

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000200201



AA A
610
26P
2004.

....200...4.

209

[Faint, illegible text with brackets on the right side]



Αρ. εισ.:.....21.....200...4



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
Α' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
Δ/ντής: Ε. Β. Τσιάνος, Καθηγητής Παθολογίας

**ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΩΝ ΣΤΟΝ
ΑΙΜΟΔΟΤΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΗΠΕΙΡΟΥ.**

ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ ΖΕΡΒΟΥ
ΙΑΤΡΟΣ ΒΙΟΠΑΘΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2004



Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Ε.Β. Τσιάνος, Καθηγητής Παθολογίας

Ημερομηνία αίτησης: 14 Ιουνίου 1994

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: Γ.Σ. 266^α/20-9-94

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Ε.Β. Τσιάνος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας/Γαστρεντερολογίας, Επιβλέπων
Κ. Μπουραντάς, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας/Αιματολογίας, Μέλος
Φ. Σκοπούλη, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας, Μέλος

Ανασυγκροτήθηκε με την Γ.Σ. 321^α/15-4-1997

Ε.Β. Τσιάνος, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας/Γαστρεντερολογίας, Επιβλέπων
Κ. Μπουραντάς, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας/Αιματολογίας, Μέλος
Μ. Ελισάφ, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας, Μέλος

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 29 Σεπτεμβρίου 1994

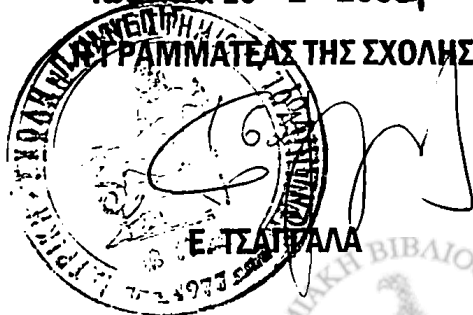
Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

Ε.Β. Τσιάνος, Καθηγητής Παθολογίας, Επιβλέπων
Κ. Σιαμόπουλος, Καθηγητής Παθολογίας-Νεφρολογίας, Μέλος
Μ. Ελισάφ, Καθηγητής Παθολογίας, Μέλος
Κ. Μπουραντάς, Καθηγητής Παθολογίας/Αιματολογίας, Μέλος
Σ. Λεβειδιώτου-Στεφάνου, Επίκουρη Καθηγήτρια Μικροβιολογίας, Μέλος
Ι. Δημολιάτης, Επίκουρος Καθηγητής Υγιεινής, Μέλος
Λ. Χρήστου, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας, Μέλος

Βαθμός Διδακτορικής Διατριβής: ΑΡΙΣΤΑ

Ημερομηνία κατάθεσης της Διατριβής:

Ιωάννινα 19 - 2 - 2001





ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
Α' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
Δ/ντής: Ε.Β. Τσιάνος, Καθηγητής Παθολογίας

ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΩΝ ΣΤΟΝ ΑΙΜΟΔΟΤΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΗΠΕΙΡΟΥ.

ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ ΖΕΡΒΟΥ
ΙΑΤΡΟΣ ΒΙΟΠΑΘΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ιωάννινα 2004



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα»

Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2



Στη μνήμη της μητέρας μου και του πατέρα μου

Στον Τάκη

Στα παιδιά μου, Γιώργο και Λουίζα

*Στον εθελοντή αιμοδότη
Για την ανιδιοτελή προσφορά ζωής*

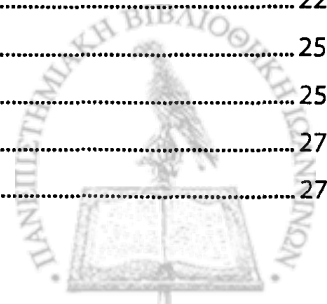


ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

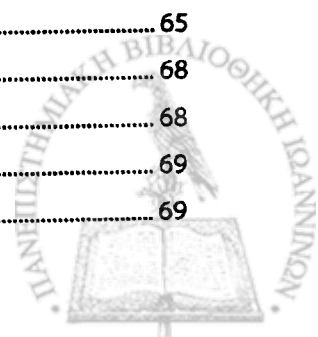
ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ	1
1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ	1
1.1 ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Α ΚΑΙ Ε (HAV – HEV)	1
1.2 ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ Β, C, D ΚΑΙ G (HBV, HCV, HDV, HGV)	3
2. Ο ΙΟΥΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Α (HAV)	6
2.1. ΙΟΛΟΓΙΑ	6
2.1.1. Δομή και βιολογία του ιού.....	6
2.2. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ – ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	6
2.2.1. Συχνότητα σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές – Τύποι ενδημικότητας	6
2.2.2. Επιδημιολογία του HAV στην Ελλάδα	10
2.2.3. Νοσηρότητα	10
2.3. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ	11
2.3.1. Πηγή της λοίμωξης και τρόποι μετάδοσης.....	11
2.3.2. Ηπατίτιδα Α και μεταγίσεις.....	12
2.4. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ - ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ	13
2.5. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ	13
2.5.1. Ανοσολογική απάντηση και ανοσία	15
2.6. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Α	16
2.6.1. Γενικές εργαστηριακές εξετάσεις	16
2.6.2. Ειδικές διαγνωστικές εξετάσεις	17
2.7. ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	19
2.7.1. Γενικά μέτρα προφύλαξης.....	19
2.7.2. Παθητική ανοσοπροφύλαξη	19
2.7.3. Ενεργητική ανοσοπροφύλαξη.....	20
3. Ο ΙΟΥΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β (HBV).....	22
3.1. ΙΟΛΟΓΙΑ	22
3.1.1. Δομή και βιολογία του ιού.....	22
3.1.2. Αντιγόνα και αντισώματα του HBV.....	25
3.1.2.1. Το αντιγόνο επιφανείας του HBV (HBsAg).....	25
3.1.2.2. Το αντιγόνο Χ (HBxAg)	27
3.1.2.3. Αντιγόνο Core (HBcAg)	27



3.1.2.4. Αντιγόνο E (HBeAg).....	27
3.1.2.5. Αντι-HBc	28
3.2. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ - ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	30
3.2.1. Ενδημικότητα - Τρόποι μετάδοσης HBV λοίμωξης.....	30
3.2.1.1. HBV. Μετάγγιση και Μεταμόσχευση.....	33
3.2.1.2. Κίνδυνος οξείας ηπατίτιδας Β.....	34
3.2.1.3. Κίνδυνος μετάπτωσης σε χρόνια ηπατίτιδα Β	35
3.3. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ - ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ	35
3.4. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ HBV.....	37
3.4.1. Οξεία ηπατίτιδα Β	37
3.4.2. Πρόδρομη φάση	37
3.4.3. Ικτερική φάση	38
3.4.4. Κεραυνοβόλος ηπατίτιδα Β.....	38
3.4.5. Εξωηπατικές εκδηλώσεις της HBV λοίμωξης.....	39
3.4.6. Χρόνια HBV λοίμωξη (χρόνια ηπατίτιδα Β).....	40
3.4.7. HBV και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα	44
3.5. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β	46
3.5.1. Βιοχημικές και αιματολογικές διαταραχές ηπατίτιδας Β	46
3.5.1.1. Προσδιορισμός αμινοτρανσφερασών (AST και ALT).....	46
3.5.1.2. Προσδιορισμός χολερυθρίνης.....	47
3.5.1.3. Μέτρηση ανοσοσφαιρινών του ορού.....	47
3.5.1.4. Προσδιορισμός αλβουμίνης.....	47
3.5.1.5. Προσδιορισμός αλκαλικής φωσφατάσης	48
3.5.1.6. Προσδιορισμός αιματολογικών παραμέτρων	48
3.5.2. Ορολογικοί δείκτες	48
3.5.3. Μοριακές τεχνικές.....	51
3.5.3.1. Ιολογικοί δείκτες.....	51
3.5.4. Ορολογική διάγνωση οξείας ηπατίτιδας Β.....	53
3.5.5. Διάγνωση χρόνιας ηπατίτιδας Β και παρακολούθηση της πορείας της.....	54
3.6. ΠΡΟΛΗΨΗ.....	56
3.7. ΘΕΡΑΠΕΙΑ HBV ΛΟΙΜΩΞΗΣ	60
3.7.1. Ιντερφερόνη-άλφα (IFN-α)	61
3.7.1.1. Θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β με HbeAg (+).....	62
3.7.1.2. Θεραπεία με HbeAg (-) / HBV-DNA (+) χρόνιας ηπατίτιδας Β.....	62
3.7.1.3. Θεραπευτικά αδιέξοδα από τη χρήση της IFN-α	63
3.7.2. Νουκλεοσιδικά ανάλογα.....	64
3.7.2.1. Λαμβουδίνη.....	65
3.7.2.2. Φαμισκλοβίρη.....	68
3.7.2.3. Αδεφοβίρη	68
3.7.2.4. Λοβουκαβίρη	69
3.7.2.5. Εντεκαβίρη.....	69

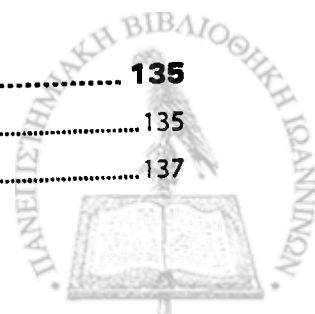


3.7.3. Ανοσοτροποποιητικά φάρμακα.....	70
3.7.4. Συμπεράσματα.....	70
4. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ ΔΕΛΤΑ (HDV).....	71
4.1. ΙΟΛΟΓΙΑ.....	71
4.1.1. Δομή και βιολογία του ιού.....	71
4.2. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ - ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ.....	72
4.2.1. Ενδημικότητα - Τρόποι μετάδοσης.....	72
4.2.1.1. HDV και μεταγγίσεις.....	74
4.2.1.2. Διασπορά του ιού και ενδημικότητα της νόσου.....	74
4.3. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ.....	76
4.4. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ ΔΕΛΤΑ (HDV).....	78
4.4.1. Διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας δέλτα.....	78
4.4.2. Διάγνωση της χρόνιας HDV.....	79
4.5. ΠΡΟΛΗΨΗ.....	80
4.6. ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	82
5. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C (HCV).....	83
5.1. Μη-Α, Μη-Β ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ (ΜΑΜΒΗ) ΚΑΙ Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C (HCV).....	83
5.1.1. Μη-Α, Μη-Β ηπατίτιδα (ΜΑΜΒΗ).....	83
5.1.2. Πρώτη απομόνωση του HCV.....	84
5.2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΟΥ HCV.....	85
5.3. ΙΟΛΟΓΙΑ.....	86
5.3.1. Η οργάνωση του γενετικού υλικού (γονιδιώματος) του HCV.....	86
5.3.2. Τα γονίδια του HCV και τα προϊόντα τους.....	88
5.3.3. Γενετική ετερογένεια του HCV.....	91
5.4. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ - ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C.....	92
5.4.1. Τρόποι μετάδοσης HCV.....	92
5.4.1.1. Παρεντερική μετάδοση.....	92
5.4.1.2. Μη παρεντερική μετάδοση.....	98
5.4.1.3. Σποραδική HCV ηπατίτιδα.....	100
5.4.1.4. HCV λοίμωξη σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο.....	100
5.4.1.5. Συχνότητα HCV λοίμωξης σε αιμοδότες και γενικό πληθυσμό.....	101
5.5. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ.....	
5.5.1. Κλινικά χαρακτηριστικά της ηπατίτιδας C.....	103
5.5.1.1. Οξεία ηπατίτιδα C.....	103
5.5.1.2. Κεραυνοβόλος ηπατίτιδα C.....	104
5.5.1.3. Χρόνια ηπατίτιδα C.....	104
5.5.1.4. HCV και ηπατοκυτταρικός καρκίνος.....	106
5.5.1.5. Εξωηπατικές εκδηλώσεις και σύνδρομα στην HCV λοίμωξη.....	107
α. Αυτοανοσία και HCV.....	107

β. Ώψιμη δερματική πορφυρία (<i>porphyria Cutanea Tarda</i> ή <i>Symptomatic - PCT</i>)	109
γ. Μικτή κρυσσφαιριναιμία	110
δ. Σπειραματονεφρίτιδες	111
ε. Θρομβοπενική πορφύρα	111
στ. Χρόνια λεμφοκυτταρική σιαλαδενίτιδα (σύνδρομο <i>Sjögren</i>)	111
ζ. Απλαστική αναιμία	112
5.6. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΣΤΗΝ ΗCV ΛΟΙΜΩΞΗ	112
5.7. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C	113
5.7.1. Μη ειδικές εξετάσεις	113
5.7.2. Ειδικές εξετάσεις	114
5.7.2.1. Ανοσοενζυματική δοκιμασία ELISA	114
5.7.2.2. Επιβεβαιωτικές δοκιμασίες	116
5.7.2.3. Επιπλέον ανοσοενζυμικές δοκιμασίες	117
5.7.2.4. Τεχνικές μοριακής βιολογίας	117
5.8. ΠΡΟΛΗΨΗ	120
5.9. ΘΕΡΑΠΕΙΑ	123
5.9.1. Φυσιολογικά επίπεδα τρανσαμινασών	123
5.9.2. Αυξημένα επίπεδα τρανσαμινασών	124
5.9.3. Προοπτικές	126
6. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Ε (HEV)	128
6.1. ΙΟΛΟΓΙΑ	128
6.1.1. Δομή, βιολογία και γενετική οργάνωση του ιού	128
6.2. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ - ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	128
6.2.1. Επιδημιολογία του HEV στην Ελλάδα	130
6.2.2. Ηπατίτιδα Ε και μεταγγίσεις	130
6.2.3. Πηγή της λοίμωξης και τρόπος μετάδοσης	130
6.3. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ	130
6.3.1. Κλινική εκδήλωση της νόσου	130
6.4. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ	131
6.5. ΠΡΟΛΗΨΗ - ΘΕΡΑΠΕΙΑ	131
7. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	133

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	135
1.1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	135
1.2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	137



1.3. ΜΕΘΟΔΟΙ.....	137
1.3.1. Δείκτες HAV λοίμωξης.....	137
1.3.2. Δείκτες HBV και HDV λοίμωξης.....	137
1.3.3. Δείκτες HCV λοίμωξης.....	139
1.3.3.1. Απομόνωση του RNA και cDNA σύνθεση.....	140
1.3.3.2. Nested PCR (μέθοδος της φωλιάς).....	140
1.3.4. Δείκτες HEV λοίμωξης.....	141
1.3.5. Εργαστηριακές εξετάσεις ηπατικής λειτουργίας.....	141
1.4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	142
2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	144
2.1. ΔΕΙΚΤΕΣ HAV ΛΟΙΜΩΣΗΣ.....	144
2.2. ΔΕΙΚΤΕΣ HBV ΚΑΙ HDV ΛΟΙΜΩΣΗΣ.....	146
2.3. ΔΕΙΚΤΕΣ HCV ΛΟΙΜΩΣΗΣ.....	150
2.4. ΔΕΙΚΤΕΣ HEV ΛΟΙΜΩΣΗΣ.....	152
3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	153
3.1. ΔΕΙΚΤΕΣ HAV ΛΟΙΜΩΣΗΣ.....	153
3.2. ΔΕΙΚΤΕΣ HBV ΚΑΙ ΔΕΛΤΑ ΛΟΙΜΩΣΗΣ.....	154
3.3. ΔΕΙΚΤΕΣ HCV ΛΟΙΜΩΣΗΣ.....	156
3.4. ΔΕΙΚΤΕΣ HEV ΛΟΙΜΩΣΗΣ.....	158
3.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΑΝΤΙ-HBc ΚΑΙ HBV ΙΑΙΜΙΑΣ ΣΤΟΥΣ ΑΙΜΟΔΟΤΕΣ.....	159
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	165
SUMMARY.....	169
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	173



Ιδιαίτερη αναφορά θα ήθελα να κάνω στα παιδιά μου Γιώργο και Λουίζα και να τους ζητήσω να κατανοήσουν και να δικαιολογήσουν τις πολλές ώρες απασχόλησής μου και την απουσία μου από κοντά τους.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά τον φίλο Γ. Παπανικολάου για τη συμβολή του στην επιμέλεια της έκδοσης, στη μακρά διάρκεια της συγγραφής.



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

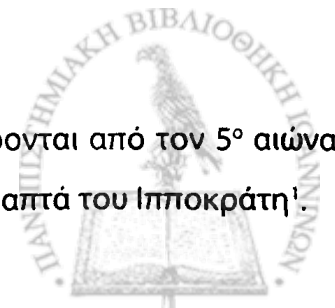
ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ

Ο όρος ιογενής ηπατίτιδα χρησιμοποιείται στην Ιατρική ιολογία για να περιγράψει μια φλεγμονώδη νόσο του ήπατος, που προκαλείται από λοίμωξη με κάποιον από τους μέχρι τώρα γνωστούς ιούς ηπατίτιδας Α, Β, C, D, E και G. Όλοι αυτοί οι ιοί ανήκουν σε διάφορες ομάδες ταξινόμησης. Υπάρχει ευρεία διαφοροποίηση στην επιδημιολογία και τα κλινικά χαρακτηριστικά τους. Το μόνο κοινό χαρακτηριστικό των παραγόντων των ηπατιτίδων είναι ότι το ήπαρ είναι το όργανο στόχος και συγχρόνως η κύρια θέση πολλαπλασιασμού. Άλλοι ιοί (ηπατιτιδομιμητικοί), όπως ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV), ο Epstein-Barr (EB), ιοί αιμορραγικών πυρετών (π.χ. του κίτρινου πυρετού), της ερυθράς (rubella virus), του απλού έρπητα (HSV), ιοί coxsackie, αδενοϊοί (adenoviridae) και εντεροϊοί (enteroviruses) μπορούν να προκαλέσουν ηπατίτιδα, αλλά συνήθως οι κλινικές τους εκδηλώσεις οφείλονται στη συμμετοχή άλλων οργάνων και είναι περισσότερο προεξάρχοντα τα συμπτώματα από αυτά παρά από το ήπαρ.

1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

1.1. ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Α και Ε (HAV-HEV)

Επιδημίες ικτέρου συμβατές με ηπατίτιδα Α και Ε περιγράφονται από τον 5^ο αιώνα στη Βαβυλωνία και ο όρος «επιδημικός ίκτερος» εμφανίζεται στα γραπτά του Ιπποκράτη!



Σε προηγούμενους αιώνες ήταν συχνά επιδημικές σε περιόδους πολέμου. Οι περισσότερες περιπτώσεις μπορούν να αξιολογηθούν σαν ηπατίτιδα Α. Η ιολογική αιτιολογία της ηπατίτιδας δεν είχε συσχετισθεί μέχρι την 1^η δεκαετία του 20^{ου} αιώνα.

Ο κεντρικός ρόλος της ηπατικής παρεγχυματικής νέκρωσης και η φλεγμονή σε όλους τους τύπους της ιϊκής ηπατίτιδας φάνηκε με την ανάπτυξη των βελονών βιοψίας στη δεκαετία του 1930.

Μεγάλες επιδημίες σημειώθηκαν κατά τη διάρκεια των Α' και Β' παγκοσμίων πολέμων, του πολέμου της Κορέας και του Βιετνάμ.

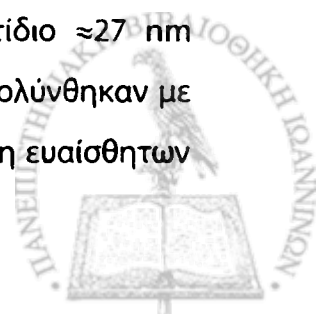
Στη Γερμανία υπολογίζεται ότι 5-10 εκατομμύρια περιπτώσεις εμφανίσθηκαν κατά τη διάρκεια του Β' παγκόσμιου πολέμου μεταξύ των στρατιωτών και των πολιτών.

Στα Βρετανικά στρατεύματα στη Μεσόγειο υπήρχαν 4.000 περιπτώσεις με ίκτερο το 1941-1942 και 12.000 το 1942-1943².

Αυτές οι επιδημίες προκάλεσαν εκτεταμένη έρευνα στην επιδημιολογία, τα κλινικά χαρακτηριστικά και την παθολογία των ιϊκών ηπατιτίδων στη Βρετανία, ΗΠΑ, Γερμανία και Δυτική Αφρική. Το 1943 στη Μ. Βρετανία δημιουργήθηκε υπό την αιγίδα του Υπουργείου Υγείας «Επιτροπή Ίκτερου» και συστήθηκε ομάδα εργασίας. Λόγω αποτυχίας αναπαραγωγής της νόσου σε ζώα στο εργαστήριο, οι περισσότερες έρευνες έγιναν σε εθελοντές ανθρώπους. Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών έχει περιγράψει ο MacCallum³. Ένας τύπος ηπατίτιδας που ονομάστηκε «ηπατίτιδα εξ ομολόγου ορού» είχε μεγάλο χρόνο επώασης από 60-160 ημέρες και μεταδιδόταν παρεντερικά με το αίμα. Αυτός ήταν καθαρά διαχωριζόμενος από την «λοιμώδη ηπατίτιδα» που εμφάνιζε μικρότερο χρόνο επώασης και μεταδιδόταν με μολυσμένα κόπρανα.

Με οδηγίες της Π.Ο.Υ., η εξ ομολόγου ορού ηπατίτιδα ονομάστηκε **Ηπατίτιδα Β (HBV)** και η λοιμώδης ηπατίτιδα, **Ηπατίτιδα Α (HAV)**⁴. Επιπλέον μελέτες στις ΗΠΑ τη δεκαετία του 1960 σε ένα ίδρυμα καθυστερημένων παιδιών, οδήγησαν στην απομόνωση του πρώτου διεθνώς χρησιμοποιούμενου ορού αναφοράς (MS-1) που ήταν μολυσματικός και περιείχε τον αιτιογόνο παράγοντα της ηπατίτιδας Α (HAV)⁵.

Περίπου την ίδια χρονική περίοδο βρέθηκε ότι οι πίθηκοι ήταν τα κατάλληλα πειραματόζωα για ανάπτυξη HAV λοίμωξης⁶. Όμως, ο HAV έγινε ορατός το 1973, από τους Feinstone, Karikian & Purcell, με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, σαν σωματίδιο ≈ 27 nm διαμέτρου, στα κόπρανα δειγμάτων που ελήφθησαν από 2 εθελοντές που μολύνθηκαν με MS1 ορό αναφοράς, σε οξεία φάση λοίμωξης⁷. Αυτό οδήγησε στην ανάπτυξη ευαίσθητων



μεθόδων για προσδιορισμό αντιγόνου της ηπατίτιδας Α (HAAg) και αντισώματος (αντι-HAV).

Εκτεταμένες οροεπιδημιολογικές μελέτες πραγματοποιήθηκαν στη δεκαετία του 1970 και ανακοινώθηκαν στο 1^ο Διεθνές Workshop για τη Λοίμωξη από Ηπατίτιδα Α, που πραγματοποιήθηκε το Νοέμβριο του 1980 στην Αθήνα. Μελετήθηκαν εκτεταμένα οι βιοχημικές και βιοφυσικές ιδιότητες του HAV και ταξινομήθηκε ο ιός σαν **πικορναϊός**⁸. Το 1979, δύο ανεξάρτητες ομάδες επέτυχαν την καλλιέργεια του HAV σε διάφορα υλικά και αυτό βοήθησε στη δημιουργία εμβολίων^{9,10}.

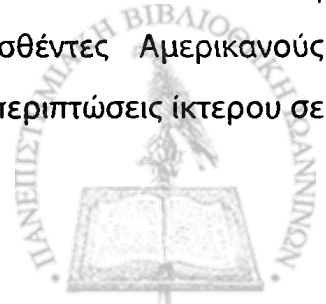
Η ύπαρξη μιας δεύτερης, εντερικά μεταδιδόμενης ιϊκής ηπατίτιδας, διαφορετικής από την HAV, φαινόταν πιθανή από τη δεκαετία του 1980 και μελέτες μετάδοσης επαλήθευσαν την υπόθεση αυτή. Ο αιτιολογικός παράγοντας της ηπατίτιδας αυτής που ονομάστηκε ηπατίτιδα Ε (HEV), κλωνοποιήθηκε και χαρακτηρίστηκε με τεχνικές μοριακής βιολογίας το 1990¹¹. Είναι επίσης ένας RNA ιός σαν του HAV και πιθανά ανήκει στην οικογένεια των caliciviridae.

1.2. ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ Β, C, D ΚΑΙ G (HBV, HCV, HDV, HGV)

Οι τέσσερις αυτοί αιτιολογικοί παράγοντες ιογενών ηπατιτίδων αναφέρονται μαζί επειδή μοιράζονται πολλά επιδημιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά.

Ο Lórgan το 1885, εμφανίζεται να είναι ένας από τους πρώτους που υπέθεσε τη σχέση μεταξύ παρεντερικής μετάδοσης και εμφάνισης ίκτερου¹². Αναγνώρισε στη Γερμανία 200 άτομα που παρουσίασαν ίκτερο μετά από εμβολιασμό για ευλογία με ιό από ανθρώπινη λέμφο (lymph). Την ίδια περίοδο συνδέθηκε και στην Ευρώπη και τις ΗΠΑ η εμφάνιση ίκτερου μετά μακρά περίοδο επώασης με την χρησιμοποίηση συρίγγων από το ένα άτομο στο άλλο καθώς και με τη χρήση ανθρώπινου αίματος ή παραγώγων του.

Μια από τις πιο σημαντικές παρατηρήσεις ήταν η σύνδεση της εμφάνισης ικτέρου με εμβολιασμό για κίτρινο πυρετό. Καθώς αυτό το εμβόλιο παρασκευάστηκε την δεκαετία του 1930, ο ιός ήταν εναιωρημένος σε ανθρώπινο ορό για να προσδοθεί ιϊκή σταθερότητα. Οι Findlay και MacCallum¹³, στη Βρετανία, ανέφεραν 48 περιπτώσεις από 2.220 εμβολιασθέντες πού μετά τον εμβολιασμό παρουσίασαν ίκτερο. Η πιο εντυπωσιακή έκρηξη ίκτερου μετά εμβολιασμό εμφανίστηκε σε εμβολιασθέντες Αμερικανούς στρατιώτες στον Β' παγκόσμιο πόλεμο όπου εμφανίστηκαν 30.000 περιπτώσεις ίκτερου σε 3.000.000 εμβολιασμένους¹⁴.



Ο όρος ηπατίτιδα Β εισήχθη από τον MacCallum και έγινε αποδεκτός την δεκαετία του 1970, αντικατέστησε δε τον όρο «ηπατίτιδα εξ ομολόγου ορού»⁴. Η ανακάλυψη από τον Blumberg και συν. το 1963 του Αυστραλιανού αντιγόνου (HBsAg) στον ορό ενός Αυστραλού ιθαγενούς που τον οδήγησε στο βραβείο Nobel το 1976¹⁵⁻¹⁷ ήταν σταθμός για τη διάγνωση της ηπατίτιδας Β.

Ο έλεγχος όλων των αιμοδοτών για HBsAg, προ της μεταγγίσεως, που άρχισε σε περιορισμένη βάση το 1969, οδήγησε σε ελάττωση της ηπατίτιδας Β που μεταδιδόταν με μολυσμένο αίμα.

Με πειράματα του Krugman και συν.¹⁸⁻²⁰ η φυσική πορεία της ιογενούς ηπατίτιδας ανιχνεύθηκε πληρέστερα και απομονώθηκε ο ορός αναφοράς MS-2 που ήταν μολυσματικός και περιείχε τον αιτιογόνο παραγοντα της ηπατίτιδας Β (HBsAg)²¹.

Αυτό οδήγησε σε μεγάλη πρόοδο στον τομέα της διάγνωσης, παρακολούθησης της πορείας της νόσου και στη δημιουργία αποτελεσματικού εμβολίου.

Ο ιός της ηπατίτιδας δέλτα (HDV) ανακαλύφθηκε από τους Rizzetto και συν.²², στά μέσα της δεκαετίας του 1970, κατά τη διάρκεια μελέτης του core αντιγόνου του HBV (HBcAg) στο ήπαρ ασθενών με χρόνια HBV λοίμωξη.

Ένα πυρηνικό αντιγόνο ανιχνεύθηκε στο ήπαρ ασθενών με HBV λοίμωξη που δεν σχετιζόταν με τον HBV. Ακολούθως, αποδείχθηκε ότι το αντιγόνο αυτό ανήκε σε ένα άλλο ιό, που ονομάστηκε **δέλτα**, ένα ελλειμματικό RNA ιό που για να εμφανισθεί έχει την ανάγκη της παρουσίας του HBV. Μέχρι το 1989, ο ιός ή οι ιοί που ήταν υπεύθυνοι για την πρόκληση μη-A, μη-B (NANB) ηπατίτιδας ήταν άγνωστοι. Τουλάχιστον δύο διαφορετικοί παράγοντες ενοχοποιούνταν, καθώς υπήρχαν σαφείς ενδείξεις ύπαρξης αφενός μιας εντερικά μεταδιδόμενης νόσου (η οποία προκαλούσε επιδημίες) και η οποία όπως ήδη αναφέρθηκε αποδόθηκε στον HEV, αφετέρου μιας παρεντερικά μεταδιδόμενης NANB ηπατίτιδας. Το 1989, απομονώθηκε και χαρακτηρίστηκε κατά αναμφισβήτητο τρόπο ένας παρεντερικά μεταδιδόμενος παράγοντας^{23,24}, που στη συνέχεια ονομάστηκε ιός της ηπατίτιδας C (HCV). Στη συνέχεια, διαπιστώθηκε ότι ο HCV ήταν υπεύθυνος για περίπου 90% όλων των περιπτώσεων NANB ηπατίτιδας μετά από μετάγγιση αίματος, καθώς και για σποραδικές λοιμώξεις.

Δοκιμασίες ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assays)²⁴ πρώτης γενεάς χρησιμοποιούνται αρχικά για την ανίχνευση αντι-HCV αντισωμάτων και ακολουθούν νεώτερης γενεάς ELISA²⁵, που αυξάνουν την ευαισθησία και ειδικότητα της μεθόδου και



βοηθούν αφενός την ελάττωση των μετά μετάγγισι ηπατιτίδων με έλεγχο του χορηγούμενου αίματος και παραγώγων του, αφετέρου την ανίχνευση ασθενών μολυσμένων από τον HCV.

Από το 1964, ο Dr. F. Deinhardt και συν., είχαν παρατηρήσει ότι αίμα από ένα χειρουργό (αναφέρεται σαν GB) που είχε προσβληθεί από οξεία ηπατίτιδα, όταν ενέθηκε ενδοφλεβίως σε 4 tamarins, ένα είδος μικρού πιθήκου της Ν. Αμερικής, τους προκάλεσε οξεία ηπατίτιδα. Αυτός ο παράγοντας ονομάστηκε GB. Ακόλουθες μελέτες στον ορό αυτό από τους tamarins έδειξαν ότι δεν ήταν HAV, HBV, HCV ή HEV. Αυτός ο ιός μελετήθηκε στις δεκαετίες του 1960 και 1970, αλλά ξεχάστηκε στη δεκαετία του 1980. Τον Απρίλιο του 1995, οι Simmons και συν.²⁶ χρησιμοποιώντας μεθοδολογία PCR ανακάλυψαν από τους μολυσμένους με ορό από τον GB tamarins στην οξεία φάση της νόσου RNA ιούς. Αυτοί βρήκαν πράγματι ότι υπήρχαν δύο ίδιοι RNA ιοί και τους ονόμασαν GBV-A και GBV-B²⁷. Ενώ και οι δύο ιοί ήταν διαφορετικοί στην αλληλουχία των νουκλεϊνικών οξέων, ήταν και οι δύο φλαβοϊοί στη δομή και τις φυσικές τους ιδιότητες²⁸. Είναι δε διάφοροι από τον HCV και με φυλογενετική και βιοχημική ανάλυση.



2. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Α (HAV)

2.1. ΙΟΛΟΓΙΑ

2.1.1. Δομή και βιολογία του ιού

Ο HAV είναι ένας σφαιρικός RNA ιός, ο οποίος έχει ταξινομηθεί στους πικορναϊούς στο γένος των εντεροϊών (enterovirus 72)^{29,30}.

Μορφολογικά ο ιός, στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο φαίνεται ότι δεν έχει περίβλημα. Τα σωματίδιά του είναι μικρά, σφαιρικά, διαμέτρου 27-28 nm. Το καψίδιο του έχει κυβική συμμετρία και περιέχει 32 καψομερίδια. Το πυρηνικό υλικό του είναι RNA μονής έλικας και αποτελείται από 7.478 νουκλεοτιτίδα.

Μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί πολλά στελέχη του HAV και μερικά χαρακτηριστικά του ιού είναι κοινά σε όλα τα στελέχη που απομονώθηκαν σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές. Πλήρης αντίδραση με τις διαθέσιμες ανοσολογικές μεθόδους έχει ευρεθεί με στελέχη από διάφορα μέρη του κόσμου^{8,31}. Οι αντιγονικές του περιοχές φαίνεται να είναι καλά καθορισμένες για όλα τα στελέχη. Η αποτελεσματικότητα της γ-σφαιρίνης που παρασκευάζεται σε ένα μέρος του κόσμου και προστατεύει άτομα από άλλες περιοχές μαζί με τα παραπάνω, ενισχύει την άποψη ότι η νόσος οφείλεται σε ένα μοναδικό αντιγονικό τύπο ιού. Ο ιός καλλιεργείται σε κυτταρικές σειρές από όργανα πιθήκου αλλά και σε σειρές από κύτταρα ανθρώπινης προέλευσης.

Ο ιός είναι ανθεκτικός σε θερμοκρασίες μέχρι 60° C για 4 ώρες, αλλά αδρανοποιείται σε θερμοκρασία 85° C για 1 min¹⁸. Είναι επίσης ανθεκτικός σε ψύξη -20° C ή -70° C για 6 εβδομάδες³². Είναι ευαίσθητος στη χλωρίνη σε συγκεντρώσεις που συνήθως χρησιμοποιούνται στο πόσιμο νερό³³.

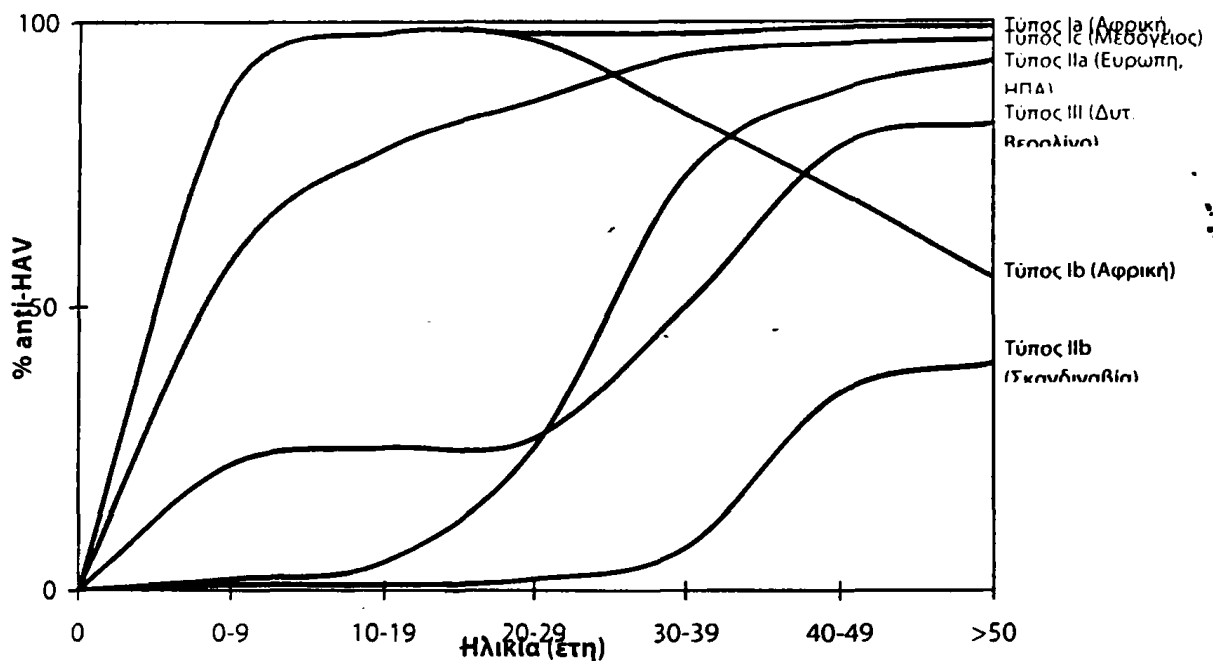
2.2. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ - ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

2.2.1. Συχνότητα σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές - Τύποι ενδημικότητας

Η ακριβής συχνότητα των HAV λοιμώξεων παγκόσμια δεν μπορεί να προσδιοριστεί ακριβώς γιατί, ιδίως στις αναπτυσσόμενες χώρες δεν υπάρχει η δυνατότητα επιδημιολογικών και εργαστηριακών εξετάσεων.



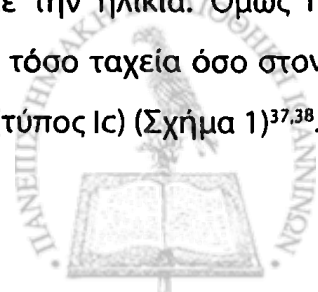
Από τα στοιχεία όμως που συγκεντρώνονται, φαίνεται ότι 3 διαφορετικοί τύποι ΗΑΥ συχνότητας ανάλογα με την ηλικία περιγράφονται στις διάφορες περιοχές του κόσμου (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. Διάφοροι τύποι σχετιζόμενοι με την ηλικία συχνότητας αντι-HAV αντισωμάτων σε διάφορα μέρη του κόσμου.

Πρώτος Τύπος:

Στις αναπτυσσόμενες χώρες της Ασίας, Αφρικής και Αμερικής όλα σχεδόν τα άτομα γίνονται αντι-HAV θετικά στην παιδική ηλικία και παραμένουν κατά την υπόλοιπη ζωή τους (Τύπος Ia)^{34,35}. Μια ελάττωση του ποσοστού των αντι-HAV θετικών ατόμων μπορεί να εμφανισθεί σε μεγαλύτερες ηλικίες και αυτό μπορεί να οφείλεται σε ελάττωση της συγκέντρωσης των αντισωμάτων κάτω του ανιχνευόμενου ορίου των χρησιμοποιούμενων διαγνωστικών μεθόδων³⁶. Σε χώρες με μικρότερη συχνότητα ΗΑΥ λοίμωξης ευρίσκεται η ίδια καμπύλη κατανομής σε σχέση με την ηλικία. Όμως η αύξηση του ποσοστού των αντι-HAV θετικών ατόμων δεν είναι τόσο ταχεία όσο στον τύπο Ia, αλλά φθάνει σε υψηλά επίπεδα μόνο στην ενήλικη ζωή (τύπος Ic) (Σχήμα 1)^{37,38}.



Δεύτερος Τύπος:

Στις υψηλά ανεπτυγμένες χώρες της Ευρώπης και των ΗΠΑ, η καμπύλη είναι σιγμοειδής. Το ποσοστό των αντι-HAV θετικών ατόμων είναι χαμηλό στην παιδική και φθάνει σε υψηλή (Τύπος IIa) ή μέση (Τύπος IIb) συχνότητα στη μετέπειτα ενήλικη ζωή τους (Σχήμα 1).

Η σχετικά υψηλή συχνότητα των αντι-HAV στους ενήλικες σ' αυτές τις χώρες οφείλεται στην επαφή τους με τον ιό όταν ήταν παιδιά που υπήρχε μεγαλύτερη συχνότητα της λοίμωξης στην περιοχή, ενώ τα τελευταία χρόνια έχει ελαττωθεί σημαντικά.

Τρίτος Τύπος:

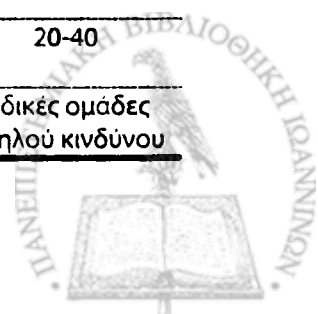
Ένας τρίτος τύπος κατανομής της συχνότητας των αντι-HAV αντισωμάτων σε σχέση με διάφορες ηλικιακές ομάδες είναι εκείνος στον οποίο εμφανίζεται αύξηση σε συγκεκριμένες ηλικίες, λόγω επαφής με άλλα άτομα από περιοχές με αυξημένη συχνότητα αντι-HAV στο γενικό πληθυσμό. Αυτός ο τύπος III (Σχήμα 1) παρουσιάστηκε την δεκαετία του 1980 σε κάτοικους του Δ Βερολίνου που είχαμε αύξηση κατά 25% των αντι-HAV θετικών παιδιών ηλικίας 2-5 χρόνων, σταθερή συχνότητα 25-35% στην ηλικία των 20 χρόνων, ακολουθούμενη από μία αύξηση στο 85% στους άνω των 50 χρόνων^{39,40}. Η αύξηση αυτή στα παιδιά πιθανόν να οφείλονταν στη στενή επαφή τους στους παιδικούς σταθμούς με παιδιά μεταναστών που συνήθως αποκτούσαν HAV λοίμωξη σε επισκέψεις στην πατρική τους χώρα.

Ο τύπος αυτός έχει ιδιαίτερη σημασία για τη χώρα μας, όπου τα τελευταία χρόνια έχει δεχθεί μεγάλο αριθμό προσφύγων από γειτονικές χώρες με μεγάλη αντι-HAV συχνότητα (Αλβανία, χώρες πρώην Σοβιετικής Ένωσης, κλπ).

Επομένως, η ενδημικότητα της λοίμωξης παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις στις διάφορες χώρες του κόσμου και μπορεί να διακριθεί σε 3 τύπους⁴¹ (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Τύποι ενδημικότητας με HAV

	Υψηλή	Ενδιάμεση	Χαμηλή
Συχνότητα κλινικής νόσου/100.000 κατοίκους	>150	15-150	< 5
Μέση ηλικία προσβολής	< 5	5-20	20-40
Τρόπος μετάδοσης	Νερό, τροφές	Επαφή με πάσχοντες	Ειδικές ομάδες υψηλού κινδύνου



Σε χώρες με χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, όπου υπάρχει συγχρωτισμός πολλών ατόμων σε στενούς χώρους, κακή παροχή πόσιμου νερού και ανεπαρκές σύστημα αποχετεύσεως, οι δε συνθήκες υγιεινής και καθαριότητας είναι άσχημες, η λοίμωξη από τον HAV είναι πάρα πολύ συχνή και συνήθως προσβάλλει τις μικρές ηλικίες που η πλειοψηφία τους εμφανίζει ανοσία σε ηλικία πάνω από 10 χρόνια. Η μετάδοση γίνεται με το νερό και μολυσμένες τροφές, επιδημίες όμως δεν συμβαίνουν συχνά γιατί όλος σχεδόν ο πληθυσμός έχει έλθει σε επαφή με τον ιό. Στις χώρες αυτές η ηπατίτιδα A δεν αποτελεί σημαντικό κλινικό πρόβλημα, γιατί συνήθως είναι υποκλινική ή πολύ ήπια και η παρουσία της διαπιστώνεται μετά από οροεπιδημιολογικές μελέτες ή μετά από κρούσματα όπου εμφανίζονται σε επισκέπτες ευαίσθητους στον HAV.

