ΑΝΟΙΚΤΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ

ΣΧΟΛΗ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ

ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΟΙΚΗΣΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΔΙΟΙΚΗΣΗ ΜΟΝΑΔΩΝ ΥΓΕΙΑΣ»

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΠΙΠΕΔΟΥ ΜΑΣΤΕΡ

Η σημαντικότητα και τα οφέλη της εισαγωγής του Μοριακού Ελέγχου στην προαγωγή της Δημόσιας Υγείας στις ευπαθείς ομάδες που εξυπηρετούν οι Αιμοδοσίες της Μακεδονίας

Καραπιδάκη Ειρήνη

Επιβλέπων Καθηγήτρια

Φαμέλη Αικατερίνη

Ιούνιος, 2014

Ανοικτό Πανεπιστήμιο Κύπρου

Σχολή Οικονομικών Επιστημών και Διοίκησης

Η σημαντικότητα και τα οφέλη της εισαγωγής του Μοριακού Ελέγχου στην προαγωγή της Δημόσιας Υγείας στις ευπαθείς ομάδες που εξυπηρετούν οι Αιμοδοσίες της Μακεδονίας

Καραπιδακή Ειρήνη

Επιβλέπων Καθηγήτρια

Φαμέλη Αικατερίνη

Αφιερωμένο στις αγάπες της ζωής μου,
στο σύζυγό μου Σίμο
και στην κόρη μας Ευαγγελία

Ιούνιος, 2014

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Ευχαριστίες …… …… **9**

Ελληνική περίληψη …… **11**

Αγγλική περίληψη …… **13**

Πίνακες …… **15**

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα Καθηγήτρια του Ανοιχτού Πανεπιστημίου Κύπρου κα. Αικατερίνη Φαμέλη για τη βοήθεια και τη στήριξη που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Επίσης, ευχαριστίες απευθύνω στη Διευθύντρια του Κέντρου Αίματος «ΑΧΕΠΑ» κα.Χασαποπούλου Ελένη για την παραχώρηση των αποτελεσμάτων του Κέντρου Μοριακού Ελέγχου «ΑΧΕΠΑ» και την γιατρό Επιμελήτρια Α', κα.Μπακαλούδη Βασιλική για τη βοήθειά της στη διπλωματική μου εργασία.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υπεύθυνο του Κέντρου Μοριακού Ελέγχου «ΑΧΕΠΑ» τον κ. Δημοσθένη Μιχελάκη για τη βοήθειά του στη συλλογή στοιχείων καθώς και ολόκληρου του προσωπικού του Κέντρου Μοριακού Ελέγχου για την υποστήριξή τους και τη βοήθειά τους όλα αυτά τα χρόνια που συνεργαζόμαστε.

Δε θα μπορούσα να παραλήψω τον Επίκουρο Καθηγητή κ.Παυλάκη Ανδρέα και το προσωπικό του Ανοιχτού Πανεπιστημίου Κύπρου για τη συνέπειά του και τη βοήθειά του καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας αυτής.

Τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου θέλω να δώσω στον άντρα μου Σίμο Ζραφκόπουλο, για την αμέριστη αγάπη και ενθάρρυνση καθόλη τη διάρκεια έως και την ολοκλήρωση του μεταπτυχιακού καθώς και στους γονείς μου Δέσποινα και Νίκο για την αμέριστη υποστήριξή τους (πνευματική και υλική) όλα τα χρόνια της ζωής μου. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κόρη μου Ευαγγελία για τη χαρά που έφερε στη ζωή μας καθώς και να της απολογηθώ για τις ώρες που «έκλεψα» από το χρόνο της για την ολοκλήρωση του μεταπτυχιακού.

Καραπιδάκη Ειρήνη

Ελληνική Περίληψη

Εισαγωγή: Στην Ελληνική Αιμοδοσία μέχρι το 2008, στο μεγαλύτερο μέρος της Ελληνικής επικράτειας, ο έλεγχος των φιαλών αίματος πραγματοποιούνταν αποκλειστικά με τον ορολογικό έλεγχο. Η εισαγωγή του μοριακού ελέγχου στην Ελληνική Αιμοδοσία αποτέλεσε ορόσημο στην διάθεση ασφαλούς αίματος.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανάδειξη της σημαντικότητας της εφαρμογής του μοριακού ελέγχου στις αιμοδοσίες της χώρας χρησιμοποιώντας ενδεικτικά το Κέντρο Μοριακού Ελέγχου Αίματος του Π.Γ.Ν.Θ. «ΑΧΕΠΑ»

Δείγμα και μέθοδος: Στατιστικά στοιχεία συλλέχθησαν από το σύνολο των εξεταζόμενων δειγμάτων των Υπηρεσιών Αιμοδοσίας που καλύπτει το Κέντρο Μοριακού Ελέγχου του Π.Γ.Ν.Θ. «ΑΧΕΠΑ». Καταγράφηκαν τα δεδομένα έξι ετών (2008-2013) από τα αποτελέσματα των δειγμάτων που ελέγχθηκαν με μοριακές και ορολογικές μεθόδους για ιούς HIV (Ιός ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας), HCV (Ιός Ηπατίτιδας C), HBV (Ιός Ηπατίτιδας B), WNV (Ιός Δυτικού Νείλου). Κατηγοροποιήθηκαν και ταυτόχρονα επιτεύχθηκε και επιδημιολογική ανάλυση αυτών

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματα που καταγράφησαν αφορούσαν σε: 3 περιπτώσεις σε περίοδο παραθύρου για τον ιό HIV, 5 περιπτώσεις σε περίοδο παραθύρου για τον ιό HCV, 3 περιπτώσεις σε περίοδο παραθύρου για τον ιό HBV και 68 επιβεβαιωμένες περιπτώσεις λανθάνουσας Ηπατίτιδας B. Οι παραπάνω περιπτώσεις θεωρούνται δυνητικά μολυσματικές καθώς επαναλαμβανομένως αναγνωρίστηκε η ύπαρξη του ιού σε αυτές σε πολλαπλές επαναλήψεις. Οι συνολικά 76 περιπτώσεις δυνητικώς θα μπορούσαν να μολύνουν πάνω από 228 ασθενείς που θα έκαναν χρήση των παραγώγων που θα προέκυπταν από τις παραπάνω μονάδες αίματος.

Συμπεράσματα: Το οικονομικό κόστος της τεχνικής του μοριακού ελέγχου είναι αρκετά μεγάλο, προσφέρει όμως σημαντικά στην αύξηση της ασφάλειας των μονάδων αίματος που χρησιμοποιούνται σε όλες τις ομάδες του πληθυσμού που έχουν ανάγκη μετάγγισης, ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι κοινωνικές, ψυχικές και οικονομικές συνέπειες. Εξάλλου με τους πρόσφατους χειρισμούς εκ μέρους της πολιτείας επιτεύχθηκε σημαντική μείωση του κόστους. Επίσης με την εξέλιξη της επιστήμης, νέες τεχνικές αναπτύσσονται για την αντιμετώπιση των νέων λοιμογόνων παραγόντων που αναδύονται καθημερινώς με απότερο σκοπό ο κάθε ασθενής να απολαμβάνει την καλύτερη δυνατή ιατρική φροντίδα και κάλυψη.

Λέξεις ευρετηριασμού: αιμοδοσία, μοριακός έλεγχος, περίοδος «παραθύρου», προαγωγή υγείας, HIV (Human Immunodeficiency Virus), HCV (Hepatitis C Virus), HBV (Hepatitis B Virus), WNV (West Nile Virus)

Αγγλική Περίληψη

Introduction: Since 2008, the Greek Blood Banks used only the serology method for blood bags screening. The introduction of molecular methods in the Greek Blood Banks increases the level of safety in the transfusions.

Aim: The aim of this project is to highlight the importance of introducing the molecular method in the Greek Blood Banks using as example the Molecular Blood Center of University Hospital of Thessaloniki " AHEPA".

Samples and Methods: Statistical data were collected from all the supporting Blood Banks of the Molecular Blood Center of "AHEPA". The data was classified in categories and followed an epidemiological analysis. The sample consisted of data recorded from 2008 through 2013, including recording on positive samples from the viruses HIV (Human Immunodeficiency Virus), HCV (Hepatitis C), HBV (hepatitis B virus), WNV (West Nile virus) were recording from the screening by molecular and serological techniques.

Results: Three cases were recorded in window period for HIV virus, five cases in window period for HCV virus, three cases in window period for HBV virus and sixty eight confirmed cases of occult Hepatitis B. From all these seventy six cases potentially more than two hundrent and twenty eight patients could be infected.

Conclusions: The economical cost, arising from the use of a very sensitive method such as molecular technique, is significantly expensive. However, the cost reduction has been succeeded due to the economical crisis changes. Moreover, the increase of blood safety has achieved because of the updated molecular techniques. The social, phychological and economical problems have been minimized. Nowadays, new techniques are developed to face up the new emerging risks from new infectious diseases. The main purpose of all governments should be to support all patients by providing them with the best possible medical care.

Key Words: blood donation, molecular blood screening, window period, health promotion, HIV (Human Immunodeficiency Virus), HCV (Hepatitis C Virus), HBV (Hepatitis B Virus), WNV (West Nile Virus)

Περιεχόμενα

Ελληνική Περίληψη 11

Αγγλική Περίληψη 13

Περιεχόμενα ..... **Error! Bookmark not defined.**

Εισαγωγή 17

Κεφάλαιο Πρώτο: Λειτουργία τμήματος Αιμοδοσίας 19

1.1 Όρος Αιμοδοσία 21

1.2 Έργο Αιμοδοσίας 21

1.3 Ορισμός Κέντρων Αίματος 22

1.4 Υποχρεωτικές εξετάσεις στο προς μετάγγιση αίμα 23

1.5 Λόγος αυστηρών προτύπων των εξετάσεων εξαιτίας ιδιαιτερότητας ληπτών 24

1.6 Συμβάντα που οδήγησαν στην εισαγωγή του Μοριακού Ελέγχου στην Ελληνική Αιμοδοσία 25

Κεφάλαιο Δεύτερο: Μέθοδοι ελέγχου που χρησιμοποιούνται στην Ελληνική Αιμοδοσία για τον έλεγχο των ιών HIV, HCV, HBV 27

2.1 Εισαγωγή 29

2.2 Ορολογικός Έλεγχος 29

2.3 Μοριακός Έλεγχος 32

2.4 Διεθνής Εμπειρία 34

Κεφάλαιο Τρίτο: Μέθοδος Μοριακού Ελέγχου 37

3.1 Ιοί προς εξέταση 39

3.2 Σημαντικότητα Μοριακού Ελέγχου 45

3.3 Τεχνικές που χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα 49

Κεφάλαιο Τέταρτο: Λειτουργία ΚΜΕ ΑΧΕΠΑ 63

Κεφάλαιο Πέμπτο: Αποτελέσματα..... 67

5.1 Θετικά δείγματα σε περίοδο παραθύρου για τον ιό HIV 69

5.2 Θετικά δείγματα σε περίοδο παραθύρου για τον ιό HCV 73

5.3 Θετικά δείγματα σε περίοδο παραθύρου για τον ιό HBV και σε περιπτώσεις λανθάνουσας Ηπατίτιδας Β 77

5.4 Θετικά δείγματα σε περίοδο παραθύρου για τον ιό του Δυτικού Νείλου 82

Κεφάλαιο Έκτο: Συζήτηση 87

6.1 Ανάλυση των θετικών δειγμάτων ως προς την προαγωγή της Δημόσιας Υγείας.... 89

6.2 Οι επιπτώσεις της οικονομικής κρίσης στην καλύτερη δυνατή λειτουργία της Ελληνικής Αιμοδοσίας και της μεθόδου του Μοριακού Ελέγχου 94

6.3 Επόμενο βήμα της Ελλάδας για την εξασφάλιση μεγαλύτερης ασφάλειας στους ασθενείς 97

Κεφάλαιο Έβδομο: Συμπεράσματα..... 103

Βιβλιογραφία.....107

Εισαγωγή

Με την εξέλιξη της επιστήμης, έχουν αυξηθεί οι απαιτήσεις των ατόμων ως προς την ιατροφαρμακευτική περίθαλψη που παρέχεται από το Εθνικό Σύστημα Υγείας (Ε.Σ.Υ.).

Ειδικότερα, στον τομέα της Αιμοδοσίας μέχρι το 2006 το αίμα που συλλεγόταν από τους εθελοντές αιμοδότες και από τους συγγενείς ατόμων που είχαν ανάγκη για μετάγγιση, εξεταζόταν μόνο με ορολογικές τεχνικές ενζυμο-σύνδεσης ανοσοαπορρόφησης (Elisa). Οι μονάδες αίματος που είχαν αρνητικό έλεγχο κρίνονταν ως κατάλληλες και τα παράγωγά τους (συμπυκνωμένα ερυθρά, πλάσμα και αιμοπετάλια) μπορούσαν να μεταγγιστούν σε άτομα που το είχαν ανάγκη: ασθενείς που θα υποβληθούν σε χειρουργικές επεμβάσεις, ασθενείς με κακοήθειες και αναιμία και πολυμεταγγιζόμενοι ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες ή μεσογειακή αναιμία ή ακόμη και σε ασθενείς με ανοσοκαταστολή όπως ασθενείς υπό χημειοθεραπεία ή νεογνά.

Παρά τον έλεγχο για μεταδιδόμενα με το αίμα νοσήματα και το λεπτομερές ιστορικό που λαμβάνεται από το εξειδικευμένο προσωπικό του Τμήματος Αιμοδοσίας, έχουν καταγραφεί περιπτώσεις ασθενών που μολύνθηκαν από τη μετάγγιση. Το γεγονός αυτό δεν οφείλεται σε σφάλμα της μεθόδου ούτε σε σφάλμα του Τμήματος Αιμοδοσίας. Κάθε μέθοδος που χρησιμοποιείται παγκοσμίως έχει ένα όριο ευαισθησίας πέρα από το οποίο αδυνατεί να ανιχνεύσει τον ιό ή το βακτήριο ή γενικά το μολυσματικό παράγοντα. Με την εξέλιξη της επιστήμης έχουν αναπτυχθεί τεχνικές, οι οποίες αυξάνουν το όριο ευαισθησίας με αποτέλεσμα να μειώνονται σημαντικά οι πιθανότητες μετάγγισης αίματος που φέρει μολυσματικούς παράγοντες.

Ο Μοριακός Έλεγχος του Αίματος θεωρείται μέθοδος τελευταίας τεχνολογίας καθώς έχει την ικανότητα ανίχνευσης απευθείας του μολυσματικού παράγοντα σε δείγμα αίματος, ενώ η ευαισθησία της μεθόδου είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή των τεχνικών που χρησιμοποιούνται στις αιμοδοσίες μέχρι στιγμής.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η δημιουργία ενός κατατοπιστικού κειμένου όπου να γίνεται εκτενής ανάλυση του Μοριακού Ελέγχου που χρησιμοποιείται αυτή τη στιγμή στην Ελλάδα, η σκοπιμότητα και η σημαντικότητα εισαγωγής της, συγκρίσεις των μεθόδων που χρησιμοποιούνται στην αιμοδοσία και επιπλέον αναφορές για τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται στο εξωτερικό. Σημαντικές αναφορές θα γίνουν στα αποτελέσματα του Μοριακού Ελέγχου και πως αυτά έχουν συμβάλει στη διαφύλαξη της δημόσιας υγείας. Τέλος, θα παρατεθεί συζήτηση σχετικά με την δυσχερή οικονομική κατάσταση στην Ελλάδα και πως αυτό έχει επηρεάσει την λειτουργία της Αιμοδοσίας και του Μοριακού Ελέγχου.

Η πρωτοτυπία της παρούσας εργασίας είναι η απόδειξη της σημαντικότητας της προσφοράς της εισαγωγής του Μοριακού Ελέγχου στη Δημόσια Υγεία μέσω της παρουσίασης των αποτελεσμάτων από την εφαρμογή του Μοριακού Ελέγχου στο Κ.Μ.Ε. ΑΧΕΠΑ στη Βόρεια Ελλάδα.

Οι επιπτώσεις στο άτομο από μολυσματική μετάγγιση του Αίματος είναι δυσάρεστες και επιπλέον τέτοια περιστατικά προκαλούν τη δημόσια κατακραυγή, μειώνουν το αίσθημα εμπιστοσύνης προς το σύστημα υγείας και αυξάνουν σημαντικά το κόστος της δημόσιας υγείας

Κεφάλαιο Πρώτο

Λειτουργία τμήματος Αιμοδοσίας

1.1 Όρος Αιμοδοσία

Η χορήγηση αίματος με μετάγγιση και γενικά η οργάνωση που σχετίζεται με τη λήψη, επεξεργασία, συντήρηση και διάθεση του αίματος και των παραγώγων του αναφέρεται ως «ΑΙΜΟΔΟΣΙΑ». (Φυλλάδιο αιμοδοσίας Υπ.Υγείας, 1998. ΙΑΣΠΙΣ Ιδεώδες Ασκληπιακό Πάρκο Ιατρικής Σχολής 2011). Η αιμοδοσία, ως ιδιαίτερος κλάδος της αιματολογίας, εμφανίζει ιδιαίτερη ανάπτυξη τα τελευταία 25 χρόνια. Για την διεκπεραίωση των αναγκών αυτού του ιδιαίτερα απαιτητικού τομέα, που ονομάζεται Αιμοδοσία, απαιτείται εξειδικευμένο επιστημονικό προσωπικό όπως αιματολόγοι, νοσηλευτές και τεχνικό προσωπικό (Ζερβού & Οικονομάκης 2009).

1.2 Έργο Αιμοδοσίας

Το έργο της αιμοδοσίας είναι πολύπλευρο. Όλες οι αιμοδοσίες της χώρας έχουν τους ίδιους στόχους και παρουσιάζονται παρακάτω:

1. Προσέλκυση Εθελοντών Αιμοδοτών
2. Επιλογή Εθελοντών Αιμοδοτών με βάση τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες
3. Συλλογή του αίματος (σε ορισμένες μονάδες γίνεται και αποκλειστική συλλογή αιμοπεταλίων, όπως και συλλογή και επεξεργασία αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, πολυμορφοπύρηνων κτλ)
4. Τρόπος παρασκευής των παραγώγων αίματος και πλάσματος
5. Τήρηση των αρχών συντήρησης του αίματος και παραγώγων τους
6. Διενέργεια ορολογικού ελέγχου (HBV, HCV, HTLV RPR, HIV)
7. Διενέργεια μοριακού ελέγχου του αίματος (HBV, HCV, HIV, WNV)
8. Προμεταγγισιακός ανοσοαιματολογικός έλεγχος ασθενών
9. Επεξεργασία, συντήρηση, και διακίνησης αίματος και παραγώγων αυτού
10. Πρακτική μετάγγισης (τρόπο αίτησης αίματος προς μετάγγισης, επιλογής και απαραίτητες εξετάσεις που πρέπει να προηγηθούν της μετάγγισης)

11. Τήρηση των δελτίων καταγραφής των διαδικασιών με σκοπό τον πολλαπλό έλεγχο που εξασφαλίζει την αποτροπή συμβάντων (Ζερβού & Οικονομάκης 2007)

1.3 Ορισμός Κέντρων Αίματος

Με την αριθμ. Υ4γ/οικ.121672/08.09.2009 (Φ.Ε.Κ. 2001 Β') Υπουργική απόφαση, ορίστηκαν τα Κέντρα Αίματος και οι Νοσοκομειακές Υπηρεσίες Αιμοδοσίας της χώρας. Στο ίδιο Φ.Ε.Κ. αναγράφονται οι αρμοδιότητές τους καθώς και οι Νοσοκομειακές Υπηρεσίες Αιμοδοσίας που υπάγονται σε κάθε Κέντρο Αίματος. Ο ορισμός των εννέα αυτών Κέντρων Αίματος είχε ως σκοπό τη συγκεντροποίηση των εξετάσεων τα οποία μέχρι πρότινος λάμβαναν χώρα σε κάθε Νοσοκομειακή Υπηρεσία Αιμοδοσίας ξεχωριστά, με απώτερο σκοπό τη μείωση του κόστους (Ε.ΚΕ.Α. (2012Η συγκεντροποίηση ξεκίνησε με την δημιουργία των εννέα Κέντρων Αίματος κυρίως για την διεκπεραίωση των εξετάσεων του Μοριακού Ελέγχου όπως θα αναλυθεί εκτενώς παρακάτω. Σε κάθε Κέντρο Αίματος λειτουργούν τα παρακάτω εργαστήρια με σκοπό την εκτέλεση υποχρεωτικών εξετάσεων για το αίμα που λαμβάνεται και προορίζεται προς μετάγγιση.

Σε κάθε Κέντρο Αίματος, και ιδιαίτερα στο Κέντρο Αίματος «ΑΧΕΠΑ», όπου στηρίζεται η παρούσα μελέτη λειτουργούν τα παρακάτω εργαστήρια (Π.Γ.Ν. «ΑΧΕΠΑ», Ιστοσελίδα Τμήμα Αιμοδοσίας):

- Εργαστήριο παραγώγων αίματος
- Εργαστήριο ομάδων αίματος και ανεύρεσης φαινοτύπου
- Εργαστήριο ιολογικού ελέγχου
- Εργαστήριο συμβατότητας και ανοσοαιματολογικού ελέγχου
- Εργαστήριο Μοριακού Ελέγχου

1.4 Υποχρεωτικές εξετάσεις στο προς μετάγγιση αίμα

Οι έλεγχοι που πραγματοποιούνται στο προς μετάγγιση αίμα έχουν σκοπό τη μείωση του κινδύνου μετάδοσης ασθενειών και την αποφυγή παρενεργειών από τη μετάγγιση που μπορεί να συσχετιστεί με ασυμβατότητα του αίματος του λήπτη και του δότη.

Στην Ελληνική Αιμοδοσία, για την αποφυγή μετάδοσης λοιμωδών νοσημάτων, οι προς μετάγγιση ασκοί ελέγχονται για το Τρεπόνημα που προκαλεί τη νόσο της Σύφιλης και για τους ιούς HIV (Human Immunodeficiency Virus), HCV (Hepatitis C Virus), HBV (Hepatitis B Virus) και HTLV (Human T Leukemia Virus) που προκαλούν την επίκτητη ανοσοανεπάρκεια (AIDS), Ηπατίτιδα C, Ηπατίτιδα B και λευχαιμία αντίστοιχα (Παυλοπούλου Ειρήνη – Ευθυμία, 2011). Τα τελευταία χρόνια, λόγω της επιδημίας του WNV (West Nile Virus, Ιού του Δυτικού Νείλου) πραγματοποιούνται, για ορισμένα χρονικά διαστήματα στη διάρκεια κάθε έτους, έλεγχοι σε μονάδες αίματος που λαμβάνονται από αιμοδότες που διαμένουν σε περιοχές υψηλού κινδύνου- περιοχές που εμφανίστηκαν κρούσματα λοίμωξης (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ., 2010).

Ειδικότερα, για τον ιό HIV, ανιχνεύεται το αντίσωμα κατά του ιού, anti-HIV και για τον ιό της Ηπατίτιδας C, ανιχνεύεται είτε το πυρηνικό αντιγόνο (HCV Ag) είτε το αντίσωμα κατά του ιού anti-HCV. Για την Ηπατίτιδα B ελέγχονται όλες οι μονάδες αίματος ως προς το Αυστραλιανό αντιγόνο (HbsAg), και σε συγκεκριμένες περιπτώσεις έλεγχοι και για άλλα αντιγόνα και αντισώματα του ιού (HbeAg, HbeAb, HbsAb, Anti-Hbc Total, Anti-Hbc IgM). Τέλος για τον ιό HTLV, οι φιάλες ελέγχονται ως προς την ύπαρξη αντισωμάτων για τον ιό (Anti-HTLV) (Παυλοπούλου Ειρήνη – Ευθυμία, 2011).

Ο έλεγχος έως το 2008 πραγματοποιούνταν στις περισσότερες αιμοδοσίες της χώρας χρησιμοποιώντας ορολογικές τεχνικές και ειδικότερα την τεχνική της Elisa.

Από το 2008 και μετά ο έλεγχος όλων των μονάδων της Ελληνικής επικράτειας πραγματοποιείται τόσο με τεχνικές ορολογικές όσο και με τη νέα τεχνική που ονομάζεται τεχνική Μοριακού Ελέγχου (NAT, Nucleic Acid Testing) με σκοπό την αύξηση της ασφάλειας του αίματος. Η νέα αυτή τεχνική ελέγχει τα δείγματα του αίματος για την ύπαρξη του γενετικού υλικού των ιών HIV, HCV και HBV. Ειδικότερα για τον WNV, η Μοριακή τεχνική είναι η μόνη μέθοδος που χρησιμοποιείται στα Κέντρα Αίματος για την ανίχνευσή του.

1.5 Λόγος αυστηρών προτύπων των εξετάσεων εξαιτίας ιδιαιτερότητας ληπτών

Τα άτομα που χρήζουν μετάγγισης είναι συνήθως άτομα με πολύ ιδιαίτερα χαρακτηριστικά. Κύριοι λήπτες του αίματος στην Ελλάδα είναι ασθενείς με μεσογειακή αναιμία που ανήκουν στα πολυμεταγγιζόμενα άτομα. Υπολογίζεται ότι σε κάθε θαλασσαιμικό άτομο, παρέχονται περίπου 25-30 μονάδες αίματος ετησίως (ΠΑ.Σ.ΠΑ.ΜΑ. 2014). Ασθενείς με συγγενείς ή επίκτητες ανοσοανεπάρκειες, ασθενείς που υποβάλλονται ή πρόκειται να υποβληθούν σε μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (ΜΑΚ) ή γενικά μεταμοσχευμένοι ασθενείς που βρίσκονται σε ανοσοκαταστολή χρειάζονται πολλές φορές κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους να υποβληθούν σε μετάγγιση παραγώγων αίματος.

Επίσης, ιδιαίτερα σημαντικό κομμάτι των μεταγγίσεων είναι αυτό που αναφέρεται σε έγκυες γυναίκες, σε ενδομήτριες μεταγγίσεις, σε πρόωρα νεογνά, νεογνά και παιδιατρικούς ασθενείς οπωσδήποτε μέχρι 1 έτους. Επιπλέον, ένας μεγάλος αριθμός μονάδων αίματος χρησιμοποιούνται σε ασθενείς που χειρουργούνται είτε βρίσκονται σε μονάδες Εντατικής Θεραπείας, σε ασθενείς που υποβάλλονται σε ακτινοθεραπεία ή χημειοθεραπεία, ασθενείς με θρομβοπενία, με δρεπανοκυτταρικά σύνδρομα κτλ. (Ελληνική Αιματολογική Εταιρεία, 2010).

Όπως γίνεται κατανοητό από τις παραπάνω κατηγορίες, τα άτομα που χρήζουν μετάγγισης ανήκουν σε ομάδες ατόμων με πολύ ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και ανάγκες και κρίνεται απαραίτητη η ύπαρξη αυστηρών προτύπων και ενδελεχής

έλεγχος του αίματος που τους χορηγείται, με σκοπό τη μεγιστοποίηση της ασφάλειας της μετάγγισης.

1.6 Συμβάντα που οδήγησαν στην εισαγωγή του Μοριακού Ελέγχου στην Ελληνική Αιμοδοσία

Ο Μοριακός Έλεγχος χρησιμοποιείται πολλά χρόνια στο εξωτερικό πριν την εισαγωγή του στην Ελληνική Αιμοδοσία. Το γεγονός που οδήγησε στην εισαγωγή του Μοριακού Ελέγχου στην Ελλάδα, συνέβη τον Μάρτιο του 2006 όταν μεταδόθηκε μέσω μετάγγισης ο ιός HIV σε μία ασθενή 17 ετών με μείζονα Θαλασσαιμία (λήψη συμπυκνωμένων ερυθρών) και σε έναν ασθενή 76 ετών μετά από μετάγγιση του πλάσματος του ιδίου αιμοδότη (Εφημερίδα Ριζοσπάστης, 2006). Επιπλέον, από την Ετήσια Έκθεση του ΚΕΕΛΠΝΟ σχετικά με τον ιό του Δυτικού Νείλου για το έτος 2012, αναφέρθηκε περίπτωση μετάδοσης του ιού μέσω μετάγγισης καθώς δεν είχαν ληφθεί τα απαραίτητα μέτρα ως προς τον έλεγχο του αίματος. Το άτομο, το οποίο μολύνθηκε, ήταν βαριά ανοσοκατεσταλμένος ασθενής με ιστορικό πολλαπλών μεταγγίσεων (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. 2012).

Επίσης, έχουν αναφερθεί στη διεθνή βιβλιογραφία περιπτώσεις μετάγγισης μολυσμένων μονάδων αίματος οι οποίες δεν είχαν υποβληθεί σε Μοριακό Έλεγχο και προκάλεσαν τη μετάδοση σοβαρών λοιμώξεων που απείλησαν τη ζωή του λήπτη. Ειδικότερα, σε μελέτη στη Κούβα (Ballester, Rivero, Villaescusa et al 2005) διαπιστώθηκε μετάδοση του ιού HCV μέσω μετάγγισης παρά τον ορολογικό έλεγχο των μονάδων αίματος, πιθανώς εξαιτίας του υψηλού επιπολασμού του. Άλλη έρευνα δείχνει ότι η χρήση ορολογικών μεθόδων για την ανίχνευση των ιών HCV, HBV, HIV δεν επαρκεί για την ελαχιστοποίηση της μετάδοσης μέσω μετάγγισης κυρίως των πολυμεταγγιζόμενων ατόμων (Omar, Salama, Adolf et al 2011). Σε μελέτη στο Πακιστάν διαπιστώθηκε ότι αν και χρησιμοποιούνται ορολογικές μέθοδοι ανίχνευσης των αντισωμάτων ή αντιγόνων των προαναφερθέντων ιών παρόλα αυτά παρατηρούνται περιστατικά μετάδοσης μέσω μετάγγισης της ηπατίτιδας C (Borhany, Shamsi, Boota et al 2011). Τέλος, παρόμοια περίπτωση μετάδοσης μέσω μετάγγισης του ιού της Ηπατίτιδας B παρουσιάζεται στην εργασία του Liu CJ στη Ταϊβάν (Liu, Lo, Kao et al 2006a).

