

ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ – ΟΦΕΛΟΣ – ΚΟΣΤΟΣ

Τσέλιου Παρθενόπη, Ιατρός Βιοπαθολόγος
Κέντρο Αιμοδοσίας Γ.Ν.Πατρών «Ο Άγιος Ανδρέας»

Η συμβολή των μεταγρίσεων αίματος στην καθημερινή ιατρική πράξη είναι πλέον αδιαμφισβήτητη, ο αριθμός τους δε αυξάνεται ολοένα. Το ίδιο ακριβώς συμβαίνει και με το κόστος που απαιτείται, προκειμένου να επιτευχθεί μία όσο το δυνατόν ασφαλής μετάγγιση. Η εφαρμογή των Μοριακών Τεχνικών στον έλεγχο των μεταδιδόμενων με το αίμα νοσημάτων αποτελεί πρόσφατο επιστημονικό και τεχνολογικό επίτευγμα και αναμένεται να αυξήσει το κόστος της μετάγγισης ακόμα περισσότερο.

Τα χρησιμοποιούμενα τεστ με την μέθοδο ELISA ανιχνεύουν ως γνωστόν α) την ανοσιακή απάντηση του οργανισμού μετά την έκθεσή του στον ιό, η οποία όμως καθυστερεί β) μικρά σωματίδια του ιού, όπως το Αυστραλιανό αντιγόνο (HBsAg). Το διάστημα που μεσολαβεί από την έκθεση του οργανισμού στον ιό, μέχρις ότου οι εν χρήσει συμβατικές ορολογικές μέθοδοι μπορέσουν να τον ανιχνεύσουν, αποτελεί την λεγόμενη «περίοδο παραθύρου» ή «σιωπηλό παράθυρο».

Επειδή οι Μοριακές Τεχνικές (Nucleic Acid Amplification Test = NAT) ανιχνεύουν άμεσα το γενετικό υλικό των ιών και όχι το έμμεσο προϊόν της ανοσιακής απάντησης προς αυτούς, δηλαδή τα αντισώματα, προσφέρουν το πλεονέκτημα της μείωσης του σιωπηλού παραθύρου, ελαχιστοποιώντας έτσι τον κίνδυνο λοίμωξης από μολυσμένο αίμα.

Ο Υπολειπόμενος Κίνδυνος (χωρίς την εφαρμογή NAT) που αφορά την μετάγγιση μολυσματικής μονάδας είναι στις Ηνωμένες Πολιτείες :

- 1,5 : 1.000.000 για τον Ιό της Ανοσοανεπάρκειας HIV
- < 1 : 100.000 για τον Ιό της Ηπατίτιδας Β ή της Ηπατίτιδας C

C. Giachetti. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, July 2002, p. 2408-2419.

Οι πηγές του υπολειπόμενου κινδύνου είναι :

- Η Περίοδος προ της ορομετατροπής (περίοδος παραθύρου)
- Οι Μεταλλάξεις των ιών
- Η Άτυπη ορομετατροπή (σιωπηλή λοίμωξη)
- Το Διαγνωστικό λάθος

Η εφαρμογή των Μοριακών Τεχνικών σε pools (δεξαμενές πλάσματος) έχει ξεκινήσει στην Ευρώπη και στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής από το 1999. Ο έλεγχος των αιμοδοτών με NAT για την ανίχνευση των ιών HCV και HIV καθιερώθηκε το 1999 στις ΗΠΑ, το 2000 στην Αυστραλία και το 2001 στην Γαλλία, ενώ στην Ιαπωνία ο μοριακός έλεγχος και για τους τρεις ιούς HBV, HCV, HIV εφαρμόστηκε στους αιμοδότες το 1999.