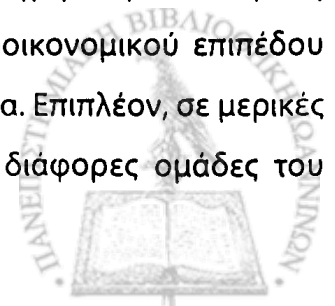
Σε χώρες με ενδιάμεση ενδημικότητα όπως είναι και η Ελλάδα, η βελτίωση του κοινωνικοοικονομικού επιπέδου έχει επιφέρει σαφή ελάττωση της συχνότητας της HAV λοίμωξης. Η μετάδοση γίνεται κυρίως με επαφή με τους πάσχοντες και συνήθως προσβάλλονται παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας και έφηβοι.

Επιδημίες είναι σχετικά συχνές και εμφανίζονται όταν υπάρχει ικανός αριθμός ατόμων ευαίσθητων στον HAV.

Έχουμε συνήθως ελάττωση της συχνότητας της HAV λοίμωξης με αύξηση της νοσηρότητας από την ηπατίτιδα A. Το φαινόμενο αυτό διαρκεί 10-20 χρόνια και οφείλεται στην αύξηση της αναλογίας των προσβαλλομένων εφήβων και ενηλίκων στους οποίους η κλινική εμφάνιση της νόσου είναι συχνότερη από τα παιδιά.

Σε χώρες με χαμηλή ενδημικότητα όπως Β. Αμερική, Β.Δ. Ευρώπη και Αυστραλία, η HAV λοίμωξη τείνει να εκλείψει και εμφανίζεται κυρίως σε ειδικές ομάδες υψηλού κινδύνου για τη νόσο, όπως είναι ταξιδιώτες σε ενδημικές χώρες, ομοφυλόφιλοι, τρόφιμοι και προσωπικό ιδρυμάτων πνευματικά καθυστερημένων και παιδικών σταθμών, χρήστες in ναρκωτικών. Στις περιοχές αυτές η επαφή με τον πάσχοντα ευθύνεται κυρίως για την πλειοψηφία των κρουσμάτων HAV, ενώ στο 42% των περιπτώσεων δεν αποκαλύπτεται πιθανή πηγή μόλυνσης⁴².

Με το χρόνο⁴³, η επιδημιολογία του HAV μεταβάλλεται. Οι χώρες με ενδιάμεση ενδημικότητα που παρουσιάζουν συνεχή βελτίωση του κοινωνικοοικονομικού επιπέδου τους θα μεταπέσουν σε χώρες χαμηλής ενδημικότητας σε λίγα χρόνια. Επιπλέον, σε μερικές χώρες μπορεί να συνυπάρχουν ολοι οι τύποι ενδημικότητας σε διάφορες ομάδες του



πληθυσμού τους. Στις ΗΠΑ, η ετήσια επίπτωση της νόσου (από 100.000 κατοίκους) κυμαίνεται από 102 περιστατικά στους Ινδιάνους, 12 στους μαύρους, 8 στους λευκούς και 3,5 στους Ασιάτες⁴². Σε κλειστές κοινωνίες, μια επιδημία μπορεί να προσβάλλει συνήθως όλα τα ευαίσθητα άτομα. Όταν ο ιός επανεισέλθει και νέα επιδημία εκδηλωθεί, προσβάλλονται τα άτομα που γεννήθηκαν μετά την προηγούμενη επιδημία^{43,44}.

2.2.2. Επιδημιολογία του HAV στην Ελλάδα

Από πλευράς επιδημιολογίας η χώρα μας ανήκει στις χώρες με ενδιάμεση ενδημικότητα, όπου ελαττώνεται η συχνότητα της λοίμωξης αλλά αυξάνει η συχνότητα εκδήλωσης κλινικών κρουσμάτων γιατί περισσότεροι έφηβοι και ενήλικες είναι ευαίσθητοι⁴⁵.

Η βελτίωση των συνθηκών ύδρευσης, αποχέτευσης καθώς και των κοινωνικοοικονομικών παραμέτρων είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση των κρουσμάτων ηπατίτιδας Α. Από διάφορες μελέτες φαίνεται ότι ο επιπολασμός της HAV σε ομάδα ηλικιών 10-18 χρονών είναι 11.2-19.8%^{46,47} και σε παιδιά με μικρότερες ηλικίες <5%⁴⁸. Ακόμη όμως υπάρχουν διαφορές στις αγροτικές κυρίως περιοχές που οφείλονται κατά κύριο λόγο στον τρόπο υδροδότησής τους⁴⁹, όπως και στους αθιγγάνους, που λόγω του ιδιαίτερου τρόπου ζωής τους έχουν ακόμη αυξημένο ποσοστό HAV λοίμωξης⁵⁰.

2.2.3. Νοσηρότητα

Τα στοιχεία νοσηρότητας για τη νόσο λαμβάνονται από τα στατιστικά δελτία που τηρούν οι διάφορες χώρες, τα οποία όμως πολλές φορές δεν είναι ακριβή.

Έτσι, η πραγματική επίπτωση της κλινικής ηπατίτιδας Α στις περισσότερες ανεπτυγμένες χώρες θεωρείται ότι είναι 4-5 φορές υψηλότερη από εκείνη που επίσημα αναφέρεται και σχετίζεται με τον τύπο ενδημικότητας της λοίμωξης.

Υπολογίζεται ότι περισσότεροι από 300.000 Ευρωπαίοι και 20.000 κάτοικοι των ΗΠΑ νοσούν ετησίως από HAV^{42,48}. Εποχιακή κατανομή της ηπατίτιδας Α έχει παρατηρηθεί, και παρουσιάζεται αυξημένη συχνότητα κρουσμάτων στο τέλος του φθινοπώρου και τις αρχές του χειμώνα^{51,52}.

Επιδημίες έχουν επίσης παρατηρηθεί να εμφανίζονται συνήθως κάθε 7-10 χρόνια, που είναι ικανός χρόνος για να έχουμε αύξηση του αριθμού των ευαίσθητων ατόμων⁴².



Κατά την τελευταία δεκαετία όμως, η συνεχιζόμενη μείωση της επίπτωσης στις αναπτυγμένες χώρες είχε σαν αποτέλεσμα την εξάλειψη τέτοιων επιδημιών⁴³.

Η κατανομή της HAV λοίμωξης κατά ηλικίες, έχει σχέση με τον τύπο ενδημικότητας της λοίμωξης. Βελτίωση των συνθηκών υγιεινής και διαβίωσης επιφέρει αύξηση του μέσου όρου ηλικίας, τόσο των προσβαλλόμενων όσο και των νοσούντων από HAV. Παράλληλα, η αναλογία κλινικών: υποκλινικών λοιμώξεων αυξάνει, καθώς η κλινική έκφραση της νόσου είναι μεγαλύτερη όσο μεγαλύτερη είναι η ηλικία του προσβαλλόμενου⁵³.

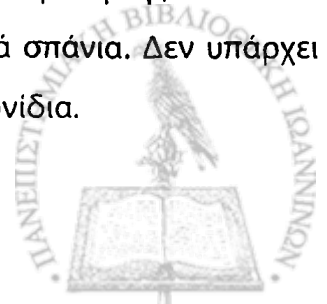
Μόνο 10% των παιδιών ηλικίας μικρότερης των 6 ετών που προσβάλλονται από τον HAV έχουν συμπτωματική ικτερική νόσο⁵⁴, ενώ 40-50% των μεγαλύτερων παιδιών και 70-80% των ενηλίκων έχουν συμπτωματική νόσο⁵⁵. Παραμένουν όμως οι κύριες πηγές διασποράς της λοίμωξης, γιατί η διάρκεια απέκκρισης του HAV είναι παρατεταμένη σ' αυτά παρά στους ενήλικες⁵⁶. Το φύλο δεν φαίνεται να παίζει ρόλο στη HAV λοίμωξη⁵⁷.

2.3. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

2.3.1. Πηγή της λοίμωξης και τρόποι μετάδοσης

Ο HAV συνήθως μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο. Όμως, διάφορα άλλα ανώτερα θηλαστικά μπορούν πειραματικά να προσβληθούν από τον ιό, όπως χιμπατζήδες. Μολονότι έχει περιγραφεί επιδημία HAV λοίμωξης μεταξύ ανθρώπων που συντηρούσαν χιμπατζήδες⁵⁸ και είναι γενικά αποδεκτό ότι η νόσος μπορεί να μεταδοθεί από πίθηκο σε άνθρωπο· η σημασία αυτών των ευρημάτων είναι πολύ μικρή. Πιο πιθανά, ζώα που ζουν σε στενή επαφή με ανθρώπους μολύνονται από μολυσμένο νερό ή τροφές και γενικώς λοιμώξεις άλλων θηλαστικών πλην του ανθρώπου, δεν συμμετέχουν σημαντικά στον αριθμό των HAV λοιμώξεων μεταξύ των ανθρώπων και έτσι τα ζώα είναι οικολογικά ασήμαντα για την επιβίωση του ιού.

Η συνήθης πηγή της λοίμωξης είναι τα ανθρώπινα κόπρανα. Εξετάσεις των κοπράνων επιβεβαίωσαν τις αρχικές απλές παρατηρήσεις ότι η μολυσματικότητά τους διαρκεί προς το τέλος του χρόνου επώασης και νωρίς κατά την οξεία φάση της νόσου^{59,60}. Χρόνια φορεία του HAV δεν φαίνεται να υπάρχει ή είναι εξαιρετικά σπάνια. Δεν υπάρχει επίσης απόδειξη μετάδοσή του με ρινοφαρυγγικές εκκρίσεις ή σταγονίδια.



Ο ΗΑV, όπως αναφέραμε, μπορεί να μεταδοθεί από άνθρωπο σε άνθρωπο με την κοπρανοστοματική οδό, σε άτομα της ίδιας οικογένειας, γείτονες, παιδιά που ευρίσκονται σε παιδικούς σταθμούς και σχολεία, σε φυλακές και σε τροφίμους άλλων ιδρυμάτων^{55,61-63}. Αυτό σχετίζεται με την παρατήρηση ότι οι υψηλότερες συγκεντρώσεις του ιού βρίσκονται στα κόπρανα (10^7 - 10^9 μολυσματικές δόσεις/mL, στο αίμα 10^3 - 10^5 , στο σίελο 10^0 - 10^5)⁶⁴.

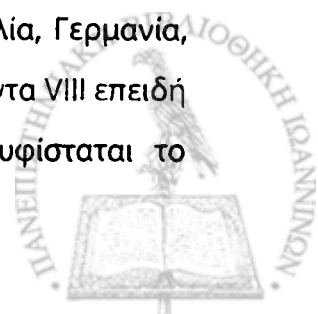
Επιδημίες εμφανίζονται συχνά, κυρίως σε χώρες ενδιάμεσης ενδημικότητας και οφείλονται σε κατανάλωση μολυσμένων τροφών ή νερού (μολυσμένο νερό⁶⁵, γάλα⁶⁶, φρουτοχυμοί, φρουτοσαλάτες⁶⁷, κρέμες⁶⁸, πάστες⁶⁹ και κρύα κρέατα⁷⁰).

Συνήθως, εργαζόμενοι σε μαγειρεία που ευρίσκονται κυρίως στο στάδιο επώασης της ηπατίτιδας Α (καθώς η αποβολή του ιού κορυφώνεται 7-10 ημέρες πριν την εμφάνιση ίκτερου και μειώνεται δραματικά στη συνέχεια⁷¹), ευθύνονται για τη μόλυνση των τροφών. Τα οστρακοειδή, που συλλέγονται από μολυσμένα ύδατα είναι υπεύθυνα για πολλές επιδημίες ηπατίτιδας Α, γιατί ο ιός δεν καταστρέφεται στις μικρής διάρκειας βράσιμο των οστρακοειδών⁷².

Στις χώρες με υψηλή ενδημικότητα, η διασπορά της νόσου είναι κυρίως υδατογενής (επικοινωνία νερού με εκκρίσεις πασχόντων). Επειδή όμως στις χώρες αυτές τα παιδιά έρχονται από τα πρώτα χρόνια σ' επαφή με τον ιό και έχουμε καθολική ανοσία^{34,35}, δεν εμφανίζονται μεγάλες επιδημίες. Αντίθετα, μόλυνση του νερού σε χώρες μέσης ή μικρής ενδημικότητας οδηγεί σε μεγάλες επιδημίες⁷³.

2.3.2. Ηπατίτιδα Α και μεταγγίσεις

Η μετά μετάγγιση μετάδοση της ηπατίτιδας Α είναι σπάνια και αυτό οφείλεται στη μικρή διάρκεια της ιαιμίας, και στο ότι δεν αφήνει χρόνια φορεία. Επίσης, πολλοί από τους λήπτες αίματος έχουν προστατευτικά αντισώματα έναντι του ιού. Ηπατίτιδα Α, συνδεόμενη με μετάγγιση είναι το αποτέλεσμα χορήγησης πλήρους αίματος, κατεψυγμένου πλάσματος ή συμπυκνωμένων ερυθρών που ελήφθησαν από τον αιμοδότη 3-11 ημέρες προ της έναρξης των συμπτωμάτων, δηλαδή κατά την περίοδο της ιαιμίας^{74,75}. Η παρουσία όμως αντι-ΗΑV αντισωμάτων σε πολυμεταγγιζόμενα άτομα δεν δικαιολογεί μεγάλη συχνότητα της μετά μετάγγιση ηπατίτιδας Α^{76,77}. Τα τελευταία χρόνια υπήρξε αυξημένη συχνότητα μετά μετάγγισης ηπατίτιδας Α σε αιμοφιλικούς 4 χωρών της Ευρώπης (Ιταλία, Γερμανία, Βέλγιο και Ιρλανδία)⁷⁸. Ενοχοποιήθηκε η μετάδοση με την χορήγηση παράγοντα VIII επειδή ο ιός δεν έχει περίβλημα και φαίνεται ότι στην αδρανοποίηση που υφίσταται το



συμπύκνωμα του παράγοντα κατά την κλασματοποίηση κατά Chon, ο HAV δεν αδρανοποιείται.

2.4. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ - ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Ο χρόνος επώασης της ηπατίτιδας A κυμαίνεται από 14 - 40 ημέρες με μέση περίοδο 4 εβδομάδες.

Ο ιός πολλαπλασιάζεται στον εντερικό βλεννογόνο και μεταφέρεται με το σύστημα της πυλαίας κυκλοφορίας στο ήπαρ. Πολλαπλασιάζεται στα ηπατικά κύτταρα και απεκκρίνεται από το χοληφόρο σύστημα και το έντερο.

Η παρουσία του ιού στο ήπαρ συνδυάζεται με καταστολή των κυττάρων. Αυτό φαίνεται να οφείλεται όχι στην κυτταρολυτική δράση του ιού αλλά στην κυτταροτοξική δράση των CD₈⁺ κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων που αναγνωρίζουν με κατάλληλους υποδοχείς τα αντιγόνα του ιού της ηπατίτιδας A στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των ηπατοκυττάρων.

2.5. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ

Η σχέση υποκλινικής ηπατίτιδας A προς την κλινική μορφή της νόσου έχει υπολογισθεί σε πολλές περιπτώσεις να είναι μεγαλύτερη από 10:1. Τα ευρήματα αυτά βασίζονται κυρίως στο υψηλό ποσοστό των αντι-HAV θετικών ατόμων που δεν αναφέρουν στο ιστορικό τους ίκτερο^{79,80}. Όμως, η σχέση αυτή γίνεται 2:1 στα μεγαλύτερα παιδιά και τους ενήλικες⁸. Αυτό δείχνει ότι σε πολλά άτομα με κλινική νόσο, η διάγνωση της ηπατίτιδας δεν τίθεται παρά μόνο εφόσον εξετασθούν συγκεκριμένα γι' αυτή. Τα νεαρά παιδιά συνήθως εμφανίζουν μια ήπια ανικτερική νόσο, ενώ στους ενήλικες η νόσος γενικά είναι περισσότερο σοβαρή και παρατεταμένη⁸¹. Η σχέση ανικτερικών προς ικτερικές περιπτώσεις ποικίλλει από 12:1 έως 1:3,5 σε διάφορες επιδημιολογικές μελέτες⁸².

Στους ασθενείς που εκδηλώνουν τη νόσο, τα πρώτα συμπτώματα δεν είναι ειδικά. Τυπικά, η νόσος αρχίζει απότομα με πυρετό πάνω από 38 °C, κόπωση, πονοκέφαλο, ναυτία, ζάλη και κακουχία. Λιγότερο συχνά συμπτώματα είναι διάρροια, μυαλγίες, κατάρρους και πονόλαιμος. Ευκαιριακά μπορεί να εμφανισθεί ερύθημα αλλά δεν

συνοδεύεται από αρθρίτιδα ή ουρτικάρια, όπως αναφέρεται σε αρκετές περιπτώσεις HAV και λιγότερο HCV λοιμώξεων.

Η απότομη εμφάνιση των συμπτωμάτων και η ανάπτυξη υψηλού πυρετού, συνοδεύονται περισσότερο με ηπατίτιδα A παρά με ηπατίτιδα B και C. Μετά από αυτή την πρόδρομη φάση που συνήθως διαρκεί 1 έως 7 ημέρες, εμφανίζονται τα ειδικά συμπτώματα: υπέρχρωση των ούρων, αποχρωματισμός κοπράνων, ίκτερος και κνησμός. Μερικοί ασθενείς παρουσιάζουν πόνο στο δεξιό άνω τεταρτημόριο της κοιλιακής χώρας, ηπατομεγαλία, σπληνομεγαλία και λεμφαδενοπάθεια.

Αύξηση των αμινοτρανσφερασών (ALT και AST) στον ορό ευρίσκεται ήδη από την πρόδρομη φάση της νόσου. Σε όλες τις ηπατίτιδες, η ALT αυξάνεται περισσότερο από την AST. Η γGT είναι μετρίως αυξημένη στην ηπατίτιδα A. Η αιχμη του επιπέδου των ενζύμων συνήθως φθάνει μέσα σε 1 εβδομάδα όταν η χολερυθρίνη του ορού αρχίζει να αυξάνεται και εμφανίζονται υψηλά επίπεδα IgM αντι-HAV. Αυτή η τελευταία βιοχημική ανωμαλία ευρίσκεται ακόμη και σε υποκλινική ηπατίτιδα A και δεν υπάρχει σε άλλες ιογενείς ηπατίτιδες⁸³. Ο ίκτερος μπορεί να διαρκεί από λίγες ημέρες μέχρι μήνες και υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της διάρκειας του ίκτερου και της ηλικίας⁸⁴. Στα παιδιά, όλοι οι βιοχημικοί δείκτες επανέρχονται σε φυσιολογικά επίπεδα μέσα σε 2-3 εβδομάδες⁸⁵. Στους νεαρούς ενήλικες, ανώμαλες τιμές ευρίσκονται συνήθως επί 3-4 εβδομάδες⁸⁶.

Η HAV λοίμωξη μπορεί να έχει παρατεταμένη πορεία⁸⁷. Σε μερικούς ασθενείς η επαναφορά φυσιολογικών τιμών των αμινοτρανσφερασών έγινε μετά 1 χρόνο⁸⁸. Χρόνια φορεία HAV δεν υπάρχει πλην μιας περίπτωσης ενός ναρκομανούς που είχε πιθανόν εκτεθεί και σε HCV.

Μια σπάνια επιπλοκή της κλινικής ηπατίτιδας A είναι η ανάπτυξη κεραυνοβόλου ηπατίτιδας που οδηγεί στο θάνατο μέσα σε λίγες ημέρες στην πλειοψηφία των περιπτώσεων⁸⁹. Στην κεραυνοβόλο ηπατίτιδα έχουμε μια γρήγορη και υψηλή αύξηση των αμινοτρανσφερασών και παράταση του χρόνου προθρομβίνης. Μετά, αναπτύσσεται ηπατικό κώμα. Ο ίκτερος, που συνήθως υπάρχει, μπορεί να μην εμφανισθεί σε ασθενείς με ταχεία εξέλιξη. Η θνητότητα στις ΗΠΑ έχει ευρεθεί 0,1-0,5% και είναι ελαφρώς χαμηλότερη από εκείνη της HBV ή HCV. Έχει ευρεθεί ότι κεραυνοβόλος και θανατηφόρος ηπατίτιδα A είναι πιο συχνή όταν συνυπάρχει συλλοίμωξη και από άλλο ηπατοτρόπο ιό, αυτό δε έχει αναπαραχθεί με πειράματα σε πύθηκο που ανέπτυξε βαριά ηπατική νόσο όταν είχε ταυτόχρονη οξεία λοίμωξη με HAV και HBV⁹⁰.



Οξεία ηπατίτιδα Α, όμως, σε «ασυμπτωματικούς χρόνιους φορείς HBV» οδηγεί συνήθως σε μια ανικτερική προς ικτερική σχέση (1,7:1) που είναι μη στατιστικά σημαντική προς εκείνη που εμφανίζεται σε HBsAg αρνητικούς ασθενείς (2,1:1) και δεν φαίνεται να οδηγεί σε διαφορές στην κλινική πορεία της νόσου⁹¹.

Η θνητότητα, που είναι πολύ μικρή (0.14-0.50%), αυξάνει με την ηλικία προσβολής. Αυτό συμβαίνει επειδή παρατηρείται κεραυνοβόλος ηπατική ανεπάρκεια (σπανιότατα 0.35%) συνήθως σε ηλικιωμένα άτομα^{92,93}. Η κατάσταση αυτή έχει ακόμη και σήμερα όχι πολύ καλή εξέλιξη, ιδιαίτερα σε άτομα μεγάλης ηλικίας που συνήθως είναι επιβαρημένα και με άλλα νοσήματα.

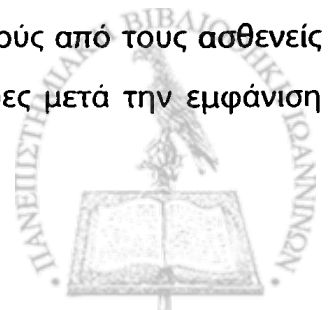
2.5.1. Ανοσολογική απάντηση και ανοσία

Αντισώματα έναντι του ιού (αντι-HAV) συνήθως εμφανίζονται στον ορό προ της πρώτης αύξησης των αμινοτρανσφερασών⁹⁴. Με την είσοδο της νόσου είναι πάντοτε παρόντα και γενικώς υψηλοί τίτλοι ανιχνεύονται όταν ο ασθενής πηγαίνει στο γιατρό. Πολύ σπάνια όμως, μπορεί να προηγούνται τα συμπτώματα της HAV λοίμωξης από την εμφάνιση ειδικού αντισώματος⁹⁵. Τις πρώτες ημέρες της νόσου, τα περισσότερα, και μερικές φορές όλα τα ανιχνεύσιμα αντι-HAV, ανήκουν στην IgM τάξη (IgM αντι-HAV)⁹⁶.

Στις κλινικές εκδηλώσεις, η αιχμή των IgM αντι-HAV φθάνει περίπου 16 ημέρες μετά την είσοδο της νόσου, μετά ο τίτλος προοδευτικά ελαττώνεται και γίνεται μη ανιχνεύσιμος, συνήθως στους 3 με 6 μήνες, με τις νέες όμως τεχνικές μπορεί να ανιχνεύεται μέχρι και 12 μήνες από την εμφάνιση της νόσου⁹⁷.

IgG τάξης αντι-HAV (IgG αντι-HAV) που δεν ανιχνεύονται στην είσοδο της νόσου, σιγά-σιγά κατά τις επόμενες εβδομάδες αυξάνουν και φθάνουν στον μέγιστο τίτλο τους περίπου σε 6-12 μήνες. Χρησιμοποιώντας μεθόδους ανοσο-αιμοσυγκόλλησης (IAHA), που ανιχνεύουν κυρίως IgG και όχι IgM αντισώματα, αρνητικά αποτελέσματα για αντι-HAV μπορεί να ευρίσκονται μέχρι 49 ημέρες μετά την πρώτη αύξηση των τρανσαμινασών, και μέχρι 4 εβδομάδες μετά από την είσοδο της νόσου^{8, 98,99}.

Χρησιμοποιώντας διαγνωστικές μεθόδους που δεν μπορούν να ξεχωρίσουν μεταξύ IgM και IgG αντι-HAV, μια προσωρινή αύξηση του τίτλου του ολικού αντι-HAV μπορεί να ευρεθεί περίπου 1 μήνα μετά από την είσοδο της νόσου. Σε μερικούς από τους ασθενείς μπορεί να ανιχνευθούν IgA αντι-HAV στα κόπρανα για λίγες ημέρες μετά την εμφάνιση σκούρων ούρων¹⁰⁰.



Από το υψηλό ποσοστό παρουσίας αντισωμάτων σε άτομα μεγαλύτερων ηλικιών στις ανεπτυγμένες χώρες με ελαττωμένη συχνότητα ηπατίτιδας Α, βγαίνει το συμπέρασμα ότι τα IgG αντι-HAV αντισώματα παραμένουν δια βίου. Μόνο σε πολύ μεγάλης ενδημικότητας περιοχές, όπου η λοίμωξη συμβαίνει στην παιδική ηλικία, μπορεί να ελαττώνεται ο τίτλος των αντι-HAV ή να εξαφανίζεται σε ηλικιωμένα άτομα. Η ανοσία μετά από HAV προσβολή, όπως προσδιορίζεται από την παρουσία αντι-HAV παραμένει σε όλη τη ζωή στις περισσότερες περιπτώσεις και επαναμόλυνση που εκδηλώνεται με αύξηση του τίτλου των αντισωμάτων έχει αποδειχθεί σε ελάχιστες περιπτώσεις ατόμων που έχουν αντι-HAV^{101,102} όπως και σε άτομα που νόσησαν με ηπατίτιδα Α αλλά αρνητικοποίησαν τα αντισώματά τους⁸.

Όπως φαίνεται ότι ισχύει για την HBV λοίμωξη, έτσι και για την HAV, κυτταρικοί ή χυμικοί ανοσολογικοί μηχανισμοί φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο για την παθογένεση της ηπατίτιδας Α. Ο ιός της ηπατίτιδας Α δεν φαίνεται να είναι κυτταροτοξικός, πολλαπλασιάζεται για μήνες σε κυτταρικές καλλιέργειες χωρίς κυτταρική καταστροφή¹⁰³ και εκκρίνεται από τα κόπρανα των ασθενών 1-2 εβδομάδες προ της εμφάνισης των συμπτωμάτων.

Η αύξηση των αμινοτρανσφερασών και η έναρξη των συμπτωμάτων συνήθως αναπτύσσονται σύντομα μετά την εμφάνιση αντι-HAV στον ορό. Όμως, η απουσία κυτταρικής καταστροφής σε κυτταρικές καλλιέργειες κυτάρων μολυσμένων με HAV με την προσθήκη αντι-HAV και συμπληρώματος, υποδηλώνει ότι η κυτταρική ανοσία παίζει πιο σπουδαίο ρόλο στην ίαση της νόσου από την χυμική.

Περιφερικά λεμφοκύτταρα του αίματος που προέρχονται από HAV νοσούντα άτομα είναι ικανά να λύσουν μολυσμένα από τον HAV κύτταρα κυτταροκαλλιιεργειών¹⁰⁴.

Έχει ευρεθεί ότι T-λεμφοκύτταρα, κλωνοποιούμενα από υλικά βιοψίας ασθενών με οξεία ηπατίτιδα Α σκοτώνουν ινοβλάστες ανθρώπινου δέρματος μολυσμένων με HAV¹⁰⁵. Αυτό είναι ισχυρή ένδειξη ότι HAV ειδικά CD8 T-λεμφοκύτταρα μεσολαβούν στην ηπατική βλάβη.

2.6. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Α

2.6.1. Γενικές εργαστηριακές εξετάσεις

Η διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας Α μπορεί να γίνει με τη βοήθεια εργαστηριακών εξετάσεων. Η συνηθέστερη εξέταση για ανίχνευση βλάβης του παρεγχύματος είναι ο

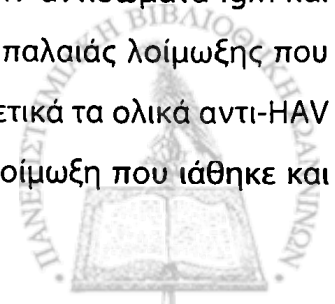


προσδιορισμός των αμινοτρανσφερασών του ορού (ALT και AST). Είναι πολύ ευαίσθητοι δείκτες της βλάβης του ήπατος και όπως ήδη αναφέρθηκε, αυξάνονται κατά τη διάρκεια της πρόδρομης φάσης και η κορύφωσή τους γίνεται περίπου μια εβδομάδα προ της εμφάνισης των κλινικών συμπτωμάτων. Οι τιμές τους κυμαίνονται συνήθως από 50 έως 2.000 IU/L αν και μερικές φορές μπορούν να παρατηρηθούν τιμές πάνω από 10.000 IU/L. Στην πλειοψηφία, οι τιμές είναι μεγαλύτερες των 500 IU/L. Η τιμή των αμινοτρανσφερασών δεν σχετίζεται γενικά με την έκβαση της νόσου¹⁰⁶. Στην οξεία ηπατίτιδα χωρίς επιπλοκές, ανιχνεύουμε συνήθως υψηλότερα επίπεδα ALT απ' ό,τι AST στον ορό των ασθενών. Υψηλότερα επίπεδα AST έχουμε όταν συμβαίνει σοβαρή ηπατική νέκρωση. Όταν περάσει η οξεία φάση της νόσου, τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών πέφτουν απότομα, επανέρχονται στα φυσιολογικά τους επίπεδα και ακολουθεί η πλήρης ανάρρωση. Όπως όμως ήδη αναφέρθηκε, αυξημένα επίπεδα αμινοτρανσφερασών σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να ανιχνεύονται για μερικές εβδομάδες ή και μήνες μετά την πάροδο της οξείας φάσης της νόσου. Η αλκαλική φωσφατάση αυξάνεται μέτρια και συνήθως οι τιμές της δεν ξεπερνούν το διπλάσιο του φυσιολογικού στην ηπατίτιδα Α. Άλλες εργαστηριακές εξετάσεις που έχουν χρησιμότητα για τη βαρύτητα της νόσου, την πρόγνωση ή την ανταπόκριση στη θεραπεία είναι: (α) χολερυθρίνη ούρων, (β) ολική χολερυθρίνη ορού, (γ) χρόνος προθρομβίνης, (δ) ολικά λευκώματα, (ε) μέτρηση ανοσοσφαιρινών και (στ) γενική αίματος.

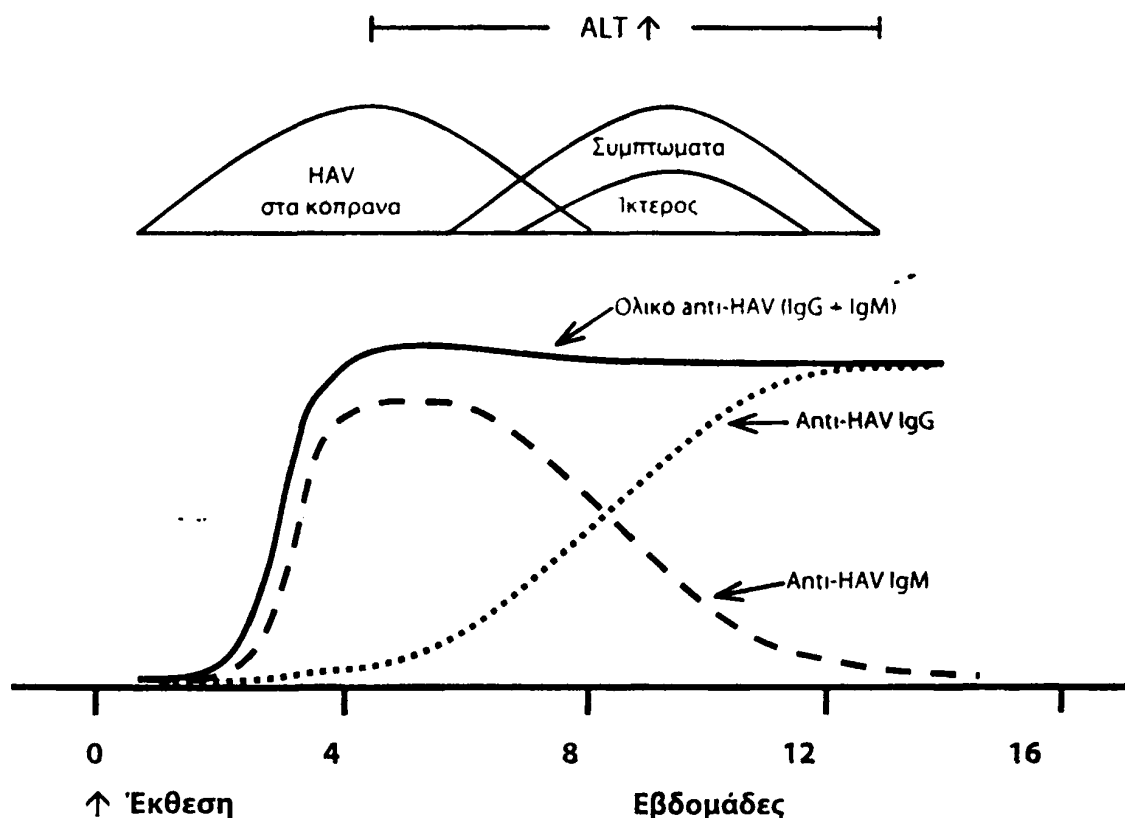
2.6.2. Ειδικές διαγνωστικές εξετάσεις

Στην πράξη, η διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας Α σε περιπτώσεις με κλινική εκδήλωση ή χωρίς εκδήλωση των ειδικών συμπτωμάτων γίνεται ορολογικά με την ανίχνευση του IgM αντισώματος έναντι του ιού (IgM αντι-HAV). Ο προσδιορισμός του γίνεται με ραδιοανοσολογική (RIA) ή ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA). Εμφανίζεται νωρίς πριν από την εκδήλωση των συμπτωμάτων και συνήθως ανιχνεύεται μέχρι 6 μήνες, αν και με τις νεώτερης γενεάς αντιδραστήρια ανιχνεύονται μέχρι 12 μήνες. Παραμονή του IgM αντι-HAV για διάστημα μεγαλύτερο των 12 μηνών είναι ψευδώς θετικό αποτέλεσμα.

Υπάρχουν αντιδραστήρια που προσδιορίζουν ολικά αντι-HAV αντισώματα IgM και IgG και δεν διαφοροδιαγιγνώσκουν μεταξύ οξείας ηπατίτιδας Α ή παλαιάς λοίμωξης που ιάθηκε και υπάρχουν προστατευτικά IgG αντισώματα. Εάν έχουμε θετικά τα ολικά αντι-HAV αντισώματα και τα IgM αντι-HAV αρνητικά, σημαίνει παλαιά HAV λοίμωξη που ιάθηκε και

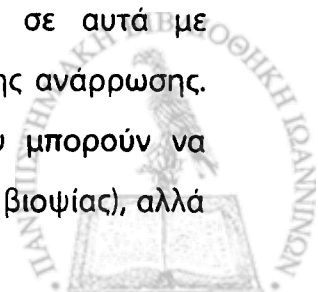


υπάρχει ανοσία για επαναμόλυνση από τον ιό. Όταν δεν υπάρχει δυνατότητα προσδιορισμού των IgM αντι-HAV σε οξεία ηπατίτιδα, ο προσδιορισμός των αντι-HAV έχει ένδειξη μόνο για παρακολούθηση αύξησης του τίτλου των αντισωμάτων σε διαδοχικές εξετάσεις. Στην πράξη όμως, ο προσδιορισμός των ολικών αντι-HAV αντισωμάτων γίνεται για επιδημιολογικούς λόγους για να διαπιστωθεί ο βαθμός ανοσίας συγκεκριμένων ομάδων, όπως και προ εμβολιασμού για να ευρεθούν τα ευαίσθητα προς τον ιό άτομα. Η χορήγηση απλής γ-σφαιρίνης δίνει θετικό αποτέλεσμα στην ανίχνευση αντι-HAV ολικών για μερικές εβδομάδες. Επιτυχής εμβολιασμός επίσης προκαλεί υψηλά επίπεδα αντι-HAV.



Σχήμα 2. Κλινική πορεία και ορολογική διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας Α.

Ο προσδιορισμός του αντιγόνου του HAV (HAVAg) γίνεται με τη μέθοδο του ανοσοαποτυπώματος στα κόπρανα κατά το τελευταίο στάδιο της επώασης και κατά το αρχικό στάδιο της συμπτωματικής φάσης, ενώ με ανοσοϊστοχημεία ή ανοσοφθορισμό μπορεί να ευρεθεί στα προσβεβλημένα ηπατοκύτταρα. Ο ιός αποβάλλεται στα κόπρανα 2-3 εβδομάδες πριν της εκδήλωσης του ίκτερου και γίνεται ορατός σε αυτά με ανοσοηλεκτρονικό μικροσκόπιο με χρησιμοποίηση ορού από τη φάση της ανάρρωσης. Απομόνωση του ιού μπορεί να γίνει και με ιστικές καλλιέργειες, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν υλικά από τον άρρωστο (κόπρανα, αιμα, υλικά ηπατικής βιοψίας), αλλά



και πιθανά μολυνθέντα τρόφιμα ή νερό μπορούν να μελετηθούν. Τα πυρηνικά οξέα του ιού (HAV RNA) μπορούν να απομονωθούν με ευαίσθητες τεχνικές μοριακής βιολογίας στα κόπρανα ή στον ορό κατά το τέλος του χρόνου επώασης μέχρι λίγο μετά την κλινική εκδήλωση της οξείας ηπατίτιδας Α (PCR) όπως και στο ηπατικό παρέγχυμα (PCR και in situ υβριδισμός).

2.7. ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Εισαγωγή ασθενούς στο νοσοκομείο είναι αναγκαία μόνο όταν ευρίσκεται σε βαριά κατάσταση ή δεν είναι δυνατόν να έχει κατάλληλη περιποίηση στο σπίτι του. Συνήθως, δεν απαιτείται απομόνωση του ασθενούς, αλλά θα πρέπει να έχει ιδιαίτερη καθαριότητα στην τουαλέτα και τα ατομικά του σκεύη να καθαρίζονται πολύ καλά. Ιδιαίτερα μέτρα για τους εργαζόμενους στα νοσοκομεία που νοσηλεύουν ασθενείς με ηπατίτιδα Α δεν απαιτούνται πέρα των συνήθων.

2.7.1. Γενικά μέτρα προφύλαξης

Επειδή η ηπατίτιδα Α μεταδίδεται με την κοπρανοστοματική οδό, κυρίως, τα γενικά μέτρα προφύλαξης είναι ίδια με εκείνα που αφορούν τις με τον ίδιο τρόπο μεταδιδόμενες λοιμώξεις (π.χ. τυφο-παρατυφικές). Η σχολαστική ατομική υγιεινή έχει πολύ μεγάλη σημασία για την πρόληψη της νόσου. Ο έλεγχος όσων ασχολούνται με την παραγωγή και τη διακίνηση τροφίμων είναι πολύ σημαντικός παράγοντας για τη μετάδοση της νόσου μέσω των τροφών. Επίσης, η καλή και σωστή συντήρηση των δικτύων ύδρευσης και αποχέτευσης είναι βασικής σημασίας για να μην έχουμε υδατογενή μετάδοση της νόσου. Γενικά το υψηλό επίπεδο ατομικής και δημόσιας υγιεινής παίζουν πρωταρχικό ρόλο στην πρόληψη της νόσου.

2.7.2. Παθητική ανοσοπροφύλαξη

Η παθητική ανοσοπροφύλαξη γίνεται με τη χορήγηση ανόσου γ-σφαιρίνης (immune serum globulin, ISG) που χρησιμοποιείται από την δεκαετία του 1940. Η προφυλακτική της ικανότητα εξαρτάται από το χρόνο χορήγησής της σε σχέση με την έκθεση στον ιό της ηπατίτιδας Α. Εάν χορηγηθεί 1-2 εβδομάδες προ της έκθεσης προφυλάσσει από τη λοίμωξη. Όμως, η λοίμωξη μερικές φορές δεν αποτρέπεται, αλλά

μπορεί να είναι πιο ήπια και σε υποκλινικό επίπεδο¹⁰⁷. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η ISG μπορεί να προλάβει κλινική εκδήλωση της νόσου ακόμη και όταν δοθεί μέχρι 10 ημέρες μετά την έκθεση¹⁰⁸. Επομένως, η ISG μπορεί να χορηγηθεί όχι μόνο προφυλακτικά αλλά και σε άτομα που ήλθαν σε επαφή με πάσχοντες και είναι στη φάση της επώασης. Οδηγίες για τη χορήγηση ISG έχουν δοθεί από την IPAC (Immunization Practices Advisory Committee) στις ΗΠΑ¹⁰⁹. Σε περιπτώσεις μετά από έκθεση στον ιό της ηπατίτιδας Α, που η λοίμωξη μεταδίδεται με προσωπική επαφή, όλα τα άτομα που συγκατοικούν και οι σεξουαλικοί σύντροφοι πρέπει να λάβουν παθητική ανοσοπροφύλαξη.

Όταν κρούσμα ηπατίτιδας Α εμφανίζεται σε παιδικούς σταθμούς που υπάρχουν παιδιά που δεν πηγαίνουν μόνο τους στην τουαλέτα, ISG πρέπει να χορηγηθεί στο προσωπικό, στα παιδιά και στις οικογένειές τους. Σε σχολεία, ευρεία χορήγηση της σφαιρίνης σε μαθητές και διδασκάλους δικαιολογείται μόνο αν υπάρχει επιδημιολογική απόδειξη ότι το σχολείο ή η τάξη είναι η εστία της λοίμωξης. Το ίδιο δε ισχύει και για φυλακές ή ιδρύματα για καθυστερημένα άτομα. Χορήγηση ρουτίνας της σφαιρίνης σε προσωπικό νοσοκομείων ή γραφείων ή εργατών εργοστασίων που έρχονται κατά τη διάρκεια της εργασίας τους σε επαφή με ασθενείς ηπατίτιδας Α δεν συνιστάται. Εάν κάποιος που επεξεργάζεται τρόφιμα νοσήσει από ηπατίτιδα Α, ISG πρέπει να δοθεί σε όλους του εργαζόμενους μαζί του.

Οι καταναλωτές θα πρέπει στην περίπτωση αυτή να λάβουν ISG μόνο αν ο πάσχων μεταχειρίζεται φαγητά που δεν βράζονται πριν φαγωθούν και δεν ακολουθεί τους κανόνες υγιεινής σχολαστικά, αφού ευρεθούν μέσα σε 2 εβδομάδες.

Προ της έκθεσης στον ιό η προφύλαξη συνιστάται για άτομα που κατοικούν σε χώρες με χαμηλή ενδημικότητα και πρόκειται να ταξιδέψουν σε χώρες με υψηλή. Άτομα που θα εκτεθούν σε κίνδυνο για 2-3 μήνες λαμβάνουν μια δόση ISG από 0,02 mL/kg. Σε έκθεση για μεγαλύτερο διάστημα, η χορήγηση 0,06 mL/kg πρέπει να επαναλαμβάνεται κάθε 5 μήνες. Χορήγηση σφαιρίνης είναι αναγκαία εφόσον το άτομο δεν είναι άνοσο έναντι της ηπατίτιδας Α.

2.7.3. Ενεργητική ανοσοπροφύλαξη

Η μείωση του επιπολασμού των αντισωμάτων έναντι του HAV που παρατηρείται σε πολλές χώρες¹¹⁰ έχει σαν αποτέλεσμα ο πληθυσμός, ιδίως των νέων ηλικιών, να είναι ευαίσθητος σε επιδημίες ηπατίτιδας Α.