Επιδημιολογικά δεδομένα από την Ελλάδα, δείχνουν ότι η χώρα μας για την Ηπατίτιδα Β χαρακτηρίζεται ως μέσης ενδημικότητας, που σημαίνει ότι σε ορισμένες περιοχές της χώρας το ποσοστό των ατόμων που νοσούν αγγίζει έως και το 8%. Ειδικότερα από στοιχεία που έχει ανακοινώσει το ΚΕΕΛΠΝΟ, υπολογίζεται ότι 300.000 άνθρωποι είναι φορείς της Ηπατίτιδας Β. Επιπλέον, από στοιχεία της ίδιας πηγής στο γενικό πληθυσμό ο επιπολασμός της Ηπατίτιδας C υπολογίζεται σε 1.9% δηλαδή περίπου 200.000 άτομα με γεωγραφική διακύμανση από 0,6% έως και 7,5%. Όσον αφορά τον ιό HIV έχουν δηλωθεί στην Ελλάδα περίπου 13.000 περιστατικά ατόμων που είναι φορείς του ιού και τα τελευταία χρόνια και ιδιαιτέρως το 2011 εμφανίστηκε ραγδαία αύξηση των κρουσμάτων του ιού και ιδιαιτέρως σε άτομα που ήταν χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών. Τέλος, τα τελευταία χρόνια, μετά την εμφάνιση του ιού του Δυτικού Νείλου το 2010, τα αυξανόμενα κρούσματα σε διάφορες περιοχές της χώρας, εντείνουν την ανάγκη διεξοδικού και ποιοτικού ελέγχου του αίματος με τεχνικές τελευταίας τεχνολογίας (Νικολοπούλου & Ζησούδη, 2012, Ενημερωτικό δελτίο, ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ.).

Τα παραπάνω στοιχεία δείχνουν ότι ο κίνδυνος μετάδοσης λοιμώξεων, επικίνδυνων για την υγεία του ατόμου, στη χώρα μας είναι υπαρκτός, γεγονός που αυξάνει την πιθανότητα μετάδοσης μολυσματικών παραγόντων μέσω μετάγγισης αίματος.

Κεφάλαιο Δεύτερο

Μέθοδοι ελέγχου που χρησιμοποιούνται στην Ελληνική Αιμοδοσία για τον έλεγχο των ιών HIV, HCV, HBV

2.1 Εισαγωγή

Η Ελληνική αιμοδοσία έχει εισάγει στο σύστημα ελέγχου της, δύο τελείως διαφορετικές τεχνικές, ως προς τα στοιχεία της ανίχνευσης, με σκοπό τη διακίνηση όσο του δυνατό ασφαλέστερου αίματος.

Η πρώτη τεχνική που εφαρμόζεται σε κάθε υπηρεσία αιμοδοσίας είναι αυτή του ορολογικού ελέγχου. Η τεχνική του ορολογικού ελέγχου ανιχνεύει είτε τα αντιγόνα του ιού είτε τα αντισώματα που παράγονται από το ανοσοποιητικό σύστημα του ατόμου – ξενιστή με σκοπό την καταπολέμηση του ιού. Γενικότερα, με τον ορολογικό έλεγχο ανιχνεύονται πρωτεΐνες (αντιγόνα είτε αντισώματα) μέσω τεχνικών Elisa (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). Η τεχνική που χρησιμοποιείται τα τελευταία χρόνια στην αιμοδοσία συγκαταλέγεται στην Elisa 3^{ης} γενιάς και είναι γνωστή ως χημειοφωταύγεια (CMIA) και θα αναλυθεί παρακάτω.

Η δεύτερη τεχνική που εφαρμόζεται είναι η τεχνική του μοριακού ελέγχου. Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται σε συνολικά 9 Κέντρα Μοριακού Ελέγχου (Κ.Μ.Ε.), που ανήκουν σε ισάριθμα Κέντρα Αίματος. Αυτή τη στιγμή τα Κ.Μ.Ε. από 9 που ήταν έως το τέλος του 2013 έχουν μειωθεί σε 4 για όλη την Ελλάδα. Χρησιμοποιούνται δύο μέθοδοι, η μέθοδος TMA (Transcription Mediated Amplification) και η PCR (Polymerase Chain Reaction). Και οι δύο αυτές μέθοδοι έχουν την ικανότητα ανίχνευσης και πολλαπλασιασμού ορισμένων περιοχών του γενετικού υλικού των προς εξέταση ιών. Ουσιαστικά, ανιχνεύουν απευθείας στο δείγμα τον ίδιο τον ιό μέσω του γενετικού του υλικού. Η ανάλυση των μεθόδων αυτών παρουσιάζεται παρακάτω.

2.2 Ορολογικός Έλεγχος

Η πρώτη εξέταση που εφαρμόστηκε υποχρεωτικά τη δεκαετία του 1950 ήταν για την ανίχνευση της σύφιλης και συνεχίζεται μέχρι σήμερα. Το αυστραλιανό αντιγόνο για την ανίχνευση της Ηπατίτιδας Β άρχισε να εφαρμόζεται από το 1971. Από το 1985, άρχισε ο έλεγχος για τον ιό HIV (AIDS) προσδιορίζοντας αντισώματα για τον

τύπο Ι ενώ από το 1992, εισήχθη η δοκιμασία για τον έλεγχο των αντισωμάτων και των δύο τύπων του HIV του τύπου Ι και ΙΙ.

Από το 1988, εισήχθη ο έλεγχος προσδιορισμού αντισωμάτων του ιού HTLV (Human Tumor Leukemia Virus) - Ι και από το 1997 επεκτάθηκε και για τον ιό HTLV – ΙΙ. Μία νέα εξέταση προστέθηκε το 1995, και αφορούσε στο αντιγόνο p24 για τον ιό HIV-I. Η προσθήκη πραγματοποιήθηκε σε συνδυασμό με τις εξετάσεις για τα αντισώματα των HIV – I/II. Σταδιακά όλοι οι παραπάνω έλεγχοι εξελίχθησαν με σκοπό την αύξηση της ευαισθησίας και της ειδικότητας των μεθόδων που χρησιμοποιούνταν (Ζερβού, 2011).

Από την έναρξη της χρήσης της Elisa στην Ελληνική Αιμοδοσία έχει υπάρξει τεράστια εξέλιξη στις μεθόδους που χρησιμοποιούνται. Η πρώτη μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση του ιού HBV ήταν η διπλή ανοσοδιάχυση. Ο χρόνος που απαιτούνταν για την έκδοση των αποτελεσμάτων ήταν περίπου 24 με 48 ώρες. Ακολούθησαν άλλες μέθοδοι που με το πέρασμα του χρόνου εξελίχθησαν ακόμη περισσότερο αυξάνοντας την ευαισθησία, την ειδικότητα και την αξιοπιστία σε όλα τα επίπεδα. Αξιόλογη είναι και η αναβάθμιση του εξοπλισμού. Αυτή τη στιγμή υπάρχει η δυνατότητα ανάλυσης μεγάλου αριθμού δειγμάτων, με υψηλή ασφάλεια και ακρίβεια, με επαναληψιμότητα και αξιοπιστία, με ηλεκτρονική μεταφορά δεδομένων, με επεξεργασία αποτελεσμάτων και εκτυπώσιμα αποτελέσματα (Χαϊκάλη Α.).

Για χρόνια, η συνηθέστερη χρησιμοποιούμενη βιοχημική μέθοδος ήταν αυτή της Elisa. Η αρχή της τεχνικής ήταν η επαφή του αντιγονικού παράγοντα με το ακινητοποιημένο δείγμα πάνω σε αδρανή επιφάνεια. Στη συνέχεια ένα δεύτερο αντίσωμα που αναγνωρίζει το ίδιο αντιγόνο σχηματίζει «σάντουιτς» και τέλος ένα τρίτο αντίσωμα το οποίο καταλύει την αντίδραση, η οποία είναι μετρήσιμη, δείχνει εάν το δείγμα είναι θετικό ή αρνητικό ως προς τον παράγοντα που εξετάζει. Το πλεονέκτημα είναι ότι έχει μεγάλη ευαισθησία αλλά μπορεί να έχει πολλά εσφαλμένα θετικά δείγματα λόγω της λανθασμένης αναγνώρισης άλλων μορίων από τα ίδια τα αντισώματα. (Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts, and Walter 2007).

Σήμερα το 2014, η πλειοψηφία των Υπηρεσιών Αιμοδοσίας και των Κέντρων Αίματος χρησιμοποιεί την τρίτης γενιάς Elisa γνωστή ως χημειοφωταύγεια (CMIA), Chemiluminescent microparticle Immuno Assay σε αυτόματα μηχανήματα. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό των ιών HBV, HCV, HIV και HTLV.

Η τεχνική CMIA είναι μια ανοσολογική μέθοδος με σκοπό την ανίχνευση αντιγόνων, αντισωμάτων κ.α. Η διαδικασία της τεχνικής ξεκινάει με τα μαγνητικά μικροσφαιρίδια που είναι επικαλλυμένα με ειδικά αντιγόνα ή αντισώματα (ανάλογα με τον παράγοντα - στόχο) τα οποία είναι υπεύθυνα για τον εντοπισμό και την προσκόλληση των παραγόντων-στόχων. Τα βήματα που ακολουθούν αφορούν τη διαδικασία δέσμευσης των παραγόντων με αντισώματα και τη δημιουργία «σάντουιτς» όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Το αντισώματα που χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό και την ολοκλήρωση της τεχνικής, είναι συνδεδεμένα με μόρια – ιχνηθέτες τα οποία κατά την ανίχνευση, που αποτελεί και το τελευταίο στάδιο της διαδικασίας, εκπέμπουν φως (στην περίπτωση αυτή είναι το ακριδίνιο). Επίσης χρησιμοποιούνται ειδικά διαλύματα με σκοπό την εκπομπή φωτός καθώς η απελευθέρωση της ενέργειας λαμβάνεται και μετράται από τους αυτόματους αναλυτές με μορφή φωτός (Learning Guide, 2008).

Μία ακόμη τεχνική η οποία αποτελεί την πιο πρόσφατη εξέλιξη στις ανοσολογικές μεθόδους είναι η ηλεκτροχημειοφωταύγεια (ECLIA, Electro Chemiluminescent Immuno Assay). Η βασική διαφορά από τη προηγούμενη μέθοδο είναι ότι συμμετέχουν δύο ηλεκτρικά ενεργές ουσίες το ρουθήνιο και η τριπροπυλαμίνη. Οι δύο αυτές ουσίες συμμετέχουν σε μια σειρά οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων που οδηγούν στην εκπομπή φωτονίων. Το εκπεμπόμενο φως ενεργοποιείται ηλεκτρικά με την εφαρμογή ηλεκτρικού δυναμικού και όχι χημικά (Roche – Diagnostic International 2013).

Για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων από τις ορολογικές μεθόδους για την ανίχνευση των ιών HIV και HCV χρησιμοποιούνται μέθοδοι ανοσοαποτύπωσης.

Η τεχνική Western Blot, είναι τεχνική ανοσοαποτύπωσης που χρησιμοποιείται επιβεβαιωτικά για τον ιό HIV. Στη περίπτωση αυτής της τεχνικής μεγάλη ποικιλία μονοκλωνικών και πολυκλωνικών αντισωμάτων αναγνωρίζουν εκλεκτικά την πρωτεΐνη η οποία στη συνέχεια χρωματίζεται μετά από αντίδραση με δεύτερο

αντίσωμα και εμφανίζεται ως διακριτή έγχρωμη ζώνη στο αδρανές φίλτρο ή σε φιλμ αυτοραδιογραφίας. Η οπτική αναγνώριση του μορίου δεν επιτρέπει λανθασμένη εκτίμηση γεγονός που αποτελεί και το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου. (Kurien & Scofield 2006).

Ευρέως διαδεδομένη μέθοδος για την επιβεβαίωση θετικού δείγματος για τον ιό HCV είναι η μέθοδος με το εμπορικό όνομα RIBA. Χρησιμοποιεί ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες και πεπτίδια υψηλής αντιγονικότητας με αποτέλεσμα να προσφέρει υψηλή ειδικότητα και να επιβεβαιώνει με υψηλή ακρίβεια τις περιπτώσεις των δειγμάτων που είναι όντως θετικά. (Kiely, Kay, Parker, Piscitelli. 2004˙ Π.Γ.Ν.Θ. «ΑΧΕΠΑ» Μικροβιολογικό Εργαστήριο).

2.3 Μοριακός Έλεγχος

Ο Μοριακός Έλεγχος του αίματος ξεκίνησε πιλοτικά να εισάγεται σε ορισμένες αιμοδοσίες της χώρας μετά το 2000. Ειδικότερα, η τεχνική που πρωτοχρησιμοποιήθηκε στον έλεγχο των μονάδων αίματος των εθελοντών αιμοδοτών στην Ελλάδα ήταν η NAT – TMA.

Η εγκατάσταση των πρώτων συστημάτων Μοριακού Ελέγχου του Μεταγγιζόμενου Αίματος NAT TMA πραγματοποιήθηκε το 2003 στο Π.Γ.Ν.Π 'Ρίο' και Γ.Ν.Α 'Λαϊκό' στο Γ.Ν.Α. 'Αττικόν'. Στα επόμενα τρία χρόνια εγκαταστάθηκε επιτυχώς και στα νοσοκομεία Π.Γ.Ν. Αλεξανδρούπολης, Γ.Ν.Π 'Αγ. Ανδρέας', Γ.Ν.Π.Α. 'Η Αγία Σοφία', Π.Γ.Ν. Ιωαννίνων, στο Υποστηρικτικό Κ.Μ.Ε. Ιατρική Σχολή Αθηνών. Το 2006 με την άμεση απόφαση του τότε Υπουργού Υγείας κ.Αβραμόπουλου, δημιουργήθηκε το Κέντρο Μοριακού Ελέγχου «ΑΧΕΠΑ» που είχε ως σκοπό τον έλεγχο των μονάδων αίματος σχεδόν ολόκληρης της Μακεδονίας. Ακολούθησε πανελλήνιος διαγωνισμός δημιουργίας και εξοπλισμού συνολικά 9 Κέντρων Μοριακού Ελέγχου (Κ.Μ.Ε.) Αίματος τα οποία θα ήταν ικανά να καλύψουν τον έλεγχο στο σύνολο των αιμοδοσιών της χώρας. Παράλληλα στήθηκε και πανελλήνιο δίκτυο μεταφοράς των δειγμάτων αίματος από τις Υπηρεσίες Αιμοδοσίας προς τα αντίστοιχα Κ.Μ.Ε. Ο διαγωνισμός ολοκληρώθηκε και μπήκε σε ισχύ τον Αύγουστο του 2008. Τα Κ.Μ.Ε. τα οποία ιδρύθηκαν και η δυναμικότητά τους ήταν:

- Γ.Ν.Π.Α. <<ΛΑΪΚΟ>> (~ 98500 μονάδες αίματος)
- Γ.Ν.Π.Α. <<Γ. ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ>> (~ 97000 μονάδες αίματος)
- Ε.ΚΕ.Α. (~ 97500 μονάδες αίματος)
- Π.Γ.Ν.Θ. <<ΑΧΕΠΑ>> (~ 113000 μονάδες αίματος)
- Γ.Ν. ΛΑΡΙΣΑΣ (~ 49500 μονάδες αίματος)
- Π.Γ.Ν. ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ (~ 24000 μονάδες αίματος)
- Γ.Ν. ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗΣ (~ 44000 μονάδες αίματος)
- Γ.Π.Γ.ΡΙΟ ΠΑΤΡΩΝ (~520000 μονάδες αίματος)
- Γ.Ν. ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ (~32000 μονάδες αίματος)

Οι εταιρίες οι οποίες κατέθεσαν για τον παραπάνω πανελλήνιο διαγωνισμό ήταν η εταιρία Roche Ελλάς η οποία χρησιμοποιεί και διαθέτει την τεχνική Μοριακού Ελέγχου NAT – PCR (Polymerase Chain Reaction) και η δεύτερη εταιρεία που έλαβε μέρος ήταν η εταιρία SafeBlood Bioanalytica A.E. η οποία προωθεί την τεχνική NAT – TMA (Transcription Mediated Amplification).

Τα Κ.Μ.Ε., σύμφωνα πάντα με τον διαγωνισμό ο οποίος είχε ολοκληρωθεί τον Αύγουστο του 2008, μοιράστηκαν, με την εταιρία Roche Ελλάς να αναλαμβάνει τη διαμόρφωση του χώρου, τον εξοπλισμό, τη παροχή αντιδραστηρίων και την υποστήριξη των Κ.Μ.Ε. «ΛΑΪΚΟ», «Γ. ΓΕΝΝΗΜΑΤΑΣ», «ΡΙΟ ΠΑΤΡΩΝ», και του «ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ». Η εταιρία SafeBlood Bioanalytica ανέλαβε τη διαμόρφωση του χώρου, τον εξοπλισμό, τη παροχή αντιδραστηρίων και την υποστήριξη των Κ.Μ.Ε. «Ε.ΚΕ.Α.», «ΑΧΕΠΑ», «ΛΑΡΙΣΑΣ», «ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ» και «ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΥΠΟΛΗΣ» (Εφημερίδα Πρώτο Θέμα, 2008).

Και οι δύο μέθοδοι χρησιμοποιούν την ανίχνευση του γενετικού υλικού ως κύριο τρόπο εύρεσης του μολυσματικού παράγοντα. Η βασική διαφορά των τεχνικών εντοπίζεται στον παράγοντα-στόχο που κάθε μέθοδος ανιχνεύει όπως και στα χαρακτηριστικά της κάθε τεχνικής που είναι η ευαισθησία, ειδικότητα και

επαναληψιμότητα αυτής. Σε παρακάτω κεφάλαιο πραγματοποιείται ανάλυση της κάθε τεχνικής.

2.4 Διεθνής Εμπειρία

Πριν 15 χρόνια, ορισμένες αιμοδοσίες ξεκίνησαν εθελοντικά τον έλεγχο του αίματος και των αιμοπεταλίων χρησιμοποιώντας την τεχνική NAT. Οι πρώτες ανακοινώσεις σχετικά με τη νέα αυτή τεχνική πραγματοποιήθηκαν το 1998/1999. Εξαιτίας των αποτελεσμάτων, δείγματα αρνητικά στον ορολογικό έλεγχο σημαίνονταν ως θετικά με τη νέα τεχνική, πολλές χώρες όρισαν τον έλεγχο αυτό ως υποχρεωτικό. Αρχικά, ο υποχρεωτικός έλεγχος έγινε για τον ιό της Ηπατίτιδας C, αργότερα επεκτάθηκε στον ιό HIV-1 και αυτή τη στιγμή είναι υποχρεωτικός και για τον ιό της Ηπατίτιδας B (Roth, Busch, Schuller et al 2012). Σε πολλές περιοχές πραγματοποιείται σε ορισμένες μόνο χρονικές περιόδους και έλεγχος για τον ιό του Δυτικού Νείλου.

Η Γερμανία ήταν από τις χώρες που πρωτοστάτησαν στην εισαγωγή του Μοριακού Ελέγχου στον έλεγχο των μονάδων αίματος. Ο έλεγχος έγινε υποχρεωτικός το 1999. Μεταξύ του 1999 και του 2004 παρατηρήθηκε αδράνεια από τις αιμοδοσίες ενώ το 2007-2008 παρατηρήθηκε γενική έξαρση για τον έλεγχο των δειγμάτων των αιμοδοτών με τη νέα αυτή τεχνική. Μέχρι το 2010, 33 χώρες ανέφεραν ότι είχαν εισάγει τον έλεγχο για τους μεταδιδόμενους με το αίμα ιούς με την τεχνική NAT ως υποχρεωτικό (Roth, Busch, Schuller et al 2012).

Αναλυτικότερα, στην Ευρώπη 13 χώρες χρησιμοποιούν την τεχνική NAT – PCR με τη χρήση αυτόματων μηχανημάτων και 11 χώρες χρησιμοποιούν την τεχνική NAT – TMA με τη χρήση ρομποτικού εξοπλισμού. Υπάρχουν βέβαια και τέσσερις χώρες που χρησιμοποιούν in house PCR. Στην Αφρική, την Ασία-Ειρηνικό και τη Βόρειο Αμερική εννιά χώρες χρησιμοποιούν την τεχνική NAT –TMA ενώ επτά χώρες τη τεχνική NAT – PCR. Συνολικά, παγκοσμίως 22 χώρες εκτελούν τον έλεγχο με την τεχνική NAT – TMA ενώ 18 με την τεχνική NAT – PCR και μόνο 4 χώρες χρησιμοποιούν In house PCR. Η επιλογή της τεχνικής που θα ακολουθήσει κάθε χώρα εξαρτάται από τον επιπολασμό των ιών και την ανάγκη που προκύπτει για

την αντιμετώπιση των μολυσματικών παραγόντων που μπορεί να μεταδοθούν μέσω της μετάγγισης (Roth, Busch, Schuller et al 2012).

Πλέον ο Μοριακός Έλεγχος χρησιμοποιείται σε Αιμοδοσίες χωρών της Ευρωπαϊκής Ένωσης καθώς και άλλων χωρών στον παγκόσμιο χάρτη για τον έλεγχο 'ρουτίνας' σε ασκούς Αιμοδοσίας. Παρακάτω εμφανίζεται ενδεικτικός πίνακας (Πίνακας 2.4.1) με τις χώρες που χρησιμοποιούν τη μέθοδο NAT για τον έλεγχο των αιμοδοτών τους.

Πίνακας 2.4.1:

Ενδεικτικές εγκαταστάσεις ανά την υφήλιο

Χώρες		
Βέλγιο(Roth et al 2012)	Γαλλία(Roth et al 2012)	Λιθουανία(Kalibatas et al 2008)
Δανία(Roth et al 2012)	Γερμανία(Roth et al 2012)	Πολωνία(Roth et al 2012)
Αίγυπτος(Roth et al 2012)	Ελλάδα(Roth et al 2012)	Πορτογαλία(Teixeira et al 2008)
Φιλανδία(Roth et al 2012)	Ιταλία(Velati et al 2008)	Ρωσία(Roth et al 2012)
Νότια Αφρική(Cable et al2013)	Ελβετία (Stolz et al 2010)	Χονγκ – Κονγκ(Tsoi et al 2012)
Ισπανία(Gonzalez et al 2010)	Ταϊλάνδη(Louisirirotchanakul et al 2011)	Ταϊβάν (Yang et al 2010)

Έχουν δημοσιευτεί πολλές ανακοινώσεις σχετικά με την ευαισθησία, την ειδικότητα και τις περιόδους «παραθύρου», δηλαδή το χρόνο που απαιτείται από τη στιγμή της μόλυνσης έως τη στιγμή της ανίχνευσης του ιού με τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται αυτή τη στιγμή στις αιμοδοσίες. Οι τεχνικές και οι αναλυτές που χρησιμοποιούνται έχουν βελτιωθεί με αποτέλεσμα να υπάρχει αυτοματισμός και να εκτελείται μεγάλος όγκος εξετάσεων σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα.

Αυτή η νέα τάση προς νέες μεθόδους πολύ πιο ευαίσθητες από τις ήδη υπάρχουσες, έχει οδηγήσει σε σημαντική αύξηση της ασφάλειας του αίματος και

έχει προσφέρει νέες γνώσεις σχετικά με τη δυναμική αναδιπλασιασμού και μολυσματικότητας του ιού σε οξείες και χρόνιες λοιμώξεις.

Κεφάλαιο Τρίτο

Μέθοδος Μοριακού Ελέγχου

3.1 Ιοί προς εξέταση

Η Ελληνική Αιμοδοσία αυτή τη στιγμή ελέγχει όλες τις μονάδες αίματος που πρόκειται να χορηγηθούν σε ασθενείς για την ύπαρξη ορισμένων μολυσματικών παραγόντων. Ειδικότερα ο Μοριακός έλεγχος ελέγχει τους ιούς HIV, HCV, HBV και σε ορισμένες περιόδους του χρόνου τον ιό WNV. Παρακάτω θα ακολουθήσει περιγραφή των προαναφερθέντων ιών.

3.1.1 Ιός HIV (Human Immunodeficiency Virus)

Ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV, Human Immunodeficiency Virus) είναι ένας RNA (ως RNA, αναφερόμαστε στο ριβονουκλεϊκό οξύ, δηλαδή γενετικό υλικό) ιός. Απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1983-1984 από ασθενείς με AIDS. Αποτελεί τον αιτιολογικό παράγοντα της επίκτητης ανοσιακής ανεπάρκειας (AIDS).

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, από την έναρξη της επιδημίας, περίπου 70 εκατομμύρια άνθρωποι έχουν μολυνθεί από τον ιό HIV και περίπου 35 εκατομμύρια άνθρωποι έχουν πεθάνει από AIDS. Παγκοσμίως, 34 εκατομμύρια [31.4–35.9 εκατομμύρια] άνθρωποι ζούσαν με τον ιό HIV μέχρι το τέλος του 2011. Το υπολογιζόμενο ποσοστό των ενηλίκων μεταξύ των ηλικιών 15-49 που ζουν με HIV είναι 0,8% αν και το ποσοστό αυτό διαφέρει μεταξύ των χωρών (WHO, 2012).

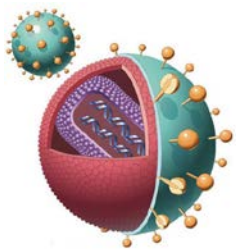
Ειδικότερα στην Ελλάδα, όπως έχει καταγραφεί από το ΚΕΕΛΠΝΟ, ο συνολικός αριθμός των HIV οροθετικών ατόμων (συμπεριλαμβανομένων των περιπτώσεων AIDS) που έχουν δηλωθεί από το 1984 μέχρι την 31η Δεκεμβρίου 2012 ανέρχεται σε 12.689 άτομα (Υπουργείο Υγείας. ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. 2012).

Ο ιός HIV δρα καταστρέφοντας κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, τα CD4+ T λεμφοκύτταρα, τα οποία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία του οργανισμού από λοιμώξεις και άλλα νοσήματα (Craveiro, Clerc, Sitbon, Taylor 2013).

Ως RNA ιός ταξινομείται στην οικογένεια των ρετροϊών (Retroviridae). Ο HIV, όπως και οι υπόλοιποι ρετροϊοί, εσωκλείει στο εσωτερικό του ως γενετικό υλικό δύο

μόρια RNA. Μετά τη μόλυνση του κυττάρου ξενιστή, το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση (*reverse transcriptase, ένζυμο απαραίτητο σε τέτοιου είδους ιούς*) που κωδικοποιείται από το γενετικό υλικό του ιού, καταλύει τη σύνθεση του δίκλωνου ιικού *DNA* (προϊός) που ενσωματώνεται στο χρωμοσωμικό *DNA* του κυττάρου. Από το ενσωματωμένο ιϊκό *DNA* (προϊός) παράγεται το *RNA* του ιού, που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία των ιϊκών πρωτεϊνών, αλλά και γενωμικού RNA που θα ενσωματωθεί στο νέο ιό (McCune 2001)

.



Εικόνα 3.1.1.1: *Ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας HIV-1 (προσαρμόστηκε από James A. Perkins)*

Από την αρχική απομόνωση του ιού *HIV-1* ως αιτιολογικού παράγοντα του *AIDS*, έχει επιτευχθεί σημαντική πρόοδος στην κατανόηση του μηχανισμού παθογένειας της νόσου. Έχουν χαρακτηριστεί τρία κύρια στάδια της νόσου: α) η πρωτολοίμωξη, β) η κλινικά ασυμπτωματική περίοδος (*clinically latent asymptomatic period*) και γ) το τελικό στάδιο της νόσου, *AIDS*. Ο ιός πολλαπλασιάζεται σε όλα τα στάδια της νόσου, ενώ υπάρχουν διακριτές ανοσιακές απαντήσεις του ξενιστή σε κάθε στάδιο. Ο ρυθμός εξέλιξης της νόσου ποικίλει σημαντικά σε διαφορετικά άτομα και εξαρτάται τόσο από ιολογικούς παράγοντες, όσο και από παράγοντες του ξενιστή (U.S. Department of Health & Human Services. Stages of HIV infection. 2013).

Από το 1989, υπήρχαν μόνο ορισμένες ορολογικές (εύρεση αντιγόνου του ιού ή του αντισώματος κατά του ιού) μέθοδοι διάγνωσης της μόλυνσης HIV και διακρίνονταν στις:

Α) Ανοσοενζυματική μέθοδος (Elisa)

Β) Μέθοδος Western Blot

Γ) Μέθοδος ραδιοανοσοκαθίζησης (RIPA)

Δ) Αντίδραση σε πεπτίδια, ομόλογα των ιικών πρωτεϊνών

Αυτή τη στιγμή στον τομέα της Αιμοδοσίας, χρησιμοποιείται κυρίως η μέθοδος της Elisa ή της CMIA για την ανίχνευση αντισωμάτων κατά του ιού. Για την επιβεβαίωση του αποτελέσματος χρησιμοποιείται η τεχνική Western Blot. Καθώς σε περιπτώσεις θετικού αποτελέσματος κρίνεται απαραίτητη η χρήση διαφορετικής μεθοδολογίας για επιβεβαίωση (Miller & Bor 1991).

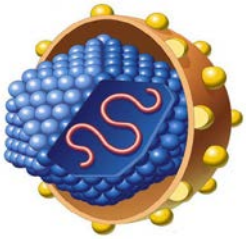
Επιπλέον, τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται ευρέως η εξέταση που ονομάζεται Μοριακός Έλεγχος του Αίματος και οι δύο τεχνικές που αυτή τη στιγμή μονοπωλούν την παγκόσμια αλλά και την ελληνική αγορά και είναι η PCR (Polymerase Chain Reaction) και η TMA (Transcription Mediated Amplification). Η παραπάνω εξέταση ανιχνεύει απευθείας το γενετικό υλικό του ιού (RNA).

3.1.2 Ιός HCV (Hepatitis C Virus)

Η ιογενής Ηπατίτιδα C προκαλείται από τον ιό HCV και αποτελεί ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα δημόσιας υγείας καθώς προσβάλλει μεγάλο μέρους του πληθυσμού, μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο, σχετίζεται με νοσηρότητα και θνησιμότητα (ηπατοκυτταρικό καρκίνο, κίρρωση του ήπατος) καθώς περίπου το 50% του συνόλου των λοιμώξεων οδηγεί σε χρόνια ηπατίτιδα C και απαιτεί ειδικές θεραπευτικές παρεμβάσεις (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. Ιογενείς Ηπατίτιδες – Ηπατίτιδα C).

