση

- Η βρουκέλλωση είναι μια κλασική ζωνόσος που μεταδίδεται στους ανθρώπους από μολυσμένα ζώα. Η ανθρώπινη βρουκέλλωση προκαλείται από τέσσερα είδη που ανήκουν στο γένος της βρουκέλλας:

1. *B. melitensis* από τα αιγοπρόβατα.
2. *B. abortus* από τα βοοειδή.
3. *B. suis* από τους χοίρους.
4. *B. canis* από τους σκύλους.

Πρόγραμμα Μηχανογραφημένης Χαρτογράφησης(G I S)

- Ένα ολοκληρωμένο σύστημα με το οποίο συλλέγονται, αποθηκεύονται, διαχειρίζονται, αναλύονται και απεικονίζονται πληροφορίες που έχουν γεωγραφική παράμετρο (ΡΑΗΟ/WHO).

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Το όνομα βρουκέλλωση προτάθηκε το 1918 από την Alice Evans, μια Αμερικανίδα μικροβιολόγο γιατρό, με σκοπό να αντικατασταθεί ο όρος "πυρετός της Μάλτας" ο οποίος χρησιμοποιούνταν μέχρι τότε. Σύμφωνα με τον Hughes (1897), η νόσος περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Ιπποκράτη το 460 Π.Χ. Μια ακριβής περιγραφή της νόσου έγινε το 1861 από τον Marston, ο οποίος ήταν βοηθός χειρουργός του Βρετανικού στρατού στη Μάλτα. Στη βιβλιογραφία η νόσος αναφέρεται και με άλλα ονόματα, όπως μελιταίος πυρετός, επειδή προκαλείται συνήθως από τη βρουκέλλα *melitensis*, πυρετός της Κύπρου, πυρετός της Μάλτας, πυρετός του Γιβραλτάρ ή πυρετός της Νεάπολης, επειδή παλιά ενδημούσε σε αυτές τις περιοχές.

Η βρουκέλλωση άρχισε να απασχολεί έντονα τις υγειονομικές αρχές της Μεγάλης Βρετανίας και τον ιατρικό κόσμο από το 1799, όταν η Μεγάλη Βρετανία κατέλαβε τη Μάλτα και τη χρησιμοποίησε ως ναυτική βάση. Καθημερινά, αναφέρονταν κρούσματα και θάνατοι από τη βρουκέλλωση ανάμεσα στους στρατιώτες που στάθμευαν στη ναυτική βάση της Μάλτας. Αυτό ανάγκασε τις υγειονομικές αρχές να στρέψουν την προσοχή τους και να διερευνήσουν το νόσημα αυτό (Bruce D., 1889).

Το 1883 ο David Bruce διορίστηκε σε νοσοκομείο στη ναυτική βάση της Μάλτας. Το 1887 ο Bruce έκανε νεκροτομή σε στρατιώτη ο οποίος πέθανε από "πυρετό της Μάλτας". Σε μικροσκοπική εξέταση παρασκευάσματος από το σπλήνα ο Bruce είδε για πρώτη φορά στο μικροσκόπιο το μικρόβιο που προκαλούσε τη νόσο (Bruce D., 1887). Την ίδια χρονιά η γιατρός Carruana - Secluna κατάφερε να καλλιεργήσει το μικρόβιο σε καλλιεργητικά υλικά παίρνοντας αίμα από πάσχοντες (αναφέρεται από τον Hughes M.L., 1897).

Το 1897 οι Wright και Smith εφάρμοσαν για πρώτη φορά οροδιαγνωστική μέθοδο με την οποία μπορούσε να διαγνωστεί το νόσημα. Παρά την πρόοδο που έγινε στην απομόνωση του μικροβίου, που προκαλεί το νόσημα, και στη διάγνωση του νοσήματος στους ανθρώπους, πέρασε αρκετός καιρός, για να γίνει γνωστή η επιδημιολογία του και συγκεκριμένα οι πηγές μόλυνσης και ο τρόπος μετάδοσης του στους ανθρώπους.

Το 1905 ο γιατρός Temistokles Zammit, μετά από μια επιδημιολογική έρευνα κατέληξε στο συμπέρασμα ότι, η πηγή μόλυνσης ήταν οι αίγες γιατί μετέδιδαν το νόσημα μέσω του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων στους ανθρώπους.

Βρουκέλλα abortus.

Η ανακάλυψη της βρουκέλλας *abortus* έγινε το 1857 από ένα Δανό κτηνίατρο, το Fredrik Bang, ο οποίος ανακάλυψε έναν ενδοκυττάριο μικροοργανισμό που προκαλούσε αποβολή στις αγελάδες. Το νόσημα πήρε το όνομά του, "νόσημα του Bang". Ο Fredrik Bang διαπίστωσε επίσης ότι ο "*βάκιλλος abortus*", όπως τον ονόμασε, χρειάζεται ειδικές συνθήκες για να καλλιεργηθεί (Bang B.,1897, Bang B.,1906) . Ο βάκιλλος αυτός δεν συνδέθηκε με τον "πυρετό της Μάλτας", αφού εκείνος ο μικροοργανισμός περιγράφηκε ως μικρόκοκκος. Εικοσιένα χρόνια αργότερα (1918), η Αμερικανίδα Alice Evans ανακάλυψε τη σχέση των δύο μικροοργανισμών, αφού πιστοποιήθηκε ότι ο μικρόκοκκος *melitensis*, όπως είχε περιγραφεί, στην πραγματικότητα ήταν βάκιλος (*bacillus melitensis*). Η ίδια μικροβιολόγος άλλαξε το όνομα "πυρετός της Μάλτας" σε "βρουκέλλωση" (Evans A.C.,1918). Παρά τη σύνδεση του *bacillus abortus* με τον *bacillus melitensis*, δε συνδέθηκε με το νόσημα στους ανθρώπους. Για χρόνια συζητιόταν αν είναι παθογόνος στους ανθρώπους. Το 1917, σε μια αναφορά των Fleisher και Meyer, αναφέρεται ότι ο μικροοργανισμός δεν είναι πολύ παθογόνος, επειδή είχαν δώσει γάλα που περιείχε τον μικροοργανισμό σε 75 νεογνά και δε νόσησαν. Ο έλεγχος έγινε με ενδοδερμική αντίδραση. Το 1930 οι Morales και Otero από το Porto Rico δουλεύοντας πειραματικά σε ανθρώπους απόδειξαν ότι ο *bacillus abortus* είναι παθογόνος και η λοίμωξη ήταν πιο συχνή, όταν το μικρόβιο εισερχόταν από το δέρμα.

Βρουκέλλα suis:

Το 1914 ο Mohler J.R. από τις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής καλλιέργησε από το συκώτι και τους νεφρούς πρόωρων γουρουινών μικροοργανισμό παρόμοιο με την *B. abortus* ο οποίος όμως μπορούσε να καλλιεργηθεί σε ατμοσφαιρικό αέρα. Η Alice Evans περιέγραψε το 1927 μία περίπτωση ανθρώπινης βρουκέλλωσης από *B. suis*.

Ανακάλυψη των άλλων ειδών του γένους της βρουκέλλας:

Δεν ανακαλύφθηκε νέο στέλεχος μέχρι το 1953, που οι Buddl και Boyes περιέγραψαν την *B. onis* που προσβάλλει κριάρια και προκαλεί στειρότητα. Οι Stoenner και Lackman το 1957 απομόνωσαν την *B. neotomae* από ποντίκια. Δεν αναφέρθηκαν ανθρώπινες περιπτώσεις από αυτά τα είδη βρουκέλλωσης.

Το 1966 ένας Αμερικανός κτηνίατρος, ο Charnichael, απομόνωσε ένα μικροοργανισμό ο οποίος προκαλούσε αποβολή σε σκύλους. Ο μικροοργανισμός διαπιστώθηκε ότι ανήκε στην οικογένεια της βρουκέλλας και ονομάστηκε *B. canis*. Η πρώτη αναφορά κρούσματος σε άνθρωπο από *B. canis* έγινε το 1968 από το CDC σε εργαζόμενο που ασχολείτο με καλλιέργειες του μικροοργανισμού.

Καταπολέμηση της βρουκέλλωσης σε ζώα και ανθρώπους.

Μετά την ανακάλυψη του υπεύθυνου μικροοργανισμού και του τρόπου μετάδοσης του από τα ζώα στους ανθρώπους ακολούθησαν προσπάθειες σε διάφορες χώρες του κόσμου για έλεγχο του νοσήματος εφαρμόζοντας προγράμματα πρόληψης. Η προσπάθεια όμως διαφέρει σε κάθε χώρα και τα αποτελέσματα υπήρξαν ανάλογα. Η πρώτη χώρα που κατάφερε να εξαλείψει την βρουκέλλωση ήταν η Νορβηγία το 1952 και στη συνέχεια ακολούθησε η Σουηδία. Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής το νόσημα ελέγχεται, αλλά δεν έχει ακόμα πλήρως εξαλειφθεί(Chomel BB. et al, 1994).

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η βρουκέλλα είναι ένα μικρό, χωρίς κάψα, αερόβιο, αρνητικό κατά gram μικρόβιο. Δεν σχηματίζει σπόρους, έχει σημαντική αντοχή στο περιβάλλον και είναι ενδοκυττάριος μικροοργανισμός. Τα έξι αναγνωρισμένα είδη βρουκέλλας είναι τα πιο κάτω (Corbel MJ. et al, 1989):

1) *B. melitensis*: Προσβάλλει κυρίως τα αιγοπρόβατα, αλλά μπορεί να μεταδοθεί σε πολλά ζώα. Θεωρείται το πιο συχνό αίτιο βρουκέλλωσης στον άνθρωπο.

2) *B. abortus*: Προσβάλλει κυρίως βοοειδή, αλλά μπορεί να μεταδοθεί σε καμήλες, σκύλους, άλογα, αιγοπρόβατα, χοίρους και στον άνθρωπο.

3) *B. suis*: Ο βιότυπος 1,2 και 3 προσβάλλει κυρίως τους χοίρους, ο βιότυπος 4 προσβάλλει τάρανδους και ο βιότυπος 5 κυρίως μικρά τρωκτικά. Όλοι οι βιότυποι είναι δυνατόν να μεταδοθούν και στον άνθρωπο.

4) *B. neotomae*: Βρέθηκε σε ποντίκια της ερήμου και δεν είναι γνωστό αν είναι παθογόνος στον άνθρωπο.

5) *B. ovis*: Φαίνεται ότι προσβάλλει κυρίως πρόβατα, χωρίς να αποκλείονται άλλα ζώα. Είναι πιθανό μεταδιδόμενη στους ανθρώπους να προκαλεί υποκλινικές μορφές βρουκέλλωσης.

6) *B. canis*: Προσβάλλει σχεδόν αποκλειστικά σκύλους και υπάρχουν αρκετές αναφορές μετάδοσής του στους ανθρώπους.

Τα τελευταία 10 χρόνια γίνεται διαχωρισμός με βάση εργαστηριακές τεχνικές μοριακής βιολογίας χωρίζοντας ένα κοινό είδος, την *B. melitensis*, σε βιότυπους (π.χ. *B. melitensis* biotype *melitensis* -1,2,3 -, *B. melitensis* biotype *abortus* -1,2,3,4, 5,6,7- κλπ) (Corbel and Brinley Morgan, 1984; Verger et al., 1985; Mercier E. et al, 1996).

Όλα τα είδη της βρουκέλλας είναι αερόβια. Η *B. abortus* και η *B. ovis* χρειάζονται επιπλέον CO₂ για να αναπτυχθούν. Η *B. melitensis* επιβιώνει σε διάφορους τύπους γάλακτος, φρέσκιας κρέμας και τυροκομικών προϊόντων για διάφορες

περιόδους. Σε μη παστεριωμένο, φρέσκο, άσπρο, μαλακό τυρί η *B. melitensis* επιβιώνει για 8 εβδομάδες. Μερικοί ερευνητές καλλιέργησαν τον μικροοργανισμό από το πιο πάνω τυρί 11 εβδομάδες μετά την παρασκευή του. (Sabbaghian,1975). Αναφέρεται ότι ο κατάλληλος χρόνος ωρίμανσης του τυριού, για να γίνει ασφαλές για κατανάλωση είναι 60-90 ημέρες μετά την παρασκευή του, ανάλογα με τον τρόπο παρασκευής του τυριού και το pH στο οποίο διατηρείται. Ο μικροοργανισμός μπορεί να επιβιώσει μερικές ώρες σε φρέσκο γάλα, αν διατηρηθεί στους 37°C, ή 48 ώρες, αν διατηρηθεί στους 8°C. Η κατάψυξη στη διαδικασία παραγωγής του παγωτού δεν καταστρέφει το μικρόβιο. Το μικρόβιο καταστρέφεται, εάν το γάλα ζεσταθεί στους 60°C για 10 λεπτά, ή ζεσταθεί μέχρι βρασμού. Επίσης, η παστερίωση καταστρέφει τον μικροοργανισμό. Αντίθετα ο μικροοργανισμός διατηρείται σε κατεψυγμένο κρέας(Verger J.M. and Plomet M., 1985). Ακόμα, οι μικροοργανισμοί που υπάρχουν στις εκκρίσεις των ζώων (ούρα, κόπρανα, κολπικά υγρά και υγρά αποβολών) μπορούν να επιβιώσουν μέχρι 40 ημέρες στην ξηρή κοπριά και ακόμα περισσότερο στην υγρή κοπριά (Young E. and Corbel M.J.,1989).

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η ανοσολογική απάντηση του ανθρώπινου οργανισμού στην βρουκέλλα είναι σύνθετη και περιλαμβάνει, τόσο τη χημική ανοσία, όσο και την κυτταρική. Η ανοσολογική απάντηση κάθε οργανισμού είναι καθοριστική στην εκδήλωση ή όχι νόσου ή ακόμα στην υποκλινική νόσο. Πιστεύεται ότι η πολυμορφία των κλινικών εκδηλώσεων (οξεία, υποκλινική, χρόνια) οφείλεται στην ανοσολογική απάντηση κάθε ατόμου. Οι Serre et al(1987) αναλύοντας διάφορους παράγοντες της ανοσολογικής απάντησης έναντι της βρουκέλλας προσπάθησαν να συσχετίσουν τις κλινικές εκδηλώσεις του νοσήματος με ανοσολογικές παραμέτρους για καλύτερη διάγνωση και θεραπεία της βρουκέλλωσης. Οι Bertrand et al(1984a) συσχέτισαν τη χρόνια βρουκέλλωση με την κυτταρική ανοσία την οποία εκτίμησαν χρησιμοποιώντας την ενδοδερμική αντίδραση. Μία εβδομάδα περίπου μετά την είσοδο του μικροβίου παράγονται τα πρώτα συγκολλητινογόνα IgM αντισώματα. Την 4η εβδομάδα εμφανίζονται τα IgG αντισώματα στη φάση που τα IgM έχουν φτάσει στο υψηλότερο επίπεδο. Στη συνέχεια μετά τη θεραπεία τα IgG αντισώματα ακολουθούν μια σταθερά φθίνουσα πορεία μέχρι τον πρώτο χρόνο, όπου ανιχνεύονται σε πολύ χαμηλά επίπεδα (Lopez-Merino A. and Lopez-Santiago R., 1989). Μερικοί συγγραφείς υποστηρίζουν ότι τα IgM αντισώματα παραμένουν υψηλότερα για περισσότερα χρόνια, ενώ άλλοι ότι τα IgM αντισώματα αυξάνονται στην αρχή και στη συνέχεια εξαφανίζονται(White RG. et al, 1978; Wilkinson PC. et al, 1966; Gazaro E. et al, 1989). Η πρακτική σημασία των αντισωμάτων και της ανίχνευσης τους με τις διάφορες ορολογικές δοκιμασίες είναι:

- 1) Διάγνωση.
- 2) Ανταπόκριση στη θεραπεία.
- 3) Ανίχνευση υποτροπών και χρόνιας βρουκέλλωσης.

Κυτταρική ανοσία:

Όλα τα πειραματικά δεδομένα καταδεικνύουν ένα σημαντικό ρόλο της κυτταρικής ανοσίας στην άμυνα του οργανισμού κατά της λοίμωξης από βρουκέλλα(Oliveira SC. et al, 1995; Rondriquez-Zapata M. et al, 1996; Young EJ. et al, 1985). Η επιτυχία στην προσπάθεια περιορισμού της λοίμωξης εξαρτάται από την ενεργοποίηση των μακροφάγων που γίνεται από τα T λεμφοκύτταρα, τα οποία με τη σειρά τους ενεργοποιούνται από βακτηριδιακά αντιγόνα (Ocon P. et al, 1994). Επίσης τα τελευταία χρόνια έχει διερευνηθεί σε βάθος ο ρόλος των μεσολαβητών(Κυτοκίνες) στην κυτταρική ανοσία στην οξεία βρουκέλλωση (Zhan Y. et al, 1995; Zhan Y. et al, 1996;). Επίσης σε ζώα έγινε προσπάθεια να προσδιοριστεί ο ρόλος υποπληθυσμών των T λεμφοκυττάρων (βοηθητικά T4, κατασταλτικά T8) και η συσχέτιση των T8 (κατασταλτικών) με τη χρόνια βρουκέλλωση(Cantor H. and Boyese EA., 1975; Thornes B. et al, 1982;). Ο ακριβής

μηχανισμός αλληλεπίδρασης των κυτταρικών πληθυσμών που σχετίζονται με την άμυνα του οργανισμού είναι στην πλειονότητά του άγνωστος.

Ορολογικές μέθοδοι:

Η κλινική διάγνωση της βρουκέλλωσης είναι πολύ δύσκολη, αν όχι αδύνατη. Η καλλιέργεια του μικροβίου δεν είναι πάντοτε δυνατή. Το μεγαλύτερο ποσοστό καλλιέργειας βρουκέλλας είναι γύρω στο 50 % των περιπτώσεων (Diaz R. et al 1982; Mousa A.M. et al, 1987; Lulu A.R. et al, 1988). Τις περισσότερες φορές η επιβεβαίωση της διάγνωσης γίνεται με την αναζήτηση των ειδικών αντισωμάτων χρησιμοποιώντας διάφορες ορολογικές μεθόδους (Diaz-Aparicio E. et al, 1994; Laudat P. et al, 1994).

Κλασικές ορολογικές μέθοδοι (standard):

1) Συγκολλητινοαντίδραση (wright):

Παραμένει η ορολογική μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρέως, για να επιβεβαιωθεί ορολογικά η ανθρώπινη βρουκέλλωση. Έχει αξιολογηθεί εδώ και πολλά χρόνια και έχει μεγάλη ακρίβεια (Kerr W.R. et al, 1968; Alton G.G. and Jones L.M., 1975; Baum M. et al, 1995). Έχουν όμως διαπιστωθεί ψευδώς θετικά αποτελέσματα που οφείλονται σε διασταυρούμενες αντιδράσεις που προκαλούνται από *Franciella tularensis*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* και *Salmonella urbana* (Corbel M.J., 1979). Επίσης έχουν διαπιστωθεί ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα που οφείλονται στην ύπαρξη δεσμευτικών αντισωμάτων (blocking antibodies) (Kerr W.R. et al, 1967).

2) Rose Bengal Plate Test (RBPT):

Η μέθοδος αυτή έχει αντικαταστήσει τις άλλες ορολογικές εξετάσεις ως μέθοδος ανίχνευσης σε επιδημιολογικές μελέτες (screening test), γιατί είναι εύκολη στην πραγματοποίηση, φθηνή, έχει μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα και τα αποτελέσματά της είναι συμβατά με άλλες συγκολλητινοαντιδράσεις (Buchanan T.M. et al, 1974; Diaz R. et al, 1976; Caces E. et al, 1978; Blasco J.M. et al, 1994). Επίσης έχει προταθεί ως προκαταρκτική εξέταση σε κλινικά ύποπτες περιπτώσεις του νοσήματος, με σκοπό να αρχίσει αμέσως η θεραπεία, μέχρι να γίνουν άλλες διαγνωστικές μέθοδοι για να επιβεβαιώσουν το αποτέλεσμα (Diaz R. et al, 1982).

Πολλές άλλες ορολογικές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί στην διάγνωση της βρουκέλλωσης όπως:

3) συγκολλητινοαντίδραση 2-μερκαπταιθανόλης (2MG),

4) Coomb's test,

5) σύνδεση συμπληρώματος (CFT),

6) ανοσοφθορισμός.

Οι μέθοδοι αυτές είναι σημαντικές στη διάγνωση της βρουκέλλωσης και έχουν υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Δε χρησιμοποιούνται όμως ευρέως, επειδή είναι δύσκολες στην εκτέλεση και απαιτούν πολύ χρόνο (Elberg S.S., 1981)

Νεώτερες ορολογικές μέθοδοι:

1)Ανοσοηλεκτροφόρηση:

Η Ανοσοηλεκτροφόρηση φαίνεται να είναι αξιόπιστη και χρήσιμη μέθοδος για τη διάγνωση της βρουκέλλας. Θεωρείται εύκολη και γρήγορη στην εκτέλεση. Υπήρξαν προβλήματα σχετικά με το αντιγόνο που θα χρησιμοποιηθεί (όχι καλά αποτελέσματα με πολυσακχαριδικό αντιγόνο, θεωρείται καλύτερο το πρωτεϊνικό αντιγόνο) (Diaz R., et al 1978; Diaz R., 1982; Laudat P. et al, 1983) .

2)Ανοσοενζυμική (ELISA):

Στη βιβλιογραφία υπάρχει συμφωνία σχετικά με την ELISA η οποία χαρακτηρίζεται από μεγάλη ευαισθησία, ειδικότητα και μεγάλη ευκολία στην εκτέλεση. Επιπλέον παρουσιάζει συγκριτικά πλεονεκτήματα από τις συμβατικές μεθόδους (ανίχνευση περισσότερων θετικών ορών, υψηλότερων τίτλων και ανίχνευση ανοσοσφαιρινών IgG, IgM και IgA). Η μέθοδος παρουσιάζει ακόμα διαφορετικά αποτελέσματα ανάλογα με το αντιγόνο που χρησιμοποιείται, τους αντιορούς και την ποιότητα της στερεάς φάσης που χρησιμοποιείται (Perera V.Y. et al, 1983; Krambovitis E. et al, 1992; Bardbuddhe S.B., 1994). Το 1995 έγινε συνάντηση ειδικών στην βρουκέλλωση. Αυτή οργανώθηκε από την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας με σκοπό: α) να διερευνηθούν οι δυνατότητες της μεθόδου στη διάγνωση της βρουκέλλωσης και στην παρακολούθηση των ασθενών (υποτροπή, χρόνια βρουκέλλωση), β) να τεθούν ποιοτικές προδιαγραφές εκτέλεσης της μεθόδου. (MZCP/WHO 1995)

Τεχνικές Μοριακής Βιολογίας (PCR):

Τα τελευταία 5 χρόνια χρησιμοποιούνται τεχνικές μοριακής βιολογίας (PCR) για την ανίχνευση τμήματος του DNA το οποίο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή της ανοσοδιεγερτικής πρωτεΐνης BCSP (31-Kda). Για να γίνει η εξέταση, λαμβάνεται αίμα σε αντιπηκτικό (EDTA) και στη συνέχεια χρησιμοποιούνται τα περιφερικά μονοπύρηνια, για να ληφθεί το DNA. Ο Malar GM και οι συνεργάτες του (1996) δοκίμασαν αυτή την τεχνική σε 17 ασθενείς με οξεία βρουκέλλωση, σε 3 με χρόνια υποτροπιάζουσα βρουκέλλωση, σε 9 ασθενείς με τυφοειδή πυρετό και σε 30 υγιείς μάρτυρες. Στους ασθενείς από βρουκέλλωση είχαν θετικό αποτέλεσμα, ενώ στους μάρτυρες και στους ασθενείς με τυφοειδή πυρετό είχαν αρνητικό αποτέλεσμα. Τα αποτελέσματα αυτά είναι ενθαρρυντικά, αλλά αυτή η τεχνική χρειάζεται να αξιολογηθεί σε

μεγαλύτερο αριθμό ατόμων και σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία. Επίσης η τεχνική αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για επιβεβαίωση του αποτελέσματος και όχι σαν δοκιμασία πρώτης γραμμής.

ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Μετά την είσοδο της βρουκέλλας στον ανθρώπινο οργανισμό με οποιοδήποτε τρόπο (δια του στόματος, αναπνευστικού κλπ) στο σημείο την εισόδου του μικροοργανισμού κινητοποιούνται πολυμορφοπύρρηνα λευκά αιμοσφαίρια. Τα ενεργοποιημένα φαγοκύτταρα συμμετέχουν με τη φαγοκυττάρωση στην άμυνα του οργανισμού, όπως σε κάθε άλλη λοίμωξη.

Ανάλογα με την κατάσταση του οργανισμού, ο μικροοργανισμός πολλαπλασιάζεται μέσα στα φαγοκύτταρα και μέσα από το λεμφικό ιστό καταλήγει στους επιχώριους λεμφαδένες. Από τους λεμφαδένες περνάει στο αίμα και στη συνέχεια σε όργανα πλούσια κυττάρων του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (ήπαρ, σπλήνα). Σε αυτά τα όργανα είναι δυνατόν να σχηματισθούν κοκκιώματα ανάλογα με αυτά της φυματίωσης και της σαρκοείδωσης. Μπορεί να προσβληθούν όλα τα συστήματα (νευρικό, κυκλοφορικό, ουροποιητικό κλπ) και να έχουμε ανάλογες κλινικές εκδηλώσεις.

Χρόνος επώασης:

Είναι δύσκολο να καθορισθεί ο ακριβής χρόνος επώασης στις ενδημικές περιοχές, όπου ο πληθυσμός είναι εκτεθειμένος στο μικροοργανισμό συνέχεια. Διάφοροι συγγραφείς εκτιμούν ότι ο χρόνος επώασης είναι 3 εβδομάδες και μπορεί να φθάσει μέχρι 4 - 6 μήνες (Monir Makdour 1989; Young E.J. and Corbel M.J., 1989; Tumbay Emel, Hilmi Suleyha and Ang Ozdem, 1991). Ο Morales-Otero το 1930 υπολόγισε τον χρόνο επώασης 29 έως 35 ημέρες σε εθελοντές μετά την είσοδο του μικροοργανισμού από το δέρμα.

Κλινική εικόνα:

Δύσκολα θα μπορούσε κάποιος να βρει μια χαρακτηριστική κλινική εικόνα, για να περιγράψει το νόσημα. Μπορεί να έχει οξεία έναρξη (μέσα σε 1 - 2 ημέρες) με υψηλό πυρετό ή αμβληχρά έναρξη (1 - 2 εβδομάδες) με χαμηλό πυρετό. Συνήθως εμφανίζεται με πυρετό, αρθραλγία, νυκτερινές επιδρώσεις, οσφυαλγία, χωρίς εντοπισμένες εκδηλώσεις. Μερικές φορές προβάλλουν εντοπισμένες εκδηλώσεις. Για παράδειγμα έχουμε ως πρώτη εκδήλωση αρθρίτιδα ή ορχίτιδα ή νευρολογική συνδρομή (Mousa A.M. et al, 1987; Rajapakse

C.N. 1995; Radolf J.D., 1994; Yardakul T. et al, 1995). Στη βρουκέλλωση μπορεί να έχουμε σημειολογία από όλα τα συστήματα (Gee-Lew B. et al, 1983; Colmenero J.D. et al, 1996). Χωρίς θεραπεία το νόσημα μπορεί να διαρκέσει πάνω από 6 μήνες με χαμηλό πυρετό, έντονη καταβολή και οσφυαλγία που χαρακτηρίζεται από μερικούς συγγραφείς χρόνια βρουκέλλωση. Δεν υπάρχει ομοφωνία στην βιβλιογραφία για την ύπαρξη και την περιγραφή της χρόνιας βρουκέλλωσης. Ο Bertrand (1984) χωρίζει την χρόνια βρουκέλλωση σε εντοπισμένη (localised), όπου έχουμε συγκεκριμένη εντόπιση για μεγάλο χρονικό διάστημα (οστεομυελίτιδα κλπ), και την "αλλεργική", στην οποία έχουμε αντίδραση υπερευαισθησίας (εξάνθημα, οίδημα, φλεγμονή) κυρίως στο δέρμα, όταν ο πάσχων έλθει σε επαφή με το μικρόβιο (αυτό παρατηρείται κυρίως σε κτηνιάτρους - κτηνοτρόφους).

Κλινικές εκδηλώσεις από τα διάφορα συστήματα:

Κ.Ν.Σ.:	Μηνιγγοεγκεφαλίτις, εγκεφαλικά αγγειακά επεισόδια, μυελίτιδα, περιφερική νευρίτιδα, ψυχιατρικές εκδηλώσεις
Αναπνευστικό:	Πνευμονία, πλευρίτιδα με συμπτώματα βήχα και απόχρεμψη.
Κυκλοφορικό:	Ενδοκαρδίτιδα, περικαρδίτιδα, θρόμβωση περιφερικών αγγείων, λεμφαδενίτιδα, αναμία, λευκοπενία, θρομβοπενία.
Ερειστικό:	Αρθρίτιδα, σπονδυλίτιδα, ιερολαγονίτιδα, αντιδραστική αρθρίτιδα κλπ. (Αρθραλγία, οσφυαλγία).
Γαστρεντερικό:	Ηπατίτιδα, κοκκίωμα ήπατος, σπληνομεγαλία, παγκρεατίτιδα (εμετοί, κοιλιακό άλγος κλπ.)
Δέρμα:	Γενικευμένο ερυθρηματώδες εξάνθημα, κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα, πορφύρα κλπ.
Ουροποιογεννητικό:	Επιδιδυμορχίτιδα, ουρολοίμωξη, νεφρίτιδα, ουρηθρίτιδα.

Η συχνότητα με την οποία εμφανίζονται τα διάφορα συμπτώματα και κλινικά σημεία στην βρουκέλλωση φαίνεται στον πίνακα υπολογισμένη από υλικό των Makdour M.M. 1989.

Πυρετός:	92,8 %
Ρίγος:	82,7 %
Εφίδρωση:	87,5 %

Οσφραλγία:	86.0 %
Ευαισθησία στην οσφυϊκή χώρα:	48.5 %
Αρθραλγία:	86,2 %
Κακουχία:	22.0 %
Ωχρότητα:	13,5 %
Λεμφαδενοπάθεια:	18,5 %
Σπληνομεγαλία:	14,6 %
Ηπατομεγαλία:	15,6 %
Αρθρίτιδα:	31,8 %
Επιδιδυμορχίτιδα:	28,2 %
Άλγος στους όρχεις:	28,2 %
Εξάνθημα:	14,8 %
Ίκτερος:	1,3 %
Φύσημα:	2,9 %
Εκδηλώσεις από Κ.Ν.Σ.:	6,1 %
Βήχας:	24,4 %
Πνευμονία:	0,8 %
Καταβολή:	5,7 %

Διάγνωση:

Η διάγνωση του νοσήματος πρέπει να ξεκινήσει από το ιστορικό με την αναζήτηση παραγόντων κινδύνου (επαφή με ζώα ή κατανάλωση φρέσκου μη παστεριωμένου γάλακτος ή γαλακτοκομικών προϊόντων), να συνεχιστεί με την αναζήτηση συμβατής κλινικής εικόνας και σημειολογίας και να επιβεβαιωθεί με ορολογικό έλεγχο και καλλιέργεια αίματος ή άλλων βιολογικών υγρών (αρθρικό υγρό, ΕΝΥ κλπ.). Ασφαλώς η διάγνωση είναι σίγουρη, όταν καλλιεργηθεί το μικρόβιο. Η ανεύρεση υψηλού τίτλου αντισωμάτων είναι ενδεικτική. Ο αυξανόμενος τίτλος αντισωμάτων είναι ισχυρότερη ένδειξη (Young E.J., 1995) . Στις ενδημικές περιοχές υπάρχει πρόβλημα ερμηνείας των ορολογικών εξετάσεων, επειδή ο πληθυσμός έρχεται σε επαφή με το μικρόβιο, χωρίς κατά ανάγκη να νοσεί. Έτσι, σε ενδημικές περιοχές θεωρείται ενδεικτικός νόσου υψηλότερος τίτλος αντισωμάτων. Για παράδειγμα, στη Σαουδική Αραβία 1/320 ή 1/640 (Monir Makdour 1989, Allballa S.R., 1995). Σε κάθε περιοχή θα ήταν καλό να εντοπίζεται ο τίτλος αντισωμάτων που θα θεωρείται ενδεικτικός (cut off). Σε οροεπιδημιολογική έρευνα που έγινε για τον Μεσογειακό κηλιδοβλατιδώδη πυρετό οι Herrero et al (1989) πιστεύουν ότι ο τίτλος των αντισωμάτων, για να θεωρείται ενδεικτικός νόσου, πρέπει να είναι τέτοιος, έτσι ώστε το 98 % του πληθυσμού να είναι αρνητικό.

Θεραπεία

Τα κριτήρια που πρέπει να πληρούν τα αντιβιοτικά για τη θεραπεία είναι η ικανότητά τους να διαπερνούν στους διάφορους ιστούς και να εισέρχονται στα κύτταρα, επειδή η βρουκέλλα είναι ενδοκυττάριος μικροοργανισμός(Bertrand A., 1994).

Πολλά χρόνια μετά την οριστικοποίηση της θεραπείας της βρουκέλλωσης δεν έχουν αλλάξει πολλά πράγματα. Ακόμα και σήμερα θεωρείται θεραπεία εκλογής το σχήμα τετρακυκλίνης (Doxycycline) για 45 μέρες μαζί με στρεπτομυκίνη τις 2-3 πρώτες εβδομάδες(Acocella G. et al, 1989; Solera J. et al, 1995). Εναλλακτικό σχήμα, το οποίο πολλοί το θεωρούν θεραπεία εκλογής λόγω της ευκολίας χορήγησης, είναι η χορήγηση τετρακυκλίνης (Doxycycline) μαζί με ριφαμπικίνη (900 mg / ημέρα) για 45 ημέρες (Shasha B., 1994; Colmenero J.D. et al, 1994). Το σχήμα δοξυκυκλίνης και γενταμυκίνης ή Νετιλμυκίνης στην θέση της στρεπτομυκίνης έχει δοκιμαστεί με καλά αποτελέσματα(Houang E.T. et al, 1977, Solera J. et al 1996). Επίσης χρησιμοποιείται το σχήμα τριμεθοπρίμη / σουλφισοξαζόλη μαζί με ριφαμπικίνη για 45 ημέρες(Bertrand A., 1994). Τελευταία έχουν δοκιμαστεί κεφαλοσπορίνες και φλουοροκινολόνες με σχετικά καλά αποτελέσματα (Domingo S. et al 1995). Πρέπει όμως να περιμένουμε τα αποτελέσματα συγκριτικών δοκιμαστικών μελετών, που ευρίσκονται σε εξέλιξη. Για τη θεραπεία της χρόνιας βρουκέλλωσης έχουν δοκιμαστεί η λεβαμιζόλη και η ιντερφερόνη(Printzis S. et al 1994; Boura P. et al, 1995)

Γενικά πρέπει να τονιστεί ότι: 1) Η δοξυκυκλίνη υπερτερεί από τις άλλες τετρακυκλίνες ,2) Πρέπει να αποφεύγεται η μονοθεραπεία, γιατί συνοδεύεται από υψηλά ποσοστά υποτροπών και 3) Η θεραπεία πρέπει να συνεχίζεται για 6 εβδομάδες παρά την κλινική βελτίωση του αρρώστου, για να μειωθεί ο κίνδυνος της υποτροπής.

Στα παιδιά που είναι μεγαλύτερα από 6 χρόνων μπορεί να χορηγηθεί το σχήμα δοξυκυκλίνης για 4-6 εβδομάδες μαζί με γενταμυκίνη για 15 ημέρες. Σε μικρότερα παιδιά μπορεί να χορηγηθεί τριμεθοπρίμη/σουλφισοξαζόλη μαζί με ριφαμπικίνη για 45 ημέρες(Conte G., 1994; Al-Elissa Y.A., 1995)

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΤΗΣ ΒΡΟΥΚΕΛΛΩΣΗΣ

Παρά τον έλεγχο ή την εξάλειψη του νοσήματος από μερικές χώρες (Νορβηγία, Σουηδία, Κύπρος, Η.Π.Α.), διεθνώς το νόσημα φαίνεται να έχει αυξημένη επίπτωση (Joint FAO/WHO 1986). Αυτό οφείλεται στην έλλειψη επιστημονικών και σύγχρονων μεθόδων κτηνοτροφίας, καθώς επίσης στους παραδοσιακούς τρόπους παρασκευής γαλακτοκομικών προϊόντων και σε συνήθειες διατροφής, που δύσκολα μπορούν να αλλάξουν (Madkour M.M. 1989; Joint FAO/WHO 1986). Είναι πολύ δύσκολο, αν όχι αδύνατο, να εκτιμηθεί η πραγματική επίπτωση του νοσήματος σε όλο τον κόσμο, επειδή το νόσημα υποδηλώνεται και σε μερικές χώρες δεν υπάρχουν στατιστικά στοιχεία (MZCP/WHO 1992). Ακόμα και στις χώρες που το νόσημα έχει εξαλειφθεί ή βρίσκεται υπό έλεγχο, αναφέρονται μικρές επιδημίες σε ταξιδιώτες που ταξίδεψαν σε ενδημικές περιοχές και κατανάλωσαν γαλακτοκομικά προϊόντα (Chomal B.B. et al, 1994).

Αναφορικά με το είδος βρουκέλλας (*B. melitensis*, *B. abortus* κλπ) που ενδημεί σε κάθε περιοχή, εξαρτάται από τις γεωργοκτηνοτροφικές συνθήκες που επικρατούν σε κάθε περιοχή. Εάν είναι φτωχή σε βλάστηση, όπως οι μεσογειακές χώρες, κι εκτρέφονται μικρά κυρίως ζώα (αιγοπρόβατα), τότε επικρατεί η *B. melitensis*. Ενώ, αν έχουμε άφθονη βλάστηση (Λατινική Αμερική) και εκτρέφονται μεγάλα ζώα (βοοειδή), τότε επικρατεί η *B. abortus*. Η *B. suis* δεν απαντάται στις μεσογειακές χώρες. Έχει αναφερθεί όμως στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής και στην πρώην Σοβιετική Ένωση (Volfson A.G. et al 1982). Πιστεύεται ότι ο λόγος που δεν έχουμε *B. suis* στην Μεσόγειο είναι, γιατί επικρατεί ο βιότυπος II, ο οποίος δεν αποικίζει σε μεγάλο βαθμό το γεννητικό σύστημα των χοίρων (Makdour M.M., 1989).

Η βρουκέλλα *Canis* θεωρείται σπάνια στους ανθρώπους και απαντάται κυρίως σε εργαστηριακούς που δουλεύουν με το μικρόβιο και σε άτομα που ασχολούνται επαγγελματικά με σκύλους (Nicoletti P., 1980; Polt S.S. et al, 1982).

Η βρουκέλλωση μεταδίδεται στους ανθρώπους από τα ζώα με διαφορετικό τρόπο στις ενδημικές περιοχές από τις χώρες, όπου το νόσημα είναι υπό έλεγχο. Στις ενδημικές χώρες και ιδιαίτερα στις γεωργοκτηνοτροφικές περιοχές όλος ο πληθυσμός είναι εκτεθειμένος ή λόγω της επαφής με τα ζώα ή της κατανάλωσης γαλακτοκομικών προϊόντων ή των παραδοσιακών τρόπων

διατροφής (ακατάλληλα ψημένο ή ωμό κρέας), ακόμα και λόγω της εισπνοής (κοπριά μολυσμένη από προϊόντα των αποβολών). Στις αστικές περιοχές των ενδημικών περιοχών η μετάδοση γίνεται κυρίως με την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων (Sabbagian H. 1975; Alballa S.R. 1995). Στις χώρες, όπου η βρουκέλλωση βρίσκεται υπό έλεγχο, το νόσημα θεωρείται επαγγελματικό (Young E.J. 1995). Σε αυξημένο κίνδυνο βρίσκονται οι σφαγείς, κτηνοτρόφοι, βοσκοί, άτομα που εργάζονται σε γαλακτοκομεία, κτηνίατροι, κτηνιατρικοί βοηθοί και οι ερευνητές σε εργαστήρια (Alausa O.K. 1980, Staszkiwicz J. et al, 1991).

Μολυσματική δόση:

Η μικρότερη μολυσματική δόση από το στόμα για την *B. melitensis* είναι περίπου 5.000 μικροοργανισμοί, ενώ για την *B. abortus* και *B. Suis* είναι 10^6 έως 10^7 μικροοργανισμοί. Η μικρότερη μολυσματική δόση με την εισπνοή μολυσμένου αέρα ή με την επαφή με βλεννογόνους (βλεννογόνος ματιών), είναι 1.300 μικροοργανισμοί για την *B. melitensis* και λιγότεροι από 100 μικροοργανισμοί για την *B. abortus* και *B. suis* (Kaufmann A.F. et al, 1980; Flynn M.P., 1983)

Βρουκέλλωση στην Ελλάδα:

Στην Ελλάδα έχουμε *B. melitensis* στα μικρά ζώα (αιγοπρόβατα) και *B. abortus* στα βοοειδή (Παππούς Χ., 1988; Στεφάνου Λ., 1978). Τα περισσότερα κρούσματα στους ανθρώπους προέρχονται από την *B. melitensis* (Μανέτας Σ., 1984;). Αναφορικά με την επίπτωση του νοσήματος στην Ελλάδα, με βάση επίσημα στοιχεία την Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (WHO) μέχρι το 1989 η Ελλάδα είχε την υψηλότερη επίπτωση (20,9/100.000) από τις ευρωπαϊκές χώρες (Makdour M.M., 1989). Από τα στοιχεία του Υπουργείου Υγείας, τα οποία δεν διακρίνονται ιδιαίτερα για την αξιοπιστία τους, φαίνεται μία πτώση της επίπτωσης της βρουκέλλωσης στους ανθρώπους από το 1981. Αυτό οφείλεται εν μέρει στην βελτίωση του κοινωνικοοικονομικού επιπέδου των κατοίκων, στην παστερίωση του γάλακτος, στην ενημέρωση του πληθυσμού για το νόσημα, αλλά και σε πρόγραμμα ελέγχου του νοσήματος στα ζώα που άρχισε τη δεκαετία το 1975 (Γιαντζής Δ.Γ., 1984). Το πρόγραμμα αυτό συναντά πολλές δυσκολίες στην εφαρμογή του (άρνηση των κτηνοτρόφων να συνεργαστούν, μη ελεγχόμενη κτηνοτροφία, έλλειψη κονδυλίων, έλλειψη προσωπικού) και παρά τις αρχικές επιτυχίες του στη μείωση του ποσοστού στα ζώα, ακόμα και σήμερα, (1996), δεν μπορούμε να μιλήσουμε για έλεγχο του νοσήματος (έχουμε μικρή αύξηση της επίπτωσης στους ανθρώπους τα τελευταία χρόνια).

Τρόποι μετάδοσης του νοσήματος στον άνθρωπο:

Η βρουκέλλα εισέρχεται στον ανθρώπινο οργανισμό με διαφόρους τρόπους ανάλογα με την ενδημικότητα του νοσήματος σε κάθε χώρα και ανάλογα με τον έλεγχο του νοσήματος ή όχι. Για παράδειγμα, στις Ηνωμένες Πολιτείες

Αμερικής θεωρείται επαγγελματική νόσος, αλλά στην Ελλάδα ή, ακόμα περισσότερο, στις αραβικές χώρες δεν είναι μόνο επαγγελματική νόσος.

Μετάδοση δια της στοματικής οδού:

Η κατανάλωση φρέσκου, μη παστεριωμένου γάλακτος, και γαλακτοκομικών προϊόντων είναι από τους πιο συχνούς τρόπους μετάδοσης της βρουκέλλας από τα ζώα στους ανθρώπους (Sabbaghian H., 1975; Syrjamaki C. et al, 1984). Άτομα που έχουν αχλωρυδρία ή παίρνουν αντιόξινα παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία να προσβληθούν, επειδή το χαμηλό pH του στομάχου θεωρείται ότι έχει προστατευτική δράση (βακτηριοκτόνο) (Cristiano P. and Paradisi F., 1982). Αυτό είναι θεωρητικά και μία από τις εξηγήσεις για το χαμηλό ποσοστό παιδιών που νοσούν (έχουν χαμηλότερο pH στομάχου).

Μετάδοση δια της αναπνευστικής οδού:

Ο κίνδυνος μετάδοσης της βρουκέλλας από την αναπνευστική οδό εξαρτάται από τους παραδοσιακούς τρόπους σταυλισμού των ζώων σε κάθε ενδημική χώρα. Όπως και στην Ελλάδα, σε πολλές χώρες, στις γεωργοκτηνοτροφικές περιοχές, τα αιγοπρόβατα ή οι αγελάδες σταυλίζονται στις αυλές των σπιτιών για να παρέχουν το καθημερινό γάλα στην οικογένεια. Στις αναπτυγμένες χώρες, όπου το νόσημα ελέγχεται, η αναπνευστική οδός είναι ο κυριότερος τρόπος μετάδοσης στους εργαζομένους σε σφαγεία και στους εργαστηριακούς, που ασχολούνται με την καλλιέργεια του μικροβίου (Kaufmann A.F., 1980, Staszkiwicz J. et al, 1991)

Μετάδοση δια της δερματικής οδού:

Οι εργαζόμενοι στα σφαγεία, οι κτηνίατροι και οι κτηνοτρόφοι που έρχονται σε επαφή χωρίς προστατευτικά γάντια με μολυσμένα υλικά (αποβολές, κρέας κλπ) βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο να νοσήσουν. Το μικρόβιο εισέρχεται διαμέσου μικροτραυματισμών (λύση συνεχείας του δέρματος) που προϋπήρχαν ή που γίνονται εκείνη τη στιγμή (Williams E., 1982).

Μετάδοση δια των βλεννογόνων:

Το μικρόβιο μπορεί να εισέλθει διαμέσου των επιπεφυκώτων των οφθαλμών. Τέτοια μετάδοση έχουμε στους εργαζομένους σε εργαστήρια, όπου καλλιεργείται το μικρόβιο (συνιστάται στο προσωπικό να φοράει ειδικά γυαλιά), και όταν τυχαία εισέρχονται σταγονίδια από το εμβόλιο στα μάτια των κτηνιάτρων κατά τον εμβολιασμό των ζώων. Επίσης κατά τον εμβολιασμό των ζώων μπορεί να τρυπηθούν οι κτηνίατροι και να αυτοεμβολιασθούν με αποτέλεσμα να νοσήσουν (Van Rooney M.M., 1981).

Μετάδοση από μεταμόσχευση μυελού - μετάγγιση:

Η βρουκέλλωση μπορεί να μεταδοθεί, αν μεταγγισθεί αίμα ή ληφθεί μυελός από πάσχοντα που έχει βακτηριαίμια (Wood E.E., 1955).

Διαπλακουντιακή μετάδοση:

Αναφέρεται στην βιβλιογραφία απο το 1941 κάθετη μετάδοση από πάσχουσα μητέρα στο έμβρυο διαμέσου του πλακούντα, καθώς και μετάδοση με τον μητρικό θηλασμό(Hagebusch O.E. and Frei C.F., 1941).

Οριζόντια μετάδοση:

Η οριζόντια μετάδοση στα ζώα είναι καλά τεκμηριωμένη (από ζώο σε ζώο) με την σεξουαλική επαφή. Στους ανθρώπους δεν υπάρχει τεκμηριωμένη οριζόντια μετάδοση. Υπάρχουν μεμονωμένες αναφορές που πιθανολογούν σεξουαλική μετάδοση, χωρίς να είναι τεκμηριωμένη με απομόνωση του μικροβίου στο σπέρμα(Goosens H., 1983).

Προγράμματα πρόληψης - εξάλειψης της βρουκέλλωσης:

Τα προγράμματα πρόληψης της βρουκέλλωσης στους ανθρώπους στηρίζονται κατά κύριο λόγο σε προγράμματα ελέγχου-εξάλειψης της βρουκέλλωσης στα ζώα. Στα βοοειδή συνήθως εφαρμόζεται πρόγραμμα ελέγχου (IDR ή ορολογικός) και σφαγής των θετικών ζώων (test and slaughter) και στα αιγοπρόβατα εφαρμόζεται πρόγραμμα εμβολιασμού με το εμβόλιο REV-1 των νεαρών ζώων (μικρότερα του ενός έτους)(Nicoletti P., 1989; Roux J. 1972). Υπάρχουν όμως σημαντικά προβλήματα στην εφαρμογή τους:

- 1) Έχουν σημαντικό κόστος: στην Αμερική υπολογίστηκε ότι για 20 χρόνια εφαρμογής του προγράμματος χρειάστηκαν 866.524.579\$ (Wise, 1980). Στην Ελλάδα το κόστος για ένα χρόνο το 1996 υπολογίστηκε κατά προσέγγιση σε 3.300.000.000 δρχ (στοιχεία Υπουργείου Γεωργίας) .
- 2) Χρειάζεται εξειδικευμένο προσωπικό.
- 3) Χρειάζονται διοικητικές και πολιτικές αποφάσεις.
- 4) Ενημέρωση και συνεργασία του πληθυσμού.
- 5) Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του προγράμματος με επιδημιολογικές έρευνες σε ανθρώπους και ζώα.
- 6) Συνεχής επαγρύπνηση για την καλή εφαρμογή του προγράμματος.

Τα πρακτικά προβλήματα στην εφαρμογή των προγραμμάτων είναι πολλά και διαφέρουν από χώρα σε χώρα. Στην Ελλάδα για παράδειγμα πολλοί κτηνοτρόφοι αρνούνται να εμβολιάσουν τα αιγοπρόβατά τους, διότι δεν παίρνουν το αναμενόμενο βάρος, παρά το ότι ο εμβολιασμός είναι υποχρεωτικός δια νόμου. Επίσης έχουμε λαθραία εισαγωγή μη ελεγμένων ζώων, πιθανώς μολυσμένων, από γειτονικές χώρες (Τουρκία, Αλβανία κλπ). Στην Ιταλία περνάει μεγάλος χρόνος από τον έλεγχο των βοοειδών μέχρι την σφαγή τους, με αποτέλεσμα τα θετικά ζώα να μολύνουν τα άλλα (country reports in MZCC/WHO, 1992).

Όπως είναι φανερό είναι δύσκολο να επιτευχθεί εκρίζωση του νοσήματος στα ζώα. Για τον λόγο αυτό και στους στόχους πια της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας είναι ο έλεγχος του νοσήματος στα ζώα και όχι η εκρίζωσή του (Joint FAO/WHO 1986).

Ανθρώπινα εμβόλια βρουκέλλωσης:

Όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, έχοντας σαν δεδομένο ότι είναι δύσκολη, αν όχι αδύνατη, η εκρίζωση του νοσήματος από τα ζώα είναι φανερό πως το ανθρώπινο εμβόλιο κατά της βρουκέλλωσης προτείνεται για την προστασία ατόμων που ευρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο να νοσήσουν (επαγγελματική έκθεση: Σφαγείς, Κτηνίατροι κλπ)(Roux J., 1972; Roux J. 1979). Σε ενδημικές περιοχές όπως είναι μερικές γεωργοκτηνοτροφικές περιοχές της Ελλάδος η νόσος δεν θεωρείται μόνον επαγγελματική. Σχεδόν το σύνολο του πληθυσμού έχει υψηλό κίνδυνο να νοσήσει είτε γιατί έχουν ζώα στο σπίτι για να καλύπτουν τις ανάγκες τους σε γαλακτοκομικά προϊόντα είτε με την κατανάλωση μη παστεριωμένων προϊόντων. Είναι αναγκαίο να αξιολογηθεί η συνεισφορά του μαζικού εμβολιασμού ατόμων σε ενδημικές περιοχές, όσον αφορά την πρόληψη της Βρουκέλλωσης στους ανθρώπους. Ο μαζικός εμβολιασμός ατόμων σε ενδημικές περιοχές θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν προληπτικό μέτρο πρώτης γραμμής, μέχρι να αποδώσουν τα μέτρα προγράμματος πρόληψης στα ζώα.