Η κυκλοφορία σήμερα εμβολίου για την ηπατίτιδα Α έχει φέρει στην επικαιρότητα τη συζήτηση για τον εμβολιασμό, αν δηλαδή επιβάλλεται ή όχι και σε ποιες περιπτώσεις.

Υπάρχουν εμβόλια από αδρανοποιημένο με φορμαλδεΰδη ιό ΗΑV που έχουν καλή ανοσιακή απάντηση^{111,112}. Η ανοσοποίηση φαίνεται ότι είναι ικανοποιητική ανεξάρτητα αν οι δόσεις γίνουν στους μήνες 0, 1, 2 ή 0, 1, 6¹¹³ ή αν γίνουν δύο δόσεις σε χρόνο 0 και 14 ημέρες¹¹⁴. Μετά το σχήμα των 2 δόσεων, ο τίτλος παραμένει προστατευτικός μετά 2 χρόνια. Έτσι, οι δύο δόσεις του εμβολίου συνιστώνται¹¹⁴. Υπάρχουν διαφορές μεταξύ της ανοσοποίησης με εμβόλιο και της φυσική ανοσίας ως προς τον τίτλο των αντισωμάτων με πολύ υψηλότερους τίτλους στη φυσική ανοσία. Τίτλοι 10 mIU/ml θεωρούνται προστατευτικοί. Θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι αν παράλληλα με το εμβόλιο χορηγηθεί και ISG, δημιουργείται χαμηλότερος τίτλος αντισωμάτων και θα πρέπει να γίνει αναμνηστική δόση¹¹⁵.

Σήμερα υπάρχει στην κυκλοφορία και γενετικά ανασυνδυασμένο εμβόλιο για την πρόληψη της ΗΑV.

Μολονότι η ΗΑV λοίμωξη δεν συνδέεται με χρόνια ηπατίτιδα, κίρρωση ή ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, είναι μια πηγή νοσηρότητας και οικονομικών επιβαρύνσεων (απουσία από την εργασία). Ένα δραστικό, ασφαλές, φθινό εμβόλιο εφαρμοζόμενο σε καθορισμένα σχήματα θα μπορούσε να είναι χρήσιμο και για τις αναπτυσσόμενες και αναπτυσσόμενες χώρες.

Στις ΗΠΑ και άλλα ανεπτυγμένα κράτη, προγράμματα εμβολιασμού περιλαμβάνουν εργαζόμενους σε παιδιατρικά τμήματα, σε ιδρύματα για καθυστερημένα άτομα, σε ομοφυλόφιλους, στρατιώτες και πολιτικό προσωπικό που αποστέλλεται σε ενδημικές περιοχές καθώς και σε ταξιδιώτες που πηγαίνουν σε αυτές τις χώρες. Όμως, το κόστος μιας τέτοιας πολιτικής για τους ταξιδιώτες είναι μεγάλο και υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις.

Η εφαρμογή μαζικού εμβολιασμού, προσκρούει στο μεγάλο κόστος και θα πρέπει κάθε χώρα μελετώντας την επιδημιολογία της ΗΑV στους κατοίκους της και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της να αποφασίζει την στρατηγική του εμβολιασμού της.



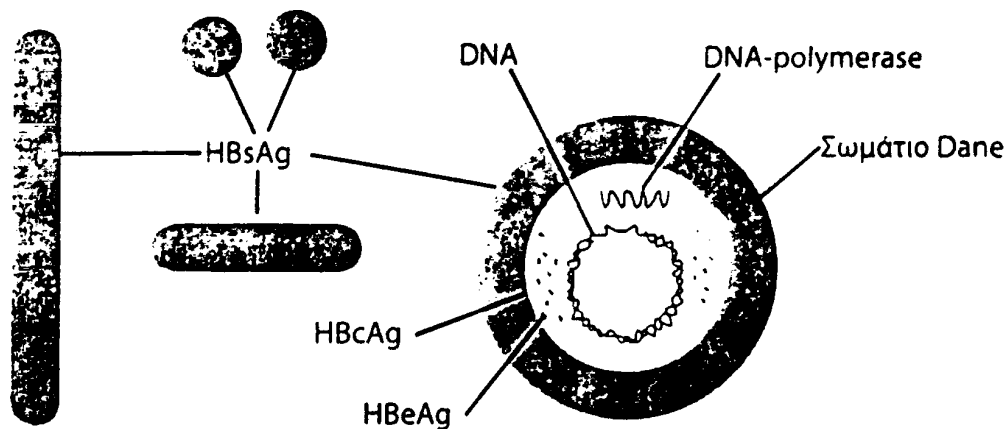
3. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β (HBV)

3.1. ΙΟΛΟΓΙΑ

3.1.1. Δομή και βιολογία του ιού

Ο HBV ανήκει στην κατηγορία των hepadna ιών¹¹⁶, μια ομάδα ηπατοτρόπων ιών που εκτός του HBV περιλαμβάνουν και μια σειρά από ιούς διαφόρων ζώων^{117,118}. Σαν κοινό χαρακτηριστικό αναφέρεται η τάση τους να προκαλούν χρόνιες λοιμώξεις στους ξενιστές.

Σωματίδια διαφόρων μορφών μπορούν να ευρεθούν σε ορό που περιέχει αυστραλιανό αντιγόνο (HBsAg)¹¹⁹. Το πιο συχνά παρατηρούμενο σωματίδιο είναι ένα μικρό σφαιρικό, διαμέτρου περίπου 2 nm, που μπορεί να ποικίλλει σε μέγεθος (14-38 nm)¹²⁰, ενώ επιμήκεις σωληνοειδείς σχηματισμοί εμφανίζονται σε μικρότερη συγκέντρωση. Και οι 3 αυτές μορφές των σωματιδίων αποτελούνται από πλεονάζουσα πρωτεΐνη του περιβλήματος και δεν είναι μολυσματικές. Ο τρίτος τύπος σωματιδίων που είναι σχεδόν κυκλικός, διαμέτρου 42 nm, είναι περισσότερο πολύπλοκος, έχει ένα εξωτερικό περίβλημα και ένα εσωτερικό πυρήνα, ονομάστηκε δε σωματίο του Dane¹²¹ (Σχήμα 3).



Σχήμα 3. Αναπαράσταση του HBV. Σωματίο του Dane, σφαιρικά και σωληνωτά μη-μολυσματικά σωματίδια που περιέχουν μόνο HBsAg.

Το σωματίο του Dane θεωρείται ότι είναι ο πλήρης ιός της ηπατίτιδας Β. Το HBsAg υπάρχει στην επιφάνεια του σωματίου αυτού, ενώ εσωτερικά ευρίσκεται το πυρηνικό αντιγόνο του HBV (HBcAg). Εσωτερικά στον πυρήνα, ένα μικρό, κυρίως δίκλωνο DNA ευρίσκεται μαζί με DNA-πολυμεράση (με δραστηριότητα ανάστροφης μεταγραφής) και πρωτεϊνική κινάση. Επιπλέον, το αντιγόνο e (HBeAg) είναι μερικώς συνδεδεμένο με την εσωτερική δομή του σωματίου Dane.



Ο ΗΒV είναι ο μοναδικός ιός μεταξύ των ανθρωπίνων ιών που ο κύριος τρόπος διάγνωσης του είναι η μέτρηση του ΗΒsAg, της επιφανειακής πρωτεΐνης που παράγεται σε υπερβολικές ποσότητες και σαν μη λοιμώδης σχηματισμός κατά τη διάρκεια της ΗΒV αναπαραγωγής.

Γενικά, πιστευόταν ότι το ηπατικό παρέγχυμα ήταν η μόνη θέση ιϊκής παραγωγής. Υπάρχουν όμως ενδείξεις ότι το πάγκρεας, ο μυελός των οστών, περιφερικά λεμφοκύτταρα, σπληνικά κύτταρα, τα νεφρά, ενδοθηλιακά κύτταρα μπορεί να είναι άλλες θέσεις ιϊκής αναπαραγωγής^{122,123}. Μελέτες στους hepadna ιούς απέδειξαν ότι ιϊκή αναπαραγωγή γίνεται στο πάγκρεας, στον adrenal gland, στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων, σε μερικά σπληνικά κύτταρα¹²⁴ ενώ ο ΗΒV επίσης μπορεί να αναπαραχθεί στο σπλήνα χιμπατζήδων¹²⁵.

Το ΗΒsAg είναι μια αντιγονικά πολύπλοκη γλυκοπρωτεΐνη που μπορεί να διαιρεθεί σε διάφορους υποτύπους.

Η αντιγονική ετερογένεια έχει υποδηλωθεί από την παρουσία pairs of nonidentity σε εξετάσεις ανοσοδιάχυσης¹²⁶.

Η βάση για την ορολογική αναγνώριση του ΗΒsAg είναι μια ομάδα ειδικού αντιγονικού καθοριστή στην επιφάνεια του ΗΒV και στα μικρά σωματίδια ΗΒsAg, που του έχει δοθεί η ονομασία **a**.

Ειδικά αντισώματα έναντι της ομάδας **a**-καθοριστή παρέχουν προστασία σε προσβολή από όλους τους υποτύπους ΗΒV, προστατεύοντας ακόμη και στην περίπτωση προσβολής από ΗΒV μεταλλαγμένους που δεν έχουν τον ομάδας-**a** καθοριστή¹²⁷.

Όλα τα ΗΒsAg περιέχουν ένα κοινό ιϊκό αντιγονικό καθοριστή τον **a** και επιπλέον 2, σχεδόν πάντοτε, καθοριστές **d** ή **y** και **w** ή **r**^{126,128}. Επομένως, αναγνωρίζονται 4 αρχικοί κύριοι υπότυποι **adw**, **ayw**, **adr** και **ayr** (εξαιρετικά σπάνιος). Επιπλέον διαφοροποιήσεις στους υποτύπους έχουν βρεθεί στους ετερότυπους **a** και **w**¹²⁹. Η διαφοροποίηση στον **a** αντιγονικό καθοριστή μπορεί να ευθύνεται για τις σπάνιες αναφερόμενες περιπτώσεις δεύτερης ΗΒV προσβολής στο ίδιο άτομο, επειδή ο καθοριστής αυτός έχει την μεγαλύτερη αντιγονικότητα από τους υπόλοιπους¹³⁰.

Άλλες ποικιλίες στους αντιγονικούς καθοριστές έχουν αναφερθεί. Οι διάφοροι υπότυποι μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο σαν επιδημιολογικοί δείκτες (μετάδοση με ταυτόσημο στον υπότυπο ΗΒV) αλλά δεν είναι δείκτες ιϊκής ισχύος ή χρονιότητας^{131,132}. Η γενετική οργάνωση του φυσικού τύπου ΗΒV-DNA που έχει εξαχθεί από νουκλεοκαψίδιο

του πυρήνα του ιού και κλωνοποιηθεί σε βακτήρια ζύμης (mammalian cell vectors) έχει καθοριστεί¹³³. Το DNA είναι μικρό, σφαιρικό, μερικώς δίκλωνο και μερικώς μονόκλωνο, μήκους περίπου 3200 νουκλεοτιδίων¹³⁴.

Η μεγάλη και η μικρή έλικα είναι γραμμικές, η μεγάλη έχει σταθερό μήκος, ενώ η μικρή μεταβλητό που κυμαίνεται από 50% έως 85% της μεγάλης. Τα 5' και 3' άκρα της μεγάλης έλικας καθώς και το 5' άκρο της μικρής είναι σταθερά, ενώ το 3' άκρο της μικρής έλικας είναι μεταβλητό. Η κυκλική μορφή του γονιδιώματος συντηρείται με την ένωση ζευγών βάσεων στα 5' άκρα και των 2 ελύσεων^{133 135}.

Το γονιδίωμα του HBV έχει 4 μεγάλες ανοικτές περιοχές αναγνώσεως του γονιδιώματος (ORF) που αντιπροσωπεύουν τις περιοχές κωδικοποίησης των ιικών πρωτεϊνών¹³⁶.

Οι περιοχές αυτές είναι οι παρακάτω:

Περιοχή S/pre-S. Είναι υπεύθυνη για την κωδικοποίηση των πρωτεϊνών του ιικού περιβλήματος και διαιρείται σε τρία τμήματα: (α) το γονίδιο S, (β) την περιοχή pre-S1 και (γ) την περιοχή pre-S2. Το γονίδιο S κωδικογραφεί μία σημαντικότερη πρωτεΐνη μήκους 226 αμινοξέων, η οποία σχετίζεται με το αντιγόνο επιφανείας του ιού της ηπατίτιδας Β (HBsAg). Αυτή η πρωτεΐνη υπάρχει σε δύο μορφές, μια γλυκοζυλιωμένη (GP27S) και μία μη γλυκοζυλιωμένη (GP24S).

Η pre-S1, η pre-S2 και το γονίδιο S κωδικογραφούν μια μεγάλη πρωτεΐνη η οποία βρίσκεται σε δύο μορφές, μια γλυκοζυλιωμένη (GP42) και μία μη γλυκοζυλιωμένη (p39s)¹³⁷.

Περιοχή C. Αποτελείται από δύο τμήματα. Από την pre-C περιοχή και το γονίδιο C. Το γονίδιο C κωδικογραφεί την πρωτεΐνη του πυρήνα (p22c). Προϊόντα αυτής της περιοχής είναι δύο πολύ σημαντικές πρωτεΐνες: το αντιγόνο του πυρήνα της ηπατίτιδας Β (HBcAg) και το αντιγόνο e του ιού της ηπατίτιδας Β (HBeAg). Το HBcAg δεν κυκλοφορεί ποτέ ελεύθερο, καθόσον αποτελεί δομικό στοιχείο του πυρήνα του ιού, είναι πάντοτε καλυμμένο από το HBsAg και απαντάται μόνο σε πλήρεις ιούς. Το HBeAg είναι μια πρωτεΐνη σχετικά μικρού ΜΒ (15.000 Daltons) που προέρχεται από την πρωτεολυτική διάσπαση της p22c, αποτελεί στοιχείο του πυρήνα του ιού, σχετίζεται με τον ενεργό πολλαπλασιασμό του και πιθανώς παίζει ρόλο στη σύνδεση του πυρήνα με το φάκελο του ιού.



Η pre-C περιοχή κωδικογραφεί μια υδρόφοβη πρωτεΐνη. Η περιοχή αυτή δεν είναι απαραίτητη για την έκφραση του HBcAg ή του HBeAg. Βοηθά όμως στη σύνδεση του HBcAg στο ενδοπλασματικό δίκτυο των ηπατοκυττάρων και στην αποβολή του HBeAg στην κυκλοφορία¹³⁸⁻¹⁴⁰. Παίζει επίσης ρόλο στην αλληλεπίδραση των HBcAg και HBeAg για το σχηματικό πλήρους ιϊκού σωματιδίου. Ελλείμματα στην pre-C περιοχή χαρακτηρίζουν HBV μεταλλάξεις, που ο ιός είναι ανίκανος να βιοσυνθέσει και να εκκρίνει το HBeAg και πιθανόν παίζουν ρόλο στην ορομετατροπή του HBeAg σε αντίσωμα αντι-HBe¹⁴¹. Το μεγαλύτερο ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης του HBV γενώματος είναι το **γονίδιο P**, που καλύπτει μερικώς τα άλλα γονίδια και κωδικογραφεί μια πρωτεΐνη MB 90.000 Daltons, που είναι η DNA πολυμεράση του HBV. Συγκρίσεις που έγιναν μεταξύ DNA πολυμεράσης του HBV και ανάστροφης μεταγραφάσης των ρετροϊών αποκάλυψαν ότι υπάρχει ομολογία μεταξύ τους. Αυτό στηρίζει την άποψη ότι η DNA πολυμεράση έχει και δράση ανάστροφης μεταγραφάσης¹⁴². Αυτή η άποψη έρχεται σε συμφωνία με τον τρόπο πολλαπλασιασμού του HBV που η ανάστροφη μεταγραφή (reverse transcription) των προγενωμικών RNA μορφών σε γενωμικό DNA είναι πολύ σημαντική για τον πολλαπλασιασμό του ιού.

Αντισώματα έναντι της HBV-DNA πολυμεράσης έχουν ανιχνευθεί κατά καιρούς, η σημασία τους όμως παραμένει άγνωστη.

Το **X γονίδιο** είναι το μικρότερο HBV ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης. Κωδικογραφεί μια πρωτεΐνη, την HBV X πρωτεΐνη (ηπατίτιδας Β Χ αντιγόνο, HBxAg) που περιέχει 154 αμινοξέα και έχει MB 17 kD. Το HBxAg φαίνεται ότι παίζει ρόλο στη ρύθμιση της έκφρασης του HBV. Υπάρχουν ενδείξεις ότι ενισχύει τη μεταγραφή του HBV και άλλων ιώ¹⁴³, επίσης πιθανόν να αποτελεί προαγωγέα (promoter) που ενέχεται στην παθογένεση του πρωτοπαθούς ηπατοκυτταρικού καρκινώματος¹⁴⁴. Άλλες περιοχές του HBV-DNA έχει αναγνωρισθεί ότι έχουν δράση προαγωγέα ή ενίσχυσης λειτουργιών. Δύο προαγωγείς συνδέονται με το γονίδιο S, ένας με το C γονίδιο και ένας με το X^{145,146}.

3.1.2. ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΤΟΥ HBV.

3.1.2.1. Το αντιγόνο επιφανείας του HBV (HBsAg)

Το περίβλημα ή το υλικό της επιφανείας του HBV (HBsAg) συντίθεται ανεξάρτητα από τον πυρήνα του HBV, δεν περιέχει DNA, RNA αντίγραφα, DNA πολυμεράση και δεν έχει δραστηριότητα ανάστροφης μεταγραφάσης. Είναι ανοσογόνο αλλά όχι λοιμογόνο. Το επιφανειακό υλικό ευρίσκεται σε σωματίδια που υπάρχουν στον ορό μολυνθέντων ατόμων

σε 3 ακριβώς ίδιες αντιγονικές μορφές που αναγνωρίζονται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο^{119,121}. Αυτές περιλαμβάνουν το εξωτερικό περίβλημα του άθικτου HBV σωματιδίου, τα σφαιρικά 22 nm σωματίδια και τους σωληνοειδείς σχηματισμούς. Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι 2 τελευταίοι σχηματισμοί (22 nm σωματίδια και σωληνοειδείς σχηματισμοί) αντιπροσωπεύουν υπερβολική σύνθεση υλικού του περιβλήματος από τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα. Ανοσοδραστικό HBsAg έχει ταυτοποιηθεί στα μολυσμένα ηπατοκύτταρα στο κυτταρόπλασμα, στο ενδοπλασματικό δίκτυο παράπλευρα ή όχι στη μεμβράνη των κυττάρων^{147,148}. Επίσης, HBsAg έχει ανιχνευθεί σε εξωηπατικές θέσεις μολυνθέντων με HBV χιμπατζήδων και ανθρώπων^{122,149}. Το HBsAg συντίθεται από πρωτεΐνες (70-80%), υδατάνθρακες (3-8%) και λιπίδια. Τα λιπίδια κυρίως προέρχονται από τα κύτταρα του ξενιστή και συνιστούν το 20-30% του υλικού του αντιγόνου¹⁵⁰. Το κύριο υλικό του HBsAg είναι οι πρωτεΐνες που είναι σε σχηματισμό α-έλικας¹⁵¹.

Αυτές περιλαμβάνουν την κύρια πρωτεΐνη του HBsAg που κωδικογραφείται από το S γονίδιο και έχει 226 αμινοξέα, που κατανέμονται σε σειρά από υδρόφοβες και υδρόφιλες περιοχές. Οι αντιγονικοί καθοριστές που διεγείρουν την παραγωγή προστατευτικού αντισώματος, πιθανότατα αποτελούνται από σειρά αμινοξέων της υδρόφιλης περιοχής.

Δύο άλλες πρωτεΐνες, που όπως αναφέρθηκε κωδικογραφούνται από τις preS1, preS2 περιοχές και το γονίδιο S έχουν βρεθεί στο περίβλημα.

Το HBsAg μπορεί να σχηματίζεται σαν διαμεμβρανικό πολυπεπτίδιο από το ενδοπλασματικό δίκτυο του ηπατοκυττάρου κατά τη διάρκεια της μεταφοράς και πορείας στο ηπατοκύτταρο, και αποκτά από τον ξενιστή λιπίδια, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες. Το HBsAg εκτός από την παρουσία του στο αίμα και τα παράγωγά του έχει βρεθεί ότι υπάρχει και σε πολλά σωματικά υγρά, όπως δάκρυα¹⁵¹, σίελο και σπέρμα¹⁵², αρθρικό υγρό¹⁵³, ούρα και κόπρανα¹⁵⁴, μητρικό γάλα¹⁵⁵ και κολπικές εκκρίσεις¹⁵⁶.

3.1.2.2. Αντιγόνο X (HBxAg)

Όπως ήδη αναφέρθηκε είναι πρωτεΐνη που εκφράζεται κατά τη διάρκεια της HBV λοίμωξης, μπορεί να ευρίσκεται στον ορό μολυσμένων ατόμων και προκαλεί μια αντισωματική απάντηση που έχει συσχετισθεί με ενεργή HBV αναπαραγωγή.

3.1.2.3. Αντιγόνο Core (HBcAg)

Ως γνωστόν, κωδικογραφείται από το γονίδιο C. Το HBcAg δεν κυκλοφορεί ελεύθερο στο αίμα, αποτελεί δομικό στοιχείο του πυρήνα του ιού, είναι δε πάντοτε



καλυμμένο από HBsAg και απαντάται μόνο σε πλήρεις ιούς (σωμάτιο Dane). Δεν μπορούμε με τις συνηθισμένες ορολογικές διαδικασίες να το ανιχνεύσουμε στον ορό. HBcAg και σωματίδια του πυρήνα έχουν βρεθεί χρησιμοποιώντας τεχνικές ανοσοφθορισμού ή ηλεκτρονικό και ανοσοηλεκτρονικό μικροσκόπιο στον πυρήνα και το κυτταρόπλασμα ηπατοκυττάρων που προέρχονται από χρονίως πάσχοντα άτομα^{157,158}. HBcAg επίσης έχει ανιχνευθεί νωρίς στην οξεία φάση της λοίμωξης σε χιμπατζήδες και ανθρώπους^{159,160}.

Επειδή το ανοσολογικό σύστημα αναγνωρίζει το HBcAg και παράγει αντισώματα έναντι αυτού, έχει λεχθεί ότι το HBcAg θα πρέπει να υπάρχει και εξωκυττάρια μερικές φορές κατά τη διάρκεια της λοίμωξης, πιθανόν όταν μολυσμένα ηπατοκύτταρα λύονται ή να εκφράζεται στην κυτταρική μεμβράνη.

3.1.2.4. Αντιγόνο E (HBeAg)

Το αντιγόνο e που συνδέεται με HBV λοίμωξη περιγράφηκε αρχικά από τους Magnius και Espmark¹⁶¹.

Είναι μια διαλυτή και θερμοευαίσθητη πρωτεΐνη χωρίς λιπίδια και υδατάνθρακες, αποτελεί στοιχείο του πυρήνα του ιού, σχετίζεται με τον ενεργό πολλαπλασιασμό του και πιθανόν παίζει ρόλο στη σύνδεση του πυρήνα με το περίβλημα του ιού.

Μολονότι αρχικά μερικοί πίστευαν ότι το HBeAg είναι προϊόν απάντησης τού ξενιστή στον HBV, σήμερα γνωρίζουμε ότι το HBeAg είναι ειδικό προς τον HBV¹⁶². Το HBeAg υπάρχει σε μια κρυπτογενή μορφή στον πυρήνα τους σωματίου του Dane και μπορεί να ελευθερωθεί από τον πυρήνα με επεξεργασία με καθαριστικά¹⁶³. Τρεις διαφορετικοί ανοσολογικοί τύποι του HBeAg έχουν περιγραφεί. Η παρουσία του HBeAg στον ορό συσχετίζεται με τα σωματίδια του Dane και ορός που έχει HBeAg συνήθως έχει HBV-DNA, σωματίδια του Dane που είναι ορατά με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο¹⁶⁴.

Επειδή το σωματίο του Dane φαίνεται ότι είναι το μολυσματικό ιικό σωματίο (virion) δεχόμαστε ότι η παρουσία του e αντιγόνου είναι δείκτης της παρουσίας πλήρους τού ιού και επομένως μολυσματικότητας. Επιπλέον, η παρουσία του HBeAg σε χρόνιους φορείς HBsAg δηλώνει πιο επιθετική ηπατική βλάβη παρά όταν έχουμε την παρουσία αντι-HBe¹⁶⁵, με εξαίρεση τις περιπτώσεις μόλυνσης με μεταλλαγμένα στελέχη στην προπυρηνική (precore) περιοχή. Επιπλέον, η παραμονή του HBeAg για 8 εβδομάδες μετά την είσοδο των συμπτωμάτων στην οξεία φάση της νόσου προδιαθέτει για χρονιότητα.



Το ΗΒεΑg ευρίσκεται συνήθως μόνο στον ορό ατόμων θετικών για ΗΒsΑg. Έχουν αναφερθεί πολύ σπάνιες περιπτώσεις ασθενών που είχαν ΗΒεΑg ενώ το ΗΒsΑg ήταν αρνητικό, υπήρχαν όμως άλλοι δείκτες ΗΒV λοίμωξης (αντι-ΗΒc, αντι-ΗΒc+αντι-ΗΒs)¹⁶⁶. Επίσης, παρουσία ΗΒεΑg χωρίς ΗΒsΑg έχει βρεθεί στο φλεβικό αίμα νεογέννητων από μητέρες θετικές για ΗΒsΑg και ΗΒεΑg. Σ' αυτή την περίπτωση το ΗΒεΑg φαίνεται ότι διέρχεται από τον πλακούντα ενώ το ΗΒsΑg όχι¹⁶⁷.

3.1.2.5. Αντι-ΗΒc

Αναπτύσσεται κανονικά κατά τη διάρκεια της οξείας ΗΒV λοίμωξης και συνήθως ανιχνεύεται στον ορό λίγο πριν ή συγχρόνως με την αύξηση στον ορό των αμινοτρανσφερασών¹⁶⁸.

Μολονότι έχει λεχθεί ότι το αντι-ΗΒc μπορεί να προηγείται της εμφάνισης του ΗΒsΑg σε λίγες περιπτώσεις ασθενών, αυτό πρακτικά φαίνεται ασύνηθες. Το αντι-ΗΒc είναι ο πρώτος ανιχνεύσιμος ανοσολογικός δείκτης που δημιουργείται από τον ξενιστή στην ΗΒV λοίμωξη. Παραμένει σ' όλη την οξεία φάση της νόσου και για πολλές δεκαετίες μετά την ανάρρωση (σε χαμηλότερους τίτλους) στους περισσότερους ασθενείς¹⁶⁹.

IgM αντι-ΗΒc μπορεί να είναι ο μόνος ανιχνεύσιμος ορολογικός δείκτης ΗΒV λοίμωξης κατά το διάστημα μεταξύ εξαφάνισης του ΗΒsΑg και εμφάνιση ανιχνεύσιμου αντι-ΗΒs σε οξεία ΗΒV λοίμωξη^{169,170}. Το IgM κλάσμα του αντι-ΗΒc (IgM-αντι-ΗΒc) εμφανίζεται πριν το IgG αντι-ΗΒc. Είναι σε υψηλούς τίτλους κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης της λοίμωξης και παραμένει σε υψηλούς τίτλους μόνο για λίγους μήνες, ενώ είναι ανιχνεύσιμο περίπου για ένα χρόνο¹⁷¹. Σε ασθενείς με οξεία ΗΒV λοίμωξη, ένα 19S IgM αντι-ΗΒc εμφανίζεται σαν επικρατούν κλάσμα, ενώ σε ασθενείς με επιμένουσα λοίμωξη που εξακολουθεί να παραμένει IgM αντι-ΗΒc μια 7S Ig είναι το κύριο κλάσμα^{172,173}.

Το IgG αντι-ΗΒc εμφανίζεται στη διάρκεια της ανάρρωσης, αντικαθιστά το IgM αντίσωμα και είναι υπεύθυνο για την παραμονή του αντι-ΗΒc για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά την οξεία φάση¹⁶⁹.

Στους περισσότερους ασθενείς, μετά την ανάρρωσή τους, ευρίσκεται αντι-ΗΒc με αντι-ΗΒs. Με την πάροδο των χρόνων, ο τίτλος και των δύο μπορεί να μειώνεται και σε ένα μικρό ποσοστό ασθενών το ένα ή σπανιότερα και τα δύο αντισώματα πιθανόν να μην ανιχνεύονται με τις μεθόδους που χρησιμοποιούμε.

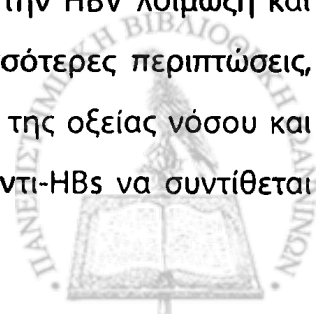


Παρά το γεγονός ότι έχει λεχθεί από μερικούς ερευνητές ότι η ανοσοποίηση του HBsAg μπορεί να οδηγήσει σε προστατευτική ανοσολογική απάντηση μέσω κυτταρικής ανοσίας¹⁷⁴, το αντι-HBc δεν είναι εξουδετερωτικό αντίσωμα και η ανίχνευσή του δεν σημαίνει αναγκαία εξαφάνιση της HBV λοίμωξης. Όλοι οι ασθενείς που έχουν HBsAg θετικό, έχουν κυκλοφορούν αντι-HBc. Η μόνη γνωστή εξαίρεση είναι η λοίμωξη με HBV-2 variant που περιγράφηκε στη Σενεγάλη¹⁷⁵. Επιμένοντες υψηλοί τίτλοι αντι-HBc με απουσία HBsAg ή αντι-HBs πιθανόν να συνδέονται με παρουσία και συνεχιζόμενη αναπαραγωγή του HBV στο ήπαρ. Οροί τέτοιων ασθενών μπορεί να περιέχουν άθικτα HBV σωματίδια με δυνατότητα μετάδοσης νόσου^{176,177}. Όμως, μόνη η παρουσία του αντι-HBc πολλές φορές πιθανόν να είναι ψευδώς θετική αντίδραση που δεν σχετίζεται με HBV λοίμωξη¹⁷⁸.

Αντι-HBe είναι το επόμενο αντίσωμα που εμφανίζεται μετά το αντι-HBc. Δεν αντιδρά με άθικτα HBV σωματίδια, δεν είναι εξουδετερωτικό αντίσωμα και HBV DNA μπορεί να υπάρχει σε ορό ατόμων αντι-HBe θετικών^{179,180} (προπυρηνικά μεταλλαγμένα στελέχη HBV). Τις περισσότερες όμως φορές, η παρουσία αντι-HBe ανιχνεύεται σαν ελεύθερο κυκλοφορούν αντίσωμα στην οξεία φάση της νόσου, συνήθως την 4^η εβδομάδα μετά την είσοδο των συμπτωμάτων^{169,181}. Ανοσοσυμπλέγματα HBeAg - αντι-HBe μπορεί να προηγούνται της εμφάνισης μόνου του αντι-HBe¹⁸¹. Τα ανοσοσυμπλέγματα αυτά έχουν μικρής διάρκειας ζωή, μπορούν όμως να οδηγήσουν στην εμφάνιση εξωηπατικής νόσου, δε μερικά άτομα. Ελεύθερο αντι-HBe μπορεί να επιμένει για αρκετούς μήνες μετά την κάθαρση των HBeAg - αντι-HBe συμπλεγμάτων¹⁸¹.

Αντι-pre-S1 και αντι-pre-S2 IgM και IgG αντισώματα ανιχνεύονται ευκαιριακά νωρίς, όταν η παρουσία του HBsAg κάνει peak, επίσης μπορούν να ανιχνεύονται παράλληλα με το αντι-HBs και πιθανόν να επιμένουν στον ορό για μερικές εβδομάδες. Σε άλλους ασθενείς αντι-pre-S μπορεί προσωρινά να ευρίσκεται στην οξεία φάση της HBV λοίμωξης. Κυκλοφορούν pre-S αντιγόνο συνήθως ελαττώνεται με την παρουσία αντι-pre-S. Ο ρόλος τους στην ανοσοπαθογένεια της HBV λοίμωξης ή των εξωηπατικών εκδηλώσεών της δεν είναι ακόμη καθορισμένος επειδή δεν ανιχνεύονται αυτά τα αντισώματα εξετάσεις ρουτίνας.

Το αντι-HBs είναι το τελευταίο αντίσωμα που εμφανίζεται στην HBV λοίμωξη και συνήθως ανιχνεύεται κατά τη φάση της ανάρρωσης¹⁸². Στις περισσότερες περιπτώσεις, αντι-HBs ανιχνεύεται σε 4 ή περισσότερους μήνες μετά την είσοδο της οξείας νόσου και εβδομάδες ή μήνες μετά την εξαφάνιση του HBsAg. Πιθανόν το αντι-HBs να συντίθεται



νωρίτερα στην πορεία της οξείας HBV λοίμωξης. Κυκλοφορούντα άνοσα συμπλέγματα, HBsAg και αντι-HBs μπορούν να ανιχνεύονται στο τέλος του χρόνου επώασης και νωρίς στην οξεία φάση της νόσου^{183,184}. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, αντι-HBs δεν ανιχνεύεται σαν ελεύθερο κυκλοφορούν αντίσωμα επειδή το HBsAg παράγεται σε περίσσεια.

Το αντι-HBs είναι εξουδετερωτικό, προστατευτικό αντίσωμα. Αντιδρά με HBsAg στην επιφάνεια άθικτων HBV σωματιών (σωμάτιο Dane) και με το HBsAg που ευρίσκεται υπό μορφή σωληνοειδών σχηματισμών και σφαιρικών σωματιδίων 22 nm. Ανοσοσφαιρίνη που περιέχει υψηλούς τίτλους αντι-HBs και εμβόλιο που διεγείρει την παραγωγή αντι-HBs διατίθενται για προφύλαξη από HBV λοίμωξη.

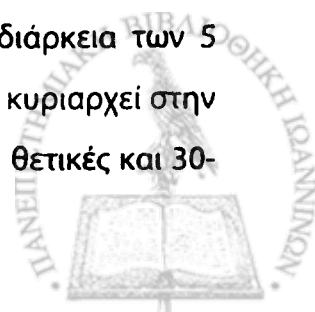
Το αντι-HBs ευρίσκεται κυρίως σε IgM και IgG κλάσματα στον ορό και IgA στις εκκρίσεις¹⁸⁵. Το IgM αντι-HBs διαρκεί λίγο, ενώ το IgG αντι-HBs παραμένει για μεγάλη χρονικό διάστημα. Η εμφάνιση του αντι-HBs συνήθως δηλώνει εξαφάνιση της λοίμωξης και εμφάνιση ανοσίας¹⁶⁹. Ασθενείς που έχουν ήδη αναπτύξει αντι-HBs είναι συνήθως ανθεκτικοί σε αναμόλυνση και όταν έλθουν ξανά σε επαφή με τον ιό αναπτύσσουν αναμνηστική ανοσολογική απάντηση που έχουμε αύξηση του τίτλου του αντι-HBs χωρίς άλλη ορολογική, βιοχημική ή κλινική ένδειξη της λοίμωξης^{186,187}. Η εμφάνιση αντι-HBs χωρίς να προϋπάρχει HBsAg ή αντι-HBs δείχνει ανοσοποίηση που ακολουθεί έκθεση σε HBsAg και σ' αυτό στηρίζεται ο ενοφθαλμισμός του HBsAg στα εμβόλια του HBV και δεν έχουμε ιϊκή αναπαραγωγή.

3.2. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ – ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

3.2.1. Ενδημικότητα – Τρόποι μετάδοσης HBV λοίμωξης

Υπολογίζεται ότι υπάρχουν περίπου 350.000.000 φορείς του HBV σε όλο τον κόσμο. Ο επιπολασμός της HBV λοίμωξης ποικίλλει στις διάφορες περιοχές του κόσμου (Πίνακας 2).

Στις περιοχές με υψηλή ενδημικότητα, η μετάδοση είναι συνήθως κάθετη από τις μητέρες στα νεογνά ή οριζόντια από τους γονείς στα παιδιά κατά τη διάρκεια των 5 πρώτων χρόνων της ζωής. Ειδικότερα, η κάθετη μετάδοση κατά τον τοκετό κυριαρχεί στην Ασία καθώς 5-12% των γυναικών της αναπαραγωγικής ηλικίας είναι HBsAg θετικές και 30-



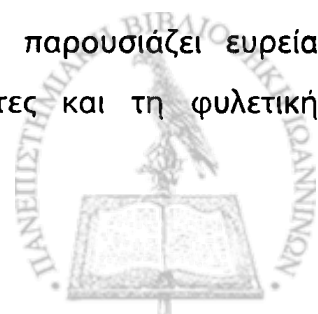
50% από αυτές έχουν υψηλά επίπεδα ιαιμίας (HBeAg και HBV DNA στον ορό^{189,190}. Οι λοιμώξεις της περιγεννητικής περιόδου ευθύνονται για το ένα τέταρτο περίπου των χρονίων HBV λοιμώξεων σ' αυτές τις περιοχές. Η οριζόντια μετάδοση κατά τα πρώτα 5 χρόνια της ζωής των παιδιών κυριαρχεί σε άλλες περιοχές, όπως Αφρική, Μ. Ανατολή, Αλάσκα, όπου <20% των HBsAg θετικών μητέρων είναι και HBeAg θετικές¹⁹¹. Η μετάδοση του HBV μπορεί να γίνει και από πηγές έξω από την οικογένεια, που ίσως ευθύνονται μέχρι και για το 50% του συνόλου των λοιμώξεων.

Πίνακας 2. Παγκόσμια διασπορά της HBV λοίμωξης¹⁸⁸ με διαθέσιμα στοιχεία μέχρι το 1991.

Ενδημικότητα			
Επιπολασμός	Χαμηλή	Ενδιάμεση	Υψηλή
HBsAg	< 2%	2-7%	8-15%
αντι-HBs	<20%	20-60%	> 60%
Κατανομή	B. Αμερική	A. Ευρώπη	N.A. Ασία
	Δ. Ευρώπη	N. Ευρώπη	Κίνα
	Αυστραλία	Πρώην Σοβ. Ένωση	Φιλιππίνες
	N. Ζηλανδία	Κεντρική Ασία	Ινδονησία
	N. Αμερική (νοτίως)	Ιαπωνία	Μέση Ανατολή
		Ισραήλ	Αφρική
		N. Αμερική (βορείως)	Αμαζόνιος
			Νησιά Ειρηνικού
			Αρκτική (Εσκιμώοι)

Σε περιοχές με ενδιάμεση ενδημικότητα η μετάδοση μπορεί να συμβεί σε οποιαδήποτε ηλικία και έχουμε μεγαλύτερη συχνότητα σε παιδιά σχολικής ηλικίας, εφήβους και νεαρούς ενήλικες.

Η συχνότητα της HBV λοίμωξης σ' αυτές τις περιοχές παρουσιάζει ευρεία διακύμανση εξαρτώμενη από κοινωνικοοικονομικούς παράγοντες και τη φυλετική προέλευση.

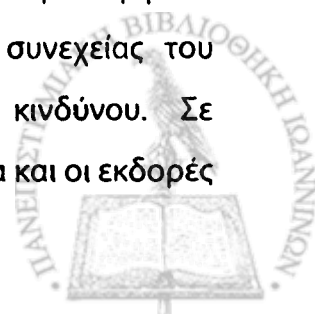


Στις ανεπτυγμένες χώρες με χαμηλή ενδημικότητα η μετάδοση της νόσου γίνεται κυρίως μεταξύ ενηλίκων που ανήκουν σε ομάδες υψηλού κινδύνου όπως ομοφυλόφιλοι, χρήστες IV ναρκωτικών, ερωτικοί σύντροφοι ασθενών με οξεία HBV ή φορέων HBsAg, οι εργαζόμενοι σε επαγγέλματα υγείας, πολυμεταγγιζόμενοι και αμορροφιλικοί (πολύ μειωμένος σήμερα ο κίνδυνος), αιμοκαθαρόμενοι, ασθενείς που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση οργάνου, τρόφιμοι και προσωπικό ιδρυμάτων πνευματικά καθυστερημένων, φυλακισμένοι και προσωπικό των φυλακών (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Τρόποι μετάδοσης HBV.

- ◆ Σεξουαλική επαφή (ομοφυλόφιλες ή ετεροφυλόφιλες σχέσεις)
- ◆ Περιγεννητικά (κύηση ή τοκετός)
- ◆ Μεταγγίσεις αίματος
- ◆ Μεταγγίσεις παραγώγων αίματος (παράγοντας VIII, X, ινωδογόνο)*
- ◆ Αιμοκάθαρση
- ◆ IV χρήση ναρκωτικών (χρήση ίδιας βελόνας)
- ◆ Τραυματισμοί από βελόνες ή άλλης φύσης λύσεις της συνέχειας του δέρματος (εργαζόμενοι σε υγειονομικά επαγγέλματα).
- ◆ Πρακτικές που τραυματίζεται το δέρμα (τατουάζ, τρύπημα αυτιών, μανικιούρ).

Στις ΗΠΑ υπάρχουν ενδείξεις ότι η HBV λοίμωξη έχει μειωθεί τελευταία μεταξύ αρρένων ομοφυλοφίλων και εργαζομένων σε υγειονομικά επαγγέλματα¹⁸⁸, λόγω ασφαλέστερων σεξουαλικών πρακτικών και αυξημένης χρήσης εμβολίων κατά του HBV. Αυξάνει όμως η συχνότητα μεταξύ ετεροφυλοφίλων με πολλούς σεξουαλικούς συντρόφους και χρηστών IV ναρκωτικών ουσιών. Στο χώρο της υγείας, κύρια οδός μόλυνσης είναι οι τραυματισμοί από βελόνες και αιχμηρά όργανα. Οι οδοντίατροι και οι γναθοχειρουργοί έχουν υψηλό κίνδυνο μόλυνσης όταν δεν προφυλάσσονται¹⁹². Η παρουσία του HBV στο σιέλο είναι τεκμηριωμένη, γεγονός που δείχνει ότι η επαφή του μολυσμένου σιέλου με τους οφθαλμούς (επιπεφυκότες) ή με λύσεις συνέχειας του δέρματος, όταν δεν χρησιμοποιούνται γάντια, είναι παράγοντας κινδύνου. Σε εργαζόμενους που έχουν τη φροντίδα ψυχιατρικών ασθενών, τα δαγκώματα και οι εκδορές



αποτελούν πρόσθετο κίνδυνο. Επίσης, η μόλυνση επιφανειών με HBsAg και HBeAg με αίμα έχει βρεθεί ότι διαρκεί επί εβδομάδες^{192,193}. Δεν έχει αποδειχθεί η μετάδοση του ιού με την κοπρανοστοματική οδό, όπως και με τυχαίες επαφές, άγγιγμα, αγκάλιασμα, φιλία, χρήση ίδιας πετσέτας, οικιακών σκευών, μαχαιροπήρουνων ή φαγητών¹⁹⁴.