Από στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας περίπου 150 εκατομμύρια άνθρωποι έχουν μολυνθεί με τον ιό της Ηπατίτιδας C και περισσότεροι από 350000 πεθαίνουν κάθε χρόνο εξαιτίας ασθενειών στο ήπαρ που σχετίζονται με την Ηπατίτιδα C. (WHO, 2014) Στην Ελλάδα σύμφωνα με τα στοιχεία του ΚΕΕΛΠΝΟ, ο επιπολασμός για τη χρόνια Ηπατίτιδα C υπολογίζεται σε 1,5-2% του πληθυσμού, ενώ η επίπτωση των χρόνιων ιογενών ηπατιτίδων ποικίλλει ανά γεωγραφικό διαμέρισμα και πληθυσμό. Ειδικότερα, από το 1998-2011 αναφέρονταν 10-162 περιστατικά ετησίως με μέση επίπτωση 0,62 ανά 100.000 πληθυσμού και ως περιοχές με αυξημένες ποσοστά εμφανίζει η Θεσσαλία και η Αττική λόγω της μετανάστευσης (Νικολοπούλου Γ. Και Ζησούλη Α. 2012).

Ο ιός HCV είναι ένας RNA ιός και ταξινομείται στην οικογένεια των *Flaviviridae*. Το χαρακτηριστικό των ιών αυτών είναι ότι αποτελούνται από την εξωτερική στιβάδα, που έχει χαρακτηριστεί ως φάκελος-περίβλημα (*envelope*), που στο εσωτερικό του περικλείει το γενετικό υλικό (*RNA*). (Πορτοκαλάκη Ειρήνη. 2013)



Εικόνα 3.1.2.1: *Ο ιός της ηπατίτιδας C (προσαρμόστηκε από James A. Perkins)*

Στην Ελληνική Αιμοδοσία, ο ιός της Ηπατίτιδας C ανιχνεύεται με ορολογικές μεθόδους διάγνωσης της μόλυνσης (εύρεση αντιγόνου του ιού ή του αντισώματος κατά του ιού) και διακρίνονταν στις:

Α) Χημειοφωταύγεια

Β) Μέθοδο Ανοσοαποτύπωσης (RIBA, LIA)

Αυτή τη στιγμή στον τομέα της Αιμοδοσίας, κυρίως χρησιμοποιείται η μέθοδος για την ανίχνευση αντισωμάτων κατά του ιού (CMIA). Για την εξακρίβωση του αποτελέσματος χρησιμοποιείται η τεχνική RIBA ή LIA.

Επιπλέον, τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται ευρέως η εξέταση που ονομάζεται Μοριακός Έλεγχος του Αίματος όπως έχει αναφερθεί για τον ιό HIV.

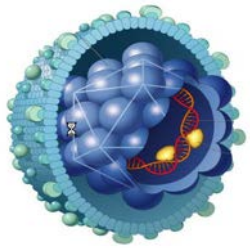
3.1.3 Ιός HBV (Hepatitis B Virus)

Ο ιός της Ηπατίτιδας Β, προκαλεί τη λοίμωξη του ήπατος που χαρακτηρίζει την Ηπατίτιδα Β. Η ιδιαιτερότητα του ιού συνίσταται στο ότι το γονιδίωμα του είναι μερικώς δίκλωνο κυκλικό *DNA* και στο γεγονός ότι ο κύκλος ζωής του ιού περιλαμβάνει ένα ενδιάμεσο στάδιο αντίστροφης μεταγραφής, το οποίο καταλύεται ενζυμικά από την αντίστροφη μεταγραφάση του ιού.

Με την είσοδο του ιού HBV προκαλείται οξεία Ηπατίτιδα Β. Σε αρκετές περιπτώσεις το πρόβλημα αυτοπεριορίζεται και ο ασθενής αυτό-ιαίνεται. Εάν ο ιός δεν αποβληθεί κατά τη φάση της οξείας ηπατίτιδας τότε εγκαθίσταται χρόνια ηπατίτιδα Β και ο ιός δεν αποβάλλεται. Στο μεγαλύτερο ποσοστό των περιπτώσεων η ακριβής συχνότητα της οξείας ηπατίτιδας Β δεν είναι γνωστή και πολλές περιπτώσεις μένουν αδιάγνωστες, καθώς δεν προκαλούν συμπτώματα. Θεωρείται επικίνδυνη για τη ζωή του ασθενούς καθώς στις χρόνιες περιπτώσεις μπορεί να προκληθεί ο θάνατος λόγω κίρρωσης του ήπατος ή ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (Γούλης 2011).

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας περίπου 600000 άνθρωποι πεθαίνουν ετησίως εξαιτίας των συνεπειών της Ηπατίτιδας Β (WHO, 2014), ενώ σύμφωνα με το Ίδρυμα Ηπατίτιδας Β (Hepatitis B Foundation) παγκοσμίως 2 δισεκατομμύρια άνθρωποι (1 περίπου στους 3) έχουν μολυνθεί με τον ιό της Ηπατίτιδας Β). Για τον περιορισμό της μετάδοσης της λοίμωξης έχει δημιουργηθεί εμβόλιο ήδη από το 1982, που θεωρείται ότι είναι αποτελεσματικό στο 95% των περιπτώσεων.

Η Ελλάδα κατατάσσεται στις περιοχές όπου ενδημικότητα για την Ηπατίτιδα Β είναι ενδιάμεση. Ο επιπολασμός των φορέων παρουσιάζει πτωτική τάση τα τελευταία χρόνια, παρόλα αυτά η μετακίνηση πληθυσμών στην Ελλάδα από περιοχές υψηλής ή ενδιάμεσης ενδημικότητας τείνει να αυξάνει τον επιπολασμό του ιού HBV στο σύνολο του πληθυσμού της Ελλάδος. Παρόλα αυτά, η επιδημία της ηπατίτιδας Β (*HBV*) αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα δημόσιας υγείας στην Ελλάδα, όπου εκτιμάται ότι ο επιπολασμός της χρόνιας HBV-λοίμωξης φτάνει έως και 8%. Ειδικότερα, από το 1998-2011 αναφέρονταν 35-284 περιστατικά ετησίως με μέση επίπτωση 1,28 ανά 100.000 πληθυσμού. Για την Ηπατίτιδα Β όπως και για την Ηπατίτιδα C αυξημένα ποσοστά εμφανίζονται στη Βόρεια Ελλάδα όπως και στη Θεσσαλία και στην Αττική εξαιτίας κυρίως της μετανάστευσης (Νικολοπούλου Γ. Και Ζησούλη Α. 2012).



Εικόνα 3.1.3.1: *Ο ιός της ηπατίτιδας Β (προσαρμόστηκε από James A. Perkins)*

Η κυριότερη μέθοδος ανίχνευσης της Ηπατίτιδας Β που χρησιμοποιείται αυτή τη στιγμή στην Ελληνική Αιμοδοσία είναι αυτή της χημειοφωταύγειας. Στην Αιμοδοσία εξετάζονται κυρίως η εμφάνιση ορισμένων αντιγόνων του ιού HBV και αντισωμάτων κατά αυτού. Ειδικότερα, ως προαπαιτούμενος έλεγχος για τον ιό αυτό εξετάζεται το Αυστραλιανό αντιγόνο (HbsAg) και σε επιλεγμένες περιπτώσεις το anti-core (αντίσωμα κατά του αντιγόνου του εσωτερικού πρωτεϊνικού περιβλήματος του ιού που είναι ενδεικτικό παρελθούσης μόλυνσης) και το Anti-Hbs (το αντίσωμα κατά του Αυστραλιανού αντιγόνου, ενδεικτικό της ανοσοποίησης του ατόμου) (Παρασκευάς & Δημητρουλόπουλος 2003)

Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, με την ανάπτυξη της τεχνολογίας χρησιμοποιείται η τεχνολογία του Μοριακού Ελέγχου που έχει την ικανότητα του απευθείας εντοπισμού του γενετικού υλικού του ιού στο δείγμα του αίματος.

3.1.4 Ιός WNV (West Nile Virus)

Ο ιός WNV, γνωστός ως ιός του Δυτικού Νείλου, είναι υπεύθυνος για την εμφάνιση μηνιγγίτιδας και εγκεφαλίτιδας. Είναι RNA ιός και ανήκει στην οικογένεια των φλαβοϊών. Η κύρια δεξαμενή του ιού στη φύση είναι τα πτηνά όπου έχει παρατηρηθεί υψηλή ιαιμία. Αποτέλεσμα της υψηλής ιαιμίας είναι η μετάδοση του ιού στα κουνούπια που είναι οι ενδιάμεσοι βιολογικοί ξενιστές ειδικότερα του γένους Culex το οποίο θεωρείται από τους σημαντικότερους μεταδότες. Τα θηλαστικά θεωρούνται ως «αδιέξοδοι» μεταδότες καθώς ο τίτλος του ιού στο αίμα τους κατά τη διάρκεια της ιαιμίας δεν επαρκεί για τη μόλυνση των κουνουπιών και τη δημιουργία ενός ακόμη φαύλου κύκλου. Η πλειονότητα των ατόμων που μολύνονται από τον ιό είναι συμπτωματικοί και μόνο το 20% εμφανίζουν συμπτώματα ίωσης. Ένα ποσοστό λιγότερο από 1% παρουσιάζουν συμπτώματα στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα όπως εγκεφαλίτιδα, μηνιγγίτιδα, οξεία χαλαρή παράληση.

Ο ιός απομονώθηκε πρώτη φορά το 1937. Λόγω της εμφάνισης επιδημιών σε διάφορες περιοχές του κόσμου το ενδιαφέρον για τον ιό αυτό έχει αυξηθεί. Στην

Ελλάδα το καλοκαίρι του 2010 εμφανίστηκαν κρούσματα τόσο σε ζώα όσο και σε ανθρώπους. Ειδικότερα, διαγνώστηκαν 262 περιπτώσεις ασθενών με λοίμωξη από τον ιό του Δυτικού Νείλου ενώ το σύνολο των ασθενών που απεβίωσαν υπολογίστηκε στους 35. (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ., WNV 2010). Μετά το 2010, κάθε χρόνο εμφανίζονται κρούσματα από το ιό του Δυτικού Νείλου κυρίως τους θερινούς μήνες έως και τον Οκτώβριο, με αυξανόμενα ποσοστά τόσο λοιμώξεων όσο και θανάτων (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ., WNV 2010, 2011, 2012, 2013).

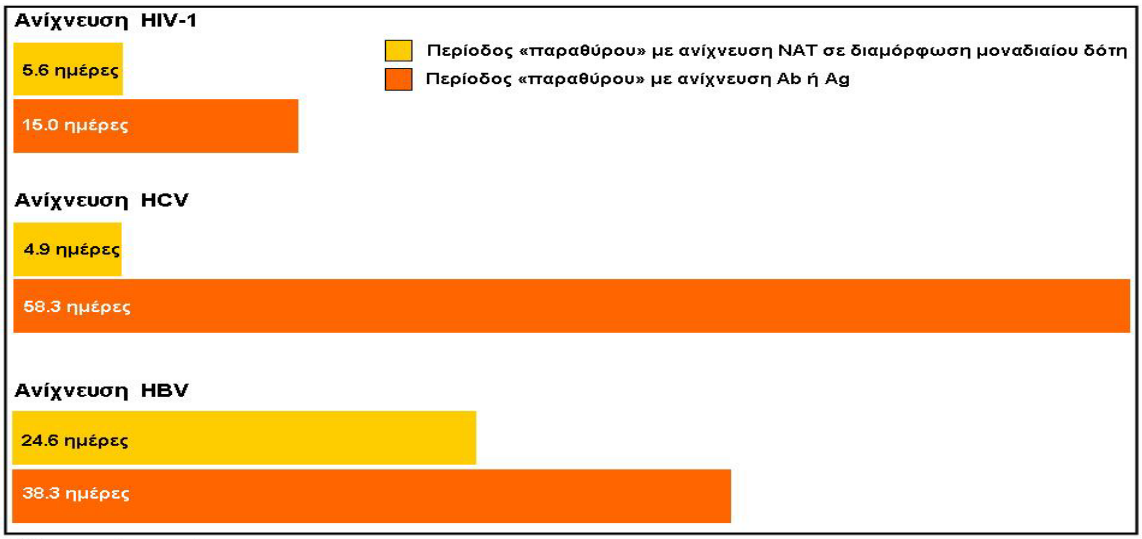
Μέχρι πριν το 2010, δε πραγματοποιούνταν έλεγχοι από την Αιμοδοσία στις προς μετάγγιση μονάδες αίματος. Μετά το 2010, οι μονάδες ελέγχονται για τον ιό του Δυτικού Νείλου με Μοριακές τεχνικές κυρίως από αιμοδότες που διαμένουν στις περιοχές που εμφανίζονται τα κρούσματα. Επίσης σε εργαστήρια αναφοράς του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης και του Πανεπιστημίου των Αθηνών ανιχνεύονται τα αντισώματα κατά του ιού του Δυτικού Νείλου με τη μέθοδο της Elisa καθώς και με μοριακές τεχνικές κυρίως PCR για την ποσοτικοποίηση του ιού και την επιβεβαίωση του αποτελέσματος (Papa et al).

3.2 Σημαντικότητα Μοριακού Ελέγχου

Όπως έχει αναφερθεί παραπάνω ο ορολογικός και ο μοριακός έλεγχος χρησιμοποιούνται με σκοπό να αποφευχθεί η μετάδοση παθογόνων μέσω της μετάγγισης του εθελοντικά δοσμένου αίματος. Η μεγαλύτερη διαφορά των δύο τεχνικών αφορά τον τρόπο εντοπισμού του ιού. Ο ορολογικός έλεγχος εντοπίζει είτε τις πρωτεΐνες του ιού που βρίσκονται στο εξωτερικό περίβλημά του ή ελεύθερες στο αίμα, είτε της πρωτεϊνικής φύσεως αντισώματα που δημιουργούνται από τον ξενιστή με σκοπό την αντιμετώπιση του ιού. Αντίθετα, ο μοριακός έλεγχος εντοπίζει απευθείας τον ιό καθώς εντοπίζει, ενισχύει και ανιχνεύει το γενετικό του υλικό.

Καθώς οι δύο αυτές μέθοδοι διαφέρουν ως προς τον τρόπο εντοπισμού του ιού, ο χρόνος που απαιτείται από τη στιγμή της μόλυνσης έως τη στιγμή της ανίχνευσης του ιού διαφέρει. Ο χρόνος αυτός ονομάζεται περίοδος παραθύρου. Όπως

φαίνεται παρακάτω, η περίοδος παραθύρου των τριών υπό εξέταση ιών διαφέρει σημαντικά κατά τη σύγκριση των δύο μεθόδων (Εικόνα 3.2.1).



Εικόνα 3.2.1: Η περίοδος παραθύρου με τη μέθοδο NAT (κίτρινες μπάρες) και με τη μέθοδο ανίχνευσης αντιγόνου ή αντισώματος (πορτοκαλί μπάρες) για τους ιούς HIV-1, HCV και HBV. (Busch, Glynn, Stramer, Strong, Caglioti, Wright et al 2005˙ Kleinman and Busch 2006)

Στη παραπάνω εικόνα η περίοδος παραθύρου για τον ιό HIV, σύμφωνα με στατιστικά πακέτα και την αντίστοιχη βιβλιογραφία, υπολογίζεται στις 5,6 μέρες με τη χρήση του μοριακού ελέγχου ενώ με τον ορολογικό έλεγχο υπολογίζεται στις 15 μέρες. Σημαντική διαφορά παρατηρείται στον ιό της Ηπατίτιδας C, όπου η περίοδος παραθύρου από τη στιγμή της μόλυνσης έως της στιγμή της ανίχνευσης είναι 4,9 και 58, 3 με τον μοριακού και τον ορολογικό έλεγχο αντιστοίχως. Τέλος, όσον αφορά την Ηπατίτιδα B, παρατηρείτε ότι η περίοδος παραθύρου με τη χρήση του μοριακού ελέγχου υπολογίζεται στις 24,6 μέρες ενώ με τον ορολογικό υπολογίζεται στις 38,3 μέρες. Και από τους τρεις ιούς, κυρίως όμως από τον ιό της Ηπατίτιδας C είναι εμφανές ότι η μόλυνση εντοπίζεται πολύ νωρίτερα, με αποτέλεσμα την αποφυγή μετάγγισης πιθανώς μολυσματικού αίματος (Busch et al 2005).

Με σκοπό την ενίσχυση των παραπάνω δεδομένων και την εξαγωγή περισσότερων συμπερασμάτων σχετικά με τη σύγκριση των μεθόδων του Ορολογικού και του Μοριακού Ελέγχου και την υποστήριξη της σημαντικότητας του Μοριακού Ελέγχου, αναφέρονται μέσω βιβλιογραφική ανασκόπησης, σημαντικά

παραδείγματα αποφυγής μετάδοσης λοίμωξης μέσω μετάγγισης αίματος, εξαιτίας της χρήσης του Μοριακού Ελέγχου.

Σύμφωνα με τους Cable, Lelie and Bird (2013) κατά τη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη Νότια Αφρική παρατηρήθηκε ότι σε συνολικό αριθμό των 649.754 μονάδων αίματος, οι οποίες εξετάστηκαν και με τις δύο τεχνικές, προέκυψαν 27 περιπτώσεις που σημάνθηκαν με την ορολογική τεχνική ως αρνητικές ενώ με τον μοριακό έλεγχο ως θετικές. Κατά τις επαναλήψεις των δειγμάτων αυτών επιβεβαιώθηκε ότι πρόκειται για περιπτώσεις μολυσματικές οι οποίες διέφυγαν του ορολογικού ελέγχου (Πίνακας 3.2.2).

Πίνακας 3.2.2

Συνοπτική ανασκόπηση της μελέτης που πραγματοποιήθηκε στη Νότια Αφρική σχετικά με τις περιπτώσεις σε περίοδο παραθύρου που εντοπίστηκαν για τους ιούς HBV και HIV. Στη δεύτερη στήλη αναφέρονται αναλυτικά οι περιπτώσεις που εντοπίστηκαν. Αναλυτικότερα στη δεύτερη σειρά είναι οι περιπτώσεις των δειγμάτων που εντοπίστηκαν ως θετικές τόσο με τον μοριακό όσο και με τον ορολογικό έλεγχο. Στη τρίτη και τέταρτη σειρά φαίνονται οι περιπτώσεις που βρέθηκαν σε περίοδο παραθύρου και στην πέμπτη σειρά είναι οι περιπτώσεις που βρέθηκαν θετικές μόνο με τον μοριακό έλεγχο αλλά εντοπίστηκαν και ορισμένοι δείκτες για τον ιό της ηπατίτιδας Β με τον ορολογικό έλεγχο (occult ηπατίτιδα Β). Στην έβδομη και την όγδοη σειρά, είναι οι περιπτώσεις που εντοπίστηκαν και με τις δύο μεθόδους και μόνο με τον μοριακό έλεγχο σε περιόδο παραθύρου αντιστοίχως.

	Περιπτώσεις
HBV DNA+/HBsAg+	371
Pre HBsAg WP	5
Post HBsAg WP	3

HBV DNA+/anti-HBc+ (OBI)	13
	Περιπτώσεις
HIV RNA+/HIVAb+	241
HIV RNA+ WP	6

Οι Cable et al (2013) τονίζουν ότι η τεχνική ID-NAT (Individual Donor-Nucleic Acid Testing) δηλαδή ο Μοριακός Έλεγχος σε διαμόρφωση Μοναδιαίου Δότη κατάφερε να ανιχνεύσει συνολικά 6 περιπτώσεις σε περίοδο παραθύρου για τον ιό του HIV και 21 περιπτώσεις μολυσματικών μονάδων αίματος για τον ιό HBV, οι οποίες με τη χρήση του ορολογικού ελέγχου σημάνθηκαν ως αρνητικές. Επισημαίνουν δε, ότι η ασφάλεια του αίματος ενισχύεται με τη χρήση της τεχνικής του Μοριακού Ελέγχου ειδικότερα για τους ιούς HBV και HIV, των οποίων τα ποσοστά εμφανίζονται αυξημένα στον τοπικό πληθυσμό.

Οι Chatterjee, Coshic, Borgohain, Premchand, Thapliyal, Chakroborty et al (2012) αναφέρονται στον εντοπισμό επτά περιπτώσεων σε περίοδο παραθύρου (WP) για τους ιούς HBV και HCV που εντοπίστηκαν κατά τη μελέτη 18.354 αιμοδοτών. Οι παραπάνω περιπτώσεις αν και είχαν ελεγχθεί τόσο με μοριακή όσο και με ορολογική τεχνική σημάνθηκαν ως θετικές μόνο με τη χρήση ID-NAT. Και σε αυτή τη περίπτωση ενισχύεται η σημαντικότητα της μεθόδου, καθώς επισημαίνεται ότι η μέθοδος ID-NAT μπορεί να παίξει σημαντικό ρόλο στη μείωση των μεταδιδόμενων μέσω μετάγγισης ασθενειών αυξάνοντας την ασφάλεια του αίματος καθώς οι 7 μονάδες ολικού αίματος διαχωρίζονται σε έως τρία διαφορετικά παράγωγα αίματος (συμπυκνωμένα ερυθρά, αιμοπετάλια και πλάσμα) και πιθανώς θα είχαν ως αποτέλεσμα τη μόλυνση έως και 21 πιθανών ληπτών.

Οι Scuracchio, Poli, Lemos, Oliveira Filho, Salles, Chamone, et al (2007) επίσης αναφέρουν ότι κατά τη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη Βραζιλία, περιοχή με υψηλό επιπολασμό για την Ηπατίτιδα C και τον HIV, εξετάστηκαν 47.866 δείγματα με ορολογική και με μοριακή τεχνική μοναδιαίου δότη. Εντοπίστηκαν δύο περιπτώσεις όπου τα δείγματα σημάνθηκαν με τη μοριακή τεχνική ως θετικά ενώ αρνητικά με την ορολογική. Κατά την επανεξέταση αυτών των περιπτώσεων

διαπιστώθηκε ότι οι δότες βρίσκονταν σε περίοδο παραθύρου καθώς η μετέπειτα ανάλυση έδειξε υψηλό φορτίο για τον HIV. Τέλος, οι Strammer, Glynn, Kleinman, Strong, Cagliotti, Wright, et al (2004) αναφέρουν ότι ακόμη και με τη χρήση μικροδεξαμενών (Minipools, δηλαδή η εξέταση πολλών δειγμάτων ταυτόχρονα) των τεχνικών μοριακού ελέγχου, εμποδίζεται η διαφυγή περίπου 5 μονάδων θετικών με HIV και 56 μονάδων θετικών με HCV οι οποίες θα είχαν σημανθεί ως αρνητικές με τον έλεγχο με τις ορολογικές τεχνικές. Βέβαια η χρήση της τεχνικής μοριακού ελέγχου σε διαμόρφωση μοναδιαίου δότη αντίθετα με αυτή των μικροδεξαμενών είναι ικανή να μειώσει πολύ περισσότερο τη πιθανότητα μετάγγισης παθογόνων μέσω της μετάγγισης του αίματος.

Η σημαντικότητα της χρήσης της μεθόδου έγκειται στο γεγονός ότι λόγω της μεγάλης ευαισθησίας της είναι ικανή να εντοπίσει περιπτώσεις οι οποίες θα είχαν διαφύγει από τον ορολογικό έλεγχο που εκτελείται ήδη από το 1988 στις Ελληνικές Αιμοδοσίες. Λόγω του γεγονότος ότι κάθε μονάδα ολικού αίματος μετά από φυγοκέντρηση χωρίζεται σε τρία παράγωγα αίματος, τα συμπυκνωμένα ερυθρά, το πλάσμα και τα αιμοπετάλια, έχει τη δυνατότητα, ανάλογα φυσικά με τις ανάγκες, να μεταγγιστεί σε έως τρείς ασθενείς. Επιπρόσθετα, σε περιπτώσεις παιδιατρικών περιστατικών τα παράγωγα που προαναφέρθηκαν ισομοιράζονται σε άλλες δύο μονάδες έκαστο με αποτέλεσμα έστω και μία μολυσμένη μονάδα αίματος να μπορεί να μολύνει πάνω από τρεις ασθενείς. Αναλογιζόμενοι τον κίνδυνο που προκύπτει είναι εμφανής η σημαντικότητα της τεχνικής που ονομάζεται Μοριακός Έλεγχος του Αίματος.

3.3 Τεχνικές που χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα

Όπως περιγράφηκε παραπάνω, μετά τη λήξη του διαγωνισμού, τον Αύγουστο του 2008, τα Κ.Μ.Ε. ισομοιράστηκαν στις δύο ανάδοχες εταιρείες. Η εταιρία, SafeBlood Bioanalytica A.E., διενεργεί τον έλεγχο σε διαμόρφωση μοναδιαίου δότη, με την τεχνική NAT – TMA με τη χρήση του αυτόματου ρομποτικού συστήματος Procleix Tigris. Η εταιρία, Roche Ελλάς, διενεργεί τον έλεγχο και αυτή σε διαμόρφωση μοναδιαίου δότη, με τη τεχνική NAT – PCR, με τη χρήση του συστήματος Cobas

S201. Παρακάτω ακολουθεί περιγραφή των τεχνικών και των μηχανημάτων που χρησιμοποιούνται.

3.3.1 Τεχνική TMA (Transcription Mediated Amplification)

Όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, για την εφαρμογή του Μοριακού Ελέγχου, αυτή τη στιγμή στον Ελληνικό χώρο δραστηριοποιούνται δύο εταιρίες και συνεπώς ο έλεγχος πραγματοποιείται με τη χρήση δύο διαφορετικών μεθόδων. Η μία μέθοδος που θα αναλυθεί σε αυτό το κεφάλαιο ονομάζεται τεχνική TMA (Trascription Mediated Amplification).

Η δοκιμασία που χρησιμοποιεί τη παραπάνω τεχνική ονομάζεται Procleix® ULTRIO® και η νέα δοκιμασία με μεγαλύτερη ευαισθησία ονομάζεται Procleix® ULTRIO® Plus. Και οι δύο δοκιμασίες χρησιμοποιούν την τεχνολογία **Ισοθερμικής Ενίσχυσης Στόχου μέσω Μεταγραφής (TMA)** για την ανίχνευση του γενετικού υλικού των προς εξέταση ιών. Ο προσδιορισμός αυτός περιλαμβάνει αντιδραστήρια τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ταυτόχρονη ανίχνευση και των τριών ιών (HIV-1, HCV και HBV) ή του καθενός ξεχωριστά. Επίσης παρέχονται και αντιδραστήρια για την ανίχνευση του ιού WNV.

Όλες οι περιοχές στις οποίες στοχεύει η τεχνική για τον εντοπισμό των προς ανίχνευση ιών είναι περιοχές ισχυρά συντηρημένες. Επιπλέον όμως για τον ιό HIV-1, υπάρχουν **δύο περιοχές ανίχνευσης** (*LTR* και *POL*) του γονιδιώματος αυτού ενώ αντίθετα οι περισσότερες τεχνικές στοχεύουν σε μία περιοχή. Με αυτό τον τρόπο δίνεται **η δυνατότητα αποφυγής λανθασμένα αρνητικών δειγμάτων** λόγω της ισχυρής μεταλλαξιμότητας του ιού. Το γεγονός αυτό αποτελεί πρωτοτυπία της μεθόδου και ταυτόχρονα διπλή διασφάλιση της ποιότητας του μεταγγιζόμενου αίματος. Επιπλέον, προτείνεται από το Paul-Ehrlich-Institute η υποχρεωτική χρήση δύο περιοχών ανίχνευσης σε όλες τις τεχνικές NAT για τον HIV ώστε να μειωθούν οι περιπτώσεις των εσφαλμένα αρνητικών αποτελεσμάτων (Chudy, M., Weber-Schehl, M., Pichl, L., Jork, C., Kress, J., Heiden, M. et al, 2012)

Η Δοκιμασία Procleix® ULTRIO® περιλαμβάνει τρία κύρια στάδια (Εικόνα 3.3.1.1), τα οποία για κάθε δείγμα διεξάγονται στο ίδιο σωληνάριο καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Αυτά είναι:

- Η προετοιμασία του δείγματος
- Η ενίσχυση των αλληλουχιών-στόχου των RNA του HIV-1, HCV και WNV όπως και του DNA του HBV μέσω της Ισοθερμικής Ενίσχυσης δια της Μεταγραφής (Transcription-Mediated Amplification-TMA)
- Η ανίχνευση των προϊόντων ενίσχυσης (amplicon) μέσω της διαδικασίας Προστασίας Υβριδοποίησης (Hybridization Protection Assay-HPA).

Εικόνα 3.3.1.1:

Ενδεικτική και συνοπτική παρουσίαση των σταδίων της ταυτόχρονης ανίχνευσης πολλαπλών ιών με τη χρήση της δοκιμασίας Procleix® Ultrio®.

Αναλυτικότερα τα στάδια:

- **Προετοιμασία Δείγματος**

Η προετοιμασία του δείγματος επιτρέπει την απελευθέρωση και σύλληψη των ιϊκών νουκλεϊκών οξέων (του γενετικού υλικού του ιού) και την απομάκρυνση των υπόλοιπων περιττών συστατικών του δείγματος. Κατά τη διάρκεια της

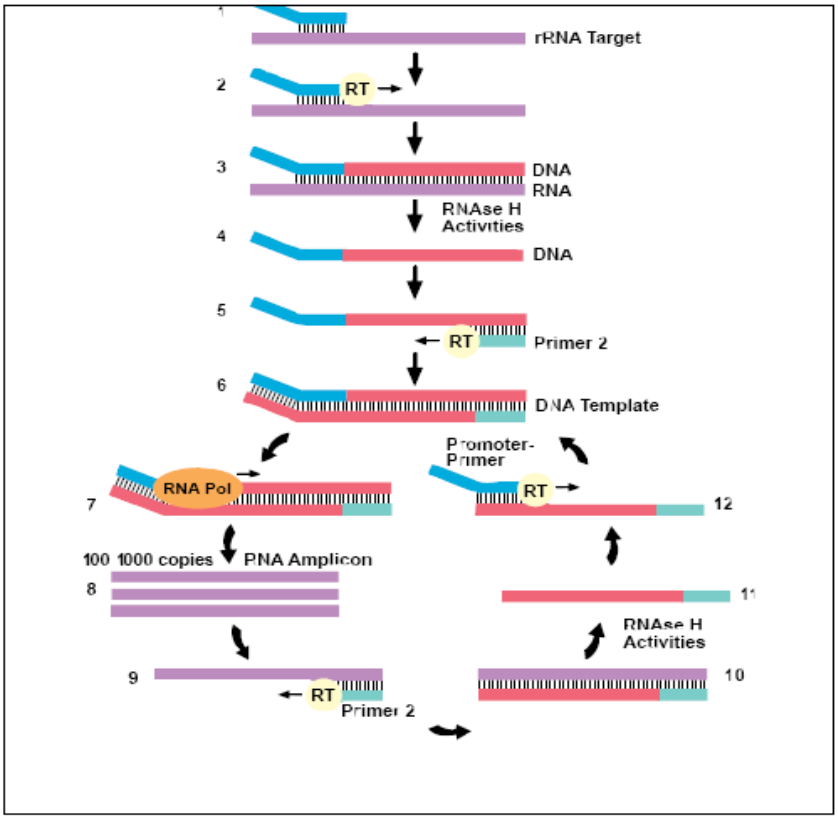
προετοιμασίας του δείγματος, τα ιϊκά RNA και DNA απομονώνονται από τα δείγματα του πλάσματος.