Έχουν γίνει προσπάθειες να κατασκευαστούν ανθρώπινα εμβόλια κατά της βρουκέλλωσης χρησιμοποιώντας νεκρούς μικροοργανισμούς ή ζωντανά εξασθενημένα στελέχη(Nicolle M. and Conseil E., 1923). Τα εμβόλια από νεκρούς μικροοργανισμούς δοκιμάστηκαν την δεκαετία του 1960 και αποδείχτηκε ότι προκαλούν ασθενή αντισωματική απάντηση η οποία δεν διαρκεί για μεγάλο χρονικό διάστημα (μερικούς μήνες)(Live I., 1958). Η προστατευτική τους ικανότητα ανεβρέθηκε ιδιαίτερα μικρή και για τον λόγο αυτό δεν συνιστάται η χρήση τους.

Τα εμβόλια που περιέχουν ζωντανούς εξασθενημένους μικροοργανισμούς αποδείχθηκαν αποτελεσματικά και έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως(Sumarakon A.A., 1984). Στην πρώην Σοβιετική Ένωση το 1952 έγινε μια εκστρατεία εμβολιασμού κατά την οποία, ανάμεσα στο διάστημα 1952-1958, εμβολιάστηκαν τρία εκατομμύρια με εμβόλιο που περιείχε ζωντανούς μικροοργανισμούς. Στο διάστημα αυτό η επίπτωση της βρουκέλλωσης στους ανθρώπους μειώθηκε κατά 59.5%, ενώ η επίπτωση του νοσήματος στα ζώα αυξήθηκε. Ο κίνδυνος οξείας βρουκέλλωσης από το εμβόλιο, αν και είναι μικρός, υπάρχει και καθιστά τη χρήση του προβληματική(Spink W. et al, 1962). Η βασική αντίθεση στην χρήση των εμβολίων αυτών προέρχεται από την δυνατότητά τους να προκαλούν αντιδράσεις υπερευαισθησίας.

Από το 1967 έχουν δοκιμαστεί εμβόλια που περιέχουν μόνο το αντιγονικό τμήμα του μικροβίου (Roux j., 1967). Ενώ θεωρούντο ασφαλή, χωρίς παρενέργειες, δεν είχε αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητά τους και η χρησιμότητά τους σε προγράμματα πρόληψης της βρουκέλλωσης.

Το ανθρώπινο εμβόλιο της βρουκέλλωσης (Pasteur-Merieux) το οποίο χρησιμοποιήθηκε στην μελέτη μας ανακαλύφθηκε το 1967 από τον Roux και τους συνεργάτες του και δοκιμάστηκε κλινικά σε ομάδες υψηλού κινδύνου. Επειδή περιέχει τμήμα του μικροβίου, διεγείρει κυρίως την χημική ανοσία και όχι

την κυτταρική. Έτσι, ενώ αποφεύγονται οι παρενέργειες που έχουν τα εμβόλια με ζωντανούς μικροοργανισμούς, δεν διεγείρονται τα κύτταρα μνήμης με αποτέλεσμα η ανοσία που παρέχουν να διαρκεί μικρό διάστημα (18 μήνες).(Bentejac M.C. et al 1984; Roux j., 1986) Μέχρι τη δική μας μελέτη το εμβόλιο είχε δοκιμαστεί κλινικά, με σκοπό να καταγραφούν οι παρενέργειες και η αποτελεσματικότητά του, σε ομάδες υψηλού κινδύνου (κτηνοτρόφοι, κτηνίατροι κλπ), χωρίς να υπάρχει ομάδα μαρτύρων, για να συγκριθούν οι παρενέργειες και η αποτελεσματικότητά(Ρoux j., 1989).

Τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες και με τη βοήθεια τεχνικών μοριακής βιολογίας για την ανίχνευση πρωτεϊνών και λιποπολυσακχαριτιδικών αντιγόνων, τα οποία θα χρησιμοποιηθούν σαν εμβόλια. Έχουν δοκιμαστεί σε πειραματόζωα διάφορα ανοσοδιεγερτικά αντιγόνα : Πρωτεΐνη του κυτταρικού τοιχώματος μαζί με λιποπολυσακχαριτιδικό αντιγόνο από την Βρουκέλλα *melitensis B115* (Zygmunt MS, 1994) και η πρωτεΐνη BCSP (*Brucella abortus* 19 salt extracted proteins), η οποία χρησιμοποιήθηκε από τον Pugh GW (1994) και τους συνεργάτες του. Οι μελέτες αυτές είναι σε καθαρά πειραματικό στάδιο και θα περάσουν πολλά χρόνια, πριν να γίνουν δοκιμές σε ανθρώπινο πληθυσμό έχοντας μάλιστα δεδομένο το μειωμένο εμπορικό ενδιαφέρον των φαρμακευτικών βιομηχανιών για ένα εμβόλιο βρουκέλλωσης.

Μηχανογραφημένη χαρτογράφηση:

Η χαρτογράφηση αποδείχθηκε ένα χρήσιμο εργαλείο στην επιδημιολογική έρευνα. Η τεχνική της χαρτογράφησης χρησιμοποιήθηκε αρχικά σε μικροτοπικές κατανομές (επίπεδο μικρής περιοχής χωριού) και συγκεκριμένα για την επιδημιολογική διερεύνηση λοιμωδών νοσημάτων. Κλασικά παραδείγματα όπου χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος είναι τα πιο κάτω:

1) Η διερεύνηση της επιδημίας χολέρας που έγινε το 1854 στο Λονδίνο από τον Snow: Ο μεγάλος αυτός ερευνητής που θεωρείται από πολλούς και πατέρας της επιδημιολογίας τοποθέτησε τα κρούσματα χολέρας (σαν σημεία) σε κάθε οικοδομικό τετράγωνο περπατώντας στο Λονδίνο για πολλές μέρες. Επίσης τοποθετήθηκε στο χάρτη το σύστημα ύδρευσης της πόλης. Παρατηρήθηκε ότι κρούσματα υπήρχαν σε περιοχές που έπαιρναν νερό από μια συγκεκριμένη εταιρεία ύδρευσης. Πρέπει να σημειωθεί ότι την εποχή εκείνη στο Λονδίνο υπήρχαν δυο διαφορετικές εταιρείες ύδρευσης. Έτσι συνδυάστηκε η μετάδοση του νοσήματος με την κατανάλωση μολυσμένου νερού(Snow J., 1965).

2) Η επιδημιολογική διερεύνηση του ενδημικού τύφου στην Αλαμπάμα το 1922: Τα κρούσματα τοποθετήθηκαν σα σημεία στο μικροτοπικό χάρτη της περιοχής χρησιμοποιώντας τον τόπο διαμονής των πασχόντων που δεν εργάζονταν και τον τόπο εργασίας των εργαζομένων. Όπως φαίνεται και στο σχήμα τα κρούσματα παρουσιάζουν αυξημένη συγκέντρωση σε ένα εργοστάσιο. Τελικά η πηγή της μόλυνσης θεωρήθηκε η καντίνα του εργοστασίου(Maxcy K.F., 1926).

Με τα παραδείγματα αυτά είναι φανερό η χρησιμότητα της χαρτογράφησης στην ανεύρεση παραγόντων κινδύνου που σχετίζονται με το νόσημα καθώς και την ανεύρεση της πιθανής πηγής μόλυνσης. Η μεθοδολογία αυτή όμως είχε μερικά μειονεκτήματα:

α) Στους χάρτες δε λαμβανόταν υπόψη η πυκνότητα του πληθυσμού με αποτέλεσμα να υπάρχει ο κίνδυνος, επειδή χρησιμοποιούντο τα σημεία για τα κρούσματα να φανούν πλασματικές συγκεντρώσεις κρουσμάτων (να οφείλονται σε αυξημένη πυκνότητα πληθυσμού).

β) Είναι περιορισμένη η δυνατότητα απεικόνισης διαφόρων παραγόντων κινδύνου στους χάρτες ταυτόχρονα με την απεικόνιση των κρουσμάτων.

γ) Η μέθοδος απαιτούσε πολύ χρόνο και ήταν δύσκολο να αναπαραχθεί, αν χρησιμοποιούνταν άλλα στοιχεία ή άλλοι παράγοντες κινδύνου.

Τα πρόσφατα επιτεύγματα στον τομέα των ηλεκτρονικών υπολογιστών και συγκεκριμένα στις γραφικές απεικονίσεις, έδωσαν νέα ώθηση και νέους ορίζοντες στη μεθοδολογία της χαρτογράφησης(Openshaw S., 1995). Η μηχανογραφημένη χαρτογράφηση (ΜΧ) χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα σε πολλούς τομείς σε επίπεδο χώρας - νομού. Στον καρκίνο χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία χαρτών θνησιμότητας ταυτόχρονα με την απεικόνιση παραγόντων κινδύνου, με στόχο να συνδεθεί το νόσημα με συγκεκριμένο παράγοντα κινδύνου

(Manson T.J. et al, 1975; Jenkins C.D., 1983; Beral V., 1990;). Ακόμα η ΜΧ σε επίπεδο νομού χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη λοιμωδών νόσων (π.χ. ελονοσία)(Kitron V. et al, 1994; Bhopal R.S. et al, 1991, Openshaw S., 1996) και από τα τμήματα δημόσιας υγείας διαφόρων χωρών (CDC ΗΠΑ κλπ.)(Nimmo A.W., 1989; Garson G.D., 1992; Dean J.A. et al, 1993). Με τη βοήθεια της ΜΧ απεικονίζονται τα κρούσματα των λοιμωδών νοσημάτων ανά νομό και γίνεται προσπάθεια ανεύρεσης περιοχών υψηλού κινδύνου, για να ληφθούν δραστικά μέτρα πρόληψης. Επίσης γίνεται σύγκριση των κρουσμάτων με τα προηγούμενα χρόνια. Ένας άλλος τομέας που χρησιμοποιήθηκε η ΜΧ ήταν στην μελέτη των ατυχημάτων (Martinez B.F. et al, 1989), όπου απεικονίζοντας τα τροχαία ατυχήματα ανά νομό έγινε δυνατό να εντοπιστούν δρόμοι υψηλού κινδύνου για ατυχήματα.

Παρά την ευρεία χρήση της ΜΧ σε επίπεδο νομού - χώρας δεν υπάρχει μεγάλη εμπειρία στη χρησιμοποίησή της σε απεικόνιση μικρής περιοχής (π.χ. χωριό - προάστιο). Ένα δημοσιευμένο άρθρο (Difford F., 1985) αναφέρεται απλά στη γραφική απεικόνιση (όχι σε οθόνη, αλλά σε χάρτη) της επίπτωσης της νοσηρότητας σε μικρή περιοχή ενός γενικού γιατρού.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η βρουκέλλωση, είναι ζωνόσος με παγκόσμια εξάπλωση. Ο μικροοργανισμός που προκαλεί το νόσημα είναι η βρουκέλλα και ειδικότερα στη περιοχή της μεσογείου, η βρουκέλλα *melitensis*, που μεταδίδεται από τα αιγοπρόβατα στους ανθρώπους (Joint FAO/WHO 1986; Plommet M., 1992). Η καταπολέμηση-πρόληψη του νοσήματος αυτού, είναι αναγκαία τόσο στα ζώα (μειωμένη παραγωγικότητα - απώλεια εσόδων), όσο και στους ανθρώπους (νοσηρότητα-θνητότητα). Βασικός στόχος των προγραμμάτων πρόληψης της βρουκέλλωσης είναι η καταπολέμηση του νοσήματος στα ζώα (κεντρικός κρίκος της επιδημιολογικής αλυσίδας), με αποτέλεσμα έτσι, την πρόληψή του και στους ανθρώπους. Τα προγράμματα αυτά είναι μακροχρόνια, δύσκολα στην εφαρμογή τους και χρειάζονται πολλές παροχές σε χρήμα και όχι λίγο ανθρώπινο δυναμικό. Επίσης, βασική προϋπόθεση, είναι η αυστηρή τήρηση των προγραμμάτων και η καλή συνεργασία των κτηνιατρικών υπηρεσιών με τους κτηνοτρόφους (Nicoletti P. 1989b). Τα περισσότερα προγράμματα πρόληψης, ακόμα και σε ανεπτυγμένες χώρες, έχουν αρχικά εντυπωσιακά αποτελέσματα (μειώνουν τον επιπολασμό του νοσήματος στα ζώα), αλλά με την πάροδο του χρόνου τα μέτρα χαλαρώνουν και έτσι το νόσημα δεν εξαλείφεται από το ζωικό πληθυσμό. Επίσης σε πολλές χώρες, μετά από μια αρχική επιτυχή πορεία των προγραμμάτων, παρατηρείται αύξηση του επιπολασμού του νοσήματος στα ζώα μετά από τη χαλάρωση των μέτρων. Ένας άλλος παράγοντας, ο οποίος είναι σημαντικός στην εξάπλωση του νοσήματος στα ζώα, είναι το εμπόριο των ζώων και, πολλές φορές, το παράνομο εμπόριο. Μόνο χώρες μικρές ή χώρες με πολύ καλά οργανωμένη κτηνιατρική υπηρεσία, κατάφεραν να εξαλείψουν το νόσημα και να θεωρούνται από την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας σαν υποδειγματικές. Η Κύπρος είναι ένα τέτοιο παράδειγμα, γιατί εφαρμόζοντας πρόγραμμα ελέγχου και σφαγής των ζώων (Test and slaughter), κατάφερε να γίνει χώρα ελεύθερη βρουκέλλωσης το 1985 (Poloydorou K., 1982). Όμως, και σε αυτή τη μικρή χώρα, το 1993, παρουσιάστηκαν κρούσματα στα ζώα και στους ανθρώπους, μετά από παράνομη εισαγωγή ζώων (Προσωπική επικοινωνία). Έτσι, πολλές χώρες στηρίζουν τις ελπίδες τους για πρόληψη του νοσήματος σε καλά οργανωμένα συστήματα παρακολούθησης και επιτήρησης (surveillance systems) τόσο στους ανθρώπους, όσο και στα ζώα (Hadjichristodoulou Ch., 1993). Στην Ελλάδα, εφαρμόζεται από το 1975 πρόγραμμα εμβολιασμού των νεαρών αιγοπροβάτων, ηλικίας 3-5 μηνών, με εμβόλιο REV 1 (Γιαντζής Δ.Γ., 1984), και γίνεται υποχρεωτική καταγραφή των κρουσμάτων στους ανθρώπους.

Όπως και στις άλλες χώρες, έτσι και στην Ελλάδα, το πρόγραμμα εμβολιασμού των ζώων, αρχικά παρουσίασε επιτυχία (μείωση του επιπολασμού στα ζώα και μείωση της επίπτωσης στους ανθρώπους), αλλά στην Ελλάδα είναι

δύσκολο να εφαρμοστούν μέτρα πρόληψης μακροχρόνια. Πολλοί κτηνοτρόφοι αρνούνται να εμβολιάσουν τα ζώα τους, επειδή δεν αυξάνουν το αναμενόμενο βάρος μετά τον εμβολιασμό και βρίσκουν γνωστούς τρόπους για την Ελληνική κοινωνία, για να αποφύγουν την εφαρμογή του νόμου.

Όσον αφορά την καταγραφή των κρουσμάτων στους ανθρώπους, γίνεται από το υπουργείο Υγείας, πολύ πρόχειρα, χωρίς προγραμματισμό, όπως γίνεται για όλα τα λοιμώδη νοσήματα. Το πιο σημαντικό δε, είναι ότι τα στοιχεία συλλέγονται, για να συλλέγονται και μόνον. Στην ουσία, δε χρησιμοποιούνται, όπως πρέπει να χρησιμοποιούνται (αναζήτηση επιδημιών, αξιολόγηση προληπτικών προγραμμάτων, αναζήτηση κρουσμάτων στα ζώα κλπ.), αλλά γράφονται σε ένα μηνιαίο δελτίο, που αποστέλλεται σε κάποιες υπηρεσίες όχι τυπωμένο, αλλά γραμμένο ιδιοχειρώς, μέχρι και 6 μήνες μετά την ημερομηνία στην οποία αναφέρεται.

Μερικές γεωργοκτηνοτροφικές περιοχές στην Ελλάδα, θεωρούνται ενδημικές για τη βρουκέλλωση. Ενδεικτικά αναφέρουμε ότι τη δεκαετία πριν από τη μελέτη δηλώθηκαν στο υπουργείο Υγείας, 5958 κρούσματα στους ανθρώπους, τα περισσότερα σε γεωργοκτηνοτροφικές περιοχές. Όπως είναι γνωστό, για όλα τα λοιμώδη η καταγραφή είναι μικρότερη των πραγματικών κρουσμάτων(Klauke D.N. et al, 1988). Πολλοί ερευνητές, θεωρούν τα πραγματικά κρούσματα 10-20 φορές περισσότερα από τα δηλωθέντα κρούσματα στις αρχές(Wise R.I., 1980; Foulon G., 1981). Έτσι, φαίνεται καθαρά ότι η επίπτωση του νοσήματος σε γεωργοκτηνοτροφικές περιοχές για την περίοδο αυτή, πρέπει να ήταν μεγάλη. Επίσης, οροεπιδημιολογικές μελέτες(Μανέτας Σ., 1984) έδειξαν ότι ορισμένες γεωργο-κτηνοτροφικές περιοχές, είχαν υψηλή οροθετικότητα στους ανθρώπους.

Γνωρίζοντας την Ελληνική πραγματικότητα, αποφασίσαμε να εντοπίσουμε μια γεωργοκτηνοτροφική περιοχή με μεγάλη επίπτωση στους ανθρώπους και να εφαρμόσουμε πρόγραμμα το οποίο περιελάμβανε:

- 1) Επιδημιολογική μελέτη για την εκτίμηση των παραγόντων κινδύνου μετάδοσης του νοσήματος από τα ζώα στους ανθρώπους.**
- 2) Δοκιμαστική εφαρμογή του ανθρώπινου εμβολίου για τη βρουκέλλωση, με σκοπό τη καταγραφή των παρενεργειών και της αποτελεσματικότητάς του,**
- 3) Εγκατάσταση συστήματος παρακολούθησης και επιτήρησης του νοσήματος στη περιοχή, τόσο στους ανθρώπους όσο και στα ζώα:**
στόχος του συστήματος παρακολούθησης ήταν η ανεύρεση ζωνών ελεύθερων βρουκέλλωσης και στη συνέχεια η προστασία τους, σύμφωνα με τις προτάσεις της επιτροπής της WHO το 1986 για την καταπολέμηση της βρουκέλλωσης(Joint FAO/WHO 1986).

Για να υλοποιήσουμε τους στόχους μας, αποφασίσαμε να δημιουργήσουμε Πρόγραμμα Μηχανογραφημένης Χαρτογράφησης (ΠΜΧ).

Μηχανογραφημένη Χαρτογράφηση:

Η Χαρτογράφηση έχει αποδειχτεί ένα ισχυρό εργαλείο στην επιδημιολογική έρευνα. Η τοποθέτηση των κρουσμάτων σε χάρτες βοηθά στη διερεύνηση της σχέσης των κρουσμάτων με το χώρο (συγκέντρωση κρουσμάτων σε μια περιοχή- case clustering).

Οι τελευταίες εξελίξεις στον τομέα της πληροφορικής και των γραφικών τεχνών απλοποίησαν τη μεθοδολογία και είχαν σαν αποτέλεσμα τη μεγάλη χρήση της Μηχανογραφημένης Χαρτογράφησης σε επίπεδο νομού. Οι εφαρμογές της ΜΧ στηρίχτηκαν στην απεικόνιση διοικητικών περιοχών (νομοί - boundaries) οι οποίες χρωματίζονται ανάλογα με την επίπτωση του υπό μελέτη νοσήματος. Για να διαπιστωθεί, αν υπάρχει στατιστικά σημαντική αύξηση της επίπτωσης σε ένα νομό ή περιοχή, χρησιμοποιήθηκαν διάφορες στατιστικές δοκιμασίες (δοκιμασία χ^2 test, autocorrelation, Baysien Statistics) στηριζόμενες πάντα στην χρήση των νομών (boundaries)(Walder S.D.,1992; Bernardinelli M. and Montomoli C., 1992; Walter S.D., 1993; Sjurdur F.O. et al, 1996). Όμως τα όρια των νομών είναι τεχνητά και δεν υπάρχουν στην πραγματικότητα. Έτσι, όταν ένας νομός -περιοχή έχει μικρό πληθυσμό, υπάρχει περίπτωση να διαπιστωθεί αύξηση των κρουσμάτων, η οποία οφείλεται αποκλειστικά στον παράγοντα της τύχης.

Παρά τη μεγάλη χρήση της ΜΧ σε επίπεδο χώρας και νομού, δεν υπήρχε εμπειρία στη χρησιμοποίηση της ίδιας τεχνικής σε μικρές περιοχές(χωριά, συνοικίες κλπ.). Πολύ περισσότερο δεν υπήρχε εμπειρία ενός ολοκληρωμένου συστήματος το οποίο, να ξεκινά από τη μικρή περιοχή (χωριά) και να φτάνει σε επίπεδο χώρας.

Επειδή ήταν δύσκολο να μετατρέψουμε ένα από τα ελάχιστα προγράμματα χαρτογράφησης που υπήρχαν τότε στην αγορά (1989), αποφασίσαμε να δημιουργήσουμε το Πρόγραμμα Μηχανογραφημένης Χαρτογράφησης (ΠΜΧ) σταδιακά, για να καλυφθούν όλες οι ανάγκες της μελέτης. Κατά τη δημιουργία του ΠΜΧ δόθηκε ιδιαίτερη σημασία στο να μην απαιτούνται μεγάλες δυνατότητες από πλευράς υπολογιστών (IBM-PC Compatible 286, Portable etc.). Επίσης, το πρόγραμμα να είναι φιλικό στη χρήση, για να μην απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό να το χρησιμοποιεί. Τέλος, έπρεπε να είμαστε μέσα στα οικονομικά πλαίσια του ερευνητικού προγράμματος. Σήμερα μπορεί κάποιος να κάνει Μηχανογραφημένη Χαρτογράφηση, χρησιμοποιώντας στοιχεία από δορυφορικά συστήματα (GPS Satellite), αλλά ποιο θα είναι το κόστος και ποιο το όφελος στη χρήση της χαρτογράφησης στην επιδημιολογία. Ακόμα πρέπει να αναλογιστούμε, αν είναι αναγκαία η ακρίβεια που παρέχουν τα συστήματα αυτά στην επιδημιολογική έρευνα.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Το ερευνητικό πρόγραμμα αποτελείτο από 3 υπομελέτες οι οποίες εκτελέστηκαν κατά διαστήματα παράλληλα, για να εξυπηρετούνται ταυτόχρονα κοινά στάδια (συλλογή υλικού και μηνιαίες επισκέψεις). Οι 3 υπομελέτες ήταν:

- 1) **Επιδημιολογική μελέτη βρουκέλλωσης.**
- 2) **Μελέτη ασφαλείας και αποτελεσματικότητας του εμβολίου της βρουκέλλωσης και της ενδοδερμικής αντίδρασης .**
- 3) **Μελέτη παρακολούθησης επιτήρησης στον ανθρώπινο και ζωικό πληθυσμό της περιοχής (Surveillance-Long Term Monitoring System).**

Χρονικά το ερευνητικό πρόγραμμα χωρίστηκε σε δύο φάσεις, την πρώτη και την δεύτερη φάση, όπως φαίνεται στα Διαγράμματα 1 και 2.

Α' ΦΑΣΗ

Άρχισαν ταυτόχρονα η επιδημιολογική μελέτη και η μελέτη ασφαλείας και αποτελεσματικότητας του εμβολίου της βρουκέλλωσης. Η συλλογή υλικού προγραμματίστηκε έτσι, ώστε να εξυπηρετηθούν ταυτόχρονα και τα δύο πρωτόκολλα.

Όπως φαίνεται στα διαγράμματα 1 και 2 τόσο τα αποτελέσματα της ενδοδερμικής αντίδρασης, όσο και τα αποτελέσματα των ορολογικών εξετάσεων, χρησιμοποιήθηκαν και στις δύο μελέτες. Χρησιμοποιήθηκαν ξεχωριστά ερωτηματολόγια για την κάθε μελέτη τα οποία συμπληρώθηκαν ταυτόχρονα. Επίσης η Μηχανογραφημένη χαρτογράφηση χρησιμοποιήθηκε με διαφορετικό τρόπο σε κάθε μελέτη.

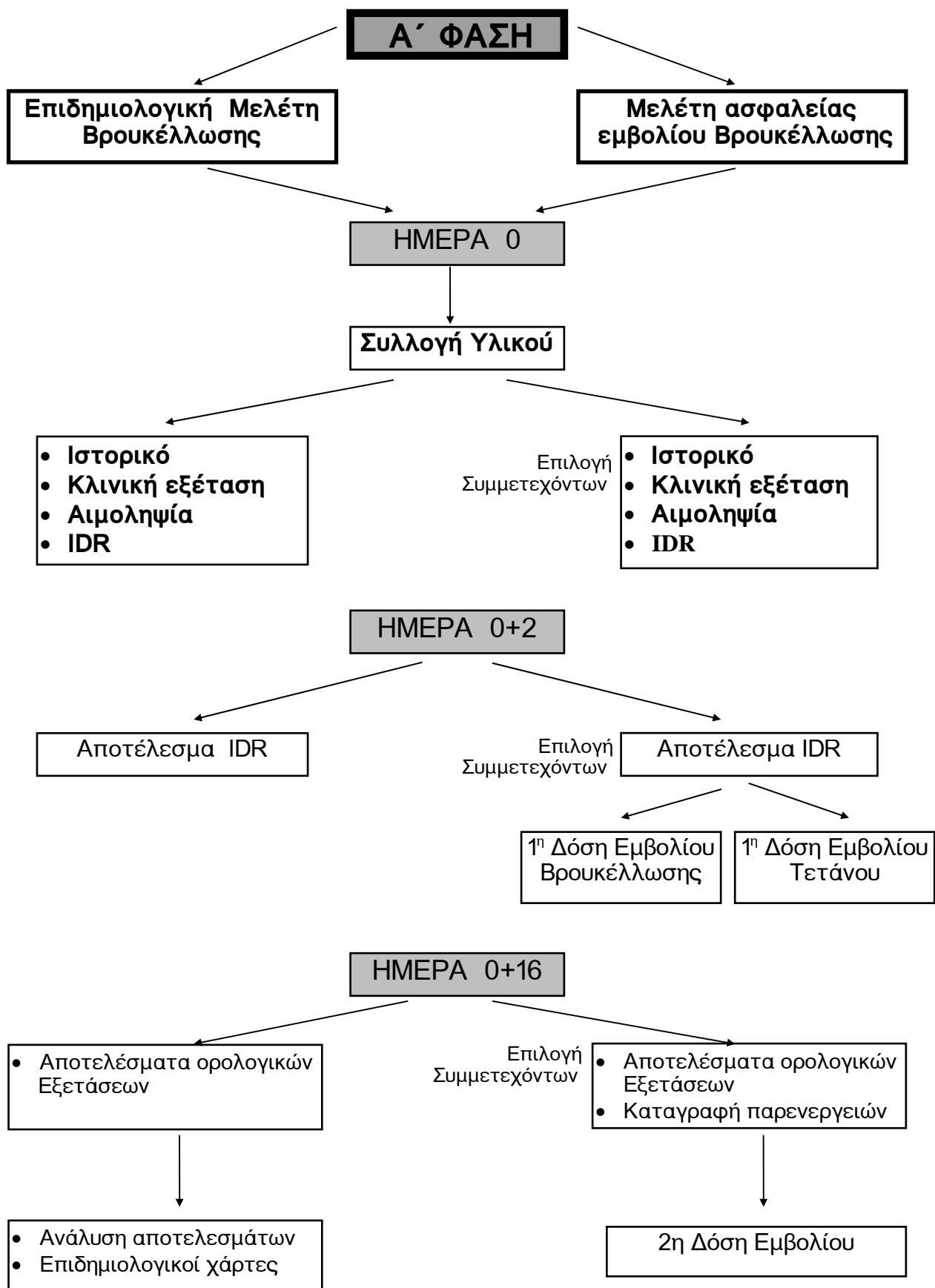
Β' ΦΑΣΗ

Η φάση αυτή ακολούθησε αμέσως μετά τη συλλογή του υλικού και περιελάμβανε τις μηνιαίες επισκέψεις από γιατρούς και κτηνιάτρους του προγράμματος στα χωριά, που συμμετείχαν στην έρευνα, με δύο στόχους:

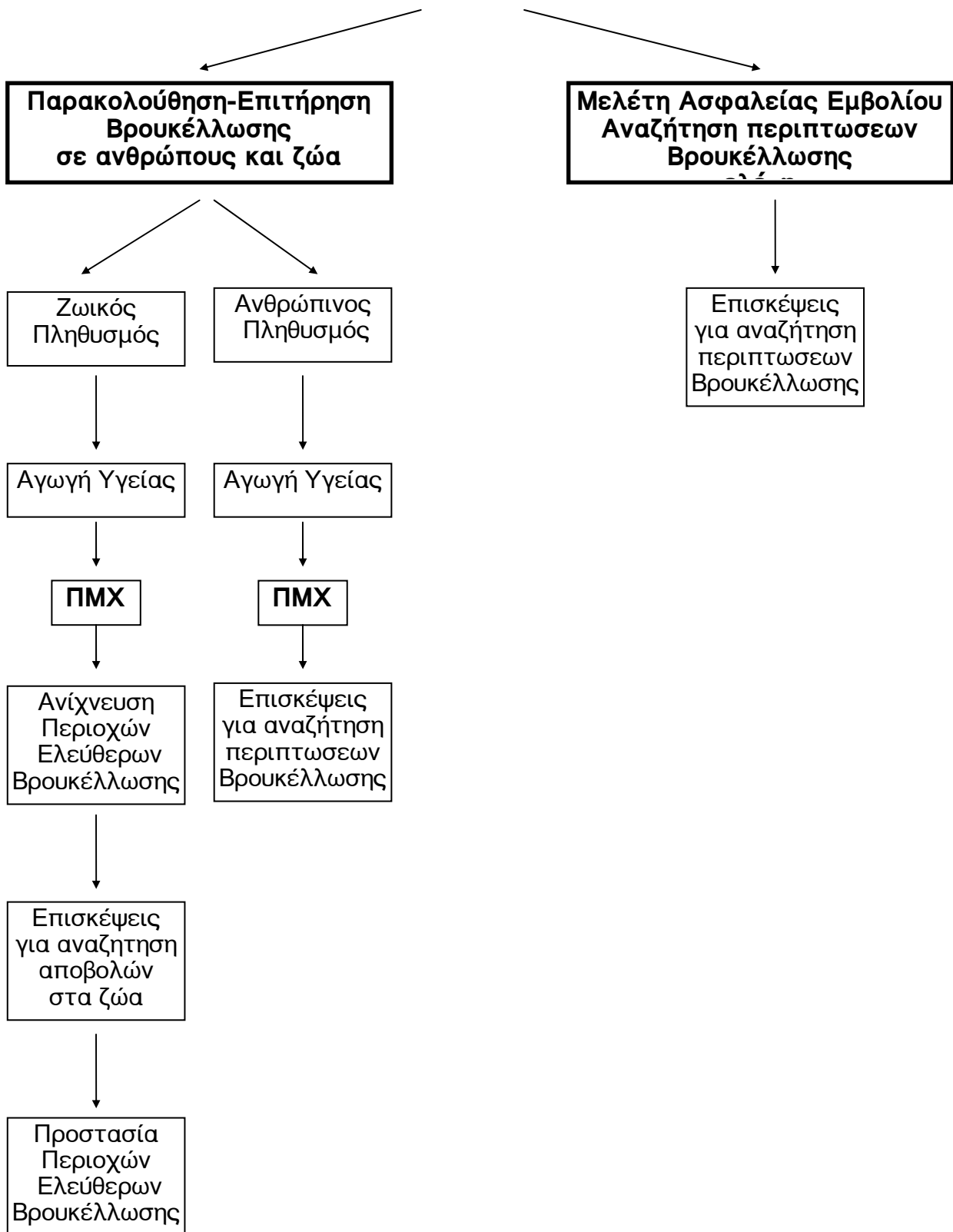
α) Αναζήτηση περιπτώσεων βρουκέλλωσης στους συμμετέχοντες στο πρωτόκολλο ασφαλείας και αποτελεσματικότητας του εμβολίου της βρουκέλλωσης. Οι μηνιαίες επισκέψεις διήρκεσαν 18 μήνες.

β) Συλλογή στοιχείων από τον υπόλοιπο πληθυσμό που συμμετείχε στη μελέτη επιτήρησης - παρακολούθησης της βρουκέλλωσης στη περιοχή. Οι μηνιαίες επισκέψεις διήρκεσαν 18 μήνες και στη συνέχεια ακολούθησαν

επισκέψεις ανά 2 μήνες οι οποίες συνεχίστηκαν για 30 μήνες (συνολικά 4 χρόνια). Η μελέτη άρχισε τον Ιανουάριο του 1989 και τελείωσε το Φεβρουάριο του 1993.



Β΄ ΦΑΣΗ



Στόχοι ερευνητικού προγράμματος:

1) Επιδημιολογική μελέτη βρουκέλλωσης:

- α) Εκτίμηση της έκτασης του προβλήματος στη περιοχή (υπολογισμός επιπολασμού)
- β) Αναζήτηση παραγόντων κινδύνου για τη μετάδοση του νοσήματος στη περιοχή
- γ) Αναζήτηση ύπαρξης κοινής πηγής μόλυνσης για τα ζώα (στάβλοι) και για τους ανθρώπους (τυροκομεία - σφαγεία)
- δ) Αναζήτηση της μικρής περιοχής (χωριό, στάβλος κλπ.), στην οποία πρωτοεμφανίστηκε το νόσημα, και του τρόπου με τον οποίο εξαπλώθηκε στη περιοχή.
- ε) Δημιουργία και δοκιμή συστήματος ΠΜΧ, για να εξυπηρετηθούν οι πιο πάνω στόχοι.
- στ) Με βάση τα αποτελέσματα, δημιουργία συγκεκριμένων προτάσεων παρέμβασης, με σκοπό τη πρόληψη του νοσήματος.

2)Μελέτη ασφάλειας και αποτελεσματικότητας και του ανθρωπίνου εμβολίου της βρουκέλλωσης:

- α) Εκτίμηση των παρενεργειών του εμβολίου και σύγκρισή τους με άλλες μελέτες που έγιναν στο παρελθόν.
- β) Εκτίμηση της αποτελεσματικότητας του εμβολίου, υπολογίζοντας το ποσοστό προστασίας που παρέχει στους εμβολιασμένους (Vaccine Efficacy).
- γ) Αξιολόγηση της θέσης που μπορεί να έχει ένα εμβόλιο για τους ανθρώπους σε ένα πρόγραμμα πρόληψης της βρουκέλλωσης.
- δ) Δοκιμαστική χρήση του ΠΜΧ στις μηνιαίες επισκέψεις.

3)Μελέτη παρακολούθησης - επιτήρησης της βρουκέλλωσης στον ανθρώπινο και ζωικό πληθυσμό της περιοχής(Surveillance-long term Monitoring System):

- α) Εκτίμηση της επίπτωσης του νοσήματος στη συγκεκριμένη περιοχή και σύγκριση της επίπτωσης με αυτή που προέρχεται από τα δηλωμένα κρούσματα του υπουργείου Υγείας.
- β) Σύγκριση της επίπτωσης στην υπό μελέτη περιοχή με άλλη περιοχή μάρτυρα, στην οποία δεν είχε γίνει καμία παρέμβαση.
- γ) Εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των προγραμμάτων παρακολούθησης - επιτήρησης του νοσήματος συνδυασμένων με αγωγή υγείας.
- δ) Δοκιμαστική χρήση του ΠΜΧ στην ανίχνευση και προστασία ζωνών ελευθέρων βρουκέλλωσης.

Επειδή η Μηχανογραφημένη Χαρτογράφηση κατέχει κεντρική θέση κλειδί στο ερευνητικό πρόγραμμα και συνδέεται και με τις τρεις μελέτες, θεωρούμε σκόπιμο να περιγραφεί αρχικά η ΜΧ και στη συνέχεια η μεθοδολογία που αναφέρεται στις τρεις μελέτες.

Μεθοδολογία Χαρτογράφησης

Όπως αναφέραμε και στον πρόλογο, το πρόγραμμα δημιουργήθηκε από την αρχή βήμα-βήμα, για να καλύψει όλες τις ανάγκες του ερευνητικού προγράμματος. Το ΠΜΧ ήταν το κεντρικό πρόγραμμα στη μηχανογράφηση, αλλά πλαισιώθηκε από 20 άλλα μικρότερα προγράμματα, για να καλυφθούν οι ανάγκες της μελέτης. Δημιουργήθηκαν προγράμματα καταχώρησης , επιλογής και παρακολούθησης των συμμετεχόντων. Επίσης η συλλογή του υλικού υποστηρίχτηκε πλήρως μηχανογραφικά: μηχανογραφημένο ερωτηματολόγιο, αλφαβητική λίστα πληθυσμού, εκτύπωση προσωπικής κάρτας παρακολούθησης συμμετεχόντων, εκτύπωση ετικετών κλπ. Πρέπει να τονιστεί ότι η μελέτη ήταν πλήρως μηχανογραφημένη σε κάθε στάδιο της, για να γίνει δυνατή η επίτευξη των στόχων που τέθηκαν.

Γλώσσα Προγραμματισμού - Μηχανογραφικό Υλικό

Το πρόγραμμα δημιουργήθηκε με τη χρησιμοποίηση της γλώσσας προγραμματισμού Turbo Pascal, γιατί κρίθηκε από τον συμμετέχοντα ερευνητή-προγραμματιστή ότι υποστηρίζει καλύτερα τις γραφικές παραστάσεις. Έγινε ιδιαίτερη προσπάθεια να θέσουμε χαμηλές απαιτήσεις σε μηχανογραφικό υλικό (Υπολογιστής, scanner κλπ.) με τα δεδομένα της εποχής εκείνης. Έτσι αποφασίστηκε το πρόγραμμα να μπορεί να λειτουργεί σε υπολογιστές 80286, με CGA οθόνη αρχικά και στην συνέχεια με οθόνη VGA και με ελάχιστη χωρητικότητα σκληρού δίσκου 20 MB. Σήμερα, αυτές οι απαιτήσεις είναι πολύ μικρές και ελάχιστα από τα καινούρια προγράμματα μπορούν να λειτουργήσουν με τέτοιο μηχανογραφικό υλικό.

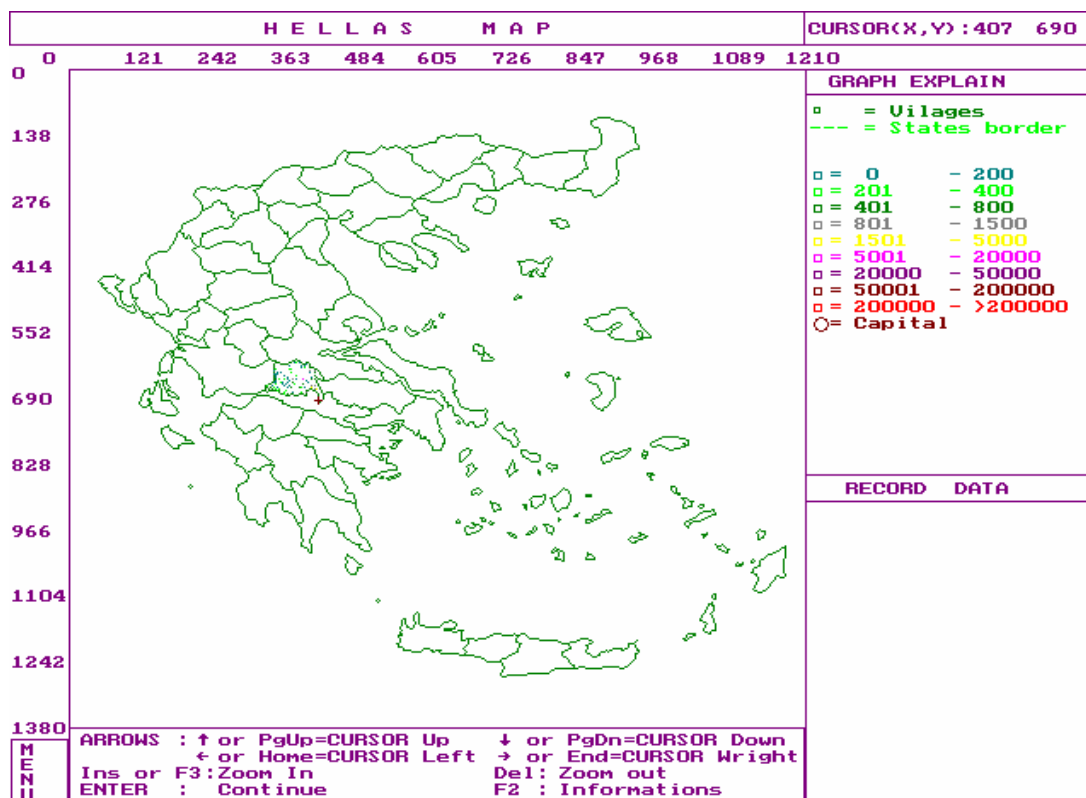
Το ΠΜΧ σχεδιάστηκε με τέτοιο τρόπο, ώστε να είναι φιλικό στη χρήση, για να αποφευχθεί η αναγκαιότητα χρησιμοποίησης ειδικά εκπαιδευμένου προσωπικού, για να το χειρίζεται. Το πρόγραμμα, στηρίζεται στη φιλοσοφία χρησιμοποίησης συντεταγμένων των σημείων τα οποία ενώνονται και μας δημιουργούν την απεικόνιση που θέλουμε, όπως για παράδειγμα την απεικόνιση της Ελλάδας με τους νομούς της και την απεικόνιση των τοπογραφικών. Οι συντεταγμένες των σημείων μπορούν να υπολογιστούν είτε χρησιμοποιώντας digitizer είτε scanner και ειδικό πρόγραμμα επεξεργασίας εικόνας. Ακόμα μπορεί να υπολογιστούν και με απλά μέσα: χρησιμοποιώντας ένα χάρακα τετραγωνίζοντας ένα χάρτη ή ένα τοπογραφικό και ορίζοντας ένα άξονα σαν Χ και ένα άξονα σαν Ψ. Η απαιτούμενη ακρίβεια που θέσαμε για τις ανάγκες του προγράμματος ήταν τέτοια ώστε, να ικανοποιεί τις ανάγκες μιας επιδημιολογικής έρευνας και όχι μιας τοπογραφικής μελέτης ή μιας αυστηρά γεωγραφικής χρήσης. Το πρόγραμμα αυτό είναι συνδεδεμένο με μια βάση δεδομένων ευμετάβλητη, στην οποία μπορεί να καταχωρηθούν στοιχεία που αφορούν ένα λοιμώδες νόσημα ή στοιχεία που αφορούν κατοίκους μιας συγκεκριμένης περιοχής και αυτά τα στοιχεία στη συνέχεια να απεικονιστούν στους χάρτες που δημιουργούνται από το πρόγραμμα. Το πρόγραμμα αποτελείται από 3 υποπρογράμματα και ανάλογες βάσεις δεδομένων:

- α) Master.exe**
- β) Analysis.exe**
- γ) Dbase.exe**

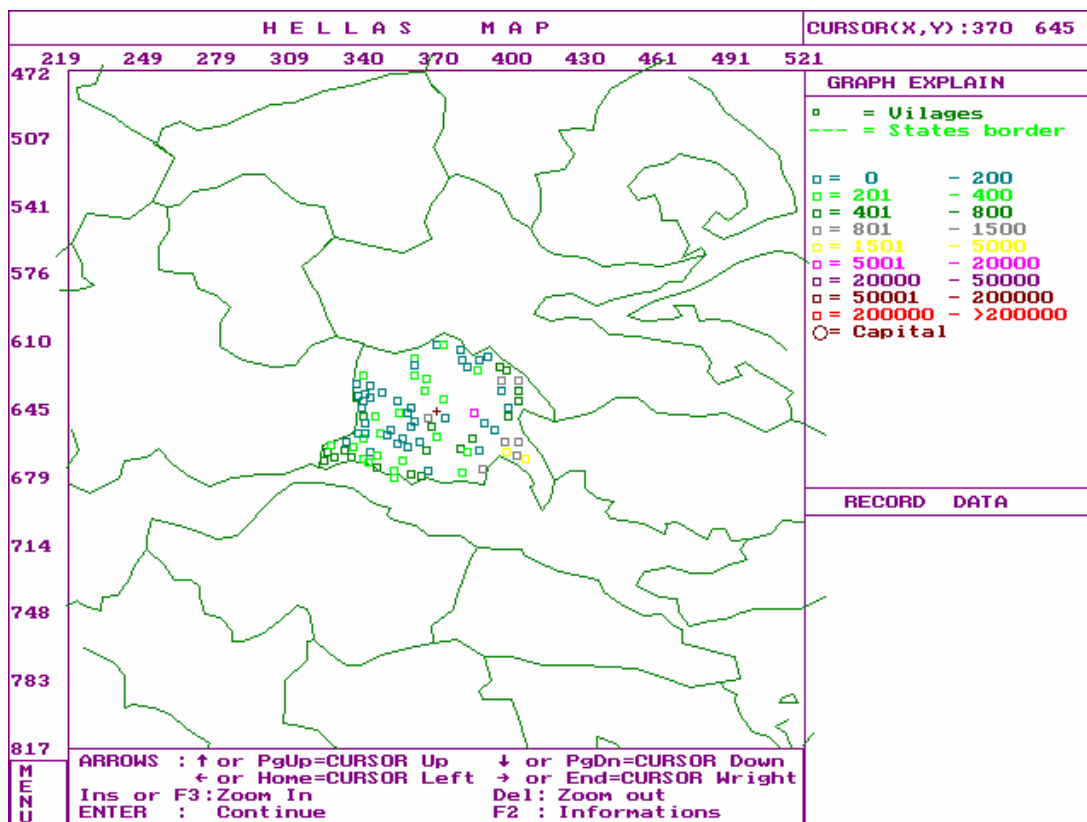
α)Μηχανογραφημένη χαρτογράφηση της Ελλάδας σε επίπεδο νομού (Master.exe)

Για να δημιουργηθεί το μηχανογραφημένο περίγραμμα της Ελλάδας υπολογίσθηκαν οι συντεταγμένες των σημείων αρχικά τετραγωνίζοντας ένα χάρτη της Ελλάδος και στη συνέχεια βελτιώθηκε η ακρίβεια των συντεταγμένων με τη χρησιμοποίηση προγράμματος επεξεργασίας εικόνας και dijidizer. Καταχωρήθηκαν οι συντεταγμένες των σημείων που σχηματίζουν το περίγραμμα της Ελλάδας και τα όρια των νομών. Στους νομούς καταχωρήθηκαν οι συντεταγμένες των χωριών που υπάρχουν σε κάθε νομό. Με την κατάλληλη επεξεργασία έγιναν οι πρώτες απεικονίσεις του χάρτη της Ελλάδας (Σχήμα 1). Ο χάρτης ο οποίος δημιουργήθηκε συνδέθηκε αρχικά με βάση δεδομένων η οποία αφορούσε το όνομα του κάθε χωριού, τον πληθυσμό του, το υψόμετρό του τον αριθμό των ζώων και άλλων επιδημιολογικών παραγόντων. Παίρνοντας στοιχεία από τη βάση δεδομένων γίνονται οι πρώτες απεικονίσεις σε επίπεδο χώρας (πληθυσμός νομού) και σε επίπεδο νομού (πληθυσμός χωριών). Πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχει η δυνατότητα μεγέθυνσης της εικόνας σε μία γεωγραφική περιοχή της Ελλάδας που θα επιλεγεί ή και αυτούσιου ενός νομού ο οποίος θα μεγεθυνθεί και θα απεικονίζεται με τα χωριά και τις πόλεις του(Σχήμα 2).

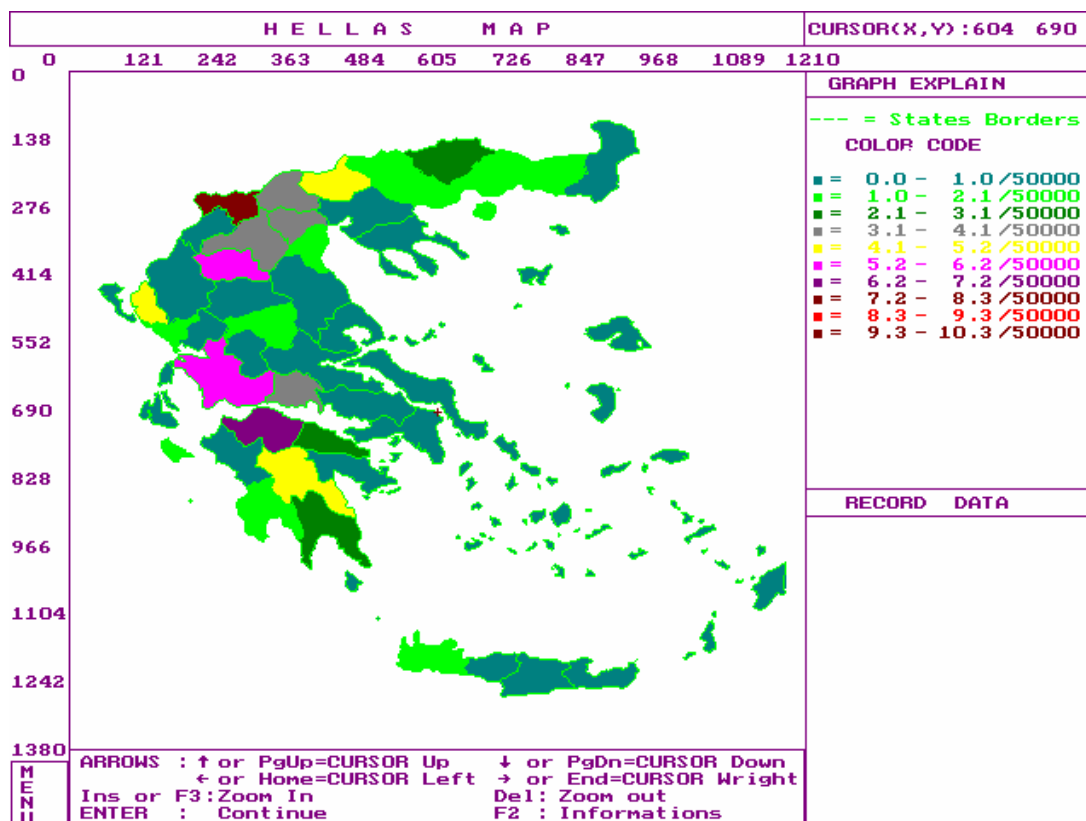
Στην συνέχεια ο χάρτης της Ελλάδας συνδέθηκε με τη βάση δεδομένων στην οποία ήταν καταχωρημένα τα κρούσματα της βρουκέλλωσης από το υπουργείο Υγείας. Έγιναν δοκιμαστικές απεικονίσεις χρησιμοποιώντας κλίμακα χρωμάτων που αντιστοιχούσε στην επίπτωση και στην αρθριτική επίπτωση (cumulative incidence) (Σχήμα 3). Επίσης δίνεται η δυνατότητα επιλογής συγκεκριμένου νομού και μεγένθυση της εικόνας, με σκοπό να απεικονιστούν τα χωριά χρωματισμένα ανάλογα με την επίπτωση τους (Σχήμα 4)



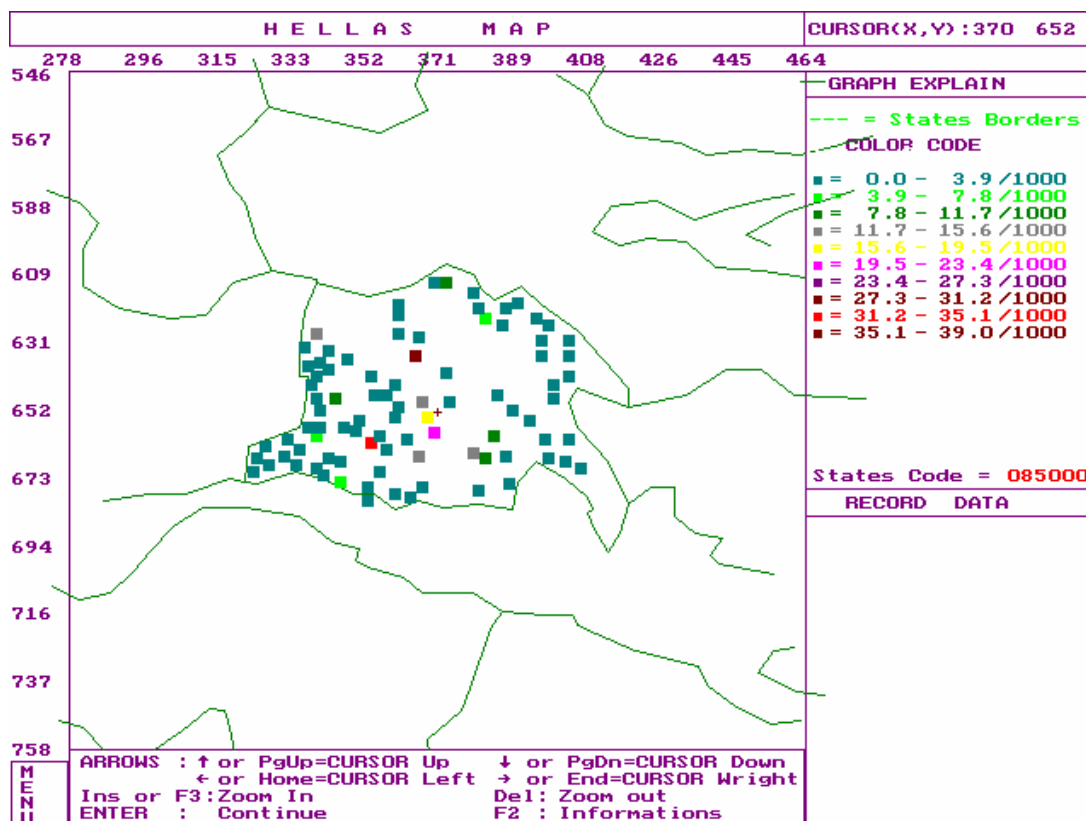
Σχήμα 1: Απεικόνιση της Ελλάδας με τα όρια των νομών στα οποία μπορούν να απεικονιστούν τα χωριά χρωματισμένα ανάλογα με τον πληθυσμό τους. Κάθε νομός περιγράφεται από τα όρια του τα οποία σχηματίζονται χρησιμοποιώντας τις συντεταγμένες των σημείων. Τα όρια των νομών πρέπει να είναι κλειστά (να ξεκινούν και να τελειώνουν από το ίδιο σημείο), έτσι ώστε να αφορίζουν μία συγκεκριμένη περιοχή. Κάθε νομός έχει ένα κωδικό του οποίου το πρώτο ψηφίο ορίζει σε πιά περιφέρεια ανήκει. Μέσα στο νομό καταχωρούνται σαν σημεία (συντεταγμένες) τα χωριά που περιλαμβάνονται στον νομό. Ο κωδικός του χωριού περιλαμβάνει τον κωδικό του νομού. Στην συνέχεια μπορεί να καταχωρηθεί το τοπογραφικό του χωριού με τα σπίτια και τους δρόμους. Οι κωδικοί των σπιτιών περιλαμβάνουν τον κωδικό του χωριού και τον κωδικό του νομού. Με αυτή την σχεδίαση δημιουργήθηκε ένα ολοκληρωμένο ΠΜΧ με το οποίο μπορούμε να ξεκινήσουμε από το επίπεδο χώρας και να φτάσουμε στο σπίτι ενός συγκεκριμένου χωριού. Οι χάρτες συνδέθηκαν με βάση δεδομένων, στην οποία καταχωρήθηκαν δημογραφικά στοιχεία (πληθυσμός νομού, Χωριού) και έγιναν δοκιμαστικές απεικονίσεις.