3.2.1.1. HBV. Μετάγγιση και Μεταμόσχευση

Η ευρεία εφαρμογή ευαίσθητων μεθόδων για ανίχνευση HBsAg και η απόρριψη των θετικών αιμοδοτών, ελάττωσε την συχνότητα της μετά μετάγγιση Β ηπατίτιδας στη δεκαετία του 1970. Επιπλέον, η αντικατάσταση των πληρωμένων αιμοδοτών με εθελοντές, ελάττωσε ακόμη περαιτέρω την ηπατίτιδα Β μετά μετάγγιση, όπως και την ηπατίτιδα C. Για παράδειγμα, η συχνότητα συνολικά των ηπατιτίδων σε πληθυσμό με 53% πληρωμένους δότες, ήταν 20.1/1.000 μεταγγιζόμενες μονάδες, ενώ όταν όλοι οι αιμοδότες ήταν εθελοντές αιμοδότες, η συχνότητα έπεσε στο 3.7/1.000 μεταγγιζόμενες μονάδες¹⁹⁵. Πειράματα σε ανθρώπους και χιμπατζήδες έδειξαν ότι το αίμα μπορεί να είναι ισχυρά μολυσματικό για HBV. Μια αραιώση μολυσμένου ορού σε 10^{-7} προκάλεσε λοίμωξη σε 2 εθελοντές λήπτες¹⁹⁶. Η χορήγηση μιας μονάδας αίματος με θετικό HBsAg που περιέχει μεγάλη λοιμογόνο δόση, μπορεί να υπερκαλύψει την παρουσία αντι-HBs (ανοσία), όπως έχει δειχθεί σε ανθρώπους και χιμπατζήδες και να εκδηλωθεί HBV λοίμωξη¹⁹⁷. Επίσης, δξν αναπτύσσουν HBV λοίμωξη όλα τα άτομα που μεταγγίζονται με αίμα που είναι HBsAg θετικό¹⁹⁸. Μολονότι αίμα που περιέχει HBsAg μπορεί να είναι μη μολυσματικό για HBV, αίμα που είναι αρνητικό στο HBsAg και στο αντι-HBs αλλά θετικό για αντι-HBc ενοχοποιείται για μετά μετάγγιση ηπατίτιδα, ιδιαίτερα αν συνυπάρχει IgM αντι-HBc¹⁶⁸. Το αίμα αυτό μπορεί να περιέχει ποσότητα HBsAg σε επίπεδα κάτω από εκείνα που μπορούν να ανιχνεύσουν και οι πιο ευαίσθητες δοκιμασίες, σε συνδυασμό όμως με επαρκή ποσότητα λοιμογόνων ιϊκών σωματιδίων (virions) μπορούν να προκαλέσουν λοίμωξη. Δεν είναι γνωστό αν κάθε αίμα με τέτοια ορολογικά ευρήματα είναι αιτία HBV λοίμωξης, αλλά η μετάδοση με την μετάγγιση είναι πιο πιθανή, λόγω της μεγάλης ποσότητας αίματος που χορηγείται, σε σχέση π.χ. με τρύπημα με βελόνα. Για να έχουμε ένα HBsAg θετικό αποτέλεσμα με τις διαγνωστικές μεθόδους που εφαρμόζονται, χρειάζεται ένα ελάχιστο ποσό των 10^9 22 nm σωματιδίων/ml¹⁹⁹. Ότι μια χρόνια κατάσταση χαμηλού βαθμού HBV φορείας (HBsAg αρνητικό, αντι-HBc θετικό, αντι-HBs αρνητικό) υπάρχει, έχει δειχθεί από τον Ackerman και συν²⁰⁰. Έχει υπολογιστεί ότι έλεγχος όλων των αιμοδοτών για αντι-HBc και απόρριψη των θετικών θα

μειώνει την μετά μετάδοση ηπατίτιδα κάθε τύπου στις ΗΠΑ περίπου 6% και θα ελάττωνε την δεξαμενή αίματος κατά 5%²⁰¹. Αυτό βέβαια για χώρες με χαμηλή ενδημικότητα ενώ σε περιοχές υψηλής και μέσης ενδημικότητας, η απώλεια θα είναι μεγαλύτερη.

Σε χώρες που έχουν υψηλή ενδημικότητα της HBV λοίμωξης, 30% των αιμοδοτών που έχουν αντι-HBc σαν μοναδικό δείκτη HBV λοίμωξης, έχουν στοιχεία χρόνιας λοίμωξης, δηλ. έχουν ανιχνεύσιμο HBV-DNA στον ορό των αιμοδοτών²⁰². Στην Ταϊβάν, όπου το 15-20% του πληθυσμού είναι HBsAg θετικοί, περίπου 4% των αιμοδοτών παρουσιάζει χαμηλούς τίτλους HBV που ανιχνεύονται μόνο με PCR²⁰³. Σε χώρες με χαμηλή ενδημικότητα δεν μπόρεσε να αποδειχθεί τέτοια συσχέτιση^{204,205}.

Αίμα που περιέχει αντι-HBc και αντι-HBs θεωρείται μη μολυσματικό υλικό. Δεν έχει φανεί σημαντική αύξηση στην εμφάνιση HBV ή μη HBV ηπατίτιδας σε άτομα που έλαβαν αίμα αντι-HBs θετικό, συγκρινόμενα με εκείνα που έλαβαν αντι-HBs αρνητικό²⁰⁶. Επίσης, αίμα που λαμβάνεται την περίοδο πριν γίνει αντιληπτό το HBsAg μπορεί να είναι επίσης μολυσματικό ενώ, HBsAg, αντι-HBc και αντι-HBs να είναι όλα αρνητικά²⁰⁷.

Μετρίου κινδύνου για τη μετάδοση ηπατίτιδων παράγωγα αίματος είναι το ολικό αίμα, τα συμπυκνωμένα, πλυμένα ή κατεψυγμένα ερυθρά, το φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα (FFP), τα αιμοπετάλια από ένα δότη, τα λευκοκύτταρα από ένα δότη, το κρύο καθίζημα από ένα δότη.

Αυξημένου κινδύνου για μετάδοση ηπατίτιδων είναι το σύμπλεγμα του παράγοντα IX, ο αντιαιμοφιλικός παράγων VIII, αιμοπετάλια από πολλούς δότες.

Σαν ασφαλή θεωρούνται οι αλβουμίνη, η ανοσοσφαιρίνη (πολύ σπάνια έχει αναφερθεί να μετάδωσε HBV²⁰⁸) και η υπεράνοση σφαιρίνη (για προφύλαξη από ηπατίτιδα B και προφύλαξη από RhD ευαισθητοποίηση), επειδή κατεργάζονται σε υψηλή θερμοκρασία 60 °C για 10 ώρες ή παρασκευάζονται με κλασματοποίηση κατά Cohn.

Η μετάδοση του HBV με μεταμόσχευση μολυσμένου οργάνου είναι γνωστή και θα πρέπει να γίνεται από πριν έλεγχος του δότη.

3.2.1.2. Κίνδυνος Οξείας Ηπατίτιδας B

Ο κίνδυνος εμφάνισης οξείας ηπατίτιδας B σε άτομο που έρχεται σε επαφή με μολυσμένο αίμα ή άλλα σωματικά υγρά ποικίλλει ανάλογα με το ποσό της μολυσματικής δόσης και την μολυσματικότητα του φορέα που εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις του ιού



στο πλάσμα που μπορεί να ποικίλλουν από $< 10^8$ ιϊκών σωματιδίων (virions) έως πάνω από 10^8 virions/ml πλάσματος.

Από διάφορες μελέτες έχει βρεθεί ότι 16-40% των σεξουαλικών συντρόφων ατόμων με κλινική ή υποκλινική χρόνια ηπατίτιδα Β θα αποκτήσουν λοίμωξη αν και χρειάζεται κάποια λύση της συνέχειας των βλεννογόνων για να έχουμε μετάδοση με την σεξουαλική οδό^{209,210}. Τα άτομα που έρχονται σε επαφή με σωματικά υγρά ή αίμα ατόμων ΗΒεΑg θετικών έχουν 3-4πλάσια πιθανότητα ανάπτυξης οξείας ηπατίτιδας Β απ' όσα μολύνονται με ΗΒεΑg αρνητικό αίμα (επειδή έχουμε μεγαλύτερη συγκέντρωση του ιού)⁷³.

3.2.1.3. Κίνδυνος Μετάπτωσης σε Χρόνια Ηπατίτιδα Β

Ο κίνδυνος του να παραμείνει το ΗΒsΑg μετά την οξεία λοίμωξη εξαρτάται από την ηλικία κατά το χρόνο προσβολής. Παρατηρείται μετάπτωση της οξείας Β σε χρόνια στο 5-10% των ενηλίκων. Κάτω του 2% των οξέων ικτερικών μορφών ηπατίτιδων Β των ενηλίκων μεταπίπτουν σε χρόνιες.

Στα παιδιά, η ανάπτυξη χρόνιας ηπατίτιδας σχετίζεται κατά αντίστροφο τρόπο με την ηλικία του κατά το χρόνο μόλυνσης¹⁶⁷. Οι άνδρες γίνονται συχνότερα χρόνια φορείς από τις γυναίκες. Επίσης, ιδιαίτερο κίνδυνο για μετάπτωση σε χρονιότητα διατρέχουν άτομα με ανοσοκαταστολή²¹¹, νεφροπαθείς αιμοκαθαρόμενοι, μεταμοσχευμένοι, παιδιά με σύνδρομο Down, λευχαιμικοί και ομοφυλόφιλοι με HIV λοίμωξη²¹².

3.3. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ - ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Ο ΗΒV δεν θεωρείται άμεσα κυτταροτοξικός²¹³. Οι παράγοντες που οι αλληλεπιδράσεις τους θεωρείται ότι καθορίζουν την τύχη της μόλυνσης από ΗΒV, περιλαμβάνουν αφενός μεν την συμπεριφορά του ιού (προσκόλληση στα ηπατοκύτταρα, αναπαραγωγή, σύνθεση και έκφραση ιϊκών πρωτεϊνών στην επιφάνεια του ηπατοκυττάρου) και αφετέρου την ανοσολογική απάντηση προς τον ΗΒV, που εκφράζεται κυρίως με τη δράση φυσικών φονικών κυττάρων (NK) και κυτταροτοξικών Τ λεμφοκυττάρων (TC) που αναγνωρίζουν και καταστρέφουν ηπατοκύτταρα στην επιφάνεια των οποίων εκφράζονται ΗΒV αντιγόνα (ΗΒcΑg, ΗΒεΑg) σε συνδυασμό με αντιγόνα τάξης Ι του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας που η έκφρασή τους ενισχύεται από τις ιντερφερόνες²¹⁴. Ο ΗΒV έχει βρεθεί σε λευκοκύτταρα μολυσμένων ατόμων, γεγονός που

κάνει σοβαρή την υπόθεση ότι πριν προσβληθεί το ήπαρ, πιθανόν να γίνεται ο πολλαπλασιασμός του σ' αυτά τα κύτταρα.

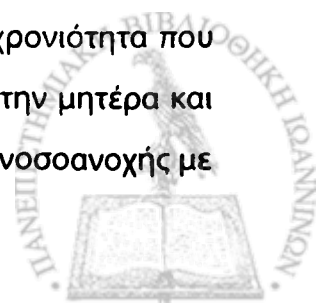
Έχει βρεθεί επίσης, ότι η επαφή του HBV με τα ηπατοκύτταρα, γίνεται με τη βοήθεια μιας πολυμερισμένης αλβουμίνης του ανθρώπινου ορού της pH 5A, που αντιδρά με προϊόντα του rge-S2 από τη μια μεριά και από την άλλη με τον υποδοχέα της pH 5A που βρίσκεται στα ηπατοκύτταρα^{136,215}.

Μετά την προσκόλληση του HBV στα ηπατοκύτταρα με ενδοκύττωση εισάγεται σ' αυτά. Απομακρύνεται το περίβλημα του ιού από τον πυρήνα, απελευθερώνεται το γενετικό υλικό του ιού που κατευθύνεται στον πυρήνα του ηπατοκυττάρου. Μετά την είσοδό του στον πυρήνα, μετατρέπεται σε πλήρες κυκλικό διπλής έλικας. Το DNA του HBV που ήδη αναφέρθηκε έχει ένα μοναδικό τρόπο πολλαπλασιασμού. Απαιτεί τη δράση μιας **ανάστροφης μεταγραφάσης** που κωδικογραφείται από τον ίδιο τον HBV και έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με την DNA πολυμεράση του ιού. Αυτή μεταγράφει το γενωμικό DNA του ιού από ένα ενδιάμεσο RNA. Έτσι, αρχίζει η συναρμολόγηση νέων ιών. Τα ηπατοκύτταρα μετατρέπονται σε τόπο παραγωγής νέων ιών. Στον πυρήνα των ηπατοκυττάρων παράγεται το DNA του ιού, ενώ στο κυτταρόπλασμα συντίθενται οι πρωτεΐνες της επιφάνειας του ιού. Η σύνθεση του πλήρους ιού γίνεται στο κυτταρόπλασμα με την προσθήκη του περιβλήματος. Οι νέοι ιοί μετά τη συναρμολόγησή τους εξέρχονται από το ηπατοκύτταρο μέσω της κυτταροπλασματικής του μεμβράνης και είναι έτοιμοι να μολύνουν νέα κύτταρα.

Η ανοσολογική απάντηση του ξενιστή θεωρείται ότι ευθύνεται για τη δημιουργία ηπατοκυτταρικής βλάβης, την «κάθαρση» του HBV ή την ανάπτυξη μεταλλαγμένων μορφών του.

Κατά την αρχική περίοδο της οξείας HBV λοίμωξης στην κυκλοφορία υπάρχουν πλήρεις ιοί, HBsAg και HBeAg ενώ οι ηπατικές δοκιμασίες είναι φυσιολογικές γιατί δεν έχει αρχίσει ακόμη η ηπατική βλάβη. Αυτή αρχίζει όταν αναπτυχθεί από τον ξενιστή ισχυρή ανοσολογική απάντηση, χυμική και κυτταρική. Η χυμική ανοσολογική απάντηση κατευθύνεται κυρίως έναντι των πρωτεϊνών του ιού HBsAg, HBeAg και HBeAg ενώ η κυτταρική έναντι των μολυσμένων από τον HBV κυττάρων.

Στα νεογνά, η ανοσολογική απάντηση δεν είναι μειωμένη (επαρκής ανταπόκριση σε εμβολιασμούς) γεγονός που δεν ερμηνεύει την αυξημένη μετάπτωση σε χρονιότητα που έχουμε στην ηλικία αυτή. Υποστηρίζεται ότι το HBeAg, προερχόμενο από την μητέρα και μεταβιβαζόμενο στο έμβρυο μέσω του πλακούντα, εγκαθιστά κατάσταση ανοσοανοχής με



αποτέλεσμα μη ενεργοποίηση των Τ λεμφοκυττάρων από την παρουσία ιικών αντιγόνων στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων²¹⁶.

Μετά την νεογνική περίοδο, οι μηχανισμοί που ευνοούν την χρόνια εξέλιξη είναι ασαφείς. Πιθανόν να ευθύνονται ανεπαρκής παραγωγή ιντερφερόνη και η ετερογένεια του HBV, με επιλογή μεταλλαγμένων μορφών ικανών να αποφύγουν εξουδετέρωση από το ανοσολογικό σύστημα του ξενιστή²¹⁷.

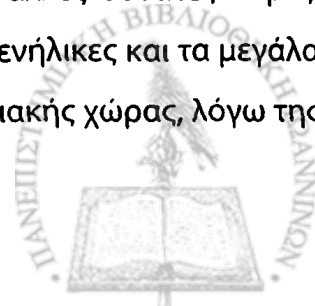
3.4. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ HBV

3.4.1. Οξεία Ηπατίτιδα Β

Τα συμπτώματα της οξείας ιογενούς ηπατίτιδας είναι σε γενικές γραμμές παρόμοια, ανεξάρτητα από τον υπεύθυνο ιό²¹⁷. Ο **χρόνος επώασης** κυμαίνεται τυπικά από 45-90 ημέρες, αλλά μπορεί να φθάσει και 180 ημέρες. Επώαση μικρότερη των 35 ημερών ή μεγαλύτερη των 150 ημερών είναι ασυνήθιστο φαινόμενο. Μπορεί να οφείλεται στην ποσότητα του ιού με την οποία μολύνθηκε ο ασθενής και την οδό μόλυνσης, π.χ. μετάγγιση μολυσμένου αίματος επιταχύνει το χρόνο επώασης ή όταν έχουμε ταυτόχρονη χορήγηση υπερανόσου γ-σφαιρίνης παρατείνεται ο χρόνος επώασης. Οι ασθενείς μπορεί να είναι εντελώς ασυμπτωματικοί ή να παρουσιάζουν μόνο ήπια γαστρεντερικά συμπτώματα, είναι όμως δυνατόν να αναπτύξουν ακόμη και σοβαρή, απειλητική για τη ζωή, κεραυνοβόλο ηπατίτιδα.

3.4.2. Πρόδρομη φάση

Η πρόδρομη ή προϊκτερική φάση διαρκεί από μερικές ημέρες έως περισσότερο από μια εβδομάδα και προηγείται της εκδηλώσεως του ίκτερου. Στη φάση αυτή, περισσότερο από 50% των ασθενών εμφανίζει ελαφρό πυρετό, κόπωση, μυαλγία, ανορεξία, ναυτία και εμέτους. Η ανορεξία είναι ένα από τα πιο συχνά συμπτώματα και η παρουσία μόνο της τροφής προκαλεί αηδία, συνήθως τις απογευματινές ώρες. Αυτό οδηγεί σε απώλεια βάρους 2-4 κιλών. Επίσης, απέχθεια για κάπνισμα και άλλες δυνατές οσμές. Δυσκοιλιότητα ή διάρροια εμφανίζεται στο 1/4 των ασθενών. Στους ενήλικες και τα μεγάλα παιδιά παρατηρείται κάποιος πόνος στο άνω τεταρτημόριο της κοιλιακής χώρας, λόγω της ηπατομεγαλίας που προηγείται του ίκτερου (1 έως 2 εβδομάδες).



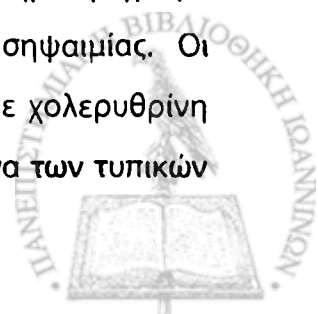
3.4.3. Ικτερική φάση

Τα ούρα γίνονται σκουρόχρωμα καφέ στους περισσότερους ασθενείς με ίκτερο και αυτό συμβαίνει μία ή μερικές ημέρες πριν την εμφάνιση του ίκτερου στα μάτια ή το δέρμα. Η εμφάνιση του ίκτερου στα μάτια προηγείται και ακολουθούν οι βλεννογόνοι και το δέρμα. Παροδικός και ήπιος κνησμός εμφανίζεται στους μισούς ικτερικούς ασθενείς. Αποχρωματισμός των κοπράνων παρατηρείται την πρώτη εβδομάδα του ίκτερου σε 20-40% των ασθενών με ίκτερο. Η επανεμφάνιση φυσιολογικών κοπράνων είναι σημείο ανάρρωσης. Στους περισσότερους ασθενείς, αυτό εμφανίζεται κατά τη διάρκεια της δεύτερης ή τρίτης εβδομάδας της νόσου.

Με την εμφάνιση του ίκτερου, τα συμπτώματα μειώνονται και η θερμοκρασία του ασθενούς επανέρχεται στο φυσιολογικό. Το ήπαρ είναι ψηλαφητό σε 70% των ασθενών και ο σπλήνας σε 20%²¹⁷. Η ικτερική φάση διαρκεί 1 έως 4 εβδομάδες (λιγότερο στα παιδιά) και ακολουθεί ανάρρωση κατά τη διάρκεια της οποίας μπορεί για μερικές εβδομάδες να παραμένει η κόπωση.

3.4.4. Κεραυνοβόλος Ηπατίτιδα Β

Με τον όρο αυτό περιγράφεται η κλινική εικόνα της οξείας ηπατίτιδας που οδηγεί σε ηπατική ανεπάρκεια που εκδηλώνεται με εγκεφαλοπάθεια, σοβαρή υποπροθρομβιναιμία και συχνά θάνατο. Μαζική ή λιγότερο μαζική ηπατική νέκρωση είναι η υποκείμενη βλάβη. Τα συμπτώματα της κεραυνοβόλου ηπατίτιδας μπορεί να είναι παρόντα από την έναρξη της νόσου ή να αναπτυχθούν ύπουλα. Σπάνια ο θάνατος εμφανίζεται πριν εμφανισθεί ίκτερος. Περίπου οι μισές θανατηφόρες περιπτώσεις υποκύπτουν μέσα σε 10 ημέρες από την έναρξη των συμπτωμάτων και 3/4 των ασθενών πεθαίνουν σε 3 εβδομάδες²¹⁸. Σημεία κινδύνου είναι υπερευερευθιστικότητα, αϋπνία, νύστα, ελαττωμένη διανοητική λειτουργία, σοβαροί έμετοι. Στην κεραυνοβόλο ηπατίτιδα αυτά ακολουθούνται από βύθισμα, σύγχυση και κώμα. Μπορεί να παρουσιασθεί ενδοαγγειακή πήξη και γαστρεντερική αιμορραγία. Πυρετός εμφανίζεται στους περισσότερους ασθενείς με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα στην αρχική φάση της νόσου, ενώ σε προχωρημένη έχουμε υποθερμία. Σε 10-20% των ασθενών αυτών έχουμε την εμφάνιση σηψαιμίας. Οι περισσότεροι ασθενείς με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα είναι βαθιά ικτερικοί με χολερυθρίνη >40 mg/dl. Τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών δεν διαφέρουν από εκείνα των τυπικών



ηπατιτίδων. Σε πολλές περιπτώσεις σχεδόν φυσιολογικές τιμές ευρίσκονται λίγες ημέρες πριν το θάνατο. Σε ποσοστό 50% περίπου των περιπτώσεων που καταλήγουν σε θάνατο, η κύρια αιτία θανάτου είναι η ανάπτυξη μη αναστρέψιμου εγκεφαλικού οιδήματος²¹¹. Η εμφάνιση της κεραυνοβόλου ηπατίτιδας Β είναι ασυνήθης και εμφανίζεται περίπου στο 1% των ασθενών με οξεία συμπτωματική HBV λοίμωξη²¹⁹. Τα προπυρηνικά μεταλλαγμένα στελέχη του HBV σχετίζονται συχνότερα με την εμφάνιση κεραυνοβόλου ηπατίτιδας, παρά τα φυσικά στελέχη του ιού²²⁰.

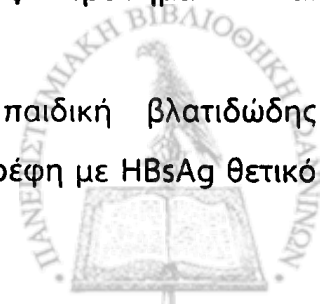
Οι χρήστες IV ναρκωτικών ουσιών και οι σεξουαλικοί τους σύντροφοι έχουν υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης κεραυνοβόλου ηπατίτιδας, ενώ ο κίνδυνος φαίνεται να είναι ελαφρώς υψηλότερος στις γυναίκες από τους άνδρες²²¹. Τα ποσοστά επιβίωσης κυμαίνονται στα διάφορα μέρη του κόσμου από 12 έως 36%²¹¹.

Σε 15-21% των περιπτώσεων δεν ανιχνεύεται HBsAg⁹² και από μελέτες έχει δειχθεί ότι ποσοστό επιβίωσης των HBsAg αρνητικών ασθενών είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερο από των HBsAg θετικών²²². Στις περισσότερες περιπτώσεις κεραυνοβόλου HBV, το HBV δεν ανιχνεύεται στον ορό, γεγονός που σημαίνει απουσία ιϊκού πολλαπλασιασμού²¹¹. Η συλλοίμωξη με τον HDV αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης κεραυνοβόλου νόσου. Η παθογένεση της νόσου δεν είναι πλήρως γνωστή. Παράγοντες από τον ξενιστή φαίνεται να είναι σημαντικοί, αλλά ο ακριβής μηχανισμός που εικάζεται ότι είναι ανοσολογικός δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί.

3.4.5. Εξωηπατικές Εκδηλώσεις της HBV Λοίμωξης

Παρατηρούνται σε ποσοστό 10-20% των ασθενών. Παροδικό ερύθημα μπορεί να εμφανισθεί σε μικρό αριθμό ασθενών. Πιο συχνό είναι το κηλιδώδες αλλά μερικές φορές έχουμε και βλατιδώδες ερύθημα. Ουρτικάρια είναι σπάνια, συνήθως εμφανίζονται στην προϊκτερική φάση και μπορεί να συνοδεύει άλλες εξωηπατικές εκδηλώσεις, όπως αρθρίτιδα. Εναπόθεση ανόσων συμπλεγμάτων αντιγόνων-αντισωμάτων του HBV (π.χ. HBsAg - αντι-HBs) σε αγγεία του δέρματος φαίνεται ότι είναι υπεύθυνη για την κατάσταση αυτή²²³. Αγγειοοίδημα, φαινόμενο Raynaud's και εμφράξεις στα άκρα των δακτύλων είναι σπάνιες εκδηλώσεις²²⁴. Σπάνια έχουν περιγραφεί οζώδες ερύθημα²²⁵ και δερματομυοσίτιδα²²⁶.

Μια ασυνήθιστη δερματική βλάβη που ονομάζεται παιδική βλατιδώδης ακροδερματίτιδα ή σύνδρομο Gianotti-Crosti έχει περιγραφεί σε βρέφη με HBsAg θετικό



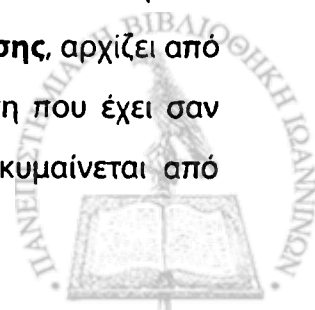
και νεαρά παιδιά, αλλά δεν είναι ειδικό για HBV λοίμωξη. Χαρακτηρίζεται από μη κνησμώδες, βλατιδώδες, ερυθρηματώδες εξάνθημα στο πρόσωπο και τα άκρα που διαρκεί για μερικές εβδομάδες²²⁷. Λεμφαδενοπάθεια είναι συχνή και η ηπατίτιδα είναι συνήθως ανικτερική.

Αρθραλγία εμφανίζεται στο 10-20% των περιπτώσεων ιϊκής ηπατίτιδας. Αρθρίτιδα που να μοιάζει με ρευματοειδή αρθρίτιδα παρατηρείται σε μικρό ποσοστό ασθενών με HBV λοίμωξη και σπανίως σε άλλους ιούς ηπατίτιδας²²⁸. Η αρθρίτιδα συνήθως προηγείται της εισόδου των συστηματικών συμπτωμάτων της ηπατίτιδας από εβδομάδες μέχρι λίγες ημέρες και συνήθως ελαττώνεται η έντασή της με την ανάπτυξη ίκτερου. Ευκαιριακά η πολυαρθρίτιδα δεν συνοδεύεται, ούτε ακολουθείται από ίκτερο. Μπορεί να σχετίζεται με την κυκλοφορία ανοσοσυμπλεγμάτων HBsAg και αντι-HBs που συνδέουν συμπλήρωμα και ενεργοποιούν και την κλασική και την εναλλακτική οδό συμπληρώματος²²⁹. Υπάρχουν επίσης αναφορές για εμφάνιση μηνιγγίτιδας, συνδρόμου Guillain-Barre, μυελίτιδας, εγκεφαλίτιδας, περιφερικής πολυνευρίτιδας και σπανίως μονονευρίτιδας²³⁰.

3.4.6. Χρόνια HBV λοίμωξη (χρόνια ηπατίτιδα Β)

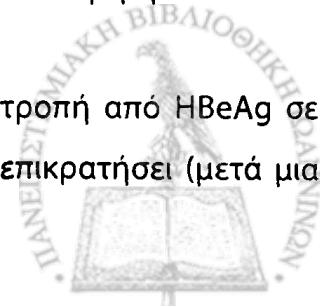
Η κλινικοπαθολογοανατομική έκφραση της χρόνιας HBV λοίμωξης καθορίζεται από την αλληλεπίδραση του HBV και του ανοσολογικού συστήματος του ξενιστή. Οι μεταβολές των ιολογικών δεδομένων εκφράζουν τη φυσική πορεία της λοίμωξης και σε συνδυασμό με βιοχημικά και ιστολογικά δεδομένα, διακρίνονται διάφορες φάσεις και νοσολογικές οντότητες. Η παρακολούθηση των ασθενών με οξεία HBV μας δίνει τη δυνατότητα διαπίστωσης μετάπτωσης της νόσου σε χρονιότητα. Οι ασθενείς που διατηρούν το HBsAg στον ορό τους πάνω από 6 μήνες, μετά οξεία λοίμωξη θεωρούνται χρόνιοι φορείς του HBV. Οι μεταβολές των ορολογικών και ιολογικών δεικτών που έχουμε στη χρόνια HBV λοίμωξη είναι οι ακόλουθοι²³¹.

Στην πρώτη φάση, **της ανοχής**, η αναπαραγωγή του ιού εκφράζεται με υψηλό τίτλο HBsAg και HBV-DNA, θετικό HBeAg στον ορό και ανίχνευση HBeAg στον πυρήνα των ηπατοκυττάρων, ενώ λόγω ανοσοανοχής δεν υπάρχει αξιόλογη ηπατοκυτταρική βλάβη, γεγονός που εκφράζεται στον ορό με φυσιολογική τιμή αμινοτρανσφερασών. Η διάρκεια της φάσης ποικίλλει από μήνες μέχρι χρόνια. Η επόμενη φάση, **της κάθαρσης**, αρχίζει από τη στιγμή που χάνεται η ανοσοανοχή και αρχίζει η ανοσολογική επίθεση που έχει σαν αποτέλεσμα την δημιουργία ηπατοκυτταρικής βλάβης που ιστολογικά κυμαίνεται από



χρόνια επιμένουσα μέχρι χρόνια λοβιδιακή και χρόνια ενεργό ηπατίτιδα. Η φάση αυτή χαρακτηρίζεται από διακυμάνσεις του βαθμού ιϊκού πολλαπλασιασμού, που εκφράζεται με επιμονή του HBsAg, διακυμάνσεις του HBV-DNA και του HBeAg, ενώ λόγω της ενεργού ιστολογικά νόσου, οι τρανσαμινάσες είναι αυξημένες και το IgM αντι-HBc είναι υψηλό. Οι διακυμάνσεις που αναφέρθηκαν σ' αυτή τη φάση, **της ορομετατροπής**, αντανακλούν την προσπάθεια του οργανισμού για εξουδετέρωση του HBV, που έχει επιτυχία σε ποσοστό μέχρι 20% περίπου των ασθενών κάθε χρόνο (αυτόματη ορομετατροπή) και αρχίζει η φάση **της ενσωμάτωσης**, στην οποία το HBV-DNA είναι ενσωματωμένο στο γενετικό υλικό των χρωματοσωμάτων των ηπατοκυττάρων. Στη μακροχρόνια αυτή φάση, το HBsAg είναι θετικό, αλλά σε χαμηλό τίτλο, δεν ανιχνεύονται στον ορό HBeAg και HBV-DNA, ενώ είναι συνήθως θετικό το αντι-Hbe, δεν ανιχνεύεται HBcAg στα ηπατοκύτταρα, οι ιστολογικές βλάβες είναι ήπιες και οι τρανσαμινάσες φυσιολογικές. Από τα άτομα αυτά, ένα μικρό ποσοστό (1-2% κάθε χρόνο) καθάρεται από το HBsAg και μπορεί να αναπτυχθεί αντι-HBs, ενώ στους υπόλοιπους υπάρχει πιθανότητα επανενεργοποίησης του HBV, με εμφάνιση συνήθως και HBeAg. Η ορομετατροπή του HBeAg σε αντι-HBe συνδέεται με μείωση του ιϊκού πολλαπλασιασμού και βελτίωση της ηπατοκυτταρικής βλάβης. Το γεγονός όμως ότι αρκετοί HBsAg θετικοί ασθενείς στη Ν. Μεσόγειο και Άπω Ανατολή, HBeAg αρνητικοί και θετικοί στο αντι-HBe είχαν ανιχνεύσιμο HBV-DNA στον ορό, HBcAg στο ήπαρ, αυξημένες τρανσαμινάσες και προοδευτικά εξελισσόμενη ηπατοκυτταρική βλάβη, έθεσε υπό αμφισβήτηση την προηγούμενη άποψη. Με χρησιμοποίηση τεχνικών μοριακής βιολογίας βρέθηκε ότι υπάρχει μετάλλαξη στην προπυρηνική περιοχή του γονιδίου C, που κωδικογραφεί το πρόδρομο πολυπεπτίδιο από το οποίο προέρχεται το HBeAg¹⁴¹. Η μετάλλαξη αυτή γίνεται με απλή αντικατάσταση στη θέση 1896 της γουανιδίνης με αδενίνη και διακόπτεται η μεταγραφή σ' αυτό το σημείο, αναστέλλεται η παραγωγή HBeAg ενώ διατηρείται η δυνατότητα παραγωγής HBcAg που είναι απαραίτητο για τον πολλαπλασιασμό του HBV. Στην Ελλάδα, συνήθως έχουμε ασθενείς αυτής της φάσης, δηλαδή με μεταλλαγμένο ιό. Πρόκειται για άτομα ηλικίας άνω των 30 ετών που είχαν παλαιά μόλυνση από παιδική ηλικία και ακολούθησαν τις προηγούμενες φάσεις. Αντίθετα, στην Αμερική και τη Β.Δ. Ευρώπη, οι μολύνσεις συμβαίνουν σε μεγαλύτερη ηλικία και οι ασθενείς βρίσκονται συνήθως στη φάση της HBeAg θετικότητας.

Η μετάλλαξη 1896 εμφανίζεται συνήθως κατά την ορομετατροπή από HBeAg σε αντι-HBe (αυτόματη ή μετά θεραπεία). Όταν ο μεταλλαγμένος ιός επικρατήσει (μετά μια



αρχικά ισορροπημένη συνύπαρξη) του φυσικού στελέχους HBV, εμφανίζεται ταχεία, σοβαρή, προοδευτικά και ταχέως εξελισσόμενη ηπατοκυτταρική βλάβη²³². Μπορεί όμως να γίνει από την αρχή προσβολή του ασθενούς από μεταλλαγμένο HBV στέλεχος.

Είναι παραδεκτό ότι η παρουσία HBeAg και HBV-DNA (δείκτες ιϊκού πολλαπλασιασμού) συνδέεται με ενεργό ηπατική νόσο. Στη φάση όμως της ανοσοανοχής, παρά τους υψηλούς τίτλους των δεικτών αυτών, τα ιστολογικά ευρήματα από το ήπαρ είναι σχεδόν φυσιολογικά. Το IgM αντι-HBc θεωρείται από πολλούς σαν δείκτης ευαίσθητος για οξεία ή χρόνια βλάβη του ήπατος από HBV.

Ο πιο αξιόπιστος βιοχημικός δείκτης ηπατοκυτταρικής βλάβης είναι οι τρανσαμινάσες. Η ανίχνευση ιϊκών αντιγόνων στο ήπαρ, ιδίως του HBcAg, είναι πολύ σημαντικό στοιχείο για τον καθορισμό της φάση στη χρόνια HBV λοίμωξη.

Η συλλοίμωξη με κάποιο άλλο ηπατοτρόπο ιό (π.χ. ιός ηπατίτιδας δέλτα) μπορεί να επηρεάσει και να τροποποιήσει την φυσική ιστορία της HBV λοίμωξης.

Η νοσολογική έκφραση της χρόνιας HBV λοίμωξης περιλαμβάνει την **χρόνια ηπατίτιδα**, που με βάση τα ιστολογικά ευρήματα διακρινόταν σε 3 κατηγορίες: (α) την χρόνια επιμένουσα, (β) τη χρόνια λοβιδιακή και (γ) τη χρόνια ενεργό ηπατίτιδα και τους **ασυμπτωματικούς φορείς**. Στην πραγματικότητα όμως, φαίνεται ότι οι ιστολογικές αυτές κατηγορίες της χρόνιας ηπατίτιδας Β δεν αντιπροσωπεύουν ξεχωριστές οντότητες νοσολογικές αλλά ιστολογικές αλλοιώσεις της νόσου σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα²³³.

Κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης της λοίμωξης δεν είναι δυνατόν να διαγνωστούν οι ασθενείς που θα μεταπέσουν σε χρονιότητα. Η μετάπτωση σε χρονιότητα μπορεί να διαπιστωθεί από την ανίχνευση στο ήπαρ μεγάλου αριθμού κυττάρων με κυτταρόπλασμα σαν τριμμένη ύαλο επειδή τα κύτταρα αυτά δεν βρίσκονται σε οξεία ηπατίτιδα²³⁵.

Ασθενείς που είναι ασυμπτωματικοί ή έχουν μόνο ελαφρά συμπτώματα στην οξεία λοίμωξη έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να μεταπέσουν σε χρονιότητα. Τα περισσότερα άτομα με χρόνια ηπατίτιδα ανακαλύπτονται τυχαία, συνήθως μετά έλεγχο αιμοδοσίας ή σε έλεγχο λόγω κρούσματος οξείας ηπατίτιδας Β σε άτομο του στενού του περιβάλλοντος. Ορισμένοι διαγιγνώσκονται σε στάδια προχωρημένης ηπατικής νόσου και κίρρωσης ή ακόμα και μετά εμφάνιση πρωτοπαθούς ηπατοκυτταρικού καρκινώματος.

Τα συμπτώματα της χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας είναι μη ειδικά, όπως κόπωση, κακουχία, αδυναμία. Μπορούν να αναφερθούν επίσης μυαλγίες, αρθραλγίες, εμφάνιση



εξανθημάτων (συνηθέστερα στις γυναίκες). Ναυτία, απώλεια βάρους, ανορεξία, παρουσιάζονται μόνο σε ασθενείς με σοβαρότερη ηπατική νόσο ή κατά τη διάρκεια οξείας παρόξυνσης τη υποκείμενης νόσου. Όταν έχουμε προχωρημένη κίρρωση εμφανίζονται σκοτεινόχροα ούρα, ίκτερος, σημαντική απώλεια σωματικού βάρους, οιδήματα. Σε πολύ προχωρημένη ηπατοπάθεια, μπορεί να εμφανισθεί εγκεφαλοπάθεια, συμπτώματα από πυλαία υπέρταση, όπως ασκίτης και κίρσορραγία.

Η χρόνια HBV λοίμωξη είναι παράγοντας πρόκλησης σπειραματονεφρίτιδας και επίσης έχει συσχετισθεί με οζώδη πολυαρτηρίτιδα.

Η ορολογική εξέλιξη της χρόνιας ηπατίτιδας Β με μόλυνση από φυσικό στέλεχος του ιού ακολουθεί την παρακάτω πορεία²³⁵.

Το HBsAg είναι θετικό και τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών στον ορο συχνά είναι υψηλότερα από το φυσιολογικό. Η παραμονή του HBeAg στον ορό υποδηλώνει συνεχιζόμενο ιϊκό πολλαπλασιασμό και μολυσματικότητα και συνήθως συνοδεύεται από προοδευτική ηπατική νόσο. Όταν είναι HBeAg αρνητικοί, αλλά έχουν ALT αυξημένη, πρέπει να ελέγξουμε την παρουσία HBV-DNA και IgM αντι-HBc στον ορό και του HBcAg σε ηπατικό ιστό. Όταν αυτά είναι θετικά σημαίνει ότι έχουμε προσβολή από προπυρηνικά μεταλλαγμένο στέλεχος του ιού.

Σε ασθενείς με μη-επιλεγμένη χρόνια ηπατίτιδα Β, τα επίπεδα της ALT και της ΑΣΤ στον ορό ποικίλουν από ελαφρά αύξηση μέχρι στο τετραπλάσιο των ανωτέρων φυσιολογικών ορίων τους, με την ALT πάντοτε πιο υψηλή από την AST. Όταν η νόσος επιδεινώνεται, οι εργαστηριακές εξετάσεις γίνονται πιο παθολογικές. Όταν η AST είναι υψηλότερη της ALT υποδηλώνει πιθανότητα κίρρωσης, όπως επίσης η αύξηση της γ-σφαιρίνης και η πτώση της λευκωματίνης στον ορό. Ο χρόνος προθρομβίνης ανευρίσκεται παρατεταμένος με την έναρξη της κίρρωσης.

Ασυμπτωματικοί φορείς είναι το 70-90% των ατόμων με χρόνια λοίμωξη από HBV που έχουν φυσιολογικές δοκιμασίες ελέγχου της ηπατικής λειτουργίας και η μεγάλη πλειοψηφία τους δεν έχει ενδείξεις ιϊκού πολλαπλασιασμού (βρίσκεται στη φάση της ενσωμάτωσης). Οι χρόνιοι ασυμπτωματικοί φορείς που έχουν αμινοτρανσφεράσες συνεχώς σε φυσιολογικές τιμές, στη βιοψία ήπατος έχουν φυσιολογική ή σχεδόν φυσιολογική ιστολογική εικόνα που παραμένει έτσι για αρκετά χρόνια. Σπάνια παρουσίασαν επιλοίμωξη με ηπατίτιδα δέλτα, ενώ ο κίνδυνος ηπατοκυτταρικού καρκίνου είναι χαμηλός. Στην Ασία, από μελέτες έχουν βρεθεί διαφορετικά αποτελέσματα, αλλά στη

Δύση φαίνεται ότι η πορεία των ασυμπτωματικών φορέων είναι ήρεμη. Συνιστάται η παρακολούθηση των αμινοτρανσφερασών, της α-εμβρυϊκής σφαιρίνης, ενώ ηπατική βιοψία απαιτείται μετά από διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας. Στα άτομα αυτά συνιστάται αποχή από οينوπνευματώδη²³⁶⁻²³⁸.

3.4.7. HBV και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα

Το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα αποτελεί το συνηθέστερο πρωτοπαθή κακοήγη όγκο του ήπατος και τον δεύτερο σε συχνότητα (μετά τον καρκίνο του δέρματος) καρκίνο που προσβάλλει τον άνθρωπο²³⁹.

Η συσχέτιση του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος με τη χρόνια HBV λοίμωξη σήμερα θεωρείται σχεδόν σίγουρη και στηρίζεται σε επιδημιολογικές και κλινικές παρατηρήσεις²⁴⁰, καθώς και σε μελέτες σε πειραματόζωα¹³⁶. Η γεωγραφική κατανομή της συχνότητας ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος είναι παράλληλη με εκείνη της συχνότητας των HBV φορέων²⁴¹. Έτσι, η συχνότητά του είναι σαφώς μικρότερη στη Β. Αμερική και τη Β. Ευρώπη και αρκετά συχνή σε κατοίκους της Αφρικής και τις ακτές της Ν.Α. Ασίας²⁴². Μετά την αρχική διαπίστωση ότι το HBV-DNA ενσωματώνεται στο γονιδίωμα των μολυσμένων ηπατοκυττάρων του ξενιστή²⁴², έχει δειχθεί επίσης ότι ο HBV μπορεί in vitro να προκαλεί κακοήγη μεταμόρφωση των φυσιολογικών κυττάρων²⁴³ και να προκαλεί όγκους σε ζώα²⁴⁴.