Βήματα εκπλύσεων χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση των περιττών συστατικών του πλάσματος από το σωληνάριο της αντίδρασης.

Ένας Εσωτερικός Μάρτυρας (Internal Control-IC) προστίθεται μέσα σε κάθε σωληνάριο που εξετάζεται με σκοπό τον έλεγχο της ορθής διεξαγωγής των βημάτων επεξεργασίας του δείγματος, ενίσχυσης και ανίχνευσης.

- **Επιλεκτική Ενίσχυση**

Η ενίσχυση του στόχου διεξάγεται μέσω της διαδικασίας **TMA** (Transcription Mediated Amplification), η οποία είναι μια μέθοδος **Ισοθερμικής Ενίσχυσης Νουκλεϊνικών Οξέων** που πραγματοποιείται στο επίπεδο της μεταγραφής. Η μέθοδος χρησιμοποιεί δυο ένζυμα, την αντίστροφη μεταγραφάση MMLV και την T7 RNA πολυμεράση. Η συνδυασμένη λειτουργία αυτών των δύο ενζύμων έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία πολλαπλών αντιγράφων RNA από το γενετικό υλικό των προς εξέταση ιών (amplicons). (Εικόνα 3.3.1.2)



Εικόνα 3.3.1.2.:

Διαδικασία ενίσχυσης στόχου διαμέσου της Μεταγραφής (TMA). Παρουσιάζεται η ενίσχυση των RNA-στόχων των ιών HIV-1, HCV καθώς και του DNA του ιού HBV. (Gen Probe 2014)

- **Ανίχνευση**

Η ανίχνευση επιτυγχάνεται μέσω της **Διαδικασίας Προστασίας Υβριδοποίησης-** (**HPA-**Hybridization Protection Assay) με τη χρήση ανιχνευτών συμπληρωματικών των προϊόντων ενίσχυσης (amplicons) που προέκυψαν από την προηγούμενη διαδικασία. Οι ανιχνευτές αυτοί είναι σημασμένοι με ουσίες-ιχνηθέτες που παράγουν φθορισμό. Οι σημασμένοι ανιχνευτές νουκλεϊνικών οξέων (Probes) δεσμεύονται ειδικά με τα amplicons που έχουν παραχθεί στο προηγούμενο βήμα. Μετέπειτα διαφοροποιούνται οι δεσμευμένοι ανιχνευτές με τους μη δεσμευμένους προκαλώντας υδρόλυση του ιχνηθέτη (AE-Εστέρας Ακριδίνης) στους μη δεσμευμένους DNA ανιχνευτές. Ο Εστέρας της Ακριδίνης (AE) στους δίκλωνους, υβριδοποιημένους (δεσμευμένους) ανιχνευτές, προστατεύεται στο εσωτερικό της δομής της διπλής έλικας με αποτέλεσμα την αργή του υδρόλυση.

Κατά τη διάρκεια του σταδίου ανίχνευσης, το σήμα χημειοφωταύγειας που παράγεται από τους δεσμευμένους ανιχνευτές, μετράται από ένα φθοριόμετρο και αναφέρεται σαν Σχετικές Μονάδες Φωτός (Relative Light Units -RLU). Ο Εσωτερικός Μάρτυρας που αναφέρθηκε παραπάνω προστίθεται σε κάθε σωληνάριο προς εξέταση. Ο σκοπός του είναι ο έλεγχος των διαδικασιών επεξεργασίας του δείγματος καθόλα τα παραπάνω στάδια. Μέσω του **Προσδιορισμού Διπλής Κινητικής (Dual Kinetic Assay-DKA)** που είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη διάκριση των σημάτων που εκπέμπονται από τον εσωτερικό μάρτυρα και από το σήμα των ιών HIV-1/HCV/HBV.

Το λογισμικό του συστήματος Procleix αναλύει αυτόματα τα στοιχεία των RLU και υπολογίζει τα αποτελέσματα κατά την ταυτόχρονη ανίχνευση των HIV-1, HCV, και HBV. Η Δοκιμασία Procleix® Ultrio®, διαφοροποιεί το σήμα που εκπέμπεται από το IC, από εκείνα τα συνδυασμένα σήματα που εκπέμπονται από τους ανιχνευτές των

HIV-1/HCV/HBV, αλλά δεν διακρίνει τα αυτόνομα σήματα των HIV-1, HCV, και HBV. (Package Instert Procleix Ultrio Plus' Package Insert Procleix Ultrio, Procleix Tigris System Operator Manual Part)

3.3.2 Ευαισθησία και Ειδικότητα Τεχνικής TMA

Η τεχνική NAT – TMA έχει την ικανότητα ανίχνευσης των διαφόρων τύπων και παραλλαγών των ιών των οποίων εξετάζει. Ειδικότερα, έχει την ικανότητα ανίχνευσης διαφόρων τύπων και παραλλαγών του ιού της ηπατίτιδας Β (*HBV*), του ιού της ηπατίτιδας C (*HCV*) και του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (*HIV*-1) (Linnen, Gilker, Menez, Vaughn, Broulik, Dockter, et al. 2002˙ Jackson, Smith, Knott, Korpela, Simmons, Piwowar-Manning, et al. 2002˙ Vargo, Smith, Knott, Wang, Fang, McDonough, et al. 2002:

Υπότυποι *HIV*-1

- Ομάδα Μ
  - Υπότυποι A, B, C, D, E, F, G
- Ομάδα Ν
- Ομάδα Ο

Γονότυποι *HCV*

- 1, 2, 3, 4, 5, 6

Γονότυποι *HBV*

- A, B, C, D, E, F,G
-

Δεδομένου ότι η τεχνική αυτή είναι τελευταίας γενιάς και εξαιρετικά εξελιγμένη, παρακάτω αναφέρονται οι ειδικότητα, αναλυτική ευαισθησία και επαναληψιμότητα της μεθόδου:

Η αναλυτική **ευαισθησία** της διαγνωστικής δοκιμασίας *Procleix® ULTRIO®* (95% πιθανότητα ανίχνευσης), που υπολογίστηκε βάσει προτύπων των *WHO*, *PEI* και *ISS*, κατά τη διάρκεια διαφορετικών μελετών εμφανίζεται στον Πίνακα 3.3.2.1.

Πίνακας 3.3.2.1:

Η ευαισθησία της δοκιμασίας Procleix Ultrio™. Στην δεύτερη στήλη εμφανίζεται η ευαισθησία της Διαγνωστικής δοκιμασίας και στη τρίτη στήλη εμφανίζεται η ευαισθησία των δοκιμασιών διάκρισης

	Διαγνωστική δοκιμασία *Procleix® Ultrio® Assay*	**Διαδικασίες Διάκρισης (*Discriminatory Assays*)**
HIV-1	20,72 IU/mL (17-25)	17,84 IU/mL (15-21)
HCV	2,78 IU/mL (2,4-3,3)	1,95 IU/mL (1,7-2,4)
HBV	7,46 IU/mL (6,4-8,9)	7,42 IU/mL (6,3-9,0)

Η Ειδικότητα της Δοκιμασίας υπολογίζεται να είναι 100% σύμφωνα με μελέτες οι οποίες έχουν λάβει χώρα αποκλειστικά για τη μέθοδο. Επιπρόσθετα, έχουν γίνει μελέτες αξιολόγησης που επιβεβαιώνουν τις παραπάνω τιμές (McCormick 2006˙ Koopelman, Assal, Chudy, Torres, de Villaescusa, Reesink et al. 2005˙ Giachetti, Linnen., Kolk , Dockter, Gillotte-Taylor, Park, et al. 2002).

Τέλος, όσον αφορά την επαναληψιμότητα ή αναπαραγωγιμότητα της δοκιμασίας η συνολική ποσοστιαία συμφωνία των αποτελεσμάτων των δοκιμασιών ήταν 99,0%-100% για τα θετικά δείγματα και 99,5%-100% για τα αρνητικά δείγματα (Assal, Barlet, Cornillot, Deschazeaux, Dupont, Gallian, et al 2006)

Η αναλυτική ευαισθησία της Δοκιμασίας Procleix® WNV (95% πιθανότητα ανίχνευσης) που καθορίστηκε με βάση την Probit Analysis για τον τύπο 1 με τη χρήση του προτύπου αναφοράς του Health Canada φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 3.3.2.2.):

Πίνακας 3.3.2.2.:

Στη δεύτερη στήλη εμφανίζεται η ευαισθησία της δοκιμασίας ελέγχου για τον ιό του Δυτικού Νείλου.

Σύστημα Δοκιμασίας	95% Πιθανότητα Ανίχνευσης του WNV σε IDT (copies/mL)
Procleix® Tigris® System	9,8 (6,5 – 27,3)

3.3.3 Ρομποτικό σύστημα ανίχνευσης Procleix Tigris System

Σήμερα κυκλοφορούν στην παγκόσμια αγορά αυτοματοποιημένα συστήματα ελέγχου. Οι μεγάλες πολυεθνικές εταιρίες με σκοπό την προσέλκυση νέων πελατών, τη διευκόλυνση της λειτουργίας, τη μείωση της παρεμβολής των χειριστών στις εξετάσεις, την αύξηση της ευαισθησίας και της ειδικότητας, την αύξηση της ταχύτητας των εξετάσεων δημιούργησαν ρομποτικά μηχανήματα που εκτελούν σχεδόν όλα τα στάδια της διαδικασίας των μεθόδων.

Ο αναλυτής που βοηθά στην αύξηση της ταχύτητας εξαγωγής των αποτελεσμάτων των δειγμάτων που ελέγχονται σε κάθε Κ.Μ.Ε., χρησιμοποιεί την τεχνολογία NAT – TMA και ονομάζεται Procleix Tigris System (Εικόνα 3.3.3.1). Είναι ρομποτικό μηχάνημα, αυτόματο, τελευταίας τεχνολογίας και έχει την ικανότητα να αυτοματοποιεί την τεχνολογία NAT – TMA ώστε όλα τα βήματα της διαδικασίας να εκτελούνται αυτόματα. Η εμπλοκή του χειριστή συνίσταται στην εισαγωγή των δειγμάτων, των αναλωσίμων και των υγρών. Μετά την εισαγωγή των δειγμάτων και την έναρξη της διαδικασίας, ο αναλυτής ολοκληρώνει τον έλεγχο και απελευθερώνει τα αποτελέσματα σε μορφή ευανάγνωστη και κατανοητή από τον χειριστή. Με τη χρήση του μηχανήματος αυξάνεται η δυναμικότητα των εργαστηρίων καθώς μπορεί να διαχειριστεί έως 1000 δείγματα ανά ημέρα, προσφέρει ευκολία στο χειριστή και εγκυρότητα στα αποτελέσματα.

Εικόνα 3.3.3.1:

Αυτόματο μηχάνημα Procleix Tigris

3.3.4 Τεχνική PCR (Polymerase Chain Reaction)

Η επόμενη μέθοδος που θα αναλυθεί σε αυτό το κεφάλαιο ονομάζεται PCR (Polymerase Chain Reaction). Η δοκιμασία που χρησιμοποιεί την τεχνική PCR ονομάζεται MPX® και η τεχνική με νέες αναβαθμίσεις ονομάζεται MPX 2®. Η προαναφερθείσα τεχνική χρησιμοποιεί την τεχνολογία Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) για την ανίχνευση του γενετικού υλικού των ιών HIV-1, HCV και HBV όπως και του ιού WNV. Ο προσδιορισμός αυτός περιλαμβάνει αντιδραστήρια τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ταυτόχρονη ανίχνευση και διάκριση των τριών ιών (HIV-1, HCV και HBV). Επίσης παρέχονται και αντιδραστήρια για την ανίχνευση του ιού WNV.

Η Δοκιμασία MPX® περιλαμβάνει τρία κύρια στάδια. Αυτά είναι:

- Η προετοιμασία του δείγματος,

- Ο πολλαπλασιασμός των αλληλουχιών-στόχου των RNA του HIV-1, HCV και WNV όπως και του DNA του HBV μέσω της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR)
- Η ανίχνευση των προϊόντων πολλαπλασιασμού.

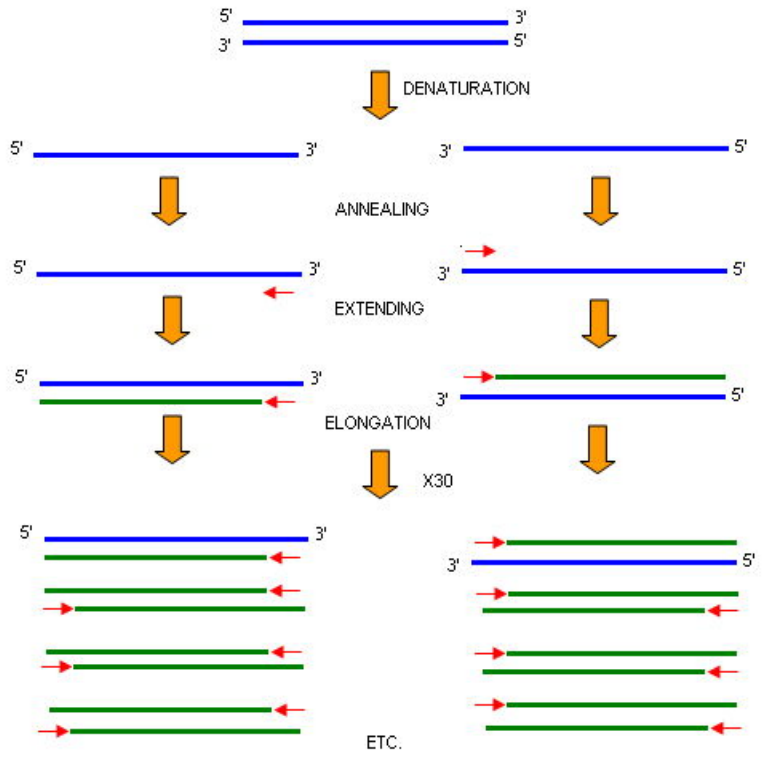
- Προετοιμασία του δείγματος

Η προετοιμασία του δείγματος επιτυγχάνεται σε 5 διαδοχικά βήματα. Το διάλυμα της πρωτεϊνάσης διασπά τις πρωτεΐνες που προκαλούν λύση, απενεργοποιεί τις νουκλεάσες και διευκολύνει την απελευθέρωση του γενετικού υλικού των ιών από τα ιικά σωματίδια. Η προσθήκη του αντιδραστηρίου Lysis έχει ως αποτέλεσμα τη λύση των ιικών σωματιδίων. Ταυτόχρονα απελευθερώνεται το γενετικό υλικό των ιών που επιπλέον προστατεύεται από νουκλεάσες. Το γενετικό υλικό των ιών συνδέεται με τα Μαγνητικά γυάλινα σφαιρίδια. Ακολουθούν πλύσεις με σκοπό την απομάκρυνση των μη δεσμευμένων υλικών.

Επιπλέον, εσωτερικός μάρτυρας προστίθεται σε κάθε σωληνάριο της αντίδρασης με σκοπό τον έλεγχο της διαδικασίας (Package Insert, cobas® TaqScreen MPX Test)..

- Ενίσχυση του στόχου

Η ενίσχυση επιτυγχάνεται με την τεχνική PCR γνωστή ως Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction). Σε αυτή τη διαδικασία σημαντικό ρόλο κατέχει το ένζυμο Z05D DNA Polymerase το οποίο είναι υπεύθυνο για τη δημιουργία πολλαπλών αντιγράφων DNA χρησιμοποιώντας ως μήτρα το γενετικό υλικό των ιών που πιθανώς βρίσκεται στο δείγμα. Επιπλέον, δημιουργούνται και πολλαπλά αντίγραφα από τον εσωτερικό μάρτυρα που έχει προστεθεί σε κάθε δείγμα (Εικόνα 3.3.4.1.) (Package Insert, cobas® TaqScreen MPX Test)..



Εικόνα 3.3.4.1.:

Παρουσιάζεται η ενίσχυση που πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας NAT που χρησιμοποιεί την τεχνική της Αλυσιδωτής Αντίδραση Πολυμεράσης του RNA-στόχου των ιών HIV-1, HCV καθώς και του DNA του ιού HBV (Emma Gilroy, PCR)

- Ανίχνευση Στόχου

Κατά την ενίσχυση μέσω της τεχνικής PCR, εξαιτίας της υψηλής θερμοκρασίας, επιτυγχάνεται ταυτόχρονα η υβριδοποίηση και η ανίχνευση των προϊόντων της ενίσχυσης. Η υβριδοποίηση επιτυγχάνεται με ειδικές αλληλουχίες που είναι σημασμένες με φθορίζουσες χρωστικές οι οποίες εκπέμπουν σε συγκεκριμένα μήκη φωτός. Το σύστημα που πραγματοποιείται η ανίχνευση επιτυγχάνει τη μέτρηση και ταυτόχρονη διάκριση των ιών που πιθανώς έχουν μολύνει το προς εξέταση δείγμα. Επιπλέον, ταυτόχρονα μετράται και ο Εσωτερικός Μάρτυρας που επιβεβαιώνει το ορθό της διαδικασίας (Package Insert, cobas® TaqScreen MPX Test).

3.3.5 Ευαισθησία και Ειδικότητα της Τεχνικής PCR

Η τεχνική NAT – PCR έχει και αυτή την ικανότητα ανίχνευσης των διαφόρων τύπων και παραλλαγών των ιών των οποίων εξετάζει. Ειδικότερα, έχει την ικανότητα ανίχνευσης διαφόρων τύπων και παραλλαγών του ιού της ηπατίτιδας Β (*HBV*), του ιού της ηπατίτιδας C (*HCV*) και του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (*HIV*-1) (Package Insert cobas Taqscreen MPX2, Saldanha, Heath, Aberham, Albrecht , Gentili, Gessner and Pisani G 2003, Saldanha, Gerlich, Lelie, Dawson, Heermann, Heath. 2001):

Υπότυποι *HIV*-1

- Ομάδα Μ
  - Υπότυποι A, B, C, D, E, F, G
- Ομάδα Ν
- Ομάδα Ο

HIV – 2

Γονότυποι *HCV*

- 1, 2, 3, 4, 5, 6

Γονότυποι *HBV*

- A, B, C, D, E, F,G

Παρακάτω αναφέρονται :η ειδικότητα, η αναλυτική ευαισθησία και η επαναληψιμότητα της τεχνικής που όπως αναφέρθηκε παραπάνω είναι και αυτή τελευταίας γενιάς:

Η αναλυτική **ευαισθησία** της διαγνωστικής δοκιμασίας cobas® Taqscreen *MPX Test* (95% πιθανότητα ανίχνευσης) είναι:

Πίνακας 3.3.5.1.:

Στη δεύτερη στήλη εμφανίζεται η ευαισθησία της μεθόδου MPX για τους ιούς HIV-1, HCV και HBV(Damond, Collin, Descamps, Matheron., Pueyo., Taieb et al. 2005)

	Διαγνωστική δοκιμασία *MPX Test*
HIV-1	HIV-1 Group M: 49 IU/ml HIV-1 Group O: 89 copies/ml HIV-2: 59.3 copies/ml
HCV	11 IU/ml
HBV	3.8 IU/ml

Η Ειδικότητα της Δοκιμασίας υπολογίζεται να είναι 99,98% σύμφωνα με μελέτες οι οποίες έχουν λάβει χώρα αποκλειστικά για τη μέθοδο.

Τέλος, όσον αφορά την επαναληψιμότητα/ αναπαραγωγιμότητα της δοκιμασίας, η συνολική ποσοστιαία συμφωνία των αποτελεσμάτων των δοκιμασιών ήταν 98.3-100% 1xLOD (Limit of Detection, Όριο ευαισθησίας) και 98.3-100% 3xLOD.

3.3.6 Αυτόματο σύστημα ανίχνευσης Cobas S201

Για τη διεξαγωγή του ελέγχου της τεχνικής cobas Taqscreen MPX χρησιμοποιείται το αυτόματο μηχάνημα cobas s201 (Εικόνα 3.3.6.1.). Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, τα αυτόματα μηχανήματα έχουν κατασκευαστεί με κύριο σκοπό την απλοποίηση των τεχνικών και τη διευκόλυνση του χειριστή. Το μηχάνημα cobas s201 αποτελείται από τρία διαδοχικά μηχανήματα που το καθένα είναι υπεύθυνο για κάθε ένα βήμα της διαδικασίας. Αναλυτικότερα, το μηχάνημα Hamilton Star είναι υπεύθυνο για τη διανομή των δειγμάτων, το μηχάνημα Cobas Ampliprep είναι υπεύθυνο για την αυτόματη εκχύλιση των νουκλεϊκών οξέων και το Cobas Taqman Analyzer είναι υπεύθυνο για την ταυτόχρονη ενίσχυση και ανίχνευση των ιών. Η εμπλοκή του χειριστή και σε αυτή τη περίπτωση περιορίζεται στην εισαγωγή δειγμάτων, αναλωσίμων και αντιδραστηρίων, στη μετακίνηση των δειγμάτων από το ένα μηχάνημα στο άλλο.

Σε γενικές γραμμές υπάρχει εμπλοκή του χειριστή σε ορισμένες διαδικασίες για μικρό όμως διάστημα. Χρησιμοποιώντας τη διαμόρφωση του ενός Hamilton Star, δύο Cobas Ampliprep και ενός Cobas Taqman Analyzer η ικανότητα εξαγωγής αποτελεσμάτων υπολογίζεται στα 126 δείγματα ανά 9 ώρες σε διαμόρφωση μοναδιαίου δότη.

Εικόνα 3.3.6.1.:

Σύστημα Cobas S201

Κεφάλαιο Τέταρτο

Λειτουργία ΚΜΕ ΑΧΕΠΑ

Το ΚΜΕ ΑΧΕΠΑ ήδη από το 2006, ελέγχει το μεγαλύτερο σύνολο των δειγμάτων της Μακεδονίας χρησιμοποιώντας τη μοριακή τεχνική Procleix Ultrio στο αυτόματο μηχάνημα Procleix Tigris (Novartis Diagnostic).

Η ημερήσια δυναμικότητα του τμήματος είναι περίπου 500-700 δείγματα ενώ έχει την ικανότητα να επεξεργαστεί πάνω από 1500 δείγματα με το υπάρχον προσωπικό και εξοπλισμό. Έως το 2013 το προσωπικό αποτελούσαν 6 Τεχνολόγοι Ιατρικών Εργαστηρίων που είχαν εκπαιδευτεί ως προς τον τρόπο χρήσης των μηχανημάτων και της μεθόδου και τους είχε δοθεί πιστοποιητικό από την κατασκευάστρια εταιρία.

Ο συνήθης τρόπος λειτουργίας είναι η συλλογή των δειγμάτων, η φυγοκέντρησή τους και η τοποθέτησή τους προς επεξεργασία. Η προετοιμασία του μηχανήματος και των αντιδραστηρίων πραγματοποιείται εντός του εργαστηρίου, σε άσηπτες συνθήκες για την αποφυγή της επιμόλυνσης των δειγμάτων. Η επεξεργασία των δειγμάτων ξεκινάει νωρίς το πρωί και ολοκληρώνεται το απόγευμα καθώς ενδιάμεσα τα δείγματα που συλλέγονται από τις αιμοδοσίες φυγοκεντρούνται και τοποθετούνται και αυτά με τη σειρά τους προς εξέταση. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνονται από τους χειριστές και από τον επιβλέποντα ιατρό και αποστέλλονται στις αιμοδοσίες.

Τα θετικά αποτελέσματα με τη σειρά τους καταγράφονται και υπόκεινται σε επιπλέον ελέγχους με σκοπό την επιβεβαίωσή τους καθώς και την κατάταξή τους ως προς τον ανιχνευόμενο ιό.

Κεφάλαιο Πέμπτο

Αποτελέσματα

Ο έλεγχος των δειγμάτων με την ευαίσθητη τεχνική του Μοριακού Ελέγχου NAT-TMA πραγματοποιείται στο δημόσιο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο της Θεσσαλονίκης «ΑΧΕΠΑ», στο Εργαστήριο Μοριακού Ελέγχου (Κ.Μ.Ε. ΑΧΕΠΑ) του Κέντρου Αίματος ΑΧΕΠΑ από το 2006. Τα παρακάτω δεδομένα συλλέχθηκαν και καταγράφησαν το χρονικό διάστημα από το 2008-2013 καθώς το τμήμα βρισκόταν σε πλήρη λειτουργικότητα και δεν υπήρχε πρόβλημα στην παροχή αντιδραστηρίων και αναλωσίμων. Επιπρόσθετα, τα έτη αυτά βρισκόταν σε ισχύ ο διαγωνισμός μεταξύ των εταιριών που προμήθευαν αντιδραστήρια και αναλώσιμα στα Κ.Μ.Ε. ανά την Ελλάδα. Τα δείγματα τα οποία συλλέχθηκαν και εξετάστηκαν αφορούν δείγματα από το μεγαλύτερο μέρος της Μακεδονίας. Αναλυτικότερα, τα δείγματα προέρχονται από τα νοσοκομεία των νομών Θεσσαλονίκης, Χαλκιδικής, Κιλκίς, Ημαθίας, Φλώρινας, Καστοριάς, Κοζάνης, Πέλλης, Παρακάτω παραθέτονται πίνακες με τα ευρήματα του Κ.Μ.Ε. ΑΧΕΠΑ.

Τα δεδομένα αφορούν αποκλειστικά δείγματα τα οποία συλλέχθηκαν από εθελοντές αιμοδότες ή από άτομα υγιή που αιμοδότησαν λόγω μετάγγισης συγγενικού τους προσώπου Η επιλογή των αιμοδοτών πραγματοποιήθηκε από εξειδικευμένο προσωπικό ύστερα από συμπλήρωση των κατάλληλων εντύπων και μετά από προφορική λήψη ιστορικού και ιατρική εξέταση.

5.1 Θετικά δείγματα σε περίοδο παραθύρου για τον ιό HIV

Κατά τη διάρκεια των 6 αυτών ετών, ελέγχθηκαν συνολικά 678.181 δείγματα. Τα παραπάνω δείγματα ελέχθησαν με τη μοριακή τεχνική Procleix Ultrio στο αυτόματο μηχάνημα Procleix Tigris (Novartis Diagnostic) και με την ορολογική τεχνική CMIA QII στο αυτόματο μηχάνημα Architect (Abbott Diagnostic). Κατά τον έλεγχο των δειγμάτων, όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα, ως θετικά για τον ιό HIV σημάνθηκαν 210 δείγματα και με τις δύο μεθόδους, ενώ 3 περιπτώσεις σημάνθηκαν ως θετικές με τη χρήση του μοριακού ελέγχου και ως αρνητικές με τη χρήση του ορολογικού.

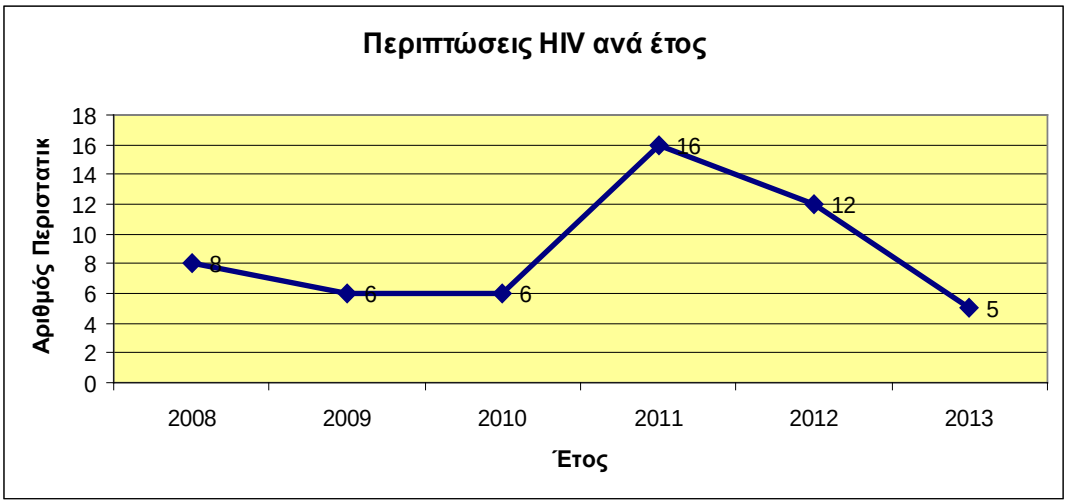
Πίνακας 5.1.1:

Θετικά δείγματα για τον ιό HIV. Στην δεύτερη στήλη παρουσιάζονται τα ελεγχόμενα δείγματα ανά έτος. Στη τρίτη στήλη παρουσιάζονται οι περιπτώσεις των δειγμάτων που εντοπίστηκαν ως θετικά τόσο με τον μοριακό έλεγχο όσο και με τον ορολογικό έλεγχο, ενώ στην τελευταία στήλη παρουσιάζονται οι περιπτώσεις των δειγμάτων που εντοπίστηκαν ως θετικές μόνο με τη χρήση της μοριακής τεχνικής ενώ με τον ορολογικό έλεγχο σημάνθηκαν ως αρνητικά.