Σχήμα 2: Απεικόνιση της Ελλάδος σε επίπεδο χώρας. Μεγένθυνση επιλεγείσας περιοχής στην οποία μπορούν να φανούν τα χωριά χρωματισμένα ανάλογα με τον πληθυσμό τους. Το ΠΜΧ παρέχει την δυνατότητα μεγένθυνσης οποιασδήποτε περιοχής επιλεγεί (ένα τετράγωνο κλπ.) ή ενός αυτούσιου νομού. Αυτό έχει πρακτική σημασία, γιατί αρχίζει η απεικόνιση των αποτελεσμάτων απο επίπεδο χώρας και μπορεί σταδιακά να κατέβει σε επίπεδο περιφέρειας (3-4 νομοί), νομού με τα χωριά του και στην συνέχεια μικρής περιοχής (τοπογραφικό χωριού). Έτσι παρέχεται η δυνατότητα επιλογής του επιπέδου που θα γίνει η ανάλυση των αποτελεσμάτων και η αναζήτηση της σχέτισης του νοσήματος με γεωγραφική παράμετρο.



Σχήμα 3: Δοκιμαστική απεικόνιση κρουσμάτων σε επίπεδο χώρας-νομού: οι νομοί χρωματίζονται ανάλογα με την επίπτωση που αντιστοιχεί σε αυτούς. Η επίπτωση των νομών μπορεί να καταχωρηθεί στην αντίστοιχη βάση δεδομένων ή να υπολογιστεί από την επίπτωση των χωριών που υπάγονται σε κάθε νομό. Εάν υπάρχουν καταχωρημένα στοιχεία που αφορούν τους κατοίκους κάθε χωριού, μπορεί να υπολογιστεί η επίπτωση πρώτα σε κάθε χωριό και στην συνέχεια σε κάθε νομό. Έτσι η πληροφορία που απεικονίζεται σε επίπεδο χώρας μπορεί να συλλέγεται από το χαμηλότερο δυνατό επίπεδο, την κάθε περίπτωση βρουκέλλωσης ξεχωριστά, η οποία έχει γνωστή γεωγραφική παράμετρο.

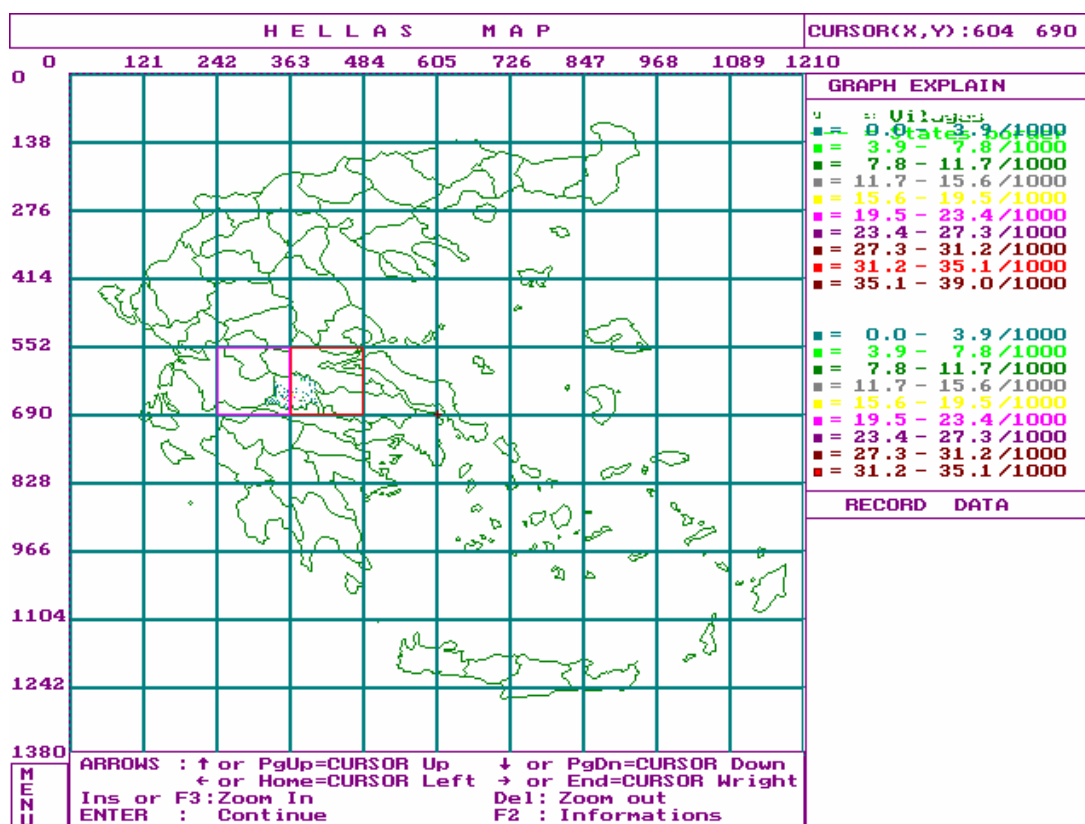


Σχήμα 4: Απεικονίσεις κρουσμάτων σε επίπεδο χώρας. Μεγένθυση συγκεκριμένης περιοχής-νομού στην οποία απεικονίζονται χρωματισμένα τα χωριά ανάλογα με την επίπτωση τους.

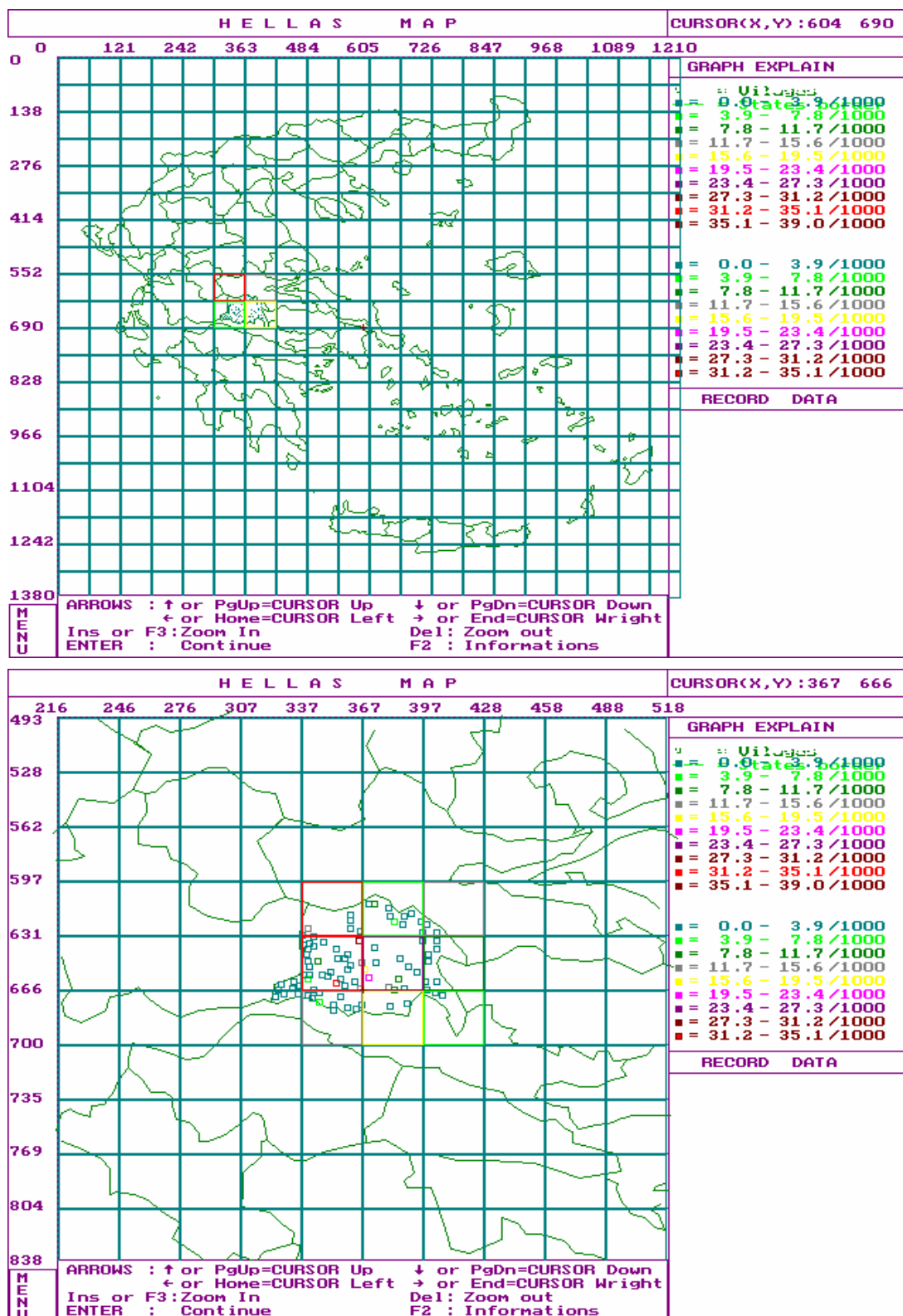
Επειδή τα γεωγραφικά όρια ενός νομού είναι τεχνητά και όχι Φυσικά όρια, δεν παρεμποδίζεται η εξάπλωση του νοσήματος από νομό σε νομό. Έτσι αποφασίσαμε, εκτός από την δυνατότητα απεικόνισης της επίπτωσης ανά νομό, να δώσουμε τη δυνατότητα στο πρόγραμμα δυναμικής αναζήτησης περιοχής υψηλού κίνδυνου πέρα από τα όρια ενός νομού (περιοχή ανάμεσα σε δύο ή τρεις νομούς). Το πρόγραμμα χρησιμοποιεί μετακινούμενα τετράγωνα με αυξομειούμενο μέγεθος τα οποία χρωματίζονται ανάλογα με την επίπτωση της περιοχής. Η επίπτωση υπολογίζεται με βάση τα στοιχεία που περιέχονται στην βάση δεδομένων και αναφέρονται στα χωριά που περικλείονται σε κάθε τετράγωνο(Σχήμα 5, 6, 7).

Ακόμη πιο πέρα, εάν υπάρχουν καταχωρημένα στοιχεία μικρής περιοχής (τοπογραφικά χωριών με απεικονίσεις κρουσμάτων), το πρόγραμμα τα υπολογίζει και με τον τρόπο αυτό οι επιδημιολογικοί χάρτες μιας χώρας κτίζονται από κάτω προς τα πάνω: τοπογραφικό μικρής περιοχής, απεικόνιση σε επίπεδο νομού και τέλος απεικόνιση σε επίπεδο χώρας. Αυτό παρέχει τη δυνατότητα να παρακολουθείται το νόσημα εκεί που πραγματικά συμβαίνει

(μικρή περιοχή) χρησιμοποιώντας την μικροτοπική κατανομή, δίνεται στη συνέχεια η δυνατότητα μακροτοπικής κατανομής (νομός , Χώρα)



Σχήμα 5: Αναζήτηση περιοχών με αυξημένη επίπτωση του νοσήματος. Τα όρια των νομών είναι τεχνητά και όχι φυσικά (τα λοιμώδη νοσήματα δέν αναγνωρίζουν όρια) και επιπλέον σε νομούς με μικρό πληθυσμό μπορεί εύκολα να θεωρούνται τυχαία νομοί ως υψηλή επίπτωση χωρίς στη πραγματικότητα αυτό να έχει καμιά αξία. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήσαμε τα αυξομειούμενα τετράγωνα, για να μετακινούμαστε ανάμεσα στους νομούς και να γίνεται καλύτερη αναζήτηση συγκέντρωσης κρουσμάτων. Σε κάθε τετράγωνο μπορεί να περιλαμβάνονται 2 η 3 νομοί και έτσι η περιοχή που θα ανευρεθεί μπορεί να ανήκει σε 3 διαφορετικούς νομούς. Η επίπτωση σε κάθε τετράγωνο υπολογίζεται με βάση τα χωριά που περιλαμβάνονται και χρωματίζονται ανάλογα. Για να διαπιστωθεί, αν μιά περιοχή (τετράγωνο η νομός) έχει στατιστικά σημαντικά υψηλότερη επίπτωση απο της υπόλοιπες, μπορεί να εφαρμοστούν διάφορες στατιστικές μέθοδοι (χ^2 test for heterogeneity, Autocorrelation and Baysien statistics). Σε αυτή την μελέτη χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία χ^2 test for hetrogeneity με την οποία ελέγχεται, εάν η παρατηρηθείσα επίπτωση σε κάθε νομό η τετράγωνο διαφέρει στατιστικά σημαντικά απο την αναμενόμενη. Σάν αναμενόμενη επίπτωση σε κάθε περιοχή μπορεί να ορισθεί η μέση τιμή.



Σχήμα 6,7: Χρησιμοποιώντας αυξομειούμενα τετράγωνα μαζί με ταυτόχρονη μεγένθυση της περιοχής, παρέχεται η δυνατότητα να αναζητηθούν περιοχές με αυξημένη επίπτωση σε όλη την Ελλάδα. Με αυτό τον τρόπο μετακινούμαστε ανάμεσα στα όρια των νομών και ελέγχουμε περιοχές που υπάγονται διοικητικά σε 2 η 3 νομούς.

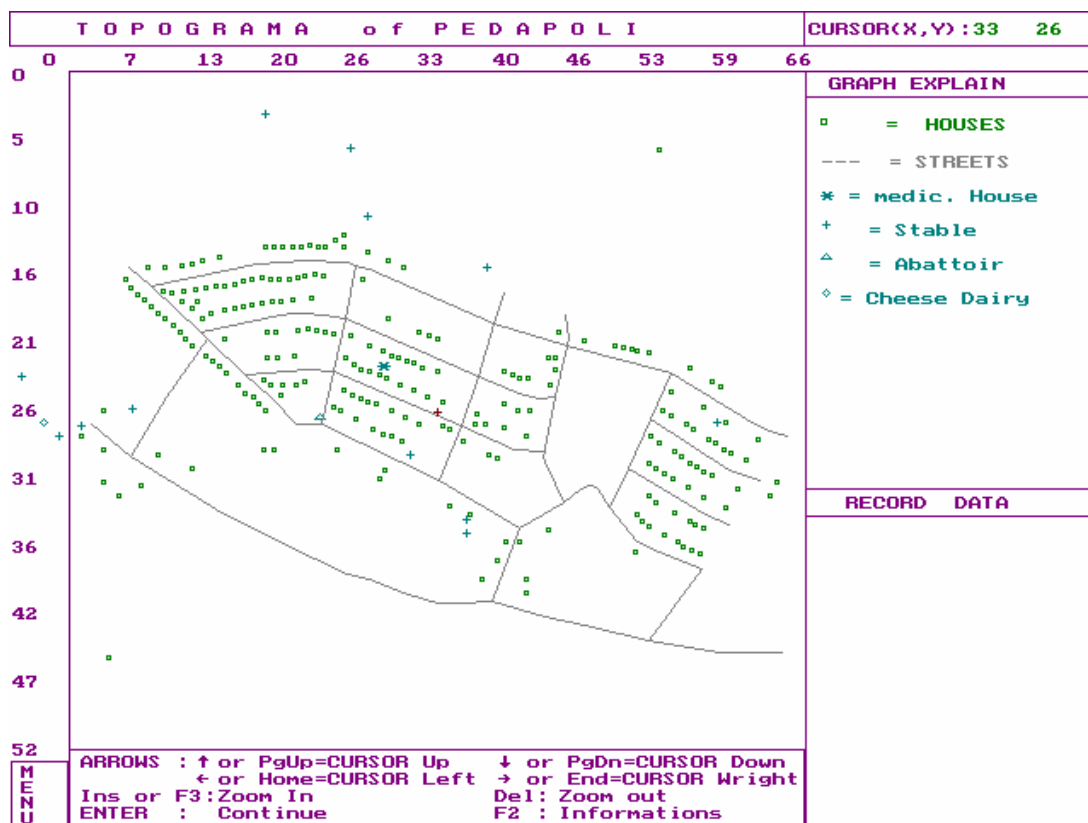
β)Μηχανογραφημένη Χαρτογράφηση Μικρής Περιοχής (Analysis.exe)

Χρησιμοποιώντας και πάλι τις συντεταγμένες σημείων, οι οποίες υπολογίστηκαν είτε με τη χρησιμοποίηση digitizer ή scanner ή και με απλά μέσα, έγινε δυνατή η απεικόνιση στην οθόνη του Η/Υ του τοπογραφικού μικρής περιοχής, στο οποίο σημειώνονται όλες οι επιδημιολογικές πληροφορίες που μας ενδιαφέρουν ανάλογα με το λοιμώδες νόσημα που μελετούμε (πχ για τη βρουκέλλωση στάβλοι, τυροκομεία κλπ) Στην πρώτη απεικόνιση του τοπογραφικού φαίνονται οι δρόμοι και τα σπίτια και στη συνέχεια προστίθενται στην εικόνα και οι επιδημιολογικές πληροφορίες (Σχήμα 8). Με το ΠΜΧ είναι συνδεδεμένη βάση δεδομένων (dbase.exe), η οποία περιέχει πληροφορίες που αφορούν τους κατοίκους της μικρής περιοχής (χωριό) και έτσι δίνεται η δυνατότητα απεικόνισής τους στο τοπογραφικό. Το πρόγραμμα παρέχει τη δυνατότητα μεγέθυνσης μιας συγκεκριμένης περιοχής, καθώς και την απεικόνιση συγκεκριμένου σπιτιού και της γειτονιάς του με πληροφορίες από τη βάση δεδομένων των κατοίκων.(Σχήμα 9).

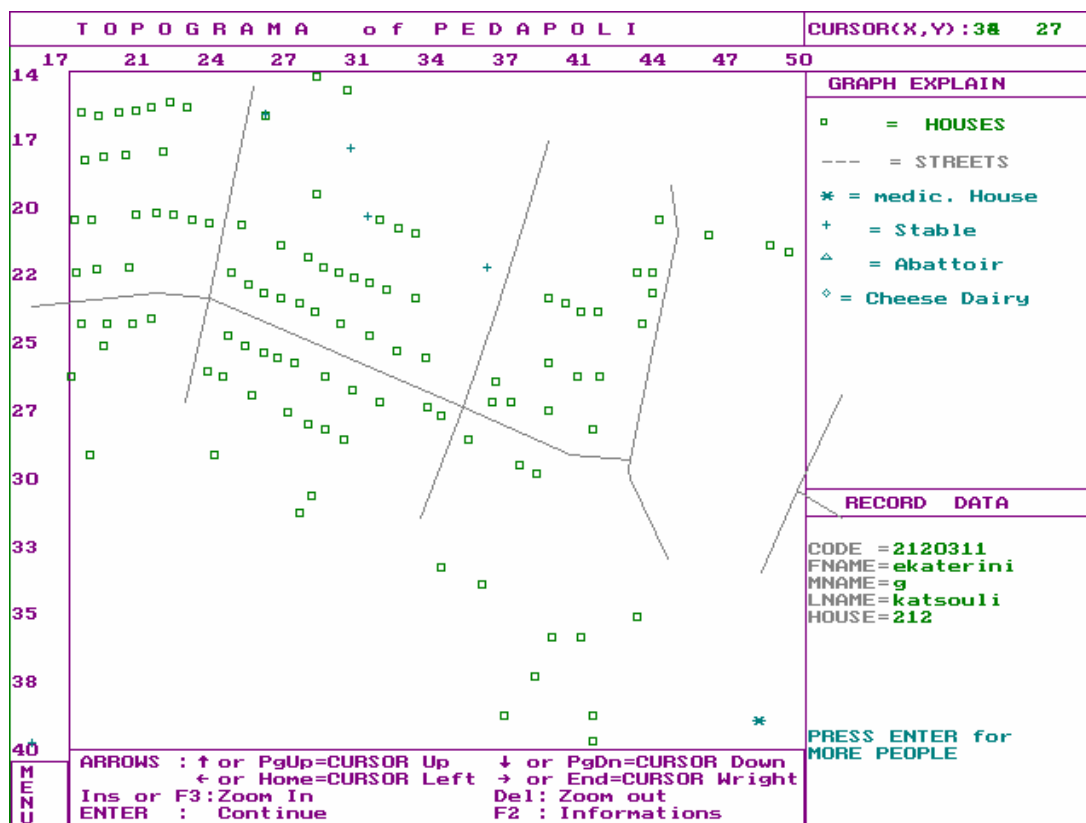
Στην συνέχεια έχοντας σαν βάση το πρόγραμμα απεικόνισης της μικρής περιοχής δημιουργήθηκε το πρόγραμμα επιδημιολογικής έρευνας (analysis.exe), το οποίο παρέχει τις πιο κάτω δυνατότητες:

- 1) Υπολογισμό αντιπροσωπευτικότητας του δείγματος
- 2) Απεικόνιση της κατανομής των κρουσμάτων σε επίπεδο μικρής περιοχής και αναζήτηση συγκέντρωσης κρουσμάτων και συσχέτισης τους με διάφορους παράγοντες κινδύνου.
- 3) Απεικόνιση των κρουσμάτων στην διάσταση του χώρου και του χρόνου με στόχο την ανίχνευση του σημείου από το οποίο ξεκίνησαν τα πρώτα κρούσματα και στην συνέχεια να απεικονισθεί η εξάπλωση του νοσήματος.
- 4) Αναζήτηση ύπαρξης κοινής πηγής μετάδοσης του νοσήματος τόσο για τους ανθρώπους (γαλακτοκομεία, σφαγεία κλπ.), όσο και στα ζώα (στάβλοι).

Αυτές οι δυνατότητες του προγράμματος θα αναλυθούν στα αποτελέσματα, για να γίνουν περισσότερο κατανοητές.



Σχήμα 8: Τοπογραφική απεικόνιση μικρής περιοχής (Πεντάπολης). Στο τοπογραφικό φαίνονται τα σπίτια, οι δρόμοι, καθώς και επιδημιολογικές πληροφορίες (στάβλοι, σφαγεία κλπ). Για κάθε επιδημιολογική παράμετρο δίνεται διαφορετικό σχήμα και, εάν ζητηθεί από το χρήστη του προγράμματος, παρέχονται πληροφορίες που περιέχονται στις συνδεδεμένες βάσεις δεδομένων: κάτοικος συγκεκριμένου σπιτιού, ιδιοκτήτης στάβλου, αριθμός ζώων κλπ. Το ΠΜΧ παρέχει την δυνατότητα μεγένθυσης συγκεκριμένης περιοχής ή επιλογή συγκεκριμένης γειτονιάς



Σχήμα 9: Μεγέθυνση του τοπογραφικού στην οποία απεικονίζονται τα σπίτια και οι δρόμοι. Επιλέγοντας ένα σπίτι μπορούν να εμφανιστούν δημογραφικά στοιχεία του ιδιοκτήτη (όνομα, ηλικία κλπ), καθώς και επιδημιολογικά στοιχεία (εάν έχει ζώα, εάν έχει νοσήσει από βρουκέλλωση κλπ)

γ) Βάσεις δεδομένων (Dbase.exe)

Όπως αναγράφηκε πιο πάνω, το ΠΜΧ υποστηρίζεται από δύο διαφορετικές βάσεις δεδομένων:1) βάση δεδομένων συντεταγμένων σημείων και 2) βάσεις δεδομένων επιδημιολογικών παραμέτρων.

1) Βάση δεδομένων συντεταγμένων σημείων:

Περιέχει τις συντεταγμένες των σημείων οι οποίες δημιουργούν το περίγραμμα της χώρας ή αντιστοιχούν σε δρόμους, σπίτια κλπ. Πρώτα δημιουργήθηκε το περίγραμμα της χώρας με τους νομούς. Το περίγραμμα δημιουργήθηκε υπολογίζοντας τις συντεταγμένες κάθε νομού και καταχωρώντας τες σε ξεχωριστό φάκελο με ξεχωριστό διψήφιο κωδικό (Boundary file). Αφού δημιουργήθηκαν οι 52 νομοί της Ελλάδας, το ΠΜΧ τους ένωσε σε ενιαία απεικόνιση της Ελλάδας. Στη συνέχεια, σε κάθε νομό δημιουργήθηκε υποφάκελος στον οποίο καταχωρήθηκαν οι συντεταγμένες των

χωριών έχοντας πενταψήφιο κωδικό (2 πρώτα ψηφία Νομός και τα επόμενα 3 ψηφία χωριό). Στον υποφάκελο αυτό, εκτός από τις συντεταγμένες, καταχωρήθηκαν και δημογραφικά στοιχεία όπως: πληθυσμός, υψόμετρο, ενασχόληση πληθυσμού, αριθμός αιγοπροβάτων κλπ.

Σε κάθε χωριό ή συνοικία δημιουργήθηκε υποφάκελος ο οποίος περιέχει συντεταγμένες των σπιτιών, δρόμων και άλλων επιδημιολογικών παραμέτρων. Στις συντεταγμένες, ανάλογα με αυτό που απεικονίζουν, δόθηκε διαφορετικός κωδικός (σπίτι: H1, H2,H3 κλπ, δρόμος: R1, R2, R3 κλπ, στάβλος: S1, S2, S3 κλπ). Στον υποφάκελο αυτό, μπορούν να καταχωρηθούν δημογραφικά στοιχεία: κάτοικοι σπιτιού, φύλο, ηλικία, επάγγελμα κλπ.

Το ΠΜΧ συνδέει τους υποφακέλους, συγκεντρώνει τα στοιχεία που περιέχουν και τα επεξεργάζεται, με αποτέλεσμα να έχουμε απεικόνιση της χώρας σε επίπεδο νομών (Boundary), οι οποίοι περιέχουν τα χωριά σαν κηλίδες. Στη συνέχεια, έχουμε τη δυνατότητα μεγέθυνσης μίας περιοχής ή ενός νομού, στον οποίο φαίνονται τα χωριά που τον αποτελούν, χρωματισμένα ανάλογα με τον πληθυσμό τους ή με άλλη δημογραφική ή επιδημιολογική παράμετρο(αριθμός αιγοπροβάτων). Στη φάση αυτή, μπορεί να επιλεγεί μια ευρύτερη περιοχή 3 ή 4 χωριών και να απεικονιστούν τα τοπογραφικά τους στην οθόνη σε σμίκρυνση. Τέλος, επιλέγοντας ένα χωριό, απεικονίζεται το τοπογραφικό του στην οθόνη, στην οποία φαίνονται οι δρόμοι τα σπίτια και άλλοι επιδημιολογικοί παράμετροι. Το ΠΜΧ παρέχει τη δυνατότητα μεγέθυνσης ή επιλογής γειτονιάς. Επιλέγοντας ένα συγκεκριμένο σπίτι, εμφανίζονται στην οθόνη τα στοιχεία των κατοίκων. Επιλέγοντας μία επιδημιολογική παράμετρο(π.χ. στάβλο), εμφανίζονται τα στοιχεία που περιέχει ο φάκελος (αριθμός ζώων, ιδιοκτήτες κλπ.).

2) Βάσεις δεδομένων επιδημιολογικών παραμέτρων:

Δημιουργήθηκαν δύο επιδημιολογικές βάσεις δεδομένων, μια σε επίπεδο χώρας και μια σε επίπεδο μικρής περιοχής.

α) Επιδημιολογική βάση δεδομένων σε επίπεδο χώρας:

Δημιουργήθηκε με σκοπό να καλύπτει τις ανάγκες του συστήματος παρακολούθησης των μεταδοτικών νοσημάτων σε κεντρικό επίπεδο και περιέχει πεδία που αφορούν τον κωδικό νομού (διψήφιος) και τον κωδικό χωριού (τριψήφιος). Το πρόγραμμα δίνει τη δυνατότητα, χρησιμοποιώντας παράθυρα, να επιλέγονται ο νομός και το χωριό, χωρίς να χρειάζεται ο χειριστής να ανατρέχει σε κωδικούς. Επίσης περιλαμβάνεται ο κωδικός του νοσήματος

(παράθυρο για επιλογή), ο αριθμός των κρουσμάτων, η ημερομηνία που δηλώθηκαν τα κρούσματα και εάν υπήρξε θάνατος . Το ΠΜΧ συνδέεται με αυτή τη βάση δεδομένων και με τη χρησιμοποίηση του κωδικού, συνδέει τις πληροφορίες αυτές, με το χάρτη σε επίπεδο χώρας, με αποτέλεσμα:

- 1) Η απεικόνιση της Ελλάδας σε επίπεδο νομού, χρησιμοποιώντας κλίμακα χρωμάτων, ανάλογα με την επίπτωση.
- 2) Απεικόνιση της Ελλάδας σε επίπεδο νομού και αναζήτηση περιοχής με μεγάλη επίπτωση χρησιμοποιώντας χρωματισμένα μετακινούμενα τετράγωνα.
- 3) Μεγέθυνση περιοχής ή νομού και απεικόνιση των χωριών χρωματισμένων ανάλογα με την επίπτωση.

β) Επιδημιολογική βάση δεδομένων μικρής περιοχής:

Αυτή η βάση δεδομένων δημιουργήθηκε, για να εξυπηρετήσει τις ανάγκες της αναλυτικής επιδημιολογικής έρευνας, σε επίπεδο μικρής περιοχής. Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε στο να είναι φιλική στη χρήση, να προστατεύει από καταχώρηση λανθασμένων στοιχείων (δημιουργήθηκαν φάκελοι ελέγχου- check files) και να είναι ευμετάβλητη. Δώσαμε τη δυνατότητα επιλογής των πεδίων που θα περιληφθούν πέραν των βασικών (κωδικός, ηλικία, φύλο κλπ.), για να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για διάφορα νοσήματα. Ο κωδικός είναι 8ψηφιος (2 πρώτα νομός, 3 επόμενα χωριό και 3 τελευταία σπίτι). Το ΠΜΧ συνδέεται με τη βάση δεδομένων και με τον κοινό κωδικό συνδέει τα επιδημιολογικά στοιχεία με τα τοπογραφικά στοιχεία και παρέχει τη δυνατότητα πολλαπλών απεικονίσεων των επιδημιολογικών στοιχείων στα τοπογραφικά των χωριών.

Α' ΦΑΣΗ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

Στην πρώτη φάση περιλαμβάνονται η επιδημιολογική μελέτη και το πρώτο στάδιο της μελέτης ασφάλειας και αποτελεσματικότητας του ανθρώπινου εμβολίου της βρουκέλλωσης. Όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, η πρώτη φάση σχεδιάστηκε με τρόπο, ώστε οι ενέργειες που έγιναν να εξυπηρετούν ταυτόχρονα και τις δύο μελέτες: 1)επιδημιολογική και 2)μελέτη ασφαλείας και αποτελεσματικότητας του εμβολίου.

Στάδια Επιδημιολογικής μελέτης:

- 1) Επιλογή της ευρύτερης περιοχής στην οποία θα γινόταν η έρευνα.**
- 2) Επιλογή των χωριών που θα περιλαμβάνονταν στην έρευνα.**
- 3) Δημιουργία χαρτών μικρής περιοχής.**
- 4) Συλλογή και καταχώρηση δημογραφικών στοιχείων των κατοίκων της περιοχής.**
- 5) Επί τόπου αντιστοιχία των κατοίκων με τους χάρτες (κάτοικος - σπίτι κλπ.).**
- 6) Προετοιμασία της περιοχής (ομιλίες και επαφές με τοπικές αρχές)**
- 7) Συλλογή υλικού.**

Όπως φαίνεται σε διάφορα στάδια που ανεγράφησαν πιο πάνω, έγινε πολύ καλή προετοιμασία της περιοχής, πριν να γίνει η συλλογή του υλικού. Αυτό έγινε, για να εξασφαλίσουμε, όσο το δυνατό μεγαλύτερη συμμετοχή του πληθυσμού της περιοχής στο πρόγραμμα. Πρόκειται για μια γεωργοκτηνοτροφική περιοχή, στην οποία η κτηνοτροφία αποτελεί μια από τις κυριότερες πηγές εισοδήματος, και ήταν πολύ δύσκολο να πείσουμε τον πληθυσμό να συνεργαστεί για ένα νόσημα για το οποίο υπάρχει προκατάληψη. Τα στάδια της επιδημιολογικής μελέτης περιγράφονται αναλυτικά στην συνέχεια.

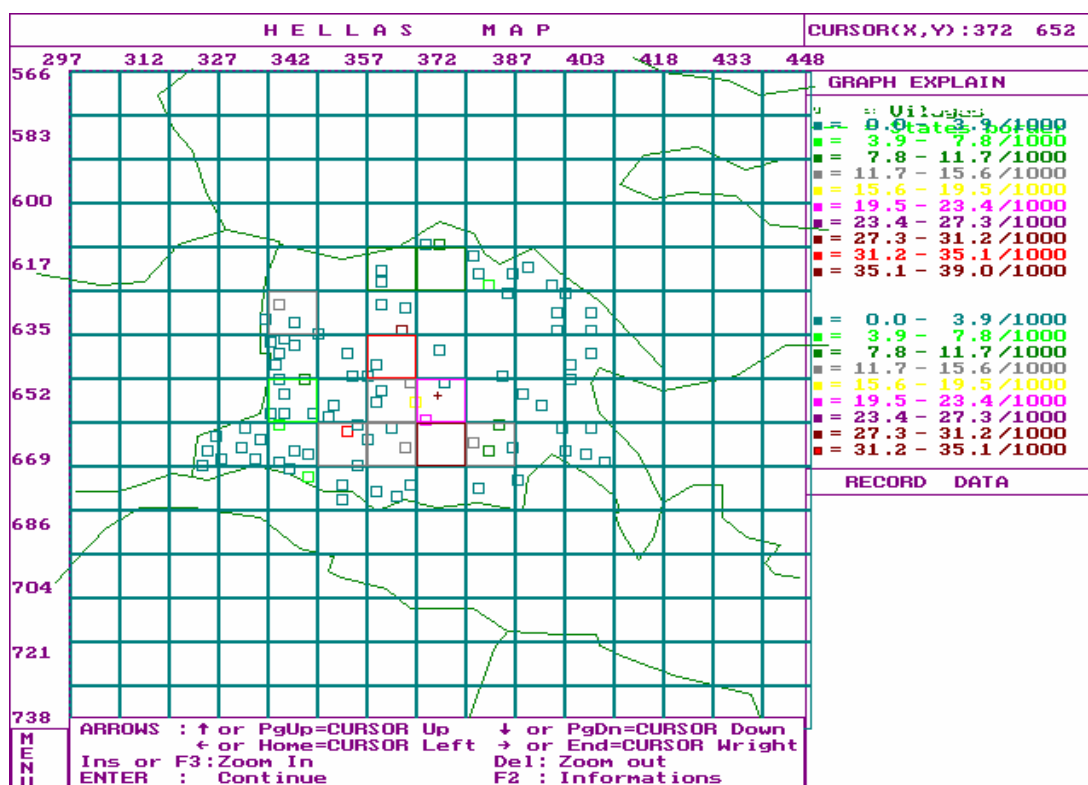
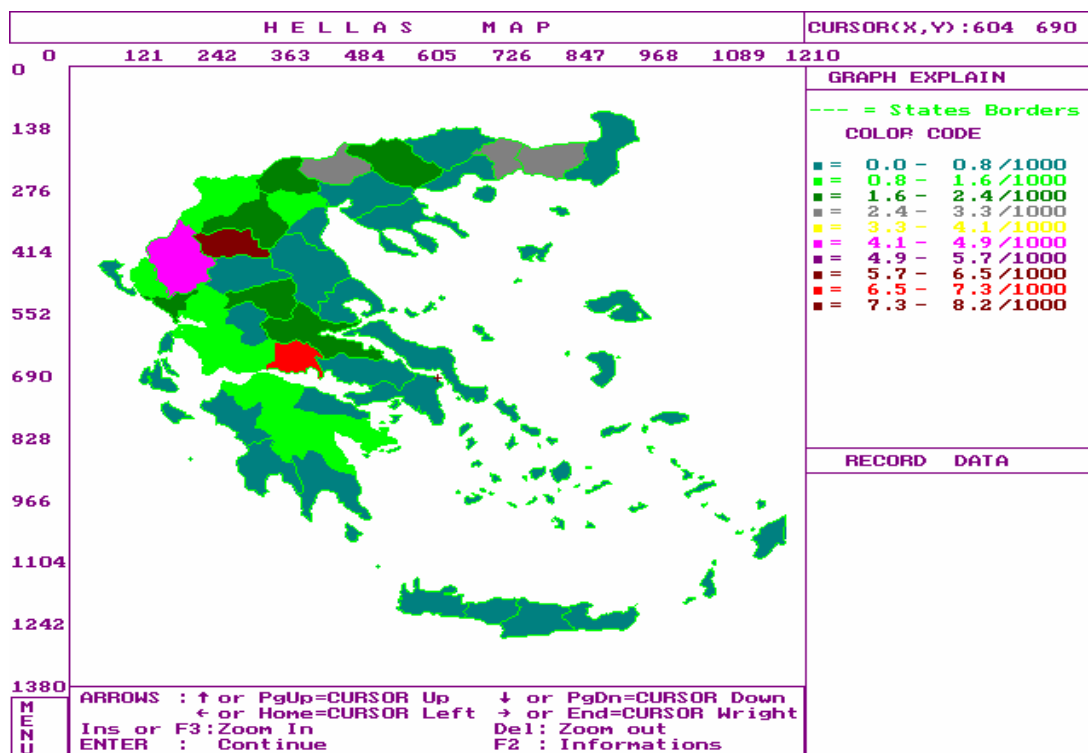
1) Επιλογή της υπό μελέτη περιοχής:

Ελήφθησαν από το υπουργείο Υγείας τα κρούσματα που αφορούσαν τη βρουκέλλωση για τη δεκαετία από 1979-1988. Τα κρούσματα αυτά καταχωρήθηκαν στη βάση δεδομένων των χωριών - πόλεων της Ελλάδας. Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα αυτά έγινε η πρώτη απεικόνιση σε επίπεδο χώρας - νομού με σκοπό να επιλεγεί ο νομός με τη σχετικά υψηλότερη επίπτωση κρουσμάτων και στη συνέχεια ένας δεύτερος νομός με ίδια επίπτωση να επιλεγεί σαν περιοχή σύγκρισης.

2) Επιλογή των χωριών:

Αφού επιλέχθηκε ο νομός έγινε μεγέθυνση της εικόνας σε επίπεδο νομού - χωριών με σκοπό να επιλεγούν τα χωριά με τη μεγαλύτερη επίπτωση βρουκέλλωσης για να γίνει αναλυτική επιδημιολογική έρευνα χρησιμοποιώντας μηχανογραφημένη χαρτογράφηση.

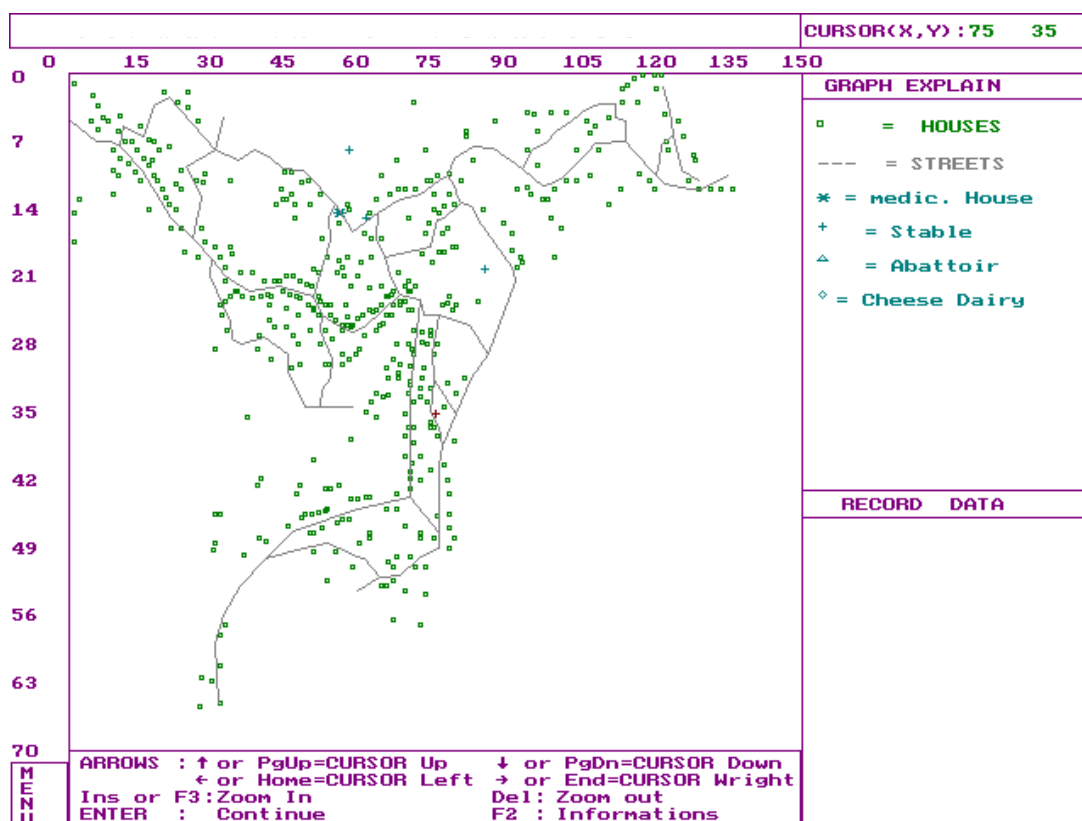
Χρησιμοποιώντας την μεθοδολογία που αναφέρεται πιο πάνω επιλέγηκε ο νομός της Φωκίδας σαν ευρύτερη περιοχή της επιδημιολογικής έρευνας, ενώ τα Γρεβενά επιλέγονται σαν περιοχή σύγκρισης. Στη συνέχεια επιλέχθηκαν 8 χωριά στο νομό Φωκίδας: Πεντάπολη, Λιδόρικι, Μαλανδρίνο, Λευκαδίτι, Βουνιχώρα, Μηλιά, Μακρινή, Αμυγδαλιά τα οποία απετέλεσαν την υπό μελέτη περιοχή. (σχήμα 10,11).



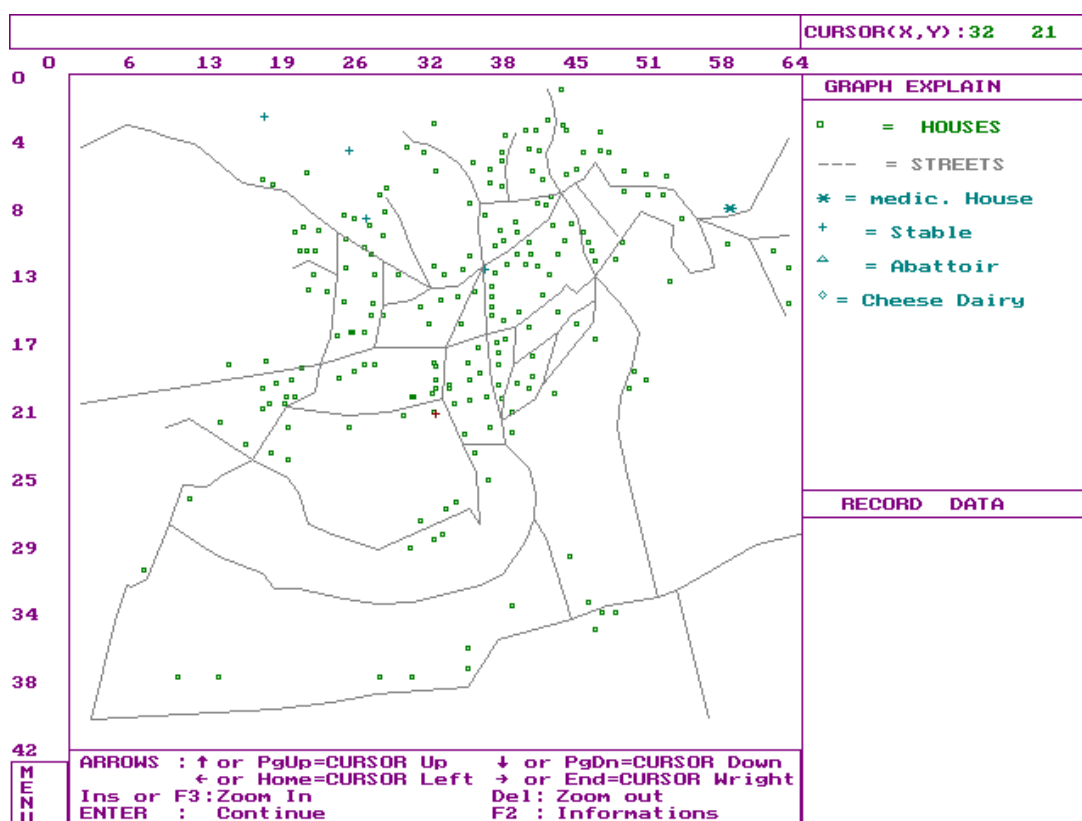
Σχήματα 10,11: Χρησιμοποιώντας τις απεικονίσεις των κρουσμάτων της βρουκέλλωσης, 1979-1988, σε επίπεδο νομού επιλέγησαν οι νομοί της Φωκίδας(υπο μελέτη) και ο νομός των Γρεβενών σαν περιοχή σύγκρισης. Στη συνέχεια χρησιμοποιώντας τα μετακινούμενα τετράγωνα επιλέγησαν 8 χωριά στο νομό Φωκίδας σαν περιοχή αυξημένης επίπτωσης.

3) Δημιουργία χαρτών μικρής περιοχής:

Τα τοπογραφικά των χωριών αυτών εισήχθησαν σαν συντεταγμένες στη βάση δεδομένων του ΠΜΧ. Οι συντεταγμένες υπολογίσθηκαν χωρίς τη βοήθεια digitazer, τετραγωνίζοντας το τοπογραφικό και υπολογίζοντας τις συντεταγμένες κάθε σημείου. Στα Σχήματα 12, 13, 14 και 15 παρουσιάζονται τα τοπογραφικά τα 4 μεγαλύτερα χωριά (Λιδορίκι, Αμυδαλιά, Βουνιχώρα, Μαλανδρίνο).



Σχήμα 12: Τοπογραφικό του χωριού Λιδορίκι. Αυτό συνδέεται με την βάση δεδομένων που περιέχει τα δημογραφικά στοιχεία, καθώς και με επιδημιολογική βάση δεδομένων και έτσι γίνεται δυνατή η απεικόνιση συνδυασμού πληροφοριών που αφορούν τους κατοίκους πάνω στο τοπογραφικό. Η σύνδεση του τοπογραφικού με τις βάσεις δεδομένων γίνεται με τη χρήση του επταψήφιου κωδικού σπίτι-κάτοικος.



Σχήμα 15: Απεικόνιση τοπογραφικού του χωριού Μαλανδρίνο.

4) Δημογραφικά στοιχεία περιοχής:

Τα ονόματα των κατοίκων, την ηλικία τους, το φύλο και το επάγγελμά τους, τα πήραμε από τις κοινοτικές αρχές κάθε χωριού. Τα στοιχεία αυτά καταχωρήθηκαν σε βάση δεδομένων η οποία δημιουργήθηκε ειδικά για τις ανάγκες του προγράμματος όπως αναφέρθηκε πιο πάνω.

5) Αντιστοιχία των κατοίκων με τους χάρτες(κάτοικοι- σπίτια):

Στη φάση προετοιμασίας των χαρτών κάθε χωριού, κάναμε αλληπάλληλες επισκέψεις σε κάθε χωριό και επισκεφθήκαμε όλα τα σπίτια, για να αντιστοιχίσουμε τους κατοίκους στο τοπογραφικό διάγραμμα του χωριού. Ορισμένα χωριά είχαν έτοιμους χάρτες με την αντιστοιχία κατοίκων-σπιτιού, από την προηγούμενη απογραφή πληθυσμού (Μαλανδρίνο, Αμυγδαλιά, Λιδορίκι, Βουνιχώρα). Σε αυτά τα χωριά, έγινε επαλήθευση των στοιχείων και σημειώθηκαν τυχόν αλλαγές. Επίσης στα τοπογραφικά των χωριών σημειώθηκαν όλοι οι επιδημιολογικοί παράγοντες, που σχετίζονται με τη

βρουκέλλωση (στάβλοι, σφαγεία, τυροκομεία, κοπριές στην αυλή του σπιτιού κλπ.).