Επίσης, στο νεοπλασματικό ιστό ασθενών με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα έχει αποδειχθεί η ύπαρξη ιικών αντιγόνων και πυρηνικών οξέων του HBV²⁴⁴. Η χρόνια HBV λοίμωξη φαίνεται να έχει δυσμενή επίδραση στις ανοσολογικές λειτουργίες του πάσχοντα, όπως φαίνεται από τη μείωση του αριθμού των T-λεμφοκυττάρων και την προς τα κάτω ρύθμιση των υποδοχέων του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNF) και αυτό ίσως συμβάλλει στη δημιουργία του όγκου. Επίσης, ρόλο μπορεί να διαδραματίζουν οι απελευθερούμενες λεμφοκίνες και άλλοι κυτταρικοί διαμεσολαβητές που απελευθερώνονται από τα κύτταρα της φλεγμονώδους διήθησης στον ασθενή με κίρρωση από HBV²⁴⁴. Αν και επί του παρόντος δεν υπάρχουν επαρκώς μακροχρόνιες προοπτικές μελέτες πιστεύεται ότι το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα δεν αναπτύσσεται στους «ασυμπτωματικούς φορείς» του HBV που δεν εμφανίζουν ιστολογικές αλλοιώσεις φλεγμονής²⁴⁵ και νεκρώσεις-αναγεννήσεις του ηπατικού παρεγχύματος²⁴⁶.

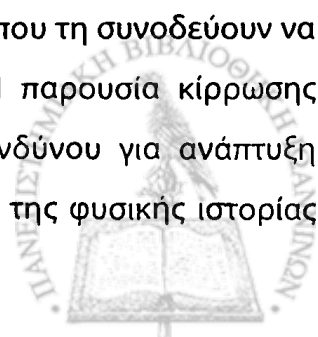


Απαραίτητο στάδιο για την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σήμερα θεωρείται ότι είναι η λειτουργική απώλεια από το γονιδιακό υλικό των ηπατοκυττάρων ενός ή περισσότερων γονιδίων καταστολής των όγκων (tumor suppressor genes) και κυρίως του γονιδίου p53. Η αδρανοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων μπορεί να προκληθεί αυτομάτως²⁴⁷ ή σαν αποτέλεσμα τοξικών επιδράσεων (π.χ. της αφλατοξίνης)²⁴² ή της ενσωμάτωσης του HBV-DNA στο γονιδιακό υλικό των ηπατοκυττάρων του ξενιστή. Η αφλατοξίνη Β₁ είναι ένας μεταλλαξογόνος μεταβολίτης που προέρχεται από μύκητες και αναπτύσσεται σε ορισμένες τροφές, που έχουν αποθηκευθεί υπό συνθήκες αυξημένης θερμοκρασίας και υγρασίας. Η δράση της αφλατοξίνης Β₁ θεωρείται ότι δρα σαν παράγοντας καρκινογένεσης, προάγοντας την εμφάνιση ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, ιδίως σε χώρες της Αφρικής και της Ν.Α. Ασίας με υψηλό επιπολασμό χρόνιας HBV λοίμωξης²⁴².

Η ενσωμάτωση του HBV-DNA στο γονιδίωμα των ηπατοκυττάρων του ξενιστή θεωρείται ότι δρα σαν μηχανισμός έναρξης της διαδικασίας της καρκινογένεσης²⁴⁶, δεν έχει όμως ακόμη διευκρινισθεί αν η ενσωμάτωση αυτή συνοδεύεται από εισαγωγή ή ενεργοποίηση ογκογονιδίων.

Έχει όμως διαπιστωθεί αδρανοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 σε σημαντικό ποσοστό ασθενών με χρόνια HBV λοίμωξη που ανέπτυξαν ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα²⁴⁸. Τμήματα του γονιδιώματος του HBV, όπως το γονίδιο Χ, μπορεί να παίζει ρόλο κατά τη διαδικασία ενσωμάτωσης στην προαγωγή κακοήθους εξαλλαγής²⁴⁹.

Επειδή αδρανοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων δεν διαπιστώνεται στο σύνολο των ασθενών με χρόνια HBV λοίμωξη που αναπτύσσουν ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα²⁴⁸, θεωρείται ότι καταστάσεις που σε χρόνια βάση προκαλούν φλεγμονή, νέκρωση και στη συνέχεια αναγέννηση των ηπατοκυττάρων, όπως η επίδραση τοξινών (αφλατοξίνη) του αλκοόλ ή η επιλοίμωξη από άλλους ηπατοτρόπους ιούς (HDV και HCV) οδηγούν στην παραγωγή ηπατοκυττάρων με παθολογικά χαρακτηριστικά (κυτταρική μεταμόρφωση). Σημαντικού βαθμού ηπατοκυτταρική νέκρωση και αναγέννηση των ηπατοκυττάρων, προκαλείται βέβαια από την ίδια χρόνια HBV λοίμωξη. Είναι, επομένως, πιθανό η χρόνια ηπατίτιδα από τον HBV και οι νεκρωτικές και αναγεννητικές βλάβες που τη συνοδεύουν να αποτελούν το σημαντικότερο προαγωγέα της καρκινογένεσης. Η παρουσία κίρρωσης αποτελεί ανεξάρτητο και ίσως τον σημαντικότερο παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και πιστεύεται ότι αποτελεί τμήμα της φυσικής ιστορίας



της κίρρωσης²⁵⁰. Γι' αυτό, σε ασθενείς με κίρρωση από HBV συνιστάται ανά εξάμηνο υπερηχοτομογράφημα ήπατος και προσδιορισμός των επιπέδων της αι-εμβρυϊκής σφαιρίνης (AFP), ούτως ώστε να διαγιγνώσκεται η ανάπτυξη του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος νωρίς και να γίνεται θεραπευτική παρέμβαση με ηπατεκτομή ή μεταμόσχευση ήπατος. Επιπλέον, παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε ασθενείς με χρόνια HBV λοίμωξη θεωρούνται το ανδρικό φύλο, η ηλικία >40 ετών, το φυλετικό υπόστρωμα (δεκαπλάσια περίπου πιθανότητα εμφάνισης σε άτομα με χρόνια HBV λοίμωξη από χώρες της Απω Ανατολής σε σύγκριση με άτομα της λευκής φυλής²⁵¹), η παρουσία IgM αντι-HBc ή HBV-DNA και το κάπνισμα²⁵².

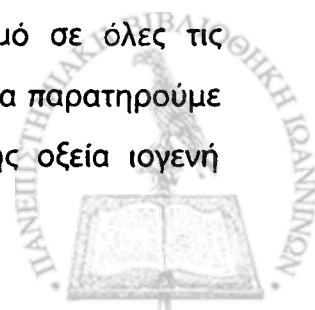
3.5. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β

3.5.1. Βιοχημικές και αιματολογικές διαταραχές ηπατίτιδας Β

Οι σημαντικότερες βιολογικές και αιματολογικές εργαστηριακές εξετάσεις που βοηθούν στη διάγνωση της ηπατίτιδας Β είναι:

3.5.1.1. Προσδιορισμός αμινοτρανσφερασών (AST και ALT)

Η AST και η ALT είναι ευαίσθητοι δείκτες της ηπατοκυτταρικής βλάβης. Δίνουν μια ποσοτική εκτίμηση του βαθμού ηπατικής βλάβης αλλά η εξέλιξη της νόσου δεν μπορεί να προβλεφθεί μόνο από αυτές. Η ALT εντοπίζεται κυρίως στο ήπαρ, ενώ η AST και σε αρκετούς ακόμη ιστούς, όπως καρδιά, νεφρά, μυς και εγκέφαλο. Έτσι είναι λιγότερο αξιόπιστος δείκτης ηπατικής λειτουργίας από τον ALT. Η AST εντοπίζεται κυρίως στα μιτοχόνδρια των κυττάρων (80%) και λιγότερο (20%) στο κυτταρόπλασμα, ενώ η ALT βρίσκεται μόνο στο κυτταρόπλασμα. Στην οξεία φάση της νόσου που έχουμε διόγκωση των ηπατοκυττάρων διαταράσσεται η διαπερατότητα της κυτταροπλασματικής τους μεμβράνης και έτσι έχουμε μεγαλύτερη απώλεια ενζύμων από το κυτταρόπλασμα και έχουμε, εφόσον δεν υπάρχουν επιπλοκές, υψηλότερα επίπεδα ALT από AST στον ορό των ασθενών. Υψηλότερα επίπεδα AST έχουμε όταν συμβαίνει σοβαρή νέκρωση του ηπατικού παρεγχύματος. Οι αμινοτρανσφεράσες αυξάνονται μέχρι κάποιο βαθμό σε όλες τις περιπτώσεις που έχουμε νόσο του ήπατος. Τα υψηλότερα επίπεδά τους τα παρατηρούμε σε περιπτώσεις με εκτεταμένη ηπατική νέκρωση όπως βαριάς μορφής οξεία ιογενή



ηπατίτιδα. Μικρότερες αυξήσεις παρατηρούνται σε περιπτώσεις ήπιας μορφής οξείας ιογενούς ηπατίτιδας όπως και στις χρόνιες λοιμώξεις του ήπατος, όπως χρόνια ενεργός ηπατίτιδα, κίρρωση του ήπατος και ηπατικές μεταστάσεις καρκίνου.

Στην οξεία HBV λοίμωξη τα επίπεδα της AST και ALT στον ορό φθάνουν έως 1000-1500 IU/l περίπου στο χρόνο που εμφανίζεται ο ίκτερος με μεγαλύτερες τιμές της ALT. Δυνατόν οι τιμές αυτές να φθάσουν και μέχρι 4.000 IU/l, και σε σπάνιες περιπτώσεις και μεγαλύτερα. Οι τιμές αυτές παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της ικτερικής φάσης της οξείας ηπατίτιδας και προοδευτικά μειώνονται κατά τη διάρκεια της ανάρρωσης. Στην πρόδρομη φάση της νόσου, η αύξηση των επιπέδων της ALT και της AST ποικίλλει, και συνήθως προηγείται της αύξησης της χολερυθρίνης. Στην ανικτερική ηπατίτιδα η διάγνωση είναι δύσκολη και βασίζεται σε κλινικά χαρακτηριστικά και στη μέτρηση των επιπέδων των αμινοτρανσφερασών.

3.5.1.2. Προσδιορισμός Χολερυθρίνης

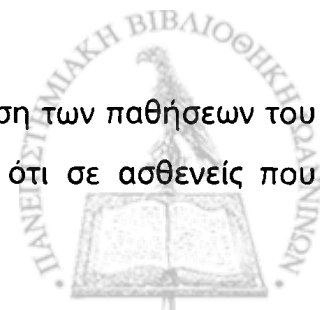
Προσδιορίζεται η άμεση και ολική χολερυθρίνη για να βρεθούν τα επίπεδα της δεσμευμένης και αδέσμευτης χολερυθρίνης αντίστοιχα. Η χολερυθρίνη αρχίζει να αυξάνεται σημαντικά με την εμφάνιση του ίκτερου στην οξεία ιογενή ηπατίτιδα. Τότε ξεπερνά τα 2,5 mg/dl και σε όλη τη διάρκεια της ικτερικής φάσης κυμαίνεται από 5 mg/dl έως 20 mg/dl. Η χολερυθρίνη του ορού μπορεί να συνεχίζει να αυξάνει παρά την πτώση των αμινοτρανσφερασών. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η ολική χολερυθρίνη μοιράζεται σε ίσες ποσότητες μεταξύ δεσμευμένης και αδέσμευτης. Όταν επιμένει η παρουσία της σε τιμές πάνω από 20 mg/dl (δηλαδή βαθύτερος ίκτερος) συνήθως έχουμε παρατεταμένη κλινική πορεία²¹⁷. Επίσης, σε μερικές περιπτώσεις ανικτερικής ηπατίτιδας έχει παρατηρηθεί μικρή αύξηση της δεσμευμένης χολερυθρίνης του ορού.

3.5.1.3. Μέτρηση Ανοσοσφαιρινών του Ορού

Στην οξεία φάση έχουμε μέτρια αύξηση των επιπέδων των ανοσοσφαιρινών στον ορό. Περισσότερο αυξάνει η ανοσοσφαιρίνη M (IgM) που παραμένει αυξημένη σ' όλη τη διάρκεια της οξείας φάσης.

3.5.1.4. Προσδιορισμός Αλβουμίνης

Η αλβουμίνη είναι ένας πολύ καλός οδηγός για την πρόγνωση των παθήσεων του ήπατος και ειδικά για τις χρόνιες παθήσεις. Έχει βρεθεί επίσης ότι σε ασθενείς που



αναπτύσσουν κεραυνοβόλο ηπατίτιδα, η μέτρηση της συγκέντρωσης της αλβουμίνης είναι πολύ χρήσιμη ένδειξη για την βαρύτητα της κατάστασης του ασθενούς, την πρόγνωση και την ανταπόκριση στη θεραπεία.

3.5.1.5. Προσδιορισμός αλκαλικής φωσφατάσης.

Είναι χρήσιμος δείκτης για τη διάκριση μεταξύ οξείας ιογενούς ηπατίτιδας και άλλων περιπτώσεων που προκαλούν ίκτερο. Στην οξεία ιογενή ηπατίτιδα αυξάνει ήπια και συνήθως σε τιμές που δεν ξεπερνούν το διπλάσιο του φυσιολογικού. Πιο αυξημένα επίπεδα έχουμε σε άλλες ιογενείς λοιμώξεις που έχουμε προσβολή του ήπατος όπως λοιμώδης μονοπυρήνωση.

3.5.1.6. Προσδιορισμός Αιματολογικών Παραμέτρων.

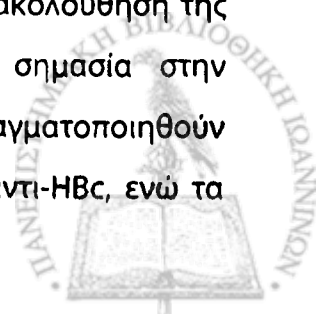
Κατά το προϊκτερικό στάδιο, οι ασθενείς είναι συνήθως λευκοπενικοί, λεμφοπενικοί και ουδετεροπενικοί, η ΤΚΕ είναι αυξημένη. Με την εμφάνιση του ικτέρου όμως ο αριθμός των λευκών, των λεμφοκυττάρων και των ουδετερόφιλων όπως και η ΤΚΕ βρίσκονται σε φυσιολογικές τιμές. Επίσης, μπορούν να βρεθούν άτυπα λεμφοκύτταρα.

Σε σοβαρές περιπτώσεις, ο συνολικός αριθμός των λευκών μπορεί να βρεθεί αυξημένος και ο λευκοκυτταρικός τύπος να έχει σχετική ή απόλυτη ουδετεροφιλία. Η αιμοσφαιρίνη, ο αιματοκρίτης και ο σίδηρος συνήθως είναι φυσιολογικά, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις, ιδιαίτερα σε άτομα με έλλειψη G6PD, είναι δυνατόν να έχουμε αιμολυτικό σύνδρομο.

Η μέτρηση του χρόνου προθρομβίνης (PT) είναι πολύ σημαντική στην οξεία ιογενή ηπατίτιδα, γιατί ανεύρεση αυξημένου χρόνου μπορεί να σχετίζεται με άσχημη πρόγνωση και εκτεταμένη ηπατοκυτταρική νέκρωση. Σε ασθενείς με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα, η μέτρηση του PT είναι χρήσιμη ένδειξη της βαρύτητας της κατάστασης, της πρόγνωσης και της ανταπόκρισης στη θεραπεία.

3.5.2. Ορολογικοί δείκτες

Από την αρχική απομόνωση του αντιγόνου επιφανείας μέχρι σήμερα έχει επιτευχθεί μεγάλη πρόοδος στις ορολογικές εξετάσεις για τη διάγνωση και την παρακολούθηση της λοίμωξης από τον HBV. Οι δείκτες που έχουν την μεγαλύτερη σημασία στην παρακολούθηση των ασθενών με ηπατίτιδα Β και μπορούν εύκολα να πραγματοποιηθούν σαν εξετάσεις ρουτίνας είναι οι HBsAg, HBeAg, αντι-HBe, αντι-HBs και αντι-HBc, ενώ τα



HBxAg και αντι-HBx δεν προσδιορίζονται σ' όλα τα εργαστήρια. Σήμερα, η πρόοδος της μοριακής βιολογίας επέτρεψαν την ανίχνευση του DNA του ιού ακόμη και σε πολύ μικρά επίπεδα ιαιμίας, όπως και άλλων ενδοηπατικών αντιγόνων που βοηθούν πολύ στην αξιολόγηση της πορείας του ασθενούς. Οι τεχνικές αυτές όμως ακόμη δεν μπορούν να εφαρμοσθούν σε όλα τα εργαστήρια λόγω των προδιαγραφών που απαιτούνται (ειδικοί χώροι για κίνδυνο επιμολύνσεων, εκπαιδευμένο προσωπικό, υψηλό κόστος). Η σημασία των δεικτών αυτών και η αξιολόγησή τους είναι η ακόλουθη:

HBsAg. Η παρουσία του HBsAg στον ορό σε υψηλούς τίτλους συμβαίνει τόσο στην οξεία, όσο και στη χρόνια λοίμωξη. Προηγείται 1-3 εβδομάδες των κλινικών συμπτωμάτων. Όταν διατηρείται για διάστημα μεγαλύτερο των 6 μηνών, είναι ένδειξη μετάπτωσης της νόσου σε χρόνια. Ο προσδιορισμός του με ραδιοανοσολογικές (RIA) και ανοσοενζυματικές (ELISA) μεθόδους είναι εύκολος και υπάρχει δυνατότητα προσδιορισμού μικρών ποσοτήτων (0.02-1 ng/ml). Ψευδώς θετικά αποτελέσματα είναι σπάνια με τις τεχνικές που αναφέραμε και αφορούν κυρίως χαμηλούς τίτλους. Η παρουσία HBsAg στον ορό δεν συσχετίζεται με ιαιμία και δεν καθορίζει τη σοβαρότητα της νόσου. HBV λοίμωξη δεν αποκλείεται με απουσία HBsAg, γιατί μπορεί να βρίσκεται στον ορό σε τίτλο μικρότερο από εκείνο που μπορεί να ανιχνεύσει η χρησιμοποιούμενή μας μέθοδος (αν και οι περισσότεροι ασθενείς έχουν τίτλο 10.000-100.000 ng/ml) επειδή το HBsAg μπορεί να κρύβεται σε ανοσοσυμπλέγματα, να μην εκκρίνεται παρ' ότι εκφράζεται ή να μην εκφράζεται καθόλου λόγω μετάλλαξης στην περιοχή του περιβλήματος του ιϊκού γονιδιώματος. HBsAg μόνο, χωρίς την παρουσία άλλου ορολογικού δείκτη HBV λοίμωξης μπορεί να σημαίνει είτε πολύ αρχικό στάδιο οξείας ηπατίτιδας Β είτε ψευδώς θετικό αποτέλεσμα, είτε προσβολή από μεταλλαγμένο ιό. Ο δείκτης αυτός είναι εκείνος που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των αιμοδοτών από όλες τις αιμοδοσίες.

Αντι-HBs. Είναι IgG αντίσωμα έναντι του HBsAg και εμφανίζεται συνήθως 1-4 μήνες μετά την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων της νόσου. Είναι προστατευτικό, αποτελεί ένδειξη αποδρομής της νόσου και είναι ο μοναδικός δείκτης που εμφανίζεται μετά από επιτυχή εμβολιασμό για την ηπατίτιδα Β. Ανιχνεύεται και προσδιορίζεται ποσοτικά με ραδιοανοσολογικές (RIA) και ανοσοενζυματικές (ELISA) μεθόδους. Παρουσία μόνο αντι-HBs χωρίς άλλο δείκτη μπορεί να σημαίνει είτε ψευδώς θετικό αποτέλεσμα (ιδιαίτερα για χαμηλούς τίτλους) είτε ότι το αντι-HBs είναι σε πολύ χαμηλό τίτλο που δεν μπορεί να

προσδιορισθεί με τις ορολογικές μεθόδους που διαθέτουμε, σε περιπτώσεις παλαιάς λοίμωξης που ιάθηκε. Συνύπαρξη HBsAg και αντι-HBs (κυρίως με χαμηλούς τίτλους) υπάρχει σε μερικά άτομα, αλλά το αντι-HBs στην περίπτωση αυτή δεν είναι προστατευτικό γιατί αντιστοιχεί σε επιτόπους που δεν υπάρχουν στο HBsAg του φορέα²³⁷. Τα άτομα αυτά πάσχουν από χρόνια HBV λοίμωξη.

Pre-S1 και pre-S2. Είναι αντιγόνα του περιβλήματος και η παρουσία τους συσχετίζεται με ιαιμία. Δεν ανιχνεύονται σε καθημερινή κλινική πράξη.

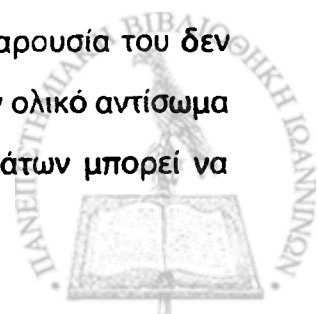
Αντι-pre-S1 και -pre-S2. Εμφανίζονται συνήθως σε εξαφάνιση του ιού, δεν είναι όμως προστατευτικά γιατί εμφανίζονται και σε χρόνια HBV λοίμωξη. Ούτε αυτά ανιχνεύονται σε καθημερινή παρακολούθηση ασθενών με HBV λοίμωξη.

HBeAg. Είναι η πρωτεΐνη του πυρηνοκαψιδίου του ιού που εκκρίνεται και προσδιορίζεται επίσης με ραδιοανοσολογικές (RIA) και ανοσοενζυματικές μεθόδους (ELISA), εμφανίζεται δε λίγο πριν την εμφάνιση των κλινικών συμπτωμάτων. Συνυπάρχει με υψηλό τίτλο ιαιμίας (αυξημένο ποσό HBV-DNA και εκφράζει ενεργό πολλαπλασιασμό του ιού είτε σε χρόνια είτε σε οξεία λοίμωξη. Επίσης, σχετίζεται με αυξημένη μολυσματικότητα.

Αντι-HBe. IgG αντίσωμα, έναντι του αντιγόνου HBeAg που προσδιορίζεται με RIA και ELISA επίσης, και εμφανίζεται λίγες εβδομάδες μετά την απώλεια του HBeAg. Η εμφάνισή του σημαίνει μείωση της μολυσματικότητας και υποχώρηση της λοίμωξης. Αυτό δεν ισχύει στη λοίμωξη από προπυρηνικά μεταλλαγμένο στέλεχος του ιού που όπως αναφέρθηκε είναι συνηθισμένο στις Μεσογειακές χώρες¹⁴¹.

HBcAg. Το αντιγόνο του πυρήνα του ιού της ηπατίτιδας Β δεν κυκλοφορεί ελεύθερο στον ορό. Ανιχνεύεται μόνο στο μολυσμένο ηπατοκύτταρο με τεχνικές ανοσοϊστοχημείας ή ανοσοφθορισμού και σχετίζεται με ιαιμία και ιϊκό πολλαπλασιασμό.

Αντι-HBc. Είναι αντίσωμα έναντι του HBcAg και προσδιορίζεται με RIA και ELISA, υπάρχει δε σε όλα τα στάδια της HBV λοίμωξης από την αρχή της οξείας φάσης μέχρι την πλήρη αποδρομή της νόσου. Δεν είναι προστατευτικό αντίσωμα και η παρουσία του δεν σημαίνει ανοσία ή αποδρομή της λοίμωξης. Μπορεί να ανιχνευθεί είτε σαν ολικό αντίσωμα (IgG και IgM κλάσμα) είτε σαν IgM-αντι-HBc. Η ανίχνευση IgM αντισωμάτων μπορεί να



βοηθήσει στη διάκριση της οξείας από παλαιά HBV λοίμωξη. Το αντι-HBc σαν μονός δείκτης HBV λοίμωξης μπορεί να σημαίνει είτε παλαιά HBV λοίμωξη που ιάθηκε (συνήθως σε χαμηλό τίτλο) και έχουμε αδυναμία παραγωγής ή εξαφάνισή του αντι-HBs είτε οξεία λοίμωξη (υψηλός τίτλος) που έχει εξαφανισθεί το HBsAg αλλά ακόμη δεν έχει εμφανισθεί ανιχνεύσιμο αντι-HBs (περίοδος παραθύρου) που συνοδεύεται από υψηλό τίτλο IgM αντι-HBc και συνήθως αντι-HBe. Επίσης, μπορεί να σημαίνει χρόνια HBV λοίμωξη με χαμηλή συγκέντρωση HBsAg που δεν μπορεί να ανιχνευθεί με τις εφαρμοζόμενες μέχρι τώρα μεθόδους ή παθητική μεταφορά του με γ-σφαιρίνη, μετάγγιση αίματος ή διαπλακουντιακά από τη μητέρα στο νεογνό. Η παρουσία αντι-HBc και αντι-HBs με ή χωρίς συνύπαρξη αντι-HBe σημαίνει παρελθούσα, ιαθείσα HBV νόσο. Συνύπαρξη αντι-HBc και αντι-HBe σημαίνει παρελθούσα λοίμωξη αν και μερικοί πιστεύουν ότι μπορεί να υπάρχει χρόνια HBV λοίμωξη σε λανθάνουσα κατάσταση. Τελευταία δίνεται σημασία στον ποσοτικό προσδιορισμό του τίτλου του IgG αντι-HBc, ιδιαίτερα στην περίπτωση που αποτελεί τον μοναδικό δείκτη, επειδή με όλες τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους υπάρχουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα, ιδίως χαμηλών τίτλων. Η ανίχνευση του HBV-DNA θα βοηθήσει στις περιπτώσεις αυτές στη διάγνωση συνεχιζόμενης λοίμωξης. Το IgM αντι-HBc ανιχνεύεται σε υψηλούς τίτλους στην οξεία φάση της νόσου, μπορεί να διαρκέσει δε περίπου για ένα χρόνο από την αρχική λοίμωξη. Ο τίτλος του δεν έχει προγνωστική σημασία. Μπορεί να εμφανισθεί επίσης σε επαναλοίμωξη ή και σε χρόνια ηπατική βλάβη.

HBxAg. Εμφανίζεται περίπου την ίδια χρονική περίοδο με το HBeAg. Ανιχνεύεται σε ασθενείς με θετικό HBeAg. Η παρουσία του δηλώνει υψηλή μολυσματικότητα. Δεν ανιχνεύεται στην καθημερινή εργαστηριακή πράξη.

3.5.3. Μοριακές Τεχνικές

3.5.3.1. Ιολογικοί δείκτες

HBV-DNA. Ο προσδιορισμός του γίνεται με τη μέθοδο της κηλίδας (dot blot), με υβριδισμό υγρής φάσης όπως και με την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR). Είναι ο πιο ευαίσθητος δείκτης μολυσματικότητας και πολλαπλασιασμού του ιού, συνοδεύει σχεδόν πάντοτε τα άτομα με HBeAg θετικό, αλλά μπορεί να εμφανίζεται και στους αντι-HBe θετικούς (λοίμωξη από μεταλλαγμένο προ-πυρηνικό στέλεχος). Η μείωση του τίτλου του HBV-DNA είναι η πρώτη ένδειξη υποχώρησης της λοίμωξης είτε αυτομάτως

είτε μετά επιτυχή θεραπεία και προηγείται της εξαφάνισης του HBeAg. Με υβριδισμό μπορούν να ανιχνεύονται από 10 pg/ml που αντιστοιχούν σε 1.000.000 γονιδιώματα (copies)/ml. Με PCR που χρησιμοποιούνται 2 ζεύγη primers «διπλή PCR» μπορούν να ανιχνευθούν 10⁵ pg/ml που αντιστοιχούν σε 10-50 γονιδιώματα/ml. Η ευαισθησία της απλής PCR (ένα ζεύγος primers) που συνοδεύεται από μοριακό υβριδισμό έχει την ίδια ευαισθησία με την διπλή PCR.

Η κλινική σημασία της ανίχνευσης του HBV-DNA με διπλή PCR δεν είναι ακριβώς καθορισμένη και μπορεί να ισοδυναμεί με την απλή ανίχνευση του HBsAg, επίσης η διπλή PCR δεν μπορεί να καθορίσει τη μολυσματικότητα επειδή έχει ευαισθησία μεγαλύτερη από τη δόση μόλυνσης.

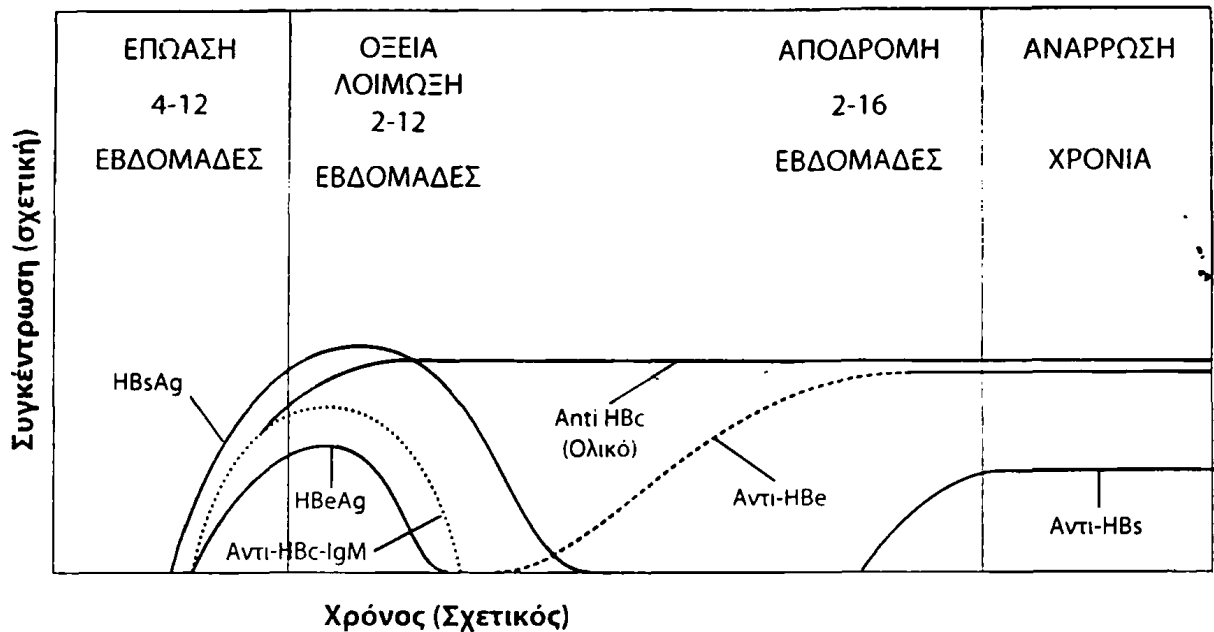
Πίνακας 4. Αξιολόγηση του συνδυασμού παρουσίας των ορολογικών και ιολογικών δεικτών της HBV λοίμωξης.

HBV-DNA	HBsAg	HBeAg	αντι-HBc ολικό	αντι-HBc IgM	αντι-HBs	αντι-HBe	Πιθανή ερμηνεία
-	-	-	-	-	-	-	Ευαίσθητο άτομο ή πολύ νωρίς στο χρόνο επώασης.
+	+	+/-	-	-	-	-	Πρωίμη επωαστική περίοδος της HBV λοίμωξης.
+	+	+	+	+	-	-	Πρωίμο στάδιο οξείας HBV λοίμωξης.
+/-	+	-	+	-	-	+	Χρόνιος φορέας HBsAg.
+	+	+	+	-	-	-	Χρόνιος φορέας HBsAg (υψηλής μολυσματικότητας).
-	+	-	+	+/-	-	+	Πρωίμο στάδιο αποδρομής της νόσου.
-	-	-	+	+/-	-	+	Πρόσφατη αποδρομή της νόσου (περίοδος παραθύρου).
-	-	-	+	+/-	+	+/-	Πρόσφατη αποδρομή και έναρξη ανοσοποίησης.
-	-	-	+	-	+	+/-	Ανοσία έναντι του HBV, ένδειξη παλαιάς λοίμωξης.
-	-	-	+	-	-	+/-	Ανοσία έναντι του HBV, ένδειξη παλαιάς λοίμωξης.
-	-	-	+	-	-	+/-	Περίοδος παραθύρου, πιθανόν ψευδώς αντι-HBc χρόνια HBV λοίμωξη με χαμηλού βαθμού παραγωγή HBsAg.
-	-	-	-	-	+	-	Μετά επιτυχή εμβολιασμό ή χορήγηση πρόσφατα υπεράνοσης γ-σφαιρίνης, προηγούμενη λοίμωξη από HBV με απώλεια του αντι-HBc.



3.5.4. Ορολογική διάγνωση οξείας ηπατίτιδας Β

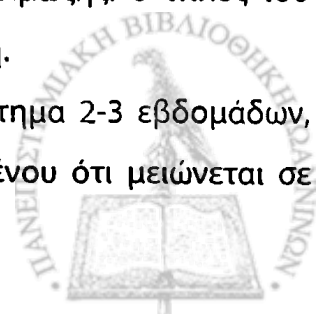
Η εμφάνιση των ορολογικών δεικτών στην οξεία ηπατίτιδα Β που καταλήγει σε πλήρη ίαση φαίνεται στο Σχήμα 4.



Σχήμα 4. Διαδοχική σειρά εμφάνισης ορολογικών δεικτών οξείας ηπατίτιδας Β που καταλήγει σε ανάρρωση.

Το HBsAg και το HBeAg αποτελούν τους πρώτους ορολογικούς δείκτες που εμφανίζονται στον ορό και ακολουθούνται σε πολύ σύντομο διάστημα από το IgM αντι-HBc. Τα επίπεδα του HBsAg στον ορό φθάνουν στο μέγιστο ύψος τους περίπου το ίδιο χρονικό διάστημα με τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών, δηλαδή όταν εμφανίζεται και ο ίκτερος. Ο τίτλος του IgM αντι-HBc είναι πολύ υψηλός στην οξεία ηπατίτιδα Β και προοδευτικά μειώνεται ανάλογα με το βαθμό περιορισμού του πολλαπλασιασμού του ιού. Όταν ο ιός ενεργοποιείται, παρουσιάζεται νέα αύξηση του τίτλου του. Σε ασθενείς με HBsAg θετικό και αυξημένες αμινοτρασφεράσες, η εμφάνιση υψηλών τίτλων IgM αντι-HBc σημαίνει συνήθως οξεία HBV και πιο σπάνια παρόξυνση χρόνιας λοίμωξης. Ο τίτλος του HBsAg προοδευτικά υποχωρεί καθώς η οξεία νόσος οδεύει προς ίαση.

Έλεγχος δύο δειγμάτων ορού για τίτλο HBsAg σε μεσοδιάστημα 2-3 εβδομάδων, είναι προγνωστικός για την έκβαση της οξείας ηπατίτιδας, δεδομένου ότι μειώνεται σε



ασθενείς που θα ιαθούν, ενώ παραμένει ίδιος σε ασθενείς που θα μεταπέσουν σε χρόνια HBV λοίμωξη. Όπως ήδη αναφέρθηκε, παραμονή του HBsAg πάνω από 10 εβδομάδες είναι σοβαρή ένδειξη μετάπτωσης σε χρονιότητα. Απουσία HBsAg δεν αποκλείει οξεία ηπατίτιδα Β, γιατί μπορεί να επέλθει ανοσολογική κάθαρση από τον ιό προ του πρώτου ορολογικού ελέγχου.

Σε κεραυνοβόλο ηπατίτιδα από HBV επίσης στο 15-25% των περιπτώσεων, το HBsAg δεν είναι ανιχνεύσιμο και η διάγνωση βασίζεται στον πολύ υψηλό τίτλο IgM αντι-HBc. Στην περίπτωση αυτή και η ιαιμία είναι πολύ χαμηλού τίτλου και τα πυρηνικά οξέα του ιού μπορεί να ανιχνεύονται στον ορό μόνο με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR). Το HBV-DNA είναι θετικό στην αρχική φάση της οξείας HBV λοίμωξης και εξαφανίζεται πριν την ορομετατροπή του HBeAg σε αντι-HBe.

Τα IgG αντισώματα που εμφανίζονται στην οξεία ηπατίτιδα κατά σειρά είναι: αντι-HBc, αντι-HBe, αντι-HBs (Σχήμα 3).

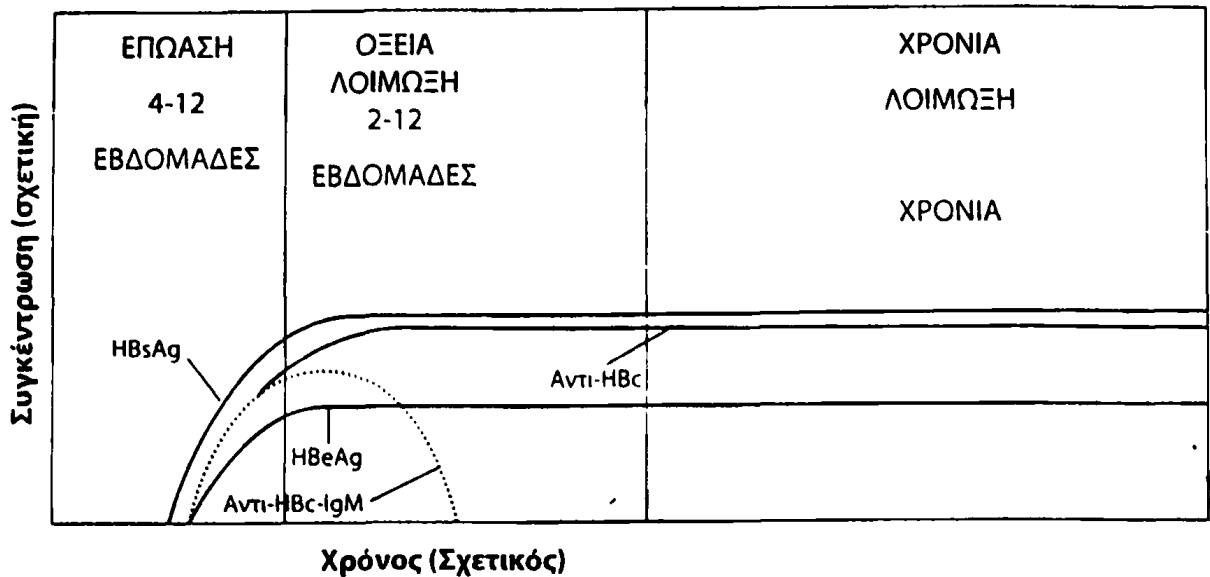
Το IgG αντι-HBc εμφανίζεται σχετικά νωρίς, μετά την αρχική-ανίχνευση των HBsAg και HBeAg. Τα αντι-HBe και αντι-HBs ανιχνεύονται μετά την εξαφάνιση των αντιστοιχών αντιγόνων ή και ταυτόχρονα για μικρό σχετικά χρονικό διάστημα. Το διάστημα, που μπορεί να έχει ποικίλη χρονική διάρκεια, μεταξύ της εξαφάνισης του HBsAg και της εμφάνισης των αντι-HBs λέγεται «περίοδος του παραθύρου». Μετά την ίαση της οξείας HBV, ο τίτλος των παραπάνω αντισωμάτων προοδευτικά μειώνεται. Ο τίτλος των αντι-HBe αντισωμάτων προοδευτικά μπορεί να υποχωρεί μέχρι εξαφάνισης, σε ένα σημαντικό όμως ποσοστό ατόμων με παλαιά HBV που ιάθηκε, παραμένει δια βίου.

Το αντι-HBs εμφανίζεται συνήθως 6-8 εβδομάδες μετά την εξαφάνιση του HBsAg, σημαίνει κλινική ίαση και ανοσία σε ενδεχόμενη επαναμόλυνση, στο 80% δε των ατόμων που ιάθηκαν από HBV λοίμωξη παραμένει για πολλά χρόνια. Σε περιπτώσεις που ελαττώνεται ο τίτλος του και δεν μπορεί να ανιχνευθεί, έκθεση σε ιϊκούς αντιγονικούς επιτόπους μπορεί να προκαλέσει εκ νέου την αύξησή του.

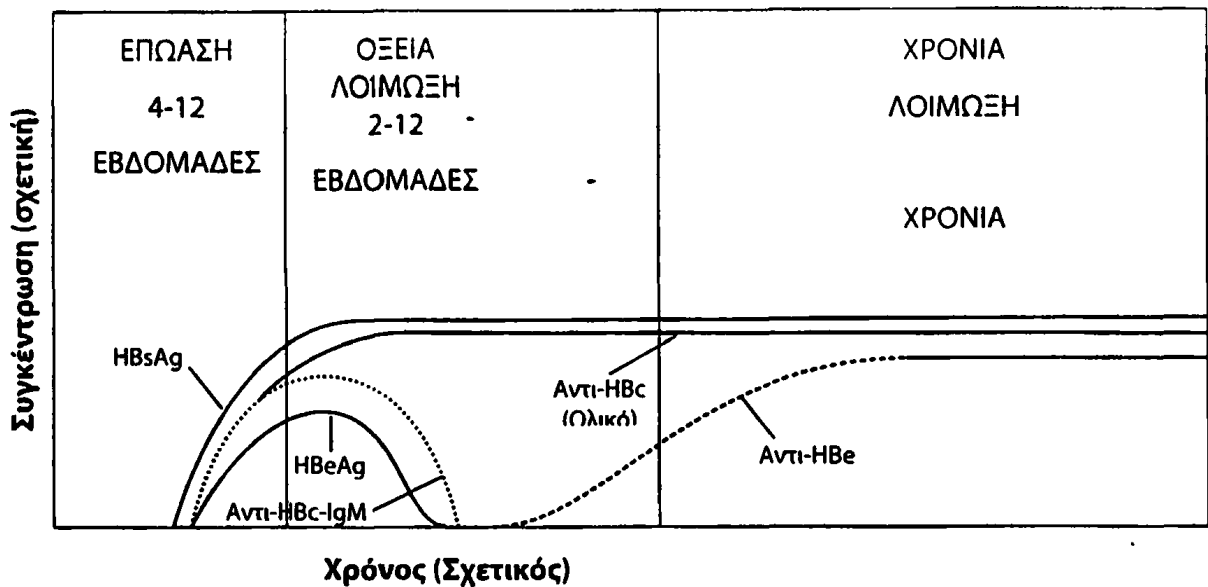
3.5.5. Διάγνωση χρόνιας ηπατίτιδας Β και παρακολούθηση της πορείας της

Παρουσία HBsAg για περισσότερο από 6 μήνες με παρουσία ή όχι HBeAg είναι έκφραση χρόνιας HBV λοίμωξης (Σχήματα 5 και 6).



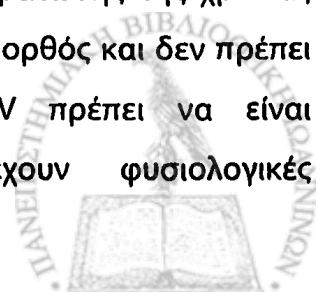


Σχήμα 5. Ορολογικό προφίλ ενός χρόνιου φορέα HBsAg που παραμένει κατά τη διάρκεια της HBV λοίμωξης HBeAg-θετικός.



Σχήμα 6. Ορολογικό προφίλ ενός χρόνιου φορέα HBsAg που κατά τη διάρκεια της λοίμωξης από τον HBV το HBeAg μετατρέπεται σε αντι-HBe.