Έτος	**Ελεγχόμενα Δείγματα**	**HIV NAT+ /Elisa+**	**HIV NAT+ /Elisa-**
2008	129813	8	
2009	110403	6	
2010	107149	6	1
2011	108864	16	1
2012	107466	12	1
2013	114486	5	
Σύνολο	**678181**	**53**	**3**

Ουσιαστικά όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 5.1.1. τα έτη 2010, 2011 και 2012 εντοπίστηκε σε κάθε έτος μία περίπτωση θετικού δείγματος μόνο με την τεχνική του μοριακού ελέγχου ενώ με τη χρήση της ορολογικής τεχνικής αυτά τα δείγματα θα είχαν σημανθεί ως αρνητικά. Ουσιαστικά, σε περίπτωση που αυτά τα δείγματα δεν εντοπίζονταν με την τεχνική του μοριακού ελέγχου τότε πιθανώς θα μεταγγίζονταν σε ασθενείς. Οι επιπτώσεις είναι γνωστές καθώς το ίδιο γεγονός είχε συμβεί κατά τη μετάγγιση μολυσμένης μονάδας αίματος με τον ιό HIV σε έφηβη στη Θεσσαλονίκη το 2006 καθώς και σε ηλικιωμένο κύριο 76 ετών, ο οποίος κατέληξε (Έφημερίδα Ριζοσπάστης 2006). Η έφηβη άνηκε στην ομάδα των πολυμεταγγιζόμενων ατόμων. Οι επιπτώσεις είναι σημαντικές τόσο στην κοινωνία καθώς χάνεται η εμπιστοσύνη των πολιτών απέναντι στο σύστημα υγείας και κυρίως προς την ασφάλεια του μεταγγιζόμενου αίματος και φυσικά σημαντικές είναι οι επιπτώσεις στην οικογένεια της ασθενούς που μολύνθηκε. Επιπλέον, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι κάθε μονάδα ολικού αίματος διαχωρίζεται σε τρία παράγωγα, σε συμπυκνωμένα ερυθρά, σε πλάσμα και αιμοπετάλια. Συνεπώς, σε περίπτωση μεταγγίσεων των εννιά μονάδων που προέκυψαν από τους τρείς αιμοδότες σε περίοδο παραθύρου, πιθανώς θα μολύνονταν ως και εννιά ασθενείς.

Αξίζει να αναφερθεί ότι σημαντικό είναι και το κόστος που προκύπτει από τις ακριβές θεραπείες καθώς και τις υπέρογκες αποζημιώσεις των παραπάνω περιπτώσεων.



Ιστόγραμμα 5.1.1.:

Περιπτώσεις θετικών δειγμάτων με τον ιό HIV τόσο με τη μοριακή τεχνική όσο και με τον ορολογικό έλεγχο ανά έτος

Στην ομάδα των εθελοντών αιμοδοτών, παρατηρείται ότι ο αριθμός των θετικών δειγμάτων αυξάνεται στα έτη 2011 και 2012 γεγονός που συνειγορεί με την αύξηση των κρουσμάτων στον γενικό πληθυσμό (Ιστόγραμμα 5.1.1.).

Μελετώντας επιδημιολογικά τα παραπάνω δεδομένα προκύπτει ο παρακάτω πίνακας.

Πίνακας 5.1.2.:

Επιδημιολογικά δεδομένα για τον ιό HIV. Αναλυτικότερα, στην δεύτερη στήλη φαίνονται όπως και στον Πίνακα 5.1.1 τα ελεγχόμενα δείγματα. Στη τρίτη στήλη φαίνονται τα θετικά περιστατικά που εντοπίστηκαν και με τις δύο τεχνικές (ορολογική και μοριακή) ανά αριθμό ελεγχόμενων δειγμάτων. Στη τέταρτη στήλη φαίνεται η πιθανότητα εντοπισμού θετικού δείγματος για τον ιό του HIV στον αιμοδοτικό πληθυσμό τα τελευταία έξι χρόνια.

Έτος	**Ελεγχόμενα Δείγματα**	**HIV NAT+ /Elisa+**	**HIV NAT+ /Elisa-**
2008	129813	1 στα 16227	
2009	110403	1 στα 18401	
2010	107149	1 στα 17858	
2011	108864	1 στα 6804	
2012	107466	1 στα 8956	
2013	114486	1 στα 22897	
Σύνολο	**678181**	**1 στα 12796**	**1 στα 226060**

Έχοντας καλύτερη εικόνα και χρησιμοποιώντας τους Πίνακας 5.1.1 και 5.1.2, παρατηρείται ότι το 2008, 2009 και το 2010 ο αριθμός των θετικών, με τον ιό HIV, μονάδων αντιστοιχούσε στις 1:16227, 1:18401 και 1:17858 αντιστοίχως. Παρόλα αυτά, τα έτη 2011 και ιδιαίτερα το έτος 2012 οι θετικές μονάδες υπολογίζονται περίπου στις 1:6804 και 1:8956 αντιστοίχως. Τα παραπάνω δεδομένα αφορούν τον αιμοδοτικό πληθυσμό. Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν από την συγκεκριμένη τράπεζα αίματος συμφωνούν με τα δεδομένα του γενικού πληθυσμού όπου τα τελευταία χρόνια (κυρίως 2011 και 2012) εν όψει οικονομικής κρίσης εμφανίζεται αυξημένος ο αριθμός των κρουσμάτων. Ο Ιατρικός Σύλλογος Αθηνών, αναφέρει ότι τα αυστηρά μέτρα λιτότητας είχαν ως αποτέλεσμα την περικοπή έως και διακοπή πολλών πετυχημένων προγραμμάτων για την πρόληψη της μετάδοσης του AIDS, ακόμη και του προγράμματος ανταλλαγής συριγγών το οποίο διαφύλαττε τις στοιχειώδεις συνθήκες υγιεινής στην αναχαίτιση της μετάδοσης του ιού. Επιπλέον, λόγω της οικονομικής κρίσης, μειώθηκε η εμβολιαστική κάλυψη πολλών λοιμωδών νοσημάτων ενώ αυξήθηκε η μετακίνηση μεγάλων ομάδων πληθυσμών με άσχημες υγειονομικές συνθήκες διαβίωσης. Αποτέλεσμα είναι η ανεξέλεγκτη μετάδοση πολλών λοιμωδών νοσημάτων και κυρίως του AIDS (Ηλεκτρονική Εφημερίδα, Ανεξάρτητη ενημέρωση tvxs). Ήδη από το 2012 ο Ελληνικός τύπος με δημοσιεύσεις του (Φυντανίδου 2012) αναφέρει ότι στο τέλος του 2012 ο αριθμός των νέων HIV λοιμώξεων θα υπερβεί τις 1.250. Γενικά παρατηρήθηκε αύξηση των κρουσμάτων μεγαλύτερη του 50% σε σχέση με το 2011.

Επιπλέον, στον Ελληνικό τύπο αναφέρθηκε αύξηση των κρουσμάτων του ιού HIV και στην Ανατολική Ευρώπη. Ειδικότερα, αναφέρεται ότι ενώ στη Δυτική Ευρώπη

τα κρούσματα από το 2006 έως το 2012 εμφανίζουν μείωση κατά 48%, στην Ανατολική Ευρώπη που ανήκει στη λίστα των χωρών της Ευρωπαϊκής Περιφέρειας του Π.Ο.Υ. (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας), ο αριθμός των νεοδιαγνωσθέντων με AIDS αυξήθηκε κατά 113%. (Ιστοσελίδα «In.gr» 2013˙ Εφημερίδα «Ελευθεροτυπία» 2013).

Ενθαρρυντικό είναι το γεγονός ότι σύμφωνα με τα τελευταία επιδημιολογικά δεδομένα που ανακοινώθηκαν από το ΚΕΕΛΠΝΟ το 2013 συγκριτικά με το 2012, υπάρχει η τάση υποχώρησης νέων μολύνσεων από τον ιό HIV, το οποίο όμως ανακοινώνεται με κάθε επιφύλαξη (Υπουργείο Υγείας. ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. 2014) γεγονός που αντικατοπτρίζεται και στα συλλεγόμενα δεδομένα.

5.2 Θετικά δείγματα σε περίοδο παραθύρου για τον ιό HCV

Όσον αφορά τα αποτελέσματα από την καταγραφή για τον ιό της Ηπατίτιδας C, και πάλι σε συνολικό αριθμό δειγμάτων 678.181, με τις τεχνικές Procleix Ultrio στο αυτόματο μηχάνημα Procleix Tigris (Novartis Diagnostic) και με την ορολογική τεχνική CMIA QII στο αυτόματο μηχάνημα Architect (Abbott Diagnostic), ως θετικά για τον ιό HCV σημάνθηκαν 232 δείγματα και με τις δύο μεθόδους, ενώ 5 περιπτώσεις σημάνθηκαν ως θετικές με τη χρήση του Μοριακού Ελέγχου και ως αρνητικές με τη χρήση του ορολογικού.

Πίνακας 5.2.1:

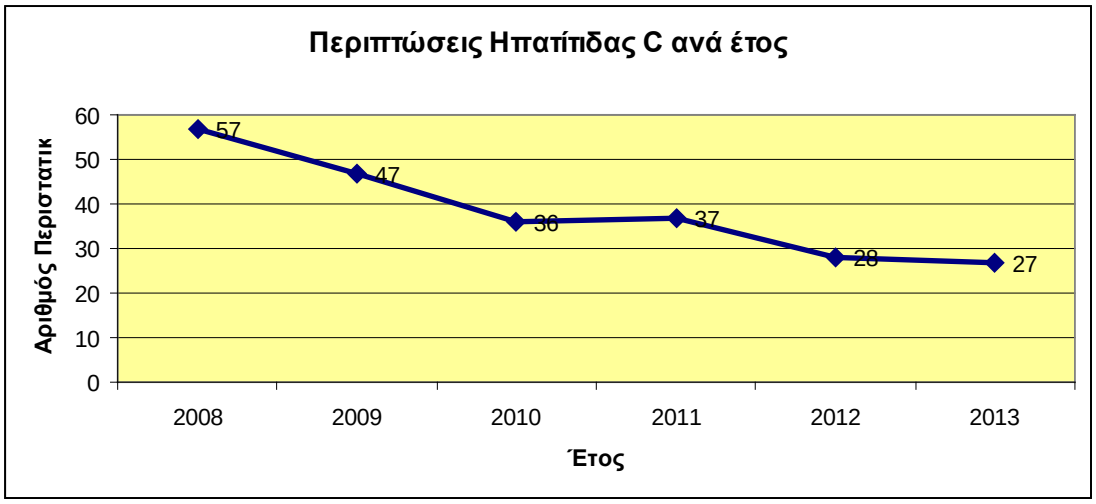
Θετικά δείγματα για τον ιό HCV. Στην δεύτερη στήλη παρουσιάζονται τα ελεγχόμενα δείγματα ανά έτος. Στη τρίτη στήλη παρουσιάζονται οι περιπτώσεις των δειγμάτων που εντοπίστηκαν ως θετικά τόσο με τον μοριακό έλεγχο όσο και με τον ορολογικό έλεγχο, ενώ στην τελευταία στήλη παρουσιάζονται οι περιπτώσεις των δειγμάτων που εντοπίστηκαν ως θετικές μόνο με τη χρήση της μοριακής τεχνικής ενώ με τον ορολογικό έλεγχο σημάνθηκαν ως αρνητικά. Συνολικά για τα έτη 2008-2013 εντοπίστηκαν 5 περιπτώσεις σε περίοδο παραθύρου.

Έτος	**Ελεγχόμενα Δείγματα**	**HCV NAT+/Elisa+**	**HCV NAT+/Elisa-**
2008	129813	57	3
2009	110403	47	
2010	107149	36	
2011	108864	37	
2012	107466	28	1
2013	114486	27	1
Σύνολο	**678181**	**232**	**5**

Παρατηρείται ότι το έτος 2008 εντοπίστηκαν τρεις περιπτώσεις σε περίοδο παραθύρου για τον ιό της Ηπατίτιδας C. Ουσιαστικά, είναι οι περιπτώσεις στις οποίες εντοπίστηκε η εμφάνιση του ιού στο δείγμα μόνο με τη χρήση της μοριακής τεχνικής ενώ με τη χρήση του ορολογικού ελέγχου τα παραπάνω δείγματα σημάνθηκαν ως αρνητικά. Επιπλέον, τα έτη 2012 και 2013 εντοπίστηκε σε κάθε έτος μία περίπτωση που ανήκει στην κατηγορία που μόλις περιγράφηκε παραπάνω. Όπως και στην περίπτωση για τον ιό HIV, έτσι και εδώ, οι πέντε αυτές περιπτώσεις που περιγράφηκαν ότι ανήκουν στη περίοδο παραθύρου, μπορεί με τη χρήση μόνο της ορολογικής τεχνικής να μεταγγίζονταν σε ασθενείς με αποτέλεσμα να προέκυπταν περιστατικά μόλυνσης μέσω μετάγγισης. Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, κάθε μονάδα ολικού αίματος μπορεί να διαχωριστεί σε πάνω από τρία παράγωγα με αποτέλεσμα ο αριθμός των κρουσμάτων πολλαπλασιάζεται. Μέχρι στιγμής στην Ελλάδα, τα τελευταία πέντε χρόνια δεν έχει καταγραφεί καμία περίπτωση μετάδοσης της νόσου μέσω μετάγγισης. Σε περιπτώσεις υποψίας μετάδοσης μέσω μετάγγισης πραγματοποιείται εκτενής έλεγχος των δοτών αίματος καθώς και του περιβάλλοντος του ασθενούς για να εντοπιστεί η πιθανή αιτία μόλυνσης του ασθενούς. Όσον αφορά την Ηπατίτιδα C, έχει καταγραφεί ένα σημαντικό ποσοστό της τάξεως του 10%, όπου δεν είναι γνωστή η αιτία της μόλυνσης των ατόμων που είναι φορείς της Ηπατίτιδας C (Flamm, Parker, Chopra 1996)

Στην ομάδα των αιμοδοτών, παρατηρείται περίπου η ίδια εικόνα που διατυπώθηκε παραπάνω για τον ιό HIV. Από το 2008 έως το 2013 παρατηρείται φθίνουσα πορεία καθώς μειώνεται η συχνότητα στο πληθυσμό των εθελοντών αιμοδοτών.

Μάλιστα σημαντική μείωση παρατηρείται κατά τα έτη 2012 και 2013 όπως εξάλλου φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα (Πίνακα 5.2.1.) όπου τα πρώτα έτη υπάρχει αυξημένος αριθμός θετικών δειγμάτων για τον ιό HCV. Με το πέρας των ετών παρατηρείται ότι ο αριθμός αυτός έχει αρχίσει να φθίνει.



Ιστόγραμμα 5.2.1.:

Περιπτώσεις θετικών δειγμάτων με τον ιό HCV τόσο με τη μοριακή τεχνική όσο και με τον ορολογικό έλεγχο ανά έτος

Μελετώντας επιδημιολογικά τα παραπάνω δεδομένα προκύπτει ο παρακάτω πίνακας.

Πίνακας 5.2.2.:

Επιδημιολογικά δεδομένα για τον ιό HCV. Αναλυτικότερα, στην δεύτερη στήλη φαίνονται όπως και στον Πίνακα 5.2.1 τα ελεγχόμενα δείγματα. Στη τρίτη στήλη φαίνεται ο αριθμός των θετικών περιπτώσεων που εντοπίστηκαν και με τις δύο τεχνικές (ορολογική και μοριακή) ανά αριθμό ελεγχόμενων δειγμάτων. Στη τέταρτη στήλη φαίνεται η πιθανότητα εντοπισμού θετικού δείγματος για τον ιό του HIV στον αιμοδοτικό πληθυσμό τα τελευταία έξι χρόνια.

Έτος	**Ελεγχόμενα Δείγματα**	**HCV NAT+/Elisa+**	**HCV NAT+/Elisa-**
2008	129813	1 στα 2277	
2009	110403	1 στα 2349	
2010	107149	1 στα 2976	
2011	108864	1 στα 2942	
2012	107466	1 στα 3838	
2013	114486	1 στα 4240	
Σύνολο	**678181**	**1 στα 2923**	**1 στα 135636**

Όπως και στον Πίνακα 5.2.1. έτσι και στον Πίνακα 5.2.2. φαίνεται η μείωση που παρατηρείται σε βάθος χρόνου καθώς κατά τα έτη 2012 και 2013 είναι εμφανής η μείωση των θετικών δειγμάτων φθάνοντας το 2013 στα 1:4240. Επιπλέον, παρατηρείται ότι η περίπτωση μετάδοσης μέσω μετάγγισης μονάδας που πιθανώς βρίσκεται σε περίοδο παραθύρου υπολογίζεται σε 1 στις 135636 φιάλες. Δεδομένα από μελέτες άλλων αιμοδοσιών στην Ελλάδα, δείχνουν χαμηλό επιπολασμό της νόσου (0,042%) (Χατζηγιάννης 1999, Ανδριώτης, Τζιλιανός,, Νασούλα, Στάβερη, Σαγιάς 2011) στοιχεία που δεν συμβαδίζουν με τα δεδομένα που λαμβάνονται από το ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ., στα οποία ο επιπολασμός της Ηπατίτιδας C στο γενικό πληθυσμό υπολογίζεται στο 1 – 2,4% (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. Ιογενείς Ηπατίτιδες-Ηπατίτιδα C). Η διαφορά αυτή προκύπτει από το γεγονός ότι το δείγμα το οποίο λαμβάνεται αφορά σε αιμοδότες και κυρίως εθελοντές αιμοδότες που εμφανίζουν χαμηλότερο επιπολασμό ως προς μολύνσεις ιών συγκριτικά με όλες τις άλλες ομάδες που μελετώνται.

Στον διεθνή τύπο, αναφέρεται ότι η μετάδοση του ιού HCV μέσω μετάγγισης αίματος ή μεταμόσχευσης οργάνων είναι πλέον σπάνια καθώς οι αιμοδοσίες χρησιμοποιούν τεχνικές τελευταίας τεχνολογίας ελέγχου των δοτών, όπως για παράδειγμα ο μοριακός έλεγχος με αποτέλεσμα να ανιχνεύεται η παρουσία του ιού ακόμη και σε δότες που έχουν μολυνθεί πολύ πρόσφατα από τον ιό. Η χρήση άλλων τεχνικών όπως για παράδειγμα ορολογικών, πιθανώς να δώσουν αρνητικά αποτελέσματα. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται σήμερα υπολογίζεται ότι έχουν εμποδίσει περίπου 56 μεταγγίσεις που θα μετέδιδαν τον ιό HCV στις ΗΠΑ από το 1999. Επιπλέον, έχουν μειώσει το ρίσκο μετάδοσης μέσω μετάγγισης στο 1:2.000.000! (Strammer et al 2004).

5.3 Θετικά δείγματα σε περίοδο παραθύρου για τον ιό HBV και σε περιπτώσεις λανθάνουσας Ηπατίτιδας Β

Στη συνέχεια παρατίθενται τα αποτελέσματα από την καταγραφή των δεδομένων για τον ιό της Ηπατίτιδας Β. Χρησιμοποιήθηκαν οι τεχνικές Procleix Ultrio στο αυτόματο μηχάνημα Procleix Tigris (Novartis Diagnostic) για τον Μοριακό Έλεγχο ενώ για τον ορολογικό έλεγχο χρησιμοποιήθηκε η τεχνική CMIA QII στο αυτόματο μηχάνημα Architect (Abbott Diagnostic). Ελέγχθηκαν συνολικά 678.181 δείγματα. Ως θετικά για τον ιό HBV σημάνθηκαν 1101 δείγματα και με τις δύο μεθόδους, ενώ 3 περιπτώσεις σημάνθηκαν ως θετικές με τη χρήση του μοριακού ελέγχου και ως αρνητικές με τη χρήση του ορολογικού και κατατάχθηκαν στις περιπτώσεις που ανήκουν σε περίοδο παραθύρου ενώ 67 περιπτώσεις σημάνθηκαν ως περιπτώσεις Λανθάνουσας Ηπατίτιδας Β. Επιπλέον υπήρξαν άλλες 55 περιπτώσεις που είναι υπό εξέταση.

Πίνακας 5.3.1:

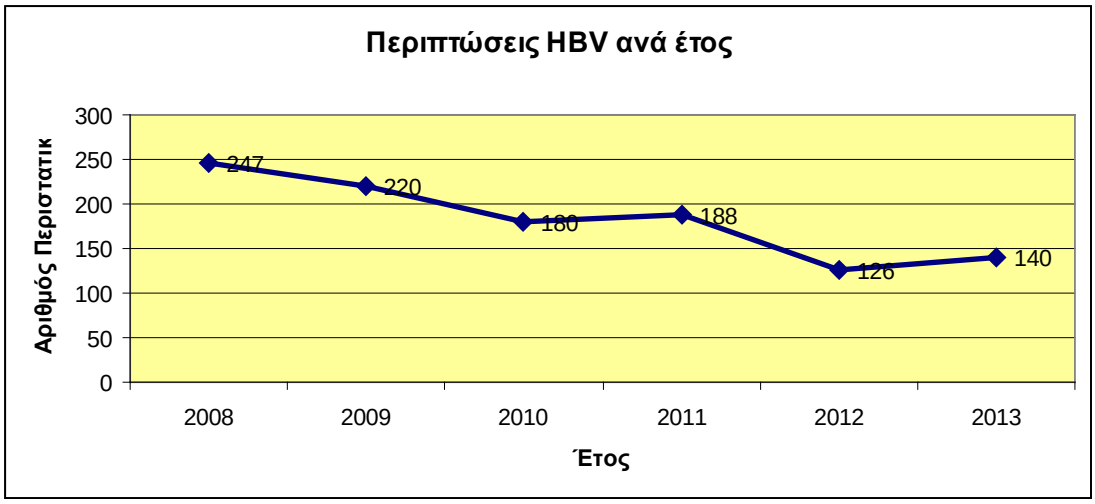
Θετικά δείγματα για τον ιό HBV. Στην δεύτερη στήλη παρουσιάζονται τα ελεγχόμενα δείγματα ανά έτος. Στη τρίτη στήλη παρουσιάζονται οι περιπτώσεις των δειγμάτων που εντοπίστηκαν ως θετικά τόσο με τον μοριακό έλεγχο όσο και με τον ορολογικό έλεγχο, ενώ στην τέταρτη στήλη παρουσιάζονται οι περιπτώσεις των δειγμάτων που εντοπίστηκαν ως θετικές μόνο με τη χρήση της μοριακής τεχνικής ενώ με τον ορολογικό έλεγχο σημάνθηκαν ως αρνητικά. Επιπλέον υπάρχουν δύο ακόμη στήλες, η πέμπτη και η έκτη όπου παρουσιάζουν τις περιπτώσεις στις οποίες τα δείγματα σημάνθηκαν ως θετικά μόνο με τη μοριακή τεχνική. Η ιδιαιτερότητα των δειγμάτων αυτών είναι ότι με τη χρήση ορολογικών τεχνικών (έλεγχος αυστραλιανού αντιγόνου, HbsAg) σημάνθηκαν ως αρνητικά. Παρόλα αυτά κατά τον περαιτέρω έλεγχο δεικτών για την Ηπατίτιδα Β, δείκτες που χρησιμοποιούνται κατά περίπτωση και μόνο σε θετικά δείγματα, είχαν θετικά αποτελέσματα.

Έτος	**Ελεγχόμενα Δείγματα**	**HBV NAT+/Elisa+**	**HBV NAT+/Elisa-**	**Occult**	**Μη επιβεβαιωμένες Occult**
2008	129813	247	1	18	11
2009	110403	220		20	15
2010	107149	180		9	8
2011	108864	188		7	5
2012	107466	126	1	9	5
2013	114486	140	1	5	11
Σύνολο	**678181**	**1101**	**3**	**68**	**55**

Τα έτη 2008, 2012 και 2013 καταγράφηκαν τρείς περιπτώσεις, μία ανά έτος, οι οποίες εντοπίστηκαν μόνο από τον μοριακό έλεγχο και όχι από τον ορολογικό έλεγχο. Οι τρεις περιπτώσεις αυτές ήταν αιμοδότες που βρίσκονταν στην περίοδο παραθύρου. Σε αυτή τη φάση της λοίμωξης η μόλυνση είναι πρόσφατη και ο ιός εντοπίζεται στο αίμα σε χαμηλά επίπεδα, γίνεται όμως αντιληπτός από τις μοριακές μεθόδους οι οποίες ανιχνεύουν το γενετικό υλικό του ιού. Η αδυναμία εντοπισμού τους από τις ορολογικές μεθόδους βρίσκεται στο γεγονός ότι ο έλεγχος στηρίζεται στον εντοπισμό των αντιγόνων του ιού ή των αντισωμάτων που ο ξενιστής παράγει και εκλύονται στο αίμα, διαδικασία που απαιτεί περισσότερο χρόνο. Επιπλέον, μπορεί να οφείλεται και στη μειωμένη ευαισθησία των μεθόδων αυτών.

Ουσιαστικά, οι περιπτώσεις αυτές χαρακτηρίζονται από μεγάλη μολυσματικότητα καθώς ο ιός εμφανίζει εκθετική φάση πολλαπλασιασμού (Βλαχογιαννάκος). Καθώς υπάρχει αδυναμία εντοπισμού από τις ορολογικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται στο καθημερινό έλεγχο του εργαστηρίου, μοναδικός τρόπος εντοπισμού θεωρούνται οι μοριακές τεχνικές, οι οποίες όπως έχει αναφερθεί προηγουμένως, αν και μειώνουν το παράθυρο της μόλυνσης, παρ’ όλα αυτά δεν το εξαλείφουν τελείως. Αποτέλεσμα είναι να υπάρχει πάντα η περίπτωση τα επίπεδα του ιού να είναι τόσο χαμηλά ώστε να μην είναι δυνατή η ανίχνευσή του. Οι παραπάνω τρεις περιπτώσεις όπως έχει περιγραφεί και στους προηγούμενους ιούς, δυνητικά μπορεί να μολύνουν έως και 9 άτομα καθώς κάθε μονάδα διαχωρίζεται στα παράγωγά της.

Στον Πίνακα 5.3.1. οι δύο τελευταίες στήλες αναφέρονται στις περιπτώσεις «Occult» ή αλλιώς λανθάνουσας Ηπατίτιδας Β. Η λανθάνουσα Ηπατίτιδα Β χαρακτηρίζεται από την απουσία του αυστραλιανού αντιγόνου (HBsAg) και την ύπαρξη χαμηλού ιικού φορτίου στο αίμα (Zeinab Nabil Ahmed Said. 2011). Στις περισσότερες περιπτώσεις της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β υπάρχει πολύ μεγάλη πιθανότητα εντοπισμού κάποιου δείκτη για την ηπατίτιδα Β ο οποίος δεν χρησιμοποιείται στον έλεγχο ρουτίνας. Ο πιο συχνός δείκτης που εμφανίζεται σε αυτές τις περιπτώσεις είναι το αντίσωμα κατά του αντιγόνου του πυρήνα του ιού, Anti-HBc με ή χωρίς την ύπαρξη των αντισωμάτων (anti-S) έναντι του αντιγόνου επιφανείας. Οι υπόλοιποι δείκτες της λοίμωξης ανιχνεύονται σε πολύ μικρότερη συχνότητα (Brojer, Grabarczyk, Liszewski, Mikulska, Allain, Letowska 2006). Οι απόψεις σχετικά με τη μολυσματικότητα της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β διίστανται. Ορισμένοι υποστηρίζουν ότι είναι μολυσματική παρά το χαμηλό ιικό φορτίο, ιδιαίτερα σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (Allain 2004). Μελέτες δείχνουν ότι η μολυσματικότητα της νόσου αυξάνεται με την απουσία αντισωμάτων έναντι του ιού της Ηπατίτιδας Β (Allain & Candotti. 2012) Επιπλέον, αναφέρεται ότι η ύπαρξη λανθάνουσας Ηπατίτιδας Β σε άτομο – ασθενή πιθανώς οδηγεί σε κίρρωση του ήπατος και την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (Raimondo, Pollicino, Cacciola, Squadrito, 2007). Οι περιπτώσεις που έχουν εντοπιστεί και αναφέρονται ως «Occult» τα έτη από το 2008-2013 υπολογίζονται στις 68. Επιπλέον, στη τελευταία στήλη του πίνακα αναφέρονται οι περιπτώσεις που χαρακτηρίζονται ως μη επιβεβαιωμένες «Occult». Οι περιπτώσεις αυτές αφορούν δείγματα τα οποία χαρακτηρίστηκαν ως θετικά με τον μοριακό έλεγχο, χωρίς να υπάρξει επιβεβαίωση από την δοκιμασία διάκρισης ως προς το είδος του ιού, και ταυτόχρονα εντοπίστηκαν ορισμένοι ορολογικοί δείκτες παλαιότερης λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Β. Οι μη επιβεβαιωμένες περιπτώσεις όσον αφορά την λανθάνουσα Ηπατίτιδα Β ήταν 55 και οι αιμοδότες αυτοί επανελέγχονται. Επίσης όλοι οι αιμοδότες με δείκτες παρελθούσας λοίμωξης από τον ιό ή με λανθάνουσα ηπατίτιδα Β παραπέμπονται σε ηπατολόγο για παρακολούθηση.



Ιστόγραμμα 5.3.1.:

Περιπτώσεις θετικών δειγμάτων με τον ιό HBV τόσο με τη μοριακή τεχνική όσο και με τον ορολογικό έλεγχο ανά έτος

Γενικότερα όσον αφορά την ομάδα των αιμοδοτών παρατηρείται μια γενικότερη φθίνουσα πορεία των περιστατικών που εντοπίστηκαν με τον ιό της Ηπατίτιδας Β. Μάλιστα σημαντική μείωση παρατηρείται κατά τα έτη 2012 και 2013.

Μελετώντας επιδημιολογικά τα παραπάνω δεδομένα προκύπτουν τα παρακάτω αποτελέσματα.

Πίνακας 5.3.2.:

Επιδημιολογικά δεδομένα για τον ιό HBV. Αναλυτικότερα, στην δεύτερη στήλη φαίνονται όπως και στον Πίνακα 5.3.1 τα ελεγχόμενα δείγματα. Στη τρίτη στήλη ο αριθμός των θετικών περιστατικών και με τις δύο τεχνικές (ορολογική και μοριακή) που εντοπίστηκαν ανά αριθμό ελεγχόμενων δειγμάτων. Στη τέταρτη στήλη φαίνεται η πιθανότητα εντοπισμού θετικού δείγματος για τον ιό του HBV στον αιμοδοτικό πληθυσμό. Στις δύο τελευταίες στήλες φαίνονται οι επιβεβαιωμένες και μη επιβεβαιωμένες περιπτώσεις λανθάνουσας Ηπατίτιδας Β στο αιμοδοτικό πληθυσμό τα τελευταία έξι χρόνια.