6) Προετοιμασία της περιοχής:

Σε κάθε χωριό, πριν από τη συλλογή υλικού, έγινε μια ανοικτή ομιλία στους κατοίκους, στην οποία προσκλήθηκαν με ατομικές προσκλήσεις. Στην ομιλία, γινόταν αναφορά στη σημασία της βρουκέλλωσης για την υγεία των ανθρώπων, αλλά και των ζώων. Επίσης τονιζόταν το οικονομικό κόστος του νοσήματος στη κτηνοτροφία. Κατά τη διάρκεια της ομιλίας, αναφέρονταν οι στόχοι και αναλυόταν το Πρωτόκολλο της μελέτης, χρησιμοποιώντας διαφάνειες και απεικονίσεις του τοπογραφικού του χωριού τους. Θέλαμε να τους δώσουμε να καταλάβουν ότι πρόκειται για σοβαρό πρόγραμμα. Επίσης, για να αυξήσουμε τη συμμετοχή στο πρόγραμμα, αποφασίσαμε παράλληλα με τις εξετάσεις για τη βρουκέλλωση, να τους κάνουμε εξετάσεις για Γλυκόζη ορού και χοληστερίνη-τριγλυκερίδια. Αυτό, έγινε, γιατί, από τις συζητήσεις που είχαμε με το κοινό μετά την ομιλία, παρατηρήσαμε μεγαλύτερο ενδιαφέρον για τις εξετάσεις αυτές, παρά για τη βρουκέλλωση. Στο σημείο αυτό, πρέπει να τονίσουμε τις δυσκολίες που αντιμετωπίζει μια ερευνητική ομάδα, όταν πρόκειται να διερευνήσει τη βρουκέλλωση σε μια γεωργοκτηνοτροφική περιοχή. Ο κόσμος και οι τοπικές αρχές, αν και αναγνωρίζουν τη σημασία του προβλήματος, δε θέλουν να αναδειχτεί ένα τέτοιο πρόβλημα για το χωριό τους ή για τους ίδιους προσωπικά, γιατί έτσι θα είχαν πρόβλημα να πουλήσουν τα προϊόντα τους. Για να ξεπεράσουμε αυτό το πρόβλημα, υποσχεθήκαμε εχεμύθεια. Τα αποτελέσματα των εξετάσεων δίνονταν σε κάθε άτομο μέσα σε φάκελο ξεχωριστά και τα αποτελέσματα που αφορούν το χωριό ανακοινώθηκαν μόνο στους κατοίκους του ίδιου χωριού και όχι στα γύρω χωριά.

7) Συλλογή υλικού:

Την ημέρα, κατά την οποία ανακοινώθηκε ότι θα γίνει η συλλογή υλικού, είχαν δοθεί ξεχωριστές ώρες, ανάλογα με το γράμμα του ονόματός τους, για να μην υπάρχει συνωστισμός. Οι συμμετέχοντες περνούσαν στην αρχή από το "αρχείο", όπου υπήρχε λίστα με τα ονόματα και τον κωδικό τους, και 6 τυπωμένες ετικέτες με τον κωδικό του κάθε ατόμου. Κάθε συμμετέχων, έπαιρνε ένα ιστορικό για την επιδημιολογική μελέτη, ένα ιστορικό για τη μελέτη ασφάλειας του εμβολίου και ένα σωληνάριο για αιμοληψία. Σε κάθε ένα από αυτά, γινόταν επικόλληση μιας ετικέτας με τον κωδικό του. Στη συνέχεια, συμπληρώνονταν τα ιστορικά σε ξεχωριστό δωμάτιο, για να υπάρχει εμπιστευτικότητα. Ακολούθως, γινόταν κλινική εξέταση σε άλλο δωμάτιο και

τέλος, γινόταν η ενδοδερμική εξέταση και η αιμοληψία στο σωληνάριο που κρατούσε ο ασθενής. Μετά την πήξη του αίματος, γινόταν φυγοκέντριση του αίματος και ο ορός, χωριζόταν σε 3 πλαστικά φιαλίδια (ependof) και φυλασσόταν στην κατάψυξη, για να μεταφερθούν στο Πανεπιστήμιο Κρήτης που θα γίνονταν ορολογικές εξετάσεις (Elisa & Rose Bengal).

Ερωτηματολόγιο επιδημιολογικής μελέτης

Περιελάμβανε πληροφορίες που σχετίζονταν με τη μετάδοση του νοσήματος: κατανάλωση μη παστεριωμένου γάλακτος, μη παστεριωμένου τυριού, χρόνος κατανάλωσης τυριού μετά τη παρασκευή του, επάγγελμα και ύπαρξη αιγοπροβάτων στο σπίτι, για να καλύπτονται οι ανάγκες σε γαλακτοκομικά προϊόντα. Στους κτηνοτρόφους γίνονταν ερωτήσεις, με ιδιαίτερη προσοχή, για να εξακριβωθεί κατά πόσο εμβολιάζουν τα ζώα τους ή όχι (ήταν υποχρεωτικό από το νόμο). Επίσης, σε όσους ανέφεραν στο ιστορικό ότι νόσησαν στο παρελθόν από βρουκέλλωση, γίνονταν ερωτήσεις που αφορούσαν τη χρονολογία, τον τρόπο διάγνωσης, τη συμπτωματολογία και τη θεραπεία.

Ενδοδερμική αντίδραση (Pasteur-Meriaux)

Πρόκειται για το φαινολοδιαλυτό τμήμα της Βρουκέλλας *abortus B19*. Περιέχεται μέσα σε αλατούχο διάλυμα 0,1 ml, το οποίο περιέχει 3.3 units του φαινολοδιαλυτού αντιγόνου. Το διάλυμα αυτό, ενίεται ενδοδερμικά (όπως η δερμοαντίδραση Mantoux), στο αντιβράχιο (Πίνακας 1)(Rumiantzeff M.et al, 1984; Bertrand A. et al, 1984; Duclos P.J. et al, 1989).

Η δερμοαντίδραση ήταν σε ατομική συσκευασία, με μια σύριγγα για κάθε συμμετέχοντα. Η ανάγνωση του αποτελέσματος, γινόταν μετά από 48 ώρες και θετικό αποτέλεσμα θεωρείται διήθηση και ερυθρότητα μεγαλύτερη των 5 χιλιοστών. Η ανάγνωση γινόταν χρησιμοποιώντας ειδικό μετρητή και στυλό με το οποίο χαραζόνταν τα όρια της διήθησης. Επειδή είναι γνωστό ότι στα μεγάλα άτομα η κυτταρική ανοσία μπορεί να είναι μειωμένη, αποφασίσαμε σε άτομα μεγαλύτερα των 70 χρόνων, να επαναλαμβάνουμε την IDR, μετά από 15 ημέρες, για να προκαλέσουμε φαινόμενο Booster. Έτσι ώστε, εάν ένα άτομο είχε έλθει σε επαφή με τη Βρουκέλλα στο παρελθόν, να μας δώσει θετική τη δεύτερη IDR.

Επάγγελμα

Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε τρεις κατηγορίες, με βάση το βαθμό επαγγελματικής έκθεσης στη Βρουκέλλα:

- ΕΡΓ 1:** Χαρακτηρίστηκαν όσοι είχαν μεγάλη έκθεση :κτηνοτρόφοι, σφαγείς, τυροκόμοι, κτηνίατροι, κρεοπώλες.
- ΕΡΓ 2:** Χαρακτηρίστηκαν όσοι είχαν μέτρια έκθεση στη Βρουκέλλα: κάτοικοι που έχουν στο σπίτι τους 1-2 αιγοπρόβατα, για να έχουν αυτάρκεια σε γαλακτοκομικά προϊόντα.
- ΕΡΓ 3:** Χαρακτηρίστηκαν όσοι δεν έχουν καμιά σχέση με αιγοπρόβατα ή βοοειδή: δάσκαλοι, δικηγόροι κλπ.

Αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος

Επειδή η επιλογή των συμμετεχόντων δεν ήταν τυχαία, αλλά εθελοντική, τίθεται θέμα αντιπροσωπευτικότητας του συνόλου του πληθυσμού από τους συμμετέχοντες. Επί πλέον, επειδή στη μελέτη χρησιμοποιούνται τεχνικές γεωγραφικής απεικόνισης, πρέπει η γεωγραφική κατανομή των συμμετεχόντων να μη διαφέρει από τη γεωγραφική κατανομή του συνόλου του πληθυσμού. Για το λόγο αυτό έγινε συλλογή πληροφοριών που αφορούσαν την ηλικία, το φύλο και το επάγγελμα των κατοίκων της περιοχής και χρησιμοποιήθηκαν η στατιστική ανάλυση και το ΠΜΧ, με σκοπό να διαπιστωθεί η αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος.

Επιπολασμός

Για να υπολογιστεί ο επιπολασμός, χρησιμοποιήθηκε ο όρος "βρουκέλλωση στο παρελθόν". Κάθε συμμετέχων, που είχε είτε ιστορικό βρουκέλλωσης (από το ερωτηματολόγιο: συμβατή κλινική εικόνα, θετικό ορολογικό έλεγχο και θεραπεία βρουκέλλωσης), ή θετική ενδοδερμική αντίδραση ή θετικό ορολογικό έλεγχο (θετική Elisa και θετική Rose Bengal) , θεωρείτο σαν "βρουκέλλωση στο παρελθόν".

Επίπτωση

Η επίπτωση της βρουκέλλωσης στην υπό μελέτη περιοχή για τα δέκα προηγούμενα χρόνια (1979-1988), υπολογίστηκε με δύο τρόπους:

1) Με βάση τα στοιχεία του υπουργείου Υγείας, όπως ήδη αναφέρθηκε πιο πάνω.

2) Με βάση τα στοιχεία από το ιστορικό της επιδημιολογικής μελέτης: στον υπολογισμό της επίπτωσης περιλήφθηκαν όσα άτομα δήλωσαν στο ιστορικό ότι είχαν νοσήσει από βρουκέλλωση κατά την περίοδο 1979-1988 (συμβατή κλινική εικόνα, εργαστηριακή επιβεβαίωση και θεραπεία για βρουκέλλωση).

Ορολογικές εξετάσεις

1) Rose Bengal Plate Test :

Υλικά: Χρησιμοποιήθηκε αντιγόνο *B. abortus 19* χρωματισμένο με Rose Bengal και ρυθμισμένο σε PH 3,65 με γαλακτικό νάτριο (παρασκευάζεται από το ινστιτούτο pasteur).

Τεχνική: 0.03 ml του ορού που επρόκειτο να εξετασθεί τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Προστίθεται 0.03 ml αντιδραστήριο Rose Bengal και αναμυγνείται ο ορός με το αντιδραστήριο. Στη συνέχεια περιμένουμε ένα λεπτό και διαβάζουμε το αποτέλεσμα. Η εκτίμηση του αποτελέσματος γίνεται πάντοτε σε σύγκριση με την συγκολλητινοαντίδραση του θετικού μάρτυρα. Σε περίπτωση συγκόλλησης (θετική αντίδραση) ακολουθούν αραιώσεις του δείγματος για την ακριβή τιτλοποίηση των αντισωμάτων

2) ELISA IgG :

Με την βοήθεια του τμήματος μοριακής βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης αναπτύχθηκε μια ειδική παραλλαγή της ELISA η "ταυτόχρονου τύπου ELISA" η οποία χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στην μελέτη μας (Krambovitis E. et al, 1992). Ο λόγος που αναπτύχθηκε αυτή η τεχνική ήταν, για να γίνει πιο εύκολη και γρήγορη η εκτέλεση της. Σε αυτήν την παραλλαγή της ELISA διεξάγονται ταυτόχρονα η αντίδραση με το εξεταζόμενο δείγμα και η αντίδραση σύνδεσης. Χρησιμοποιήθηκε αντιγόνο λιποπολυσακχαριτιδικό, το οποίο ελήφθη από το στέλεχος *Brucella abortus S99*. Το αντιγόνο αδρανοποιήθηκε και

σταθεροποιήθηκε σε πλάκες μικροτιτλοδότησης. Οι πλάκες αποξηράθηκαν και σφραγίσθηκαν έτοιμες για χρήση.

Για να εξεταστεί ένας ορός αραιώνεται σε αραιώση 1 : 50 και τοποθετείται στο κατάλληλο πηγάδι της πλάκας μαζί με 50 μl αντίσωμα έναντι της ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης IgG (anti-human IgG). Ακολουθεί επώαση στους 37 °C για μιά ώρα. Η περίσσεια των αντιδραστηρίων απομακρύνεται με πλύσεις. Στην συνέχεια προστίθενται 50 μl υπεροξειδίου του υδρογόνου και 50μl τμβ. Μετά από 15 λεπτά το αποτέλεσμα μπορεί να διαβαστεί με το μάτι είτε διακόπτεται η αντίδραση με οξύ και εμμετράται η απορρόφηση στα 450 nm. Η απορρόφηση συγκρίνεται με αυτή ενός θετικού μάρτυρα. Η διάρκεια της τεχνικής είναι 90 λεπτά.

Ανάλυση αποτελεσμάτων

Δύο εβδομάδες μετά τη συλλογή του υλικού, τα αποτελέσματα των ορολογικών εξετάσεων ήταν έτοιμα και, μαζί με τα αποτελέσματα της ενδοδερμικής αντίδρασης, καταχωρήθηκαν στη βάση δεδομένων. Τα στοιχεία από το ιστορικό μαζί με τα αποτελέσματα (ορολογικά και ενδοδερμικές αντιδράσεις), αναλύθηκαν αρχικά δημιουργώντας προγράμματα στην Turbo Pascal. Στη συνέχεια, επειδή αυτό ήταν δύσκολο και επίπονο έργο, όλα τα στοιχεία μεταφέρθηκαν στο επιδημιολογικό πακέτο EPI-INFO και έγινε η στατιστική επεξεργασία τους. Τέλος, η βάση δεδομένων συνδέθηκε με το ΠΜΧ και έγινε δυνατή η δημιουργία των επιδημιολογικών χαρτών.

Μελέτη ασφαλείας και αποτελεσματικότητας του εμβολίου βρουκέλλωσης

Η συλλογή του υλικού για τη μελέτη του εμβολίου της βρουκέλλωσης έγινε παράλληλα με τη συλλογή υλικού για την επιδημιολογική μελέτη, όπως φαίνεται στο σχήμα. Επιπλέον όμως, ελήφθη ειδικό ιστορικό για τη μελέτη ασφαλείας του εμβολίου της βρουκέλλωσης, με σκοπό να επιλεγούν υγιείς εθελοντές, για να συμμετάσχουν σε αυτή τη μελέτη. Τα κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη φαίνονται στον Πίνακα 7(αποτελέσματα).

Δύο ημέρες μετά τη συλλογή του υλικού, έγινε η ανάγνωση της IDR, όπως αναφέρθηκε στην επιδημιολογική μελέτη. Όσοι ήταν αρνητικοί και κρίθηκαν σαν υγιείς εθελοντές από την πρώτη ημέρα μοιράστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες, αφού χρησιμοποιήθηκε ειδικό πρόγραμμα στον υπολογιστή. Η πρώτη ομάδα

εμβολιάστηκε με εμβόλιο βρουκέλλωσης και η δεύτερη ομάδα ορίστηκε ομάδα ελέγχου και εμβολιάστηκε με εμβόλιο Τετάνου.

Δύο εβδομάδες μετά τον πρώτο εμβόλιο, τα ορολογικά αποτελέσματα ήταν έτοιμα και αποκλείστηκαν από τη μελέτη όσοι βρέθηκαν θετικοί σε μια από τις δύο ορολογικές μεθόδους. Οι υπόλοιποι εμβολιάστηκαν με τη δεύτερη δόση του εμβολίου. Την ημέρα αυτή κατεγράφησαν οι παρενέργειες του πρώτου εμβολιασμού τόσο στην ομάδα εμβολίου της βρουκέλλωσης, όσο και στην ομάδα ελέγχου.

Ανθρώπινο εμβόλιο βρουκέλλωσης:

Πρόκειται για το φαινολοαδιάλυτο τμήμα της Βρουκέλλας *abortus B19*. Ποσότητα αντιγόνου 1mg περιέχεται μέσα σε 0,5 ml διαλύματος φαινόλης. Το διάλυμα αυτό ενίεται υποδόρια ή ενδομυϊκά στο δελτοειδή μυ (Πίνακας 1) (Roux J., 1972; Roux j., 1979; Bentejak M.C. et al, 1984; Roux J., 1986).

Πίνακας 1 : Συγκριτικά χαρακτηριστικά εμβολίου για την βρουκέλλωση και της ενδοδερμικής αντίδρασης

	<i>Ανθρώπινο εμβόλιο βρουκέλλωσης</i>	<i>Ενδοδερμική αντίδραση IDR</i>
Φαινολοαδιάλυτο τμήμα της Βρουκέλλας <i>abortus B19</i>	1mg	-
Φαινολοαδιάλυτο τμήμα της Βρουκέλλας <i>abortus B19</i>	-	3.3 units
Διάλυμα φαινόλης	0.5ml	-
Αλατούχο διάλυμα		0.1ml
Τρόπος χορήγησης	ενδομυϊκά	ενδοδερμικά

Το εμβόλιο παρασκευάζεται από την εταιρία Pasteur-Merieux και παρέχεται σε ατομική συσκευασία με αποστειρωμένη σύριγγα. Για να επιτευχθεί προστατευτική ανοσολογική απάντηση χρειάζονται 2 δόσεις με μεσοδιάστημα 2 εβδομάδων. Σε μελέτη που έγινε από την Bentejak (1984) και τους συνεργάτες της υπολογίσθηκε σε 18 μήνες η χρονική διάρκεια της παρουσίας των προστατευτικών αντισωμάτων. Μετά την πάροδο του διαστήματος αυτού χρειάζεται επαναληπτική δόση του εμβολίου.

Ερωτηματολόγιο μελέτης ασφαλείας του εμβολίου της βρουκέλλωσης

Το ερωτηματολόγιο σχεδιάστηκε ειδικά για την μελέτη αυτή και περιελάμβανε πληροφορίες, όπως: η ηλικία, νόσος στο παρελθόν από βρουκέλλωση, άλλα σοβαρά προβλήματα υγείας (διαβήτης, εγκεφαλικό,

έμφραγμα, ισχαιμία μυοκαρδίου κλπ.), αλλεργία, εγκυμοσύνη, αν πρόκειται να φύγει κάποιος από την περιοχή τους επόμενους 18 μήνες. Οι ερωτήσεις αυτές περιλαμβάνονταν, με σκοπό να περιληφθούν στη μελέτη ασφαλείας του εμβολίου, μόνο υγιείς εθελοντές, ηλικίας από 10 έως 90 ετών. Ο λόγος, που έγινε αυτό, ήταν, για να αποφευχθούν τυχαία συμβάντα (θάνατος από έμφραγμα του μυοκαρδίου) και να αποδοθούν στο εμβόλιο. Επίσης, στο ιστορικό περιλαμβανόταν ειδική φόρμα αποδοχής συμμετοχής στη μελέτη ασφαλείας του εμβολίου, η οποία διαβαζόταν στον κάτοικο του χωριού και, αν αποδεχόταν να συμμετάσχει, υπέγραφε τη φόρμα αποδοχής συμμετοχής.

Β' ΦΑΣΗ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

Η Β' φάση άρχισε ένα μήνα μετά την συλλογή του υλικού της πρώτης φάσης, το Φεβρουάριο 1989, και τελείωσε τον Φεβρουάριο του 1993 και περιελάμβανε:

1) την αναζήτηση περιπτώσεων βρουκέλλωσης στα πλαίσια της μελέτης ασφαλείας και αποτελεσματικότητας του εμβολίου. 2) τη μελέτη παρακολούθησης - επιτήρησης της βρουκέλλωσης .

1) Αναζήτηση περιπτώσεων βρουκέλλωσης στα πλαίσια της μελέτης ασφαλείας και αποτελεσματικότητας του εμβολίου της βρουκέλλωσης.

Δεκαπέντε ημέρες μετά την Δεύτερη δόση του εμβολίου άρχισαν οι μηνιαίες επισκέψεις στους συμμετέχοντες (εμβολιασθέντες με εμβόλιο βρουκέλλωσης και τετάνου). Στην πρώτη μηνιαία επίσκεψη καταγράφηκαν οι παρενέργειες της δεύτερης δόσης του εμβολίου. Οι μηνιαίες επισκέψεις έγιναν στα σπίτια των συμμετεχόντων σε προκαθορισμένες ημέρες και ώρες επίσκεψης για κάθε συμμετέχοντα. Το ΠΜΧ χρησιμοποιήθηκε, για να είναι εύκολη η ανεύρεση του σπιτιού και του δρόμου. Σε κάθε συμμετέχοντα συμπληρωνόταν ειδικό ερωτηματολόγιο το οποίο περιελάμβανε τα συμπτώματα της βρουκέλλωσης και τους παράγοντες κινδύνου. Εάν ένας συμμετέχων παρουσίαζε συμβατή κλινική εικόνα, θεωρείτο πιθανή περίπτωση βρουκέλλωσης και λαμβανόταν ορολογικός έλεγχος (συγκολλητινοαντίδραση Wright, ELISA και Rose Bengal) και καλλιέργεια αίματος. Περιπτώσεις βρουκέλλωσης θεωρούντο όσες επιβεβαιώνονταν εργαστηριακά : Υψηλός τίτλος αντισωμάτων (>1 /120) ή τετραπλασιασμός του τίτλου ή θετική καλλιέργεια αίματος. Σε περίπτωση που

ένας εμβολιασμένος απουσίαζε για 3 συνεχόμενες μηνιαίες επισκέψεις αποκλειόταν από την συνέχεια του προγράμματος. Και αυτό το κομμάτι δουλειάς υποστηρίχτηκε πλήρως μηχανογραφικά: μηνιαίες λίστες συμμετεχόντων με τις ημέρες και ώρες επισκέψεων και πρόγραμμα αποκλεισμού των απόντων.

2) Μελέτη παρακολούθησης επιτήρησης της βρουκέλλωσης στον ανθρώπινο και ζωικό πληθυσμό της περιοχής (Surveillance long term monitoring system)

Εντοπισμός της υπό μελέτη περιοχής και της περιοχής σύγκρισης

χρησιμοποιώντας τη μεθοδολογία που αναφέρθηκε πιο πάνω, με τη βοήθεια του ΠΜΧ εντοπίστηκαν τα 8 χωριά της υπό μελέτη περιοχής (Φωκίδα), καθώς και 7 χωριά του νομού Γρεβενών. Τα επιλεγέντα χωριά στο νομό Γρεβενών εντοπίστηκαν με την βοήθεια του ΠΜΧ και έχουν περίπου ίδια αρθριτική επίπτωση για τη δεκαετία 1979-1988 με αυτήν που παρατηρήθηκε στα 8 χωριά του νομού Φωκίδας. Επίσης οι δύο περιοχές είχαν παρόμοια γεωπολιτικά χαρακτηριστικά (ορεινές) και ήταν κατεξοχήν γεωργική-νοτροφικές περιοχές. Έτσι η περιοχή των Γρεβενών κρίθηκε κατάλληλη σαν περιοχή σύγκρισης. Στόχος ήταν να συγκριθούν τα αποτελέσματα στην υπό μελέτη περιοχή, όπου θα εφαρμοζόταν το σύστημα παρακολούθησης - επιτήρησης του νοσήματος, με την περιοχή σύγκρισης όπου δεν έγινε καμιά παρέμβαση από την ερευνητική ομάδα.

Συμμετέχοντες

Αρχικά περιελήφθη στην έρευνα όλος ο πληθυσμός της υπό μελέτη περιοχής (Φωκίδα), που ήταν 2507. Ο πληθυσμός των 7 χωριών στην περιοχή σύγκρισης (Γρεβενά) ήταν 2289. Η αθροιστική επίπτωση της βρουκέλλωσης στην υπό μελέτη περιοχή υπολογίστηκε με βάση τα στοιχεία του υπουργείου Υγείας σε 13.96/1000 (35 δηλωμένα κρούσματα / 2507 κάτοικοι). Η περιοχή σύγκρισης (Γρεβενά) με βάση τα ίδια στοιχεία είχε αθροιστική επίπτωση 15.7/1000 (36 δηλωμένα κρούσματα / 2289 κατοίκους). Συγκεντρώθηκαν πληροφορίες που αφορούσαν την ηλικία, το φύλο και το επάγγελμα από τις τοπικές αρχές, με σκοπό να συγκριθούν και να διαπιστωθεί, αν οι δύο περιοχές έχουν παρόμοια δημογραφικά στοιχεία. Το επάγγελμα χωρίστηκε σε 3 κατηγορίες, όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, ανάλογα με τον βαθμό έκθεσης στην βρουκέλλωση.

Επιτήρηση-παρακολούθηση βρουκέλλωσης στον ανθρώπινο πληθυσμό

Οι γιατροί, που συμμετείχαν στην ερευνητική ομάδα, επισκέπτονταν τα 8 χωριά μια φορά το μήνα. Στις επισκέψεις αυτές, είχαν επαφές με τις τοπικές αρχές (κοινοτάρχη κλπ.), καθώς και με τις τοπικές υγειονομικές αρχές (αγροτικούς γιατρούς), αναζητώντας πιθανές περιπτώσεις βρουκέλλωσης, ανάμεσα στους κατοίκους. Σαν πιθανή βρουκέλλωση εθεωρείτο κάθε κάτοικος με συμβατή κλινική εικόνα βρουκέλλωσης και τουλάχιστον ένα παράγοντα κινδύνου (επάγγελμα, κατανάλωση φρέσκου τυριού, κατοχή αιγοπροβάτων, για να καλύπτουν τις ανάγκες τους σε γαλακτοκομικά προϊόντα κλπ.). Οι γιατροί επισκέπτονταν τους ασθενείς που ήταν πιθανές περιπτώσεις βρουκέλλωσης στο σπίτι τους, όπου εξετάζονταν κλινικά και λαμβανόταν αίμα για ορολογικό έλεγχο (ELISA, Rose Bengal και συγγολλητινοαντίδραση Wright) και καλλιέργεια αίματος. Σαν νέα περίπτωση βρουκέλλωσης θεωρείτο, εάν ένα άτομο είχε θετική καλλιέργεια αίματος ή υψηλό τίτλο αντισωμάτων μεγαλύτερο από 1/120 ή τετραπλασιασμό του τίτλου αντισωμάτων (επανάληψη μετά 3 εβδομάδες). Οι γιατροί πραγματοποιούσαν τις μηνιαίες επισκέψεις, χρησιμοποιώντας το ΠΜΧ για την ανεύρεση των σπιτιών και τον προγραμματισμό των επισκέψεων.

Παρακολούθηση - επιτήρηση της βρουκέλλωσης στον ζωικό πληθυσμό

Εντοπισμός ελεύθερων ζωνών βρουκέλλωσης:

Με σκοπό να εντοπιστούν οι ελεύθερες βρουκέλλωσης περιοχές χρησιμοποιήθηκε το ΠΜΧ και τα στοιχεία από την επιδημιολογική μελέτη (στάβλοι, ιδιοκτήτες στάβλων, αποβολές στα αιγοπρόβατα, χρόνος αποβολών, εμβολιασμός αιγοπροβάτων, θερινός και χειμερινός σταβλισμός αιγοπροβάτων, μετακινήσεις αιγοπροβάτων κλπ.). Το ΠΜΧ χρησιμοποιώντας τα στοιχεία αυτά δημιούργησε χάρτες ευρύτερης περιοχής, απεικονίζοντας τους στάβλους ανάλογα με την πιθανότητα να είναι μολυσμένοι και τις πιθανές μετακινήσεις των ζώων. Όπως φαίνεται στο σχήμα, σε κάθε θόνη εμφανίζονται 2 ή 3 χωριά με την ευρύτερη περιοχή τους. Έτσι δίνεται η δυνατότητα εντοπισμού ζωνών οι οποίες είναι πιθανόν ελεύθερες βρουκέλλωσης και κατά συνέπεια παρέχεται η δυνατότητα προστασίας τους παρακολουθώντας τις κινήσεις των ζώων.

Μηνιαίες επισκέψεις:

Οι γιατροί που συνεργάζονταν στο πρόγραμμα επισκέπτονται μια φορά το μήνα, κατά την περίοδο αναπαραγωγής των ζώων, τις τοπικές αρχές

(κοινοτάρχη κλπ.) και αναζητούσαν πληροφορίες από τους ιδιοκτήτες για τυχόν αποβολές στα ζώα. Επίσης, πληροφορίες αναζητούνταν από τον τοπικό κτηνίατρο.

Προστασία ελευθέρων ζωνών βρουκέλλωσης:

Σε όσες ζώνες χαρακτηρίστηκαν ελεύθερες βρουκέλλωσης, ενημερώθηκαν οι ιδιοκτήτες των ζωνών και επιδεικνύοντάς τους τις απεικονίσεις του ΠΜΧ, τους υποδείχτηκαν οι πιθανοί μολυσμένοι στάβλοι, καθώς και οι μετακινήσεις των ζωνών αυτών προς τους θερινούς και χειμερινούς στάβλους και στους χώρους βοσκής. Συνεστήθη αποφυγή επαφής με τα πιθανώς μολυσμένα κοπάδια και αποφυγή αγοράς ζώων από τα κοπάδια αυτά.

Αγωγή υγείας

Σε κάθε χωριό έγινε μια ανοιχτή ομιλία - συζήτηση στην οποία αναλύθηκαν τα αποτελέσματα της επιδημιολογικής μελέτης που αφορούσε το χωριό τους. Έτσι, με αυτό τον τρόπο έγινε πιο κατανοητή η σχέση των παραγόντων κινδύνου με το νόσημα. Με τη βοήθεια του ΠΜΧ περιγράφηκε η εξάπλωση του νοσήματος στα ζώα και στους ανθρώπους. Υποδείχθηκαν συγκεκριμένα μέτρα πρόληψης τόσο για τον ανθρώπινο, όσο και για τον ζωικό πληθυσμό:

1. Ζωικός πληθυσμός: Στους κτηνοτρόφους υποδείχτηκαν μέτρα αποφυγής διασποράς του νοσήματος ανάμεσα στα ζώα μέσα στο ίδιο κοπάδι και από κοπάδι σε κοπάδι: συγκεκριμένα τους υποδείχθηκε πώς να χειρίζονται τα προϊόντα των αποβολών, για να αποφεύγεται μετάδοση του νοσήματος στα υπόλοιπα ζώα του κοπαδιού, να απομονώνουν τα πιθανά μολυσμένα ζώα (όσα είχαν αποβολές) και να απομονώνουν τα ζώα κατά τον τοκετό, για να αποφεύγεται πιθανή μετάδοση του νοσήματος. Επίσης συνεστήθη η αποφυγή επαφής με πιθανά μολυσμένα κοπάδια (όσα είχαν αποβολές) και αποφυγή αγοράς ζώων από πιθανά μολυσμένα κοπάδια ή από περιοχές που έχουν βρουκέλλωση. (Nicoletti P., 1989b)

2. Ανθρώπινος Πληθυσμός: Οι παράγοντες κινδύνου αναλύθηκαν διεξοδικά με βάση τα αποτελέσματα της επιδημιολογικής μελέτης: αποφυγή κατανάλωσης φρέσκου μη παστεριωμένου γάλακτος, φρέσκου μη παστεριωμένου τυριού και άλλων γαλακτοκομικών προϊόντων. Στους επαγγελματικά εκτεθημένους (σφαγείς, κτηνιάτρους κλπ) προτάθηκαν πρόσθετα μέτρα προστασίας, όπως η χρήση γαντιών και μάσκας προσώπου. Επειδή ήταν δύσκολο να αλλάξουν παραδοσιακές συνήθειες παρασκευής του τυριού (μη παστεριωμένο), δόθηκε ιδιαίτερη σημασία στην αποφυγή κατανάλωσης φρέσκου τυριού. Καλά

τεκμηριωμένες μελέτες (Young E.J. and Corbel M.J., 1989;) έχουν αποδείξει ότι η βρουκέλλα δεν επιβιώνει περισσότερο από δύο μήνες στο υγρό στο οποίο διατηρείται το τυρί, για να ωριμάσει (χαμηλό PH).

Στατιστική Ανάλυση

Η Επεξεργασία των στοιχείων και η στατιστική ανάλυση έγινε και για τις 3 υπομελέτες με την βοήθεια του επιδημιολογικού πακέτου EPI-INFO .

Στη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν η δοκιμασία χ^2 test για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και η *Mann-Whitney test* (μη παραμετρική δοκιμασία) για την ηλικία, επειδή η κατανομή ηλικίας δεν ήταν κανονική. Ο σχετικός κίνδυνος (Relative Risk) και τα 95% όρια αξιοπιστίας του υπολογίστηκαν με την δοκιμασία χ^2 test.

Η αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος αναφορικά με την γεωγραφική κατανομή των συμμετεχόντων ελέγχθηκε με την βοήθεια του ΠΜΧ. Το πρόγραμμα χρησιμοποιεί 10 κάθετες ζώνες με τις οποίες χωρίζει το τοπογραφικό και στην κάθε ζώνη μετρά τους συμμετέχοντες και το σύνολο του πληθυσμού. Στην συνέχεια εφαρμόζει την δοκιμασία χ^2 test, για να ελέγξει, αν οι δύο κατανομές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά. Η ίδια μέθοδος χρησιμοποιείται για την αναζήτηση συγκέντρωσης κρουσμάτων και παραγόντων κινδύνου. Επίσης χρησιμοποιώντας ταυτόχρονα 10 κάθετες γραμμές σχηματίζονται τετράγωνα τα οποία περικλείουν μία συγκεκριμένη περιοχή. Χρησιμοποιώντας την δοκιμασία χ^2 test μπορεί να ελεγχθεί, αν υπάρχει αυξημένη επίπτωση της βρουκέλλωσης σε ένα απ' όλα τα τετράγωνα. Με την δοκιμασία αυτή ελέγχουμε, αν η αναμενόμενη επίπτωση σε κάθε τετράγωνο είναι διαφορετική από αυτήν που παρατηρήθηκε. Σαν αναμενόμενη επίπτωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ο μέσος όρος. Η δοκιμασία αυτή αναφέρεται στην ξένη βιβλιογραφία σαν *Heterogeneity test*.

Για να αναζητηθεί η ύπαρξη κοινής πηγής, το ΠΜΧ χρησιμοποιεί ομόκεντρους κύκλους οι οποίοι έχουν ως κέντρο την πιθανή πηγή μόλυνσης και χωρίζουν το τοπογραφικό σε κυκλικές Ζώνες . Σε κάθε ζώνη μετρούνται τα κρούσματα και με τη χρησιμοποίηση της δοκιμασίας χ^2 test συγκρίνονται με αυτά της προηγούμενης ζώνης και υπολογίζεται ο σχετικός κίνδυνος (RR). Στη συνέχεια εφαρμόζεται μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης ανάμεσα στην απόσταση και στον σχετικό κίνδυνο (ελέγχεται δηλαδή, αν, όσο πιο μακριά είναι η πιθανή πηγή, τόσο λιγότερα κρούσματα ανευρίσκονται). Στο μοντέλο αυτό, ο

συντελεστής συσχέτισεως, αντιπροσωπεύει την πιθανότητα η περιοχή που επιλέγηκε να είναι πηγή μόλυνσης (στάβλος, σπίτι κλπ).

Ο υπολογισμός της ευαισθησίας και της ειδικότητας των ορολογικών μεθόδων και της IDR σε σχέση με το Ιστορικό βρουκέλλωσης έγινε με την βοήθεια του προγράμματος EPI-TABLE που περιλαμβάνεται στο επιδημιολογικό πακέτο EPI-INFO. Πρέπει να τονιστεί ότι η ευαισθησία και η ειδικότητα αναφέρονται στην ανίχνευση βρουκέλλωσης στο παρελθόν και όχι στην διάγνωση οξείας βρουκέλλωσης.

Η σύγκριση των παρενεργειών των δυο εμβολίων και η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας του εμβολίου έγινε με την δοκιμασία χ^2 test.

Η σύγκριση των δηλωμένων κρουσμάτων ανάμεσα στις δύο περιοχές: υπό μελέτη (Φωκίδα) και περιοχή σύγκρισης (Γρεβενά) έγινε χρησιμοποιώντας το χ^2 test και υπολογίζοντας τον λόγο των πιθανοτήτων (Odds Ratio).

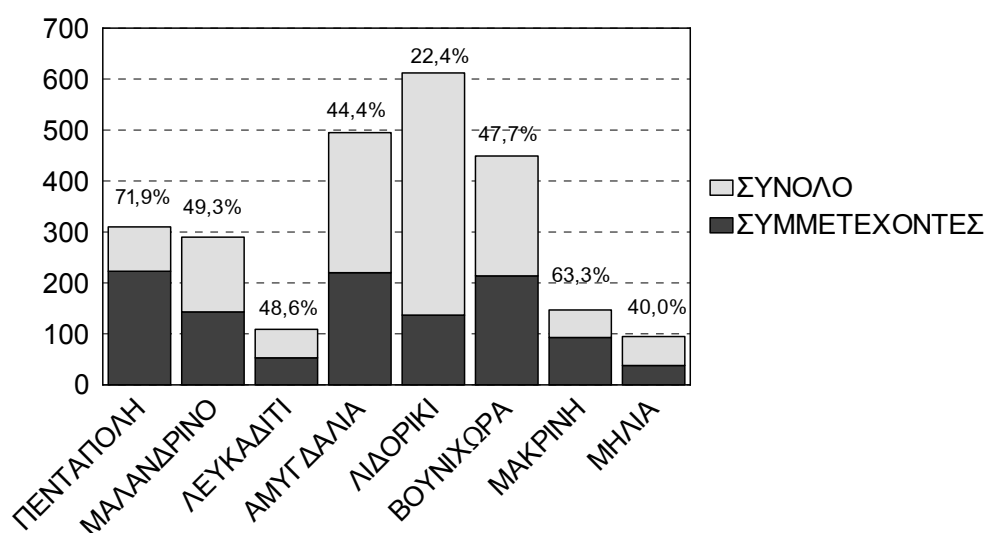
Στατιστικά σημαντικές διαφορές θεωρούνται, όταν το *P value* είναι μικρότερο του 0.05.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Επιδημιολογική μελέτη

Συμμετοχή:

Ο συνολικός πληθυσμός των 8 χωριών ήταν 2507 κάτοικοι. Στην επιδημιολογική μελέτη συμμετείχαν 1121 κάτοικοι (44.7%). Η υψηλότερη συμμετοχή παρατηρήθηκε στο χωριό Πεντάπολη (71,9%) και η χαμηλότερη συμμετοχή στο χωριό Λιδορίκι, όπως φαίνεται στο Σχήμα 16 και στον Πίνακα 2 .

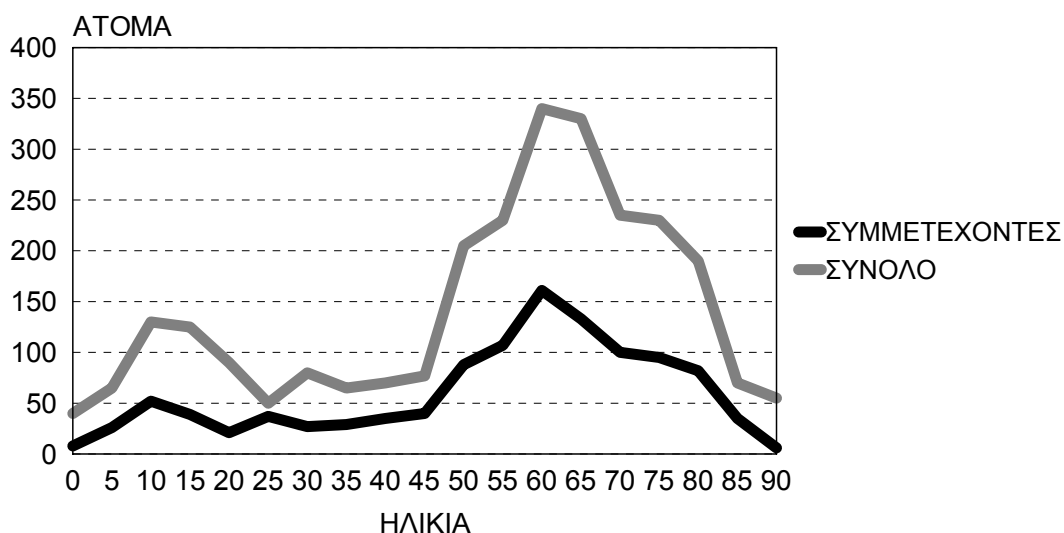


Σχήμα 16 : Αριθμός και ποσοστό συμμετεχόντων στην επιδημιολογική μελέτη σε σχέση με το σύνολο του πληθυσμού ανα χωριό. Στο χωριό Πεντάπολη παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη συμμετοχή, ενώ στο χωριό Λιδορίκι η μικρότερη συμμετοχή

Ηλικία:

Η ηλικία των συμμετεχόντων ήταν από 2-93 ετών. Η Διάμεση τιμή ήταν 61 έτη, 25^η ΕΘ ήταν 45 έτη και η 75^η ΕΘ ήταν 71 έτη .

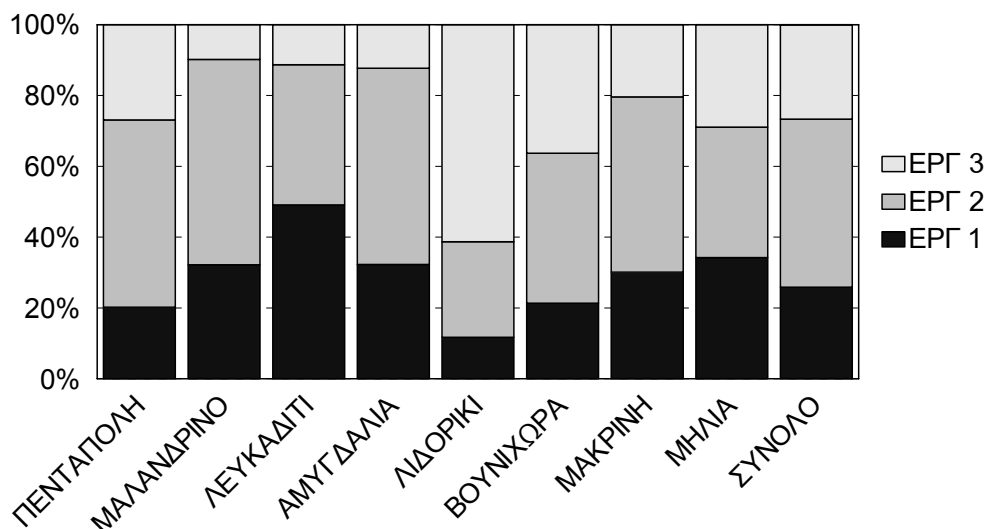
Όπως φαίνεται στο Σχήμα 17, η κατανομή της ηλικίας δεν είναι κανονική, είναι λοξή αρνητική κατανομή. Στους συμμετέχοντες περιλαμβάνονταν περισσότεροι ηλικιωμένοι και λιγότερα νεαρά άτομα. Στην έρευνα συμμετείχαν 86 παιδιά (7.6%), ηλικίας μικρότερης των 15 χρόνων. Η κατανομή ηλικίας των συμμετεχόντων δεν παρουσιάζει καμιά διαφορά από τη κατανομή ηλικίας του συνόλου του πληθυσμού ($P = 0.7$).



Σχήμα 17: Κατανομή ηλικίας των συμμετεχόντων και του συνόλου του πληθυσμού. Οι δύο κατανομές είναι παράλληλες και λοξές αρνητικές (μεγαλύτερος αριθμός ηλικιωμένων ατόμων).

Επάγγελμα:

από το σύνολο των συμμετεχόντων 290 (25.8%) ανήκαν στην κατηγορία ΕΡΓ1, 532 (47.5) ανήκαν στην κατηγορία ΕΡΓ2, ενώ μόνο 299 (26.7%) ανήκαν στην κατηγορία ΕΡΓ3 (καμία σχέση με ζώα). Το επάγγελμα των συμμετεχόντων δε διαφέρει από το επάγγελμα του συνόλου του πληθυσμού ($p=0.5$). Το επάγγελμα των συμμετεχόντων ανά χωριό φαίνεται στο Σχήμα 18.



Σχήμα 18: Επάγγελμα των συμμετεχόντων ανά χωριό και στο σύνολο των κατοίκων της υπό μελέτη περιοχής. Στο Λιδορίκι, φαίνεται να συμμετείχαν λιγότεροι κτηνοτρόφοι (ΕΡΓ1), από ό,τι στα υπόλοιπα χωριά (11.7%). Όμως το επάγγελμα των συμμετεχόντων στο Λιδορίκι, δε διαφέρει στατιστικά σημαντικά από το επάγγελμα του συνόλου του πληθυσμού ($P=0.20$). Παρότι η Αμυγδαλιά παρουσιάζεται με υψηλό ποσοστό (32.3%), εν τούτοις, το ποσοστό ΕΡΓ1 στο σύνολο του πληθυσμού, είναι 45 % και η διαφορά είναι στατιστικά πολύ σημαντική ($P<0.05$).

Αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος και η γεωγραφική κατανομή των συμμετεχόντων:

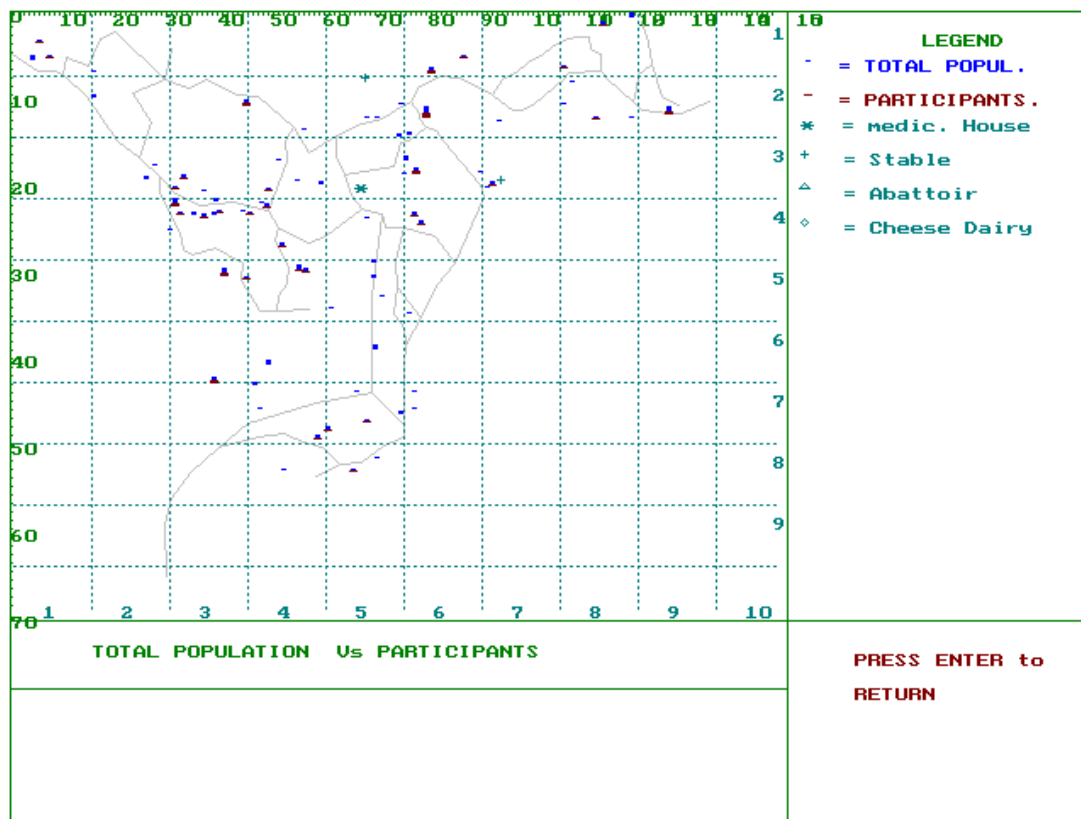
Οι συμμετέχοντες σε κάθε χωριό συγκρίθηκαν με το σύνολο των κατοίκων αναφορικά με την ηλικία, το φύλο και το επάγγελμα, με σκοπό να διαπιστωθεί η αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 2. Στο χωριό Αμυγδαλιά υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στο επάγγελμα των συμμετεχόντων. Συμμετείχε λιγότερος αριθμός κτηνοτρόφων. Στο Λιδορίκι, ενώ το ποσοστό συμμετοχής είναι πολύ μικρό δεν ανεβρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στο επάγγελμα των συμμετεχόντων και αυτό του συνόλου των κατοίκων ($p=0.20$). Πρέπει όμως να σημειωθεί ότι λόγω της μικρής συμμετοχής σε αυτό το χωριό δεν μπορεί να αποκλειστούν συγχυτικοί παράγοντες στην ανάλυση των αποτελεσμάτων σε αυτό το χωριό. Επί πλέον η εφαρμογή του ΠΜΧ στο Λιδορίκι ήταν δύσκολη λόγω του μικρού αριθμού συμμετεχόντων (Σχήμα 19). Στα υπόλοιπα χωριά η συμμετοχή των κατοίκων κρίνεται ικανοποιητική και δε βρέθηκε στατιστική σημαντική διαφορά ανάμεσα στους συμμετέχοντες και στους υπόλοιπους κατοίκους στις μεταβλητές που ελέγχθηκαν (Πίνακας 2).

Πίνακας 2 : Συμμετοχή στα 8 χωριά και τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που αφορά την αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος.