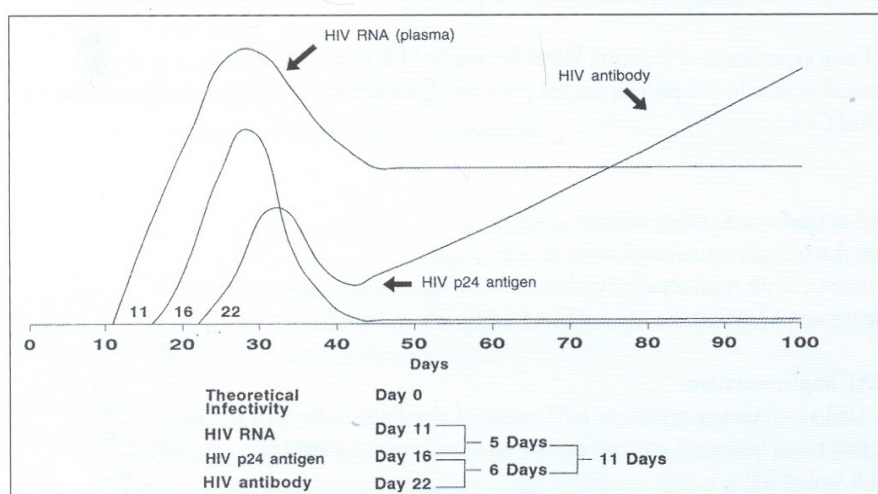
Στην Ελλάδα η εφαρμογή των μοριακών τεχνικών στο πλάσμα άρχισε το 2001 στο Εθνικό Κέντρο Παρασκευής Παραγώγων Αίματος.

Αξίζει να αναφερθεί ότι η πρώτη προσπάθεια εφαρμογής μοριακών τεχνικών στις μονάδες αίματος έγινε το 1995 στην Ελλάδα από το Κ. Αιμοδοσίας του Γ.Ν.Πατρών

«Ο Άγιος Ανδρέας» σε ερευνητική βάση. Χρησιμοποιήθηκε τότε η μέθοδος του Μοριακού Υβριδισμού για τον εντοπισμό υπόπτων μονάδων για την ηπατίτιδα Β, ενώ το 1998 χρησιμοποιήθηκε η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) για την ανίχνευση της ηπατίτιδας C σε αδιευκρίνιστα δείγματα αιμοδοτών. Οι μέθοδοι αυτές αποτέλεσαν τον προάγγελο των Μοριακών Τεχνικών με την σημερινή τους μορφή, αλλά δεν μπορούσαν να εφαρμοστούν τότε ως μέθοδος ρουτίνας σε κανένα Κέντρο Αιμοδοσίας ανά τον κόσμο.

Ας δούμε τώρα με πιο τρόπο οι μοριακές τεχνικές συμβάλλουν στην μείωση του υπολειπόμενου κινδύνου και αν υπάρχουν εναλλακτικές μέθοδοι. Όπως αναφέρθηκε η NAT ανιχνεύει απευθείας το γενετικό υλικό των ιών, πολλαπλασιάζοντας τμήματα στόχους των πυρηνικών οξέων των ιών αυτών, μέχρις ότου καταστούν ανιχνεύσιμα.

HIV



- Η Ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA ανιχνεύει τα αντι-HIV $\frac{1}{2}$ αντισώματα 22 ημέρες μετά την έκθεση του οργανισμού στον ιό
- Η NAT ανιχνεύει το HIV-RNA (γενετικό υλικό του ιού HIV) 11 ημέρες μετά την έκθεση του οργανισμού στον ιό
- Επομένως η περίοδος παραθύρου μειώνεται κατά 50% (Lewin Group 2002)
- Η ευαισθησία της NAT σε μονήρες δείγμα είναι < 100 copies/ml
- Υπολειπόμενος κίνδυνος για τον ιό HIV μετά την εφαρμογή της NAT στις ΗΠΑ : 1 : 4.390.000 (American Red Cross)

International Forum, Vox Sanguinis, 2002, 82, 87-111.