Έτος	Ελεγχόμενα Δείγματα	HBV NAT+/Elisa+	HBV NAT+/Elisa-	Occult	Μη επιβεβαιωμένες Occult
2008	129813	1 στα 526		1 στα 7212	1 στα 11801
2009	110403	1 στα 502		1 στα 5520	1 στα 7360
2010	107149	1 στα 595		1 στα 11905	1 στα 13393
2011	108864	1 στα 579		1 στα 15552	1 στα 21773
2012	107466	1 στα 852		1 στα 11940	1 στα 21493
2013	114486	1 στα 818		1 στα 22897	1 στα 10407
Σύνολο	**678181**	**1 στα 616**	**1 στα 226060**	**1 στα 9973**	**1 στα 12330**

Αυξημένες εμφανίζονται οι περιπτώσεις της Ηπατίτιδας Β που αναλύονται στον Πίνακα 5.3.2 συγκριτικά με τους αντίστοιχους πίνακες για τον ιό HIV και HCV, Πίνακας 5.1.2 και Πίνακας 5.2.2 αντιστοίχως. Τα αυξημένα ποσοστά δικαιολογούν το γεγονός ότι η Ελλάδα χαρακτηρίζεται ως χώρα ενδιάμεσης ενδημικότητας με μεγάλη διακύμανση της κατανομής του αυστραλιανού αντιγόνου σε διάφορες περιοχές και υποπληθυσμούς. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ύστερα από μελέτη στη Θράκη, τα ποσοστά σε ενήλικες μουσουλμάνους είναι 8,2%, σε μετανάστες από χώρες της πρώην ΕΣΣΔ 4,3% και σε γηγενείς χριστιανικούς πληθυσμούς 3,4% (Zacharakis, Kotsiou, Papoytselis, et al 2009). Σε περιοχές με υψηλά ποσοστά οικονομικών μεταναστών τα ποσοστά του αυστραλιανού αντιγόνου υπολογίστηκαν περίπου στο 22,6% (Dalekos, Zervou, Karabini, Tsianos, 1995). Από πρόσφατη επιδημιολογική μελέτη που έλαβε χώρα στο Γ.Ν.Κέρκυρας (Ανδριώτης. Τζιλιανός. Νασούλα, Στάβερη, Βασιλάκη, Τζαφέστα. 2010) βρέθηκε ότι η μέση ηλικία των αιμοδοτών με θετική HBV λοίμωξη είναι τα 40 έτη. Το 62% αυτών ήταν αλλοδαποί ενώ το υπόλοιπο 38% ελληνικής καταγωγής και επίσης βρέθηκε χαμηλός επιπολασμός για τον ιό της Ηπατίτιδας Β που φτάνει το 0,30% (Ανδριώτης και συν 2010).

Σε γενικές γραμμές, η φθίνουσα πορεία που παρατηρείται στους παραπάνω πίνακες που αφορά την Ηπατίτιδα Β, είναι εμφανής τόσο στα δείγματα που έχουν σημανθεί και με τις δύο μεθόδους θετικά όσο και στα δείγματα που έχουν εντοπιστεί με λανθάνουσα Ηπατίτιδα Β. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με το Ενημερωτικό Δελτίο από το ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. στο οποίο αναφέρει ότι στην περίοδο από το 1996 έως το 2011 παρατηρείται φθίνουσα τάση στους δείκτες HBsAg όσο και στους δείκτες anti-HCV και φαίνονται να είναι στατιστικά σημαντικοί. Επίσης σημειώνεται ότι παρά τη μειούμενη τάση του συνόλου των λοιμώξεων, η συχνότητα όλων των ελεγχόμενων λοιμώξεων παραμένει υψηλή σε

σύγκριση με εκείνη των δυτικοευρωπαϊκών χωρών. Χαρακτηριστικά αναφέρεται επίσης ότι οι οροθετικές μονάδες αίματος για HbsAg αντιπροσωπεύουν το 70% του συνόλου των λοιμώξεων στην Ελλάδα (Υπουργείο Υγείας, ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. 2012) .

5.4 Θετικά δείγματα σε περίοδο παραθύρου για τον ιό του Δυτικού Νείλου

Ο ιός του Δυτικού Νείλου, όπως έχει αναφερθεί παραπάνω μεταδίδεται στον άνθρωπο μέσω εντόμων (κυρίως μέσω του κουνουπιού). Και αυτός ο ιός όπως και οι προηγούμενοι έχει την πιθανότητα μετάδοσης μέσω μετάγγισης. Η μόλυνση του ατόμου με το συγκεκριμένο ιό, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις με ασθενές ανοσοποιητικό, μπορεί να έχει ως συνέπεια τη λοίμωξη του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος με πιθανό επακόλουθο το θάνατο. Με σκοπό τη διαφύλαξη της ασφάλειας του αίματος και τη χορήγηση όσο του δυνατόν μη μολυσμένου αίματος, ορισμένους μήνες το χρόνο, σε περιόδους έξαρσης του ιού, τους θερινούς μήνες, εκτελείται ο έλεγχος για τον ιό του Δυτικού Νείλου των μονάδων αίματος από αιμοδότες που διαμένουν σε περιοχές υψηλόυ κινδύνου, δηλαδή περιοχές όπου έχει εμφανιστεί κρούσμα προσβολής από το συγκεκριμένο ιό. Επιπλέον δίνονται οδηγίες από το Υπουργείο Υγείας ή το ΚΕΕΛΠΝΟ, για την επιλογή των αιμοδοτών και τις δράσεις τους σε τέτοιες περιόδους (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. Πληροφορίες για τους Επαγγελματίες Υγείας) με σκοπό τη διαφύλαξη της ασφάλειας του αίματος.

Ο Έλεγχος με τεχνικές Μοριακού Ελέγχου για τον ιό του Δυτικού Νείλου ξεκίνησε το καλοκαίρι του 2010, στη Βόρεια Ελλάδα καθώς εμφανίστηκαν πολλά κρούσματα εγκεφαλοπαθειών. Έκτοτε, αρκετές περιοχές έχουν χαρακτηριστεί ως «επηρεαζόμενες περιοχές» δηλαδή έχουν αναφερθεί και επιβεβαιωθεί εργαστηριακά κρούσματα του ιού του Δυτικού Νείλου. Εν έτη 2013, ο έλεγχος έχει εξαπλωθεί εκτός από τη Βόρεια Ελλάδα (Μακεδονία και Θράκη) και στη Κεντρική και Στερεά Ελλάδα καθώς στο Νομό Λαρίσης όπως και στο νομό Αττικής έχουν καταγραφεί πολλά κρούσματα.

Κατά τα έτη 2010-2013, έχουν ελέγχει με τη δοκιμασία μοριακού ελέγχου για τον εντοπισμό του ιού του Δυτικού Νείλου 68.676 μονάδες αίματος, από τις οποίες οι 7

σημάνθηκαν ως θετικές και από αυτές οι 5 επιβεβαιώθηκαν με ορολογικές τεχνικές και συγκεκριμένα η επιβεβαίωση πραγματοποιήθηκε στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Αρμποϊών και Αιμοραγικών Πυρετών στην Ιατρική Σχολή του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Η τεχνική Μοριακού ελέγχου με την οποία πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος είναι η τεχνική Procleix Ultrio στο αυτόματο μηχάνημα Procleix Tigris (Novartis Diagnostic). Τα επιβεβαιωμένα δείγματα που καταγράφηκαν και φαίνονται στον Πίνακα 5.4.1. ήταν από μονάδες που επρόκειτο να δοθούν προς μετάγγιση. Καθώς, όπως περιγράφεται παρακάτω, οι θάνατοι από τον ιό του Δυτικού Νείλου συνέβησαν σε άτομα μεγάλης ηλικίας και κυρίως σε άτομα με βεβαρυμμένο ιατρικό ιστορικό, είναι πολύ πιθανόν η λήψη μολυσμένων παραγώγων αίματος από άτομα που συγκαταλέγονται στην παραπάνω ομάδα να είχε μοιραίο αποτέλεσμα για αυτά. Με την εισαγωγή του Μοριακού Ελέγχου, τόσο για τους ιούς HIV, HCV και HBV όσο και για τον ιό WNV έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ασφάλειας του αίματος και τη μείωση των περιπτώσεων μετάδοσης ιογενών λοιμώξεων που μπορεί να προκύψουν με πιθανή μοιραία κατάληξη.

Πίνακας 5.4.1:

Θετικά δείγματα για τον ιό WNV. Στην δεύτερη στήλη παρουσιάζεται ο αριθμός ελεγχόμενων δειγμάτων ανά έτος. Στη τρίτη στήλη παρουσιάζονται οι περιπτώσεις των δειγμάτων που εντοπίστηκαν ως θετικά μόνο με τον μοριακό έλεγχο καθώς έλεγχοι με τη χρήση ορολογικών τεχνικών στον καθημερινό έλεγχο των δειγμάτων δεν είναι διαθέσιμοι. Παρ' όλα αυτά τα δείγματα διασταυρώθηκαν ως προς την ύπαρξη αντισωμάτων σε ανεξάρτητο εργαστήριο. Επιπλέον, έλεγχος για τον ιό του Δυτικού Νείλου δε πραγματοποιήθηκε τα έτη 2008-2009 καθώς δεν εμφανίστηκαν κρούσματα.

Έτη	**Ελεγχόμενα Δείγματα**	**WNV-RNA +**
2010	24.536	6
2011	25.482	
2012	11.502	1
2013	7.156	
Σύνολο	**68.676**	**7**

Στην Ελλάδα μέχρι το καλοκαίρι του 2010 δεν είχε καταγραφεί περιπτώσεις λοίμωξης σε άνθρωπο από τον ιό του Δυτικού Νείλου. Παρ' όλα αυτά μελέτες που διενεργήθηκαν κατά τη δεκαετία του 1960, 1980 και το 2007 ανέδειξαν αντισώματα έναντι του ιού του Δυτικού Νείλου σε ποσοστό 1% στον πληθυσμό της περιφέρειας της Κεντρικής Μακεδονίας (Ετήσια Έκθεση για τον ιό του Δυτικού Νείλου. ΚΕΕΛΠΝΟ 2010). Το 2010 διαγνώστηκαν συνολικά 262 κρούσματα λοίμωξης από τον ιό του Δυτικού Νείλου. Οι περισσότερες περιπτώσεις καταγράφηκαν στη Βόρεια Ελλάδα από όπου και ξεκίνησε ο έλεγχος (Papa, Danis, Baka et al 2010)

Σημειώθηκαν συνολικά 35 θάνατοι, όλοι σε υπερήλικα άτομα με επιβαρυμένο ιατρικό ιστορικό. Από τα 262 περιστατικά, τα 197 αφορούσαν κρούσματα με εκδηλώσεις από το κεντρικό νευρικό σύστημα (εγκεφαλίτιδα ή/και μηνιγγίτιδα ή/και οξεία χαλαρή παράλυση) ενώ τα υπόλοιπα αφορούσαν ήπιες εκδηλώσεις (Ετήσια Έκθεση για τον ιό του Δυτικού Νείλου. ΚΕΕΛΠΝΟ 2010). Από στοιχεία του ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. το 2011 διαγνώσθηκαν συνολικά 101 κρούσματα λοίμωξης από τον Ιό του Δυτικού Νείλου. Τα 76 από αυτά εμφάνισαν εκδηλώσεις από το κεντρικό νευρικό σύστημα ενώ 25 κρούσματα είχαν ήπιες εκδηλώσεις. Επίσης καταγράφηκαν 9 θάνατοι σε ασθενείς άνω των 65 ετών. (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. WNV 2011)

Το 2012 και το 2013 διαγνώστηκαν 161 και 86 εγχώρια κρούσματα της λοίμωξης αντιστοίχως. Τα 109 εμφάνισαν εκδηλώσεις από το κεντρικό νευρικό σύστημα, όπως αναλύθηκαν παραπάνω για το έτος 2012, ενώ το έτος 2013, ο αριθμός των σοβαρών περιστατικών καταμετρήθηκε στις 51. Οι ήπιες περιπτώσεις όπως τα εμπύρετα νοσήματα καταμετρήθηκαν στα 51 και 35 περιστατικά για τα έτη 2012 και 2013 αντιστοίχως. Για το έτος 2012 καταγράφηκαν 18 θάνατοι σε ασθενείς άνω των 70 ετών με υποκείμενα νοσήματα, ενώ για το έτος 2013 καταγράφηκαν συνολικά 11 θάνατοι ασθενών με λοίμωξη εκ των οποίων οι 10 αφορούσαν εκδηλώσεις από το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. WNV 2012, ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. WNV 2013).

Επιπλέον, σε αναδρομικό έλεγχο που πραγματοποιήθηκε σε πολυμεταγγιζόμενα άτομα της Μακεδονίας και της Λάρισας με στόχο την εύρεση πιθανής μετάδοσης μετά τη μετάγγιση λοίμωξης από τον ιό του Δυτικού Νείλου, διαγνώστηκε μία περίπτωση σε πολυμεταγγιζόμενο άτομο και άλλη μία με ισχυρή ένδειξη

μετάδοσης σε θαλασσαιμικό ασθενή (Υπουργείο Υγείας, ΚΕΕΛΠΝΟ, ΔΕΛΤΙΟ 2012).

Στην Ευρώπη και σε γειτονικές χώρες, κατά την περίοδο 2011-12, κρούσματα λοίμωξης από τον ιό του Δυτικού Νείλου καταγράφηκαν εκτός από την Ελλάδα, στο Ισραήλ, στη Σερβία, στη Πρώην Γιουγκοσλαβική Δημοκρατία της Μακεδονίας (Π.Γ.Δ.Μ.), στη Ρωσία, στην Ιταλία, στην Ουγγαρία, στη Ρουμανία, στην Ουκρανία, στο Μαυροβούνιο, στη Βοσνία Ερζεγοβίνη, στη Κροατία και στη Τυνησία (European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) 2013) .

Καθώς τα παραπάνω ευρήματα αφορούν περιοχές που έχουν χαρακτηριστεί ως «επηρεαζόμενες» και δεν αφορούν ολόκληρο τον αιμοδοτικό πληθυσμό, δεν παρατίθενται παρακάτω επιδημιολογικά δεδομένα. Τα δεδομένα τα οποία συλλέχτηκαν αφορούν συγκεκριμένα δείγματα και συγκεκριμένες περιοχές όπου εντοπίστηκαν κρούσματα που οφείλονταν στο ιό του Δυτικού Νείλου.

Κεφάλαιο Έκτο

Συζήτηση

6.1 Ανάλυση των θετικών δειγμάτων ως προς την προαγωγή της Δημόσιας Υγείας

Στη Διάσκεψη του Π.Ο.Υ. στην Άλμα Άτα το 1978 (Declaration of Alma-Ata 1978), επινοήθηκε ο όρος προαγωγή της υγείας. Η πολιτική της προαγωγής υγείας θεσμοθετήθηκε από τον Π.Ο.Υ. με την διακήρυξη της Οτάβας το 1986 (First International Conference on Health Promotion 1986). Ως προαγωγή υγείας ορίστηκε η διαδικασία που δίνει τη δυνατότητα στους ανθρώπους να ελέγχουν και να βελτιώνουν την υγεία τους.

Οι τρεις κύριοι πυλώνες της παραπάνω διακήρυξης ήταν η εξασφάλιση ίσων ευκαιριών στην υγεία, η προστασία της υγείας των ανθρώπων και του περιβάλλοντος από οτιδήποτε απειλητικό και η συντονισμένη δράση από κάθε άτομο και ομάδα πολιτών που μεσολαβούν ώστε να προστατεύσουν την υγεία από συμφέροντα που την απειλούν (Παπαθανασίου 2009).

Αναλυτικότερα, η πρόληψη αφορά το σύνολο των μέτρων που έχουν ως στόχο την αποφυγή ή τη μείωση του αριθμού και της σοβαρότητας των ατυχημάτων ή των ασθενειών. Είναι δηλαδή το σύνολο των ενεργειών που τείνουν να προάγουν την ατομική και συλλογική υγεία (Bury 2001). Η αγωγή υγείας χρησιμοποιεί ευκαιρίες μάθησης που δίνουν τη δυνατότητα στα άτομα να αποφασίσουν και να ενεργούν συνειδητά για οτιδήποτε αφορά την υγεία τους (Draijer & Williams 1991). Τέλος όσον αφορά τη προστασία της υγείας, είναι ο συνδυασμός των μέτρων για την αλλαγή του περιβάλλοντος ώστε να διευκολυνθεί η υιοθέτηση υγιών τρόπων ζωής. Είναι μέτρα που μπορούν να διακριθούν σε νομικά, οικονομικά, διάφορα ήδη βοήθειας κτλ ((Παπαθανασίου 2009).

Πλέον όταν χρησιμοποιούμε τον όρο προαγωγή της υγείας αναφερόμαστε σε όλες τις επιστημονικές μεθόδους που συντελούν στην αλλαγή του τρόπου ζωής ενός πληθυσμού, ώστε αυτός να πετύχει κοινωνικής, φυσικής, πνευματικής και ψυχικής υγείας (Τσαλίκογλου 2006).

Αναλυτικότερα, η πρόληψη είναι το σύνολο των ενεργειών που έχουν ως σκοπό την προαγωγή της ατομικής και συλλογικής υγείας. Υπάρχουν δύο είδη στρατηγικών πρόληψης, η καθολική και η επικεντρωμένη πρόληψη που ταξινομούνται σύμφωνα με τον πληθυσμό που απευθύνονται. Η καθολική πρόληψη αναφέρεται σε στρατηγικές που απευθύνονται για παράδειγμα στο σύνολο ενός σχολικού πληθυσμού ή μιας κοινότητας και έχει ως στόχο τη πρόληψη της νόσου. Από την άλλη η επικεντρωμένη πρόληψη αναφέρεται σε στρατηγικές που στοχεύουν σε συγκεκριμένες ευάλωτες ομάδες πληθυσμού συγκριτικά με άλλες. Το είδος αυτό της πρόληψης στοχεύει σε ολόκληρη την ομάδα ανεξάρτητα από τον ατομικό βαθμό κινδύνου του κάθε μέλους της. Στόχος της πρόληψης αυτής είναι η αποτροπή της νόσου με ενίσχυση των προστατευτικών παραγόντων. (Παπαθανασίου 2009)

Ως ένα μέτρο πρόληψης και ταυτόχρονα προαγωγής υγείας μπορεί να θεωρηθεί και η εισαγωγή του μοριακού Ελέγχου στο Εθνικό σύστημα Αιμοδοσίας. Όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, αφορμή για την εισαγωγή του μοριακού ελέγχου ήταν η μόλυνση με τον ιό του HIV ενός 16 χρονου κοριτσιού με μεσογειακή αναιμία. Τα άτομα που πάσχουν από μεσογειακή αναιμία μεταγγίζονται με δεκάδες μονάδες αίματος ετησίως με αποτέλεσμα να θεωρείται ότι έχουν αυξημένες πιθανότητες να τους μεταδοθούν παθογόνοι μικροοργανισμοί. Ο στόχος δε της εισαγωγής του Μοριακού Ελέγχου ήταν η αύξηση της ασφάλειας του μεταγγιζόμενου αίματος. Το γεγονός της αύξησης της ασφάλειας του μεταγγιζόμενου αίματος μέσω του Μοριακού Ελέγχου, το 2006, τεκμηριωνόταν μόνο μέσω δημοσιεύσεων και συνεδρίων του εξωτερικού. (Biswas, Tabor, Hsia. 2003˙ Liu, Lo, Kao, Tseng, Lai, Ni et al 2006b˙ Kleinman & Busch 2006).

Μετά από 8 χρόνια διενέργειας του Μοριακού Ελέγχου, τα ευρήματα που αφορούν Έλληνες Αιμοδότες και η εμπειρία που έχει συλλεγχθεί από την εφαρμογή του Μοριακού Ελέγχου στον Ελλαδικό χώρο, έχουν ανακοινωθεί σε συνέδρια στοιχεία και επιβεβαιώνουν τη σπουδαιότητα της NAT (Bartzoudis, Fillippovits, Karpouza, Zorbas, Piperidou, Papadopoulou. 2011˙ Hatzitaki, Vasiloudi, Diamanti et al, 2010˙ Bakaloudi, Sachinidou, Hassapopoulou et al 2007). Τα στοιχεία που συλλέχθησαν από το Κ.Μ.Ε. ΑΧΕΠΑ αφορούν σε δείγματα που εστάλθηκαν από Υπηρεσίες Αιμοδοσίας της Βορείου Ελλάδας και αντικατοπτρίζουν τη συμβολή της μεθόδου στην ασφάλεια του αίματος και συνεπώς στη προαγωγή υγείας. Ειδικότερα, τα έτη

από το 2008 έως το 2013 συλλέχτηκαν και εξετάστηκαν περίπου 678.000 δείγματα από τα οποία εντοπίστηκαν 3 περιπτώσεις σε περίοδο παραθύρου για τον ιό HIV, 5 περιπτώσεις σε περίοδο παραθύρου για τον ιό HCV και για τον ιό HBV εντοπίστηκαν συνολικά 71 επιβεβαιωμένες περιπτώσεις μολυσματικής μονάδας αίματος.

Αναλυτικότερα, οι περιπτώσεις για τον ιό HIV (3 περιπτώσεις) για τον ιό HBV (3 περιπτώσεις) και για τον ιό HCV (5 περιπτώσεις) που κατεγράφησαν ως «περίοδος παραθύρου», σημαίνουν ότι κυρίως σε αυτές τις περιπτώσεις ο ιός υπάρχει μέσα στο δείγμα, βρίσκεται στην αρχική φάση της μόλυνσης του ασθενούς και έχει την ικανότητα να πολλαπλασιάζεται με πολύ γρήγορους ρυθμούς. Αποτέλεσμα οι μονάδες οι οποίες αντιστοιχούν σε αυτά τα δείγματα να είναι εξαιρετικά μολυσματικές (Gonzales, Echevarria, Avellon, Barea, Castro. 2006˙ Kleinman & Busch 2006) Αν βέβαια, υποθέσουμε ότι κάθε μονάδα ολικού αίματος μπορεί να διαχωριστεί σε τρία παράγωγα και να δοθεί σε διαφορετικούς ασθενείς ανάλογα με τις ανάγκες τους, είναι κατανοητό ότι θα υπήρξαν πολλές περιπτώσεις μετάδοσης μέσω μετάγγισης. Στις περιπτώσεις της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β ο αιμοδότης εμφανίζει αντισώματα έναντι του ιού αλλά είναι αρνητικός ως προς το Αυστραλιανό αντιγόνο – εξέταση που είναι υποχρεωτική για την Αιμοδοσία Βέβαια, καθώς ο ιός υπάρχει μέσα στο αίμα, το άτομα αυτό είναι εν δυνάμει μολυσματικό και ουσιαστικά είναι ικανό να μεταδώσει τον ιό. (Allain & Candotti, 2012˙ Allain, Belkhiri, Vermeulen, et al. 2009) Συνεπώς, οι 68 περιπτώσεις που έχουν αναφερθεί και καταγραφεί ως «Occult» δηλαδή περιπτώσεις λανθάνουσας Ηπατίτιδας Β είναι αυτές που ο ιός υπάρχει στο άτομο, η μονάδα που έχει συλλεχθεί από αυτό είναι δυνητικά μολυσματική αλλά δυστυχώς δεν είναι ανιχνεύσιμο με τις ορολογικές μεθόδους που εξετάζουν μόνο το Αυστραλιανό αντιγόνο. Παρόλα αυτά, επειδή ο ιός υπάρχει στο αίμα γίνεται αντιληπτή η ύπαρξή του από τις τεχνικές Μοριακού Ελέγχου. Όσον αφορά τις περιπτώσεις που αναφέρονται ως μη επιβεβαιωμένες, είναι οι περιπτώσεις που το δείγμα σημάνθηκε ως θετικό κατά τον συμβατικό Μοριακό έλεγχο, υπήρξαν μεν κάποια αντισώματα θετικά στις επιπλέον αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν με τον ορολογικό έλεγχο, παρόλα αυτά η διάκριση ως προς κάποιο ιό δεν έδωσε αποτέλεσμα. Σε αυτές τις περιπτώσεις καθώς το ιικό φορτίο είναι πολύ χαμηλό συνίσταται και από την αιμοδοσία η παρακολούθηση του ατόμου αυτού, η

ενημέρωσή του και η προτροπή να εξεταστεί από ηπατολόγο για περαιτέρω διερεύνηση.

Καθώς, η πλειονότητα των ασθενών στις οποίες χορηγείται το αίμα είναι περιπτώσεις ανοσοκατεσταλμένων ασθενών, με επιβαρυμένο ιστορικό ή ατόμων με χρόνια νοσήματα, είναι πολύ σημαντική η αυξημένη επαγρύπνηση και η προσφορά όσο του δυνατόν ασφαλέστερου αίματος. Η αιμοδοσία από τη πλευρά της με τα υπάρχοντα μέσα κάνει πολύ σημαντική προσπάθεια με σκοπό την αποφυγή της μετάδοσης μέσω μετάγγισης παθογόνων οργανισμών. Επιπλέον, βελτίωση παρατηρείται καθώς υπάρχει μείωση των θετικών περιπτώσεων εθελοντών αιμοδοτών όπως φαίνεται και από τα αποτελέσματα για τους ιούς HCV και HBV. Στους Πίνακες 5.1.1, 5.2.1 και 5.3.1 εμφανίζεται πτωτική τάση από το 2008 εώς σήμερα με εξαίρεση τον ιό HIV όπου παρατηρήθηκε μία αρκετά μεγάλη αύξηση στα έτη 2011 και 2012 . Αναλυτικότερα, ο μέσος όρος των ετών από το 2008 έως το 2013 εμφανίζεται να είναι 1:616, 1:2923 και 1: 12796 για τους ιούς HBV, HCV και HIV αντιστοίχως. Συγκρινόμενα τα παραπάνω αποτελέσματα ιδιαίτερα με τα τελευταία δύο έτη των οποίων οι τιμές φαίνεται να είναι για τον ιό HBV 1:818 και 1:852 για τα έτη 2013 και 2012 αντιστοίχως, για τον ιό HCV 1:4240 για το έτος 2013 και 1:3838 για το έτος 2012 και για τον ιό HIV 1:22897 και 1:8956 επίσης για τα έτη 2013 και 2012 αντιστοίχως. Επιπλέον, τα στοιχεία από τα ιστογράμματα επιβεβαιώνουν και αυτά με τη σειρά τους τη πτωτική τάση των τελευταίων ετών όσον αφορά τις μολύνσεις στην αιμοδοσία για τους ιούς HCV και HBV. Βέβαια, τα δεδομένα αυτά συμφωνούν με τα γενικότερα επιδημιολογικά δεδομένα όπου ο ιός της Ηπατίτιδας Β εμφανίζεται αυξημένος στον Ελλαδικό χώρο (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. Ιογενείς Ηπατίτιδες) με τον ιό HCV να ακολουθεί και τέλος με μικρότερα ποσοστά να εμφανίζεται ο ιός HIV ο οποίος σύμφωνα με τα δεδομένα στον Ελλαδικό χώρο εμφάνισε αύξηση των περιπτώσεων τα έτη 2011 και 2012.

Από τα δεδομένα που συλλέχθηκαν και αφορούν τον ιό του Δυτικού Νείλου, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ο έλεγχος του αίματος για τον συγκεκριμένο ιό, διενεργείται από την Αιμοδοσία μόνο με τη τεχνική του μοριακού ελέγχου. Τυχόν θετικά δείγματα, αποστέλλονται σε κέντρα αναφοράς με σκοπό να ταυτοποιηθούν ως προς τα αντιγόνα ή τα αντισώματα του ιού ορισμένες μέρες αργότερα για να υπάρξει η δυνατότητα ανάπτυξης τους από τον ξενιστή. Με τη χρήση του μοριακού ελέγχου, τα έτη 2010-2013, μόνο στο ΚΜΕ ΑΧΕΠΑ εντοπίστηκαν συνολικά 7

θετικές περιπτώσεις εκ των οποίων τα 5 επιβεβαιώθηκαν ως προς τον ιό του Δυτικού Νείλου και με ορολογικές τεχνικές. Τα άλλα δύο δείγματα αφορούν πιθανώς εσφαλμένα θετικά δείγματα καθώς ουδέποτε επιβεβαιώθηκε η παρουσία του ιού στους δότες.

Βέβαια σε όλη αυτή τη προσπάθεια σημαντική βοήθεια έχει προσφερθεί από τη θέληση και τη διορατικότητα του προσωπικού της αιμοδοσίας καθώς μετά από συνεχείς πιέσεις έχει μπει σε πλήρη λειτουργία από το 2012 το σύστημα μηχανοργάνωσης το οποίο βοηθάει σημαντικά στον έλεγχο των αιμοδοτών, στον έλεγχο και τη διαθεσιμότητα των μονάδων αίματος ώστε να μπορεί να ανταποκρίνεται γρηγορότερα, με ευκολία και ασφάλεια στα προβλήματα που καθημερινώς προκύπτουν. Επιπλέον, η Αιμοδοσία του ΑΧΕΠΑ είναι από τις λίγες αιμοδοσίες η οποία έχει εισάγει επιπλέον ερωτηματολόγιο για τη διάθεση ή μη της προσφερόμενης μονάδας αίματος. Το μέτρο αυτό είναι εξαιρετικά σημαντικό καθώς πολλές φορές η αιμοδοσία χρησιμοποιείται από άτομα τα οποία έχουν την υποψία μόλυνσης ενός παθογόνου και καθώς οι εξετάσεις προσφέρονται δωρεάν, είναι τελευταίας τεχνολογίας και η ενημέρωση είναι άμεση, αιμοδοτούν με σκοπό να εντοπιστεί η πιθανή μόλυνση και να ενημερωθούν. Σε συνδυασμό με τη λήψη ιστορικού και τη δυνατότητα που δίνεται στο δότη να γίνουν οι εξετάσεις χωρίς να κινδυνεύσει η ζωή κάποιου λήπτη, αποτελεί έναν επιπλέον τρόπο διασφάλισης της ασφάλειας αίματος.