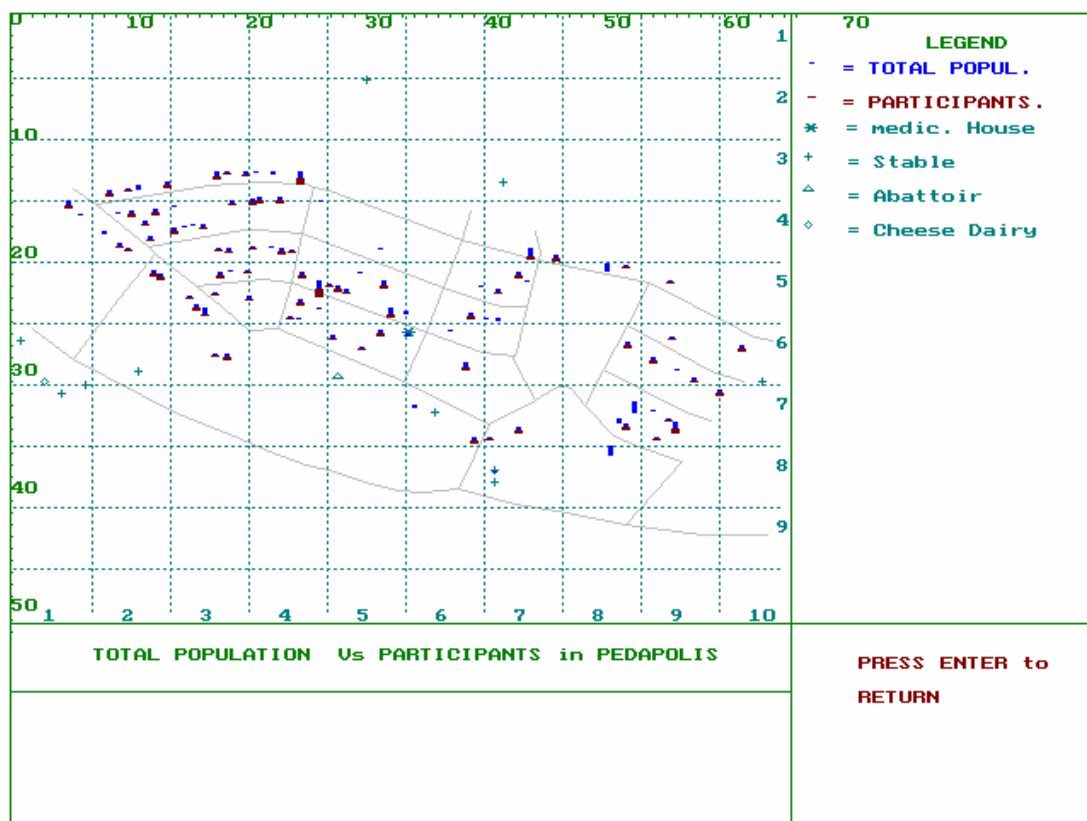
Χωριό	Συμμετέχοντες / σύνολο	Συμμετοχή %	Ηλικία <i>p value</i>	Επάγγελμα <i>p value</i>
Πεντάπολη	223/310	71.9	0.8	0.9
Μαλανδρίνο	143/290	49.3	0.8	0.6
Λευκαδίτι	53/109	48.6	0.9	0.6
Αμυδαλιά	220/495	44.4	0.7	< 0.05*
Λιδορίκι	137/612	22.4	0.4	0.2
Βουνιχώρα	214/449	47.7	0.9	0.8
Μηλιά	38/95	40.0	0.6	0.8
Μακρινή	93/147	63.3	0.9	0.8
ΣΥΝΟΛΟ	1121/2507	44.7	0.7	0.5

*Στατιστικά σημαντική διαφορά

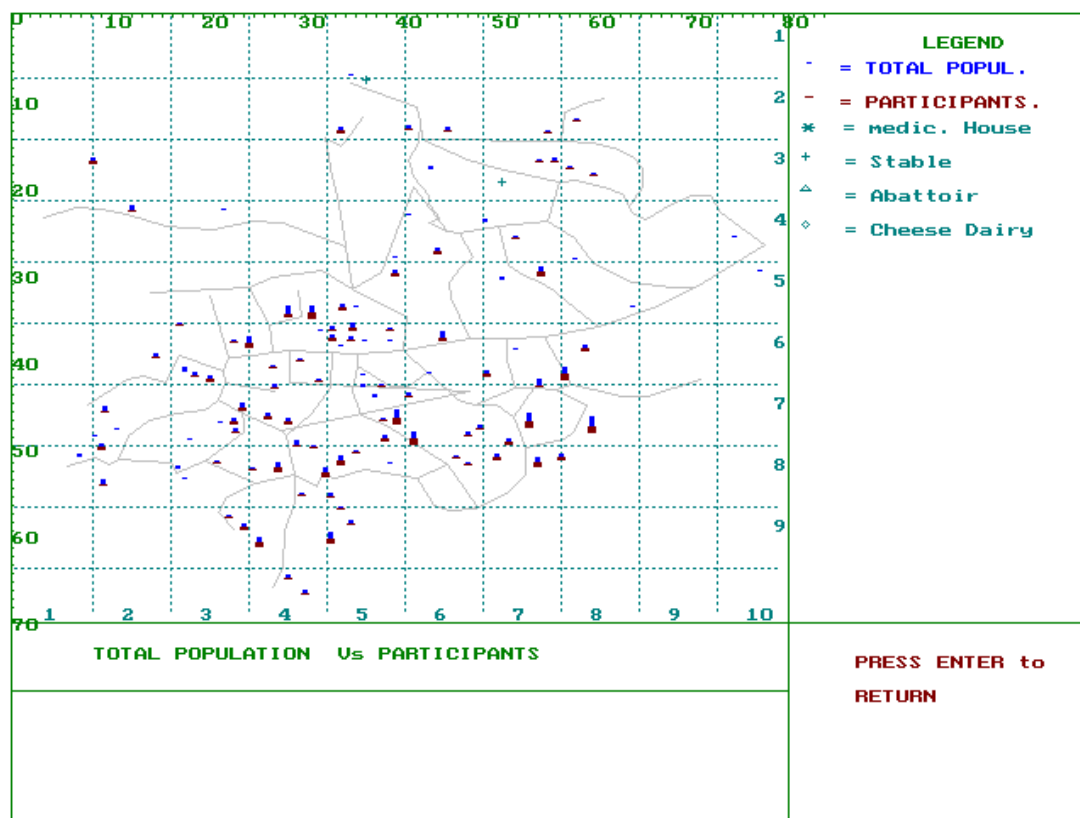
Με τη βοήθεια του ΠΜΧ ελέγξαμε την κατανομή των συμμετεχόντων, του επαγγέλματος και της ηλικίας τους, στο χώρο. Έτσι, συγκρίναμε την κατανομή στο χώρο του συνόλου και των συμμετεχόντων, με σκοπό να ελέγξουμε την αντιπροσωπευτικότητα του δείγματός μας, αναφορικά με τη γεωγραφική κατανομή. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 20, το οποίο αναφέρεται στην Πεντάπολη, η κατανομή των συμμετεχόντων, δε διαφέρει από την κατανομή του συνόλου. Παρόμοιες απεικονίσεις έγιναν για όλα τα χωριά, χρησιμοποιώντας το ΠΜΧ. Δε βρέθηκε σε κανένα χωριό διαφορά στη γεωγραφική απεικόνιση των συμμετεχόντων από το σύνολο του πληθυσμού. Στο χωριό Αμυδαλιά, ενώ δε βρέθηκε διαφορά στην τοπογραφική απεικόνιση των συμμετεχόντων (Σχήμα 21), βρέθηκε διαφορά της κατανομής του επαγγέλματος στο χώρο, σε σχέση με το σύνολο του πληθυσμού.



Σχήμα 19: Τοπογραφική απεικόνιση των συμμετεχόντων και του συνόλου του πληθυσμού στο χωριό Λιδορίκι. Το ΠΜΧ χρησιμοποιώντας 10 κάθετες και 10 οριζόντιες γραμμές χωρίζει το τοπογραφικό σε ζώνες και τετράγωνα. Στην συνέχεια γίνεται καταμέτρηση των συμμετεχόντων και του συνολικού πληθυσμού ανά ζώνη ή τετράγωνο και εφαρμόζεται η δοκιμασία χ^2 test, για να συγκριθούν οι κατανομές στο χώρο των συμμετεχόντων και του συνολικού πληθυσμού. Στο Λιδορίκι δε βρεθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.09$), αλλά ο αριθμός των συμμετεχόντων σε σχέση με το σύνολο είναι μικρός και έτσι η χρήση του ΠΜΧ στο χωριό αυτό είναι επισφαλής και τα αποτελέσματα όχι πολύ αξιόπιστα.



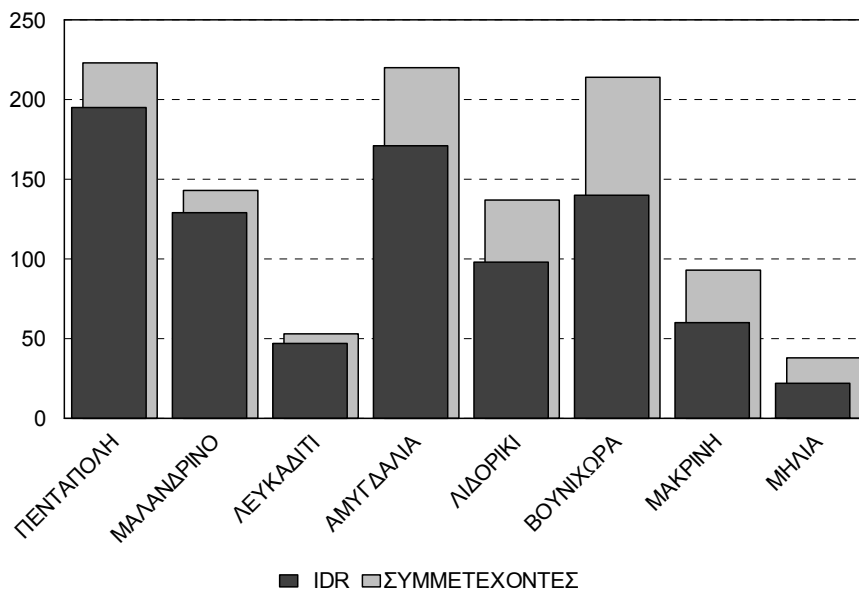
Σχήμα 20: Τοπογραφική απεικόνιση των συμμετεχόντων σε σχέση με το σύνολο του πληθυσμού στην Πεντάπολη. Το ΠΜΧ χρησιμοποιώντας την ίδια μεθοδολογία, όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, συγκρίνει τις δύο κατανομές: των συμμετεχόντων με αυτή του συνόλου. Στην Πεντάπολη η συμμετοχή είναι υψηλή και δεν παρατηρείται διαφορά ανάμεσα στην γεωγραφική κατανομή των συμμετεχόντων και του συνόλου του πληθυσμού ($\rho=0.85$).



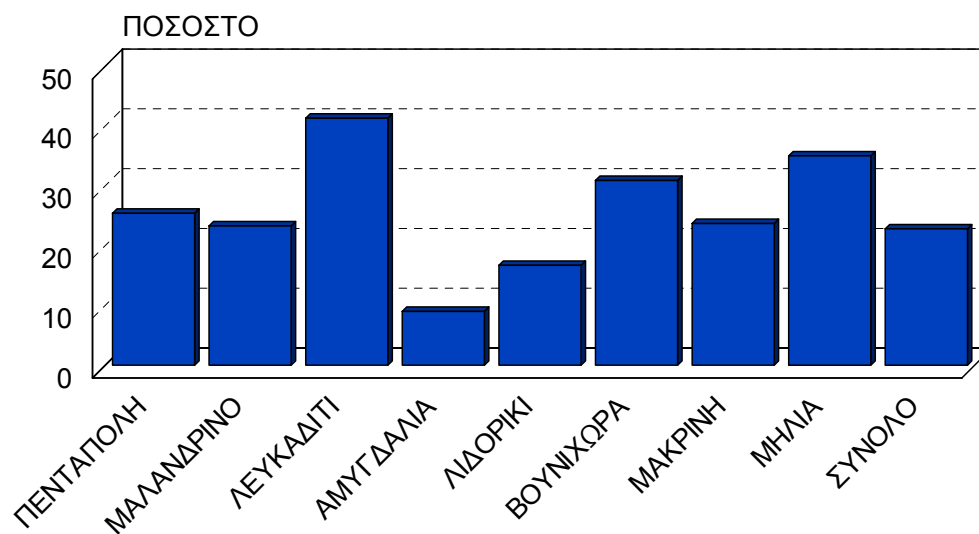
Σχήμα 21: Τοπογραφική απεικόνιση των συμμετεχόντων σε σχέση με το σύνολο του πληθυσμού στο χωριό Αμυγδαλιά. Ενώ δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στους συμμετέχοντες και στο σύνολο του πληθυσμού, εξετάζοντας την τοπογραφική κατανομή των συμμετεχόντων ανά επάγγελμα σε σχέση με το σύνολο βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$)

Ενδοδερμική αντίδραση:

Η ενδοδερμική αντίδραση έγινε σε 862 συμμετέχοντες, στους οποίους περιλαμβάνονταν και όσοι είχαν θετικό ιστορικό βρουκέλλωσης. Οι 438 ήταν άνδρες και οι 424 γυναίκες. Το αποτέλεσμα της ενδοδερμικής αντίδρασης διαβάστηκε έγκαιρα (μετά από 48 ώρες) σε 838 συμμετέχοντες. Ο αριθμός των ενδοδερμικών αντιδράσεων ανά χωριό, φαίνεται στο Σχήμα 22. Είναι φανερό ότι αναλογικά με τα υπόλοιπα χωριά, έγιναν λιγότερες IDR στη Βουνιχώρα. Βρέθηκαν συνολικά 191 (22.8%) θετικές IDR από τις 838 IDR που έγιναν και ανεγνώσθησαν σε όλα τα χωριά. Το ποσοστό της θετικής IDR ανά χωριό, φαίνεται στο Σχήμα 23. Υψηλότερο ποσοστό βρέθηκε στο Λευκαδίτι (41.3%), ενώ το χαμηλότερο στην Αμυγδαλιά (9%).

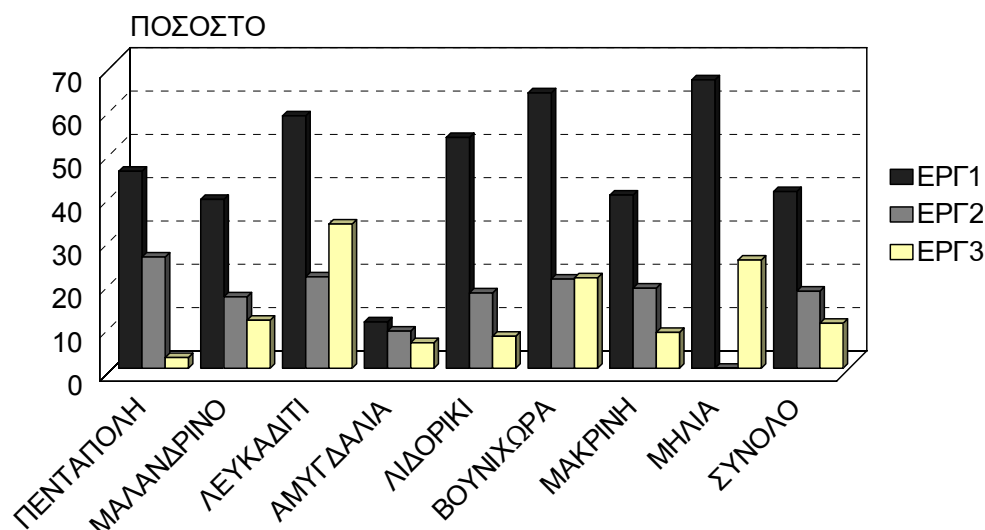


Σχήμα 22: Ενδοδερμικές αντιδράσεις ανά χωριό σε ενήλικες και παιδιά. Στο χωριό Βουνιχώρα έγιναν σχετικά λιγότερες ενδοδερμικές αντιδράσεις από ό,τι στα υπόλοιπα χωριά.



Σχήμα 23: Ποσοστό θετικών IDR ανά χωριό και σε όλη την περιοχή. Στο χωριό Λευκαδίτι παρατηρήθηκε το υψηλότερο ποσοστό και στο χωριό Αμυγδαλιά το χαμηλότερο.

Δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές παρενέργειες, εκτός από ήπιο κνησμό στην περιοχή που έγινε η εξέταση. Η ερυθρότητα και η διήθηση εξαφανίστηκαν 2-4 ημέρες μετά την ανάγνωση της εξέτασης. Επίσης, δεν παρατηρήθηκαν παρενέργειες στην ομάδα των συμμετεχόντων με θετικό ιστορικό βρουκέλλωσης. Οι θετικές αντιδράσεις στην πιο πάνω ομάδα δεν διέφεραν από τις θετικές αντιδράσεις των υπολοίπων αναφορικά με το μέγεθος της διήθησης, φουσαλίδες ή λεμφαγγειίτιδα. Αντίθετα μάλιστα, μερικοί συμμετέχοντες χωρίς ιστορικό βρουκέλλωσης στο παρελθόν, είχαν σημαντικά μεγαλύτερο μέγεθος διήθησης. Το ποσοστό θετικής IDR ανά επάγγελμα φαίνεται στο Σχήμα 24. Είναι φανερό ότι το ΕΡΓ1 έχει τα υψηλότερα ποσοστά θετικής IDR σε όλα τα χωριά.



Σχήμα 24: Θετικές IDR ανά επάγγελμα στα χωριά και στο σύνολο των συμμετεχόντων. Το μεγαλύτερο ποσοστό θετικών αντιδράσεων παρατηρήθηκε στην επαγγελματική κατηγορία ΕΡΓ1.

Τα χαρακτηριστικά (μέγεθος διήθησης κλπ.) των θετικών αντιδράσεων, περιγράφονται στον Πίνακα 3. Εννέα άτομα (4.7 %), παρουσίασαν εκτός από τη διήθηση και το ερύθημα και φουσαλίδες, ενώ ένα άτομο παρουσίασε τοπική λεμφαγγειίτιδα. Μία γυναίκα παρουσίασε Κνηδωτικό εξάνθημα 2 ώρες μετά την IDR. Παίρνοντας όμως αναλυτικό ιστορικό, βρέθηκε ότι ήταν αλλεργική σε πολλά αντιγόνα.

Πίνακας 3: Χαρακτηριστικά θετικών ενδοδερμικών αντιδράσεων

Μέγεθος της αντίδρασης	Αριθμός (%)	Φυσαλίδα	Λεμφαγγειίτιδα	Νέκρωση
5-10	40(20.9)	-	-	-
10-20	50(26.1)	-	-	-
20-30	35(18.4)	3	-	-
> 30	66(34.6)	6	1	-
Σύνολο	191(100)	9	1	

Η ευαισθησία της ενδοδερμικής αντίδρασης στην ανίχνευση βρουκέλλωσης στο παρελθόν (συγκρινόμενη με το θετικό ιστορικό) υπολογίστηκε 90.6 %, ενώ η ειδικότητα 89.3%. Η θετική προγνωστική αξία της IDR στην ανίχνευση βρουκέλλωσης στο παρελθόν υπολογίστηκε 60.2% και η αρνητική προγνωστική αξία 98.1 %.

Ιστορικό βρουκέλλωσης:

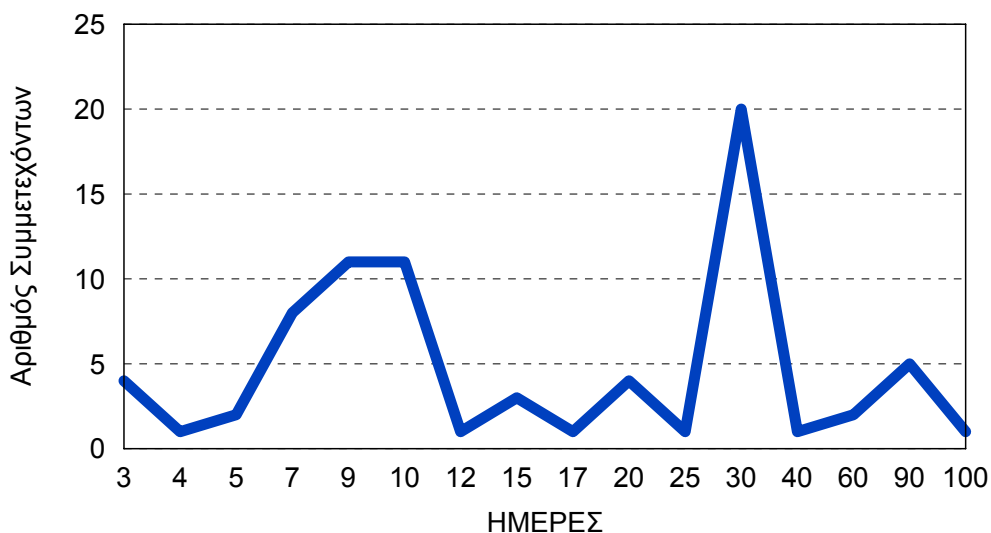
Από τις πληροφορίες που συλλέχθηκαν στο ερωτηματολόγιο βρέθηκαν 127 άτομα με θετικό ιστορικό βρουκέλλωσης. 120 από αυτούς (95.5%) είχαν διαγνωστεί με βάση την κλινική τους εικόνα και υψηλό τίτλο αντισωμάτων στις ορολογικές εξετάσεις. Η μέθοδος που χρησιμοποιείτο στο τοπικό νοσοκομείο, καθώς και στα ιδιωτικά εργαστήρια, ήταν η συγκολλητινοαντίδραση Wright. Μόνο σε 7 (5.5%) άτομα έγινε απομόνωση της Βρουκέλλας από το αίμα ή από τον μυελό των οστών. Η συχνότητα με την οποία παρουσιάστηκαν τα διάφορα συμπτώματα φαίνεται στον πίνακα. Πιο συχνά συμπτώματα ήταν ο πυρετός, οι νυκτερινές εφιδρώσεις και οι αρθραλγίες. Η διάρκεια του πυρετού ήταν από 2 ημέρες έως 100 με διάμεση τιμή 9 ημέρες (Σχήμα 25). Η θεραπεία που πήραν οι ασθενείς ήταν τετρακυκλίνη για 4 μέχρι 6 εβδομάδες και ταυτόχρονα τις 2 πρώτες εβδομάδες στρεπτομυκίνη ενδομυϊκά. Η πλήρης συμμόρφωση στο θεραπευτικό σχήμα ήταν χαμηλή και για τον λόγο αυτό καταγράφηκαν σε πολλά άτομα μία και δύο υποτροπές. Επίσης 2 άτομα είχαν χρόνια οστεοαρθρίτιδα από Βρουκέλλα.

Στο Σχήμα 26 φαίνεται το θετικό ιστορικό βρουκέλλωσης ανά επάγγελμα σε κάθε χωριό. Το χωριό Αμυγδαλιά, είχε το χαμηλότερο ποσοστό (κτηνοτρόφοι 2.8), ενώ το χωριό Λευκαδίτι, είχε το υψηλότερο ποσοστό (42.8).

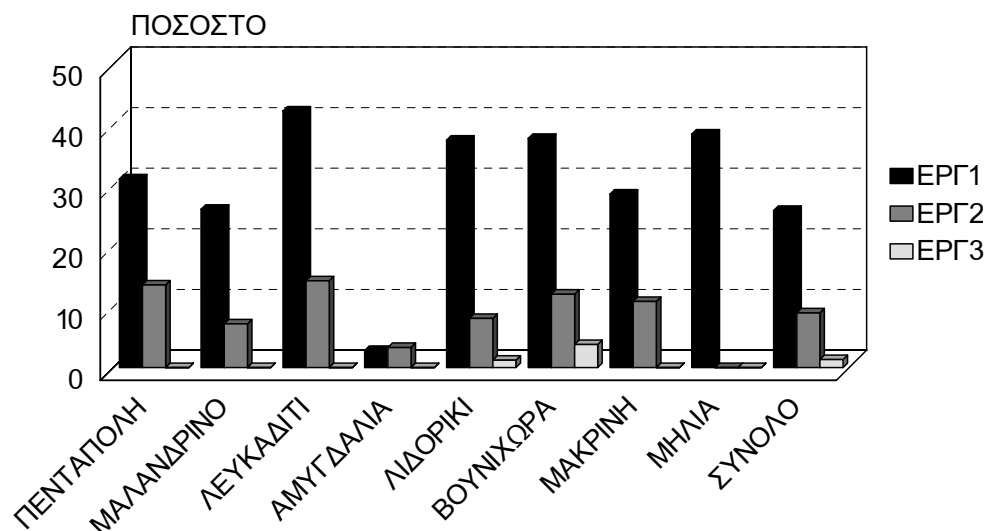
Πρέπει να σημειώσουμε ότι στο χωριό Αμυγδαλιά το ποσοστό των κτηνοτρόφων, που δήλωσαν στο ερωτηματολόγιο ότι είχαν βρουκέλλωση στο παρελθόν, είναι μικρότερο από το επάγγελμα ΕΡΓ 2 (μέτρια έκθεση στα ζώα), πράγμα το οποίο παρατηρείται μόνο σε αυτό το χωριό. Επίσης, τόσο το ποσοστό θετικής IDR, όσο και το ποσοστό θετικών ορολογικών εξετάσεων, είναι υψηλότερα σε όλα τα χωριά στο ΕΡΓ1. Αυτό συμβαίνει και στο χωριό Αμυγδαλιά. Έτσι, είναι φανερό, ότι στην Αμυγδαλιά οι κτηνοτρόφοι που υπάγονταν στην κατηγορία επαγγέλματος ΕΡΓ1 και είχαν βρουκέλλωση στο παρελθόν αρνήθηκαν να συμμετάσχουν στην έρευνα.

Πίνακα 4: Συχνότητα αναφερθέντων συμπτωμάτων στους συμμετέχοντες με θετικό ιστορικό βρουκέλλωσης.

Σύμπτωμα	Ποσοστό
Πυρετός	94.7%
Εφίδρωση	71.9 %
Αρθραλγία	86.3%
Καταβολή	83.7%
Μυαλγία	68.4%
Οσφραλγία	57.9 %
Ευαισθησία στην οσφυϊκή χώρα	50.0%
Επιδιδυμορχίτιδα	6.8%
Εξάνθημα	1.8 %
Εκδηλώσεις από ΚΝΣ	3.4%



Σχήμα 25: Χρονική διάρκεια του πυρετού στα άτομα που είχαν ιστορικό βρουκέλλωσης (ερωτηματολόγιο).



Σχήμα 26: Ποσοστό θετικού ιστορικού ανά επάγγελμα σε κάθε χωριό και στο σύνολο των συμμετεχόντων. Σε όλα τα χωριά το ποσοστό θετικού ιστορικού είναι υψηλότερο στην επαγγελματική κατηγορία ΕΡΓ1 (κτηνοτρόφοι κλπ.), εκτός από την Αμυδαλία, όπου παρατηρήθηκε χαμηλότερο ποσοστό θετικού ιστορικού στην ομάδα ΕΡΓ1 από αυτό της ομάδας ΕΡΓ2. Αυτό είναι ενδεικτικό ότι οι κτηνοτρόφοι με θετικό ιστορικό αρνήθηκαν να συμμετάσχουν στην έρευνα.

Ορολογικός έλεγχος:

Ελήφθη αίμα σε 1096 (97.7%) από τους 1121 συμμετέχοντες και εξετάστηκε στο πανεπιστήμιο Κρήτης με δύο διαφορετικές ορολογικές μεθόδους, όπως περιγράφηκε στην μεθοδολογία (ELISA και Rose Bengal).

ELISA

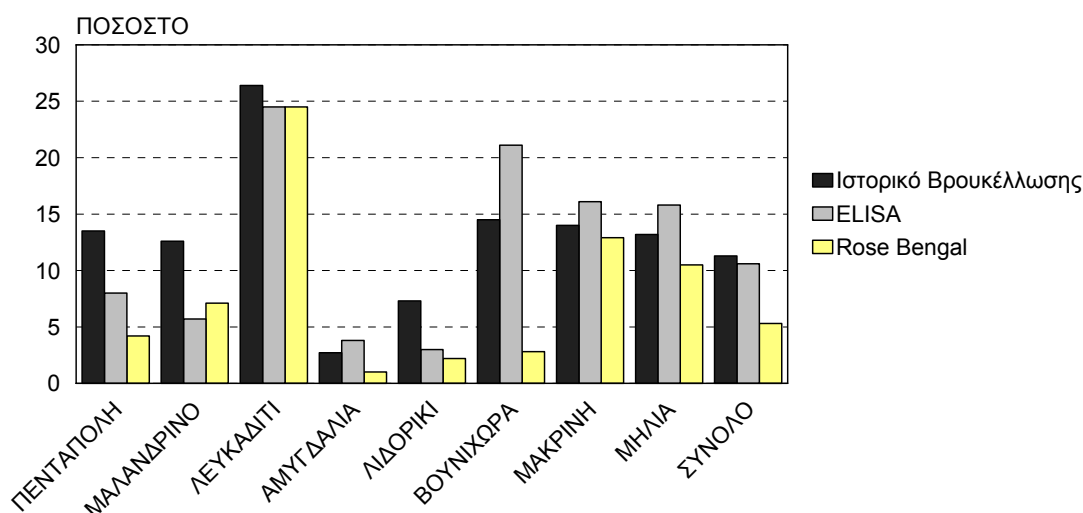
Βρέθηκαν 116 (10.6%) θετικοί οροί από τους 1096 που εξετάστηκαν. Από τους 125 συμμετέχοντες, που είχαν θετικό ιστορικό βρουκέλλωσης και εξετάστηκαν ορολογικά, 64(51.2%) βρέθηκαν θετικοί. Σε όσους ανευρέθηκε θετικό αποτέλεσμα ο μέσος χρόνος από την ημέρα της εξέτασης μέχρι τον αναφερόμενο χρόνο που νόσησαν στο ιστορικό ήταν 7.7 χρόνια (std dev=5.6). Το ποσοστό θετικών ορών στην EELISA ανά χωριό φαίνεται στο Σχήμα 27.

Η ευαισθησία της ELISA στην ανίχνευση βρουκέλλωσης στο παρελθόν (σύγκριση με θετικό ιστορικό) υπολογίστηκε σε 51.2% και η ειδικότητα σε 94.6%. Η θετική προγνωστική αξία στην ανίχνευση βρουκέλλωσης στο παρελθόν υπολογίστηκε 55.2% και η αρνητική προγνωστική αξία σε 93.8%.

Rose Bengal.

Βρέθηκαν 59(5.4%) θετικοί οροί από τους 1096 που εξετάστηκαν. Από τους 125 συμμετέχοντες που είχαν θετικό ιστορικό βρουκέλλωσης και εξετάστηκαν ορολογικά 39(31.2%) βρέθηκαν θετικοί. Σε όσους ανευρέθηκε θετικό αποτέλεσμα ο μέσος χρόνος από την ημέρα της εξέτασης μέχρι τον αναφερόμενο χρόνο που νόσησαν στο ιστορικό ήταν 5.3 χρόνια (std dev=5.2). Το ποσοστό θετικών ορών στην Rose Bengal ανά χωριό φαίνεται στο Σχήμα 27.

Η ευαισθησία της Rose Bengal στην ανίχνευση βρουκέλλωσης στο παρελθόν (σύγκριση με θετικό ιστορικό) υπολογίστηκε σε 31.2% και η ειδικότητα σε 97.9%. Η θετική προγνωστική αξία στην ανίχνευση βρουκέλλωσης στο παρελθόν υπολογίστηκε 66.1% και η αρνητική προγνωστική αξία σε 91.7%.

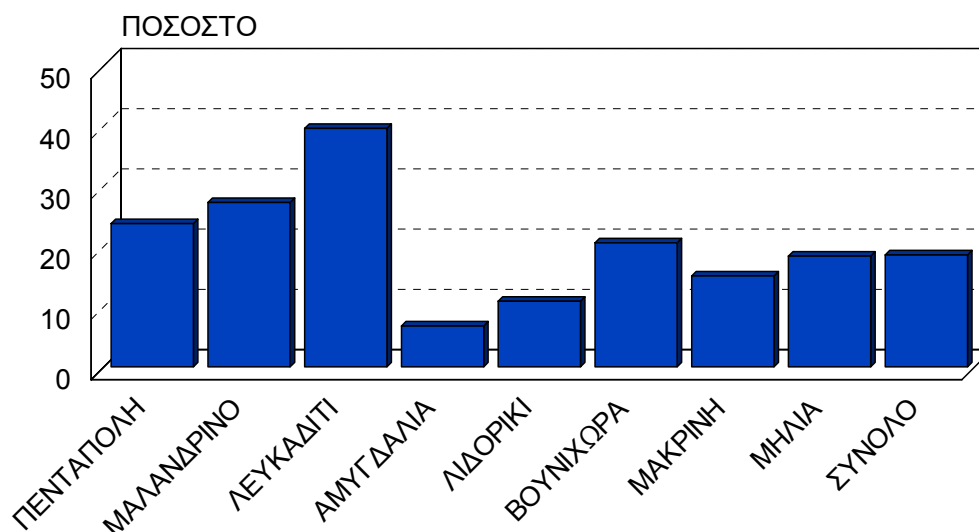


Σχήμα 27: Ποσοστό θετικής ELISA και θετικής Rose Bengal σε κάθε χωριό και στο σύνολο των συμμετεχόντων σε σύγκριση με το θετικό ιστορικό βρουκέλλωσης.

Επιπολασμός:

Στην υπό μελέτη περιοχή, βρέθηκαν 209 συμμετέχοντες με "βρουκέλλωση στο παρελθόν". Θετικό ιστορικό είχαν 127, μόνο θετική IDR είχαν 76 και 6 είχαν μόνο θετικό ορολογικό έλεγχο (θετικές και τις δύο ορολογικές μεθόδους). Από τους 127 συμμετέχοντες με θετικό ιστορικό βρουκέλλωσης, 115 (90.5%) είχαν θετική IDR, ενώ 65 (51.1%) είχαν θετικό ορολογικό έλεγχο. Από τους 76 συμμετέχοντες που είχαν θετική IDR, 18 (23.6%) είχαν θετικό ορολογικό έλεγχο (ELISA η Rose Bengal). Έτσι, ο επιπολασμός στην υπό μελέτη περιοχή, υπολογίστηκε σε 18.64% (209 / 1121). Στα παιδιά ηλικίας μικρότερης των 15 χρόνων βρέθηκε επιπολασμός 9.3% (8/86) ο οποίος ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερος από αυτόν που βρέθηκε στους ενήλικες.

Στο Σχήμα 28 φαίνεται ο επιπολασμός ανά χωριό. Ο υψηλότερος επιπολασμός υπολογίστηκε στο χωριό Λευκαδίτι (39.8%), ενώ ο χαμηλότερος υπολογίστηκε στο χωριό Αμυγδαλιά (7.3%). Η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική ($P < 0.001$). Για να διερευνήσουμε τη διαφορά αυτή, συγκρίναμε τους παράγοντες κινδύνου (επάγγελμα, κατανάλωση μη παστεριωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, ζώα ανά κατοίκους κλπ.) ανάμεσα στους συμμετέχοντες των δύο χωριών. Στατιστικά σημαντική διαφορά ($P < 0.05$), βρέθηκε ανάμεσα στο επάγγελμα. Στο χωριό Λευκαδίτι συμμετείχαν περισσότεροι κτηνοτρόφοι.



Σχήμα 28: Επιπολασμός σε ενήλικες και παιδιά σε κάθε χωριό και στο σύνολο του πληθυσμού. Στο Λευκαδίτι βρέθηκε ο υψηλότερος επιπολασμός και στην Αμυγδαλιά ο χαμηλότερος.

Επίπτωση:

1) Επίπτωση από τα στοιχεία του Υπουργείου Υγείας:

Κατά την διάρκεια της περιόδου 1979-1988 δηλώθηκαν στο υπουργείο Υγείας 35 κρούσματα στα 8 χωριά του νομού Φωκίδας. Ο αριθμός αυτός αντιπροσωπεύει αθροιστική επίπτωση 13.9/1000, αφού ο πληθυσμός των χωριών αυτών ήταν 2507 κάτοικοι (35/2507). Η μέση ετήσια επίπτωση είναι 1.39/1000/έτος.

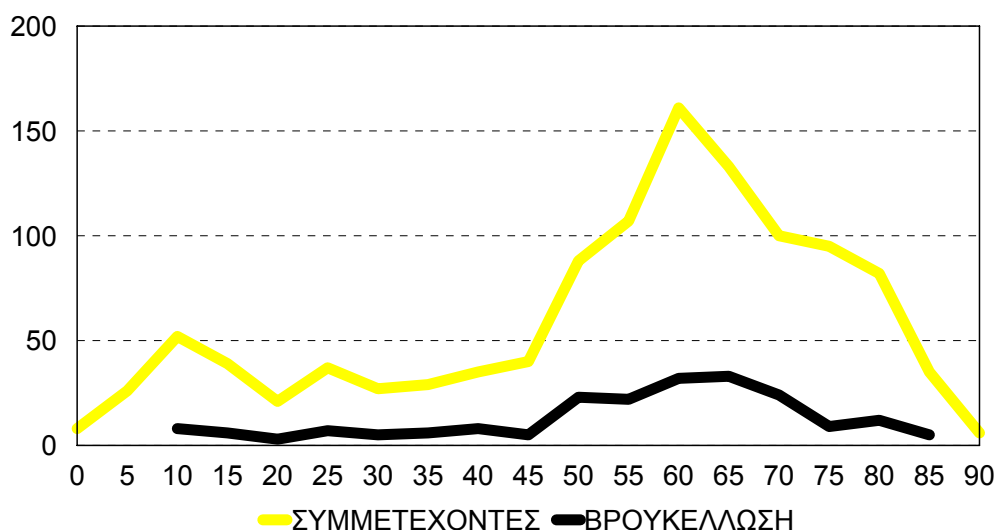
2) Επίπτωση από τα στοιχεία του ερωτηματολογίου επιδημιολογικής μελέτης:

Την ίδια χρονική περίοδο 1979-1988, 86 από τους 1121 συμμετέχοντες δήλωσαν στο ερωτηματολόγιο ότι είχαν διαγνωστεί κλινικά και εργαστηριακά και επί πλέον είχαν θεραπευτεί για βρουκέλλωση. Ο αριθμός αυτός αντιπροσωπεύει αθροιστική επίπτωση 76.7/1000 και μέση ετήσια επίπτωση 7.67/1000/έτος

Ηλικία:

Η κατανομή ηλικίας των συμμετεχόντων που έπασχαν από βρουκέλλωση στο παρελθόν και του συνόλου των συμμετεχόντων φαίνεται στο Σχήμα 29. Ενώ φαίνεται αύξηση του αριθμού στις ηλικίες 50-65, πρέπει να σημειώσουμε

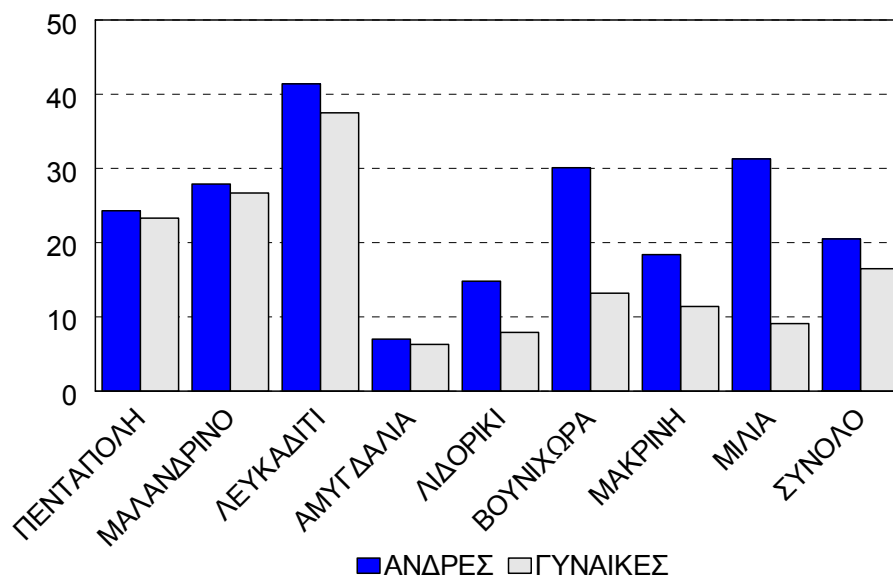
ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά με την ηλικία του συνόλου των συμμετεχόντων. Η μέση τιμή ηλικίας συμμετεχόντων με "βρουκέλλωση στο παρελθόν", είναι 55.4 και η διάμεσος τιμή 61, ενώ των αρνητικών συμμετεχόντων είναι αντίστοιχα 57.029 και 61 ($P= 0.97$).



Σχήμα 29: Κατανομή ηλικίας ατόμων με "βρουκέλλωση στο παρελθόν" σε σύγκριση με την κατανομή ηλικίας των συμμετεχόντων.

Φύλο:

Ο επιπολασμός στους άνδρες, είναι υψηλότερος (20.5%) από τις γυναίκες (16.5%). Ο επιπολασμός ανά φύλο και ανά χωριό φαίνεται στο Σχήμα 30. Παρατηρείται μεγαλύτερη διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα στο χωριό Βουνιχώρα. Στους άνδρες βρήκαμε 30.1%, ενώ στις γυναίκες 13.2%, διαφορά η οποία είναι στατιστικά σημαντική ($P= 0.004$). Στη συνέχεια χρησιμοποιήσαμε διαστρωματική στατιστική ανάλυση (Stratified analysis) και υπολογίσαμε τον συνολικό σχετικό κίνδυνο (Summary Relative Risk) ο οποίος είναι 1.08 με 95% όρια αξιοπιστίας 1.02 και 1.14 (δεν περικλείεται το 1) και επίσης χρησιμοποιήσαμε το χ^2 test για αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης ανάμεσα στις διάφορες ομάδες (χωριά). Το P value υπολογίστηκε σε 0.32 που σημαίνει ότι δεν υπάρχει διαφορά του συνολικού σχετικού κινδύνου ανάμεσα στα διάφορα χωριά. Έτσι, φαίνεται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα.



Σχήμα 30: Επιπολασμός της βρουκέλλωσης ανά φύλο σε κάθε χωριό και στο σύνολο των συμμετεχόντων. Σέ όλα τα χωριά ο επιπολασμός είναι υψηλότερος στους άνδρες.

Παράγοντες κινδύνου:

Χρησιμοποιώντας τις πληροφορίες που περιέχονταν στο ερωτηματολόγιο, έγινε συσχέτιση των γνωστών παραγόντων κινδύνου με τη βρουκέλλωση στο παρελθόν. Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης καθώς και τα αποτελέσματα της εφαρμογής του ΠΜΧ φαίνονται στον Πίνακα 5.

Όσοι κατανάωναν γάλα μη παστεριωμένο, είχαν υψηλότερο κίνδυνο να νοσήσουν ($P < 0.001$, $RR = 1.98$, $1.39 < RR < 2.3$). Επίσης, αυξημένο κίνδυνο να νοσήσουν είχαν, όσοι κατανάωσαν φρέσκο τυρί μη παστεριωμένο ($p < 0.01$, $RR = 2.13$, $1.2 < RR < 3.77$). * Οι κτηνοτρόφοι, οι σφαγείς, οι κτηνίατροι και γενικότερα όσοι κατετάγησαν στη κατηγορία επαγγέλματος ΕΡΓ1, είχαν υψηλότερο κίνδυνο να νοσήσουν ($P < 0.00001$, $RR = 5.81$, $3.86 < RR < 9.20$). Όσοι κατατάχθηκαν στην ομάδα επαγγέλματος ΕΡΓ2 (αυτοί δηλαδή που διατηρούσαν 1-2 αιγοπρόβατα, για να καλύπτουν τις ανάγκες τους σε γαλακτοκομικά), είχαν επίσης αυξημένο κίνδυνο να νοσήσουν ($P < 0.0001$, $RR = 3.25$, $1.25 < RR < 5.44$). Σε όσους αναφερόταν στο ιστορικό τους ότι τα ζώα τους είχαν αποβολές, είχαν μεγαλύτερο κίνδυνο να νοσήσουν ($P < 0.05$, $RR = 1.4$, $1.06 < RR < 1.85$). Δε βρέθηκε συσχέτιση με το εάν οι κτηνοτρόφοι εμβολιάζουν τα ζώα τους ή όχι. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 6 στα παιδιά ηλικίας μικρότερης των 15 χρόνων δε βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στους γνωστούς παράγοντες κινδύνου και τη βρουκέλλωση στο παρελθόν.

Πίνακας 5: Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης των παραγόντων κινδύνου και των πολλαπλών απεικονίσεων του ΠΜΧ στους ενήλικες.

	<i>P</i> value	Σχετικός Κίνδυνος (RR)	Αποτελέσματα ΠΜΧ
Μη παστεριωμένο γάλα	0,001*	1.98	Υ
Γαλακτοκομικά προϊόντα μη παστεριωμένα	0,01*	2.13	Υ
Κτηνοτρόφοι - Σφαγείς	0,0001*	5.81	Υ
Ζώα στο σπίτι	0,0001*	3.25	Υ
Αποβολές στα ζώα	0,05	1.4	Υ
Κοπριά στην αυλή	0,70	-	N
Φύλο	0,10	-	N
Ηλικία	0,9	-	N

* Στατιστικά σημαντική διαφορά

Πίνακας 6: Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης των παραγόντων κινδύνου και των πολλαπλών απεικονίσεων του ΠΜΧ στά παιδιά ηλικίας μικρότερης των 15 χρόνων.

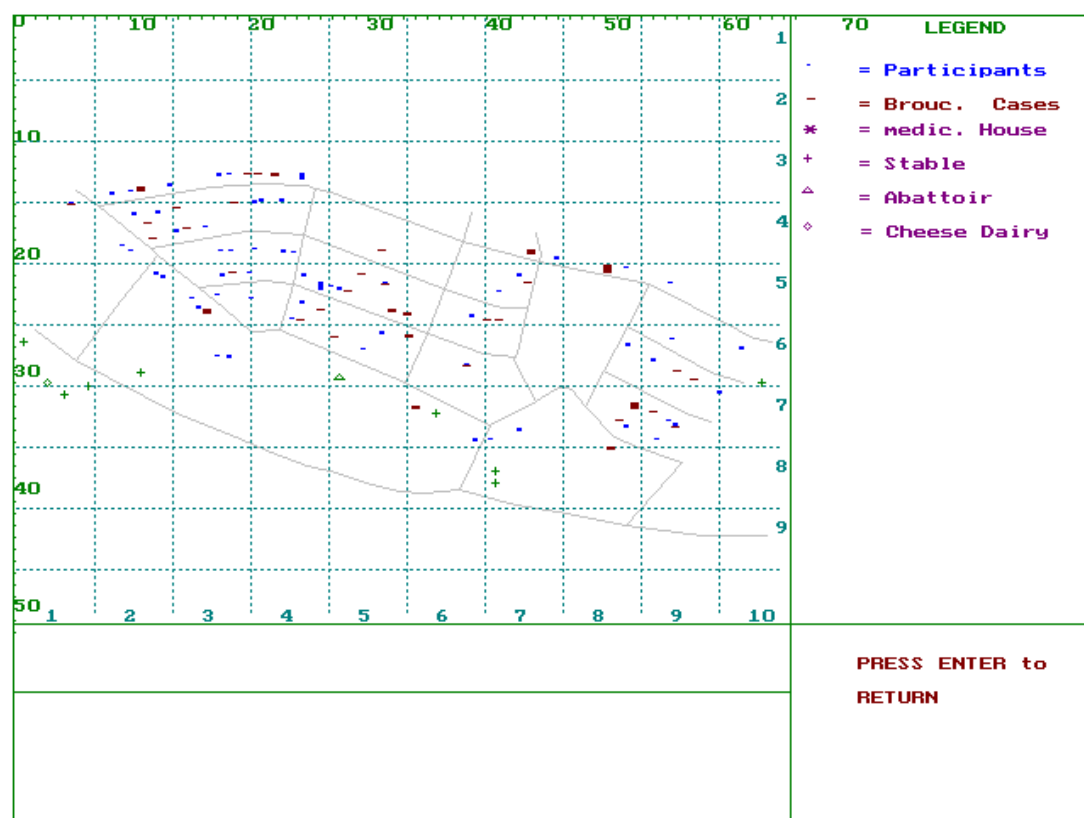
	<i>P</i> value	Σχετικός Κίνδυνος (RR)	Αποτελέσματα ΠΜΧ
Μη παστεριωμένο γάλα	0,5	-	N
Γαλακτοκομικά προϊόντα μη παστεριωμένα	0,2	-	N
Ζώα στο σπίτι	0,15	-	N
Αποβολές στα ζώα	0,7	-	N
Κοπριά στην αυλή	0,5	-	Υ
Φύλο	0,8	-	N
Ηλικία	0,2	-	N

Κατανομή στο χώρο των περιπτώσεων βρουκέλλωσης και συσχέτιση με τους παράγοντες κινδύνου:

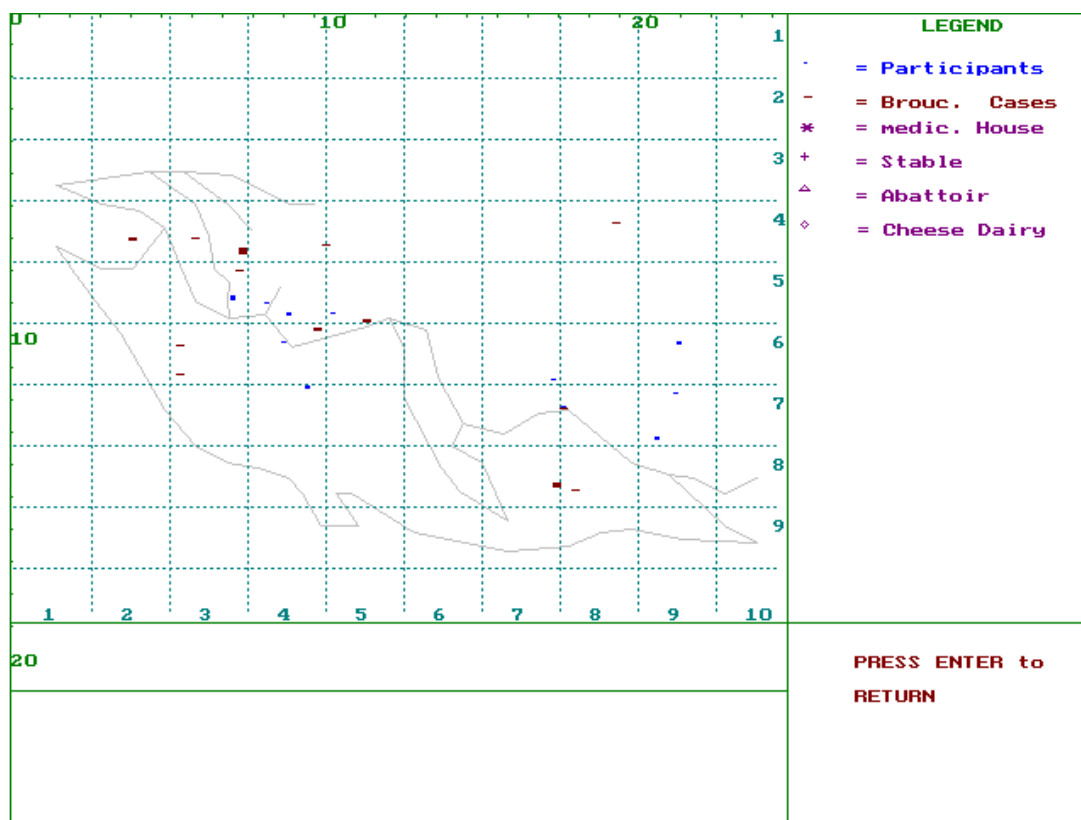
Τα κρούσματα απεικονίστηκαν στο τοπογραφικό κάθε χωριού και, χρησιμοποιώντας τη μεθοδολογία που αναφέρεται στο Σχήμα 31, αναζητήθηκε συγκέντρωση κρουσμάτων (Clustering of cases). Σε επτά από τα οκτώ χωριά, δεν ανευρέθηκε συγκέντρωση κρουσμάτων. Στο χωριό Πεντάπολη, αρχικά βλέποντας την κατανομή των κρουσμάτων στο χώρο, δημιουργείται η εντύπωση ότι υπάρχει συγκέντρωση κρουσμάτων στη ζώνη 8. Εφαρμόζοντας όμως στατιστική ανάλυση στις ζώνες που χρησιμοποιεί το ΠΜΧ δε βρέθηκε σημαντική διαφορά ($P= 0.80$). Έτσι, η κατανομή των συμμετεχόντων στη Πεντάπολη δε διαφέρει από αυτή των περιπτώσεων βρουκέλλωσης. Η φαινομενική συγκέντρωση κρουσμάτων οφειλόταν σε αυξημένη πυκνότητα πληθυσμού. Στο χωριό Λευκαδίτι, όπως φαίνεται στο Σχήμα 32, παρατηρείται συγκέντρωση κρουσμάτων στη τρίτη ζώνη. Αυτή η συγκέντρωση κρουσμάτων, προερχόταν από περιπτώσεις βρουκέλλωσης τα 2 προηγούμενα χρόνια. (1987-1988). Η κατανομή στο χώρο των περιπτώσεων βρουκέλλωσης και των συμμετεχόντων διαφέρουν στατιστικά σημαντικά και έτσι η συγκέντρωση κρουσμάτων ήταν πραγματική ($p<0.05$).