Τα περισσότερα άτομα χωρίς συμπτώματα με HBsAg θετικό, αντι-HBe θετικό και αμινοτρανσφεράσες φυσιολογικές, βρίσκονται στη φάση της ενσωμάτωσης της χρόνιας HBV λοίμωξης. Ο όρος «φορέας» ηπατίτιδας δεν είναι επιστημονικά ορθός και δεν πρέπει να χρησιμοποιείται. Γενικά, οι αποκαλούμενοι «φορείς» HBV πρέπει να είναι ασυμπτωματικοί, για μεγάλο χρονικό διάστημα να έχουν φυσιολογικές



αμινοτρανσφεράσες, HBeAg αρνητικό, HBV-DNA αρνητικό με υβριδισμό και IgM αντι-HBc <0.400. Με διπλή PCR στα άτομα αυτά μπορεί να βρεθεί πολύ μικρή ιαιμία. Επειδή υπάρχει πάντοτε η πιθανότητα ενεργοποίησης του ιού με την επικράτηση συνήθως του μεταλλαγμένου στην προπυρηνική περιοχή στελέχους, συνιστάται σε όλους που ανήκουν σε αυτή την ομάδα παρακολούθηση κάθε 6 μήνες των αμινοτρανσφερασών και του τίτλου του IgM αντι-HBc (πολύ σημαντική παράμετρος που ελέγχει αναζωπύρωση του ιού).

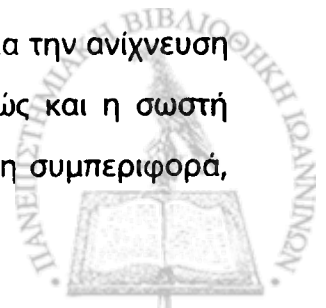
Σε κάθε άτομο με θετικό HBsAg που έχουμε αύξηση των αμινοτρανσφερασών θα πρέπει να γίνεται έλεγχος μήπως έχουμε: (α) αναζωπύρωση του HBV (HBeAg, HBV-DNA, τίτλος IgM αντι-HBc >0.400)²³⁸, (β) επιλοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας D (αντι-Delta IgM και HDV Ag), (γ) επιλοίμωξη από κάποιον άλλο ιό ηπατίτιδας, κυρίως HCV (αντι-HCV), HEV (IgM αντι-HEV), HAV (IgM αντι-HAV) και HGV (HGV-RNA), (δ) στεάτωση του ήπατος στα πλαίσια αλκοολισμού, παχυσαρκίας, λήψης φαρμάκων, σακχαρώδη διαβήτη και υπερλιπιδαιμίας.

3.6. ΠΡΟΛΗΨΗ

Οι στόχοι που έχουν τα διάφορα μέτρα που λαμβάνονται για τον έλεγχο, την πρόληψη από την ηπατίτιδα Β, στοχεύουν αφενός στον προσδιορισμό των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα Β, που είναι δυνατόν να αντιμετωπισθούν θεραπευτικά (π.χ. θεραπεία με ιντερφερόνη) ή να τροποποιήσουν την συμπεριφορά τους (π.χ. διακοπή αλκοόλ), αφετέρου στην πρόληψη μόλυνσης άλλων ατόμων. Σήμερα έχουμε στη διάθεσή μας αρκετά και αποτελεσματικά μέτρα για τον έλεγχο και την πρόληψη των μολύνσεων από τον HBV και βεβαίως θα πρέπει να λεχθεί ότι όπως για όλες τις ηπατίτιδες ο καλύτερος τρόπος πρόληψης είναι η βελτίωση του γενικότερου επιπέδου υγιεινής ενός τόπου. Ειδικότερα, τα μέτρα που πρέπει να λαμβάνονται είναι:

(α). Εκπαίδευση των ατόμων που ανήκουν σε ομάδες υψηλού κινδύνου, όπως και των εργαζομένων στον τομέα παροχής υπηρεσιών υγείας, πως να αποφύγουν τη μόλυνση οι ίδιοι, εάν είναι ευαίσθητοι στον HBV ή πως θα προστατέψουν τους άλλους, εάν οι ίδιοι είναι φορείς του ιού.

(β). Η χρησιμοποίηση όσο το δυνατόν πιο ευαίσθητων τεχνικών για την ανίχνευση του HBsAg σε όλους τους αιμοδότες και τους δωρητές οργάνων, καθώς και η σωστή αξιολόγηση όλων των στοιχείων από το ιστορικό του αιμοδότη (περίεργη συμπεριφορά,



υποψία χρήσης ναρκωτικών ουσιών). Η όσο το δυνατόν μεγαλύτερη κάλυψη των αναγκών σε αίμα από εθελοντές αιμοδότες.

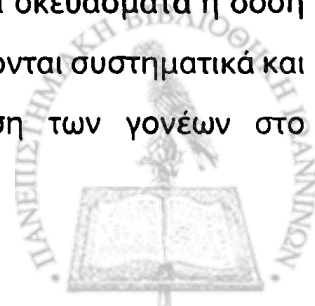
(γ). Η παθητική ανοσοπροφύλαξη για όλους όσους έχουν εκτεθεί στον ιό με χορήγηση ειδικής ανοσοσφαιρίνης για HBV (Hepatitis B Immune Globulin - HBIG).

Η HBIG παρασκευάζεται από πλάσμα με υψηλούς τίτλους αντι-HBs, που αποκτάται από εθελοντές με φυσική ανοσία ή με χορήγηση εμβολίου για την ηπατίτιδα Β.

Πρόσφατες οδηγίες από το CDC²⁵³ στις ΗΠΑ συνιστούν χορήγηση HBIG στους σεξουαλικούς συντρόφους ασθενών με οξεία HBV λοίμωξη (0.06 mL/kg IM) με τη δόση να δίνεται μέσα σε 2 εβδομάδες από την τελευταία έκθεση και παράλληλα έναρξη εμβολιασμού. Εάν ο σεξουαλικός σύντροφος είναι χρόνιος φορέας, δεν συνιστάται η χορήγηση HBIG αλλά η έναρξη εμβολιασμού. Επίσης, η χορήγηση υπερανόσου σφαιρίνης συνιστάται μετά από τρύπημα με βελόνα ή δάγκωμα από φορέα HBV σε άτομο ευαίσθητο στον ιό, παράλληλα με την έναρξη εμβολιασμού.

Σε όλα τα νεογέννητα, που γεννούνται από HBsAg θετικές μητέρες συνιστάται η χορήγηση 0.5 ml HBIG, όσο το δυνατόν νωρίτερα μετά τη γέννηση, ανεξάρτητα από την ύπαρξη HBeAg στη μητέρα, καθώς και η έναρξη εμβολιασμού²⁵³. Τα τελευταία χρόνια, στις περισσότερες χώρες ελέγχονται όλες οι εγκυμονούσες για HBsAg, όχι μόνο εκείνες με ιστορικό έκθεσης σε υψηλό κίνδυνο για ηπατίτιδα Β, ούτως ώστε με αυτή την πρακτική να μειωθεί η μετάδοση της νόσου από μητέρα σε παιδί σε ομάδες πληθυσμού χαμηλού κινδύνου²⁵⁴. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι εμβολιασμοί με ή χωρίς σφαιρίνη είναι εξίσου επαρκείς για προφύλαξη και πιθανόν η χορήγηση της σφαιρίνης (HBIG) στα νεογνά να μην είναι απαραίτητη^{255,256}.

(δ). Ενεργητική προφύλαξη με χρησιμοποίηση εμβολίου. Για να πραγματοποιηθεί ουσιαστική μείωση της HBV νοσηρότητας θα πρέπει το ποσοστό του ανόσου πληθυσμού να ξεπερνά το 90% και ακόμη και τότε τα αποτελέσματα θα είναι εμφανή μετά την πάροδο 20-25 χρόνων²⁵⁷. Το ποσοστό αυτό μπορεί να επιτευχθεί μόνο με μαζικό εμβολιασμό και οι λόγοι για τους οποίους κάτι τέτοιο θα πρέπει να γίνεται, στα βρέφη τουλάχιστον, είναι πολλοί²⁵⁸. Είναι πιο φθηνός ο εμβολιασμός που αρχίζει από βρεφική ηλικία (γιατί δεν χρειάζεται πάντοτε έλεγχος των δεικτών ηπατίτιδας, και σε ορισμένα σκευάσματα η δόση που χορηγείται είναι μισή σε ποσότητα). Επίσης, στην ηλικία αυτή γίνονται συστηματικά και άλλοι εμβολιασμοί, οπότε είναι ευκολότερη και η συμμόρφωση των γονέων στο χρονοδιάγραμμα του εμβολιασμού.



Η πρώτη γενεά εμβολίων παρήχθη από ορό μολυσματικών ατόμων και άρχισε να εφαρμόζεται από το 1981. Παρά τις επιφυλάξεις που διατυπώθηκαν μήπως μεταδίδει άλλα λοιμώδη νοσήματα και οι προφυλάξεις αυτές έγιναν εντονότερες με την εμφάνιση του AIDS, η εκτεταμένη χρήση τους έδειξε ότι είναι απολύτως ασφαλή. Η πρόοδος της γενετικής μηχανικής και η ανάγκη για μεγαλύτερες ποσότητες εμβολίου έδωσε στην κυκλοφορία το 1986 τα γενετικώς ανασυνδυασμένα εμβόλια.

Τα ποσοστά ανταπόκρισης είναι πολύ μεγάλα και η ανάπτυξη αντισωμάτων ποικίλλει από 80-95%²⁵⁹.

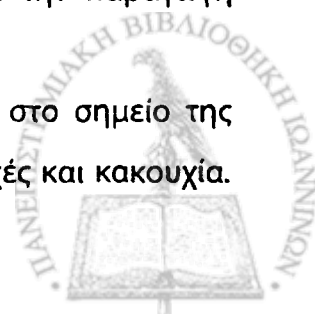
Ο τίτλος των αντισωμάτων που θεωρείται προστατευτικός είναι >10 mIU/ml. Από τις πρώτες μελέτες φαίνεται ότι το 35% των ανταποκριθέντων στο εμβόλιο είχαν <10 mIU/ml τίτλο μετά την πάροδο 5 ετών¹⁵¹, ενώ σε εμβολιασμένους ομοφυλόφιλους με καλούς τίτλους αντι-HBs υπήρξε 1,8% ετήσια προσβολή από HBV²⁶⁰, αλλά στις περισσότερες περιπτώσεις ήταν απλές ορολογικές μετατροπές. Έχουν παρουσιασθεί και κλινικές νοσήσεις σε ανταποκριθέντες στον εμβολιασμό και αυτό φαίνεται ότι οφείλεται σε μεταλλάξεις του ιού¹²⁷, κυρίως όταν έχουμε την απλή μετάλλαξη που αντικαθίσταται ένα μόριο γλυκίνης από αργινίνη στη θέση 145 του επιτόπου α²⁶¹.

Παράγοντες που σχετίζονται με μειωμένη ανταπόκριση στο εμβόλιο, έχουν θεωρηθεί ότι είναι η ηλικία (μεγαλύτερες ηλικίες), αλκοολισμός, η μόλυνση με HIV, η ανοσοκαταστολή και η νεφρική ανεπάρκεια²⁶². Τελευταία, θεωρείται ότι υπάρχει συσχέτιση της ανταπόκρισης στο εμβόλιο με το μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας στα υγιή άτομα και συγκεκριμένα ο ομόζυγος απλότυπος HLA B8, SC01, DR3 έχει αυξημένες πιθανότητες μη ανταπόκρισης και αυτή η ιδιότητα κληρονομείται κατά τον επικρατούντα χαρακτήρα²⁶³.

Έχουν προταθεί διάφορα σχήματα εμβολιασμού, ιδιαίτερα για τη βρεφική ηλικία, που έχουν τα ίδια αποτελέσματα ως προς την ανταπόκριση, αλλά φαίνεται ότι το σχήμα 3, 4, 5, 11 έδωσε υψηλότερους μέσους γεωμετρικούς τίτλους αντισωμάτων²⁶⁴. Στους ενήλικες, το σχήμα που έχει επικρατήσει είναι 0, 1 και 6 μήνες.

Εάν παραστεί ανάγκη αναμνηστικής δόσης σε άτομα που έχουν εμβολιασθεί με εμβόλιο από πλάσμα, καλύτερα είναι να χορηγηθεί εμβόλιο της ίδιας προέλευσης, διότι η χρήση ανασυνδυασμένου εμβολίου για αναμνηστική δόση προκάλεσε την παραγωγή μικρότερου τίτλου αντισωμάτων²⁶⁵.

Οι επιπλοκές του εμβολίου είναι συνήθως πόνος και ερεθισμός στο σημείο της ένεσης, και ελαφρά πυρετική κίνηση, ανορεξία, γαστρεντερικές διαταραχές και κακουχία.



Σοβαρές επιπλοκές που έχουν αναφερθεί αφορούν πολυνευροπάθεια²⁶⁶, οζώδες ερύθημα²⁶⁷, πολυαρθρίτιδα²⁶⁸, χοριοειδίτιδα²⁶⁹, οξεία αναστρέψιμη σπειραματονεφρίτιδα.

Σήμερα, είναι γενικά παραδεκτό, ότι όλα τα παιδιά που γεννούνται από μητέρες με HBsAg πρέπει να εμβολιάζονται αμέσως μετά τη γέννηση, ανεξάρτητα αν έχουν ΗΒεΑg θετικό ή όχι. Η ταυτόχρονη χορήγηση ΗΒΙG παρότι έχει επικρατήσει δεν φαίνεται ότι είναι απόλυτα αναγκαία²⁵⁶.

Τα σχήματα που προτείνονται για τα νεογνά είναι τα εξής²⁷⁰:

α. Παιδιά θετικών μητέρων

- εμβόλιο αμέσως μετά τη γέννηση και χορήγηση 0.5 ml ΗΒΙG
- επανάληψη εμβολίου σε 1 και 6 μήνες

β. Παιδιά αρνητικών μητέρων

- εμβόλιο αμέσως μετά τη γέννηση, 2^η δόση σε 1-2 μήνες, 3^η δόση σε 6-18 μήνες, ή
- 1^η δόση το 2^ο μήνα, 2^η δόση τον 4^ο μήνα, 3^η δόση μεταξύ 6-18 μηνών. Μεταξύ 1^{ης} και 2^{ης} δόσης πρέπει να μεσολαβεί τουλάχιστον 1 μήνας και μεταξύ 2^{ης} και 3^{ης} δόσης τουλάχιστον 4 μήνες.

γ. Νεογνά μητέρων με αγνώστους δείκτες

- εμβόλιο αμέσως μετά τη γέννηση και εφόσον η μητέρα είναι ΗΒsAg θετική, χορήγηση και ΗΒΙG.

δ. Πρόωρα νεογνά υγιή

- εμβολιασμός είτε μετά τη γέννηση, είτε μετά την έξοδο από το νοσοκομείο.

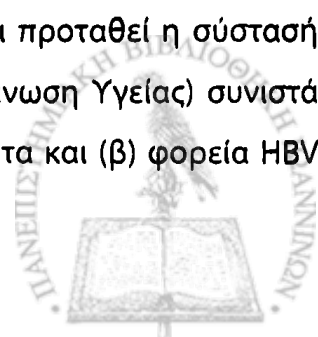
ε. Πρόωρα νεογνά ασθενή

- εμβολιασμός αφού σταθεροποιηθούν άλλα σοβαρά προβλήματα ή πριν την έξοδο τους από το νοσοκομείο.

Το εμβόλιο γίνεται ενδομυϊκά στα μεν νεογνά στην πρόσθια επιφάνεια του τετρακέφαλου, στα δε μεγαλύτερα βρέφη, παιδιά και ενήλικες στο δελτοειδή.

Η χορήγηση του εμβολίου της ηπατίτιδας Β μαζί με άλλα εμβόλια (τετάνου, διφθερίτιδας, κοκκύτη, κλπ) δεν επηρεάζει την ανοσολογική απάντηση και γίνονται προσπάθειες για παρασκευή πολυδυνάμων εμβολίων.

Γενικό εμβολιασμό είχαν συστήσει αρχικά 35 χώρες και έχει προταθεί η σύστασή του σε όλες τις χώρες από το 1997, ενώ η WHO (Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας) συνιστά γενικό εμβολιασμό βρεφών, όταν (α) υπάρχει οικονομική δυνατότητα και (β) φορεία ΗΒV μεγαλύτερη του 2.5%²⁷¹.



3.7. ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΗΒV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Ο σκοπός της θεραπείας της ηπατίτιδας Β περιλαμβάνει:

- αναστολή του πολλαπλασιασμού του ΗΒV ή την πλήρη εξουδετέρωσή του.
- περιορισμό της προοδευτικά εξελισσόμενη ηπατική βλάβης, ούτως ώστε να προληφθεί η εξέλιξη σε χρονιότητα και κίρρωση.
- πρόληψη του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος που σχετίζεται με συνεχιζόμενη ΗΒV λοίμωξη και παρουσία κίρρωσης.
- ελάττωση της θνητότητας, που είναι απώτερος σκοπός της θεραπείας.

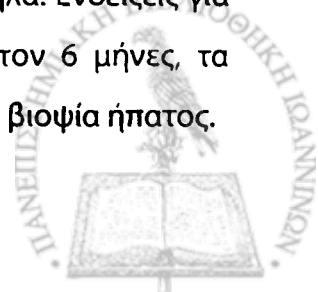
Έτσι, σε θεραπεία υποβάλλονται οι ασθενείς με ενεργό ιικό πολλαπλασιασμό και βιοχημικές ή ιστολογικές ενδείξεις ηπατοκυτταρικής βλάβης.

Αρκετά φάρμακα έχουν χρησιμοποιηθεί ως τώρα στη χρόνια ΗΒV (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. Παράγοντες που έχουν μελετηθεί για θεραπεία ασθενών με ηπατίτιδα Β.

Αντιιικοί	Ανοσοτροποποιητικοί	Αντιιικοί και ανοσοτροποποιητικοί
ΑΡΑ-Α	Κορτικοειδή	Ιντερλευκίνη-2
ΑΡΑ-ΑΜΡ	Αζαθειοπρίνη	Ιντερλευκίνη-12
Ασικλοβίρη	Λεβαμιζόλη	Παράγων νέκρωσης όγκων (ΤΝF)
Ριμπαβιρίνη	Θυμοσίνη	Ιντερφερόνη-α
Αζιδοθυμιδίνη		
Φιαλουριδίνη		

Η θεραπεία μπορεί να είναι αποτελεσματική όταν υπάρχει ανοσολογική αντίδραση του οργανισμού έναντι του ιού της ηπατίτιδας Β, που εκδηλώνεται με αύξηση των τρανσαμινασών. Αυτό συμβαίνει (α) στο στάδιο της κάθαρσης ή της ορομετατροπής στη χρόνια ηπατίτιδα Β όπου οι τρανσαμινάσες είναι αυξημένες και τα επίπεδα του ΗΒeAg και του ΗΒV-DNA βρίσκονται σε υψηλά επίπεδα και (β) στο στάδιο του μεταλλαγμένου ιού (μετάλλαξη στη θέση 1896, που αντιστοιχεί στην προπυρηνική περιοχή του γονιδιώματος του ιού της ηπατίτιδας Β) όπου υπάρχει αύξηση των τρανσαμινασών, δεν παράγεται ΗΒeAg, υπάρχει όμως το αντι-ΗΒe, και τα επίπεδα του ΗΒV-DNA είναι υψηλά. Ενδείξεις για θεραπεία αποτελούν η παρουσία ΗΒeAg ή/και ΗΒV-DNA για τουλάχιστον 6 μήνες, τα αυξημένα επίπεδα τρανσαμινασών και η παρουσία χρόνιας φλεγμονής στη βιοψία ήπατος.



3.7.1. Ιντερφερόνη-άλφα (IFN-α)

Οι ιντερφερόνες αποτελούν σύνθετη ομάδα πρωτεϊνών ή γλυκοπρωτεϊνών MB 15.000-21.000 D και είναι η πρώτη απάντηση του οργανισμού έναντι των ιογενών λοιμώξεων. Η ιντερφερόνη-άλφα είναι η πιο γνωστή και ευρύτετα χρησιμοποιούμενη στην κλινική πράξη. Έχει περισσότερους από 30 υποτύπους και το μεγαλύτερο ενδιαφέρον βιολογικώς παρουσιάζει ο υπότυπος 2 (IFN-α2).

Παράγεται με δύο διαφορετικές τεχνικές: από ανθρώπινα λεμφοβλαστοειδή κύτταρα *in vitro* (λεμφοβλαστοειδής IFN-α) και με την τεχνική του ανασυνδυασμένου DNA από *E.coli* (IFN-α2a και IFN-α2b).

Η δράση της IFN-α είναι διπλή: καταστέλλει τον ιικό πολλαπλασιασμό και επιδρά στην ανοσολογική απάντηση του ξενιστή.

Η αντιϊκή δράση αρχίζει μετά από σύνδεση της IFN-α με κυτταρικούς υποδοχείς επιφανείας και συνεχίζεται μέσω ενδοκυττάρων ενζυμικών συστημάτων της 2', 5' αδενυλικής συνθετάσης και μιας πρωτεϊνικής κινάσης που έχουν σαν τελικό αποτέλεσμα την αναστολή σύνθεσης των ιικών πρωτεϊνών.

Οι μηχανισμοί ανοσοτροποποιητικής δράσης της IFN-α είναι πολύπλοκοι και περιλαμβάνουν: αύξηση της έκφρασης του HLA κλάσης I αντιγόνων στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων, αύξηση της έκφρασης των Fc υποδοχέων για IgG ανοσοσφαιρίνες, ενεργοποίηση των φυσικών φονικών λεμφοκυττάρων, αύξηση της κυτταροτοξικότητας των T-λεμφοκυττάρων και άλλοι. Η ανοσοτροποποιητική δράση της IFN-α θεωρείται η κύρια υπεύθυνη για την αποτελεσματικότητά της στη θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β.

Η αποτελεσματικότητα της IFN-α παρουσιάζει διαφορές όταν χορηγείται στη χρόνια λοίμωξη από τον αρχέγονο ιό (wild type) που εκφράζει στον ορό το HBeAg και στη χρόνια λοίμωξη από το προπυρηνικά μεταλλαγμένο στέλεχος του ιού που δεν εκφράζει το HBeAg αλλά χαρακτηρίζεται από την παρουσία του αντι-Hbe στον ορό.

Η χορήγηση της IFN-α συνοδεύεται από πολλές παρενέργειες. Στην αρχή της χορήγησης παρουσιάζεται ένα γριππώδες σύνδρομο που υποχωρεί με τη συνέχιση της θεραπείας.

Αργότερα παρουσιάζεται αλωπεκία, κατάθλιψη, ευερεθιστότητα, μυελοτοξικότητα, αυτοάνοσα φαινόμενα, λοιμώξεις και διάφορες άλλες εκδηλώσεις που μπορεί να προκαλέσουν διακοπή της θεραπείας.



Σημαντική εξέλιξη στη χορήγηση της ιντερφερόνης αποτελεί η εισαγωγή στη θεραπευτική της πολυαιθυλενικής-ιντερφερόνης (PEG-ιντερφερόνη) η οποία έχει μακρό χρόνο δράσης και χορηγείται υποδόρια μια φορά την εβδομάδα, αντί της καθημερινής ή κάθε δεύτερη ημέρα χορήγησης της συνηθισμένης ιντερφερόνης.

3.7.1.1. Θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β με ΗΒεΑg (+).

Η αποτελεσματικότητα της IFN-α στη θεραπεία της ΗΒεΑg θετικής χρόνιας ηπατίτιδας Β, έχει μελετηθεί σε μεγάλη έκταση καθώς αποτελεί τη συχνότερη μορφή χρόνιας ηπατίτιδας Β στις χώρες του Δυτικού κόσμου.

Χορηγείται IFN-α 5MU καθημερινά ή 9-10 MU 3φορές την εβδομάδα, υποδόρια ή ενδομυϊκά για 6 μήνες.

Το 30% των ασθενών παρουσιάζουν ορομετατροπή του ΗΒεΑg σε αντι-Ηbe, που συνοδεύεται από κλινική, ιολογική (εξαφάνιση του ΗΒV-DNA με τη μέθοδο υβριδισμού), βιοχημική (φυσιολογικές τρανσαμινάσες) και ιστολογική ύφεση της νόσου που τις περισσότερες φορές είναι μακροχρόνια²⁷².

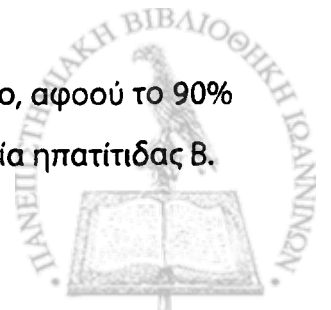
Σε ασθενείς που ανταποκρίνονται στην IFN-α, παρουσιάζεται αύξηση των τρανσαμινασών 6-8 εβδομάδες από την έναρξη της θεραπείας, γεγονός που εκφράζει την επιτυχημένη προσπάθεια του ανοσιακού συστήματος να καθαρίσει τα μολυσμένα ηπατοκύτταρα.

Στην ομάδα αυτή των ασθενών ανταποκρίνονται καλύτερα αυτοί που έχουν χαμηλό ΗΒV-DNA στον ορό (<200 pg/ml) αυξημένες τρανσαμινάσες (>2πλάσιο της ανώτερης φυσιολογικής τιμής), ιστολογικά ενεργό νόσο, ιστορικό οξείας ηπατίτιδας Β, μικρή διάρκεια λοίμωξης, απουσία ανοσοανεπάρκειας και οριζόντια περιγεννητική μετάδοση. Η μεγάλη πλειοψηφία των ανταποκριθέντων στη θεραπεία διατηρούν καλή ανταπόκριση.

Σπάνια όμως συμβαίνει εκρίζωση του ιού. Οι περισσότεροι από τους ανταποκριθέντες συνεχίζουν να έχουν ανιχνεύσιμο το ΗΒV-DNA με PCR εκτός και αν έχουν χάσει το ΗΒsΑg.

3.7.1.2. Θεραπεία ΗΒεΑg (-) / ΗΒV-DNA (+) χρόνιας ηπατίτιδας Β.

Η παραπάνω κατηγορία αφορά κυρίως τις χώρες περί την Μεσόγειο, αφού το 90% των ασθενών σε αυτή τη γεωγραφική περιοχή ανήκει σε αυτή την κατηγορία ηπατίτιδας Β.



Το ευρύτερα εποδεκτό θεραπευτικό σχήμα είναι η χορήγηση υπόδοριου 3 MU IFN-α τρεις φορές την εβδομάδα για ένα έτος. Με την αύξηση της δόσης δεν βελτιώνεται ουσιαστικά το αποτέλεσμα, ενώ σημαντικό ρόλο σε αυτούς τους ασθενείς διαδραματίζει η διάρκεια της θεραπείας.

Η ανταπόκριση στο τέλος της θεραπείας είναι πολύ υψηλή και φθάνει στο 60-80%, αλλά δυστυχώς το μεγαλύτερο ποσοστό αυτών των ασθενών (>60%) υποτροπιάζει μέσα σε ένα χρόνο μετά τη διακοπή της αγωγής^{273,274}.

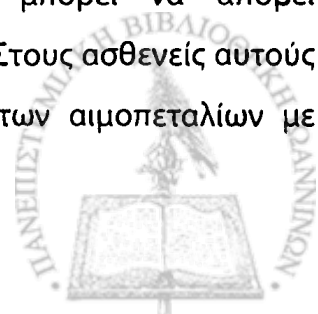
Μακροχρόνια (πενταετής) βιοχημική ανταπόκριση παρατηρείται σε ποσοστό 24% μετά από 12μηνιαία θεραπεία και σε 28% μετά 24μηνιαία θεραπεία με IFN-α²⁷⁵, ενώ μόνο το 1/3 των ασθενών που εισέρχονται σε μακροχρόνια ύφεση αρνητικοποιούν το HBsAg σε μέσο χρόνο περίπου 2 ετών από την έναρξη της αγωγής.

Αξίζει να σημειωθεί ότι κατά τη διάρκεια της αγωγής με IFN-α δεν παρατηρείται έξαρση της ηπατικής νόσου στην πλειονότητα των ασθενών αυτών, σε αντίθεση με ότι συμβαίνει στους HBeAg (+) ασθενείς, που η εξαφάνιση του HBeAg το οποίο έχει ανοσοκατασταλτική δράση, έχει σαν συνέπεια την έντονη ανοσοκατασταλτική αντίδραση του οργανισμού έναντι του ιού, που εκφράζεται με αύξηση των τρανσαμινασών.

3.7.1.3. Θεραπευτικά αδιέξοδα από τη χρήση της IFN-α.

Τα ποσοστά παρατεταμένης ανταπόκρισης στη θεραπεία με IFN-α για HBeAg (+) και HBeAg(-) ασθενείς είναι περίπου 30% και η διαφορά στις δύο αυτές ομάδες ευρίσκεται στο ότι στους HBeAg(-) απαιτείται θεραπεία μεγαλύτερης διάρκειας. Τα ποσοστά αυτά δεν είναι ικανοποιητικά. Επιπλέον, αντενδύκνεται η χορήγηση IFN-α στις παρακάτω περιπτώσεις:

1. Σε ανοσοκατασταλμένους και σε όσους παίρνουν ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, γιατί όπως ελέχθη, η ανοσοτροποποιητική δράση της IFN-α είναι η κύρια δράση της για την εξάλειψη του ιού της χρόνιας ηπατίτιδας B²⁷⁶.
2. Σε μη αντιρροπούμενη κίρρωση η χορήγησή της είναι επικίνδυνη γιατί η προκαλούμενη καταστροφή ηπατικών κυττάρων που λαμβάνει τη μορφή οξείας ηπατίτιδας που συμβαίνει στους HBeAg(+) ασθενείς, μπορεί να αποβεί θανατηφόρος λόγω των ελαττωμένων ηπατικών εφεδρειών. Στους ασθενείς αυτούς η χορήγηση IFN-α μπορεί να μειώσει πολύ τον αριθμό των αιμοπεταλίων με



αποτέλεσμα σοβαρές αιμορραγίες. Επίσης, υπάρχει κίνδυνος για σοβαρές λοιμώξεις οι οποίες μπορεί να είναι θανατηφόρες.

Θα πρέπει να αναφέρουμε στα θεραπευτικά αδιέξοδα τις υποτροπές και την μη ανταπόκριση στη θεραπεία. Επίσης, πρέπει να υπολογισθούν οι παρενέργειες του φαρμάκου που οδηγούν το 5-10% των ασθενών σε διακοπή της θεραπείας.

Για την αντιμετώπιση αυτών των αδιεξόδων γίνεται έντονη προσπάθεια για την εισαγωγή νέων φαρμάκων με πιο ελπιδοφόρα τα νουκλεοσιδικά ανάλογα.

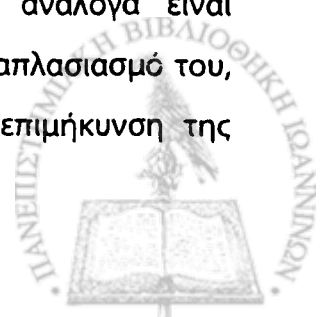
3.7.2. Νουκλεοσιδικά ανάλογα

Είναι αντιϊκά φάρμακα που χρησιμοποιούνται τα τελευταία χρόνια για την αντιμετώπιση διαφόρων λοιμώξεων ιογενούς αιτιολογίας (απλός έρπης, έρπης ζωστήρ, μεγαλοκυτταροϊός, HIV) (Πίνακας 6).

Πίνακας 6. Νουκλεοσιδικά ανάλογα με αντι-HBV δράση.

- Λαμιβουδίνη
- Φιαλουριδίνη (απεσύρθη)
- Γανσουκλοβίρη
- Φαμισκλοβίρη
- Λοβουκαβίρη
- Αδεφοβίρη
- Εντεκαβίρη
- Εμτρισιταβίνη
- Τενοφοβίρη
- Κλεβουδίνη
- (-)-β-D-dioxolan guanine και η (-)-beta-D-2-diaminopurine dioxolane – DAPD)
- β-L-FD4C(L-2'3'-dideydro-dideoxy-5-fluorocytidine)

Τα χρησιμοποιούμενα νουκλεοσιδικά ανάλογα δεν επιδρούν στην ανθρώπινη μιτοχονδριακή και πυρηνική DNA πολυμεράση. Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα είναι διδεοξυνουκλεοτίδια που ενσωματώνονται στο HBV-DNA κατά τον πολλαπλασιασμό του, αναστέλλοντας την ανάστροφη μεταγραφάση και διακόπτοντας την επιμήκυνση της νουκλεοτιδικής αλυσίδας.



Είναι ισχυροί αντιϊικοί παράγοντες που προκαλούν ελάττωση ή εξαφάνιση του HBV-DNA αλλά η εκρίζωση του ιού σπάνια επιτυγχάνεται και το HBV-DNA ταχέως επανεμφανίζεται μετά τη διακοπή της θεραπείας.

Αυτό οφείλεται κυρίως σε δύο λόγους: (α) στην έλλειψη της δράσης επί του υπερελικωμένου DNA το οποίο αποτελεί και τη δεξαμενή του ιού και έχει μακρά διάρκεια ζωής²⁷⁷ και (β) στην ιϊκή αντοχή.

Η ιϊκή αντοχή παρουσιάζεται μετά από παρατεταμένη θεραπεία με νουκλεοσιδικά ανάλογα και γίνεται κλινικά αντιληπτή σαν φαινόμενο διαφυγής, δηλαδή παρουσιάζεται υποτροπή της νόσου κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Το φαινόμενο παρατηρείται μετά 6μηνη θεραπεία ενώ με την παράταση της αντιϊκής αγωγής τα ποσοστά αυξάνονται. Οφείλεται στην εμφάνιση και επικράτηση ανθεκτικών στελεχών στα νουκλεοσιδικά ανάλογα λόγω μεταλλαγών στην περιοχή της πολυμεράσης του ιού. Οι μεταλλαγές τροποποιούν την στερεοσκοπική δομή της ανάστροφης μεταγραφάσης με αποτέλεσμα ελάττωσης της χημικής συγγένειάς της προς τα νουκλεοσιδικά ανάλογα²⁷⁸.

Οι πιο σημαντικές μεταλλάξεις βρίσκονται στη θέση 552 του γονιδιώματος της πολυμεράσης που γίνεται αντικατάσταση της Μεθειονίνης από Βαλίνη ή Ισολευκίνη και τη θέση 528 που γίνεται αντικατάσταση της Λευκίνης σε Μεθειονίνη²⁷⁸.

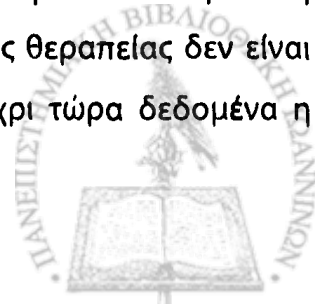
Ορισμένες μεταλλαγές μπορούν να συμβούν όχι από ένα αλλά από περισσότερα νουκλεοσιδικά ανάλογα οπότε έχουμε το φαινόμενο της διασταυρούμενης αντοχής. Αυτό δικαιολογεί τη χρησιμοποίηση ταυτόχρονα περισσότερων νουκλεοσιδικών αναλόγων.

3.7.2.1. Λαμβουδίνη.

Η λαμβουδίνη είναι το εναντιομερές της 2',3'-δεδοξυ-3'-θειακυτιδίνης. Είναι φωσφορυλιωμένη προς τριφωσφορικό το οποίο ενσωματώνεται στην αλυσίδα του DNA του ιού της ηπατίτιδας Β, στην περιοχή της ανάστροφης μεταγραφάσης. Η λαμβουδίνη, ελαττώνοντας την ιαιμία μπορεί επίσης να αναστέλλει την ελαττωμένη ανταπόκριση των Τ-λεμφοκυττάρων προς τα αντιγόνα του ιού της ηπατίτιδας Β.

Χορηγείται από το στόμα σε δόση 100 mg την ημέρα.

Απεκκρίνεται από τους νεφρούς ακέραιη και πρέπει να μειώνεται η δόση χορήγησής της σε άτομα με νεφρική ανεπάρκεια. Ο άριστος χρόνος θεραπείας δεν είναι γνωστός αλλά πρέπει να διαρκεί τουλάχιστον 1 χρόνο. Με τα μέχρι τώρα δεδομένα η



θεραπεία σταματά σε ασθενείς που παρουσιάζουν για μακρό χρονικό διάστημα μετατροπή του HBeAg σε αντι-HBe και το HBV-DNA δεν είναι ανιχνεύσιμο.

Είναι ασφαλές φάρμακο. Σπανιότατα έχει αναφερθεί αναιμία, ουδετεροπενία, ναυτία, γαλακτική οξέωση, αύξηση της αμυλάσης και περιπτώσεις οξείας παγκρεατίτιδας.

Μεγάλη αποτελεσματικότητα έχει η λαμβουδίνη όταν πριν από τη θεραπεία τα επίπεδα της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) είναι υψηλά.

Συγκεκριμένα, έχει διαπιστωθεί ότι όταν τα επίπεδα των τρανσαμινασών προ της θεραπείας ήταν πενταπλάσια της ανώτερης φυσιολογικής τιμής, η ορομετατροπή του HBeAg σε αντι-HBe ένα χρόνο μετά τη θεραπεία με λαμβουδίνη συνέβη στο 65% των ασθενών, σε αντίθεση με το 38% των ασθενών όταν τα επίπεδα των τρανσαμινασών ήταν διπλάσια^{279,280}.

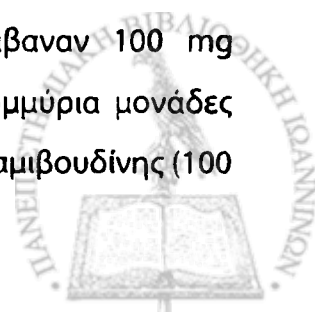
Η δράση της, ανάλογα με την ύπαρξη του HBeAg ή όχι είναι η εξής:

(α) **Σε HBeAg(+)** ασθενείς: κλινικές μελέτες έδειξαν ότι μικρής διάρκειας θεραπευτικά σχήματα (4-24 εβδομάδων) με λαμβουδίνη ήταν καλά ανεκτά και παρουσίασαν ταχεία πτώση των επιπέδων του HBV-DNA σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β. Η πτώση του HBV-DNA ήταν της τάξης του 97% μετά από θεραπεία 2 εβδομάδων. Όμως είχαμε ταχεία επανεμφάνιση του HBV-DNA μετά τη διακοπή της θεραπείας και λίγοι ασθενείς (0-12%) απαλλάχθηκαν από το HBeAg²⁸¹.

Με διάφορες ελεγχόμενες μελέτες διάρκειας ενός έτους που περιελάμβαναν περίπου 1.000 ασθενείς, παρατηρήθηκε ορομετατροπή του HBeAg σε αντι-HBe με μη ανιχνεύσιμο HBV-DNA στο 17-20% των ασθενών. Επίσης, υπήρξε επάνοδος των τρανσαμινασών σε φυσιολογικά επίπεδα και ιστολογική βελτίωση²⁸¹⁻²⁸³.

Μετά τη διακοπή της θεραπευτικής αγωγής με λαμβουδίνη, που εδίδετο για ένα έτος, το 70-90% των ασθενών στους οποίους είχε επιτευχθεί ορομετατροπή του HBeAg, τη διατήρηση για χρονικό διάστημα 16-24 εβδομάδων²⁸⁴. Σε 58 Ασιάτες ασθενείς που έλαβαν 100 mg λαμβουδίνης ημερησίως επί 3 έτη, βρέθηκε ότι στο 40% των ασθενών έγινε ορομετατροπή του HBeAg αλλά στο 53% δημιουργήθηκαν μεταλλάξεις στην περιοχή YMDD. Αυτό αποδεικνύει ότι η παρατεταμένη θεραπεία αυξάνει τα ποσοστά ορομετατροπής αλλά και τη συχνότητα των ανθεκτικών στελεχών²⁸⁵.

Σε πρόσφατη μελέτη που συμμετείχαν 230 ασθενείς και ελάμβαναν 100 mg λαμβουδίνης ημερησίως για 52 εβδομάδες (n=82), IFN-α 10 εκατομμύρια μονάδες τρεις φορές την εβδομάδα για 16 εβδομάδες (n=69) και συνδυασμό λαμβουδίνης (100



την ημέρα) με IFN-α (10 εκατομμύρια μονάδες τρεις φορές την εβδομάδα για 16 εβδομάδες) αφού στην ομάδα αυτή είχε προηγηθεί η χορήγηση λαμβουδίνης για 8 εβδομάδες (n=75).

Τα ποσοστά ορομετατροπής του HBeAg ήταν 29% για το συνδυασμό, έναντι 19% της μονοθεραπείας με IFN-α και 18% της μονοθεραπείας με λαμβουδίνη²⁸⁶.

Μελέτες με διάφορα θεραπευτικά σχήματα είναι σε εξέλιξη για επίτευξη καλύτερων αποτελεσμάτων στη θεραπεία της χρόνιας HBV λοίμωξης με θετικό HBeAg.

(β) **Σε HBeAg(-) ασθενείς.** Η θεραπεία με λαμβουδίνη αποδείχθηκε αποτελεσματική στη θεραπεία των ασθενών αυτών με αναστολή του ιϊκού πολλαπλασιασμού και βελτίωση της ιστολογικής εικόνας, όμως οι περισσότεροι υποτροπίασαν μετά τη διακοπή της θεραπείας.

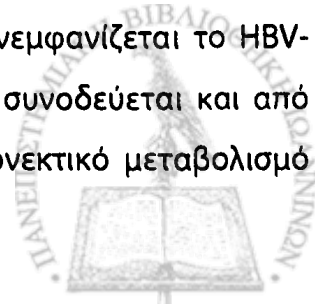
Σε πρόσφατη διεθνή, πολυκεντρική, ελεγχόμενη μελέτη φάσης III εξετάστηκε η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της λαμβουδίνης σε ασθενείς με HBeAg(-) και HBV-DNA θετική χρόνια ηπατίτιδα Β. Σε αυτή τη μελέτη που 60 ασθενείς πήραν λαμβουδίνη, μετά 52 εβδομάδες θεραπείας, το 65% είχε πλήρη ιολογική και βιοχημική ανταπόκριση, το 60% των ασθενών έδειξε ιστολογική βελτίωση, το 11% είχε βελτίωση της ίνωσης και το 27% παρουσίασε μετάλλαξη στην περιοχή YMDD. Έξι μήνες μετά το τέλος της θεραπείας, μόνο το 11% των ασθενών παρουσίαζε πλήρη ανταπόκριση²⁸⁸.

Ιϊκή αντοχή στη λαμβουδίνη. Πολύ μεγάλο πρόβλημα στη θεραπεία με λαμβουδίνη είναι η δημιουργία ιϊκής αντοχής. Οι μεταλλάξεις που δημιουργούν ιϊκή αντοχή αφορούν κυρίως την περιοχή YMDD (Τυροσίνη, Μεθειονίνη, Ασπαρτικό, Ασπαρτικό) στον τομέα C της ιϊκής πολυμεράσης.

Μελέτες in vitro έδειξαν ότι η μετάλλαξη στην περιοχή YMDD προκαλεί αντίσταση μέχρι 10.000 φορές μεγαλύτερη²⁷⁸ αποκαλύπτοντας ότι η αντιϊκή αγωγή δεν μπορεί να εξασφαλισθεί με την αύξηση της δόσης της λαμβουδίνης.

Η ανάπτυξη αντοχής στη λαμβουδίνη εμφανίζεται μετά την εξάμηνη θεραπεία με το φάρμακο αυτό. Η επίπτωση των μεταλλάξεων στην περιοχή YMDD φθάνει στο 15-25% των ασθενών μετά τη θεραπεία ενός έτους και στο 50% μετά από θεραπεία 3 ετών²⁸⁵.