Τα παραπάνω συμπεράσματα που αφορούν τη σημαντικότητα του Μοριακού Ελέγχου τεκμηριώνονται από ένα πλήθος δημοσιεύσεων. Οι Bouchardeau, Girault, Razer, Servant-Delmas, Mercier, Laperche 2006 αναφέρουν ότι οι μοριακές τεχνικές και ιδιαιτέρως σε διαμόρφωση μοναδιαίου δότη, είναι πολύ αποτελεσματικές στην ανίχνευση της ιαιμίας (χαμηλό ιικό φορτίο στο δείγμα) δηλαδή κυρίως σε περιπτώσεις παραθύρου και σε περίπτωση λανθάνουσας Ηπατίτιδας Β. Παρ' όλα αυτά θα πρέπει να αυξηθεί η ευαισθησία τόσο της μεθόδου του ορολογικού ελέγχου όσο και του μοριακού ελέγχου ώστε να μειωθεί όσο το δυνατό η περίοδος παραθύρου, επιπρόσθετα από τα μέχρι τώρα στοιχεία, οι δύο μέθοδοι θεωρούνται συμπληρωματικές και δεν υπάρχει μέχρι στιγμής θέμα αντικατάστασης του ορολογικού ελέγχου. Οι Lelie N και Heaton A. (2006) αναφέρουν ότι σε 5 χώρες με μέση ενδημικότητα (στις οποίες συγκαταλέγεται και η Ελλάδα) για τον ιό της Ηπατίτιδας Β ανιχνεύθηκε λανθάνουσα Ηπατίτιδα Β σε

ποσοστό 1:10.000. Η σημαντικότητα της NAT είναι αδιαπραγμάτευτη καθώς βοηθάει σε μεγάλο βαθμό στον εντοπισμό αυτών των περιπτώσεων. Επιπλέον, οι Gonzalez, Torres, Castro et al (2010) αναφέρουν και αυτοί τη σημαντικότητα της NAT καθώς σε περιοχή όπως είναι η Μαδρίτη, με μέση ενδημικότητα για τον ιό της Ηπατίτιδας Β, τα ποσοστά αιμοδοτών σε περίοδο παραθύρου και σε φάση λανθάνουσας Ηπατίτιδας Β είναι αρκετά υψηλό (1 στις 21.282 περιπτώσεις). Η εισαγωγή του μοριακού ελέγχου στον έλεγχο των φιαλών έχει αυξήσει σημαντικά την ασφάλεια του μεταγγιζόμενου αίματος. Τέλος, ο Niederhauser (2011) ενώ παραδέχεται τη σημαντικότητα της τεχνικής του μοριακού ελέγχου, παρόλα αυτά πιστεύει ότι η κάθε χώρα ανάλογα με τα δεδομένα που έχει όπως είναι η ενδημικότητα της κάθε νόσου, η χρήση άλλων ορολογικών μεθόδων καθώς και η αναλογία κόστους αποτελεσματικότητας θα πρέπει να υπολογίσει τα οφέλη και τα μειονεκτήματα για την εισαγωγή του ελέγχου.

Τέλος, καλό θα ήταν να ληφθεί υπόψη το κόστος των αποζημιώσεων από τις μολύνσεις που είναι υποχρεωμένο να καταβάλει το Ελληνικό Δημόσιο. Ειδικότερα, η ασθενής που μολύνθηκε με τον ιό HIV και ήταν η αφορμή για την εισαγωγή του μοριακού ελέγχου στη χώρα, αποζημιώθηκε με το ποσό των 800.000€ λόγω του ιατρικού λάθους (Εφημερίδα Ναυτεμπορική. 2013).

Συμπερασματικά, αδιαμφισβήτητη είναι η σημαντικότητα του Μοριακού Ελέγχου του Αίματος καθώς πάνω από 300 μονάδες αίματος μόνο από την περιοχή της Μακεδονίας θα είχαν μεταγγισθεί και πιθανώς θα είχαν δημιουργήσει σημαντικά προβλήματα στους λήπτες αλλά και στις οικογένειές τους.

6.2 Οι επιπτώσεις της οικονομικής κρίσης στην καλύτερη δυνατή λειτουργία της Ελληνικής Αιμοδοσίας και της μεθόδου του Μοριακού Ελέγχου

Η συμβολή του Μοριακού Ελέγχου στην ασφάλεια του αίματος στην Ελληνική Αιμοδοσία είναι σημαντική, αν και υπάρχει το ερώτημα αν το κόστος της εξέτασης

που επωμίζεται ο έλληνας φορολογούμενος και το ελληνικό κράτος αντισταθμίζεται από το όφελος.

Διεθνώς έχουν γραφεί άρθρα στα οποία συζητείτε και μελετάται η ανάλυση κόστους – αποτελέσματος για τη μέθοδο NAT. Ενδεικτικά, αναφέρεται στο άρθρο του Borkent-Raven, Janssen, van der Poel, de Wit, Bonsel, van Hout (2009) ότι η αποτελεσματικότητα συγκριτικά με το κόστος εξαρτάται και από τον επιπολασμό που εμφανίζει η κάθε ασθένεια σε κάθε χώρα. Η παραπάνω μελέτη έλαβε χώρα στην Ολλανδία η οποία εμφανίζει πολύ χαμηλό επιπολασμό όσον αφορά την Ηπατίτιδα Β. Για τη συγκεκριμένη χώρα, κατά τη σύγκριση μεταξύ των μικροδεξαμενών των 24, των 6 δειγμάτων και του μοναδιαίου δότη, η περισσότερο συμφέρουσα επιλογή, δηλαδή με τη καλύτερη συσχέτιση κόστους-αποτελέσματος κρίθηκε αυτή της χρήσης μικροδεξαμενών των 6 δειγμάτων παρά το γεγονός ότι η χρήση μοναδιαίου δότη προσφέρει μεγαλύτερη ευαισθησία. Μία ακόμη δημοσίευση σχετικά με τη σύγκριση κόστους και αποτελέσματος στην Ευρωπαϊκή Ένωση, Pereira A. (2003) αναφέρει ότι η Ηπατίτιδα Β που αποκτάται στην ενήλικη ζωή ενός ατόμου δεν θεωρείται ως σοβαρή ασθένεια στις δυτικές χώρες. Η χρήση της τεχνικής του μοριακού ελέγχου σε διαμόρφωση μοναδιαίου δότη μπορεί να προσδίδει ένα μικρό πλεονέκτημα παρόλα αυτά το κόστος είναι πολύ μεγάλο. Σε ένα ακόμη άρθρο, ο ίδιος συγγραφέας Pereira (2000) αναφέρει και για την Ηπατίτιδα C ότι η χρήση της τεχνικής NAT προσδίδει μεν οφέλη αλλά με πολύ μεγάλο κόστος λόγω κυρίως των λίγων πλεονεκτημάτων καθώς οι περισσότεροι λήπτες είναι άτομα μεγάλης ηλικίας. Ένα ακόμη εξίσου σημαντικό άρθρο του Jackson BR et al (2003) [Jackson, Busch, Stramer, AuBuchon (2003) επίσης αναφέρει ότι η μέθοδος NAT είναι ασύμφορη καθώς θα πρέπει το κόστος να μειωθεί σημαντικά ώστε να εξισωθεί με άλλες οικονομικές μεθόδους.

Στην Ελλάδα, όπως έχει αναφερθεί παραπάνω ο έλεγχος των μονάδων αίματος σε πανελλήνια κλίμακα ξεκίνησε το 2008 με τον αντίστοιχο διαγωνισμό. Πριν το 2008 λειτουργούσαν ορισμένα Κέντρα Μοριακού Ελέγχου τα οποία εξυπηρετούσαν μεγάλο ποσοστό της Ελληνικής επικράτειας αλλά χωρίς να το καλύπτουν ολόκληρο. Ουσιαστικά, με την ολοκλήρωση του διαγωνισμού ο μοριακός έλεγχος του αίματος πραγματοποιούνταν σε 9 Κ.Μ.Ε. πανελλαδικά τα οποία έλεγχαν ετησίως 600.000 – 620.000 φιάλες. Το κόστος το οποίο είχε ανέλθει εκείνη τη περίοδο ήταν αρκετά υψηλό ανά μονάδα γεγονός το οποίο εκτίνασσε το κόστος

ελέγχου τις κάθε μονάδας σε δυσθεώρητο ύψος. Όπως είχε αναφερθεί τότε στον Ελληνικό τύπο, εκείνη την εποχή η Πολωνία υπέγραψε σύμβαση με πολύ χαμηλότερη τιμή (Εφημερίδα «Εφημερίδα των Συντακτών» 2013). Βέβαια, στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι η σύμβαση για τον έλεγχο του αίματος εκτός από τα αντιδραστήρια προέβλεπε τη δημιουργία χώρων διενέργειας του ελέγχου, εξοπλισμού αυτού με αυτόματα ρομποτικά συστήματα για τον έλεγχο του αίματος, επιπλέον εξοπλισμό του χώρου για τη διευκόλυνση της διαδικασίας (γραφεία, εκτυπωτές, φαξ, επιπλέον μηχανήματα για την περαιτέρω αυτοματοποίηση της διαδικασίας όπως αποπωματιστής, κτλ), τη τεχνική συντήρηση των μηχανημάτων καθώς και την συνεχή κατάρτιση και εκπαίδευση του προσωπικού. Τέλος, η σύμβαση συμπεριλάμβανε και την μεταφορά των δειγμάτων του αίματος από τις περιφερειακές αιμοδοσίες προς τα Κέντρα Μοριακού Ελέγχου.

Ουσιαστικά, κατά τα έτη 2008-2013 δαπανήθηκαν περίπου 200 εκατομμύρια ευρώ για τον μοριακό έλεγχο του αίματος. Ο Μοριακός έλεγχος να διαγνώσει αρκετές περιπτώσεις για τους ιούς HIV, HCV, HBV και WNV, με σχετικά μεγάλο κόστος, στις οποίες ο ορολογικός υστερούσε και επιπλέον ανέδειξε το πρόβλημα της λανθάνουσας ηπατίτιδας Β (occult) η οποία ανευρίσκεται σε αυξημένο ποσοστό καθώς η χώρα μας μαζί με την Ιταλία και την Ισπανία ανήκουν στις χώρες με ενδιάμεση ενδημικότητα για τον ιό της ηπατίτιδας Β (Υπουργείο Υγείας, ΚΕΕΛΠΝΟ, ΔΕΛΤΙΟ 2012.)

Με τον ερχομό της οικονομικής κρίσης στην Ελλάδα, οι πόροι που δαπανούνταν για τη δημόσια υγεία έχουν μειωθεί σημαντικά (Οργανισμός Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης (ΟΟΣΑ) 2013˙ Kaitelidou & Kouli 2012) . Με τη λήξη του διαγωνισμού για τον Μοριακό Έλεγχο (Αύγουστος 2013) παρατηρήθηκε μια γενικότερη αναστάτωση από τη πλευρά των αιμοδοσιών λόγω διαδικαστική καθυστέρηση προμήθειας νέων αντιδραστηρίων για τη διεξαγωγή του μοριακού ελέγχου μετά το τέλος της αρχικής σύμβασης. Το πρόβλημα αυτό επιλύθηκε με την υπογραφή τρίμηνης σύμβασης προμήθειας αντιδραστηρίων (Κομνηνού Ν. 2013).

Ο νέος διαγωνισμός ο οποίος είχε ανακοινωθεί και ήταν υπό κρίση, προέβλεπε ετήσιο προϋπολογισμό για την κάλυψη των αναγκών των αιμοδοσιών για αντιδραστήρια Μοριακού Ελέγχου τα 13,5 εκατομμύρια ευρώ ανά έτος. Το ποσό αυτό ήταν πολύ χαμηλότερο συγκριτικά με το ποσό που δαπανούνταν τα

προηγούμενα έτη. Βέβαια, συγκριτικά με τον προηγούμενο διαγωνισμό, οι εταιρίες δεν είχαν πλέον την υποχρέωση εγκατάστασης νέων μηχανημάτων καθώς και τη διαμόρφωση νέων χώρων που είχαν στον αρχικό διαγωνισμό. Επιπλέον, υπήρξε η αποδέσμευση της παροχής αντιδραστηρίων από τη μεταφορά των δειγμάτων, γεγονός που μείωσε εξαιρετικά το κόστος. Κατά τον ηλεκτρονικό πλειστηριασμό που ακολούθησε πριν την ολοκλήρωση του διαγωνισμού, το ποσό ετήσιας δαπάνης για όλα τα Κ.Μ.Ε. στην Ελλάδα κατέληξε να είναι στα 6,28 εκατομμύρια ευρώ (Καραγιώργος Δ. 2014). Λόγω της οικονομικής κρίσης επιτεύχθηκε η εξοικονόμηση ενός αρκετά μεγάλου ποσού το οποία έχει την ικανότητα να καλύψει επιπλέον ανάγκες. Βέβαια, με τη νέα σύμβαση προσφέρθηκε η νέα πιο εξελιγμένη τεχνολογία για τον Μοριακό έλεγχο καθώς σε αυτά τα χρόνια, η τεχνολογία εξελίχθηκε και πλέον τα δείγματα θα εξετάζονται με τεχνική με μεγαλύτερη ευαισθησία, γεγονός που θα έχει ως αποτέλεσμα περαιτέρω μείωση του παραθύρου και συνεπώς αύξηση της ασφάλειας του μεταγγιζόμενου αίματος.

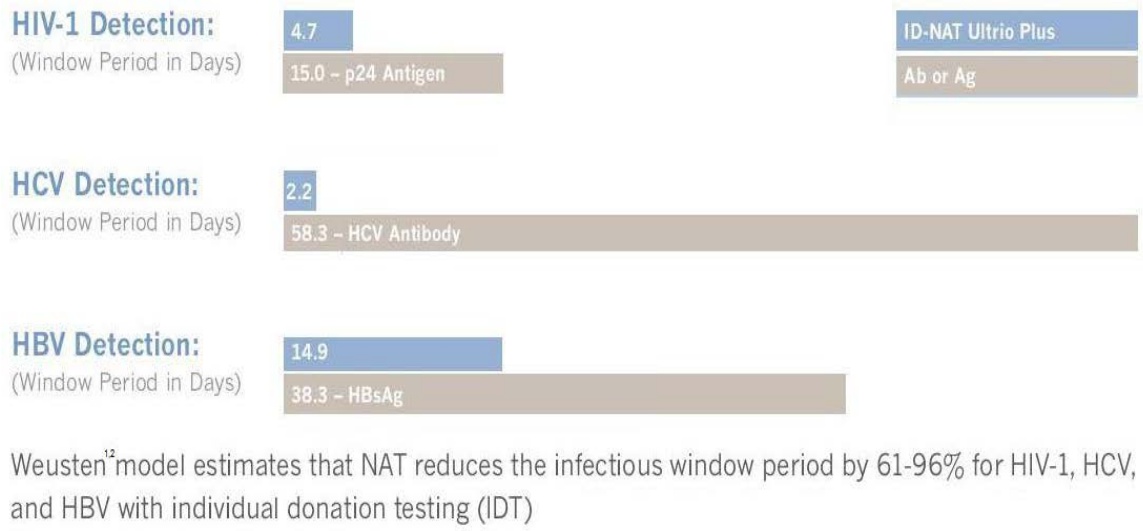
Στο γενικότερο κλίμα εξοικονόμησης πόρων και συγκεντρωτισμού, έχει ξεκινήσει και διαγωνισμός με σκοπό την συγκεντροποίηση του ορολογικού ελέγχου με ετήσιο κόστος τα 9 εκατομμύρια ευρώ ενώ μέχρι στιγμής ετησίως κοστίζει περίπου 25 εκατομμύρια ευρώ (Καρλατήρα Π. 2013). Στους επόμενους μήνες αναμένονται οι τυχόν αλλαγές που πρόκειται να προκύψουν. Είναι σημαντικό να παρατηρηθεί σε αυτό το σημείο ότι το κόστος των εξετάσεων του μοριακού ελέγχου εξισώνεται με το κόστος των εξετάσεων του ορολογικού ελέγχου γεγονός που θα αποτελέσει τα επόμενα χρόνια θέμα νέων μελετών για τη τεκμηρίωση νέων δημοσιεύσεων για τη συσχέτιση κόστους-αποτελέσματος του Μοριακού Ελέγχου.

6.3 Επόμενο βήμα της Ελλάδας για την εξασφάλιση μεγαλύτερης ασφάλειας στους ασθενείς

Το πρώτο βήμα για την αύξηση της ασφάλειας του αίματος πραγματοποιήθηκε το 2008 κατά την εισαγωγή της τεχνικής του μοριακού ελέγχου στα ΚΜΕ όπου

ήλεγχαν τα δείγματα από τις μονάδες αίματος όλης της χώρας. Παρόλα αυτά με την εξέλιξη της τεχνολογίας, υπάρχει η δυνατότητα περαιτέρω μείωσης του παραθύρου διάγνωσης αυξάνοντας την ευαισθησία των μεθόδων αυτών. Ιδιαίτερα για το ΚΜΕ ΑΧΕΠΑ, με την κατακύρωση του δεύτερου διαγωνισμού, η τεχνική μοριακού ελέγχου που χρησιμοποιούνταν μέχρι στιγμής αναβαθμίστηκε. Ενώ μέχρι στιγμής χρησιμοποιούνται η τεχνική Procleix® Ultrio® από το Μάρτιο του 2014 χρησιμοποιείται η τεχνική Procleix® Ultrio Plus®. Η βασική διαφορά των δύο τεχνικών είναι ότι λόγω της προσθήκης ενός αντιδραστηρίου η κατασκευάστρια εταιρία κατάφερε να αυξήσει την ευαισθησία της μεθόδου κυρίως όσον αφορά τον ιό της Ηπατίτιδας Β. Σε μία χώρα μέσης ενδημικότητα για τον ιό της Ηπατίτιδας Β, η αύξηση της ευαισθησίας της χρησιμοποιούμενης μεθόδου θα έχει ως αποτέλεσμα τη μεγιστοποίηση της ασφάλειας του αίματος καθώς θεωρητικά θα υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα ανίχνευσης του ιού ακόμη και σε περιπτώσεις χαμηλού ιικού φορτίου.

Αναλυτικότερα, η τεχνική Procleix® Ultrio Plus® [Vermeulen, Coleman, Mitchel. *et al*. 2012˙ Soedarmono, Lusinanto. 2012˙ Tsoi, Lelie, Lin. 2012) έχει την ικανότητα μείωσης του παραθύρου διάγνωσης.



Weusten[1,2] model estimates that NAT reduces the infectious window period by 61-96% for HIV-1, HCV, and HBV with individual donation testing (IDT)

1.Weusten, J. et al. Transfusion 2002;42:537-548.
2.Weusten, J. et al. Transfusion 2011;51:203-215.

Εικόνα 6.3.1:

Μείωση παραθύρου διάγνωσης με τη χρήση της τεχνικής Procleix® Ultrio Plus®. Η περίοδος παραθύρου με τη μέθοδο του μοριακού ελέγχου (μπλε μπάρες) και με τη μέθοδο ανίχνευσης αντιγόνου ή αντισώματος (γκρι μπάρες) για τους ιούς HIV-1, HCV και HBV.

Επιπλέον, εμφανής είναι η αύξηση της ευαισθησίας της μεθόδου όπως φαίνεται και από τον παρακάτω πίνακα για τον ιό της Ηπατίτιδας Β της τεχνικής Procleix Ultrio και Procleix Ultrio Plus.

Πίνακας 6.3.1:

Η ευαισθησία της δοκιμασίας Procleix® Ultrio® και Procleix® Ultrio Plus®. Στην δεύτερη στήλη εμφανίζεται η ευαισθησία της Διαγνωστικής δοκιμασίας Procleix® Ultrio® και στη τρίτη στήλη εμφανίζεται η ευαισθησία της Διαγνωστικής δοκιμασίας Procleix® Ultrio Plus®

	Διαγνωστική δοκιμασία ***Procleix® Ultrio® Assay***	**Διαγνωστική δοκιμασία** ***Procleix® Ultrio® Plus Assay***
HIV-1	20,72 IU/mL (17-25)	27,6 IU/ml (21,7 – 39,5)
HCV	2,78 IU/mL (2,4-3,3)	3,1 IU/ml (2,4 – 4,6)
HBV	7,46 IU/mL (6,4-8,9)	2,1 IU/ml (1,7 – 3,0)

Η γενικότερη τάση της αγοράς είναι η δημιουργία νέων εξελιγμένων τεχνικών με σκοπό την αύξηση της ευαισθησίας και τη μείωση του παραθύρου διάγνωσης ώστε να δίνεται όσο το δυνατό ασφαλέστερο αίμα και να μπορεί να υπάρξει ανταγωνισμός μεταξύ των εταιριών. Επιπρόσθετα, η εισαγωγή του αυτοματισμού

με νέα μηχανήματα που συνεχώς εξελίσσονται δίνει συνεχώς προβάδισμα στις εταιρίες ώστε να επιτυγχάνεται μικρότερη ενασχόληση του χειριστή με αποτέλεσμα να μειώνονται τα σφάλματα, να αυξάνεται η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων και να ελαχιστοποιούνται οι εργατοώρες.

Βέβαια, ο κίνδυνος που ελλοχεύει στις αιμοδοσίες δεν εντοπίζεται μόνο στους προαναφερόμενους μεταδιδόμενους από το αίμα ιούς. Ένας εξίσου σημαντικός κίνδυνος είναι αυτός των αναδυόμενων λοιμώξεων καθώς και των βακτηριδιακών μολύνσεων. Ειδικότερα, το ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. αναφέρει σε Δελτίο «Επιτήρησης Ανεπιθύμητων Αντιδράσεων και Συμβάντων κατά και μετά την αιμοδοσία» (2003-2011) ότι καταγράφηκαν 35 περιπτώσεις σοβαρής βακτηριαιμίας στις οποίες κατά πλειοψηφία είτε δεν πραγματοποιήθηκε αφαίρεση της στοιβάδας των λευκών είτε έγινε λευκαφαίρεση μετά την αποθήκευση με εργαστηριακό ή παρακλίνιο φίλτρο.

Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις αναδυόμενων νοσημάτων όπως για παράδειγμα η μετάδοση του ιού Chikungunya σε γαλλική αποικία το 2005-2006 όπου λόγω αδυναμίας μεταφοράς πλασμάτων και αιμοπεταλίων από τη Γαλλία, χρησιμοποιήθηκε η αδρανοποίηση πλάσματος και αιμοπεταλίων (Tsetsarkin, Sampson-Johannes, Sawyer, Kinsey, Higgs, Vanlandingham. 2013) για την αντιμετώπιση της κρίσης. Σημαντικό παράδειγμα αποτελεί και η επανεμφάνιση της ελονοσίας στην Ελλάδα. Από το 2009 καταγράφονται ετησίως κρούσματα ελονοσίας με ενδείξεις εγχώριας μετάδοσης σε διάφροες περιοχές της χώρας. Το 2010 καταγράφηκαν 4 κρούσματα, το 2011 καταγράφηκαν 42 κρούσματα και το 2012 ο αριθμός των κρουσμάτων ανήλθε στα 20. Το ΚΕΕΛΠΝΟ προειδοποιεί ότι το ενδεχόμενο επανεγκατάστασης της νόσου στην Ελλάδα είναι υπαρκτό. (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. Ελονοσία).

Γενικότερα, τα προβλήματα που προκύπτουν μέσω της επανεμφάνισης λοιμογόνων παραγόντων που είχαν εξαφανιστεί, ή νέων λοιμογόνων παραγόντων που μέχρι στιγμής εμφανίζονταν σε άλλες ηπείρους, τείνουν να εξαπλώνονται σε όλες τις χώρες παγκοσμίως. Σε αυτό το γεγονός πιθανώς συμβάλλουν η περιβαντολλογική αλλαγή, δηλαδή η χρήση της γης και η αποψίλωση δασών, οι κλιματικές αλλαγές, η αποθήκευση του νερού και η άρδευσή του, η φτώχια, ο υπερπληθυσμός, το διεθνές εμπόριο και τα ταξίδια, η ανθρώπινη συμπεριφορά και

οι στρατηγικές πρόληψης κα. (Gaüzère, Gérardin, Vandroux, 2012˙ Σταμούλης Κ. 2014).

Καθώς, η μελέτη και η ανάπτυξη τεχνικών με σκοπό να εντοπίσουν τους παραπάνω μολυσματικούς παράγοντες όπως και η έγκρισή τους από παγκόσμιους οργανισμούς όπως είναι ο FDA (Food and Drug Administration) όπως και η απόκτηση του CE marked για χρήση των εξετάσεων ή των οργάνων στην Ευρώπη είναι μία πολύ χρονοβόρα διαδικασία, απαιτείται η εύρεση τρόπου ο οποίος να εξασφαλίζει την ασφαλή μετάγγιση του αίματος τόσο από ιολογικούς παράγοντες όσο και από βακτηριακούς που μπορεί να προκύψουν. Μία λύση η οποία φαίνεται να εμφανίζεται είναι αυτή της αδρανοποίησης του αίματος (κυρίως πλάσματος και αιμοπεταλίων) που έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται από ορισμένες χώρες. Με αυτή την τεχνική επιτυγχάνεται η καταστροφή του γενετικού υλικού των λοιμογόνων και μη παραγόντων που έχουν γενετικό υλικό χωρίς να έχει βρεθεί η δημιουργία αλλοιώσεων στους υπόλοιπους παράγοντες του αίματος.

Παρόλα αυτά εξαιτίας της έλλειψης τεχνολογίας για την αδρανοποίηση των ερυθρών οι περισσότερες χώρες χρησιμοποιούν μεθόδους ευαίσθητες όπως είναι ο μοριακός έλεγχος και ο ορολογικός έλεγχος τρίτης ή τέταρτης γενιάς.

Κεφάλαιο Έβδομο

Συμπεράσματα

Η εισαγωγή του Μοριακού Ελέγχου βελτίωσε σημαντικά την παροχή ασφαλούς αίματος προς τους ασθενείς. Η σημαντικότητά του έγκειται κυρίως στο γεγονός της μεγάλης ευαισθησίας και της γρήγορης ανίχνευσης του ιού. Τα συλλεγόμενα δεδομένα που παρουσιάζουν τον εντοπισμό συνολικά 8 περιπτώσεων σε περίοδο «παραθύρου» για τους ιούς HIV, HCV, HBV, δηλαδή σε περίοδο που δεν ήταν εφικτός ο εντοπισμός από άλλες μεθόδους που χρησιμοποιούνται στην αιμοδοσία, καθώς και ο χαρακτηρισμός τους ως υψηλής μεταδοτικότητας λόγω της ταχύτατης αναπαραγωγής του ιού, αναδεικνύουν το πρόβλημα που προκύπτει καθώς και την πιθανή του λύση. Οι επιπλέον 68 περιπτώσεις που χαρακτηρίστηκαν ως περιπτώσεις λανθάνουσας ηπατίτιδας Β και χαρακτηρίζονται μεν χαμηλής μολυσματικότητας παρ' όλα αυτά η χορήγησή τους σε άτομα με βεβαρυμμένο ιστορικό και με ασθενές ανοσοποιητικό μπορεί να είχε αρνητικά αποτελέσματα τόσο προς τους ίδιους τους ασθενείς όσο και προς ολόκληρη τη κοινωνία. Σημαντική εξάλλου είναι και η συμβολή του Μοριακού Ελέγχου ως προς τους πολυμεταγγιζόμενους ασθενείς, καθώς η ασφάλεια των μονάδων αίματος είναι εξαιρετικά σημαντική για αυτούς εξαιτίας των πολύ τακτικών μεταγγίσεων στις οποίες υποβάλλονται

Τα προβλήματα που προκύπτουν από τη χρήση τέτοιων εξελιγμένων μεθόδων είναι κυρίως οικονομικά, καθώς αυξάνουν το κόστος της ελεγμένης μονάδας προς μετάγγιση. Το ηθικό ζήτημα που προκύπτει είναι αν το κόστος (ηθικό και οικονομικό) των περιπτώσεων μόλυνσης που θα προέκυπταν σε περίπτωση μη έγκρισης των απαραίτητων κονδυλίων για την εισαγωγή ευαίσθητών τεχνικών αντισταθμίζει το οικονομικό κόστος της τεχνικής που προάγει την ασφάλεια των μεταγγιζόμενων προϊόντων . Η Μοριακή Τεχνική αυτή τη στιγμή θεωρείται η πιο ευαίσθητη τεχνική ελέγχου του αίματος, βέβαια με την εξέλιξη της επιστήμης και της τεχνολογίας οι ήδη υπάρχοντες τεχνολογίες εξελίσσονται και νέες τεχνολογίες εμφανίζονται.

Νέες τεχνολογίες με σκοπό την βελτίωση της ασφάλειας του χορηγούμενου αίματος εμφανίζονται και οι επαγγελματίες υγείες όσο και ο κρατικός μηχανισμός θα ήταν σωστό να είναι έτοιμοι να τα δεχτούν, να τα μελετήσουν και να αποφασίσουν ανάλογα με τα προβλήματα της κάθε κοινωνίας ώστε να διασφαλίσουν τη δημόσια υγεία. Επιπλέον, θα ήταν σωστό να προνοήσει για τα

αναδυόμενα και νέο-αναδυόμενα παθογόνα που έχουν αρχίσει να εμφανίζονται παγκοσμίως και προκαλούν σημαντικά προβλήματα στα συστήματα υγείας των διαφόρων χωρών που τα αντιμετωπίζουν.

Το σύστημα υγείας κάθε χώρας θα ήταν σωστό να έχει ως στόχο τη βελτίωση των υπηρεσιών υγείας προς τους ανθρώπους ώστε να τους παρέχει χωρίς διακρίσεις το ασφαλέστερο και ποιοτικότερο προϊόν υγείας. Εξάλλου το αγαθό της υγείας έχει χαρακτηριστεί ως το υπέρτατο αγαθό και θα ήταν πρέπον κάθε κοινωνία να εξασφαλίζει το βέλτιστο προς τους πολίτες της.