Η τοπογραφική κατανομή των περιπτώσεων έγινε παράλληλα και ταυτόχρονα με την κατανομή διαφόρων παραγόντων κινδύνου. Έτσι, χρησιμοποιώντας το ΠΜΧ, ελέγξαμε, αν η κατανομή των παραγόντων κινδύνου ακολουθεί τη κατανομή των περιπτώσεων (αν διαφέρει στατιστικά σημαντικά). Έτσι, ελέγξαμε τη κατανομή, για παράδειγμα, του επαγγέλματος, η οποία δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά από την κατανομή των περιπτώσεων ($P=0.70$). Επίσης, ελέγξαμε την κατανομή της κατανάλωσης φρέσκου γάλακτος ($P= 0.80$), φρέσκου τυριού ($P=0.70$), ύπαρξη κοπριάς στην αυλή του σπιτιού ($P=0.90$), τις αποβολές στα ζώα ($P=0.80$)(Σχήμα 33). Οι απεικονίσεις έγιναν σε όλα τα χωριά και είχαμε παρόμοια αποτελέσματα. Πρέπει να σημειωθεί ότι στο χωριό Λευκαδίτι, στο οποίο είχαμε συγκέντρωση κρουσμάτων στη τρίτη ζώνη, στην ίδια ακριβώς ζώνη είχαμε συγκέντρωση αποβολών (Σχήμα 34). Έτσι, χρησιμοποιώντας το ΠΜΧ, τα αποτελέσματα, που είχαν βρεθεί με την κλασική στατιστική ανάλυση, υποστηρίχτηκαν και με τις απεικονίσεις που έγιναν σε κάθε χωριό ξεχωριστά (Πίνακας 5). Επιπλέον στα παιδιά ηλικίας μικρότερης

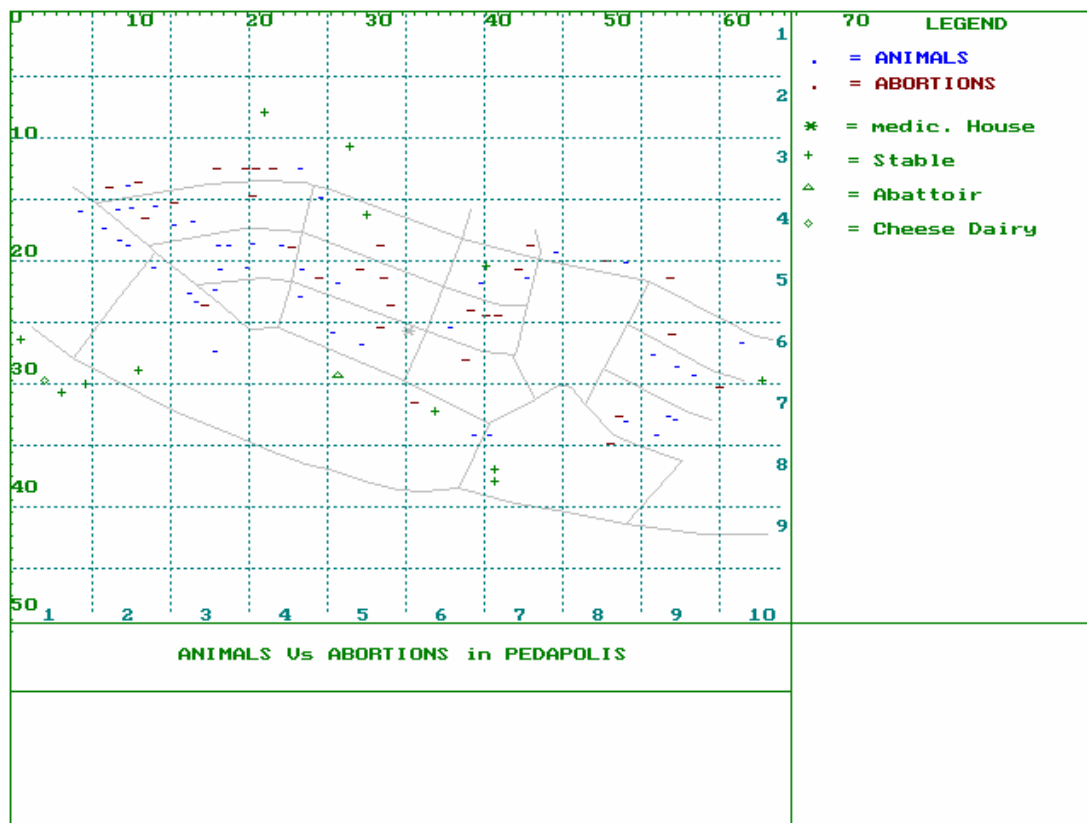
των 15 χρόνων, χρησιμοποιώντας το ΠΜΧ και απεικονίζοντας τα κρούσματα στα παιδιά ταυτόχρονα με τα σπίτια που έχουν κοπριά στην αυλή τους, φάνηκε ότι τα κρούσματα είναι μέσα και γύρω από αυτά τα σπίτια. Έτσι ένας πιθανός παράγοντας κινδύνου για τα παιδιά είναι η κοπριά στην αυλή των σπιτιών.



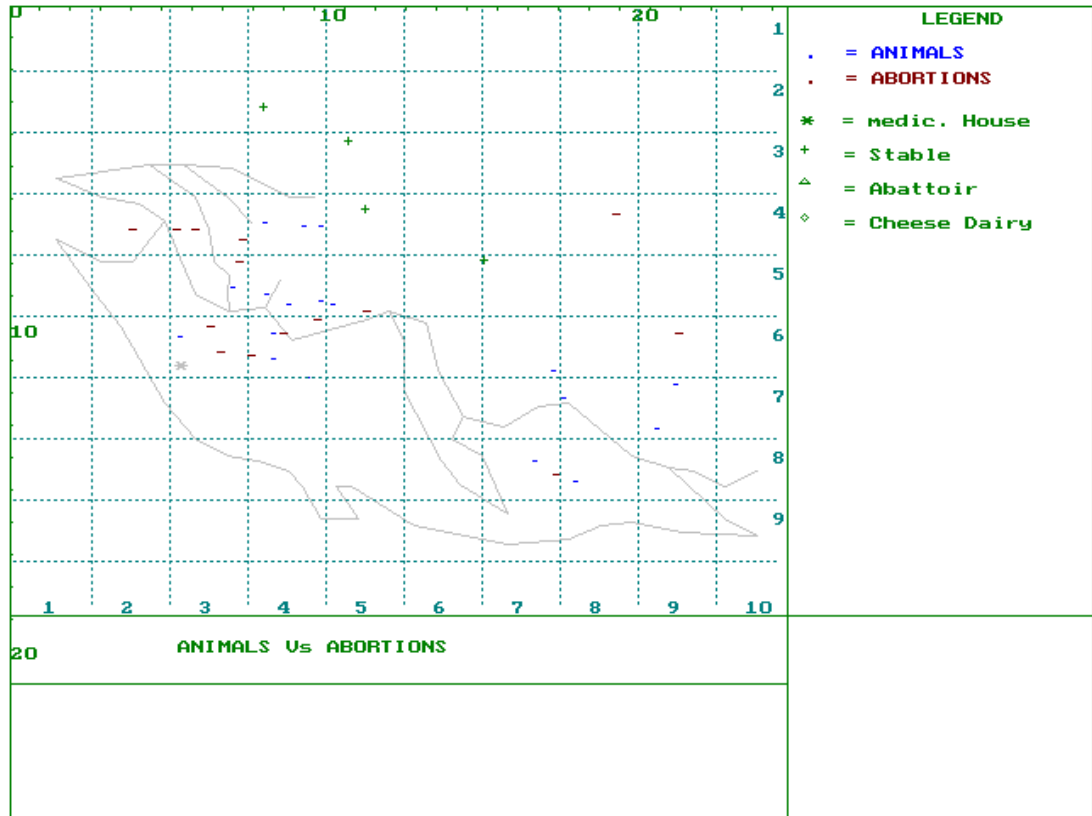
Σχήμα 31: Τοπογραφική απεικόνιση των περιπτώσεων βρουκέλλωσης και αναζήτηση συγκέντρωσης κρουσμάτων (case clustering). Με το ΠΜΧ απεικονίζονται τα κρούσματα στο τοπογραφικό μαζί με όλους του επιδημιολογικούς παράγοντες (στάβλους, σφαγεία κλπ.) και μπορεί να γίνει αρχικά μια οπτική εκτίμηση της κατανομής των κρουσμάτων σε σχέση με τους επιδημιολογικούς παράγοντες. Στην συνέχεια το ΠΜΧ χρησιμοποιεί ζώνες ή τετράγωνα πάνω στο τοπογραφικό και καταμετρούνται οι περιπτώσεις βρουκέλλωσης σε σχέση με τους συμμετέχοντες και εφαρμόζοντας την δοκιμασία χ^2 test ελέγχει, αν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στην κατανομή των κρουσμάτων και την κατανομή των συμμετεχόντων. Έτσι ελέγχει, εάν υπάρχει πραγματική συγκέντρωση κρουσμάτων ή οφείλεται στην αυξημένη πυκνότητα πληθυσμού. Στο χωριό Πεντάπολη, ενώ οπτικά φαίνεται να έχει συγκέντρωση κρουσμάτων στην ζώνη 8, χρησιμοποιώντας το ΠΜΧ το p value υπολογίστηκε 0.80.



Σχήμα 32: Τοπογραφική απεικόνιση των κρουσμάτων στο χωριό Λευκαδίτι. Στη ζώνη 3 παρατηρείται συγκέντρωση κρουσμάτων βρουκέλλωσης. Χρησιμοποιώντας τη μεθοδολογία που έχει ήδη αναφερθεί βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στην κατανομή των συμμετεχόντων και την κατανομή των κρουσμάτων ($p \text{ value} = 0.04$).



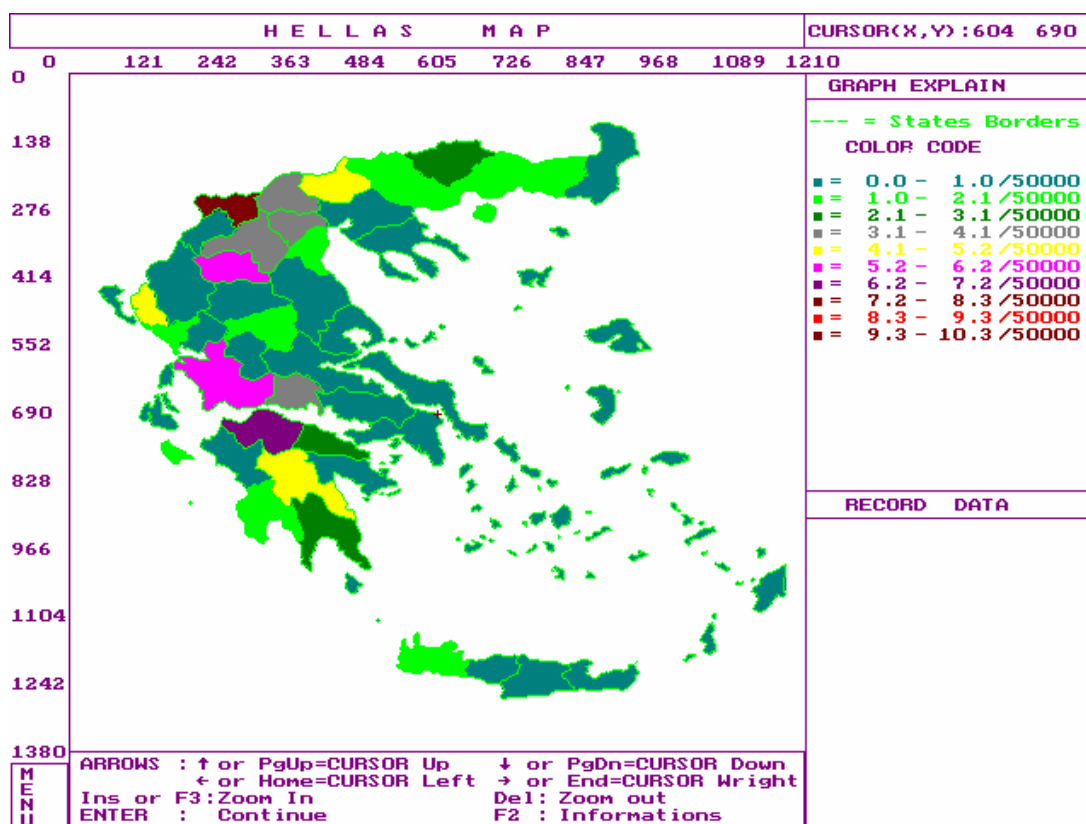
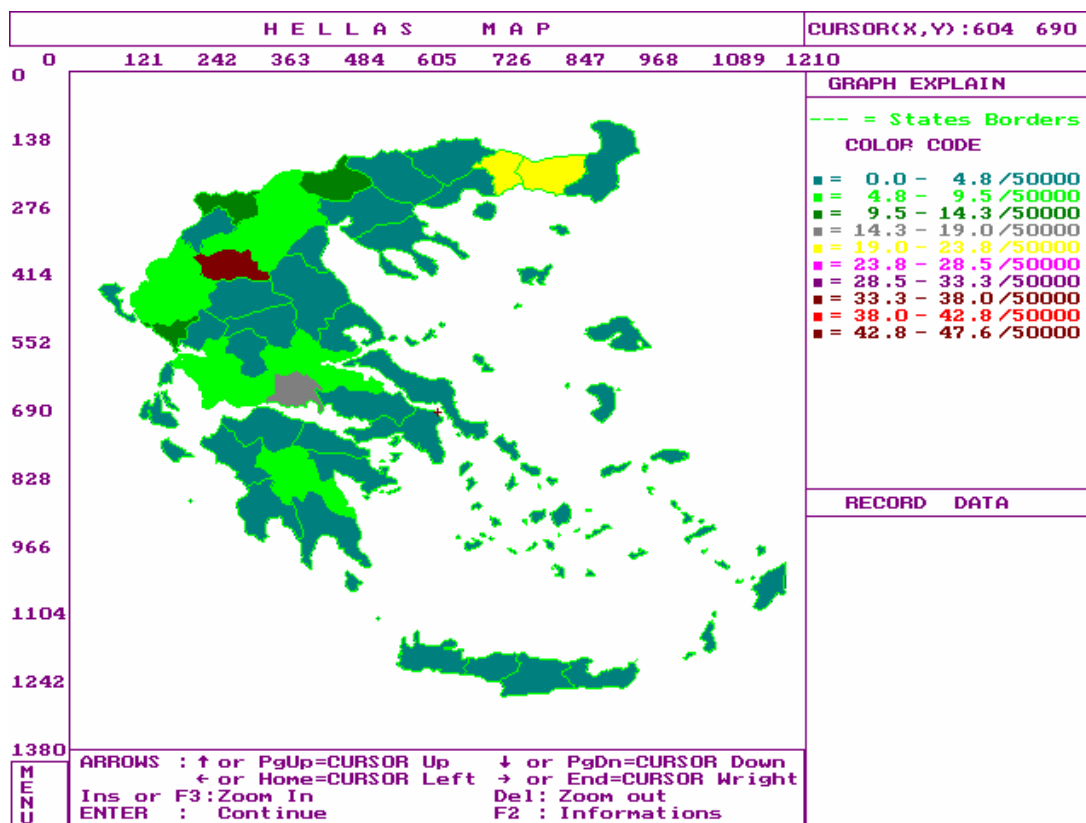
Σχήμα 33: Τοπογραφική απεικόνιση αποβολών στο χωριό Πεντάπολη. Χρησιμοποιώντας την ίδια μεθοδολογία για την ανίχνευση συγκέντρωσης κρούσματος δε βρέθηκε συγκέντρωση αποβολών ($p=0.25$).



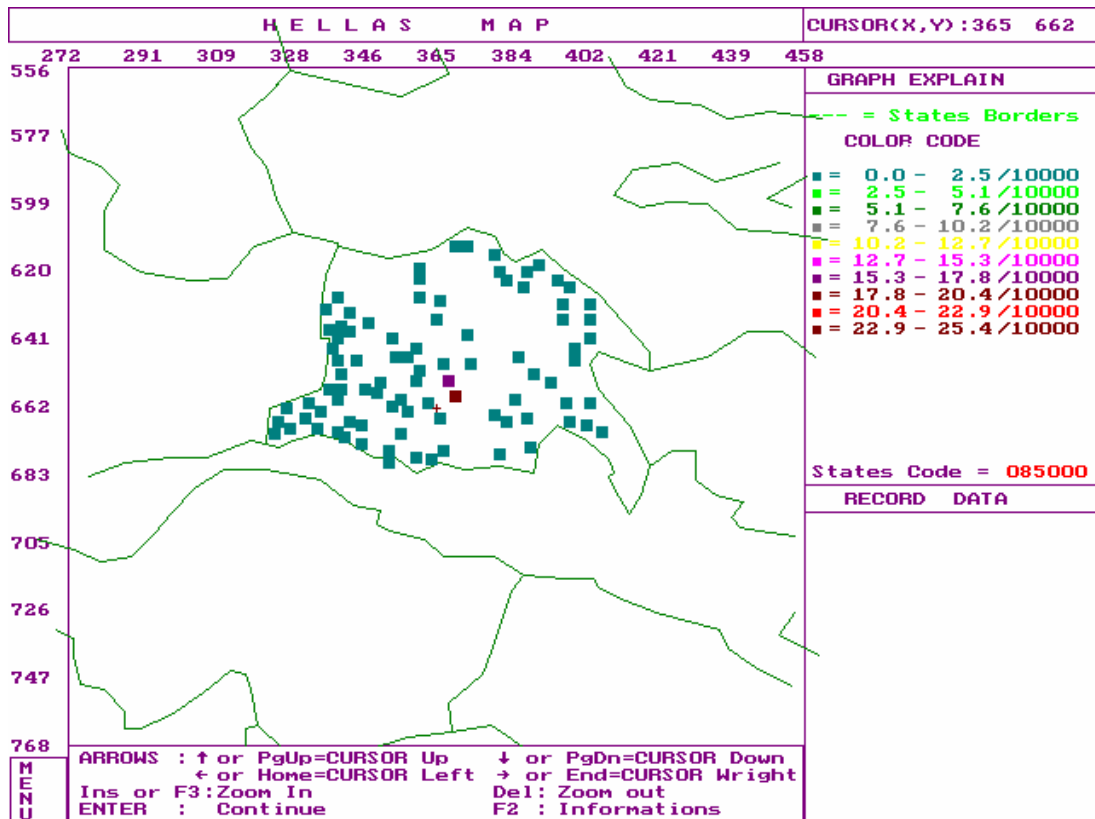
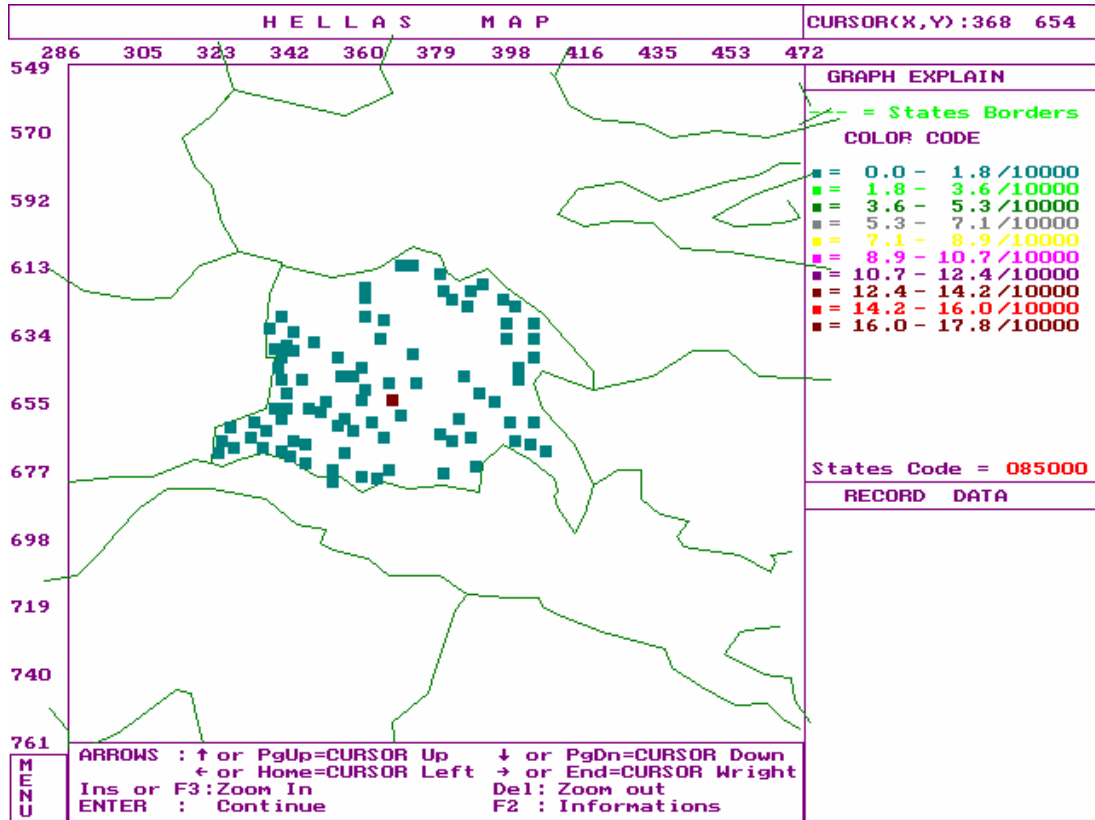
Σχήμα 34: Τοπογραφική απεικόνιση των αποβολών στο χωριό Λευκαδίτι. Στην ίδια ζώνη (ζώνη 3), όπου βρέθηκε συγκέντρωση κρουσμάτων βρουκέλλωσης, παρατηρείται συγκέντρωση αποβολών στα ζώα ($p=0.05$).

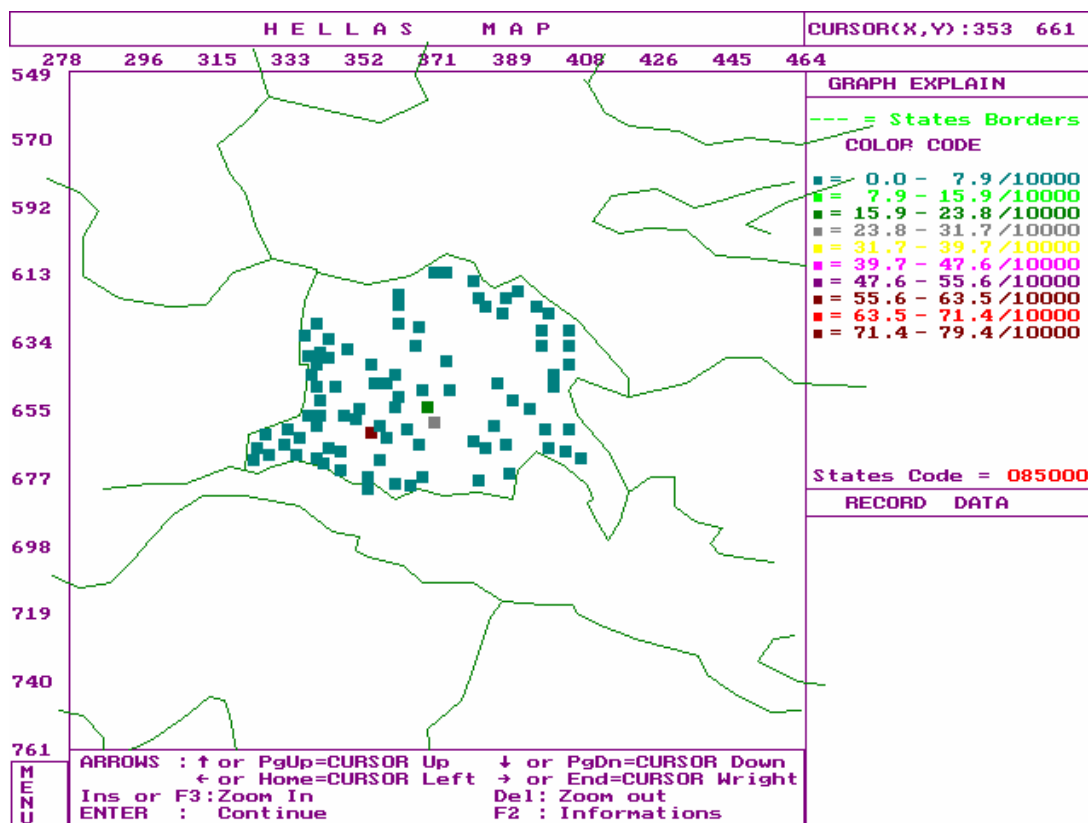
Απεικονίσεις περιπτώσεων βρουκέλλωσης με βάση το χρόνο και το χώρο:

Το ΠΜΧ παρέχει τη δυνατότητα να απεικονιστούν χρονικά οι περιπτώσεις βρουκέλλωσης σε όλα τα επίπεδα (χώρας, νομού και μικρής περιοχής). Έτσι παρέχεται η δυνατότητα παρακολούθησης της γεωγραφικής εξάπλωσης του νοσήματος. Στο Σχήμα 35 και 36 φαίνονται οι απεικονίσεις των κρουσμάτων βρουκέλλωσης σε επίπεδο χώρας και η εξάπλωση του νοσήματος σε δύο συνεχόμενα χρόνια. Όπως αναφέρθηκε στη μεθοδολογία, μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές χρονικές περιόδους (μήνες, μέρες κλπ). Στη συνέχεια επιλέγοντας την υπό μελέτη περιοχή οι περιπτώσεις βρουκέλλωσης (με βάση το ερωτηματολόγιο) απεικονίστηκαν σε επίπεδο νομού αρχικά και στη συνέχεια, σε επίπεδο μικρής περιοχής (χωριού). Απεικονίσαμε τις περιπτώσεις βρουκέλλωσης για τα τελευταία 20 χρόνια, κατά τα οποία τα στοιχεία είναι πιο αξιόπιστα και χρησιμοποιήσαμε το χρονικό διάστημα του ενός έτους. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 37, στο χωριό Πεντάπολη, εμφανίστηκαν τα πρώτα κρούσματα στην περιοχή και στη συνέχεια ακολούθησαν τα υπόλοιπα χωριά (Μαλανδρίνο, Αμυγδαλιά κλπ.), όπως φαίνεται στα Σχήματα 38 και 39, που απεικονίζεται η επέκταση του νοσήματος στην υπόλοιπη περιοχή. Απεικονίζοντας τα κρούσματα σε επίπεδο χωριού (Πεντάπολη), όπως φαίνεται στο σχήμα 40, η πρώτη περίπτωση βρουκέλλωσης εμφανίστηκε στο σπίτι 219. Από το σημείο αυτό και στη συνέχεια, το νόσημα επεκτάθηκε σε όλο το χωριό, όπως δείχνουν τα σχήματα 41 και 42.

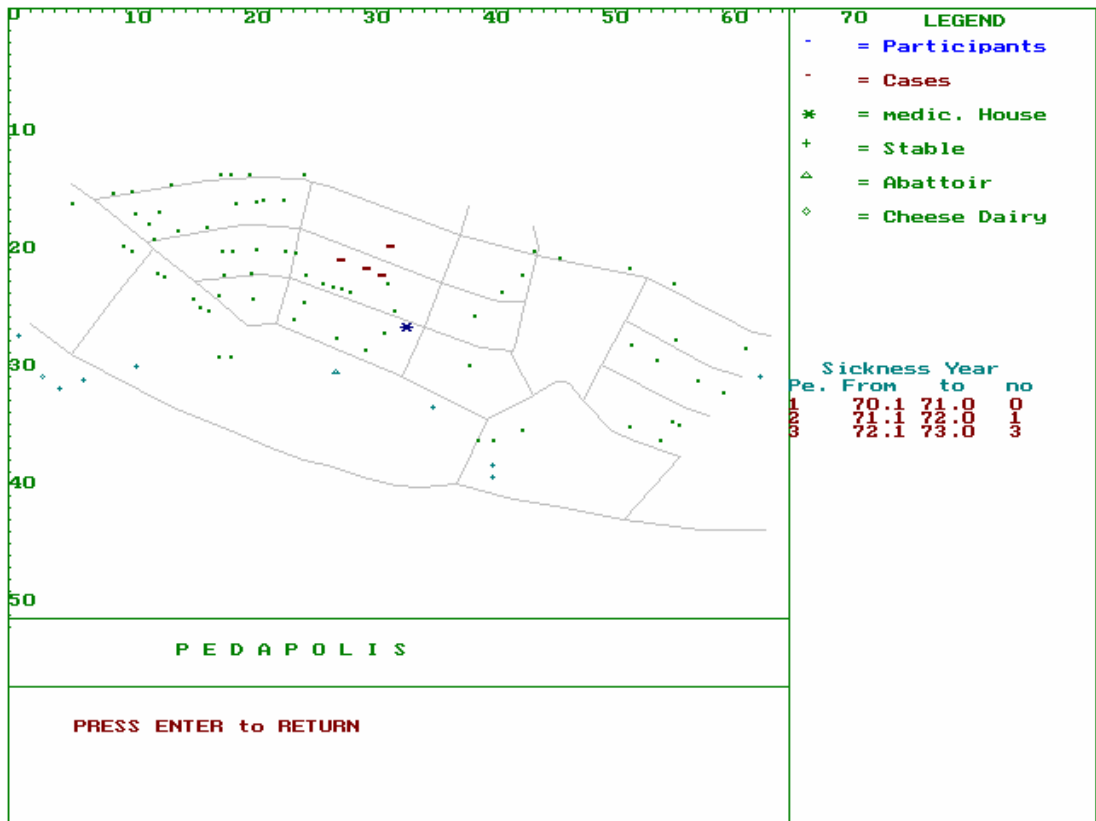
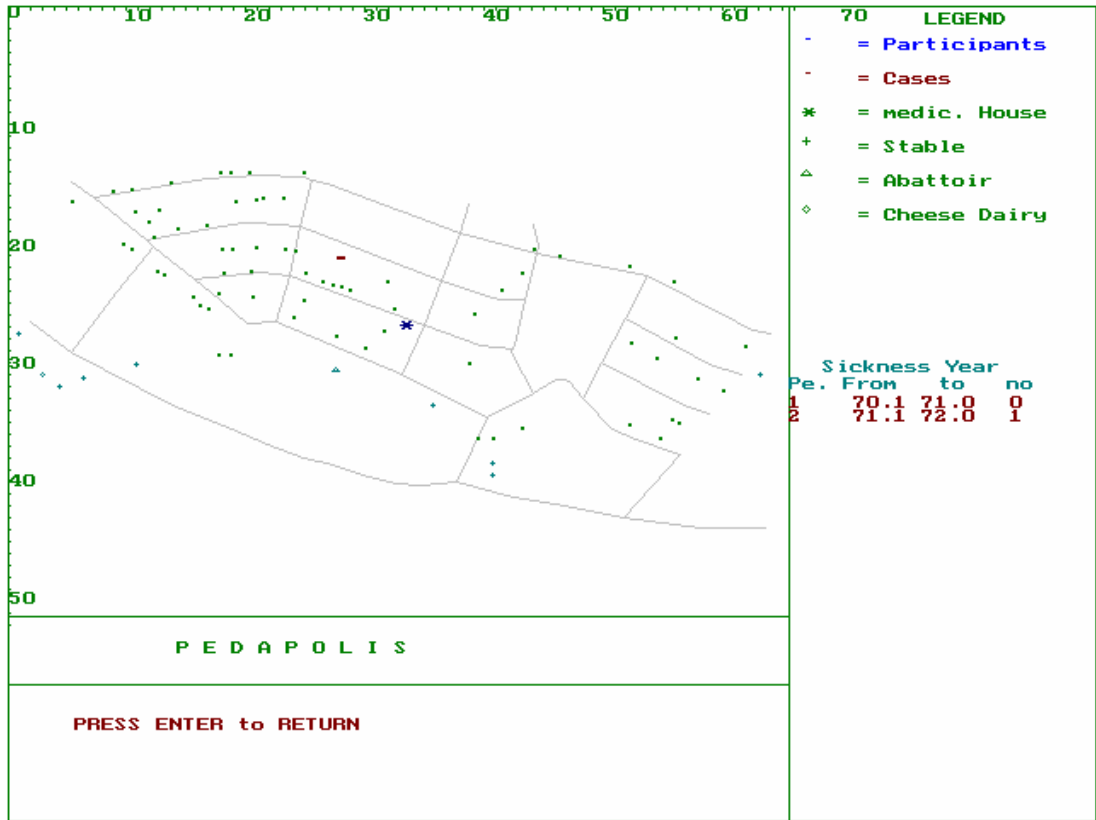


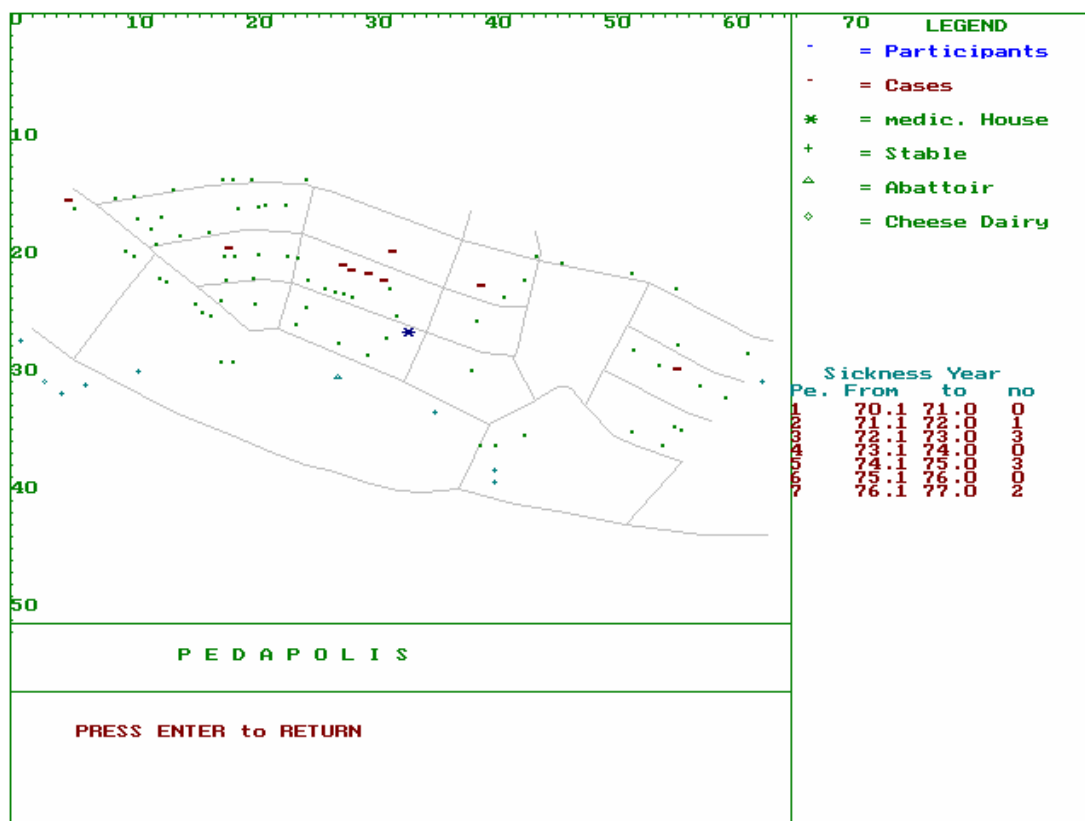
Σχήμα 35,36: Απεικόνιση κρουσμάτων σε επίπεδο χώρας-νομού ανά έτος. Έτσι φαίνεται η εξάπλωση του νοσήματος σε επίπεδο χώρας.





Σχήματα 37,38,39: Χρονική απεικόνιση των κρουσμάτων σε επίπεδο νομού. Τα πρώτα κρούσματα εμφανίστηκαν στο χωριό Πεντάπολη και στη συνέχεια στο χωριό Μαλανδρίνο και Μακρυνή.



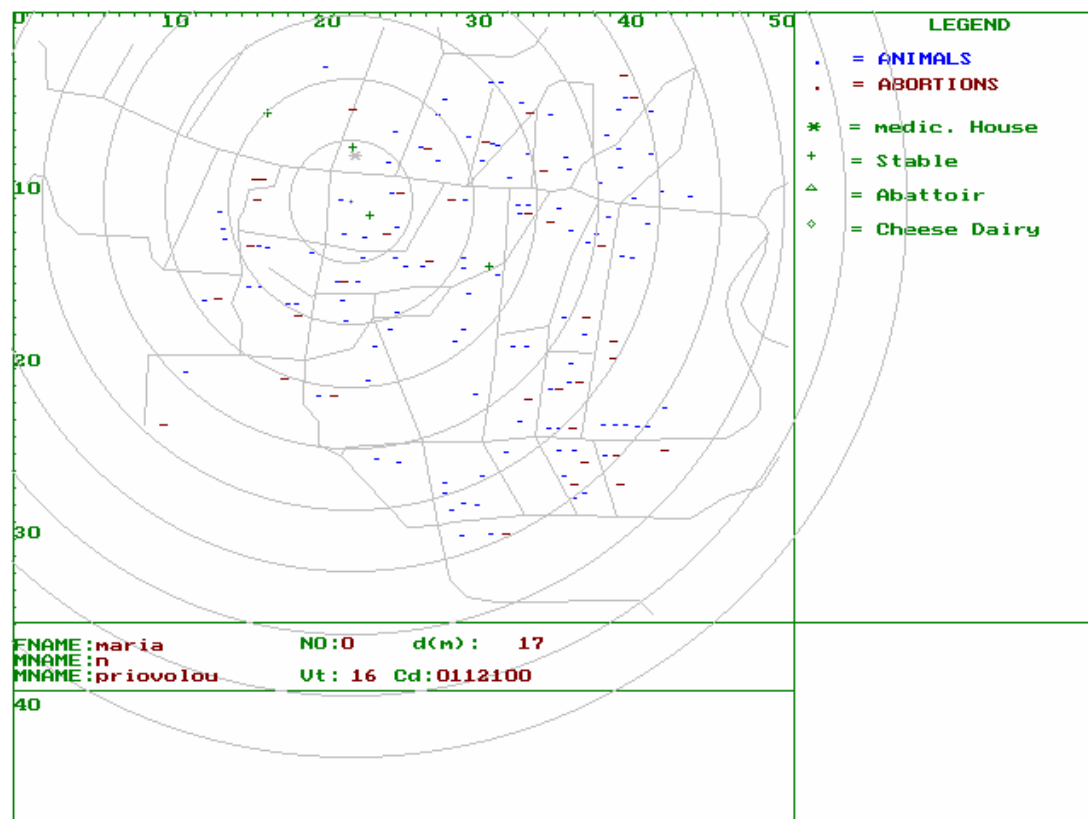


Σχήματα 40,41,42: Χρονική απεικόνιση των κρουσμάτων βρουκέλλωσης στο τοπογραφικό της Πεντάπολης. Το ΠΜΧ χρησιμοποιώντας χρονικές περιόδους απεικονίζει τα κρούσματα με τη χρονική σειρά που παρουσιάστηκαν. Το πρώτο κρούσμα εμφανίστηκε στο σπίτι 219 και στη συνέχεια το νόσημα εξαπλώθηκε στο υπόλοιπο χωριό.

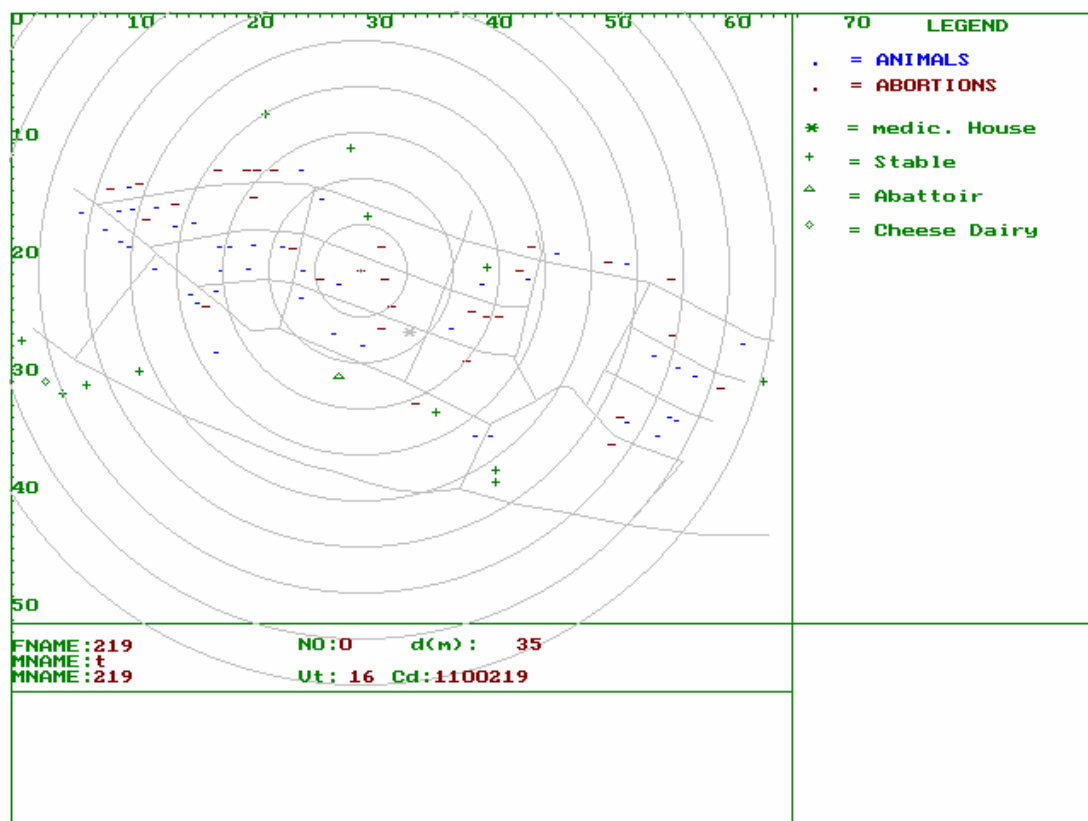
Αναζήτηση πηγής μόλυνσης

Χρησιμοποιώντας τους ομόκεντρους κύκλους, όπως αναφέρεται στη μεθοδολογία, αναζητήσαμε κοινή πηγή μόλυνσης για τα ζώα. Σαν ένδειξη νόσου, χρησιμοποιήσαμε την ύπαρξη αποβολών στα ζώα. Επιλέξαμε αυτόματα όλους τους στάβλους σε κάθε χωριό και με τους ομόκεντρους κύκλους ελέγξαμε κατά πόσο κάποιος στάβλος είναι πιθανή πηγή (Σχήμα 43). Δε βρέθηκε κανένας στάβλος να είναι πιθανή πηγή μόλυνσης σε κανένα χωριό. Στη συνέχεια επιλέξαμε τα σπίτια στα οποία οι συμμετέχοντες είχαν ζώα (1-2 αιγοπρόβατα), για να καλύπτουν τις ατομικές τους ανάγκες σε γαλακτοκομικά προϊόντα και τα σπίτια που ανήκαν σε κτηνοτρόφους. Χρησιμοποιώντας την ίδια μεθοδολογία με τους ομόκεντρους κύκλους διαπιστώσαμε ότι το σπίτι 219 στην Πεντάπολη είχε τις προϋποθέσεις να χαρακτηριστεί κοινή πηγή μόλυνσης ($P < 0.05$, $r = 0,6$) (Σχήμα 44). Έχοντας αυτό το στοιχείο, πραγματοποιήσαμε επί τόπου έρευνα και

διαπιστώσαμε ότι ο ιδιοκτήτης του σπιτιού, πριν 20 χρόνια είχε αρκετά ζώα στο σπίτι και την περίοδο εκείνη αγόρασε πρόβατα από άλλη περιοχή.



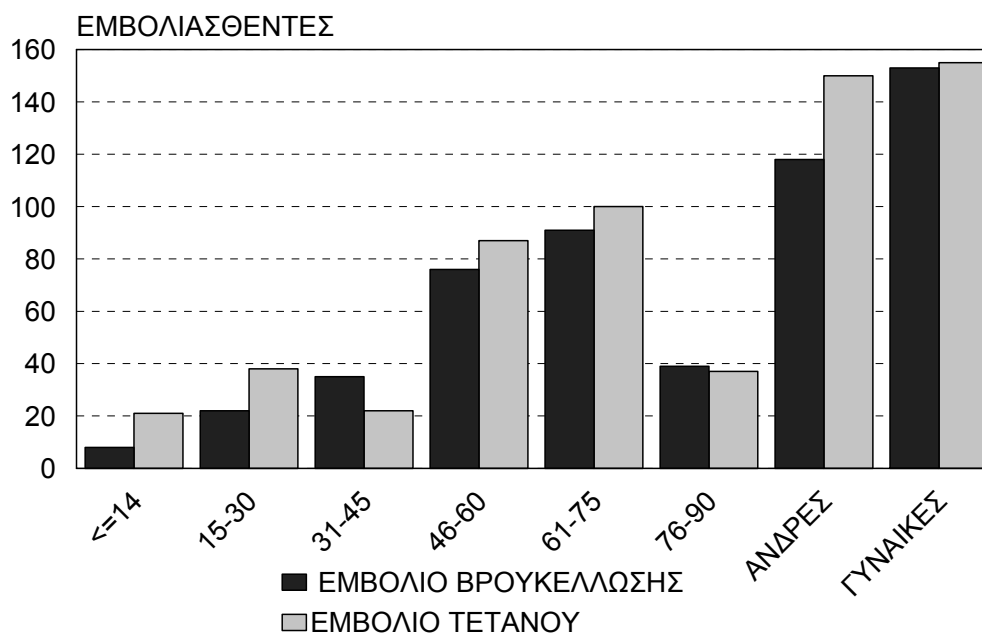
Σχήμα 43: Αναζήτηση πηγής μόλυνσης στο χωριό Βουνιχώρα. Το ΠΜΧ επιλέγει αυτόματα όλους τους ατάβλους ή άλλες επιδημιολογικές παραμέτρους και ελέγχει για κάθε ένα ξεχωριστά, εάν είναι πιθανή πηγή μόλυνσης. Χρησιμοποιεί ομόκεντρους κύκλους σχηματίζοντας ζώνες γύρω από τον στάβλο που εξετάζεται και στις ζώνες αυτές καταμετρούνται τα ζώα με ιστορικό αποβολών σε σχέση με το σύνολο των ζώων. Στη συνέχεια εφαρμόζεται το χ^2 test και υπολογίζεται ο σχετικός κίνδυνος (RR) ανάμεσα στις ζώνες. Τέλος, εφαρμόζεται μοντέλο γραμμικής παλινδρόμησης ανάμεσα στην απόσταση από το στάβλο και υπολογίζεται συντελεστής συσχέτισης r . Όταν στα 95% όρια αξιοπιστίας του συντελεστή συσχέτισης δεν περιλαμβάνεται το 1, τότε η συσχέτιση είναι στατιστικά σημαντική και ο στάβλος θεωρείται πιθανή πηγή μόλυνσης. Στο χωριό Βουνιχώρα, όπως και σε όλα τα υπόλοιπα χωριά, δε βρέθηκε κανένας στάβλος που να θεωρηθεί πιθανή πηγή μόλυνσης.



Σχήμα 44: Αναζήτηση πηγής μόλυνσης στο χωριό Πεντάπολη. Εφαρμόζοντας την ίδια μεθοδολογία που αναφέρθηκε πιο πάνω δέ βρέθηκε κανένας στάβλος που να πληροί τις προϋποθέσεις να θεωρηθεί πιθανή πηγή μόλυνσης. Στη συνέχεια ελέγξαμε τα σπίτια στα οποία υπήρχαν 1-2 αιογοπρόβατα και τα σπίτια των κτηνοτρόφων. Το σπίτι 219 βρέθηκε να πληροί τις προϋποθέσεις για να θεωρηθεί πιθανή πηγή μόλυνσης ($r=0.6$, $p < 0.05$)

Μελέτη ασφάλειας και αποτελεσματικότητας του ανθρωπίνου εμβολίου της βρουκέλλωσης

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα της μεθοδολογίας, ο εμβολιασμός έγινε την τρίτη ημέρα της συλλογής υλικού, μετά την ανάγνωση της IDR. Από τους 1121 που δήλωσαν αρχικά συμμετοχή, εμβόλια έγιναν σε 576 συμμετέχοντες. Οι λόγοι αποκλεισμού αναφέρονται στον Πίνακα 7. Με το ανθρωπινό εμβόλιο της βρουκέλλωσης εμβολιάστηκαν 271 άτομα και με το εμβόλιο του Τετάνου 305 άτομα, τα οποία αποτελούσαν την ομάδα μαρτύρων. Η κατανομή ηλικίας και φύλου των εμβολιασθέντων, φαίνεται στο Σχήμα 45.



Σχήμα 45: Κατανομή ηλικίας και φύλου στους εμβολιασθέντες με εμβόλιο βρουκέλλωσης και εμβόλιο τετάνου (ομάδα ελέγχου).

Πίνακας 7: Λόγοι αποκλεισμού των αρχικά συμμετεχόντων από την μελέτη ασφαλείας του εμβολίου της βρουκέλλωσης

Λόγος αποκλεισμού	Αριθμός
Βρουκέλλωση στο παρελθόν	126
Οξεία βρουκέλλωση	1
Διαβήτης που δεν ελέγχεται	13
Αλλεργία	84
Εγκυμοσύνη	0
Ηλικία μικρότερη 10 χρόνων	34
Ηλικία μεγαλύτερη 90 χρόνων	30
Άλλα νοσήματα	106
Πρόθεση μετανάστευσης	44
Άρνηση συμμετοχής	36
Σύνολο	474

Τη 16η ημέρα του προγράμματος, έγινε η δεύτερη δόση των εμβολίων σε 520 άτομα. Τα 252 ήταν βρουκέλλωσης και τα 269 ήταν Τετάνου. Σε 19 συμμετέχοντες από την ομάδα του εμβολίου της βρουκέλλωσης, δεν έγινε η δεύτερη δόση. Επτά από αυτούς απουσίαζαν από την περιοχή, έξι αρνήθηκαν να συνεχίσουν τη συμμετοχή τους λόγω έντονου πόνου στην περιοχή που έγινε το εμβόλιο και έξι βρέθηκαν θετικοί στον ορολογικό έλεγχο. Τριάντα έξι συμμετέχοντες από την ομάδα ελέγχου (εμβόλιο Τετάνου) απουσίαζαν από την περιοχή και γι' αυτό δεν έγινε η δεύτερη δόση.

Οι παρενέργειες των εμβολίων ομαδοποιήθηκαν ως ακολούθως:

- i) Πυρετός από 37.5 - 39.5 και πόνος στην περιοχή του εμβολίου διαρκείας μέχρι και 48 ώρες.
- ii) Τοπικά στην περιοχή του εμβολίου, πόνος, οίδημα, ερύθημα και διήθηση.
- iii) Ελάχιστος τοπικός πόνος ή καθόλου πόνος.
- iv) Άλλα.

Από τους 271 συμμετέχοντες που εμβολιάστηκαν με το εμβόλιο της βρουκέλλωσης 18 (6.64%), παρουσίασαν παρενέργειες της πρώτης κατηγορίας

(Πίνακας 8), 45(16.6%) παρενέργειες της δεύτερης κατηγορίας , 207 (76.3%) της τρίτης κατηγορίας και μια γυναίκα (0.37%) παρουσίασε κρίση άσθματος ένα

24ωρο μετά το εμβόλιο. Από τους 305 που εμβολιάστηκαν με το εμβόλιο του Τετάνου, 18 (5,9%) είχαν παρενέργειες της δεύτερης ομάδας ενώ οι υπόλοιποι δεν είχαν καμιά παρενέργεια. Στο διάστημα της παρακολούθησης των εμβολιασμένων (τουλάχιστον 9 μήνες) δεν παρουσιάστηκε καμιά άλλη παρενέργεια.

Πίνακας 8: Παρενέργειες εμβολίων που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη

Παρενέργειες	Εμβόλιο βρουκέλλωσης (271 εμβολιασθέντες)	Εμβόλιο Τετάνου (305 εμβολιασθέντες)
Πυρετός 37.5-39.5 °C	18 (6.64%)	-
Έντονος τοπικός πόνος, οίδημα, ερύθημα	45 (16.6%)	18 (5.9%)
Ήπιες ή καθόλου τοπικές παρενέργειες	207 (76.39)	287 (94.1%)
Άλλες	1 (0.37%)	-

Προστατευτική ικανότητα εμβολίου:

Κατά τη διάρκεια της μηνιαίας παρακολούθησης (τουλάχιστον 9 μήνες), ανευρέθηκαν 20 πιθανές περιπτώσεις βρουκέλλωσης στην ομάδα των εμβολιασθέντων με εμβόλιο βρουκέλλωσης και 15 στην ομάδα των εμβολιασθέντων με εμβόλιο Τετάνου. Τα αποτελέσματα του ορολογικού ελέγχου και των καλλιεργειών αίματος επιβεβαίωσαν 2 περιπτώσεις βρουκέλλωσης στην ομάδα ελέγχου (εμβόλιο Τετάνου). Στο διάστημα της παρακολούθησης, αποκλείστηκαν από τη μελέτη 10 άτομα από την ομάδα εμβολίου της βρουκέλλωσης και 15 άτομα από την ομάδα εμβολίου Τετάνου, επειδή απουσίαζαν σε 2 συνεχόμενες μηνιαίες επισκέψεις. Έτσι, ενώ τα αποτελέσματα είναι ενδεικτικά ότι το εμβόλιο της βρουκέλλωσης παρέχει προστασία έναντι του νοσήματος, η διαφορά ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου δεν είναι στατιστικά σημαντική ($P= 0.20$).