Η ανάπτυξη αντοχής πρέπει να θεωρείται πιθανή όταν επανεμφανίζεται το HBV-DNA του ιού μετά από την αρχική εξαφάνισή του που μπορεί να συνοδεύεται και από αύξηση των τρανσαμινασών. Τα μεταλλαγμένα στελέχη έχουν μειονεκτικό μεταβολισμό



και καταπιέζονται από το φυσικό ιό λίγους μήνες μετά τη διακοπή της θεραπείας με λαμβουδίνη²⁸⁹. Τότε, η επαναχορήγησή της μπορεί να είναι πάλι επιτυχής για σύντομο χρονικό διάστημα. Η μακροχρόνια κλινική σημασία της αντοχής στη λαμβουδίνη δεν είναι γνωστή²⁸⁷. Σε πολλούς ασθενείς το HBV-DNA και τα επίπεδα τρυνασμινασών παραμένουν σε χαμηλότερα επίπεδα από αυτά της προ της έναρξης της θεραπείας, γεγονός που σημαίνει ότι μπορεί να υπάρχει συνεχιζόμενη επίδραση της λαμβουδίνης στον φυσικό ιό²⁸¹.

Η θεραπεία πρέπει να συνεχίζεται ακόμη και σε ασθενείς που έχουν αναπτύξει αντοχή επειδή η διακοπή της θεραπείας μπορεί να προκαλέσει δραστηριοποίηση της ηπατικής πάθησης και σπάνια ηπατική ανεπάρκεια κυρίως λόγω του πολλαπλασιασμού του φυσικού ιού. Πρόσφατη μελέτη αναφέρει ότι ορομετατροπή μπορεί να συμβεί και μετά τη δημιουργία μεταλλαγμένων στελεχών²⁹⁰. Αυτό συνηγορεί υπέρ της συνέχισης της θεραπείας παρά το φαινόμενο διαφυγής του ιού.

3.7.2.2. Φαμοικλοβίρη.

Είναι νουκλεσοδικό ανάλογο της γουανίνης. Δρα αναστέλλοντας την HBV-DNA πολυμεράση και ιδιαίτερα είναι δραστική έναντι του υπερελικωμένου DNA. Όμως η αντιϊκή της δράση είναι μικρότερη της λαμβουδίνης και παροδική²⁹¹. Τα αποτελέσματα των κλινικών μελετών φάσης III είναι μέχρι τώρα απογοητευτικά²⁹².

Προκαλεί μεταλλαγή κυρίως στην περιοχή του Β γονιδίου της HBV πολυμεράσης στη θέση 528. Προκαλείται διασταυρούμενη αντοχή με τη λαμβουδίνη. Χορηγείται σε δόση 250-750 mg τρεις φορές την ημέρα.

Έχει ελάχιστες παρενέργειες όπως κεφαλαλγία, διάρροια, ζάλη και κοιλιακό άλγος.

3.7.2.3. Αδεφοβίρη.

Είναι νουκλεοσιδικό ανάλογο της αδενοσίνης που χρησιμοποιείται για θεραπεία του απλού έρπητα και του HIV. Κλινικές μελέτες έδειξαν ότι το φάρμακο μπορεί να χρησιμεύσει σαν μονοθεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β, όμως η χρησιμότητά του έγκειται στο ότι είναι δραστικό στις περιπτώσεις ανάπτυξης μεταλλαγμένων στελεχών μετά από χρήση της λαμβουδίνης ή φαμοικλοβίρης²⁹³.



Όταν χορηγείται σε υψηλές δόσεις για μακρές περιόδους προκαλεί νεφροτοξικότητα. Το φάρμακο μπορεί να χορηγηθεί σε περίπτωση ανάπτυξης αντοχής στη λαμβουδίνη σε συνδυασμό.

3.7.2.4. Λοβουκαβίρη.

Είναι ανάλογο της γουανοσίνης με δραστικότητα έναντι πολλών ιών. Δρά στον ιό της ηπατίτιδας Β και από τις πρώτες μελέτες διαπιστώθηκε εξαφάνιση του HBV-DNA στο 68% των ασθενών μετά θεραπεία 12 εβδομάδων με δόσεις από 200-800 mg. Οι παρενέργειες είναι ελάχιστες όπως ανορεξία, ζάλη και κοιλιακά άλγη. Τελευταία το φάρμακο αποσύρθηκε λόγω πιθανής δημιουργίας νεοπλασμάτων σε ποντίκια μετά από παρατεταμένη θεραπεία²⁹⁴.

3.7.2.5. Εντεκαβίρη.

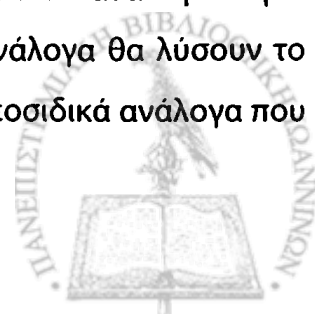
Είναι ένα νέο ελπιδοφόρο ανάλογο της γουανοσίνης το οποίο μελετάται έντονα.

Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα έχει διαπιστωθεί ότι πλεονεκτούν έναντι της IFN-α στο ότι χορηγούνται από το στόμα μία φορά την ημέρα, μπορούν να χορηγηθούν και σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα, χορηγούνται σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση, έχουν σπάνιες παρενέργειες, χορηγούνται πριν και μετά τη μεταμόσχευση ήπατος, έχουν μεγαλύτερη επίδραση στη βελτίωση της ιστολογικής εικόνας του ήπατος και είναι σχετικά φθηνά φάρμακα. Επομένως, μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην πλειονότητα των ασθενών με χρόνια HBV λοίμωξη.

Τα προβλήματα που υπάρχουν στη χρήση της είναι ότι ενώ τα επίπεδα του HBV-DNA ελαττώνονται δραματικά μετά την έναρξη της θεραπείας, κατά τη διακοπή των νουκλεοσιδικών αναλόγων επανέρχονται στα αρχικά επίπεδα.

Τα ποσοστά ορομετατροπής από HBeAg σε αντι-HBe μετά από ένα χρόνο θεραπείας κυμαίνονται από 17-20% που φθάνουν μέχρι το 40% μετά από 3 χρόνια θεραπείας. Παράλληλα όμως με την παράταση της θεραπείας εμφανίζεται το φαινόμενο της ιικής αντοχής που συντελεί στην ελάττωση του θεραπευτικού αποτελέσματος.

Ελπίζεται ότι η είσοδος στη θεραπευτική νέων νουκλεοσιδικών αναλόγων ή ο συνδυασμός ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων με νουκλεοσιδικά ανάλογα θα λύσουν το πρόβλημα της θεραπείας της ηπατίτιδας Β. Ήδη δοκιμάζονται νουκλεοσιδικά ανάλογα που



δρουν σε διαφορετικά σημεία από ότι η λαμβουδίνη (π.χ. αδεφοβίρη) και διάφορα σχήματα συνδυασμού IFN-α και λαμβουδίνης.

3.7.3. Ανοσοτροποποιητικά φάρμακα.

* Η ηπατική βλάβη στη χρόνια HBV λοίμωξη συμβαίνει λόγω της ανοσιακής απάντησης του οργανισμού έναντι του ιού. Η ανοσολογική επίθεση γίνεται με μηχανισμούς κυτταρικής ανοσίας²⁹⁵.

Οι ασθενείς που απαλλάσσονται από τον ιό, παρουσιάζουν κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα με ικανότητα σύνδεσης και αναγνώρισης ιϊκών αντιγόνων.

Έχουν δοκιμασθεί διάφορα ανοσοτροποποιητικά φάρμακα στη θεραπεία της χρόνιας HBV λοίμωξης (Πίνακας 5) χωρίς όμως ικανοποιητικό αποτέλεσμα. Επειδή πολλοί από αυτούς έχουν σχετικά τοξική δράση (IFN-α, IFN-γ, IL-2 και 12, κλπ) γίνεται προσπάθεια τοπικής παραγωγής τους εντός του παθολογικού ηπατοκυττάρου²⁹⁶.

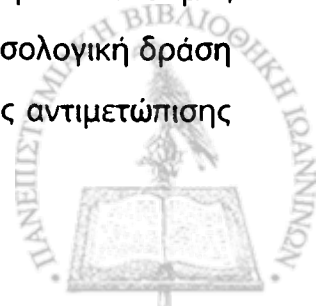
3.7.4. Συμπεράσματα.

Με βάση αυτά που αναφέρθηκαν, φαίνεται ότι η θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β με τα φάρμακα που είναι διαθέσιμα δεν μπορεί να θεωρηθεί σαν ικανοποιητική γιατί υπάρχουν ακόμη θεραπευτικά αδιέξοδα.

Η IFN-α συνεχίζει να είναι χρήσιμη σε μια επιλεγμένη ομάδα ασθενών στους οποίους προκαλεί παρατεταμένη ανταπόκριση. Στην ομάδα αυτή περιλαμβάνονται ασθενείς χωρίς ανοσοανεπάρκεια, μη κίρρωτικοί με αυξημένες τρανσαμινάσες, ΗBeAg θετικοί που απέκτησαν τη νόσο με οριζόντια μετάδοση.

Όμως σήμερα η χορήγηση λαμβουδίνης για χρονικό διάστημα τουλάχιστον ενός έτους είναι η θεραπεία εκλογής στην πλειονότητα των περιπτώσεων. Τα πλεονεκτήματα της χορήγησής της αναφέρθηκαν ήδη, όμως παρά την ταχεία ελάττωση του HBV-DNA η εκκρίζωση του ιού σπάνια επιτυγχάνεται και το HBV-DNA επανεμφανίζεται γρήγορα μετά την παύση της θεραπείας. Υπάρχει και το φαινόμενο της ιϊκής αντοχής, η αντιμετώπιση του οποίου μελετάται σήμερα με τη δοκιμή νέων νουκλεοσιδικών αναλόγων τα οποία δρουν σε διαφορετικά σημεία στο μόριο της ανάστροφης μεταγραφάσης.

Ελπίζεται ότι η συνδυασμένη θεραπεία με 2 ή περισσότερα αντιϊκά ή ο συνδυασμός αντιϊκού με ανοσοτροποποιητικούς παράγοντες που θα ενισχύσουν την ανοσολογική δράση του οργανισμού θα αποτελέσει τη λύση του τεράστιου προβλήματος της αντιμετώπισης του ιού της ηπατίτιδας Β.



4. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ ΔΕΛΤΑ (HDV)

Ο ιός της ηπατίτιδας δέλτα (HDV), ο τρίτος παράγοντας των ιογενών ηπατίτιδων που ανακαλύφθηκε από τους Rizzeto και συν, το 1977, άνοιξε νέες προοπτικές στη μελέτη των ανθρώπινων ιών και στην αντίληψη του μηχανισμού της νόσου. Μελέτες της μοριακής δομής του ιού έδειξαν ότι το HDV γένωμα έχει μια μικρού βαθμού και όχι σημαντική ομολογία με το γένωμα του HBV και δεν έχει ομολογία με κανένα άλλο ιό του ζωικού βασιλείου. Η οικογένεια των ιών που έχει τις πιο πολλές ομοιότητες μαζί του, είναι των δορυφορικών ιών του φυτικού βασιλείου. Το χαρακτηριστικό του HDV είναι ότι για να υπάρξει και να πολλαπλασιαστεί στον ξενιστή απαιτεί την παρουσία του HBV και μόνο τότε μπορεί να προκαλέσει λοίμωξη και νόσο. Ο HDV προκαλεί λοίμωξη με δύο τρόπους: (1) σαν συλλοίμωξη με τον HBV και (2) σαν επιλοίμωξη σε ήδη HBV φορέα. Οι συνέπειες από τον τρόπο προσκλήσεως της λοίμωξης διαφέρουν σημαντικά. Συλλοίμωξη με HBV οδηγεί σε οξεία ηπατίτιδα που μπορεί να είναι κεραυνοβόλος αλλά τις περισσότερες φορές, όπως όταν προσβάλλει μόνος του ο HBV, η λοίμωξη είναι αυτοπεριοριζόμενη με ανάρρωση και από τις δύο λοιμώξεις. Επιλοίμωξη σε ένα φορέα HBV, ενώ αρχικά μπορεί να προκαλέσει οξεία ή κεραυνοβόλο ηπατίτιδα, συνήθως οδηγεί σε χρόνια HBV λοίμωξη και χρόνια ηπατίτιδα. Άτομα χρονίως πάσχοντα από HBV-HDV αποτελούν την κύρια πηγή μετάδοσης της HDV παγκοσμίως.

4.1. ΙΟΛΟΓΙΑ

4.1.1. Δομή και βιολογία του ιού

Ο ιός της ηπατίτιδας δέλτα (HDV) είναι ένας μικρός, ελλειμματικός RNA ηπατοτρόπος ιός, διαμέτρου περίπου 36 nm. Το HDV-RNA είναι κυκλικό, μονής έλικας και αποτελείται από 1,75 kB που κωδικοποιούν την μοναδική του πρωτεΐνη, το HDAg (αντιγόνο του ιού της ηπατίτιδας δέλτα) που με τη σειρά της επηρεάζει τη σύνθεση του HDV-RNA. Τελευταίες έρευνες έχουν δείξει ότι υπάρχουν δύο ενδοκυτταρικές μορφές HDAg: το μικρό HDAg (195 αμινοξέα) απαραίτητο για τη σύνθεση του HDV-RNA και το μεγάλο HDAg (214 αμινοξέα), που αναστέλλει τη σύνθεση RNA και είναι απαραίτητο για την οργάνωση του σωματιδίου του ιού^{297,298}. Για τον πολλαπλασιασμό του, ο ιός Δέλτα, έχει ανάγκη του

περιβλήματος του HBV, επειδή δεν διαθέτει δικό του, και χρησιμοποιεί τις μικρού και μεσαίου μεγέθους πρωτεΐνες της επιφάνειας του περιβλήματος του HBV για να σχηματίσει το περίβλημα του ιϊκού σωματιδίου δέλτα²⁹⁹.

Έτσι, για την είσοδο και πολλαπλασιασμό του HDV στα ηπατοκύτταρα είναι απαραίτητη η παρουσία του HBsAg χωρίς να είναι απαραίτητος ο ενεργός πολλαπλασιασμός του HBV.

Σε αντίθεση με τους Ρίκο-RNA ιούς που έχουν πρωτοπλασματική εντόπιση, ο ιός δέλτα εντοπίζεται στον πυρήνα του ηπατοκυττάρου.

Με νεώτερες παρατηρήσεις σε χιμπατζήδες και σε άτομα με κίρρωση που λόγω B+D λοίμωξης υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση, φαίνεται να κλονίζεται η θεωρία της απαραίτητης παρουσίας του HBV για επιβίωση του ιού δέλτα.

Και αυτό γιατί, σε μεταμοσχευθέντες, ο ιός δέλτα επαναμολύνει το μόσχευμα, πιθανόν από εξωηπατικές πηγές, χωρίς να προκαλεί κλινική ηπατίτιδα, που όμως εκδηλώνεται αν υποτροπιάσει η HBV λοίμωξη³⁰⁰.

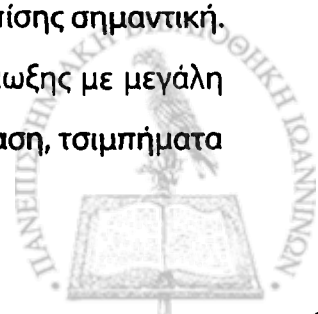
4.2. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ – ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

4.2.1. Ενδημικότητα – Τρόποι μετάδοσης.

Ο HDV μεταδίδεται με τους ίδιους τρόπους όπως και ο HBV (εκτός από την περιγεννητική μετάδοση που είναι σπάνια), δηλαδή με έκθεση σε αίμα ή σωματικά υγρά που περιέχουν αίμα και με σεξουαλική επαφή, αλλά όπως ήδη αναφέρθηκε, μπορεί να μολύνει μόνο ασθενείς που είναι ήδη φορείς του HBV (επιλοίμωξη) είτε να μολύνει συγχρόνως με τον HBV (συλλοίμωξη). Μεγάλος αριθμός μελετών έχει δείξει ότι άνθρωποι και χιμπατζήδες που ήταν άνοσοι στον HBV δεν μολύνθηκαν από HDV^{301,302}. Ομοίως, άτομα που εμβολιάστηκαν για ηπατίτιδα Β και ανέπτυξαν προστατευτικά αντισώματα έναντι του HBV προστατεύονται από HBV λοίμωξη.

Η πηγή της HDV λοίμωξης αποτελείται από άτομα που είναι είτε σε οξεία, είτε σε χρόνια ή επιμένουσα HDV λοίμωξη εφόσον υπάρχει HDV ιαίμια.

Μετάδοση του HDV με αίμα δια μέσου της δερματικής οδού είναι επίσης σημαντική. Σε παιδιά, στις αναπτυσσόμενες χώρες έχει συνδεθεί η μετάδοση της λοίμωξης με μεγάλη συχνότητα ανοικτών δερματικών βλαβών που οφείλονται σε έκζεμα, ψωρίαση, τσιμπήματα



εντόμων^{303,304}. Η αιμοκάθαρση επίσης έχει ενοχοποιηθεί, ενώ αναφέρεται η μετάδοση HDV+HBV λοίμωξης από κρεοπωλείο που ενοχοποιήθηκε η μόλυνση του περιβάλλοντος³⁰⁵. Μολονότι η σταθερότητα του HDV στο περιβάλλον δεν έχει μελετηθεί, φαίνεται πιθανόν από επιδημιολογικά δεδομένα ότι ο HDV μπορεί να επιβιώσει για τουλάχιστον μικρό διάστημα. Η περιγεννητική μετάδοση της HDV λοίμωξης, από HBV-HDV φορείς μητέρες στα νεογνά παρότι έχει ευρεθεί, είναι πολύ σπάνια.

Ο κίνδυνος μετάδοσης HDV στο νεογνό, όπως και της HBV εξαρτάται κυρίως από την παρουσία του HBeAg στη μητέρα³⁰⁶.

Σύμφωνα με την μελέτη των Zanetti και συν.³⁰⁶ διαπιστώνεται ότι μόνο ένα μικρό που γεννήθηκε από HBeAg και HDV θετική μητέρα παρουσίασε HBV και HDV συλλοίμωξη και φορεία των 2 ιών.

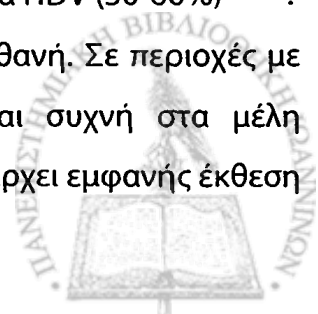
Αντιθέτως, από 24 παιδιά που γεννήθηκαν από αντι-HBe και HDV θετικές μητέρες, μόνο 1 ανέπτυξε HBV-HDV συλλοίμωξη αλλά αργότερα αρνητικοποιήθηκε στο HBsAg και ανέπτυξε αντι-HBs.

Επειδή, οι περισσότεροι ενήλικες με HBV-HDV λοίμωξη είναι αντι-HBe θετικοί, η σημασία της περιγεννητικής μετάδοσης της HDV είναι μικρή σε αντίθεση με ότι συμβαίνει στην HBV λοίμωξη. Η μετάδοση της HDV λοίμωξης μέσω της σεξουαλικής οδού υποδηλώνεται από την υψηλή της συχνότητα μεταξύ ιεροδούλων³⁰⁷, σεξουαλικών συντρόφων ναρκομανών με HBV+HDV^{219,308} και σε ομοφυλόφιλους που δεν κάνουν χρήση ενδοφλέβιων ναρκωτικών³⁰⁹.

Η σεξουαλική μετάδοση είτε σαν συλλοίμωξη, είτε σαν επιλοίμωξη σε HBV είναι εξίσου συχνή και με ετερόφυλη ή ομοφυλόφιλη επαφή. Στους ομοφυλόφιλους που δεν κάνουν χρήση ναρκωτικών, ο κίνδυνος HDV μετάδοσης αυξάνει με τον αριθμό των σεξουαλικών συντρόφων και τη συχνότητα των πρωκτικών επαφών³⁰⁹.

Όμως, από τις διάφορες εργασίες για ομοφυλόφιλους άνδρες που δημοσιεύονται φαίνεται ότι η σεξουαλική μετάδοση της HDV είναι λιγότερο συχνή από εκείνη της HBV λοίμωξης καθώς επίσης και από τη μετάδοση μέσω του αίματος. Έτσι, η HDV συχνότητα στους μεν ομοφυλόφιλους φορείς HBV κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα (<10%) σε αντίθεση με τους ναρκωμανείς φορείς HBV που παρουσιάζουν υψηλή συχνότητα HDV (30-60%)^{310,311}.

Η μετάδοση του HDV με λιγότερο ευκρινείς τρόπους είναι πιθανή. Σε περιοχές με υψηλή HBV ενδημικότητα, η μετάδοση της HDV λοίμωξης είναι συχνή στα μέλη οικογενειών φορέων HBV-HDV ακόμη και σε περιπτώσεις που δεν υπάρχει εμφανής έκθεση



σε αίμα³⁰⁷. Σε ιδρύματα επίσης έχει εμφανισθεί αυξημένος αριθμός κρουσμάτων μεταξύ HBV φορέων³¹². Πιθανόν, στις περιπτώσεις αυτές η χρησιμοποίηση από τα μέλη των οικογενειών κοινών οδοντόβουρτσων, ξυραφιών. Στα ιδρύματα διανοητικά κρησθαυστερημένων, δαγκώματα ή έκθεση διαμέσου ανοικτών πληγών του δέρματος σε μολυσματικά υλικά πιθανόν να είναι αίτια μετάδοσης του ιού. Δεν έχει προσδιορισθεί ακόμη αν ο σίελος και το σπέρμα περιέχουν ιούς ηπατίτιδας δέλτα. Το σπέρμα και τα κολλικά υγρά μπορεί να είναι μολυσματικά, λόγω της μετάδοσης του ιού δια της σεξουαλικής οδού αλλά δεν γνωρίζουμε ακόμη τι συμβαίνει με το σιελο. Δεν έχει αποδειχθεί ότι γίνεται μετάδοση της λοίμωξης με την κοπρανο-στοματική οδό, το νερό ή τον αέρα.

4.2.1.1. HDV και μεταγγίσεις

Μετάδοση του HDV μέσω της συνηθισμένης μετάγγισης ερυθρών είναι σπάνια ($<1/3.000$)³¹³, λόγω ελέγχου του μεταγγιζόμενου αίματος ως προς το HBsAg με ευαίσθητες τεχνικές. Σε ασθενείς όμως που μεταγγίζονται με παράγωγα αίματος που προέρχονται από ανάμειξη χιλιάδων μονάδων πλάσματος, όπως συμβαίνει με τους παράγοντες πήξης, όπου και η επιλογή των αιμοδοτών μπορεί να μην πληροί τις σωστές διαδικασίες, ο αριθμός της μετά μετάγγιση HDV αυξάνεται. Σήμερα όμως, με τις μεταβολές που έχουν γίνει στην τεχνική κλασματοποίησης και αδρανοποίησης του πλάσματος, κυρίως λόγω του κινδύνου HIV μετάδοσης, έχουμε μεγαλύτερη μείωση του κινδύνου HDV μόλυνσης με τις μεταγγίσεις^{313,314}.

4.2.1.2. Διασπορά του ιού και ενδημικότητα της νόσου

Η HDV λοίμωξη εμφανίζονται παγκόσμια, εξαρτώμενη η παρουσία της από την συχνότητα της ηπατίτιδας Β σε συγκεκριμένες περιοχές. Για να καθορισθεί η συχνότητα της HDV λοίμωξης πρέπει να μελετηθεί ο αριθμός των ασυμπτωματικών φορέων ηπατίτιδας Β, οι περιπτώσεις οξείας Β, ο αριθμός των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα ή κίρρωση. Επειδή η HDV λοίμωξη αυξάνει τη σοβαρότητα της οξείας και χρόνιας ΗΒV λοίμωξης, η συχνότητα της HDV είναι συνήθως 3-10 φορές υψηλότερη μεταξύ ατόμων με χρόνια ηπατίτιδα σε σχέση με τους ασυμπτωματικούς ΗΒV φορείς, καθώς και σε εκείνους με κεραυνοβόλο ηπατίτιδα σε σχέση με τις οξείες ηπατίτιδες στον ίδιο πληθυσμό.



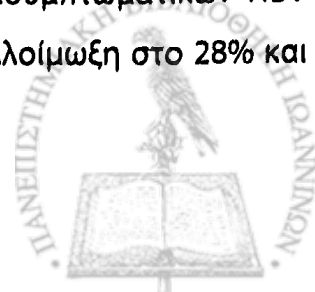
Έτσι, όταν καθορίζουμε τον επιπολασμό της HDV λοίμωξης σε διάφορους πληθυσμούς, θα πρέπει να υπολογίζουμε τη συχνότητα των ασυμπτωματικών HBV φορέων και των ασθενών με χρόνια HBV και να γίνει σύγκριση μεταξύ των διαφόρων εξεταζομένων πληθυσμών. Σύμφωνα με αυτό τον προσδιορισμό έχουν βρεθεί διάφοροι τύποι ενδημικότητας της HDV παγκόσμια³¹⁵ (Πίνακας 7)

Πίνακας 7. Τύποι ενδημικότητας HDV λοίμωξης.

Τύπος	% συχνότητα HDV σε:	
	ασυμπτωματικοί HBV φορείς	Χρόνια HBV ή κίρρωση από HBV
Πολύ μικρή	0-2%	< 10%
Μικρή	3-9%	10-25%
Μέτρια	10-19%	30-60%
Υψηλή	> 20%	> 60%

Περιοχές με υψηλό επιπολασμό του HDV είναι στην Ευρώπη οι Μεσογειακές χώρες καθώς επίσης η Ρουμανία και η πρώην Σοβιετική Ένωση, όπου αντίστοιχα 95% και 80% των φορέων HBsAg βρέθηκαν θετικοί και στον HDV. Ενδημική η HDV λοίμωξη είναι στη Μέση Ανατολή, στις χώρες πέριξ του Αμαζονίου, σε μερικά νησιά του Ειρηνικού και σε μέρη της Κεντρικής Αφρικής. Στη Β. Ευρώπη και τις ΗΠΑ, η νόσος είναι σπάνια και σχετίζεται κυρίως η παρουσία της με τη χρήση ναρκωτικών ουσιών^{314,316}. Υπολογίζεται ότι περίπου 5% του συνόλου των φορέων HBsAg είναι μολυσμένοι με HDV, που σημαίνει ότι περισσότερα από 17.000.000 άτομα είναι μολυσμένα³¹⁷.

Στην Ελλάδα, υπάρχει ενδημική εστία HDV λοίμωξης στην κοινότητα Αρχάγγελος Ρόδου, που ο επιπολασμός του HBsAg είναι περίπου 10% του πληθυσμού και της HDV λοίμωξης 27% των φορέων του HbsAg³¹⁸. Το ενδιαφέρον είναι ότι στην περιοχή αυτοί οι HDV φορείς δεν παρουσιάζουν βιοχημικά ή ιστολογικά ευρήματα ηπατικής νόσου σε αντίθεση με ότι συμβαίνει σε άλλες περιοχές του κόσμου. Στις υπόλοιπες περιοχές της Ελλάδας, η συχνότητα της HDV λοίμωξης είναι μικρή (<3% των ασυμπτωματικών HBV φορέων)³¹⁹ και μεγαλύτερη στους τοξικομανείς που έχουμε HDV συλλοίμωξη στο 28% και επιλοίμωξη στο 80%³²⁰.



4.3. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ

Μολονότι η HBV-HDV συλλοίμωξη και η HDV επιλοίμωξη συνήθως προκαλούν κλινικά οξεία ηπατίτιδα στα αρχικά στάδια της λοίμωξης, η έκβαση των δύο αυτών μορφών διαφέρει σημαντικά: η μεν πρώτη οδηγεί συνήθως σε αυτόματη βελτίωση και ίαση και από τους δύο ιούς, HBV και HDV, η δε δεύτερη συνήθως οδηγεί σε επιμένουσα HDV λοίμωξη, μετάπτωση σε χρονιότητα, που μπορεί να οδηγήσει σε κίρρωση^{301,321}.

Λόγω της ικανότητάς της να προκαλεί χρόνια λοίμωξη, η HDV επιλοίμωξη παίζει τον σημαντικότερο ρόλο στην εξάπλωση της νόσου και τη διατήρησή της.

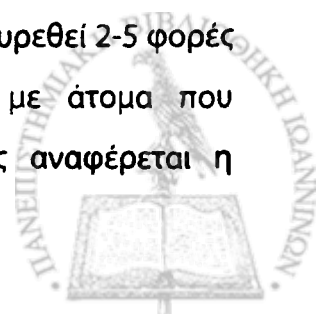
Η HBV-HDV συλλοίμωξη εμφανίζεται μετά από επαφή, με τους τρόπους που ήδη αναφέρθηκαν, με άτομο που έχει και τους δύο ιούς. Τα αρχικά στάδια της λοίμωξης σπάνια παρατηρούνται στους ανθρώπους, έχουν όμως μελετηθεί σε χιμπατζήδες³⁰¹.

Μετά το χρόνο επώασης, που για την ηπατίτιδα Β τυπικά διαρκεί 6 εβδομάδες έως 6 μήνες, η συλλοίμωξη προκαλεί αναπαραγωγή του HBV, ακολουθούμενη από αναπαραγωγή του HDV, με σύνθεση των ιικών αντιγόνων στο ήπαρ. Η ηπατική φλεγμονή, η αύξηση της ALT και τα συμπτώματα, τις περισσότερες φορές συμπίπτουν με την παρουσία του HDV στο ήπαρ³¹⁴. Η οξεία ηπατίτιδα στους ανθρώπους που προκαλείται από HBV-HDV συλλοίμωξη, δεν ξεχωρίζει από εκείνη των άλλων τύπων ηπατίτιδας. 10-20% των περιπτώσεων εμφανίζουν μια διφασική πορεία της νόσου, όπου μια δεύτερη αιχμή της ανύψωσης της ALT μπορεί να ακολουθήσει την πρώτη μετά από 2-5 εβδομάδες, εύρημα ασυνήθιστο στην οξεία HBV ηπατίτιδα μόνη της ή ηπατίτιδα προερχόμενη από άλλους ιούς^{310,322}.

Η HBV-HDV συλλοίμωξη σπάνια μόνο οδηγεί στην ανάπτυξη HBV-HDV φορείας. Από μελέτες έχει δειχθεί ότι 2-4% των ανθρώπων με συλλοίμωξη παρέμειναν φορείς HBV³²².

Ο κίνδυνος αυτός εμφανίζεται να είναι μικρότερος από το ποσοστό 5-10% των φορέων HBsAg που παραμένει στους ενήλικες μετά από οξεία HBV λοίμωξη, αλλά είναι μεγαλύτερος από τη συχνότητα που παραμένει σε νοσηλευόμενους ασθενείς με οξεία HBV λοίμωξη³²³.

Η HBV-HDV συλλοίμωξη προκαλεί κεραυνοβόλο ηπατίτιδα σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι προκαλεί μόνη της η HBV λοίμωξη. Δείκτες HDV λοίμωξης είχαν ευρεθεί 2-5 φορές συχνότερα σε άτομα με HBV κεραυνοβόλο ηπατίτιδα σε σχέση με άτομα που παρουσιάζουν μόνο οξεία HBV λοίμωξη^{324,325}. Σε ελληνικές μελέτες αναφέρεται η



συνύπαρξη HDV λοίμωξης στο 53% των κρουσμάτων των κεραυνοβόλων ηπατιτίδων^{326,327}. Από τις διάφορες μελέτες παγκόσμια, φαίνεται ότι η HBV-HDV συλλοίμωξη ευθύνεται από 3% έως 25% των περιπτώσεων οξείας ηπατίτιδας Β, με μικρότερη συχνότητα στην Ασία (Ινδία, Ταϊβάν) αλλά με μεγαλύτερη στις Ιταλία, Αίγυπτο και ΗΠΑ³²⁸.

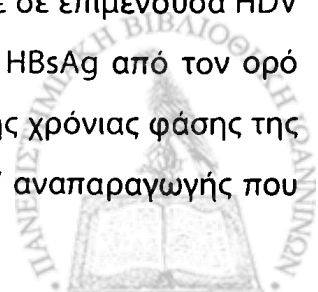
Η HDV **επιλοίμωξη** σε φορέα HBV, μόνο αρχικά προκαλεί ένα επεισόδιο οξείας ηπατίτιδας, ακολουθούμενη από μετάπτωση σε επιμένουσα HDV και συχνά χρόνια ηπατική νόσο^{321,329}.

Μελέτες σε χιμπατζήδες με HBV φορεία, που εκτίθενται σε HDV, έχουν δείξει ότι ο χρόνος επώασης διαρκεί από 2-8 εβδομάδες^{301,330}. Λόγω της ήδη προϋπάρχουσας HBV λοίμωξης, αναπαραγωγή του HDV αρχίζει αμέσως στο ήπαρ και οδηγεί σε ταχεία ανάπτυξη της νόσου.

Η HDV επιλοίμωξη προκαλεί επεισόδιο οξείας ηπατίτιδας στο 50-70% των περιπτώσεων^{322,331}. Η λοίμωξη μπορεί να εμφανισθεί επίσης χωρίς οξεία νόσο όπως αποδεικνύεται από την παρουσία HDV αντισωμάτων σε αιμοδότες φορείς HBV που δεν αναφέρουν προηγούμενο ιστορικό ηπατίτιδας³³². Η οξεία ηπατίτιδα που προκαλείται από την HDV επιλοίμωξη κλινικά δεν ξεχωρίζει από την οξεία ηπατίτιδα που προκαλείται από άλλους ιούς, η διφασική νόσος, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, που συχνά παρατηρείται στην συλλοίμωξη, σπανίως εμφανίζεται στην επιλοίμωξη³²².

Κεραυνοβόλος ηπατίτιδα είναι ασυνήθης σε HBV φορείς με επιλοίμωξη HDV. Η συχνότητα της κεραυνοβόλου ηπατίτιδας στην κατηγορία αυτή των ασθενών είναι περίπου 14%, ποικίλλουσα από 0-2% σε μερικές χώρες της Ευρώπης και της Ασίας και 33% στην Κεντρική Αφρικανική Δημοκρατία³²⁸.

Η ανάπτυξη επιμένουσας HDV λοίμωξης με επακόλουθη χρόνια ηπατίτιδα και την κίρρωση είναι το πιο σπουδαίο χαρακτηριστικό που διαχωρίζει την κλινική της πορεία και εκείνη της συλλοίμωξης. Διάφοροι ερευνητές έχουν δείξει ότι σχεδόν όλα τα άτομα με HDV επιλοίμωξη παραμένουν φορείς HBV, οι δε περισσότεροι εμφανίζουν υψηλούς τίτλους αντισωμάτων αντι-δέλτα, παραμένουν IgM αντι-δέλτα, έχουν HDV-RNA στον ορό και συνεχίζουν να εκφράζουν HDAg στο ήπαρ. Όλα αυτά υποδηλώνουν συνεχιζόμενη ιική αναπαραγωγή^{303,321,333,334}. Όμως, η HDV επιλοίμωξη δεν οδηγεί πάντοτε σε επιμένουσα HDV λοίμωξη. Φορείς HBV με HDV επιλοίμωξη μπορεί να απωλέσουν το HBsAg από τον ορό τους και αναπτύσσουν αντι-HBs είτε κατά τη διάρκεια της οξείας ή της χρόνιας φάσης της HDV λοίμωξης^{322,335}. Αυτό πιθανό να οφείλεται σε αναστολή της HBV αναπαραγωγής που



έχει δειχθεί κατά την οξεία επιλοίμωξη^{301,336,337}, όμως αυτό συμβαίνει σπάνια (<10% των περιπτώσεων) και δεν διαφέρει σε συχνότητα από την αυτόματη κάθαρση από το HBsAg στη χρόνια HBV λοίμωξη. Επιπλέον, στη βιβλιογραφία υπάρχουν αναφορές προσωρινής HDV επιλοίμωξης σε HBV φορείς, με δείκτες HDV που ανιχνεύονται μόνο κατά τη διάρκεια της ανάρρωσης, γεγονός που δεν έχει διευκρινισθεί που οφείλεται³³⁸.

Σχεδόν όλα τα δεδομένα δείχνουν ότι η HDV επιλοίμωξη αλλάζει την πορεία της HBV λοίμωξης προοδευτικά σε χρόνια ενεργό ηπατίτιδα, συνήθως μη ανταποκρινόμενη στη θεραπεία³³⁷⁻³³⁹. Γενικά, μελέτες παγκόσμια έχουν δείξει ότι η HDV λοίμωξη βρίσκεται 2-5 φορές πιο συχνά σε άτομα με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα, σε σχέση με ασυμπτωματικούς φορείς, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι η επιλοίμωξη οδηγεί σε χρονιότητα^{302,340,341}. Η παρακολούθηση των χρονίων φορέων των ιών HBV και HDV έχει δείξει ότι 50-70% εξελίσσονται βραδέως προς κίρρωση, το 20-25% έχουν ταχεία δυσμενή εξέλιξη, ενώ το 20% έχουν καλοήγη πορεία³⁴².

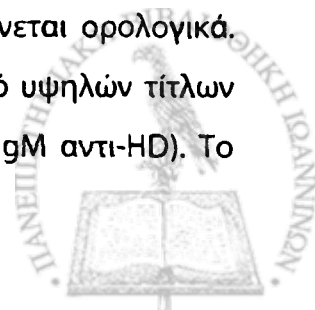
Η HDV λοίμωξη δεν έχει συνδεθεί άμεσα με την ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Οι περισσότερες μελέτες έχουν αποτύχει να βρουν συχνότητα HDV λοίμωξης σε στατιστικά σημαντική διαφορά σε ηπατοκυτταρικά καρκινώματα^{331,341,343}. Για την ερμηνεία του ευρήματος αυτού έχει δοθεί η εξήγηση ότι η HDV λοίμωξη οδηγεί σε γρήγορη εξέλιξη χρόνιας ηπατικής νόσου και τα άτομα αυτά πεθαίνουν γρηγορότερα από κίρρωση πριν αναπτυχθεί καρκίνος. Τελευταία όμως έχει αναφερθεί ταχεία εξέλιξη προς κίρρωση και πρώιμη ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε νεαρούς ναρκωμανείς³⁴⁴.

Η κλινική και ιστολογική εικόνα της χρόνιας HBV και HDV ηπατίτιδας δεν διαφέρουν από εκείνη των άλλων ιογενών ηπατιτίδων, αξίζει όμως να αναφερθεί η σημαντική σπληνομεγαλία που παρατηρείται κυρίως σε ασθενείς από την Ιταλία και την Ελλάδα³⁴⁵.

4.4. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ ΔΕΛΤΑ (HDV)

4.4.1. Διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας δέλτα

Η διαφορική διάγνωση της συλλοίμωξης από την επιλοίμωξη γίνεται ορολογικά. Στη συλλοίμωξη HBV και HDV, η διάγνωση γίνεται με τον προσδιορισμό υψηλών τίτλων IgM αντισωμάτων έναντι και των δύο ιών στον ορό (IgM αντι-HBc και IgM αντι-HD). Το



HBsAg και το HBeAg συνήθως είναι θετικά, όπως επίσης και το ολικό αντι-HBc. Η εξαφάνιση του HBV-DNA και η οροαναστροφή σε αντι-HBe και αντι-HBs παρουσιάζεται στη φάση της ανάρρωσης.

Τα ολικά αντι-HD (IgG και IgM κλάσματα) παράγονται καθυστερημένα στην οξεία ηπατίτιδα δέλτα, παροδικά, σε χαμηλό τίτλο και σε μερικές περιπτώσεις δεν ανιχνεύονται καθόλου με τις συνηθισμένες μεθόδους (ELISA και RIA). Έτσι, για να γίνει η διάγνωση της οξείας HDV, μερικές φορές απαιτείται επανειλημμένος έλεγχος του ορού κατά την οξεία φάση και κατά την ανάρρωση.

Το IgM αντι-HD, που επίσης ανιχνεύεται με ELISA και RIA παράγεται νωρίς κατά την οξεία HDV, τη 2^η-3^η εβδομάδα από την έναρξη των συμπτωμάτων. Χαμηλότερος τίτλος του μπορεί να βρεθεί και σε άτομα με χρόνια HDV και ενεργό ηπατική νόσο. Το HDAg, αντιγόνο του ιού δέλτα μπορεί να ανιχνευθεί στον ορό παροδικά κατά την έναρξη της νόσου (την 1^η εβδομάδα) με ELISA και RIA. Τα πυρηνικά οξέα του ιού απομονώνονται παροδικά στον ορό με dot blot ή RT/διπλή PCR.

Όταν έχουμε ίαση της HBV και HDV συλλοίμωσης (90% των περιπτώσεων) τα IgM αντι-HDV εξαφανίζονται μετά από μερικούς μήνες, ενώ τα ολικά αντι-HD συνήθως παραμένουν περισσότερο διάστημα, αν και αυτά μετά από χρόνια μπορούν να εξαφανισθούν.

Στην επιλοίμωση HDV, η διάγνωση γίνεται με την ανεύρεση υψηλού τίτλου IgM αντι-HD, με παρουσία θετικού HBsAg, θετικού IgG αντι-HBc, αρνητικού IgM αντι-HBc και θετικών ολικών αντι-HD.

Το HDAg μπορεί να ανιχνεύεται αρχικά με την έναρξη της νόσου στον ορό. HDV-RNA μπορεί επίσης να υπάρχει παράλληλα με υψηλούς τίτλους αντι-HD. Οι περισσότεροι ασθενείς έχουν αρνητικό HBeAg.

4.4.2. Διάγνωση της χρόνιας HDV

Η διάγνωση της χρόνιας HDV ηπατίτιδας γίνεται ορολογικά με την ανεύρεση θετικού HBsAg, θετικού IgG αντι-HBc, υψηλού τίτλου ολικού αντι-HD και σε μερικές περιπτώσεις συνύπαρξη χαμηλού τίτλου IgM αντι-HD. Το αντιγόνο HBe και το HBV-DNA συνήθως δεν ανιχνεύονται γιατί ο HDV δρα κατασταλτικά στον πολλαπλασιασμό του HBV.

Το HDAg σπάνια μπορεί να ανιχνευθεί στον ορό, ενώ το ήπαρ με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους μπορεί να ανευρεθεί στον πυρήνα των ηπατοκυττάρων²⁹⁹. Τα πυρηνικά οξέα του

ιού (HDV-RNA) μπορούν να προσδιορισθούν με RT/PCR στον ορό όπως επίσης με in situ υβριδισμό ή με PCR στο ήπαρ.

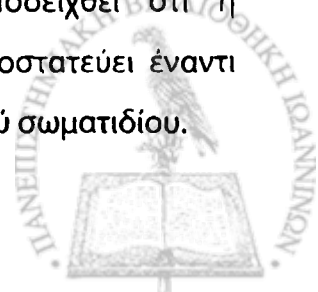
Πίνακας 8. Διάγνωση της οξείας και χρόνιας HDV λοίμωξης.