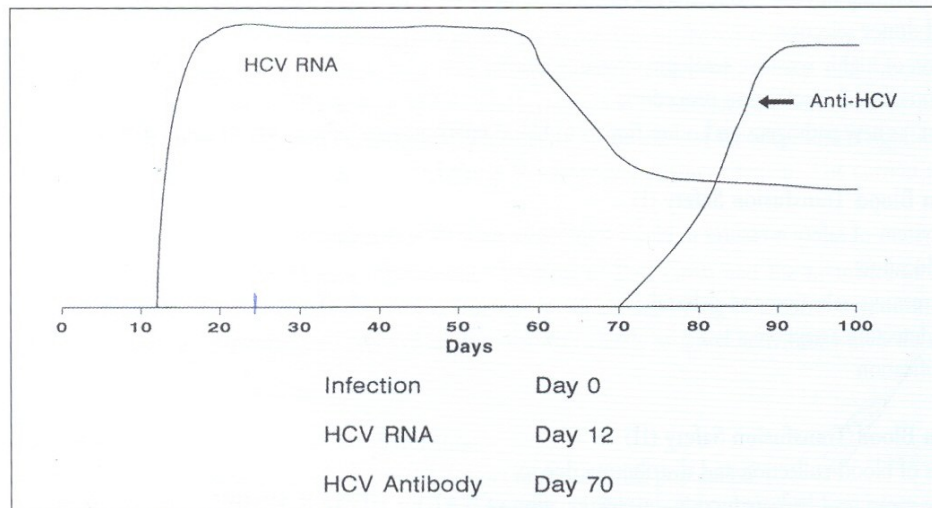
Υπάρχει εναλλακτική μέθοδος;

Από το διάγραμμα προκύπτει ότι ο έλεγχος του αντιγόνου HIV p24 μπορεί να προσδιορίσει την λοίμωξη 16 ημέρες μετά την μόλυνση του οργανισμού. Επομένως υπολείπεται της NAT κατά 5 ημέρες.

- Υπολειπόμενος κίνδυνος για τον ιό HIV μετά την εφαρμογή του HIV p24 Ag και πριν την εφαρμογή της NAT στις ΗΠΑ : 1 : 4.000.000 (ARC)

Susan L. Stramer et al. NAT of the United States and Canadian blood supply. TRANSFUSION 2000, 40, 1165-1168.

HCV



- Η Ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA ανιχνεύει τα αντι-HCV αντισώματα 70 και πλέον ημέρες μετά την έκθεση του οργανισμού στον ιό
- Η NAT σε μονήρες δείγμα ανιχνεύει το HCV-RNA (γενετικό υλικό του ιού HCV) 12 και πλέον ημέρες μετά την έκθεση του οργανισμού στον ιό
- Επομένως η περίοδος παραθύρου μειώνεται κατά 70% (Lewin Group 2002)
- Η ευαισθησία της NAT σε μονήρες δείγμα είναι < 100 copies/ml
- Υπολειπόμενος κίνδυνος για τον ιό HCV μετά την εφαρμογή της NAT στις ΗΠΑ : 1 : 259.000

International Forum, Vox Sanguinis, 2002, 82, 87-111.

Υπάρχει εναλλακτική μέθοδος;

Ο έλεγχος για το αντιγόνο της ηπατίτιδας C (HCV core Ag) μπορεί να ανιχνεύσει την HCV λοίμωξη κατά την περίοδο του παραθύρου 1,5 μήνα πριν την ορομετατροπή, υπολείπεται όμως της NAT κατά 2 ημέρες. Αυτό σημαίνει ότι, ενώ το HCV-RNA ανιχνεύεται από την 12^η ημέρα και μετά, το HCV core Ag ανιχνεύεται μετά την 14^η ημέρα.

Anne-Maria Courouce et al. TRANSFUSION 2000, 40, 1198-1202

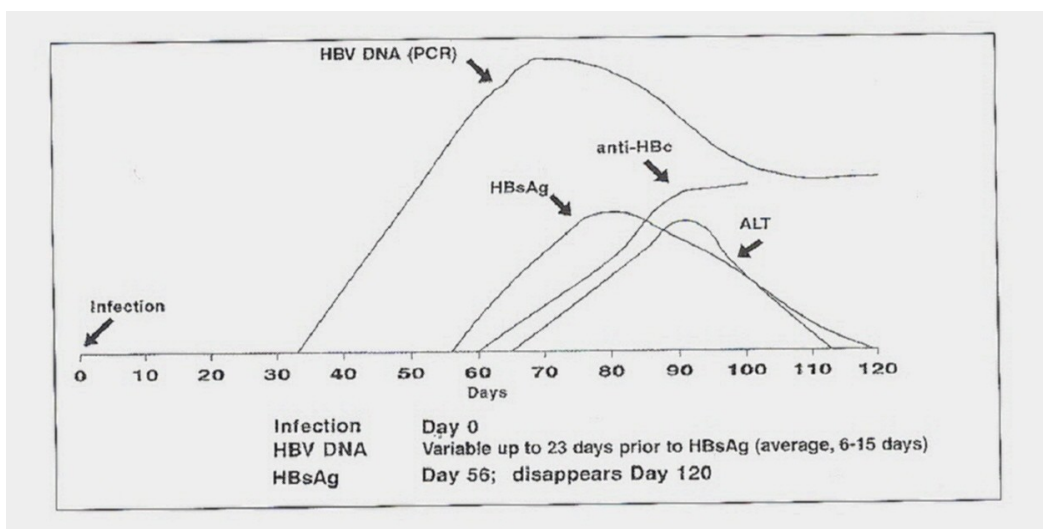
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ: Το tέστ που ανιχνεύει το αντιγόνο core του ιού της ηπατίτιδας C θεωρείται πολύ καλό και αξιόπιστο, η NAT όμως υπερτερεί στο ότι δίνει την