Μελέτη παρακολούθησης-επιτήρησης βρουκέλλωσης

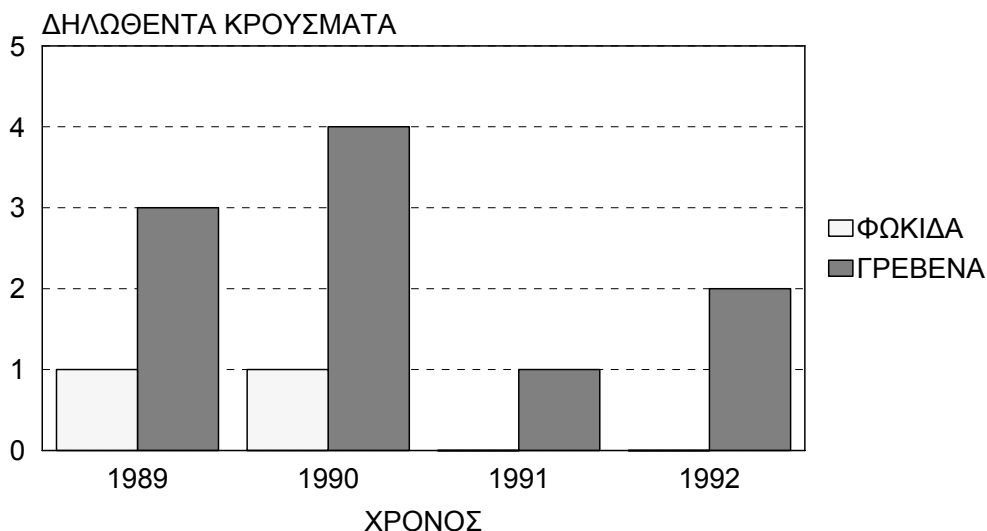
Συμμετέχοντες:

Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης - επιτήρησης της βρουκέλλωσης στην υπό μελέτη περιοχή αποκλείστηκαν από τη μελέτη 315 κάτοικοι είτε γιατί εμβολιάστηκαν με εμβόλιο της βρουκέλλωσης (271) είτε γιατί εγκατέλειψαν την περιοχή (44). Ο τελικός αριθμός των συμμετεχόντων ήταν 2192. Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στην υπό μελέτη περιοχή και στην περιοχή σύγκρισης αναφορικά με την ηλικία των συμμετεχόντων ($p=0.8$), το φύλο ($p=0.9$) και το επάγγελμα τους ($p=0.6$).

Επιτήρηση-Παρακολούθηση του ανθρώπινου πληθυσμού:

Κατά τη διάρκεια της επιτήρησης παρακολούθησης της περιοχής υπό μελέτη (Φωκίδα), 55 άτομα θεωρήθηκαν σαν πιθανές περιπτώσεις βρουκέλλωσης με βάση τα κριτήρια που αναφέρθηκαν στην μεθοδολογία. Από αυτούς μόνο 4 περιπτώσεις επιβεβαιώθηκαν εργαστηριακά. Η επίπτωση για την περίοδο παρακολούθησης υπολογίστηκε σε 0.45/1000/έτος. Παρά το ότι 4 καινούργιες περιπτώσεις βρουκέλλωσης είχαν διαγνωστεί οι γιατροί της περιοχής δήλωσαν στο υπουργείο υγείας μόνο τις δύο. Έτσι η επίπτωση από τα στοιχεία του υπουργείου υγείας υπολογίστηκε σε 0.22/1000/έτος. Την ίδια περίοδο οι γιατροί της περιοχής σύγκρισης (Γρεβενά) δήλωσαν στο υπουργείο υγείας 10 νέες περιπτώσεις βρουκέλλωσης (1.09/1000/έτος). Η επίπτωση στην περιοχή σύγκρισης ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη από την περιοχή μελέτης ($p=0.05$ **OR**=4.81 0.99<**OR**<31.78). Πρέπει να σημειωθεί ότι τα τελευταία 2 χρόνια της παρακολούθησης δε δηλώθηκαν κρούσματα στην υπό μελέτη περιοχή (Φωκίδα), ενώ στην περιοχή σύγκρισης δηλώθηκαν 3 νέες περιπτώσεις βρουκέλλωσης (Σχήμα 46).

Σύμφωνα με την μέση επίπτωση των προηγούμενων 10 χρόνων (1.39/1000/έτος) στην υπό μελέτη περιοχή ο αριθμός των αναμενόμενων κρουσμάτων υπολογίστηκε σε 14 κρούσματα κατά τη διάρκεια της περιόδου παρακολούθησης. Χρησιμοποιώντας την ίδια μέθοδο υπολογίστηκαν τα αναμενόμενα κρούσματα στην περιοχή σύγκρισης τα οποία ανέρχονται σε 14.



Σχήμα 46: Δηλωθέντα κρούσματα στο Υπουργείο Υγείας κατά την περίοδο παρακολούθησης στην υπό μελέτη περιοχή και στην περιοχή σύγκρισης

Στην περιοχή σύγκρισης δηλώθηκαν 10 κρούσματα στα 4 χρόνια της μελέτης. Έτσι είχαμε 4 λιγότερα κρούσματα από τα αναμενόμενα, διαφορά που θα είχαμε κανονικά και στην υπό μελέτη περιοχή, εάν δεν παρεμβαίναμε με το πρόγραμμα επιτήρησης - παρακολούθησης. Οκτώ συνολικά περιπτώσεις προλήφθησαν με την εφαρμογή της επιτήρησης - παρακολούθησης στην υπό μελέτη περιοχή.

Παρακολούθηση-επιτήρηση Ζωικού πληθυσμού:

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 47 χρησιμοποιώντας το ΠΜΧ ανευρέθηκαν 3 ζώνες οι οποίες θεωρήθηκαν σαν πιθανά ελεύθερες βρουκέλλωσης στα ζώα. Η πρώτη ζώνη εντοπίστηκε ανάμεσα στα χωριά Πεντάπολη και Μαλανδρίνο, η δεύτερη ανάμεσα στα χωριά Λιδορίκι και Λευκαδίτι και η τρίτη Νοτιοδυτικά του χωριού Αμυγδαλιά.

Κατά την διάρκεια της παρακολούθησης - επιτήρησης του νοσήματος στα ζώα καταγράφηκαν αποβολές στη δεύτερη πιθανή ζώνη ελεύθερη βρουκέλλωσης (Λιδορίκι - Λευκαδίτι) κατά την διάρκεια του δεύτερου χρόνου. Στις άλλες δυο περιοχές δεν καταγράφηκαν αποβολές στα ζώα.

Σχήμα 47: Μηχανογραφημένη χαρτογράφηση σε επίπεδο περιοχής στην οποία περιλαμβάνονται 3 χωριά. Τα τοπογραφικά των χωριών απεικονίζονται ταυτόχρονα με διάφορους επιδημιολογικούς παράγοντες: στάβλοι, σφαγεία, τυροκομεία, βοσκότοποι, ζώα στην αυλή του σπιτιού και αναφερόμενες αποβολές στα ζώα. Χρησιμοποιώντας το ΠΜΧ το οποίο είναι συνδεδεμένο με διάφορες βάσεις δεδομένων που περιέχουν τις επιδημιολογικές πληροφορίες, έγινε δυνατή η ανίχνευση περιοχών που θεωρήθηκαν ελεύθερες βρουκέλλωσης. Το ΠΜΧ υπολόγισε τις δηλωμένες στο ερωτηματολόγιο αποβολές σε κάθε ζώνη και αυξομειούμενο τετράγωνο και έτσι ελέγχθηκε όλη η επιλεγείσα περιοχή ανάμεσα στα 8 υπό μελέτη χωριά. Με τη μέθοδο αυτή βρέθηκαν 3 ζώνες πιθανά ελεύθερες βρουκέλλωσης: Η πρώτη ζώνη εντοπίστηκε ανάμεσα στα χωριά Πεντάπολη και Μαλανδρίνο, η δεύτερη ανάμεσα στα χωριά Λιδορίκι και Λευκαδίτι και η τρίτη νοτιοδυτικά του χωριού Αμυγδαλιά. Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης - επιτήρησης του νοσήματος στα ζώα καταγράφηκαν αποβολές στη δεύτερη πιθανά ελεύθερη ζώνη βρουκέλλωσης (Λιδορίκι - Λευκαδίτι).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η βρουκέλλωση παραμένει ακόμα και σήμερα ένα σημαντικό πρόβλημα δημόσιας υγείας σε πολλές χώρες της Μεσογείου και της Μέσης Ανατολής (Galnakis E., 1995, Vazquez v.J., 1994, Alballa SR., 1995, Young EJ, 1995), παρά τις προσπάθειες που έχουν γίνει και τα χρήματα που έχουν δαπανηθεί. Για να επιτευχθεί ο έλεγχος της βρουκέλλωσης στα ζώα και στους ανθρώπους, τα μέτρα πρόληψης πρέπει να εφαρμόζονται συνέχεια με την ίδια ένταση χωρίς διαστήματα χαλάρωσης. Αυτό που συμβαίνει συνήθως είναι να αρχίζει ένα προληπτικό πρόγραμμα με ενθουσιασμό και στη συνέχεια η προσπάθεια να εξασθενεί, γιατί πρόκειται για μακροχρόνια προγράμματα (Nikoletti P., 1989). Έτσι, ενώ στην αρχή έχουμε εντυπωσιακά αποτελέσματα και μία μεγάλη μείωση του επιπολασμού στα ζώα και της επίπτωσης στους ανθρώπους στη συνέχεια το νόσημα παραμένει σε χαμηλούς δείκτες με υφέσεις και εξάρσεις. Μόνο χώρες με καλή κρατική οργάνωση και οργανωμένες κτηνιατρικές και ιατρικές υπηρεσίες κατάφεραν να εξαλείψουν το νόσημα. Η Κύπρος, η Σουηδία και η Νορβηγία εφαρμόζοντας συστηματικά προληπτικό πρόγραμμα στα ζώα συγκαταλέγονται στις χώρες που δηλώθηκαν από την WHO ελεύθερες βρουκέλλωσης (Makdour M.M., 1989). Σε πολλές όμως Ευρωπαϊκές χώρες, ενώ το πρόβλημα έχει μειωθεί, εξακολουθεί να υπάρχει λόγω κακής οργάνωσης ή χαλάρωσης των προληπτικών μέτρων. Για παράδειγμα στην Ιταλία περνάει σχετικά μεγάλο διάστημα από την ημέρα ελέγχου των ζώων μέχρι την ημέρα σφαγής των ζώων με αποτέλεσμα τα θετικά ζώα να μεταδίδουν το νόσημα σε άλλα ζώα (MZCC\WHO, 1993). Στην Ελλάδα εφαρμόστηκε πρόγραμμα εμβολιασμού των νεαρών αιγοπροβάτων από το 1975 (Γιαντζής Δ.Γ., 1984) και από το 1993 πρόγραμμα εκρίζωσης της βρουκέλλωσης. Το ποσοστό κάλυψης των προγραμμάτων πρόληψης (εμβολιασμός ή έλεγχος και σφαγή), πρέπει να είναι υψηλό σε όλες τις περιοχές της χώρας, για να επιτύχει ένα πρόγραμμα πρόληψης (Berman D.T., 1981). Στην Ελλάδα, σε ορισμένες γεωργοκτηνοτροφικές περιοχές, η κάλυψη του προγράμματος πρέπει να ήταν χαμηλή. Τα στοιχεία του Υπουργείου Γεωργίας δεν είναι αξιόπιστα, για να βγάλουμε συμπεράσματα για την κάλυψη του προγράμματος, αλλά τα κρούσματα στους ανθρώπους είναι ένας έμμεσος δείκτης. Όπως φάνηκε δουλεύοντας στην Φωκίδα που ήταν ενδημική περιοχή, οι περισσότεροι κτηνοτρόφοι δεν εμβολίαζαν τα ζώα τους, γιατί πίστευαν ότι δεν παίρνουν το αναμενόμενο βάρος μετά τον εμβολιασμό. Το πιο σημαντικό είναι ότι χρησιμοποιώντας αρκετά γνωστούς τρόπους για την Ελληνική κοινωνία κατάφεραν να πάρουν πιστοποιητικό εμβολιασμού. Ακόμα στην Ελλάδα έχουμε το παράνομο εμπόριο ζώων από χώρες με υψηλό επιπολασμό, όπως είναι η Τουρκία και η Αλβανία, με αποτέλεσμα ο στόχος του ελέγχου του νοσήματος να είναι ακόμα πιο δύσκολος. Έτσι, ενώ το προληπτικό πρόγραμμα στα ζώα πέτυχε τον στόχο του σε επίπεδο χώρας (μείωση του επιπολασμού), σε ορισμένες περιοχές το πρόβλημα παραμένει.

Σήμερα πολλές χώρες στηρίζουν τις ελπίδες τους για έλεγχο του νοσήματος σε συστήματα παρακολούθησης - επιτήρησης (Surveillance) της βρουκέλλωσης τόσο στους ανθρώπους όσο και στα ζώα (Hadjichristodoulou Ch, 1993). Πρέπει να υπάρχει συνεχής επαγρύπνηση ακόμα και σε χώρες που εξαλείψαν το νόσημα, γιατί πάντα υπάρχει ο κίνδυνος το νόσημα να επανακάμψει. Στην Κύπρο παρά το ότι έχει δηλωθεί από την WHO το 1985 ελεύθερη βρουκέλλωσης, το 1993 είχε 3 κρούσματα σε ανθρώπους λόγω παράνομης εισαγωγής ζώων από τα κατεχόμενα (προσωπική επικοινωνία). Ακόμα στην Αυστραλία, όπου το νόσημα ελεγχόταν, ανέκαμψε υπό άλλη μορφή λόγω της εκτροφής και επαγγελματικής έκθεσης σε αγριογούρουνα μολυσμένα με *Br. suis* (Robson G.M. et al, 1993).

Έχοντας υπόψη μας τις δυσκολίες στον έλεγχο του νοσήματος, αποφασίσαμε να αναζητήσουμε ενδημική περιοχή στην οποία μελετήσαμε

επιδημιολογικά την βρουκέλλωση στους ανθρώπους (παράγοντες κινδύνου κλπ), δοκιμάσαμε κλινικά το εμβόλιο της βρουκέλλωσης και την ενδοδερμική αντίδραση και εφαρμόσαμε σύστημα παρακολούθησης-επιτήρησης (surveillance) του ανθρώπινου και του ζωικού πληθυσμού της περιοχής.

Επιδημιολογική μελέτη:

Συμμετοχή

Η συμμετοχή του πληθυσμού στη μελέτη (44.7%) κρίνεται ικανοποιητική λαμβάνοντας υπόψη ότι:

- 1) Η μελέτη αφορούσε τη βρουκέλλωση, ένα νόσημα για το οποίο ο πληθυσμός είχε ιδιαίτερες ευαισθησίες. Οι κάτοικοι αναγνώριζαν τη σημασία του νοσήματος για την υγεία τους και την παραγωγικότητα των ζώων τους, αλλά δεν ήθελαν να γίνει γνωστό επίσημα ότι το χωριό τους ή οι συμμετέχοντες είχαν βρουκέλλωση. Αυτό θα είχε οικονομικό αντίκτυπο, γιατί θα είχαν δυσκολίες να πουλήσουν τα γαλακτοκομικά προϊόντα τους.
- 2) Τα χωριά ήταν ορεινά, σχεδόν απομονωμένα και ο πληθυσμός δύσκολος στην προσέγγισή του.

Για να ξεπεράσουμε αυτά τα προβλήματα, κάναμε πολύ καλή προεργασία σε κάθε χωριό. Κάναμε πολλές επισκέψεις στο χωριό και είχαμε επαφές με τις τοπικές αρχές (κοινοτάρχη, ιερέα, κλπ.). Επίσης, κάναμε ανοικτές ομιλίες στον πληθυσμό, στον οποίο εξηγήσαμε το πρόγραμμα και τα πιθανά οφέλη του για το χωριό. Ακόμη γινόταν επίδειξη του τοπογραφικού του χωριού στον υπολογιστή και της προεργασίας που έγινε (αντιστοιχία σπιτιών - κατοίκων). Έτσι ο πληθυσμός αντιλαμβανόταν την σοβαρότητα του προγράμματος και την καλή οργάνωση του. Για να αυξήσουμε ακόμα περισσότερο τη συμμετοχή, είχαμε στην ομάδα μας γιατρούς παθολόγους, οι οποίοι παρείχαν υπηρεσίες πρωτοβάθμιας περίθαλψης την ημέρα της συλλογής υλικού (κλινική εξέταση-μέτρηση αρτηριακής πίεσης κλπ.). Επίσης, εκτός των εξετάσεων για τη μελέτη, αποφασίστηκε να γίνουν σε όλους τους συμμετέχοντες, σάκχαρο, χοληστερίνη και τριγλυκερίδια, γιατί αυτό ζητήθηκε από τους κατοίκους. Πρέπει να σημειωθεί ότι πέραν των αποτελεσμάτων της μελέτης που αφορούσαν την βρουκέλλωση, η ερευνητική ομάδα πρόσφερε πραγματικό έργο στον τομέα της πρωτοβάθμιας περίθαλψης, όπου η περιοχή αντιμετώπιζε σημαντικό πρόβλημα. Κατά την κλινική εξέταση, στη συλλογή υλικού διαγνώστηκαν όγκοι κοιλιάς, ανευρίσματα και υπέρταση σε αρκετούς ασθενείς, πολλοί από τους οποίους νοσηλεύτηκαν στη συνέχεια σε κεντρικό νοσοκομείο στην Αθήνα (Ευαγγελισμός).

Στα χωριά που έγινε καλή προεργασία, όπως ήταν η Πεντάπολη, το οποίο ήταν το πρώτο χωριό που περιελήφθη στη μελέτη, είχαμε υψηλή συμμετοχή (71.9%), ενώ στα χωριά που δεν έγινε καλή προετοιμασία, όπως ήταν το Λιδορίκι, είχαμε χαμηλό ποσοστό συμμετοχής (22.4%). Στο Λιδορίκι συγκεκριμένα, αναβλήθηκε η ημερομηνία δειγματοληψίας δύο φορές, λόγω οργανωτικών προβλημάτων της ερευνητικής ομάδας.

Η κατανομή της ηλικίας των συμμετεχόντων και του πληθυσμού γενικότερα της περιοχής, ήταν λοξή αρνητική. Δηλαδή ο πληθυσμός της περιοχής αποτελείτο περισσότερο από ηλικιωμένα άτομα και λιγότερο από νεαρά. Είναι ένα φαινόμενο που πραγματικά μαστίζει πολλές περιοχές της χώρας. Αυτή η δημογραφική κατάσταση της υπό μελέτη περιοχής ήταν ένα μειονέκτημα για τη μελέτη ασφαλείας και αποτελεσματικότητας του εμβολίου, αφού το μεγαλύτερο τμήμα του πληθυσμού (ηλικιωμένα άτομα) είχαν ήδη εκτεθεί στην Βρουκέλλα σε χρονικές περιόδους που δεν υπήρχε κανένα προληπτικό πρόγραμμα και σχεδόν καμιά ενημέρωση.

Αντιπροσωπευτικότητα του Δείγματος

Η εθελοντική συμμετοχή των κατοίκων στη μελέτη δημιουργεί προβλήματα αντιπροσωπευτικότητας του δείγματος. Η ερευνητική ομάδα θεώρησε καλύτερη την εθελοντική συμμετοχή των κατοίκων παρά την μεθοδολογική τελειότητα του προγράμματος. Άλλωστε θα ήταν δύσκολο να εξασφαλιστεί συμμετοχή του πληθυσμού, ο οποίος θα επιλεγόταν τυχαία σε μία μακροχρόνια μελέτη της βρουκέλλωσης. Η αντιπροσωπευτικότητα ελέγχθηκε αναφορικά με την ηλικία το φύλο και το επάγγελμα των συμμετεχόντων σε σχέση με το σύνολο του πληθυσμού σε κάθε χωριό.

Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα οι συμμετέχοντες στα 6 από τα 8 χωριά αποτελούσαν αντιπροσωπευτικό τμήμα του συνόλου του πληθυσμού στα συγκεκριμένα χωριά. Στο χωριό Αμυγδαλιά συμμετείχαν λιγότεροι κτηνοτρόφοι και μάλιστα πρέπει να απέφυγαν να συμμετάσχουν όσοι είχαν στο παρελθόν βρουκέλλωση. Είναι το μοναδικό χωριό στο οποίο οι κτηνοτρόφοι που δήλωσαν στο ιστορικό τους ότι είχαν βρουκέλλωση ήταν λιγότεροι από αυτούς που είχαν λίγα ζώα στο σπίτι. Η Αμυγδαλιά ήταν κατ'εξοχήν κτηνοτροφικό χωριό και οι κτηνοτρόφοι απέφυγαν να συμμετάσχουν για τους λόγους που αναφέρθηκαν πιο πάνω. Στο χωριό Λιδορίκι δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στους συμμετέχοντες και στο σύνολο του πληθυσμού, αλλά η συμμετοχή ήταν πολύ μικρή και τα αποτελέσματα σε αυτό το χωριό δεν μπορούν να θεωρηθούν πολύ αξιόπιστα. Επιπλέον σε αυτό το χωριό η εφαρμογή του ΠΜΧ ήταν πολύ δύσκολη λόγω της μικρής συμμετοχής.

Βασική προϋπόθεση για τη σωστή αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του ΠΜΧ είναι η γεωγραφική κατανομή των συμμετεχόντων να μη διαφέρει από την γεωγραφική κατανομή του συνόλου. Στατιστικά σημαντική διαφορά βρέθηκε στην απεικόνιση του επαγγέλματος στο τοπογραφικό του χωριού Αμυγδαλιά. Σε όλα τα άλλα χωριά δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά. Έτσι η εφαρμογή και τα αποτελέσματα του ΠΜΧ στα περισσότερα χωριά κρίνονται αξιόπιστα.

Ενδοδερμική αντίδραση

Η ενδοδερμική αντίδραση έγινε πολύ καλά ανεκτή από το σύνολο των εξετασθέντων, τόσο των αρνητικών, όσο και των θετικών. Από όσους παρουσίασαν θετικό αποτέλεσμα, πολύ μικρό ποσοστό (5%), παρουσίασε πέραν της διήθησης και της ερυθρότητας φυσαλίδες και ένα άτομο παρουσίασε τοπική λεμφαγγειίτιδα. Οι αντιδράσεις αυτές είναι ένδειξη ότι τα άτομα αυτά είχαν υπερευαισθησία στο αντιγόνο της Βρουκέλλας που την ανέπτυξαν με την συχνή επαφή με το μικρόβιο. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται στην αλλεργική δερματίτιδα που παρουσιάζαν οι κτηνίατροι στα χέρια από την συχνή επαφή με το μικρόβιο. Σε μια συμμετέχουσα στην Βουνιχώρα, δύο ώρες μετά την ενδοδερμική αντίδραση παρουσιάστηκε γενικευμένο κνηδωτικό εξάνθημα το οποίο θεωρήθηκε τυχαίο συμβάν. Η γυναίκα αυτή ήταν αλλεργική σε πολλά αντιγόνα και την άνοιξη, (εποχή που έγινε η έρευνα στο χωριό αυτό), παρουσίαζε συχνά κνηδωτικά εξανθήματα. Το γεγονός αυτό όμως επηρέασε τους υπόλοιπους κατοίκους αρνητικά και, ενώ η αρχική συμμετοχή στο πρόγραμμα ήταν ικανοποιητική, πολλοί συμμετέχοντες αρνήθηκαν να εξετασθούν με την ενδοδερμική αντίδραση.

Η ενδοδερμική αντίδραση καταδείχθηκε η πιο ευαίσθητη μέθοδος στην ανίχνευση ατόμων με βρουκέλλωση στο παρελθόν (90 %) και παράλληλα η πιο ειδική(89%). Πρέπει επίσης να τονιστεί ότι η ευαισθησία αυτή αναφέρεται στην ανίχνευση της βρουκέλλωσης στο παρελθόν και όχι στην οξεία Βρουκέλλωση. Άλλωστε η ενδοδερμική αντίδραση δεν ενδείκνυται για τη διάγνωση της οξείας βρουκέλλωσης, αλλά σαν ανιχνευτική δοκιμασία. Ο καθηγητής Berdrand A. (1984), συσχέτισε το μέγεθος και το είδος της θετικής δερμοαντίδρασης (φυσαλίδα κλπ.) με την χρόνια βρουκέλλωση. Η ευαισθησία της μεθόδου από άλλες μελέτες υπολογίσθηκε σε 75% και η ειδικότητα σε 94% (Duclos P.J. et al, 1989).

Πρέπει να τονίσουμε την σημασία της επανάληψης της δερμοαντίδρασης μετά από 15 ημέρες, ειδικότερα στα ηλικιωμένα άτομα, για να ενεργοποιήσουμε το ανοσολογικό σύστημα και σε περίπτωση που ήλθε σε επαφή με την Βρουκέλλα να έχουμε θετική απάντηση (φαινόμενο Booster). Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται και σε άλλες δερμοαντιδράσεις (mantoux-φυματίωση) και ξεκινώντας από αυτές το εφαρμόσαμε και στην ενδοδερμική αντίδραση για την βρουκέλλωση (Patricia M. Simone and the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis, 1995).

Γενικά θεωρούμε την IDR πολύ αξιόπιστη και ασφαλή ανιχνευτική δοκιμασία (Screening test) για την ανίχνευση βρουκέλλωσης στο παρελθόν και πρέπει να χρησιμοποιείται σε επιδημιολογικά προγράμματα.

Ορολογικός Έλεγχος

Η πρωτότυπη ανοσοενζυμική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε (Simultaneous Type ELISA), αποδείχτηκε γρήγορη και είχε ικανοποιητικά αποτελέσματα. Η ευαισθησία της υπολογίστηκε σε 51% η οποία ήταν συγκριτικά μεγαλύτερη από την ευαισθησία που βρέθηκε στην Rose Bengal (31%). Η διαφορά αυτή γίνεται μεγαλύτερη, όσο μεγαλύτερο είναι το διάστημα από την ημερομηνία νόσησης. Έτσι για την ανίχνευση ατόμων με βρουκέλλωση στο παρελθόν η ELISA είναι καλύτερη από την Rose Bengal, αλλά υστερεί σε σύγκριση με την ενδοδερμική αντίδραση. Η ειδικότητα της ELISA υπολογίστηκε σε 94% και της Rose Bengal σε 97%. Είναι φανερό ότι και οι δύο μέθοδοι έχουν υψηλή ειδικότητα στην ανίχνευση ατόμων με βρουκέλλωση στο παρελθόν, αλλά η ευαισθησία της ELISA είναι σημαντικά μεγαλύτερη και έτσι πρέπει να προτιμάται στις οροεπιδημιολογικές έρευνες της βρουκέλλωσης.

Η ανεύρεση σχετικά υψηλής ειδικότητα τόσο της ELISA (94%) όσο και της Rose Bengal (97%) μπορεί να εξηγηθεί από το ότι στην υπό μελέτη περιοχή δεν είναι πολύ συχνοί οι μικροοργανισμοί που προκαλούν διασταυρούμενες αντιδράσεις (*Yersinia*, *Trichinella* κλπ.) (Gazapo E. et al, 1989).

Επιπολασμός

Ο επιπολασμός που υπολογίστηκε στην περιοχή θεωρείται σχετικά υψηλός (18.6%) σε σύγκριση με άλλες μελέτες σε μεσογειακές χώρες (Plomet M., 1992; Idris M. et al, 1993; Alballa S.R., 1995; Vazquez Villegas J. et al, 1995; Arag G.F. and Azzam R.A., 1996). Πρέπει όμως να τονιστεί ότι οι άλλες μελέτες ήταν οροεπιδημιολογικές και δεν μπορούμε να συγκρίνουμε τα αποτελέσματά τους με τα δικά μας. Στη δική μας μελέτη, χρησιμοποιήσαμε στοιχεία από το ερωτηματολόγιο, ενδοδερμική αντίδραση και ορολογικές εξετάσεις. Η μέθοδος που χρησιμοποιήσαμε για να ανιχνεύσουμε αυτούς που νόσησαν στο παρελθόν είναι πολύ πιο ευαίσθητη από τις ορολογικές μεθόδους που χρησιμοποιούνταν μέχρι σήμερα στις επιδημιολογικές μελέτες της βρουκέλλωσης και πιστεύουμε ότι ανταποκρίνεται περισσότερο στην πραγματικότητα. Πέραν της αυξημένης ευαισθησίας της μεθόδου που χρησιμοποιήσαμε ο υψηλός επιπολασμός της βρουκέλλωσης στην υπό μελέτη περιοχή μπορεί να οφείλεται:

- 1) Στο υψηλό ποσοστό (25.9%) του πληθυσμού που είχαν επάγγελμα υψηλού κινδύνου (ΕΡΓ1: κτηνοτρόφοι κλπ.).
- 2) Στο υψηλό ποσοστό (47.5%) του πληθυσμού που είχε ένα ή δύο αιγοπρόβατα στην αυλή του σπιτιού του, για να τους παρέχουν το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα.
- 3) Στόν τρόπο παρασκευής του παραδοσιακού τυριού (μή παστεριωμένο και όχι βράσιμο του γάλακτος) και στην κατανάλωση φρέσκου μη παστεριωμένου γάλακτος.

Ο επιπολασμός στα παιδιά βρέθηκε 9,3% ποσοστό που είναι σχετικά υψηλό και συμβατό με αυτό που έχει βρεθεί σε άλλες επιδημιολογικές μελέτες σε ενδημικές περιοχές. Τα παιδιά έχουν συνήθως το μισό επιπολασμό από αυτόν που παρατηρείται στους ενήλικες, γιατί εκτίθενται λιγότερο στην Βρουκέλλα (Monir M.M., 1989b).

Στη μελέτη μας βρέθηκε σχετικά αυξημένος επιπολασμός στους άνδρες σε σύγκριση με τις γυναίκες. Αυτό είναι αναμενόμενο, γιατί περισσότεροι άνδρες υπάγονται στην υψηλού κινδύνου κατηγορία επαγγέλματος (κτηνοτρόφοι σφαγείς κλπ). Τα αποτελέσματά μας είναι σύμφωνα και με προηγούμενες μελέτες σε ενδημικές περιοχές άλλων χωρών (Alballa S.R., 1995; Idris M., et al, 1993).

Επίπτωση

Η επίπτωση που υπολογίστηκε από τα δηλωμένα κρούσματα στο Υπουργείο Υγείας και αφορούσε την υπό μελέτη περιοχή ήταν 1.39/1000/έτος, ενώ αυτή που υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τα στοιχεία του ιστορικού για την ίδια περίοδο ήταν 7.6/1000/έτος. Έτσι η πραγματική επίπτωση των κρουσμάτων βρουκέλλωσης είναι τουλάχιστον 6 φορές μεγαλύτερη από αυτήν που δηλώνεται στο Υπουργείο Υγείας. Εάν λάβουμε υπόψιν μας ότι στο χωριό Αμυδαλιά και πιθανόν και σε άλλα χωριά κτηνοτρόφοι που νόσησαν από βρουκέλλωση δε συμμετείχαν στην μέλετη και ότι πολλοί, ενώ έχουν βρουκέλλωση, το νόσημα δε διαγιγνώσκεται, τότε η αναλογία των πραγματικών κρουσμάτων με αυτών του Υπουργείου Υγείας για την συγκεκριμένη περίοδο μπορεί να εκτιμηθεί σε 10 προς 1. Οι εκτιμήσεις αυτές είναι ανάλογες με αυτές που έγιναν στην Γαλλία (Foulon G. et al, 1981) και μικρότερες από αυτές που έγιναν στην Αμερική (23 προς 1)(Wise R.I., 1980).

Παράγοντες κινδύνου και συγκέντρωση κρουσμάτων

Οι γνωστοί και από προηγούμενες επιδημιολογικές μελέτες παράγοντες κινδύνου επιβεβαιώθηκαν και στη δική μας μελέτη: κατανάλωση μη παστεριωμένου γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων (φρέσκο παραδοσιακό τυρί), επάγγελμα (κτηνοτρόφοι, σφαγείς κλπ.), ζώα στην αυλή του σπιτιού, για να παρέχουν τα απαραίτητα γαλακτοκομικά προϊόντα και αποβολές στα ζώα. Δεν βρέθηκε αρνητική συσχέτιση του εμβολιασμού των ζώων και της βρουκέλλωσης, όπως αναμενόταν, γιατί οι συμμετέχοντες δήλωναν στο ερωτηματολόγιο αναξιόπιστες πληροφορίες. Ο εμβολιασμός των ζώων είναι υποχρεωτικός δια νόμου και έτσι πολλοί κτηνοτρόφοι δήλωσαν στο ιστορικό ότι εμβολιάζουν τα ζώα τους, ενώ στην πραγματικότητα δεν τα εμβολιάζαν. Για τον ίδιο λόγο (αναξιόπιστες πληροφορίες) οι σχετικοί κίνδυνοι που υπολογίστηκαν για τις αποβολές στα ζώα και την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων είναι σχετικά μικροί (RR=1.4).

Στα παιδιά δεν ανευρέθηκε κανένας από τους γνωστούς κινδύνους να έχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τη βρουκέλλωση. Αυτό μπορεί να οφείλεται κατά κύριο λόγο στο μικρό αριθμό των παιδιών (86) και στη δήλωση αναξιόπιστων πληροφοριών στο ερωτηματολόγιο. Χρησιμοποιώντας τις πολλαπλές απεικονίσεις που παρέχει το ΠΜΧ ανευρέθηκε σαν πιθανός παράγοντας κινδύνου στα παιδιά η κοπριά στην αυλή των σπιτιών. Ορισμένα από τα παιδιά θα πρέπει να μολύνθηκαν δια της εισπνοής παίζοντας στην αυλή αυτών των σπιτιών. Σίγουρα όμως αυτό είναι μιά υπόθεση και όχι ένα τεκμηριωμένο αποτέλεσμα.

Όλοι οι παράγοντες κινδύνου που ανευρέθηκαν με την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων επιβεβαιώθηκαν και με τις απεικονίσεις που έγιναν χρησιμοποιώντας το ΠΜΧ. Οι παράγοντες κινδύνου απεικονίστηκαν παράλληλα και ταυτόχρονα με τις περιπτώσεις βρουκέλλωσης στο παρελθόν και βρέθηκαν να έχουν την ίδια κατανομή στον χώρο. Για παράδειγμα στο Λιδορίκι όπου είχαμε συγκέντρωση κρουσμάτων στη ζώνη 3 είχαμε και συγκέντρωση αποβολών στην ίδια ζώνη.

Τόσο στην επιδημιολογική μελέτη, όσο και στη μελέτη παρακολούθησης - επιτήρησης του ζωικού πληθυσμού, οι αποβολές στα ζώα χρησιμοποιήθηκαν σαν ένδειξη βρουκέλλωσης στα ζώα. Είναι γνωστό ότι αποβολές στα ζώα είναι δυνατόν να προκαλέσουν και πολλοί άλλοι μικροοργανισμοί (χλαμύδια, *C. burnetii* κλπ.) αλλά σε μιά ενδημική περιοχή στη βρουκέλλωση είναι πιθανότερο να οφείλονται σε βρουκέλλωση. Έτσι οι αποβολές στα ζώα στην υπό μελέτη περιοχή μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν ένας αδρός δείκτης βρουκέλλωσης (Nicoletti P., 1989a).

Για να ελέξουμε την ύπαρξη συγκέντωσης κρουσμάτων σε μια συγκεκριμένη περιοχή σε επίπεδο χώρας, σε επίπεδο νομού ή σε επίπεδο χωριού χρησιμοποιήσαμε τις ζώνες και τα αυξομειούμενα τετράγωνα και στη συνέχεια εφαρμόσαμε την δοκιμασία χ^2 test. Η αναζήτηση συγκέντωσης κρουσμάτων είναι πραγματικά ένα δύσκολο έργο και πολλές φορές τα αποτελέσματα δεν είναι αξιόπιστα, ιδιαίτερα, όταν χρησιμοποιούμε στην ανάλυση μας διοικητικές περιοχές (νομοί) με μικρό πληθυσμό και το υπό μελέτη νόσημα έχει μικρή επίπτωση. Στην περίπτωση αυτή είναι πολύ πιθανόν να ανευρεθούν συγκεντρώσεις κρουσμάτων τυχαία. Πολλοί ερευνητές έχουν εφαρμόσει διάφορες στατιστικές μεθόδους για την ανίχνευση συγκέντρωσης κρουσμάτων (Walder S.D. et al, 1992; Bernadinelli L. et al, 1992; Walter S.D., 1993, Sjurdur F. Olsen et al, 1996) με διαφορετική ισχύ στην ανάδειξη της πραγματικής συγκέντρωσης κρουσμάτων. Οι εφαρμογές αυτές στηρίζονται στην χρήση των διοικητικών περιοχών (νομοί κλπ) και πάντοτε παραμένει το πρόβλημα ότι τα γεωγραφικά όρια αυτών των νομών είναι τεχνητά και όχι φυσικά (Sjurdur F. Olsen et al, 1996). Το ΠΜΧ χρησιμοποιώντας τα αυξομειούμενα τετράγωνα

μπορεί να ελέγξει περιοχές ανάμεσα σε 2 ή 3 διοικητικές περιοχές, έτσι μπορεί να ακολουθήσει την εξαπλώση των λοιμωδών νοσημάτων και να αναζητηθούν πραγματικές συγκεντρώσεις. Η ισχύς της δοκιμασίας χ^2 test που εφαρμόσαμε για την αναζήτηση ζώνης ή τετραγώνου με συγκέντρωση κρουσμάτων (case clustering) είναι σχετικά χαμηλή, γι' αυτό δοκιμάζουμε άλλες στατιστικές μεθόδους και μαθηματικά μοντέλα τα οποία θα μπορούσαν να δώσουν καλύτερα αποτελέσματα.

Χρονική απεικόνιση κρουσμάτων και αναζήτηση κοινής πηγής μόλυνσης

Απεικονίζοντας τα κρούσματα στο χώρο (επίπεδο χώρας, νομού, χωριού) και στο χρόνο ταυτόχρονα, το ΠΜΧ μας έδωσε τη δυνατότητα να βρούμε από πού ξεκίνησε το νόσημα και πώς εξαπλώθηκε. Η βρουκέλλωση στους ανθρώπους στην υπό μελέτη περιοχή ξεκίνησε στο χωριό Πεντάπολη και στην συνέχεια εξαπλώθηκε στα γύρω χωριά. Μέσα στο χωριό Πεντάπολη το νόσημα ξεκίνησε από το σπίτι 219 και εξαπλώθηκε στη συνέχεια σε όλο σχεδόν το χωριό.

Χρησιμοποιώντας το ΠΜΧ αναζητήθηκε πιθανή πηγή μόλυνσης για τη βρουκέλλωση στα ζώα. Ενώ δε βρέθηκε κανένας στάβλος που να πληροί τις προϋποθέσεις να είναι κοινή πηγή μόλυνσης, το σπίτι 219 καταδείχθηκε σαν πιθανή πηγή μόλυνσης. Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω, το σπίτι αυτό καταδείχθηκε και σαν η αρχή του νοσήματος στους ανθρώπους. Όπως έγινε γνωστό μετά από επιτόπια έρευνα, πριν 20 χρόνια στην αυλή του σπιτιού είχαν πολλά ζώα τα οποία εισήγαγαν από άλλη περιοχή.

Αυτές οι δύο εφαρμογές καταδεικνύουν και τη μεγάλη αξία της ΜΧ. Πραγματικά είναι η μόνη μέθοδος με την οποία μπορούν να εξεταστούν ταυτόχρονα επιδημιολογικοί παράμετροι (περιπτώσεις και παράγοντες κινδύνου) στη διάσταση του χρόνου και του χώρου.

Μελέτη ασφαλείας και αποτελεσματικότητας του ανθρωπίνου εμβολίου της βρουκέλλωσης:

Τα αποτελέσματα της μελέτης ασφαλείας του εμβολίου επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών (Bentejac M.C. et al., 1984, Roux J., 1986) με μερικές διαφορές: 1) Στο χωριό Αμυδαλιά ένα άτομο παρουσίασε κρίση άσθματος μέσα στο πρώτο 24 ωρο μετά τον εμβολιασμό. Το άτομο αυτό είχε υπερευαισθησία σε πολλά αντιγόνα, γεγονός το οποίο δέν είχε δηλωθεί στο ερωτηματολόγιο. Δεν μπορεί επίσης να αποκλειστεί το τυχαίο συμβάν. 2) Μόνο 6% των εμβολιασθέντων είχαν πυρετό μετά τον εμβολιασμό. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι οι συμμετέχοντες που εμβολιάστηκαν δεν παρατηρούσαν την θερμοκρασία τους συστηματικά.

Στο 25% περίπου των εμβολιασθέντων με εμβόλιο βρουκέλλωσης είχαμε καταγράψει παρενέργειες, οι οποίες ήταν έντονος πόνος και οίδημα τοπικά στο σημείο της ένεσης ή πυρετός μέχρι 39.5 °C. Οι παρενέργειες αυτές παρατηρήθηκαν πολύ πιο συχνά από ό,τι στην ομάδα ελέγχου που εμβολιάστηκε με εμβόλιο τετάνου. Παρόλα αυτά το εμβόλιο της βρουκέλλωσης μπορεί να θεωρηθεί ασφαλές, γιατί στερείται σοβαρών παρενεργειών.

Με σκοπό να μελετήσουμε την αποτελεσματικότητα του εμβολίου χρησιμοποιήσαμε για πρώτη φορά ομάδα μαρτύρων. Σε μία μελέτη που έγινε από τον Roux J. (1989) εμβολιάστηκαν 800 άτομα και μέσα σε διάστημα 3 χρόνων παρακολούθησης βρέθηκαν 2 περιπτώσεις βρουκέλλωσης. Είναι δε

γνωστό, ότι το εμβόλιο προστατεύει για 2 χρόνια περίπου και πρέπει να γίνει επανεμβολιασμός. Επειδή στη μελέτη αυτή δεν υπήρχε ομάδα μαρτύρων, δεν ήταν δυνατό να εξαχθούν συμπεράσματα για την αποτελεσματικότητα του εμβολίου. Στην δική μας μελέτη στην ομάδα μαρτύρων (εμβόλιο τετάνου) στο διάστημα της μηνιαίας παρακολούθησης (τουλάχιστον 9 μήνες) βρέθηκαν 3 νέες περιπτώσεις, ενώ στους εμβολιασθέντες από εμβόλιο της βρουκέλλωσης δε βρέθηκε καμία περίπτωση βρουκέλλωσης. Ενώ τα αποτελέσματα είναι ενδεικτικά ότι το εμβόλιο της βρουκέλλωσης έχει προστατευτική ικανότητα, τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά ($p=0.20$). Δυστυχώς, όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, τα δημογραφικά χαρακτηριστικά της περιοχής δεν ήταν κατάλληλα για μια τέτοια μελέτη (μεγάλος αριθμός ηλικιωμένων ατόμων που είτε είχαν εκτεθεί στην βρουκέλλα ή δεν ήταν υγιείς). Έτσι αποκλείονταν από τη μελέτη περίπου το 50% των αρχικά συμμετεχόντων. Για να μπορέσουμε λοιπόν να έχουμε δείγμα ικανοποιητικό, ώστε να μας δώσει στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, έπρεπε να διπλασιάσουμε τον αριθμό των συμμετεχόντων, πράγμα το οποίο δεν ήταν δυνατό, τόσο για οικονομικούς λόγους, όσο και ανθρώπινου δυναμικού (μηνιαίες επισκέψεις κλπ.).

Το ερώτημα που τίθεται είναι η θέση του ανθρώπινου εμβολίου σε προγράμματα πρόληψης. Πιστεύουμε ότι πρώτος στόχος στα προγράμματα πρόληψης είναι τα ζώα, στα οποία πρέπει να γίνει κάθε προσπάθεια να ελεγχθεί το νόσημα και έτσι θα έχουμε και έλεγχο του νοσήματος. Επειδή όμως αυτό δεν είναι πάντοτε εφικτό στον αγώνα κατά της βρουκέλλωσης στον άνθρωπο, πρέπει να χρησιμοποιηθούν και άλλα μέσα: αγωγή υγείας, παρακολούθηση επιτήρηση του νοσήματος στα ζώα και στους ανθρώπους και πιθανά εμβολιασμός των ατόμων που υπάγονται στις ομάδες υψηλού κινδύνου (ΕΡΓ1, κτηνοτρόφοι, σφαγείς, κλπ.). Όπως φάνηκε στα αποτελέσματα, αυτοί που υπάγονται στην κατηγορία ΕΡΓ1 έχουν πολύ μεγαλύτερο κίνδυνο να νοσήσουν και θα ήταν λογικό μέχρι να αποδώσουν τα προληπτικά μέτρα στα ζώα να συζητηθεί η προστασία τους με εμβολιασμό. Πρέπει όμως πάντα να ιεραρχούμε τις ανάγκες ενός προληπτικού προγράμματος σύμφωνα πάντοτε με τα διαθέσιμα κονδύλια.

Ίσως να ήταν αδύνατη η ολοκλήρωση της μελέτης ασφαλείας και αποτελεσματικότητας του εμβολίου της βρουκέλλωσης χωρίς την μηχανοργάνωση και ειδικότερα χωρίς το ΠΜΧ. Με βάση το πρωτόκολλο έπρεπε να επισκεπτόμαστε στο σπίτι τους τους 520 εμβολιασθέντες σε 8 διαφορετικά χωριά μία φορά τον μήνα. Το ΠΜΧ μας ετοίμαζε λίστα με τα ονόματα αυτών που έπρεπε να επισκεφθούμε, την ώρα που μπορούσαμε να τον βρούμε και επιπλέον, όπου χρειαζόταν, απεικονίζαμε το τοπογραφικό του χωριού και το συγκεκριμένο σπίτι. Έτσι βρίσκαμε εύκολα το δρόμο και το σπίτι του συμμετέχοντα που έπρεπε να επισκευθούμε.

Μέλετη παρακολούθησης και επιτήρησης του ανθρώπινου και ζωικού πληθυσμού:

Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω, σε μερικές περιοχές της Ελλάδος το προληπτικό πρόγραμμα εμβολιασμού των ζώων δεν είχε καλά αποτελέσματα λόγω άρνησης των κτηνοτρόφων να συμμορφωθούν και να εμβολιάσουν τα ζώα τους. Αποφασίσαμε να χρησιμοποιήσουμε την υπό μελέτη περιοχή σαν μοντέλο εφαρμογής προληπτικού προγράμματος τόσο στους ανθρώπους, όσο και στα ζώα, το οποίο πρόγραμμα θα ήταν αποδεκτό από τους κατοίκους:

1) Εφαρμόσαμε πρόγραμμα παρακολούθησης και επιτήρησης του νοσήματος στα ζώα και στους ανθρώπους (μηνιαίες επισκέψεις στην περιοχή), 2) Αγωγή υγείας τόσο για τους ανθρώπους (παράγοντες κινδύνου), όσο και για τους ιδιοκτήτες των ζώων (μείωση της μετάδοσης του νοσήματος από ζώο σε ζώο και από κοπάδι σε κοπάδι), 3) Ανίχνευση και προστασία των ζωνών ελευθέρων

βρουκέλλωσης με την βοήθεια του ΠΜΧ. Η μεθοδολογία αυτή δοκιμάστηκε σε αυτή την μικρή περιοχή με σκοπό να αποτελέσει μοντέλο για εφαρμογή της σε ευρύτερη κλίμακα.

Κατά την περίοδο της παρακολούθησης-επιτήρησης των κατοίκων της υπό μελέτη περιοχής, βρέθηκαν 4 νέες περιπτώσεις βρουκέλλωσης από τις οποίες μόνο οι δύο δηλώθηκαν στο Υπουργείο Υγείας. Η πιθανότερη αιτία είναι το γνωστό πρόβλημα της μη δήλωσης των λοιμωδών νοσημάτων από τους γιατρούς που είναι υποχρεωμένοι από το νόμο να δηλώνουν τα νοσήματα αυτά (Klaucke D.N. et al, 1988; Hadjichristodoulou Ch., 1993; Dlclich S. and Carter A.O., 1994).

Στην υπό μελέτη περιοχή παρατηρήθηκε μιά σημαντική πτώση της επίπτωσης κατά το διάστημα της παρακολούθησης-επιτήρησης, από 1.39/1000/έτος σε 0.22/1000/έτος. Σε αντίθεση, στην περιοχή μάρτυρα (Γρεβενά) είναι φανερό, ότι ενώ παρατηρήθηκε μιά μικρή πτώση της επίπτωσης του νοσήματος (από 1.57/1000/έτος σε 1.09/1000/έτος), η βρουκέλλωση εξακολουθεί να παραμένει ένα σοβαρό πρόβλημα υγείας.

Η πτώση της επίπτωσης στην υπό μελέτη περιοχή (Φωκίδα) οφείλεται σε πολλές συνδυασμένες παρεμβάσεις που έγιναν σε σύγκριση με την περιοχή μάρτυρα, στην οποία δεν έγινε καμία παρέμβαση εκτός του συνεχιζόμενου προγράμματος εμβολιασμού των ζώων. Μία από τις παρεμβάσεις που έγιναν, και πιστεύουμε ότι είχε άμεσα αποτελέσματα, ήταν η αγωγή υγείας που έγινε στον πληθυσμό. Έγιναν δύο ανοικτές ομιλίες στον πληθυσμό, μια πριν να αρχίσει το πρόγραμμα και μία, όταν είχαμε τα αποτελέσματα της επιδημιολογικής μελέτης. Τους αναλύθηκαν τα αποτελέσματα και οι παράγοντες κινδύνου που προέρχονταν από στοιχεία της περιοχής τους. Σημαντική ήταν η προσφορά του ΠΜΧ στην κατανόηση της σημασία των παραγόντων κινδύνου σε σχέση με την τοπογραφική απεικόνιση των περιπτώσεων βρουκέλλωσης. Είναι προτιμότερο να δείχνονται γραφικές απεικονίσεις παρά να συζητείται και να εξηγείται η στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Εκτός από τις ομιλίες ο υπεύθυνος γιατρός για τις μηνιαίες επισκέψεις είχε τακτική επαφή με τις τοπικές αρχές και τους κατοίκους και γινόταν μια συνεχιζόμενη εκπαίδευση σε θέματα δημόσιας υγείας και αποφυγής των παραγόντων κινδύνου της βρουκέλλωσης. Μία άλλη πολύ σημαντική παρέμβαση που έγινε στην περιοχή ήταν η ανίχνευση και η προστασία των περιοχών ελευθέρων βρουκέλλωσης. Το ΠΜΧ αποδείχτηκε ικανό να ανιχνεύσει πιθανές περιοχές ελεύθερες βρουκέλλωσης και στη συνέχεια χρησιμοποιώντας το στην παρακολούθηση του ζωικού πληθυσμού αποδείχτηκε χρήσιμο στην προστασία των περιοχών αυτών, αφού σε 2 από τις 3 ζώνες, που είχαν εντοπιστεί, δεν είχαμε αποβολές στα ζώα. Όπως αναφέρθηκε πιο πάνω, στην επιτήρηση του ζωικού πληθυσμού οι αποβολές χρησιμοποιήθηκαν σαν δείκτης βρουκέλλωσης στα ζώα. Πρέπει να τονίσουμε ότι συστηματικά αποφύγαμε να έχουμε ανάμιξη στο προληπτικό πρόγραμμα εμβολιασμού που βρισκόταν σε εξέλιξη στην υπό μελέτη περιοχή, αλλά και στην περιοχή μάρτυρα. Εάν ελέγχαμε τις αποβολές εργαστηριακά και διαπιστωνόταν βρουκέλλωση, έπρεπε να ληφθούν μέτρα στο ζώο και στο κοπάδι. Αυτό θα προκαλούσε ένταση ανάμεσα στους κτηνοτρόφους και θα είχε σαν αποτέλεσμα να μην συνεργαστούν στη μελέτη παρακολούθησης επιτήρησης, όπως δέ συνεργάστηκαν και στο πρόγραμμα εμβολιασμού που εφαρμοζόταν από το 1975.