Βιβλιογραφία

Ελληνική Βιβλιογραφία

1. Ανδριώτης, Β., Τζιλιανός, Μ., Νασούλα, Ε., Στάβερη, Χ., Σαγιάς, Γ. (2011) Επιδημιολογική καταγραφή της λοίμωξης από τους ιούς HCV, HIV1-2, HTV1/2 σε αιμοδοτικό πληθυσμό. Ιατρικά Χρονικά ΒορειοΔυτικής Ελλάδος 7 (2); 11-14
2. Ανδριώτης, Β., Τζιλιανός, Μ., Νασούλα, Ε., Στάβερη, Χ., Βασιλάκη, Δ., Τζαφέστα, Μ. (2010). Επιδημιολογική καταγραφή της ηπατίτιδας Β σε αιμοδοτικό πληθυσμό. Ιατρικά Χρονικά ΒορειοΔυτικής Ελλάδος Τόμος 6, Συμπληρωματικό τεύχος: 39-42
3. Γούλης Ι. (2011). Ηπατίτιδα Β. Ελληνική Εταιρία Μελέτης Ήπατος. Αθήνα
4. Ελληνική Αιματολογική Εταιρεία, Τμήμα Αιμοδοσίας – Αφαίρεσης, 2010, Κατευθυντήριες οδηγίες μετάγγισης αίματος και παραγώγων του.
5. Ζερβού, Α., Οικονομάκης, Ν., 2009. Προσέλκυση και Κινητοποίηση Εθελοντών αιμοδοτών. Τμήμα Νοσηλευτικής – Α.Τ.Ε.Ι. (Ανώτατο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα) Κρήτης Ανακτήθηκε στις 3/5/3014 από http://nefeli.lib.teicrete.gr/browse/seyp/nos/2009/ZervouAmalia,OikonomakisNikolaos/attached-document/Zervou2009.pdf, 9/5/2014
6. ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. Ιογενείς Ηπατίτιδες – Ηπατίτιδα C. Συχνές Ερωτήσεις.
7. ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ., WNV 2010. Τμήμα Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης, Έκθεση: Επιδημία Λοίμωξης από το Ιό του Δυτικού Νείλου
8. ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ., WNV 2011. Τμήμα Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης, Έκθεση: Επιδημία Λοίμωξης από το Ιό του Δυτικού Νείλου
9. ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ., WNV 2012. Τμήμα Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης, Έκθεση: Επιδημία Λοίμωξης από το Ιό του Δυτικού Νείλου
10. ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ., WNV 2013. Τμήμα Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης, Έκθεση: Επιδημία Λοίμωξης από το Ιό του Δυτικού Νείλου

11. ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. Ελονοσία. Βασικές πληροφορίες Γενική περιγραφή της κατάστησης στην Ελλάδα
12. Νικολοπούλου Γ. και Ζησούλη Α. (2012) Ενημερωτικό Δελτίο ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. Ιογενείς Ηπατίτιδες
13. Παπαθανασίου, Β. (2009) Αγωγή και Προαγωγή υγείας στο σχολικό περιβάλλον: Βασικές Αρχές και Μεθοδολογία, Επιθεώρηση Εκπαιδευτικών θεμάτων, Τεύχος 15
14. Παρασκευάς Εμ., και Δημητρουλόπουλος Δ. (2003). Δείκτες ιογενών ηπατίτιδων. Ιατρικά Χρονικά Β.Δ Ελλάδος 3(1): 43-48
15. Παυλοπούλου Ειρήνη – Ευθυμία, (2011). Το Εθνικό Σύστημα Αιμοδοσίας. Τελική Εργασία., Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας, Αθήνα, σελ 39
16. Πορτοκαλάκη Ε. (2013). Ανάπτυξη νέων φαρμάκων κατά του ιού της Ηπατίτιδας C. Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, ΤΕΙ Αθηνών, Αθήνα)
17. Τσαλίκογλου, Φ. Προαγωγή Υγείας και ασφάλειας στους χώρου εργασίας: Θεσμικές και Διοικητικές συνιστώσες, Εργασία, Τμήμα Διοίκηση Οργανισμών Κοινωνικής Πολιτικής, Αθήνα 2006
18. Υπουργείο Υγείας ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. (2012) ΔΕΛΤΙΟ Επιδημιολογικής επιτήρησης λοιμώξεων που μεταδίδονται με το αίμα (1996-2011)
19. Υπουργείο Υγείας. ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. (2014) Επιδημιολογική Επιτήρηση της HIV/AIDS λοίμωξης στην Ελλάδα Δηλωθέντα Στοιχεία έως 31.12.2013.
20. Υ4γ/οικ.121672/08.09.2009 (Φ.Ε.Κ. 2001 Β') Υπουργική απόφαση «Ορισμός Κέντρων Αίματος και Νοσοκομειακών Υπηρεσιών Αιμοδοσίας», όπως τροποποιήθηκε με την αριθμ. Υ4γ/οικ.81700/02.07.2010 (ΦΕΚ 1147 Β΄) απόφαση.
21. Φυλλάδιο αιμοδοσίας Υπουργείο Υγείας, (1998)
22. Χατζηγιάννης ΣΙ. 1999. Ηπατίτιδα C, Εκδόσεις Πασχαλίδη, Αθήνα

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

1. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P. (2007). Molecular Biology of the Cell 4th Edition, New York

2. Allain, JP. (2004). Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion. Vox Sanguinis 86: 83-91
3. Allain, JP. and Candotti, D. (2012). Hepatitis B virus in transfusion medicine: Still a problem? Biologicals 40(3): 180-6
4. Allain, JP., Belkhiri, D., Vermeulen, M., Grooks, R., Cable, R., Amiri, A. et al. (2009). Characterization of Occult Hepatitis B Virus Strains in South African Blood Donors Hepatology 49 (6): 1868-1876
5. Alma-Ata, USSR, 6-12 September 1978
6. Assal, A., Barlet, V., Cornillot, C., Deschazeaux, M., Dupont, I., Gallian, P., et al (2006). Head to head comparison of two new automated NAT systems, Chiron Procleix Tigris system vs Roche Cobas s201. VoxSanguinis, 91; 75-75
7. Bakaloudi, V., Sachinidou, C., Hassapopoulou, E., Ntinopoulou, E., Kostopoulou, E., Chalkia P., et al. (2007). Six months experience of NAT in the blood center of Northern Greece. XVII ISBT, 23-27 June Madrid, Spain. P271
8. Ballester, JM., Rivero, RA., Villaescusa, R., Merlvn, JC., Arce, AA., Castillo, D., et al (2005). Hepatitis C virus antibodies and other markers of blood-transfusion-transmitted infection in multi-transfused Cuban patients. J Clin Virol, 34 Suppl 2: S39-46
9. Bartzoudis, D., Fillippovits, S., Karpouza, A., Zorbas, I., Piperidou, A., Papadopoulou, M. (2011). Comparison of serological markers and NAT testing results for screening of HBV, HCV and HIV in blood donors. XXI ISBT. 18-22 June, Lisbon, Portugal. P-296
10. Biswas, P., Tabor, E., Hsia, CC., Wright, DJ., Laycock, ME., Fiebig, EW et al. (2003). Comparative sensitivity of HBV NATs and HBsAg assays for detection of accute HBV infection, Transfusion, 43: 788-798
11. Borhany, M., Shamsi, T., Boota, S., Ali, H., Tahir, N., Naz, A., et al. (2011). Transfusion transmitted infections in patients with hemophilia of Karachi, Pakistan. Clin Appl Thromb Hemost,17(6): 651-5.
12. Borkent-Raven, BA., Janssen, MP., van der Poel, CL., de Wit, GA., Bonsel, GJ., van Hout, BA. (2009). Cost-effectiveness of additional hepatitis B virus nucleic acid testing of individual donations or minipools of six donations in the Netherlands. Transfusion, 49: 311-319

13. Bouchardeau, F., Girault, A., Razer, A., Servant-Delmas, A., Mercier M., Laperche, S. (2006). Sensitivity of hepatitis B virus DNA transcription-mediated amplification testing in hepatitis B surface antigen-positive blood donations. Transfusion, 46: 2047-2052
14. Brojer, E., Grabarczyk, P., Liszewski, G., Mikulska, M., Allain, JP., Letowska, M., (2006). Characterization of HBV DNA_/HBsAg_ Blood Donors in Poland Identified by Triplex NAT. Hepatology, 44(6): 1666-1674
15. Bury, J.A. (2001) Education pour la sante, concepts, enjeux, planifications. Bruxelles De Boeck Université
16. Busch, MP. and Kleinman, SH. (2006). Nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion-transmitted infectious diseases. Transfusion, 40: 143-159
17. Busch, MP., Glynn, SA., Stramer, SL., Strong, MD., Caglioti, S., Wright, DJ et al. (2005). A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. Transfusion, 45: 254-264
18. Cable, R., Lelie, N., Bird, A. (2013) Reduction of the risk of transfusion-transmitted viral infection of nucleic acid amplification testing in the Western Cape of South Africa: a 5-year review, Vox Sanguinis, 104, 93-99
19. Chatterjee, K., Coshic, P., Borgohain, M., Premchand, Thapliyal RM., Chakroborty S., Sunder S. (2012). Individual donor nucleic acid testing for blood safety against HIV-1 and hepatitis B and C viruses in a tertiary care hospital. The National Medical Journal of India. 25 (4); 207-209
20. Chudy, M., Weber-Schehl, M., Pichl, L., Jork, C., Kress, J., Heiden, M. et al. (2012). Blood screening nucleic acid amplification tests for human immunodeficiency virus Type 1 may require two different amplification targets. Transfusion 52(2): 431-9
21. Craveiro, M., Clerc, I., Sitbon, M., Taylor, N. (2013) Metabolic pathways as regulators of HIV infection. Curr Opin HIV AIDS. 8(3): 182-9

22. Dalekos, GN., Zervou, E., Karabini, G., Tsianos, EV. (1995). Prevalenve of viral markets among refugees from southern Albania: increase incidence of infection with hepatitis A, B and D viruses. Eur J Gastroenterol Hepatol 7(6); 553-8
23. Damond, F, Collin, G, Descamps, D, Matheron, S., Pueyo, S., Taieb, A. et al. (2005). Improved Sensitivity of Human Immunodeficiency Virus Type 2 Subtype B Plasma Viral Load Assay. Journal of Clinical Microbiology, 43: 4234-4236
24. Declaration of Alma-Ata, (1986) International Conference on Primary Health Care
25. Draijer, J. & Williams, T. (1991). School Health Education and Promotion in the Member States of the European Community. The Commission of the European Communities
26. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2013) Surveillance Report. Annual epidemiological report reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data.
27. Flamm, SL., Parker, RA., Chopra, S. (1998) Risk factors associated with chronic hepatitis C virus infection: limited frequency of an unidentified source of transmission. Am J Gastroenterol 93: 597-600
28. Gaüzère, BA., Gérardin, P., Vandroux, D., Aubry, P. (2012) Chikungunya virus infection in the Indian Ocean: lessons learned and perspectives. Med Trop, 72: 6-12
29. Giachetti, C., Linnen, JM., Kolk, DP., Dockter, J., Gillotte-Taylor, K., Park, M., et al. (2002). Highly Sensitive Multiplex Assay for Detection of Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis C Virus RNA. Journal of Clinical Microbiology 40: 2408-2419.
30. Gonzalez, R., Torres, P., Castro, E., Barbolla, L., Candotti, D., Koppelman M., et al. (2010) Efficacy of Hepatitis B virus (HBV) DNA screening and charachterization of acute and occult HBV infections among blood donors from Madrid, Spain. Transfusion 50(1): 221-30
31. Gonzales, E., Echevarria, JM., Avellon, A., Barea, L., Castro, E., (2006). Acute hepatitis B virus window-period blood donations detected by individual-donation nucleic acid testing: a report on the first two cases found and interdicted in Spain, Transfusion, 46: 1138-1142

32. Hatzitaki, M., Vasiloudi, M., Diamanti, E., Moka, K., Staboulzis, N., Prapa, A., et al. (2010). Identification and further analysis of HBV-NAT yield donors in a regional blood donation center of central Greece. XXXI ISBT. 26 June – 1 July, Berlin, Germany, P-0544
33. Jackson, BR., Busch, MP., Stramer, SL., AuBuchon, JP. (2003). The cost-effectiveness of NAT for HIV, HCV and HBV in whole-blood donations. Transfusion, 43(6): 721-9
34. Jackson, JB., Smith, K., Knott, C., Korpela, A., Simmons, A., Piwowar-Manning, E., et al. (2002). Sensitivity of the Procleix HIV-1/HCV Assay for detection of HIV-1 and HCV RNA in a High Risk Population. J. of Clin. Microbio, 40: 2387-2391.
35. Kaitelidou D., Kouli E. (2012) Greece: The health system in a time of crisis. 2012 Eurohealth incorporating Euro Observer 18(1): 12-14
36. Kalibatas V. (2008) HCV and HBV infections interdicted by individual donation (ID)-NAT testing in Lithuania. Abstract ISBT Macao 2008, China, Vox Sanguinis 95 (Suppl 1), P-613, p19
37. Kiely, P., Kay, D., Parker, S., Piscitelli, L. (2004) The significance of third-generation HCV RIBA-indeterminate, RNA-negative results in voluntary blood donors screened with sequential third-generation immunoassays. Transfusion, 44(3): 349-58
38. Kleinman, SH. and Busch, MP. (2006). Assessing the impact of HBV NAT in window period reduction and residual risk Journal of Clinical Virology 36 Suppl. 1 S23-S29
39. Koopelman, M.H.G.M., Assal, A., Chudy, M., Torres, P., de Villaescusa, RC., Reesink, HW., et al. (2005) Multicenter performance evaluation of transcription-mediated amplification assay for screening of human immunodeficiency virus-1 RNA, hepatitis C virus RNA, and hepatitis B virus DNA in blood donations. Transfusion, 45: 1258-1266.
40. Kurien, BT., Scofield, RH. (2006). Western Blotting. Methods, 38(4):283-93
41. Learning Guide. (2008) Abbott Laboratories 98-0897/R2-1.5 Jan 2008 Printed in USA
42. Lelie N. and Heaton A. (2006). Hepatitis B. A review of the role of NAT in enchancing blood safety. Journal of Clinical Virology, 36(1): S1-2

43. Linnen, J., Gilker, MJ., Menez, A., Vaughn, A., Broulik, A., Dockter, J., et al. (2002). Sensitive detection of genetic variants of HIV-1 and HCV with an HIV-1/HCV assay based on Transcription-Mediated Amplification. J. Virol.Methods, 102: 139-155.
44. Liu, CJ., Lo, SC., Kao, JH., Tseng, PT., Lai, MY., Ni, YH., et al (2006a). Transmission of occult hepatitis B virus by transfusion to adult and pediatric recipients in Taiwan. J Hepatol, 44(1): 39-46
45. Liu, CJ., Lo, SC., Kao, JH., Tseng, PT., Lai, MY., Ni, YH et al. (2006b). Epidemiology of HBV infection in Asian blood donors: emphasis on occult HBV and the role of NAT. Journal of Clinical Virology, 36: S1-S2,
46. Louisirirotchanakul, S., Oota, S., Khuponsarb, K. et al, (2011) Occult Hepatitis B virus infection in Thai blood donors. Transfusion, 51; 1532-1540
47. McCormick, M.K. (2006) Evaluation of a new molecular assay for detection of Human Immunodeficiency Virus type 1, RNA, Hepatitis C virus RNA, and Hepatitis B virus RNA. Journal of Clinical Virology 1-11.
48. McCune, JM. (2001) The dynamics of CD4+ T-cell depletion in HIV disease. Nature, 19;410(6831):974-9
49. Miller, R. and Bor, E., (1991) AIDS: A guide to clinical counseling. Science Press, Philadelphia.
50. Niederhauser C. (2011). Reducing the risk of hepatitis B virus transfusion-transmitted infection. Journal of Blood Medicine, 2: 91-102
51. Omar, N., Salama, K., Adolf, S., El-Saeed, GS., Abdel, Ghaffar, N., Ezzat, N. (2011) Major risk of blood transfusion in hemolytic anemia patients. Blood Coagul Fibrinolysis, 22(4): 280-4
52. Package Insert Procleix Ultrio Assay 502187EN Rev. B / QCS 901409 2011-10, (Novartis Diagnostic)
53. Package Insert Procleix Ultrio Plus Assay,503644EL Αναθ. A / QCS 502453 2012-10, (Novartis Diagnostic)
54. Package Insert, cobas® TaqScreen MPX Test, version 2.0 for use on the cobas s 201 system, 06327052001-01EN, Doc Rev. 1.0, 2011 Roche Molecular Systems, Inc.
55. Papa, A., Danis, K., Baka, A., Bakas, A., Dougas, G., Lytras, T., et al. 2010. Ongoing outbreak of West Nile virus infections in humans in

Greece. July – August 2010.Ανακτήθηκε στις 3/3/2014 από www.eurosurveillance.org

56. Pereira A. (2003). Health and economic impact of posttransfusion hepatitis B and cost-effectiveness analysis of expanded HBV testing protocols of blood donors: a study focused on the European Union. Transfusion, 43(2);192-201
57. Pereira, A., Sanz, C. (2000). A model of the health and economic impact of posttransfustion hepatitis C: application to cost-effectiveness analysis of further expansion of HCV screening protocol. Transfusion, 40(10): 1182-91
58. Procleix Tigris System Operator Manual Part 1, 902523 Rev. A, (Novartis Diagnostic)
59. Raimondo, G., Pollicino, T., Cacciola, I., Squadrito, G. (2007). Occult hepatitis B virus infection. Journal of Hepatology 46: 160-170
60. Roth WK., Busch MP., Schuller A. et al. (2012) International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009. Vox Sanguinis, 102 (1): 82-90
61. Saldanha, J., Heath, A., Aberham, C., Albrecht, J., Gentili, G., Gessner, M., and Pisani, G. (2003). WHO Collaborative Study to Establish a Replacement WHO International Standard for HCV RNA NAT Assays. WHO/BS/03.1958 Expert Committee on Biological Standardization, 17 to 21 February Geneva
62. Saldanha, J., Gerlich, W., Lelie, N., Dawson, P., Heermann, K., Heath, A. (2001). An international collaborative study to establish a World Health Organization international standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification techniques. Vox Sang. 80: 63-71.
63. Scuracchio, PS., Poli, MC., Lemos, MM., Oliveira Filho, AG., Salles, NA., Chamone, DAF., et al (2007). Detection of HIV-1 infection in blood donors during the immunological window period using the nucleic acid amplification technology. Transfusion Medicine, 17: 200-204
64. Soedarmono, YS., Lusinanto, A. (2012) Indonesia individual donation blood screening experience with the improved sensitivity Ultrio Plus reagent on Procleix Tigris system for the detection of HIV-1, HCV and

HBV nucleic acids. Abstract ISBT Cancun 2012, *Vox Sanguinis* 103 (Suppl. 1), p149 P-258,

65. Stolz, M., Tinguely, C., Graziani, M. et al. (2010) Efficacy of individual nucleic acid amplification testing in reducing the risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus infection in Switzerland, a low-endemic region. Transfusion, 50 (12): 2695-706
66. Stramer, SL, Glynn, SA., Kleinman, SH., Strong, DM., Caglioti, S., Wright, DJ., et al. (2004) Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing N Engl J Med 351: 760-768
67. Teixeira, MJ., Henggele,r F., Diniz, C. et al. (2008) Occult Hepatitis B virus infection in blood donors from central Portugal. Abstract ISBT Macao 2008, China, Vox Sanguinis 95 (Suppl 1), P-616, p20
68. Tsetsarkin, KA., Sampson-Johannes, A, Sawyer, L, Kinsey ,J, Higgs, S, Vanlandingham, DL. (2013) Photochemical inactivation of chikungunya virus in human apheresis platelet components by amotosalen and UVA light. Am J Trop Med Hyg, 88(6): 1163-9.
69. Tsoi, W-C., Lelie, N., Lin, C-K. (2012) Enhanced HBV detection in Hong Kong blood donors with the second generation triplex Transcription Mediated Amplification assay. Abstracts ISBT Cancun Mexico, *Vox Sanguinis* 103 (Suppl. 1), p161, P-296
70. Vargo, JM., Smith, K., Knott, C., Wang, D., Fang, C., McDonough, S., et al. (2002). Clinical Specificity and Sensitivity of a Blood Screening Assay for Detection of HIV-1 and HCV RNA. Transfusion, 42: 876-885.
71. Velati, C., Romano, L., Fomiatti, L. et al, (2008). Impact of nucleic acid testing for hepatits B virus, hepatitis C virus and hyman immunodeficiency virus on the safety of blood supply in Italy: a 6-year survey. Transfusion, 48: 2205-2213
72. Vermeulen, M., Coleman, C., Mitchel, J. *et al*. (2012) A mathematical approach to determine efficacy of NAT in removing transmission risk of Occult HBV infection by blood components. Abstract ISBT Cancun 2012 *Vox Sanguinis* 103 (Suppl. 1), p18-19. 3C-S12-03,
73. World Health Organization (WHO) (2014) Hepatitis C. Ανακτήθηκε στις 30/3/2014 από http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/

74. World Health Organization (WHO) (2012) Global Health Observatory. Ανακτήθηκε στις 30/3/2014 από http://www.who.int/gho/hiv/en/
75. World Health Organization (WHO) (1986) First International Conference on Health Promotion, Ottawa
76. Yang, MH., Li, L., Hung, YS., et al. (2010) The efficacy of individual-donation and minipool testing to detect low-level hepatitis B virus DNA in Taiwan. Transfusion, 50 (1): 65-74
77. Zacharakis, G., Kotsiou, S., Papoytselis, M., Vafiadis, N., Tzafa, F., Pouliou, E., et al. (2009). Changes in the epidemiology of hepatitis B virus infection following the implementation of immunization programmes in northeastern Greece. Euro Surveill. 14(32)
78. Zeinab Nabil Ahmed Said. (2011). An overview of occult Hepatitis B virus infection. World J Gastroenterol 17(5) 1927-38

Ιστοσελίδες

1. Βλαχογιαννάκος Ι. Ηπατίτιδα Β. Ανακτήθηκε στις 5/4/2014 από http://www.chios-medical.gr/hepatitis%20b.htm
2. Ε.ΚΕ.Α. (2012,) Εξοικονόμηση πόρων στην αιμοδοσία και βελτίωση της ασφάλειας και της ποιότητας του αίματος, Ανάκτηση στις 9/5/2014 από http://www.paspama.gr/ekea.pdf
3. Εφημερίδα Ριζοσπάστης, Δημοσίευση στις 29 Μαρτίου 2006. «Μόλυνση από τον ιό του Εϊτζ» Ανάκτηση στις 9/5/2014 από http://www.rizospastis.gr/columnPage.do?publDate=29/3/2006&columnId=1261
4. Εφημερίδα «Ελευθεροτυπία» Ηλεκτρονική Έκδοση. (2013). Αύξηση 8% στα κρούσματα AIDS. Ανάκτηση στις 2/5/2014 από http://www.enet.gr/?i=news.el.article&id=401064
5. Εφημερίδα «Εφημερίδα των Συντακτών» (2013). Σκανδαλώδης διαχείρηση ή αδιαφορία; Ανακτήθηκε στις 4/4/2014 από https://www.efsyn.gr/?p=106552

6. Εφημερίδα Ναυτεμπορική. (2013). Αποζημίωση 800.000 ευρώ για μόλυνση με AIDS από μετάγγιση. Ανακτήθηκε στις 4/5/2014 από http://www.naftemporiki.gr/story/512793/apozimiosi-800000-euro-gia-molunsi-me-aids-apo-metaggisi
7. Εφημερίδα Πρώτο Θέμα, (2008). Υψηλής ακρίβειας μοριακός έλεγχος του αίματος σε όλη τη χώρα. Ανάκτηση στις 31/3/2014 από http://www.protothema.gr/greece/article/13734/ypshlhs-akribeias-moriakos-elegxos-toy-aimatos-se-olh-th-xora/
8. Ζερβού Ε., (2011) Εργαστηριακός έλεγχος του αίματος και ασφάλεια των μεταγγίσεων. Ανάκτηση 23/3/2014 από http://www.iatronet.gr/ygeia/aimatologia/article/15594/ergastiriakos-elegxos-toy-aimatos-kai-asfaleia-twn-metaggisewn.html
9. Ηλεκτρονική Εφημερίδα, Ανεξάρτητη Ενημέρωση **tvxs**, ΙΣΑ: Μεγάλη αύξηση των κρουσμάτων AIDS στην Ελλάδα. Ανάκτηση στις 3/4/2014 από http://tvxs.gr/news/ellada/isa-megali-ayksisi-ton-kroysmaton-aids-stin-ellada
10. ΙΑΣΠΙΣ/ Ιδεώδες Ασκληπιακό Πάρκο Ιατρικής Σχολής (2011): Ιστορίας της Αιμοδοσίας Ανάκτηση στις 8/5/2014 από (http://panacea.med.uoa.gr/topic.aspx?id=124
11. Ιστοσελίδα «In.gr». (2013). Ανησυχητική αύξηση των νέων κρουσμάτων HIV το 2012 στην Ευρώπη. Ανάκτηση στις 5/52014 από http://health.in.gr/news/epidemiology/article/?aid=1231276355
12. Καραγιώργος Δ. (2014). «Αιμορραγία» στο σύστημα ελέγχου του αίματος. Ανακτήθηκε στις 14/5/2014 από http://www.ethnos.gr/article.asp?catid=22768&subid=2&pubid=63988480
13. Καρλατήρα Π. (2013). Αλλάζει ο χάρτης του... αίματος στην Ελλάδα. Εφημερίδα «Πρώτο Θέμα». Ανακτήθηκε στις 13/5/2013 από http://www.protothema.gr/ugeia/article/288866/allazei-o-hartis-tou-aimatos-stin-ellada/
14. ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. Πληροφορίες για τους Επαγγελματίες Υγείας. Ανακτήθηκε στις 20/5/2014 από http://www.keelpno.gr/el-gr/%CE%BD%CE%BF%CF%83%CE%AE%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1%CE%B8%CE%AD%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1

%CF%85%CE%B3%CE%B5%CE%AF%CE%B1%CF%82/%CE%BB%CE%BF%CE%B9%CE%BC%CF%8E%CE%B4%CE%B7%CE%BD%CE%BF%CF%83%CE%AE%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1/%CE%BD%CE%BF%CF%83%CE%AE%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B1%CF%80%CE%BF%CF%85%CE%BC%CE%B5%CF%84%CE%B1%CE%B4%CE%AF%CE%B4%CE%BF%CE%BD%CF%84%CE%B1%CE%B9%CE%BC%CE%AD%CF%83%CF%89%CE%B4%CE%B9%CE%B1%CE%B2%CE%B9%CE%B2%CE%B1%CF%83%CF%84%CF%8E%CE%BD/%CE%B9%CF%8C%CF%82%CF%84%CE%BF%CF%85%CE%B4%CF%85%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%BF%CF%8D%CE%BD%CE%B5%CE%AF%CE%BB%CE%BF%CF%85%CE%BB%CE%BF%CE%AF%CE%BC%CF%89%CE%BE%CE%B7%CE%B1%CF%80%CF%8C.aspx#2

15. Κομνηνού, Ν. (2013). Αγωνία για τις μεταγγίσεις αίματος μετά τις 25 Αυγούστου. Ανακτήθηκε στις 20/4/2013 από http://www.ygeia360.gr/en/news/itemlist/tag/%CE%BC%CE%B5%CF%84%CE%B1%CE%B3%CE%B3%CE%AF%CF%83%CE%B5%CE%B9%CF%82%20%CE%B1%CE%AF%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%BF%CF%82

16. Οργανισμός Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης (ΟΟΣΑ) (2013) Ανακτήθηκε στις 14/5/2014 από http://www.oecd.org/els/health-systems/oecdhealthdata2013-frequentlyrequesteddata.htm

17. ΠΑ.Σ.ΠΑ.ΜΑ. (Πανελλήνιος Σύλλογος Πασχόντων από Μεσογειακή Αναιμία.), (2014). Θεραπευτική Αντιμετώπιση. Ανάκτηση στις 5/4/2014 από http://www.paspama.gr/thalassemia/thalassemia-treatment

18. Π.Γ.Ν.Θ. «ΑΧΕΠΑ» Τμήμα Αιμοδοσίας. Ανάκτηση στις 8/9/2014 από http://www.ahepahosp.gr/med3_aimod.asp

19. Π.Γ.Ν.Θ. «ΑΧΕΠΑ» Μικροβιολογικό Εργαστήριο. Τμήμα Λοιμώξεων και Μοριακής Διάγνωσης. Ανάκτηση στις 5/4/2014 από http://www.ahepahosp.gr/med3_microbio_tmima_eid_loimoxewn.asp

20. Σταμούλης Κ. (2014). Εθνικό Κέντρο Αιμοδοσίας, Παρουσίαση με θέμα: Αναδυόμενα παθογόνα και ελεγχόμενα σε ειδικές καταστάσεις. Ανακτήθηκε στις 12/4/2014 από http://www.eae.gr/new2/parousiaseis/%CE%9A%20%CE%A3%CE%A

4%CE%91%CE%9C%CE%9F%CE%A5%CE%9B%CE%97%CE%A3.pdf

21. Φυντανίδου Ε. (2012). Τρομακτική αύξηση των κρουσμάτων AIDS. Εφημερίδα «Το Βήμα» Ανάκτηση στις 17/4/2014 από http://www.tovima.gr/society/article/?aid=484843
22. Φωτεινάκη Χ. (2013). Εγγραφο σοκ: χωρίς μοριακό έλεγχο η αιμοδοσία στο ΑΧΕΠΑ. Ανακτήθηκε στις 20/4/2014 από http://www.seleo.gr/index.php?option=com_content&view=article&id=108695:eggrafo-sok-xoris-moriako-elegxo-h-aimodosia-sto-axepa&catid=74:sites&Itemid=54
23. Χαϊκάλη, Α. Παρουσίαση: Μεταδιδόμενα με το αίμα παθογόνα. Ανάκτηση 28/3/2014 από http://www.eae.gr/new2/parousiaseis/%CE%91%20%CE%A7%CE%91%CE%99%CE%9A%CE%91%CE%9B%CE%97.pdf.
24. Hepatitis B Foundation, General Information: FAQ. Ανακτήθηκε στις 5/5/2014 από http://www.hepb.org/patients/general_information.htm#ques2
25. Gen-Probe 2014. Transcription Mediated Amplification. System Principles. Ανακτήθηκε στις 4/5/2014 από http://www.gen-probe.com/pdfs/tma_whiteppr.pdf
26. Gilroy, E. PCR. University of Warwick Ανακτήθηκε στις 5/4/2014 από http://www2.warwick.ac.uk/fac/sci/chemistry/research/arodger/arodgergroup/people/msrhab/research/pcr/
27. Roche – Diagnostic International. (2013) Electro-chemiluminescence immunoassay (ECLIA) for the in vitro quantitative determination of juman calcitonis (hCT) in serum and plasma. Ανάκτηση στις 3/4/2014 από http://www.roche-diagnostics.ch/content/dam/corporate/roche-dia_ch/documents/broschueren/professional_diagnostics/immunologie/schilddruesendiagnostik/EN_EA_Calcitonin-FactSheet.pdf
28. U.S. Department of Health & Human Services. (2013) Stages of HIV infection. Ανάκτηση στις 13/5/2014 από http://www.aids.gov/hiv-aids-basics/just-diagnosed-with-hiv-aids/hiv-in-your-body/stages-of-hiv/