δυνατότητα μείωσης του «σιωπηλού παράθυρου» και των τριών ιών HBV, HCV και HIV ταυτόχρονα.

Στην Ελλάδα, ο έλεγχος 123.346 δειγμάτων αιμοδοτών για την ανίχνευση του HCV-RNA σε μικρές δεξαμενές των 24 δειγμάτων αποκάλυψε την πρώτη θετική μονάδα από αιμοδότη που βρισκόταν στην περίοδο του παραθύρου (Anti-HCV=Αρνητικό, ALT: Φυσιολ.)

**B. Φακίτσα, Κ. Σωφρονιάδου. 16^ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο
Haema 2005,8(suppl).**

HBV



Το όφελος από την εφαρμογή της μεθόδου NAT για την ανίχνευση του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV-NAT) είναι αμφιλεγόμενο και κυρίως σε περιοχές χαμηλής ενδημικότητας. Κατά τα πρώιμα στάδια της λοίμωξης, πριν την εμφάνιση του HBsAg, (56^η ημέρα περίπου, όπως φαίνεται από το διάγραμμα) η ιαμία είναι χαμηλή, < 500 IU/mL, οπότε η HBV-NAT σε pools θεωρείται ακατάλληλη, διότι όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των δειγμάτων στη δεξαμενή (pools), τόσο μειώνεται η ευαισθησία της μοριακής ανάλυσης.

**J.-P. Allain. Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion.
REVIEW. Vox Sanguinis (2004) 86, 83-91.**

Η NAT εφαρμοζόμενη σε μονήρες δείγμα μπορεί να μειώσει την περίοδο παραθύρου κατά 4 εβδομάδες περίπου (Lewin Group 2002).

Αξίζει να αναφερθεί ότι η HBV λοίμωξη σε μονάδες αίματος με HBsAg (-), Anti-HBc (+), Anti-HBs (-), ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά στην Ελλάδα το 1995 με την μέθοδο του Μοριακού Υβριδισμού από το Κέντρο Αιμοδοσίας του Γ.Ν.Πατρών «Ο Άγιος Ανδρέας», κατόπιν ελέγχου αρκετών μονάδων αίματος.

**Tseliou et al. Haematologia 2000, vol 30, No3, pp159-165.
Π. Τσέλιου. Αιματολογικό Διήμερο, Ιωάννινα 1996.
Π. Τσέλιου. 13^ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, 2002
Haema 2002:5(suppl.1).**

Σήμερα, μετά την εφαρμογή της NAT-TMA, ο έλεγχος 105.000 δειγμάτων μονήρων αιμοδοσιών αποκάλυψε την παρουσία 2 HBV-DNA θετικών μονάδων και οροαρνητικών για το HBsAg.

*Κ. Πολίτη και συν. 16^ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο
Haema 2005,8(suppl).*

ΚΟΣΤΟΣ – ΟΦΕΛΟΣ

Το κόστος της NAT σε σχέση με την ωφέλεια που προκύπτει λόγω αποφυγής της νοσηρότητας, παραμένει υψηλό αν το δούμε με την λογική των ψυχρών αριθμών. Σχετικές μελέτες αναφέρουν ότι το κόστος για κάθε έτος νοσηρότητας που αποφεύγεται και για τους τρεις ιούς (QALY = Quality Adjusted Life Year) με την χρήση της NAT σε pools είναι 7.600.000 δολάρια. Αν παραλειφθεί από τον έλεγχο του αίματος ο δείκτης Anti-HBcore και το HIV p24 αντιγόνο, το κόστος μειώνεται σε 6.000.000 δολάρια ανά έτος αποφυγής νοσηρότητας, ενώ αν εφαρμοσθεί η NAT σε μονήρες δείγμα, χωρίς την χρήση του Anti-HBcore και του HIV p24 Ag, η σχέση κόστους-οφέλους είναι 7.300.000 δολάρια ανά έτος αποφυγής νοσηρότητας (7.300.000 \$ / QALY).