Τα αποτελέσματα είναι ενδεικτικά ότι η παρακολούθηση-επιτήρηση του πληθυσμού χρησιμοποιώντας το ΠΜΧ συνέβαλε στην μείωση της επίπτωσης στην υπό μελέτη περιοχή. Η ανίχνευση και προστασία των ελευθέρων βρουκέλλωσης ζωνών αποδείχτηκε ικανή να παρεμποδίσει την εξάπλωση του νοσήματος στον ζωικό πληθυσμό. Το ΠΜΧ θα μπορούσε στο μέλλον να χρησιμοποιηθεί μαζί με μαθηματικά μοντέλα, για να υπολογίζεται ο κίνδυνος να εισαχθεί σε μιά ζώνη ελεύθερης βρουκέλλωσης το νόσημα (Darlymple M., 1993).

Η ίδια μεθοδολογία θα μπορούσε να εφαρμοστεί σε επίπεδο χώρας: να ανιχνευτούν περιοχές (νομοί κλπ.), οι οποίες είναι ελεύθερες βρουκέλλωσης ή έχουν χαμηλό επιπολασμό και στη συνέχεια να προστατευτούν. Αυτή η προσέγγιση του σταδιακού τοπικού ελέγχου του νοσήματος, έχει μεγαλύτερες πιθανότητες να πετύχει σε χώρες που δεν έχουν καλή κρατική οργάνωση και δεν μπορούν να εφαρμόσουν μακροχρόνια προγράμματα πρόληψης σε όλη την χώρα.

Αξιολόγηση του ΠΜΧ

Τα προγράμματα χαρτογράφησης χρησιμοποιούνται σήμερα σε πολλούς τομείς, όπως είναι η πολεοδομία και το κτηματολόγιο, στον έλεγχο της κυκλοφορίας των οχημάτων και στο εμπόριο. Στον τομέα της υγείας έχουν γίνει αρκετές εφαρμογές σε επίπεδο χώρας και διοικητικών περιοχών, αφού μπορούν να απεικονιστούν πολλές πληροφορίες ταυτόχρονα στην οθόνη του υπολογιστή. Η ραγδαία εξέλιξη των υπολογιστών έδωσε την δυνατότητα για περισσότερο ακριβή και πολλαπλή παρουσίαση των δεδομένων σε καλά σχεδιασμένους και ακριβείς χάρτες. Η χαρτογράφηση παρέχει την δυνατότητα αναλυτικών επιδημιολογικών μελετών όπου μπορεί να μελετηθεί ταυτόχρονα και παράλληλα στην διάσταση του χρόνου και του χώρου ένα νόσημα. Έτσι παρέχεται η δυνατότητα να μελετηθούν γεγονότα εκεί που πραγματικά συμβαίνουν και να απεικονιστεί ή να προβλεφθεί ακόμα η εξέλιξη τους (για παράδειγμα μιά επιδημία) (Openhaw S., 1994; Openhaw S. 1995; Castillo-Salgado Carlos, 1996). Τα προγράμματα MX εφαρμόστηκαν στην μελέτη της μαλάριας, της λεισμανίασης, του καρκίνου κλπ (Beral V. et al, 1990; Rogers D.J. and Williams B.G., 1993; Beck L.R. et al, 1994; Openshaw S., 1996). Οι διαφορές που έχει η δική μας εφαρμογή, από αυτές που έχουν γίνει κυρίως μεταγενέστερα από τη δική μας είναι:

- 1) Το ΠΜΧ κατασκευάστηκε από τη δική μας ερευνητική ομάδα αποκλειστικά για επιδημιολογικούς σκοπούς και έτσι μπορεί να τους εξυπηρετήσει καλύτερα.
- 2) Είναι ολοκληρωμένο και μπορούμε να έχουμε απεικονίσεις ενός νοσήματος σε όλα τα επίπεδα (επίπεδο χώρας, επίπεδο νομού, επίπεδο χωριού, επίπεδο γειτονιάς). Οι απεικονίσεις μπορεί να γίνουν από πάνω προς τα κάτω ή το αντίθετο.
- 3) Μπορούμε να έχουμε ταυτόχρονες πολλαπλές απεικονίσεις πολλών παραγόντων, με αποτέλεσμα να έχουμε την δυνατότητα να συσχετίσουμε το νόσημα με τους παράγοντες κινδύνου.
- 4) Χρησιμοποιώντας τα αυξομειούμενα τετράγωνα ή τις ζώνες, μπορούμε να αναζητήσουμε συγκέντρωση κρουσμάτων ανάμεσα σε δύο ή τρεις διοικητικές περιοχές. Αυτό πιστεύουμε ότι είναι ένα πολύ σημαντικό πλεονέκτημα, γιατί τα όρια των νομών είναι τεχνητά και, όπως είναι φυσικό, δεν αναγνωρίζονται από τα λοιμώδη νοσήματα. Έτσι μπορεί να έχουμε συγκέντρωση κρουσμάτων σε συνοριακές περιοχές δύο νομών οι οποίες δε θα βρεθούν, εάν αναζητηθούν σε επίπεδο νομών. Το ΠΜΧ με την δομή που έχει παρέχει την δυνατότητα να ξεπεράσουμε τα τεχνητά όρια και να αναζητήσουμε πραγματικές συγκεντρώσεις σε όλη την χώρα σε όλα τα επίπεδα (χώρα, νομός, χωριό).
- 5) Δε χρειάζεται εξειδικευμένο προσωπικό, για να το χρησιμοποιήσουν γιατροί χωρίς απλό και φιλικό στη χρήση και μπορούν να το χρησιμοποιήσουν γιατροί χωρίς ιδιαίτερες ικανότητες στους υπολογιστές.
- 6) Οι συντεταγμένες, οι οποίες είναι απαραίτητες για τη δημιουργία των χαρτών, μπορούν να υπολογιστούν με απλούς τρόπους, με αποτέλεσμα το ΠΜΧ να μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε επιδημιολογικές μελέτες, όπου δεν είναι εύκολο να βρεθεί η τεχνολογική υποδομή (field studies).

Η ακρίβεια με την οποία απεικονίζονται οι χάρτες θεωρείται από την ερευνητική ομάδα ικανοποιητική. Πρέπει να έχουμε υπόψη μας ότι το ΠΜΧ

δημιουργήθηκε για επιδημιολογικές εφαρμογές και η ακρίβεια που παρέχει είναι πολύ ικανοποιητική για τις συγκεκριμένες αυτές εφαρμογές. Σήμερα μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε δορυφόρους, για να υπολογίσουμε τις συντεταγμένες και πολύ ακριβή προγράμματα, για να απεικονίσουμε τους χάρτες με μεγάλη ακρίβεια. Αλλά ποιο θα είναι το κόστος και ποιο το όφελος από την εφαρμογή τους στην επιδημιολογική έρευνα. Μπορεί αυτά τα συστήματα να είναι χρήσιμα στο εθνικό κτηματολόγιο, αλλά είναι πολυτέλεια αχρείαστη και δύσχρηστη στις επιδημιολογικές μελέτες. Δεν πρέπει η ΜΧ να γίνει ένα ακριβό παιχνίδι στην επιδημιολογία, αλλά να είναι ένα χρήσιμο και διαθέσιμο εργαλείο.

Από τα αποτελέσματα είναι φανερό ότι στην μελέτη αυτή εφαρμόστηκε με επιτυχία μία καινούρια μεθοδολογία της Μηχανογραφημένης Χαρτογράφησης. Το ΠΜΧ ήταν κεντρικό εργαλείο στην επιδημιολογική μελέτη, στη μελέτη ασφαλείας και αποτελεσματικότητας του εμβολίου και στην παρακολούθηση, επιτήρηση της βρουκέλλωσης. Το 1989, που ξεκίνησε η μελέτη αυτή, τα προγράμματα Μηχανογραφημένης Χαρτογράφησης ήταν πολύ λίγα και οι προσωπικοί υπολογιστές, (υλικό μηχανογράφησης-hardware), είχαν πολύ περιορισμένες δυνατότητες (IBM 80286, 16MHZ, 20 MB σκληρό δίσκο). Επειδή ήταν πολύ δύσκολο να μετατρέψουμε ένα από τα υπάρχοντα προγράμματα μηχανογραφημένης χαρτογράφησης, με σκοπό να καλύψει όλες τις ανάγκες της μελέτης, αποφασίσαμε να δημιουργήσουμε το δικό μας ΠΜΧ. Επίσης, εάν χρησιμοποιούσαμε ένα πρόγραμμα που υπήρχε στην αγορά, θα χρειαζόμασταν εξειδικευμένο προσωπικό να το χειρίζεται, υπολογιστή με μεγάλες δυνατότητες (όχι προσωπικό υπολογιστή) και το κόστος θα ήταν μεγάλο. Ακόμα πιστεύουμε ότι δε θα μπορούσαμε να χρησιμοποιήσουμε έτοιμο πρόγραμμα, διότι δε θα ήταν δυνατό να καλύψει τις ανάγκες που προέκυπταν στην πορεία της μελέτης. Το ΠΜΧ που δημιουργήσαμε εξελίχτηκε βήμα-βήμα, καλύπτοντας όλες τις ανάγκες του προγράμματος. Είναι φιλικό στη χρήση και προσαρμόστηκε σταδιακά στις τεχνολογικές εξελίξεις. Αρχικά χρησιμοποιήσαμε CGA οθόνη και στη συνέχεια VGA οθόνη με περισσότερα χρώματα κλπ. Τέλος, πρέπει να έχουμε υπόψη μας ότι τα εμπορικά ΠΜΧ έχουν δημιουργηθεί για άλλους σκοπούς και όχι καθαρά για επιδημιολογική έρευνα, όπου για παράδειγμα, η μεγάλη ακρίβεια στις αποστάσεις δε μας ενδιαφέρει ιδιαίτερα.

ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

BACKGROUND

Brucellosis, a zoonosis distributed worldwide, is caused most commonly by *Brucella melitensis*. The control of brucellosis in animals, which is considered the only effective step in preventing the disease in humans, is a difficult and expensive task. Thus controlling human brucellosis in most countries has relied upon establishing reporting systems of both human and animal brucellosis cases. Between 1980 and 1989, 5958 brucellosis cases were reported to the Ministry of Health, Greece, with high incidence rates in the rural areas. Since it is well known that brucellosis, like other

infectious diseases, is under-reported, the number of brucellosis cases in this decade is assumed to be much higher. Moreover, sero-epidemiological studies support the fact that brucellosis is endemic and constitutes a serious health problem in certain rural areas of Greece. Thus a control programme for a high incidence area was designed. Three combined studies were included in this programme: 1) population survey, 2) trial of human brucellosis vaccine and intradermal reaction (IDR) test and 3) long term surveillance and health education.

To achieve our objectives computerised mapping techniques were evaluated. Mapping has proved to be a powerful tool in epidemiological research. The initial use of mapping techniques was based on local distributions and a classic example of this was in the study of cholera epidemic in London (in 1854) and the study of endemic typhus in Alabama (1922-1926). Recent advances in computer graphics have simplified the methodology and have led to the extensive use of mapping on a county-level such as the cancer mortality maps that were used together with correlation analysis to generate hypothesis on cancer etiology. Mapping techniques have also been used in the study of infectious diseases and injury research in public health surveillance. Despite the extensive use of computerised mapping techniques for country and county-level maps, there was no experience in using these techniques for small areas (villages, municipalities, etc.). One of the main objectives of this study was, therefore, to develop an accessible, integrated mapping tool for field epidemiologists using the study of brucellosis in Greece as an exemplar.

METHODS AND RESULTS

Population survey

A cross sectional population survey conducted in 8 villages of Fokida, a rural area of central Greece. The maps of Greece (boundary) and the topographical maps of the 8 villages were created using the CMP. A volunteer sample of 1121 out of 2507 inhabitants of the study area agreed to participate in the population survey. The participants were tested for brucellosis using serological tests (ELISA and Rose Bengal) and intradermal reaction test. A questionnaire was used to obtain information concerning the risk factors. The risk factors found through statistical analysis were occupation $RR=5.81$, $p < 0.00001$, consumption of raw unpasteurised milk $RR=1.98$, $p < 0.001$ and unpasteurised fresh cheese $RR=2.13$, $p < 0.01$. The same factors were indicated by the CMP. The CMP also indicates manure-contaminated playgrounds in residential yards as a potential risk factor for children. The origin and dissemination were delineated using time-space association display. The CMP proved to be a useful tool in the epidemiological study.

Tolerance of the human brucellosis vaccine and the IDR test for brucellosis

Of the 1121 participants 271 were vaccinated with human brucellosis vaccine and 305 with tetanus vaccine, the latter group serving as a comparative control group. Although brucellosis vaccine caused some unpleasant side effects in about a quarter of the vaccinated persons, it appears safe for large-scale use in prevention programs. Three new cases were identified among the control group while in the brucellosis vaccine group no case was found. These results indicate that the vaccine is efficient but the difference with the control group was not statistically significant. In addition the IDR was also found safe and its sensitivity (90.6%) and specificity (89.3%) is

satisfactory and is recommended to be used as a screening test in epidemiological studies.

Long term surveillance of brucellosis

Long term active surveillance of brucellosis was implemented in a rural area (Fokida) of Greece from 1989 to 1993 while the rural area of Grevena was selected as a control area. The computerised mapping programme was used to identify and protect the suspected animal brucellosis free zones. Health education of the inhabitants was further used to teach them how to avoid the risk factors. Three suspected brucellosis free zones were identified and two of them were successfully protected. The incidence for the 10 year period (1979-1988) was estimated at 1.4/1000/year for the study area and 1.6/1000/year for the control area. During the surveillance period the incidence in the study area dropped to 0.2/1000/year while in the control area it decreased to 1.0/1000/year.

The methodology of identification and protection of suspected brucellosis free zones combined with health education proved to be efficient in reducing the incidence of the disease. The same methodology could be used in the country level, in countries where it is difficult to implement and maintain an animal control programme in the whole country.

Comments

The results of this study in an endemic area of Greece showed that a well-designed control programme could be efficient to eliminate brucellosis both in animals and humans. The CMP was the main tool in the control programme and proved to be a powerful and useful tool in the epidemiological study of infectious diseases.

Acocella G., Bertrand A., Beytoug J., Durande J.B., Rodriguez J.C., Kosmidis J., Micoud M., Rey M., Zapata M.R., Roux J., Stahl J.P. (1989). Comparison of three different regimens in the treatment of brucellosis: a multicenter multinational study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **23**:433-439.

Alausa O.K. (1980) Incidence and seasonal prevalence among an occupationally-exposed population to brucellosis. *Trop Geogr Med*. **32**:12-15.

Alballa S.R. (1995). Epidemiology of human brucellosis in southern Saudi Arabia. *Journal of Tropical Medicine & Hygiene*. **98**(3):185-9.

Al-Eissa Y.A. (1995), Clinical and therapeutic features of childhood neurobrucellosis. *Scand J Inf Dis*. **27**(4):339-43.

Alton G.G. and Jones L.M. (1975). Laboratory techniques in brucellosis. Monograph Series 55, 2nd edn, World Health Organization, Geneva.

Andes N. and Davis J.E. (1995). Linking public health data using geographic information system techniques: Alaskan community characteristics and infant mortality. *Stat Med*. **14**:481-490.

Ansorg A., Palm G. and Unger V. (1983). Malta Fever in a brucellosis-free region: analysis of the outbreak of Malta Fever in the area of Goettingen, 1982. *Zentralbl Bakteriologie Mikrobiologie Hygiene*, **255**:299-308.

Araj G.F. (1986). Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic brucellosis in human beings. *Journal of Hygiene (Cambridge)*. **97**:457-469.

Araj G.F. and Azzam R.A. (1996). Seroprevalence of brucella antibodies among persons in high risk occupation in Lebanon. *Epidemiology and Infection*. **117**:281-288.

Baker S.P., Whitfield P.A., O'Neill B. (1987). Geographic variations in mortality from motor vehicle crashes. *N Engl J Med*. **16**:1384-87.

Baker S.P., Whitfield P.A., O'Neill B. (1988). County mapping of injury mortality. *J Trauma*. **28**:741-5.

Bang B. (1897). The etiology of epizootic abortion. *J Comp Path Therap*. **10**: 125.

Bang B. (1906). Infectious abortion in cattle. *J Comp Path Therap*. **19**:191.

Barbuddhe S.B., Yadava V. K., Singh D.K. (1994). Detection of IgM and IgG antibodies against Brucella by dot-ELISA in humans. *Journal of Communicable Diseases*. **26**(1):1-5.

Bascoul S., Cannat A., Huguet M. F. and Serre A. (1978). Studies on the immune protection to marine experimental brucellosis conferred by brucella fractions. Positive role of immune serum. *Immunology*. **35**:213-221.

Baum M., Zamir O., Bergman-Rios R., Katz E., Beider Z., Cohen A., Banai M. (1995), Comparative evaluation of microagglutination test and serum agglutination test as supplementary diagnostic methods for brucellosis. *Journal of Clinical Microbiology*. **33**(8):2166-70.

Beck L.R., Rodriguez M.H, and Dister S. W. et al. (1994) Remote sensing as a landscape epidemiologic tool to identify villages at high risk for malaria transmission. *Am J Trop Med Hyg*. **51**:271-280.

Beral V. (1990). Childhood leukemia near nuclear plants in the United Kingdom: the evolution of a systematic approach to studying rare disease in small geographic areas. *Am J Epid*. **132**:S63-S68.

- Berman D.T., (1981). Brucellosis. In *Diseases of Cattle in the Tropics. Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science*, Vol.6 (eds M.Ristic and I.McIntyre), Martinus Nijhoff, Dordrecht, 271-286.
- Bernardinelli L, Montomoli C. (1992). Empirical bayes versus fully bayesian analysis of geographical variation in disease risk. *Stat Med.* **11**:983-1007.
- Bentejac M.C., Biron C., Bertrand A., Bascoul S. (1984). Vaccination contre la Brucellose humaine bilan sur une periode de 2 ans. *Dev Biol Stand.* **56**:531-535.
- Bertrand A., Siffert M., Bascoul S., Mathieu-Daude J.C. (1984a). Interet pratique de la exploration de l'immunité cellulaire au cours de la Brucellose humaine. *Dev Biol Stand.* **56**:537-546.
- Bertrand A., Bentejac M.C., Siffert M.. (1984b). Utilisation chez l'homme d'un antigène phénolo'soluble Brucellien comme test de détection de la sensibilité cutanée spécifique. *Dev Biol Stand.* **56**:547-551.
- Bertrand A.. (1994). Antibiotic treatment of brucellosis. *Presse Medicale.* **23(24)**,1128-31.
- Bhopal R.S., Fallon R.J., Buist E.C., Black R.J. (1991). Urquhart JD. Proximity of the home to a cooling tower and risk of non-outbreak legionnaires' disease. *Br Med J.* **302**:378-83.
- Blasco J.M., Marin C., Jimenez de Bagues M., Barberan M., Hernandez A., Molina L., Velasco J., Diaz R., Moriyon I. (1994), Evaluation of allergic and serological tests for diagnosing *Brucella melitensis* infection in sheep. *Journal of Clinical Microbiology.* **32(8)**:1835-40.
- Blasco J.M., Garin-Bastuji B., Marin C.M., Gerbier G., Fando J., Jimenez de Bagues M.P., Cau C. (1994), Efficacy of different Rose Bengal and complement fixation antigens for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. *Veterinary Record.* **134(16)**:415-20.
- Boura P., Tsapas G., Kountouras J., Zaharioudaki E. (1995), Interferon-A 2a administration in chronic anergic brucellosis. *Hepato-Gastroenterology.* **42(6)**:919-22.
- Brown G.M. (1977). The history of the brucellosis eradication program in the United States. *Am. Sclavo.* **19**:20-34.
- Brimingham J.R. and Jeska E.L. (1981). Characterization of macrophage functions in mice infected with *Brucella abortus*. *Infect. Immun.* **32**:1079-1083.
- Bruce D. (1887). Note on the discovery of a micro-organism in Malta Fever. *Practitioner.* **39**:161.
- Bruce D. (1889). Malta Fever. *Br. Med.J.*, **I**,1101-1107.
- Buchanan T.M., Sulzer C.R., Frix M.K. and Feldman R.A.(1974). Brucellosis in the United States, 1960- 1972. An abattoir-associated disease. Part II: Diagnostic aspects. *Medicine.* **53**: 415-425.
- Buddle M.B. and Boyes B.W. (1953) A brucella mutant causing genital disease of sheep in New Zealand. *Aust Vet J.* **29**:145.
- Cantor H. and Boyse E.A. (1975). Functional subclasses of T-lymphocytes bearing different Ly antigens. I. T generation of functionally distinct T-cell subclasses in a differentiative process independent of antigen. *J Exp Med.* **141**:1376-1389
- Carmichael L.E. (1966). Abortions in 200 beagles. *J Am Vet Med Assoc.* **149**:1126.
- Castillo-Salgado Carlos. (1996) Use of Geographic Information Systems in Epidemiology (GIS-Epi). *Epidemiological Bulletin, Pan American Health Organization.* **17(1)**:1-6.

- Cerny M.I., Knjazeva E.N. and Egorova L.S. (1977). Study of the plate agglutination test with Rose Bengal antigen for the diagnosis of human brucellosis. *Bull Wild Hlth Org*. **55**:669-674.
- Chomel B.B., DeBess E.E. et al. (1994). Changing trends in the epidemiology of human brucellosis in California from 1973 to 1992; a shift toward foodborne transmission. *J Inf Dis*. **170**(5):1216-23.
- Colmenero J.D., Fernandez-Gallardo L.C., Agundez J.A., Sedeno J., Benitez J. and Valverde E. (1994). Possible implications of doxycycline-rifampin interaction for treatment of brucellosis. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*. **38**(12):2798-802.
- Conte G., Bacchiocchi D., Jankovic M. (1994). Brucellosis in childhood: therapeutic contribution. *Minerva Pediatrica*. **46**(11):527-9.
- Corbel M.J. (1972). Identification of the immunoglobulin class active in the Rose Bengal plate test for bovine brucellosis. *J Hyg Camb* **70**:779-795.
- Corbel M.J., Bracewell C.D., Thomas E.L. and Gill K.P.W. (1979). Techniques in the identification and classification of *Brucella* species. In *Identification Methods for Microbiologists*, 2nd edn. (eds. F. A. Skinner and D. W. Lovelock), Academic Press, London and New York, pp. 71-122.
- Corbel M.J. (1979). The relationship between the protective and cross-reacting antigens of *Brucella* spp., *Yersinia enterocolitica* 0:9 and *Salmonella* serotypes of Kauffmann-White Group N. *Contr. Microbiol Immunol*. **5**:50-63.
- Corbel M.J. and Brinley Morgan W.J. (1984). Genus *Brucella* Meyer and Shaw 1920, 173. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1 (eds N.R. Krieg and T.G. Holt), Williams and Wilkins, Baltimore and London, pp 377-388.
- Cristiano P. and Paradisi F. (1982). Can cimetidine facilitate infections by oral route? (Letter). *Lancet*, **I**, 45.
- Dalrymple M. (1993). Model for assessing the risk of introducing brucellosis into a brucellosis-free area. *Revue Scientifique et Technique*. **12**(4):1175-86.
- Davos D.E., Cargill C.F., Kyrkou M.R. et al. (1981). Outbreak of brucellosis at a South Australian abattoir. Epidemiological investigations. *Med J Aust*. **2**:657-660.
- Dean J.A. and Burton A.H. et al. (1993). Epi Map: A mapping program for IBM-compatible microcomputers. *Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA*.
- De-la-Rosa J.L., Alcantara P. and Correa D. (1995). Investigation of cross-reactions against *Trichinella spiralis* antigens by enzyme-linked immunosorbent assay and enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay in patients with various diseases. *Clinical & Diagnostic Laboratory Immunology*. **2**(1):122-4.
- Declich S. and Carter A.O. (1994). Public health surveillance: historical origins, methods and evaluation. *Bull Wild Hlth Org*. **72**(2):285-304.
- Difford F. (1985). Mapping practice population and morbidity with computer. *Br Med J*. **91**: 1017-20.
- Diggle P.J. and Chetwynd A.G. (1991). Second order analysis of spatial clustering for inhomogeneous populations. *Biometrics*. **47**:1155-1163.
- Diaz-Aparicio E., Marin C., Alonso-Urmeneta B., Aragon V., Perez-Ortiz S., Pardo M., Blasco J.M., Diaz R., Moriyon I. (1994). Evaluation of serological tests for diagnosis of *Brucella melitensis* infection of goats. *Journal of Clinical Microbiology*. **32**(5):1159-65.

- Diaz R., Jones L.M., Leong D. and Wilson J.B. (1968). Surface antigens of smooth brucellae. *J Bacteriol.* **96**:839-901.
- Diaz R., Maravi-Poma E. and Rivero A. (1976). Comparison of counter-immunoelectrophoresis with other serological tests in the diagnosis of human brucellosis. *Bull Wild Hlth Org.* **53**:417-424.
- Diaz R., Maravi-Poma E., Fernandez J.C. et al. (1982). Brucellosis: estudio de 222 casos. Part IV. Diagnostico de la brucellosis humana. *Rev Clin Esp.* **166**:107-110.
- Dietrich R.A., Amosson S.H. and Crawford R.P.. (1986). Economic and epidemiologic analysis of U.S. bovine brucellosis program. *Texas Ag Exp Sta.* **B-1534**:37.
- Domingo S., Gastearena I., Vitas A.I., Lopez-Goni I., Dios- Vieitez C., Diaz R., Gamazo C. (1995), Comparative activity of azithromycin and doxycycline against *Brucella* spp. infection in mice. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **36(4)**:647-56.
- Duclos P.J., Bentejac K.C., Serre A., Bascou S.. (1989). Skin test reactions to a phenol-soluble antigen of *Brucella abortus* among veterinary students, Lyon, France, 1984. *Int J Epidemiol.* **18**:446-450.
- Domingo, S., Gastearena I., Vitas A. I., Lopez-Goni I., Dios-Vieitez C., Diaz R. and Gamazo C. (1995) Comparative activity of azithromycin and doxycycline against *Brucella* spp. infection in mice. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **36(4)**,647-56.
- Elberg S.S. (1981). A guide for the diagnosis, treatment and prevention of human brucellosis. WHO UPH/81.31. Rev. I. World Health Organization, Geneva.
- ESRI (1993). Understanding GIS:The Arc/Info Method. *Harlow:Longman.*
- Evans A.C. (1918). Further studies on *Bacterium abortus* and related bacteria. **11**. A comparison of *Bacterium abortus* with *Bacterium bronchisepticus* and with the organism which causes Malta Fever. *J Infect Dis* **22**,580.
- Evans A.C. (1927). Human infection with organisms of contagious abortion of cattle and hogs. *JAMA.* **88**,630.
- Eyre J.W.H. and Fawcett J. (1904). A case of subdiaphragmatic and hepatic abscess consecutive to Mediterranean Fever. *Guy's Hospital Rep.* **59**:207.
- Fleischner E.C. and Meyer K.F. (1917). Observations on the presence of the *Bacillus abortus bovinus* in certified milk; preliminary notes. *Am J Dis Child.* **14**:157.
- Flynn M.P. (1983). Human clinical bovine-type brucellosis not derived from milk. *Puplic Health (London).* **97**: 149-157.
- Foulon G., Adriambololona L., Nguyen B.(1981). Epidemiologie des brucelloses. *Rev Epidemiol Sante Publique.* **29**:389-398.
- Galanakis E., Bourantas K.L., Leveidiotou S., Lapatsanis P.D.(1996). Childhood brucellosis in north-western Greece: a retrospective analysis. *European Journal of Pediatrics.* **155(1)**:1-6.
- Gazapo E., Lahoz J.G., Subiza J.L., Baquero M., Gil J., Concha E.G., (1989). Changes in IgM and IgG Antibody Concentrations in Brucellosis Over Time: Importance for Diagnosis and Follow-Up. *The Journal of infectious Diseases.* **159**:219-225.
- Gee-Lew B.M., Nicholas E.A., Hirose F.M. et al. (1983). Unusual manifestation of brucellosis. *Arch Dermatol.* **119**:56-58.
- Gilbert G.L., Beaton C.P., Forsyth J.R. and Bell C.O. (1980). An epidemiological survey of human brucellosis in three Victorian abattoirs. *Med J Aust.* **1**:482-486.

- Γιαντζής Δ.Γ. (1984). Πορεία και αξιολόγηση προγράμματος εκρίζωσης της βρουκέλλωσης. Αποτελέσματα ορολογικών και μικροβιολογικών εξετάσεων. 1977-1981. *Δελτίο Κτηνιατρικής Εταιρείας*. **35**:19-25.
- Goossens H., Harcelis L., Dekeyser L. and Butzler J. (1983). *Brucella melitensis*. Person-to-person transmission? (Letter). *Lancet*. **2**:773.
- Glass G.E., Amerasinghe F.P., and Morgan J.M. et al. (1994) Ixodes scapularis abundance on white-tailed deer using geographic information systems. *Am J Trop Med Hyg*. **51**,538-544.
- Greenstone G. (1993). Brucellosis: a medical rarity that used to be common in Canada. *Canadian Medical Association Journal*. **148(9)**:1612-3.
- Hadjichristodoulou Ch. (1993). Experience gained from the use of reporting systems. Report of the MZCP/WHO training course on the establishment of a human and animal brucellosis national surveillance system, **2**:13-14 (DOC /MZCP /93.2).
- Hadjichristodoulou Ch, Voulgaris P, Toulieres L, et al. (1994). Tolerance of the human brucellosis vaccine and the intradermal reaction test for brucellosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. **13**:129-34.
- Hagebusch O.E. and Frei C.F. (1941). Undulant fevr in children. *Am J clin Pathol*. **11**:487-415.
- Hardy A.V., Huson M.C. and Jordan C.F. (1929). The skin as a portal of entry in *B.melitensis* infections. *J Infect Dis*. **45**,271-282.
- Haslett J., Bradley R., and Craig P. et al. (1991). Dynamic graphics for exploring spatial data with applications to locating global and local anomalies. *American Statistician*. **45**:234-242.
- Herrero Herrero, Ryiz Beldran, Martine Sancez A.M. and Garcia E.J.(1989). Mediterranean Spotted Fever in Salamanca, Spain. Epidemiological study in patients and serosurvey in animal and healthy human population. *Acta Trop*. **46**:335-350.
- Heizmann W, Botzenhart K, Doller G. (1985). Brucellosis: serological methods compared. *Journal of Hygiene (Cambridge)*. **95**:639-653.
- Houang E.T. and Greenwood D. (1977). Aminoglycoside cross- resistance patterns of gentamicin- resistant bacteria. *J Clin Pathol*. **30**:738-744.
- Hughes M.L. (1897). *Mediterranean, Malta or Undulant Fever*. Macmillan, London, pp.1-10.28,80,85,148,156,166.
- Idris M., Maiwald M et al. Human brucellosis in Dhofar, Sultanate of Oman. *Journal of Tropical Medicine & Hygiene* 1993;**96(1)**:46-50. *****
- Jeffery P., Taylor J.P., Perdue J.N. (1989). The changing epidemiology of human brucellosis in Texas, 1977-1986. *Am J Epid*. **130**:160-165.
- Jenkins C.D. (1983). Social environment and cancer mortality in men. *N Engl J Med*. **308**:395-8.
- Joint FAO/WHO (1986). Expert Committee on Brucellosis: Sixth report of the Technical Report Series, No. 740. *World Health Organization, Geneva*.
- Kaufmann A.F., Fox M.D., Boyce J.M. et al (1980). Airborne spread of brucellosis. *Am NY Acad Sci*. **353**:105-114.

- Kerr W.R., Payne D.J.H., Robertson L. and Coombs R.R.A. (1967). Immunoglobulin class of brucella antibodies in human sera. *Immunology*. **13**:223-225.
- Kerr W.R., McCaughey W.J., Coghlan J.D. et al. (1968). Techniques and interpretation in the serological diagnosis of brucellosis in man. *J Med Microbiol*. **1**:181-193.
- Klaucke D.N., Buehler J.W., Thacker St.B., Gibson Paris R, Trowbridge F.R., Barkelman Ruth L and the surveillance coordination group (1988). Guidelines for evaluating surveillance systems. *MMWR*. **37/S5**:1-18.
- Kiel F.W., Khan M.Y. (1993). Brucellosis among hospital employees in Saudi Arabia. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. **14(5)**:268-72.
- Kitron U., Pener H., Costin C., Orshan L., Greenberg Z., Shalom U. (1994). Geographic information system in malaria surveillance: mosquito breeding and imported cases in Israel. *Am J Trop Med Hyg*. **50(5)**:550-6.
- Krambovitis E., Tselentis Y., Tsoukatos D. (1992). A simple enzyme immunoassay for detecting brucellosis antibodies. *FEMS Microbiology Immunology*. **89**:129-36.
- Laurini R. and Thompson D. (1992). Fundamentals of Spatial Information Systems. *New York: Academic Press*.
- Live I. (1958). Immunization studies in human volunteers with ether-killed *Brucella abortus*: preliminary report. *Bull Wld Hlth Org*. **19**:197-199.
- Lopez-Merino A., Lopez-Santiago R. (1989). Immunology of brucellosis in humans. In : Monir Madkour M (ed): Brucellosis. University Press, Cambridge, 244-249.
- Love D. and Lindquist P. (1995). The geographical accessibility of hospitals to the aged: a geographic information systems analysis within Illinois. *Health Serv Res*. **29**:629-651.
- Lulu A.R., Araj G.F., Khateeb M.L. et al. (1988). Human brucellosis in Kuwait. A prospective study of 400 cases. *Q J Med*. **66**:39-54.
- Makdour M.M. (1989). Brucellosis. University Press, Cambridge.
- Makdour M.M. (1989b). Childhood Brucellosis. In Brucellosis. University Press, Cambridge. 205-218.
- Μανέτας Σ. (1984). Επιδημιολογική διερεύνηση της βρουκέλλωσης σε τρεις περιοχές της Ελλάδος. *Διδακτορική διατριβή, Πανεπιστήμιο Αθηνών*.
- Manetas S., Tselentis Y., Charvalos A. (1989). Epidemiological investigation of human brucellosis in Greece. *Italian Journal of Epidemiology*. **6**:393-6.
- Marston J.L A. (1861). Report on fever (Malta). *Great Britain Army Med. Dept. Rep.*:486-521.
- Martinez B.F., Annet J.L., Kilbourne E.M., Kirk M.L., Lui K.J., Smith S.M. (1989). Geographic distribution of heat-related deaths among elderly persons. *JAMA*. **262**:2246-50.
- Mason T.J., McKay F.W., Hoover R., Blot W.J., Fraumeni J.F.Jr. (1975). Atlas of cancer mortality for US countries: 1950-1969. Washington D.C. Government Printing Office Dept. of Health, Education and Welfare Publication (NIH). 75-780.
- Matar G.M., Khneisser I.A. and Abdelnoor A.M. (1996). Rapid laboratory confirmation of human brucellosis by PCR analysis of a target sequence on the 31-kilodalton Brucella antigen DNA. *Journal of Clinical Microbiology*. **34(2)**:477-8.

- Maxcy K.F. (1926). An epidemiological study of endemic typhus (brill's disease) in the southeastern United States with special reference to its mode of transmission. *Public Health Rep.* **41**:2967.
- Mercier E., Jumas-Bilak E., Allardet-Servent A., O'Callaghan D., Ramuz M. (1996), Polymorphism in Brucella strains detected by studying distribution of two short repetitive DNA elements. *Journal of Clinical Microbiology.* **34(5)**:1299-302.
- Mohler J.R. (1913-14). Infectious abortion of cattle. *Am. Rep. US. Brv of Animal Industry. 1913-1914.*
- Morales-Otero P. (1930). Experimental infection of Brucella abortus in man: preliminary report. Puerto Rico. *J Public Health Trop Med.* **5**:119.
- Mousa A.M., Elhag K.M., Khogali M. and Sugathan T.N. (1987). Brucellosis in Kuwait: a clinico-epidemiological study. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* **81**,1020-1921.
- Mousa A.M., Muhtaseb S.A., Al-Mudallal D.S. et al. (1987). Osteoarticular complications of brucellosis: a study of 169 cases. *Rev. Infect Dis.* **9**:531-543.
- MZCP/WHO (1992). Report of the MZCP Consultation on the Epidemiology and Surveillance of Brucellosis Involving Human Health Care. Heraklion, Greece.
- MZCP/WHO (1995). Workshop on laboratory diagnosis of human brucellosis, Pamplona, Spain, 4-7 Sep.
- Nicolle M. and Conseil E. (1923). Vaccination Preventives par voie digestive chez l'homme dans la dysenterie bacillaire et la fièvre mediteranne. *Arch Inst Pasteur.* **12**:67-71.
- Nicoletti P. (1980). The epidemiology of bovine brucellosis. *Adv Vet Sci Comp Med.* **24**:69-98.
- Nicoletti P. (1989). Brucellosis in Animals. In :Monir Madkour M (ed): Brucellosis. *University Press, Cambridge*, 251-262.
- Nicoletti P. (1989b). Control eradication and prevention. In :Monir Madkour M (ed): Brucellosis. *University Press, Cambridge*, 270-279.
- Nimmo A.W. (1989). The chief scientist reports: review of computer mapping. *Health Bulletin.* **47**:40-8.
- Ocon P., Reguera JM., Morata P., Juares C., Alonso A., Colmenero JD. (1994), Phagocytic cell function in active brucellosis. *Infection & Immunity.* **62(3)**:910-4.
- OIE (Office International des Epizooties) (1983) Animal Health and Economics. Technical Series No. 3.
- Oliveira SC., Splitter GA. (1995), CD8 + type 1 CD44hi CD45 RB1o T lymphocytes control intracellular Brucella abortus infection as demonstrated in major histocompatibility complex class I- and class II-deficient mice. *European Journal of Immunology.* **25(9)**:2551-7.
- Openshaw S. (1994). Two exploratory space-time attribute pattern analyzers relevant to GIS. In: *GIS and Spatial Analysis*, Fotheringham, S. & Rogerson, P. (editors). London: Taylor & Francis, pp 83-104.
- Openshaw S. (1995). Developing automated and smart spatial pattern exploration tools for geographical information system applications. *The Statistician.* **44**:3-16.
- Openshaw S. (1996). Geographical information systems and tropical diseases. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* **90**:337-339.

- Παππούς Χ., Χόντου Α. (1988). Ορολογικός έλεγχος αμνών εμβολιασμένων κατά της βρουκέλλωσης με εμβόλιο REV.1. Δελτίο Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας. Τεύχος 39.
- Patricia M. Simone and the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis (1995). *MMWR*. **44**:RR-11: 1-33.
- Perera V.Y., Greasy M.T. and Winter A. (1983). Nylon bead enzyme-linked immunosorbent assay for detection of sub-picrogram quantities of brucella antigens. *J Clin Microbiol* . **18**:601-608.
- Plommet M. (1992). Prevention of Brucellosis in the Mediterranean countries. *CHEEAM publication*. **1**:9-75.
- Polt S.S. Dismukes W.E., Flint A. and Scafer J. 1982. Human brucellosis caused by *brucella canis* . *Ann Intern Med* .**97**:717-719.
- Polydorou K. (1982). Brucellosis control in Cyprus. *World An Rev*. **41**:27-33.
- Printzis S., Raptopoulou-Gigi M., Orphanou-Koumerkeridou H., Lagre F., Goulis G. (1994), Immunotherapy in chronic brucellosis. Effect of levamisole and interferon; mechanisms of action and clinical value. *Immunopharmacology & Immunotoxicology*. **16(4)**:679-93.
- Public Health Laboratory Service (1981). Epidemiology. Brucellosis; England and Wales. *Br Med J* . **283**:1477.
- Radolf J.D. (1994). Southwestern Internal Medicine Conference: brucellosis: don't let it get your goat:. *Am J Med Sci*. **307(1)**:64-75.
- Radwan A.L., Bekairi S.I., Al-Mukayel A.A. and Osman S.A. (1984). Occurrence of brucellosis in sheep and sheep handlers in Saudi Arabia. *Proc Sheep Breeders Soc*. 6:595-608.
- Radwan A.L., Asmar J.A., Frenichs Y.M. et al (1983) Incidence of brucellosis in domestic livestock in Saudi Arabia. *Trop Anim Health Prod* . **15**:139-143.
- Rajapakse C.N. (1995), Bacterial infections: osteoarticular brucellosis. *Clinical Rheumatology*. **9(1)**:161-77.
- Riley L.K. and Robertson D.C. (1984). Ingestion and intracellular survival of *Brucella abortus* in human and bovine polymorphonuclear leukocytes. *Infect. Immun*. **46**:224-230.
- Robson J.M., Harrison M.W. et al. (1993). Brucellosis: re-emergence and changing epidemiology in Queensland. *Med J Austr*. **159(3)**:53-8.
- Rodriguez-Zapata M., Alvarez-Mon M., Salmeron I., Prieto A., Manzano L., Salmeron O.J., Carballido J. (1996), Diminished T lymphocyte proliferative response to polyclonal mitogens in acute brucellosis patients. *Infection*. **24(2)**:115-20.
- Rogers D.J., Williams B.G. (1993). Monitoring trypanosomiasis in space and time. *Parasitology*. **106**:S77-92.
- Romero-Vivas J., Guerrero A., Buzon L. et al. (1984). Brucellosis and parenteral drug abuse. *Eur J Clin Microbiol* . **3**:319-320.
- Roumiantzeff M., Colombet G., Joubert L., Desmettre PH. (1984). Standardization sur l'animal du laboratoire d'une test intradermique destine a reveler l'hypersensibilite retardee brucelique chez l'homme. *Dev Biol Stand* . **56**:393-399.
- Roux J., Asselineau J., Serre A. and Lacave C. (1967). Proprietes immunologiques d'un extrait phenol insoluble de *B.melitensis* (fraction P1). *Ann Inst Pasteur*. **113**:411-423.

- Roux J.(1972). Les vaccinations dans les Brucelloses humaines et animales. *Bulletin de l'Institut Pasteur* . **70**:145-202.
- Roux J. (1977). Surveillance des brucelloses humaines en France.*Rev. Epidemiol. Sante Publique* . **25**:179-194.
- Roux J. (1979). Epidemiologie et prevention de la brucellose. *Bull Wld Hlth Org.* **57**:179-94.
- Roux J. (1986). La vaccination humaine contre les brucelloses. *Bulletin de l'Academie Nationale de Medicine.* **170**:289-292.
- Roux J.(1989). Brucella vaccines in human. In: Monir Madkour M (ed):Brucellosis. *University Press, Cambridge.* 244-249.
- Sabbaghian H. (1975). Fresh white cheese as a source of brucella infection. *Public Health (London)*. **89**:165-169.
- Sabbaghian H. and Nadim A. (1975). Epidemiology of human brucellosis in Isfahan, Iran. *Journal of Hygiene (Cambridge)*. **73**: 221-228.
- Schurig G.G., Jones L.M., Speth S.L. and Berman D.T. (1978). Antibody response to antigens distinct from smooth lipopolysaccharide complex in brucella infection. *Infect. Immun.* **21**:994-1002.
- Selvin S., Schulman J., Merrill D.W. (1992). Distance and risk measures for the analysis of spatial data: a study of childhood cancers. *Soc Sci Med.* **34**:769-77.
- Serre A., Bascoul S., Vendrell J.P., Cannat A. (1987). Human immune response to *Brucella* infection. In: Plommet M. (ed). 2nd Forum in Microbiology. "Brucella and brucellosis: an update". *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiology.* **138(1)**: 67-145.
- Shasha B., Lang R., Rubinstein E. (1994), Efficacy of combinations of doxycycline and rifampicin in the therapy of experimental mouse brucellosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **33(3)**:545-51.
- Shepherd A.A., Simpson B.H. and Davidson R.M. (1979). An economic evaluation of the New Zealand bovine brucellosis eradication scheme. *Proceedings of Second International Symposium. Vet Epid Econ.* 443-447.
- Sippel J.E., El Masry A.N. and Farid Z. (1982). Diagnosis of human brucellosis with ELISA. *Lancet.* **ii**:19-21.
- Snow J. (1965). On the mode of communication of cholera. Reproduced in "Snow on cholera". New York Hafner.
- Solera J., Rodriguez-Zapata M., Geijo P., Largo J., Paulino J., Saez L., Martinez-Alfaro E., Sanchez L., Sepulveda MA., Ruiz-Ribo MD. (1995), Doxycycline-rifampin versus doxycycline-streptomycin in treatment of human brucellosis due to *Brucella melitensis*. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy.* **39(9)**:2061-7.
- Solera J., Espinosa A., Geijo P., Martinez-Alfaro E., Saez L., Sepulveda MA., Ruiz-Ribo MD. (1996), Treatment of human brucellosis with netilmicin and doxycycline. *Clinical Infectious Diseases.* **22(3)**:441-5.
- Spink W., Hall J., Finstad J., Mallet E. (1962). Immunization with viable brucella organisms. *Bull Wld Hlth Org.* **26**:409-419.
- Staszkiwicz J., Lewis C.M., Colville J., Zervos M., Band J. (1991) Outbreak of *Brucella melitensis* among microbiology laboratory workers in a community hospital. *J Clin Microb.* **29(2)**:287-90.

Στεφάνου Λ., Παπαδοπούλου Κ.Α., Ναλμπάντη Χ., Γιαντζή Δ. (1978) Συγκριτική μελέτη επί της βρουκελλώσεως προβάτων μη εμβολιασθέντων και εμβολιασθέντων δια εμβολίου REV1 Αμνάδου. Δελτίο Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας. Τεύχος: **29**.

Stockwell J.R., and Sorensen J.W., et al. (1993) The U.S.EPA Geographic Information System for mapping environmental releases of Toxic Chemical Release Inventory (TRI) chemicals. *Risk Anal.* **13**:155-164.

Stoener H.G. and Lackman D.B. (1957). *Am J Vet. Res.* **18**:947 (Quoted by M. E. Meyer, 1974) Vella E. E. (1983) Brucellosis (the Corps Disease). *J R Army Med Corps.* **129**:97-100.

Sulitzeanu D. (1965). Mechanisms of immunity against *Brucella*. *Nature (London)*. **205**:1086-1088.

Sumarokov A.A., Karinskaya G.A., Dranovskaya E.A. et al (1984). Comparative study of the safety reactogenicity and antigenic potency of chemical and live brucella vaccines under the conditions of a controlled epidemiological trial. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* **2**:58-63.

Syrjamaki C., Migliazzo A., Yarbrough J. and Meyer L.E. (1984). *Brucella abortus* endocarditis following ingestion of cow's blood. *Nebraska Med J.* **69**:141-142.

Σωσσίδου Ε., Παπαδόπουλος Ο., Κάτος Α., Μπουρτζή- Χατζοπούλου Ε., Σαρρής Κ., Γιαντζής Δ. Στατιστική περιγραφή των ποιμνίων μικρών μηρυκαστικών της Ελλάδας και των παραγόντων που προσδιορίζουν τον επιπολασμό της βρουκέλλωσης. Από πανελλήνια έρευνα του Υπουργείου Γεωργίας το 1984.

Thornes B.D., Early A.M., Hogan B.L. and Reen P. (1982). Chronic brucellosis: clinical response to reduction of suppressor T lymphocytes by cyclophosphamide/ prednisone. *Irish Med J.* **75**: 423-424.

Trujillo I.Z., Zavala A.N. et al. (1994). Brucellosis. *Infectious Disease Clinics of North America.* **8(1)**:225-41.

Tumbay Emel, Hilmi Suleyha, Ang Ozdem (1991), *Brucella* and Brucellosis in man and animals. Proceeding of FEMS Symposium.

Vazquez Villegas J., Gonzalez de Quevedo Herranz M. et al. (1994). Brucellosis in the province of Almeria: a retrospective study of 1988-1990. *Atencion Primaria.* **13(1)**:31-4.

Verger J.M., Grimont F., Grimont P.A.D. and Grayon M. (1985). *Brucella*; a monospecific genus as shown by deoxyribonucleic acid hybridization. *Int. J Syst Bacteriol.* **35**:292-295.

Verger J.M. and Plommet M. (1985). *Brucella melitensis*. Martinus Nijhoff Publishers.

Versgukiva P.A. and Aslanyan R.G. (1980). The epidemiologic importance of natural foci of brucellosis. *Vestn Akad Med Nauk.* **10**:67-71.

Volfson A.G., Vdonenko S.I., and Afanasyeva V.N. (1982). Outbreak of acute brucellosis in the reindeer breeding teams at a state farm in Chukotsk Autonomous Region. *USSR Zh Mikrobiol Epidemiol Immunol.* **7**:91-92.

Walter S.D. (1992). The analysis of regional patterns in health data. The power to detect environmental effects. *Am J Epid.* **136**:742-59.

Walter S.D. (1993). Visual and statistical assessment of spatial clustering in mapped data. *Stat Med.* **12**:1275-91.

Wartenber D., Greenberg M. and Lathrop R. (1993). Identification and characterization of populations living near high-voltage transmission lines: a pilot study. *Environ Health Perspect.* **101**:626-632.

- White R.G. (1978). Immunoglobulin profile of the chronic antibody response: discussion in relation to brucellosis infections. *Postgrad Med J* . **54**:595-602.
- Wilkinson P.C. (1966). Immunoglobulin pattern of antibodies against Brucella in man and animals. *J Immunol* . **96**:457- 463.
- Williams E. (1982). Brucellosis. *Practitioner*. **226**:1507-1517.
- Wise R.I. (1980). Brucellosis in the United States. Past, present and future. *JAMA* . **244**:2318-2322.
- Wood E.E. (1955). Brucellosis as a hazard of blood transfusion. *Br Med J* . **1**:27-28.
- Wright A.E. and Semple D. (1897a). On the employment of dead bacteria in the serum diagnosis of typhoid and Malta Fever. *Br Med J* . **1**:1214.
- Wright A.E. and Smith F. (1897). On the application of the serum test to the differential diagnosis of typhoid and Malta Fever. *Lancet* . **1**:656.
- Young E.J. (1983). Human brucellosis. *Reviews of Infectious Diseases*. **5**:821-842.
- Young E.J., Borchert M., Kreutzer F.L. and Musher D. M. (1985). Phagocytosis and killing of brucella by human polymorphonuclear leukocytes. *J Infect Dis*. **151**:682-690.
- Young E.J. (1988). Brucellosis: a model zoonosis in developing countries. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*. **3**:17-20.
- Young E.J. and Corbel M.J. (1989). Brucellosis: Clinical and Laboratory Aspects. Florida: CRC press, inc. 46.
- Young E.J. (1995). An overview of human brucellosis. *Clinical Infectious Diseases*. **21(2)**:283-9.
- Yurdakul T., Sert U., Acar A., Karalezli G., Akcetin Z. (1995). Epididymo-orchitis as a complication of brucellosis. *Urologia Internationalis*. **55(3)**:141-2.
- Zammit T. (1905). A preliminary note on the examination of the blood of goats suffering from Mediterranean Fever. In *Reports of the Royal Society of London, Mediterranean Fever Commission*, Part III. Harrison and Sons, London, P.83.
- Zhan Y., Cheers C. (1995). Endogenous interleukin-12 is involved in resistance to Brucella abortus infection. *Infection & Immunity*. **63(4)**:1387-90.
- Zhan Y., Liu Z., Cheers C. (1996). Tumor necrosis factor alpha and interleukin-12 contribute to resistance to the intracellular bacterium Brucella abortus by different mechanisms. *Infection & Immunity*. **64(7)**:2782-6.
- Zukowski S.H., Wilkerson G.W. and Malone J.B. (1993). Fasciolosis in cattle in Louisiana.II. Development of a system to use soil maps in a geographic information system to estimate disease risk on Louisiana coastal marsh rangeland. *Vet Parasitol* . **47**:51-65.
- Zygmunt MS., Cloeckert A., Dubray G.(1994), Brucella melitensis cell envelope protein and lipopolysaccharide epitopes involved in humoral immune responses of naturally and experimentally infected sheep. *Journal of Clinical Microbiology*. **32(10)**:2514-22.

**ΤΕΛΟΣ
ΚΑΙ
ΤΩ ΘΕΩ ΔΟΞΑ**