Επομένως η σχέση κόστους-ωφέλειας είναι πτωχή για την χρήση των NAT, δεδομένου ότι ένα παραδεκτό όριο είναι τα 50.000 \$ / QALY το οποίο ισχύει για τις περισσότερες ιατρικές πράξεις. Όμως οι τελικές αποφάσεις για την ευρεία εφαρμογή ή όχι μίας εξέτασης δεν βασίζονται πάντα σε μία ευνοϊκή σχέση κόστους-οφέλους. Επηρεάζονται και από άλλους παράγοντες, όπως η αυξημένη ευαισθησία του κοινωνικού συνόλου, η πολιτική πίεση κλπ.

Υπάρχουν παραδείγματα τεχνικών που έχουν τύχει ευρείας εφαρμογής όπως το HBVCore και το HIV p24 Ag, παρά την επίσης πτωχή σχέση κόστους-οφέλους που παρουσιάζουν.

Strategy	Cost – effectiveness (\$)	Max cost of NAT pd to stay <\$50000 per QALY
MPNAT for HIV and HCV	5.8 million/QALY	\$ 0.13
SDNAT for HIV and HCV	8.4	\$ 0.18
MPNAT for HIV, HCV and HBV	7.6	\$ 0.13
SDNAT for HIV, HCV and HBV	9.1	\$ 0.19
MPNAT for HIV and HCV; without p24	4.3	\$ 4.13
SDNAT for HIV and HCV; without p24	7.3	\$ 4.18
MPNAT for HIV, HCV and HBV; without p24	6.1	\$ 4.13
SDNAT for HIV, HCV and HBV; without p24 and anti-HBc	7.3	\$ 7.19

Jackson BR et al, TRANSFUSION 2003, 43:721-729.

Ο πίνακας που ακολουθεί βασίζεται σε στοιχεία του Κέντρου Αιμοδοσίας του Γ.Ν.ΠΑΤΡΩΝ «Ο ΑΓΙΟΣ ΑΝΔΡΕΑΣ» και αφορά το κόστος των αντιδραστηρίων για τον ανοσοενζυμικό έλεγχο του προσδιορισμού των μεταδιδόμενων με το αίμα νοσημάτων σε 10.000 ασκούς.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ ΠΟΥ ΚΟΣΤΟΛΟΓΗΘΗΚΕ	ΚΟΣΤΟΣ ΜΟΝΑΔΑΣ (€)	ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΚΟΣΤΟΣ 10.000 ΜΟΝΑΔΩΝ ΑΙΜΑΤΟΣ
ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΓΙΑ HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV, Anti-HTLV	28,00	280.009,94 (€)
ΔΕΙΚΤΕΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Anti-HBc, Anti-HBs	5,43	54.290,60 (€)
HBV-DNA	1,50	15.000,00 (€)
HCV Core Ag	7,70	77.000,00 (€)
ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΚΟΣΤΟΣ	42,60	426.300,54 (€)

Εάν στον έλεγχο του αίματος προστεθεί και η NAT (~ 50(€) ανά μονάδα), τότε θα πρέπει να αφαιρεθούν οι δείκτες, το HBV-DNA και το αντιγόνο HCV Core, οπότε το συνολικό κόστος (συμβατικός έλεγχος+NAT) ανέρχεται στα 78 € (28€+50€).

Επομένως το επιπλέον κόστος που θα πρέπει να πληρώσει το νοσοκομείο είναι 35,40 € (78€-42,60€). Το κόστος βέβαια είναι υψηλό αλλά αναπόφευκτο εφόσον πρόκειται για την ανθρώπινη ζωή. Μία πιθανή συγκέντρωση αρμοδιοτήτων στο μέλλον θα μπορούσε να περιορίσει την αύξηση.