Οξεία συλλοίμωξη HBV+HDV	IgM αντι-HBc (+)
	IgM αντι-HD (+)
	HBsAg (+)
Οξεία επιλοίμωξη HDV	IgM αντι-HBc (-)
	IgM αντι-HD (+)
	HBsAg (+)
	IgG αντι-HBc (+)
Χρόνια HDV	Αντι-HD (+)
	IgM αντι-HD (+)
	HBsAg (+)
	IgG αντι-HBc (+)

4.5. Πρόληψη

Η πρόληψη για την ηπατίτιδα δέλτα έχει δύο σκέλη: (α) πρόληψη για την ηπατίτιδα Β, που επομένως προφυλάσσει και από τη συλλοίμωξη ή επιλοίμωξη με HDV, (β) προφύλαξη των ατόμων που ήδη είναι φορείς HBV. Οι γενικές οδηγίες επομένως που αφορούν την πρόληψη για την HBV και ιδιαίτερα εκείνες που περιλαμβάνουν την χρησιμοποίηση αποστειρωμένων εργαλείων, συρίγγων μιας χρήσεως στα νοσοκομεία, καθώς και ο έλεγχος του αίματος που μεταγγίζεται για HBsAg παίζουν μεγάλο ρόλο στην πρόληψη HBV-HDV. Ο εμβολιασμός για την ηπατίτιδα Β των ευαίσθητων ατόμων είναι το πιο χρήσιμο εργαλείο που διαθέτουμε σήμερα για την πρόληψη της ηπατίτιδας δέλτα. Ο εμβολιασμός των παιδιών, ιδιαίτερα στις αναπτυσσόμενες χώρες που υπάρχει μεγάλη επίπτωση του HBV, θα είναι το μέτρο που περισσότερο από όλα θα επηρεάσει αρνητικά την εξάπλωση της HDV λοίμωξης.

Η πρόληψη της επιλοίμωξης HDV στους ήδη υπάρχοντες φορείς HBV είναι πιο δύσκολη επειδή ούτε παθητική ανοσοπροφύλαξη, ούτε εμβόλια ειδικά για την ηπατίτιδα δέλτα υπάρχουν για να προλάβουν την μόλυνση. Δεν έχει αποδειχθεί ότι η ανοσοπροφύλαξη που προκαλεί την παραγωγή αντισωμάτων αντι-HD προστατεύει έναντι της λοίμωξης, επειδή το HDV είναι απομονωμένο στο εσωτερικό του ιϊκού σωματιδίου.



Πίνακας 9. Εργαστηριακά ευρήματα HDV λοίμωξης.

		Κατάσταση της νόσου				
Ορός/ηπατικός ιστός	Μέθοδος	Αρχική φάση οξείας HDV	Οξεία HDV	Ανάρρωση	Χρόνια	
					Συμπτωματική Μη συμπτωματική	
HDag	Ορός	RIA, EIA	+	±	-	-
		Μέθοδος ανοσοαποτυπώματος	++	+	-	+
	Ηπατικός ιστός	IF, IP	++	++	-	++
Αντι-HD	Ορός	RIA, EIA				
	IgM		±	++	±	++
	IgG		±	++	±	+++
HCV-RNA	Ορός	PCR, dot blot υβριδισμός	+	++	-	++
	Ηπατικός ιστός	In situ υβριδισμός, PCR	+	++	-	++



Προς το παρόν, η προφύλαξη στην κατηγορία αυτή των ασθενών είναι η ενημέρωσή τους και εφόσον είναι τοξικομανείς να μη χρησιμοποιούν σύριγγες από άλλους χρήστες. Στις μονάδες αιμοκάθαρσης ή σε ιδρύματα για πνευματικά ανάπηρους, πρέπει να ελέγχεται η παρουσία HDV σε όλους τους φορείς HBV και οι HDV θετικοί έχει προταθεί να διαχωρίζονται από τους HDV αρνητικούς φορείς HBV.

Στις αναπτυσσόμενες χώρες που δερματικές πληγές μπορεί να αποτελούν οδό μετάδοσης της νόσου μεταξύ HBV φορέων, η αντιμετώπιση των βλαβών αυτών επίσης μπορεί να συντελέσει στην πρόληψη της HDV λοίμωξη³⁴⁶.

4.6. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

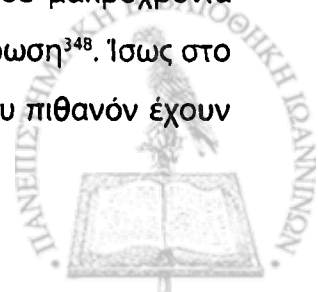
Η ηπατίτιδα δέλτα με τη βαρεία συνήθως πρόγνωση και την εξελικτική πορεία που παρουσιάζει έγινε αντικείμενο πολλών θεραπευτικών προσπαθειών. Από μελέτες στην Ιταλία μεταξύ ενηλίκων και παιδιών δεν φάνηκε ανταπόκριση σε διάφορα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα όπως κορτικοστεροειδή, αζαθειοπρίνη^{339,341} και λεβαμιζόλη που είχαν χορηγηθεί και στη χρόνια HBV λοίμωξη. Σήμερα χρησιμοποιείται, όπως και στη χρόνια HBV, η α-ιντερφερόνη (IFN-α) που έχει δώσει αντιφατικά αποτελέσματα³⁴⁴.

Τα μέχρι σήμερα αποτελέσματα χορήγησης IFN-α στη χρόνια HDV δείχνουν ανθεκτικότητα του ιού μετά από παρατεταμένη χορήγηση παρά την μείωση της ηπατοκυτταρικής βλάβης που επιτυγχάνεται.

Από μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο νοσοκομείο μας και αφορούσε τη θεραπευτική παρακολούθηση 7 παιδιών από την Αλβανία με ηπατίτιδα δέλτα που έλαβαν IFN-α (3 MU τρεις φορές την εβδομάδα υποδόρια επί 1 έτος)³⁴⁷, καταλήξαμε στα ίδια συμπεράσματα με άλλους ερευνητές, όσον αφορά την ανθεκτικότητα στη θεραπεία και τα πτωχά θεραπευτικά αποτελέσματα. Παρά την καλή ανοχή της IFN-α από τα παιδιά μετά τη διακοπή της θεραπείας τα επίπεδα του HDV-RNA και της ALT ήταν πάλι αυξημένα.

Πιθανόν, η συνύπαρξη των δύο ιών HBV και HDV που προκαλούν χρόνια ηπατοκυτταρική καταστροφή και ίνωση είναι αιτία της αδυναμίας εκρίζωσης του ιού παρά την χορήγηση IFN-α.

Παρά την παροδική δράση της IFN-α σε μικρό ποσοστό ασθενών με χρόνια HDV, το φάρμακο εξακολουθεί να χορηγείται στις ενεργείς μορφές της νόσου σε μακροχρόνια σχήματα (1 ή 2 χρόνια) με σκοπό την επιβράδυνση της εξέλιξης προς κίρρωση³⁴⁸. Ίσως στο μέλλον χρησιμοποιηθούν συνδυασμοί και άλλων αντιικών φαρμάκων που πιθανόν έχουν καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα.



5. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C (HCV)

5.1. Μη-A, Μη-B ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ (MAMBH) ΚΑΙ Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C (HCV)

5.1.1. Μη-A, Μη-B ηπατίτιδα (MAMBH)

Με την εφαρμογή του υποχρεωτικού ελέγχου των αιμοδοτών για HBsAg και την αντικατάσταση των αμοιβομένων αιμοδοτών από εθελοντές αιμοδότες επιβεβαιώθηκε η ύπαρξη και άλλων μορφών ηπατιτίδων εκτός των Α και Β. Δηλαδή, παρά τον έλεγχο του μεταγγιζόμενου αίματος, ένας αριθμός περιπτώσεων ηπατίτιδας άγνωστης αιτιολογίας συνέχιζε να παρουσιάζεται στους ασθενείς που μεταγγιζόταν με αίμα και παράγωγά του.

Περίπου 80-90% των περιπτώσεων MAMBH μετά μετάγγιση ήταν συνήθως ήπιες και αυτοπεριοριζόμενες και η διάγνωση γινόταν δυνατή μόνο σε ασθενείς που προ της μετάγγισης είχαν φυσιολογική τιμή ALT και όταν μεταξύ 2 και 26 εβδομάδες μετά τη μετάγγιση παρουσίαζαν αύξηση της ALT σε τιμές μέχρι 2,5 φορές πάνω από τη μεγαλύτερη φυσιολογική τιμή χωρίς να ανιχνεύεται κάποιος από τους γνωστούς ιογενείς ή τοξικούς παράγοντες που προκαλούν ηπατίτιδα³⁴⁹⁻³⁵¹. Η αύξηση της ALT φαίνεται να χαρακτηρίζει και την οξεία και τη χρόνια φάση της MAMBH³⁵².

Μέχρι πρόσφατα, στις ανεπτυγμένες χώρες η MAMBH ήταν η πιο συχνά μεταδιδόμενη με μετάγγιση μολυσματική νόσος με μεγαλύτερη συχνότητα στους λήπτες στις ΗΠΑ (7-12%), Ιταλία (17,8%) και Ιαπωνία (8%) σε σχέση με τη Βόρεια και Κεντρική Ευρώπη (Ολλανδία 2,3%), Μ. Βρετανία 0.5%) και την Αυστραλία (1,7%)^{351,353-355}.

Οι πρώτες αναφορές που αύξησαν το ενδιαφέρον για την πρόληψη της MAMBH ήταν εκείνες που έδειξαν ότι 40-50% των προσβεβλημένων με MAMBH μετά μετάγγιση εμφάνιζαν χρόνια ηπατίτιδα με επιμένουσα ↑ALT ή αυξομειούμενη με 20% από αυτούς να οδηγούνται σε κίρρωση και σε λίγες περιπτώσεις σε ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα³⁵⁶.

Η συμμετοχή της μετά μετάγγιση MAMBH στη χρόνια ηπατική νόσο ποικίλλει στις διάφορες περιοχές του κόσμου. Στην Ιαπωνία, χρόνια ηπατίτιδα και κίρρωση μετά μετάγγιση είναι συχνή ενώ στις ΗΠΑ και Β. Ευρώπη δεν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις γι' αυτό ενώ στη Μ. Βρετανία φαίνεται ότι είναι ασυνήθιστη³⁵⁷⁻³⁵⁹.



5.1.2. Πρώτη απομόνωση του ΗCV

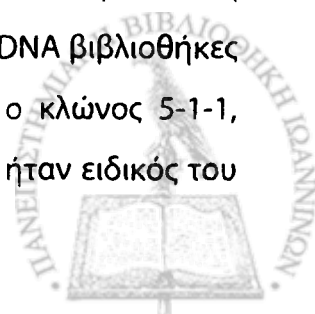
Οι πολυάριθμες προσπάθειες που έγιναν για να απομονωθεί ο αιτιοπαθογόνος παράγοντας που προκαλούσε MAMBH οδήγησαν σε μερικές χρήσιμες πληροφορίες όπως ότι η παρεντερικά μεταδιδόμενη MAMBH μπορούσε να μεταδοθεί σε χιμπατζήδες, ο παράγοντας είχε διάμετρο 30-60 nm που υποδήλωνε ένα μικρού μεγέθους ιό με λιπιδικό περίβλημα και δεν ανιχνεύονταν σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο πλάσμα των μολυσμένων χιμπατζήδων¹³⁰. Μια επιτυχής συνεργασία ανάμεσα στις ερευνητικές ομάδες του Bradley από το CDC στην Ατλάντα, που είχε εμπειρία στη μεταδοση MAMBH σε χιμπατζήδες με μολυσμένο αίμα και του Houghton της εταιρίας Chiron που είχε εμπειρία στη μοριακή γενετική, οδήγησε το 1988 στην απομόνωση του παράγοντα που θεωρείται υπεύθυνος για την πλειοψηφία των περιπτώσεων μη-A, μη-B ηπατίτιδας μετά από μετάγγιση¹⁶⁰.

Η διαδικασία της απομόνωσης έχει ως εξής: Μετά την μόλυνση χιμπατζή με αίμα που προερχόταν από ασθενή με MAMBH μετά από μετάγγιση, μεγάλη ποσότητα πλάσματος του αραιώθηκε και υπεβλήθηκε σε εκτεταμένη υπερφυγοκέντρηση. Στο ίζημα που προέκυψε έγινε εκχύλιση των υπάρχοντων νουκλεϊνικών οξέων. Επειδή η φύση του γενετικού υλικού του πιθανολογούμενου ιού δεν ήταν ακόμη γνωστή, τα εκχυλισθέντα νουκλεϊνικά οξέα υποβλήθηκαν σε χημική επεξεργασία για την αποδιάταξη των πιθανών δίκλωνων μορίων. Στην τελική φάση έγινε ανάστροφη μεταγραφή (reverse transcription) των μονόκλωνων μορίων (RNAs και DNAs) με τη χρησιμοποίηση τυχαίων οδηγών (primers). Τα παραγόμενα συμπληρωματικά DNAs (cDNA) κλωνοποιήθηκαν στον φάγο λgt11. Με τη διαδικασία αυτή έγινε σχηματισμός cDNA βιβλιοθηκών, που στη συνέχεια ελέγχθηκαν χρησιμοποιώντας ορούς από κλινικά διαγνωσμένους ασθενείς με MAMBH.

Εάν τα κλωνοποιημένα στον φάγο cDNAs περιείχαν γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες του ιού, τότε είναι θεωρητικά δυνατή η ανίχνευσή τους με ειδικά αντισώματα.

Στην MAMBH θεωρήθηκε ότι η καταλληλότερη πηγή ειδικών αντισωμάτων έναντι του αναζητούμενου ιού ήταν ο ορός ασθενών και χιμπατζήδων με χρόνια MAMBH.

Η επιλογή αυτή έγινε με το σκεπτικό ότι όπως σε κάθε ιογενή λοίμωξη έτσι και εδώ η χρόνια έκθεση του ξενιστή στον ιό θα έπρεπε να προκαλεί κάποια ανοσολογική απάντηση στους αντιγονικούς επιτόπους των πρωτεϊνών του ιού και επομένως τη δημιουργία αντισωμάτων. Μετά την εξέταση $\approx 1.000.000$ κλώνων από τις cDNA βιβλιοθήκες βρέθηκαν τελικώς 7 κλώνοι θετικοί που απομονώθηκαν. Από αυτούς ο κλώνος 5-1-1, φάνηκε ότι δεν προερχόταν από τα νουκλεϊνικά οξέα του χιμπατζή, αλλά ήταν ειδικός του



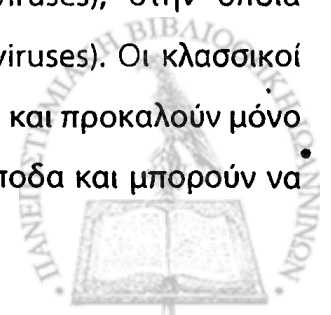
ιού της MAMBH, εξέφραζε αντιγόνα ειδικά για τον ιό της MAMBH και υβριδιζόταν με νουκλεϊνικά οξέα που εκχυλίστηκαν από ηπατοκύτταρα μολυσμένων χιμπατζήδων. Ο κλώνος 5-1-1 εκφράστηκε από την *E. coli* σαν συντηγμένο με το υπεροξειδίο της δισμουτάσης (SOD) πολυπεπτίδιο. Το συντηγμένο πολυπεπτίδιο SOD/5-1-1 χρησιμοποιήθηκε για την τεχνική της ανοσοκαθήλωσης (RIBA). Αργότερα, με τη χρησιμοποίηση του κλώνου 5-1-1 σαν ανιχνευτή, απομονώθηκαν άλλοι 3 κλώνοι με κοινό πλαίσιο ανάγνωσης (ORF) που κωδικοποιούν τμήμα ενός ιϊκού αντιγόνου που σχετίζεται με την MAMBH. Από αυτούς τους κλώνους σχηματίστηκε τελικά ένας άλλος κλώνος, ο C₁₀₀₋₃ που εκφράστηκε σε ζυμομύκητα με τη μορφή συντηγμένου με το υπεροξειδίο της δισμουτάσης (SOD) πολυπεπτιδίου που περιείχε 363 αμινοξέα.

Τα αντισώματα αντι-C₁₀₀₋₃ ήταν ειδικά για την παρεντερική MAMBH. Ο νέος ιός της ηπατίτιδας ονομάστηκε **ιός της ηπατίτιδας C, HCV**. Το πολυπεπτίδιο C₁₀₀₋₃ χρησιμοποιήθηκε σαν αντιγόνο στην παρασκευή των πρώτων ανοσοενζυματικών διαγνωστικών εξετάσεων (ELISA) για την ανίχνευση αντι-HCV αντισωμάτων σε ανθρώπινο ορό²⁴.

5.2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΟΥ HCV

Το γενετικό υλικό του αποτελείται από μονόκλωνο RNA, θετικής κατεύθυνσης, που έχει μήκος 10.000 νουκλεοτιδικές βάσεις μ' ένα πλαίσιο ανάγνωσης (ORF) που κωδικογραφεί μια μεγάλη πολυπρωτεΐνη 3.011 αμινοξέων, από τα οποία με πρωτεόλυση παράγονται διάφορες ιϊκές πρωτεΐνες³⁶¹. Το περίβλημα του ιού είναι λιποπρωτεϊνικής σύνθεσης. Ο ιός είναι ευαίσθητος στους οργανικούς λιποδιαλύτες, διέρχεται εύκολα από φίλτρα με πόρους 50nm και από πλευράς γενετικής οργάνωσης έχει ομοιότητες με τους φλαβι-ιούς.

Η ταξινόμηση του ιού έχει ιδιαίτερη σημασία γιατί επιτρέπει καλύτερη κατανόηση των διάφορων μηχανισμών γενετικής οργάνωσης και αναπαραγωγής, του μηχανισμού μετάδοσης, ακόμα δε και της παθογένειας και ανοσοπαθογένειας της ιστικής βλάβης. Ο ιός της ηπατίτιδας C ανήκει στην οικογένεια των φλάβι-ιών (flavi-viruses), στην οποία περιλαμβάνονται τα 2 γένη των φλάβι-ιών και των πέστι-ιών (pesti-viruses). Οι κλασσικοί φλάβι-ιοί μεταδίδονται με αρθρώποδα, στα οποία πολλαπλασιάζονται και προκαλούν μόνο οξείες λοιμώξεις. Αντιθέτως, οι πέστι-ιοί δεν μεταδίδονται με αρθρώποδα και μπορούν να



προκαλέσουν τόσο οξείες (αυτοπεριοριζόμενες) όσο και χρόνιες εξελικτικές λοιμώξεις. Μπορεί να προκαλέσουν επίσης χρόνια ιοφορία σε φαινομενικά υγιή ζώα.

Για τους ιούς πέστι δεν έχει συνδεθεί η παρουσία τους στον άνθρωπο με νοσήματα, όμως υπάρχουν υπόνοιες για πρόκληση ιογενών γαστρεντερίτιδων. Ο HCV από πλευράς μετάδοσης και νοσολογίας φαίνεται ότι μοιάζει περισσότερο με τους ιούς πέστι- παρά με τους φλάβι-. Επειδή όμως ο ακριβής τρόπος της μη παρεντερικής μετάδοσής του HCV δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί, το ενδεχόμενο μετάδοσής του με κάποιο αρθρόποδο δεν έχει αποκλεισθεί εντελώς. Η σύγκριση των φλάβι- και πέστι- ιών από πλευράς γενετικού υλικού, οργάνωσης και έκφρασης των γονιδίων έχει διαφορές και ομοιότητες, ώστε μάλλον ο HCV δικαιούται τη δική του ξεχωριστή κατάταξη σε ιδιαίτερο γένος στην οικογένεια των φλαβι- ιών³⁶².

5.3. ΙΟΛΟΓΙΑ

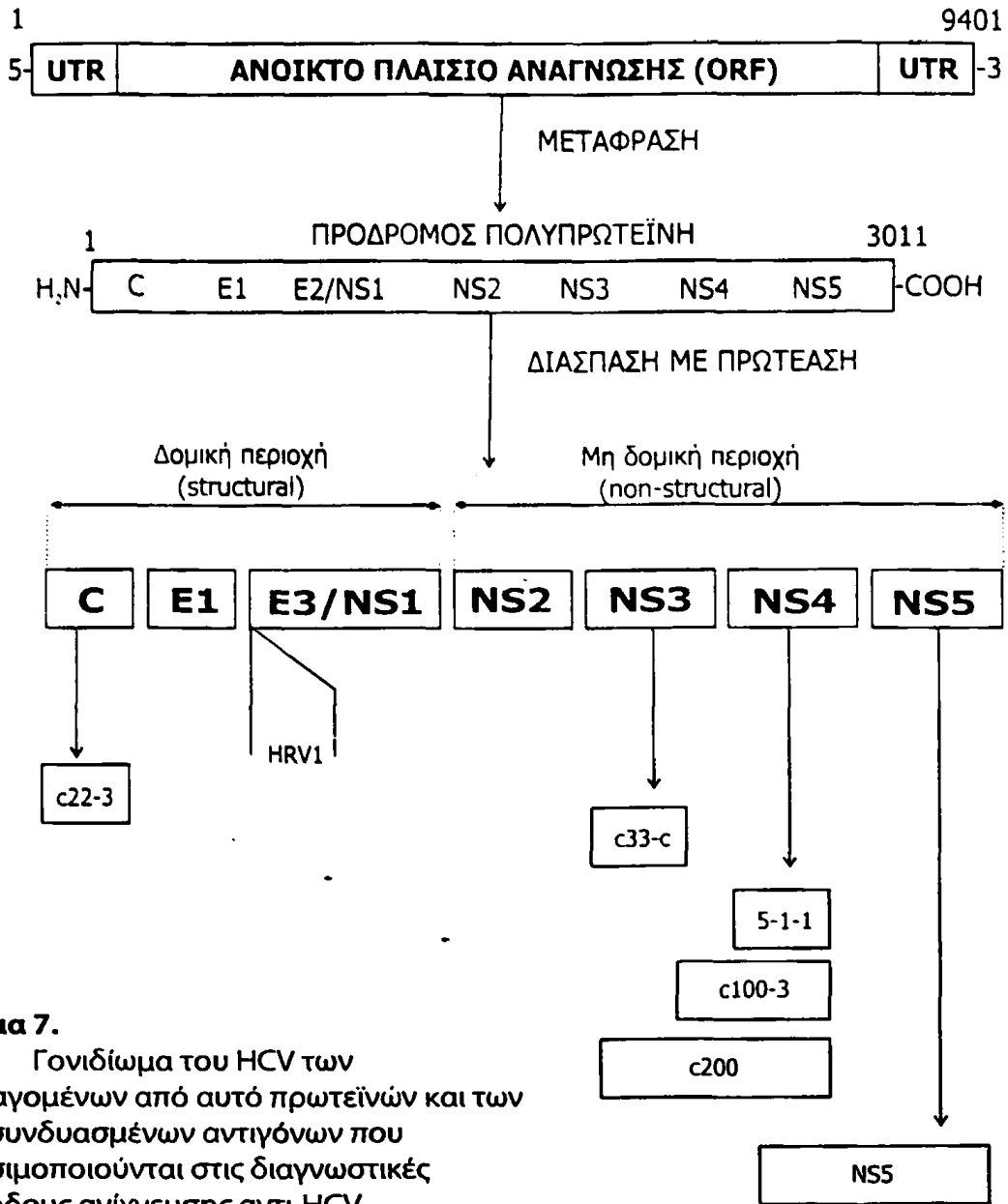
5.3.1. Η οργάνωση του γενετικού υλικού (γονιδιώματος) του HCV

Το γονιδίωμα του HCV αποτελείται από 9.500 κωδικοποιούν μια πολυπρωτεΐνη (Σχήμα 7) αποτελούμενη από 3.011 αμινοξέα, ενώ τα υπόλοιπα 350 (324-341) που ευρίσκονταν πριν από την κωδικογραφούσα περιοχή (5') και περίπου 50 νουκλεοτίδια μετά την κωδικογραφούσα περιοχή είναι μάλλον σιωπηρά.

Η 5' μη κωδικογραφούσα περιοχή (UTR) προηγείται του κωδικονίου ενάρξεως της μεταφράσεως της πολυπρωτεΐνης του HCV. Όλοι οι φλαβοϊοί έχουν ανάλογες μικρές περιοχές 100 περίπου νουκλεοτιδικών βάσεων ενώ οι pesti-ιοί έχουν πολύ μεγαλύτερες αντίστοιχες περιοχές, αποτελούμενες από περισσότερα των 350 νουκλεοτιδίων. Στην περίπτωση του HCV η περιοχή αυτή έχει μεγάλη ομολογία (50%) στις νουκλεοτιδικές αλληλουχίες της με τους pestiviruses της χολέρας των χοίρων και της διάρροιας των βοοειδών και 3-4 μικρά πλαίσια ανάγνωσης που μοιάζουν με εκείνα των παραπάνω ιών που θα μπορούσαν να κωδικογραφούν πεπτίδια μέχρι 28 αμινοξέων, με πρώτο αμινοξύ την μεθειονίνη.



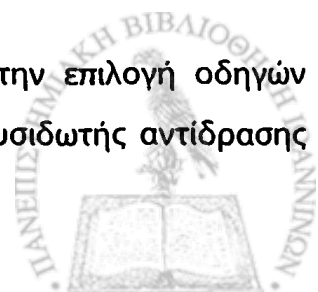
RNA ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ



Σχήμα 7.
Γονιδίωμα του HCV των παραγομένων από αυτό πρωτεϊνών και των ανασυνδυασμένων αντιγόνων που χρησιμοποιούνται στις διαγνωστικές μεθόδους ανίχνευσης αντι-HCV.

Είναι άγνωστο όμως αν στα ριβοσώματα γίνεται μετάφραση αυτών των μικρών πλαισίων ανάγνωσης (ORF) του 5' άκρου. Η συντήρηση αυτής της περιοχής στα διάφορα στελέχη του HCV είναι πάρα πολύ υψηλή (>98%) και αυτό υποδηλώνει ότι έχει πολύ σημαντικές ρυθμιστικές αλληλουχίες που θα πρέπει να είναι απαραίτητες για τη μετάφραση του RNA του ιού, την αναπαραγωγή του και τη συναρμολόγηση των σωματιδίων του^{361,363,364}.

Η περιοχή αυτή είναι στην πράξη η πιο κατάλληλη για την επιλογή οδηγών (primers) στην τεχνική ανίχνευσης HCV-RNA με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (polymerase chain reaction - PCR)³⁶⁵.



Η 3' μη κωδικογραφούσα περιοχή αποτελείται από 50 περίπου νουκλεοτίδια που δεν μεταφράζονται. Είναι πολύ μικρότερη της αντίστοιχης περιοχής των συγγενών ιών flavi και pesti και είναι πολύ πιθανόν ότι η ακριβής δομή και σύνθεση του 3' άκρου του HCV δεν είναι ακόμη γνωστή. Πιθανώς, να υπάρχει μια άκρη πολυαδενυλιώσεως³⁶³, που θα έδινε στο γονιδίωμα του ιού ένα επιπλέον μοναδικό χαρακτηριστικό. Οι διαφορές στην ομολογία των νουκλεοτιδίων στις επιμέρους περιοχές του ιού κυμαίνονται, στα απομονωθέντα στελέχη, μεταξύ 10% και 39,4% και καθορίζουν μια διαφορά της τάξεως του 15% σε επίπεδο ομολογίας αμινοξέων της πολυπρωτεΐνης.

Η κωδικογραφούσα περιοχή υποδιαιρείται σε μια δομική (structural = S) και μια μη δομική (non-structural = NS) υποπεριοχή.

5.3.2. Τα γονίδια του HCV και τα προϊόντα τους

Τα γονίδια του HCV είναι διατεταγμένα από το 5' προς το 3' άκρο του με τη σειρά που φαίνεται στο Σχήμα 7. Οι πρωτεΐνες που κωδικογραφούνται από τα γονίδια αυτά του HCV και η ακριβής λειτουργία τους δεν έχουν διευκρινισθεί επαρκώς. Σημαντικές πληροφορίες προστίθενται από συνεχείς μελέτες του ιού και από συγκριτικές μελέτες με τους φλάβι- και πέστι-ιούς. Ξεκινώντας από το 5' άκρο του γονιδιώματος του HCV ανευρίσκονται κατά σειρά οι εξής γονιδιακές περιοχές:

1. **Περιοχή C.** Αποτελεί το γονίδιο της πρωτεΐνης του πυρηνοκαψιδίου (πυρήνα=core) του ιού. Κωδικογραφεί βασική πολυπρωτεΐνη 18-22 kD, μη γλυκοζυλιωμένη. Αντίστοιχη περιοχή υπάρχει σε όλους τους ιούς flavi και pesti. Η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη αυτής της περιοχής C₂₂₋₃ αλλά και το συνθετικό πεπτίδιο από την περιοχή αυτή, το C₂₂ περιλαμβάνεται στις δοκιμασίες δεύτερης και τρίτης γενεάς για την ανίχνευση αντι-HCV σε ανθρώπινο ορό ή πλάσμα (ELISA-2, ELISA-3, RIBA 2.0, RIBA 3.0).

Η πρωτεΐνη C του HCV δεν παρουσιάζει μεγάλες διαφορές στα διάφορα στελέχη του HCV, τα δε αντισώματα έναντι αυτής αναπτύσσονται στην HCV λοίμωξη συχνότερα και ενωρίτερα από κάθε άλλο αντι-HCV αντίσωμα^{366,367}.

2. **Περιοχή E.** Είναι υποψήφιο γονίδιο των πρωτεϊνών του περιβλήματος-μήτρας (Envelope/matrix) του HCV. Κωδικογραφεί μια έντονα υδρόφοβη, γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη 33 kD αποτελούμενη από 190 περίπου αμινοξέα. Αντίστοιχες γονιδιακές περιοχές υπάρχουν και στους flavi και pesti ιούς στους οποίους κωδικογραφούν γλυκοπρωτεΐνες



του περιβλήματός τους και αποτελούν τον κύριο στόχο δράσης των εξουδετερωτικών αντισωμάτων.

3. **Περιοχή E₂/NS₁.** Κωδικογραφεί μια γλυκοπρωτεΐνη 72 περίπου kD, της οποίας η φύση παραμένει άγνωστη. Στους Flavi-ιούς μετά το γονίδιο E₁ ακολουθεί η περιοχή NS₁, κωδικογραφούσα μη δομική επιφανειακή πρωτεΐνη. Τα αντισώματα αντι-NS₁ φαίνεται ότι ασκούν προστατευτική δράση έναντι της λοίμωξης από ιούς Flavi, ενώ στους ιούς pesti δεν διαπιστώθηκε η ύπαρξη ανάλογης μη δομικής NS₁ περιοχής. Στην περίπτωση του HCV, η περιοχή E₂/NS₁ ενδέχεται να κωδικογραφεί μια δεύτερη δομική πρωτεΐνη του περιβλήματος του ιού (E₂) ή την πρώτη μη δομική πρωτεΐνη του NS₁³⁶². Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι στην περίπτωση του HCV, σε αντίθεση με τη γλυκοπρωτεΐνη NS₁ των ιών flavi, το προϊόν του γονιδίου E₂/NS₁ δεν αποβάλλεται από τα μολυσμένα κύτταρα³⁶⁸. Η παρατήρηση αυτή ενισχύει την άποψη ότι πρόκειται μάλλον για πρωτεΐνη του περιβλήματος του ιού, αντίστοιχη προς την gp 53/gp 55 των ιών pesti παρά για μη δομική πρωτεΐνη.

Πρόσφατες παρατηρήσεις δείχνουν ότι αντισώματα έναντι αντιγόνων της πρωτεΐνης αυτής της περιοχής (E₂/NS₁) αποτελούν δείκτη επιτυχούς αναρρώσεως από HCV λοίμωξη και εξουδετερώσεως του ιού³⁶⁹.

Οι πρωτεΐνες που παράγονται από τὰ γονίδια του περιβλήματος του HCV υπόκεινται σε πρωτεολυτική επεξεργασία από ένζυμα του ξενιστή χωρίς να αποκλείεται και η δράση ιικών ενζύμων³⁶⁸.

Από τα ανωτέρω φαίνεται ότι μεταξύ HCV και ιών flavi και pesti υπάρχει περιορισμένη μόνο ομοιότητα στη δομική περιοχή του γονιδιώματός τους. Περισσότερα δεδομένα είναι απαραίτητα για να εκτιμηθεί αν η υπάρχουσα ομοιότητα είναι γενικώς μεγαλύτερη μεταξύ HCV και flavi, που έχουν μη δομική περιοχή NS₁₋₁ ή μεταξύ HCV και pesti, που στερούνται ανάλογης περιοχής^{362,369}. Ακόμη, σημειώνεται ότι η δομική περιοχή του HCV γονιδιώματος είναι πολύ μικρότερη της αντίστοιχης των flavi και pesti ιών.

4. **Μη δομικό γονίδιο NS₂ (non-structural-2).** Είναι μια περιοχή που κωδικογραφεί μια μη δομική, έντονα υδρόφοβη πρωτεΐνη του HCV, με άγνωστη ακόμη λειτουργία. Στους flavi και pesti ιούς η περιοχή NS₂ υποδιαιρείται σε 2 τμήματα (NS_{2a} και NS_{2b}) και κωδικογραφεί μη δομικές πρωτεΐνες, που πρόσφατα έγινε δυνατή η εντόπισή τους μέσα σε κύτταρα μολυσμένα από ιούς³⁷⁰. Αν και η λειτουργία των πρωτεϊνών αυτών παραμένει άγνωστη, πιθανολογείται ότι πρόκειται για πεπτίδια με cis δράση πρωτεάσης, απαραίτητα

για την επεξεργασία των πολυπρωτεϊνών των ιών flaviviridae στο σημείο συνενώσεως μεταξύ τους των μη δομικών πρωτεϊνών NS₁/NS₂³⁷¹.

5. **Μη δομικό γονίδιο NS₃**. Κωδικογραφεί πρωτεΐνη 68 kD. Στο αμινικό άκρο της έχει μια αλληλουχία αμινοξέων όμοια με πρωτεασών άλλης προέλευσης. Θεωρείται ότι δρα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας της πολυπρωτεΐνης του ιού. Η δράση της είναι ασαφής σε RNA ιούς θετικής κατεύθυνσης όπως ο HCV. Προς την καρβοξυλική περιοχή του NS₃ υπάρχουν αλληλουχίες αμινοξέων που απαντούν στην υπερομοιογένεια των ελικασών³⁷².

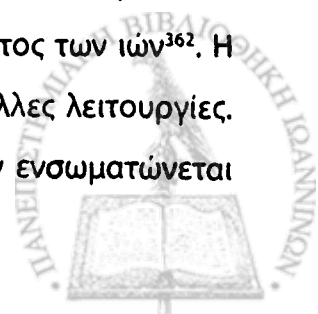
Πιθανολογείται ότι πρόκειται για γονίδια που κωδικογραφούν αρχέγονες ελικάσες και πρωτεάσες, απαραίτητες για την αναπαραγωγή όλων των θετικής κατεύθυνσης RNA ιών. Τα γονίδια αυτά μεταβιβάστηκαν και διατηρήθηκαν στον HCV και τους λοιπούς ιούς της οικογένειας flaviviridae. Στην NS₃ περιοχή τοποθετείται και το πεπτιδίο C_{33c} που περιέχεται στα αντιδραστήρια δεύτερης και τρίτης γενεάς ανίχνευσης αντι-HCV αντισωμάτων.

6. **Περιοχή NS₄**. Στους flavi και pesti ιούς διαιρείται όπως και η περιοχή NS₂, σε 2 τμήματα (NS_{4a} και NS_{4b}). Η πρωτεΐνη που κωδικογραφείται από το γονίδιο NS4 του HCV έχει μέγεθος ≈52 kD, αποτελείται από 460 περίπου αμινοξέα και έχει εντοπισθεί όπως και η NS₃ μέσα σε κύτταρα μολυσμένα από τους ιούς flavi^{24,362}.

Η λειτουργία της είναι ακόμη άγνωστη. Η πρωτεΐνη NS₄ των ιών flavi και του HCV είναι πολύ υδρόφοβη, ενώ στους ιούς pesti, η υδροφοβία της είναι μικρότερη. Στην ηπατίτιδα C αναπτύσσονται αντισώματα έναντι αυτής της πρωτεΐνης που διατηρούνται επί μακρόν όταν η λοίμωξη γίνει χρόνια²⁴. Ο γνωστός αρχικός κλώνος 5-1-1 της εταιρείας Chiron και ο μετέπειτα C₁₀₀₋₃ που προέρχεται από σύντηξη άλλων δύο αλληλοεπικαλυπτόμενων κλώνων, αποτελούν τη βάση της δοκιμασίας ανίχνευσης των αντι-HCV αντισωμάτων με μεθόδους πρώτης γενεάς²⁴. Περιέχεται δε και στις δοκιμασίες δεύτερης και τρίτης γενεάς.

7. **Περιοχή NS₅**. Η πρωτεΐνη που κωδικογραφείται από την περιοχή αυτή έχει μέγεθος περί τα 116 kD και αποτελείται από 1050 περίπου αμινοξέα. Θεωρείται ότι αποτελεί την RNA πολυμεράση του HCV. Η άποψη αυτή στηρίζεται στην ομοιότητα αυτής της περιοχής με την αντίστοιχη των ιών flavi και pesti με τεκμηριωμένη δραστικότητα RNA-εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης στην αναπαραγωγή του RNA γονιδιώματος των ιών³⁶². Η NS₅ πρωτεΐνη εκτός από δράση RNA πολυμεράσης μπορεί να έχει και άλλες λειτουργίες.

Ο HCV δεν φαίνεται να συνθέτει ενδιάμεσες μορφές DNA και δεν ενσωματώνεται



στο DNA των κυττάρων του ξενιστή³⁶⁰. Τελευταία όμως, σε ασθενείς με χρόνια HCV λοίμωξης ανιχνεύθηκαν μορφές RNA μεγέθους μικρότερου του HCV RNA γονιδιώματος που μπορεί να αντιπροσωπεύουν συστατικά ελαττωματικών HCV μορφών³⁶³.

5.3.3. Γενετική ετερογένεια του HCV

Ο ιός της ηπατίτιδας C παρουσιάζει μεγάλη γενετική ετερογένεια στα διάφορα στελέχη, που έχουν απομονωθεί μέχρι τώρα. Η σύγκριση των αλληλουχιών των νουκλεοτιδίων και αμινοξέων του HCV έδειξε ότι τα διάφορα στελέχη του ιού παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στις περισσότερες περιοχές τους³⁷³.

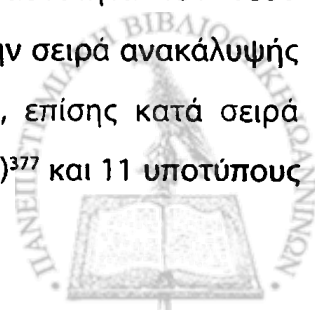
Μεταξύ του HCV-1 στελέχους της Chiron³⁶¹ και του Ιαπωνικού στελέχους HCV-J³⁷⁴ υπάρχει 79% ομοιότητα στις αλληλουχίες των νουκλεοτιδίων και 85% στις αλληλουχίες των αμινοξέων. Μεταξύ του HCV-1 και του δεύτερου κλωνικού στελέχους BK³⁶⁴, η αντίστοιχη ομοιότητα είναι 78% και 85% και μεταξύ των 2 Ιαπωνικών στελεχών 92% και 95%³⁶⁸.

Η γενετική ετερογένεια παρουσιάζεται όχι μόνο μεταξύ HCV στελεχών που απομονώθηκαν από διάφορες γεωγραφικές περιοχές αλλά και μεταξύ διαφόρων ατόμων της ίδιας περιοχής όπως και στον ίδιο ασθενή μπορεί να έχουμε προσβολή από διαφορετικά στελέχη³⁷⁵.

Η 5' μη μεταφραζόμενη περιοχή του γονιδιώματος και η core περιοχή είναι αρκετά σταθερές, ενώ υπάρχουν άλλες περιοχές εξαιρετικά μεταβλητές, όπως η περιοχή του περιβλήματος E₂/NS₁³⁶⁶, E₁, NS₂, NS₁. Ενδιάμεση μεταβλητότητα παρουσιάζουν τα μη δομικά γονίδια NS₃, NS₄ και NS₅³⁷⁶.

Ένα σύστημα ταξινόμησης που στηρίζεται στη μεταβλητότητα της NS₅ περιοχής και ιδιαίτερα στις νουκλεοτιδικές περιοχές 7975-8196 του HCV εφαρμόζεται σήμερα για την καταγραφή των γονοτύπων και των διαφόρων υποτύπων.

Στους γονότυπους έχουμε ετερογένεια νουκλεοτιδίων >10%. Ομοιότητα ενός νέου στελέχους HCV μικρότερη του 72% με τα γνωστά στελέχη σημαίνει νέο **γονότυπο**, ενώ ομοιότητα 75-86% με ορισμένα γνωστά στελέχη σημαίνει νέο **υπότυπο** της κατηγορίας αυτής. Ομοιότητα άνω του 88% με γνωστά στελέχη σημαίνει ταυτότητα του νέου στελέχους με τα ήδη γνωστά. Οι γονότυποι HCV αριθμούνται κατά την σειρά ανακάλυψής τους 1, 2, 3, κλπ, ενώ οι υπότυποι με λατινικά γράμματα a, b, c, επίσης κατά σειρά ανακάλυψής τους. Μέχρι σήμερα έχουμε 6 γονότυπους (1, 2, 3, 4, 5, 6)³⁷⁷ και 11 υπότυπους



(1a, 1b, 1c, 2a, 2c, 2, 3a, 3b, 4a, 5a, 6a)³⁷⁶. Η μεταβλητότητα του γονιδιώματος του HCV έχει σαν αποτέλεσμα μεταβολές της αλληλουχίας των αμινοξέων και επομένως αντιγονικές διαφοροποιήσεις που αποτελούν την βάση ταξινόμησης των HCV οροτύπων³². Η συσχέτιση μεταξύ των οροτύπων και των γονοτύπων δεν έχει επιτευχθεί πλήρως ακόμη. Η κλινική σημασία των HCV μεταλλάξεων έγκειται στις παρακάτω προσεγγίσεις:

(α) τα εξουδετερωτικά αντισώματα έναντι των E₁ και E₂ πρωτεϊνών του περιβλήματος δεν δίνουν διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ των διαφόρων στελεχών και αυτό αποτελεί πρόβλημα για την παρασκευή προστατευτικού εμβολίου.

(β) οι ανοσοενζυματικές μέθοδοι ελέγχου HCV αντισωμάτων είναι δυνατόν να παρουσιάσουν άλλη ευαισθησία μεταξύ των HCV γονοτύπων και ιδιαίτερα σε ανοσοκατασταλμένα άτομα. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούμε σήμερα (β' και γ' γενεάς) περιορίζουν την υπόθεση αυτή γιατί χρησιμοποιούν σαν αντιγόνα μεγάλο τμήμα του HCV γονιδιώματος.

(γ) έχει σημασία η κατανομή των HCV γονοτύπων στην κατανόηση, της επιδημιολογίας και διασποράς της HCV λοίμωξης.

(δ) ορισμένοι γονότυποι όπως 1b είναι δυνατόν να σχετίζονται με ταχύτερη κλινική εξέλιξη της HCV λοίμωξης, βαρύτερη ιστολογική βλάβη και ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκινώματος.

(ε) ορισμένοι γονότυποι πιθανόν να σχετίζονται με καλύτερη ανταπόκριση σε θεραπεία με ιντερφερόνη.

5.4. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ - ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C

5.4.1. Τρόποι μετάδοσης HCV

5.4.1.1. Παρεντερική μετάδοση

Η παρεντερική οδός HCV μετάδοσης είναι υπεύθυνη για περίπου 2/3 των περιπτώσεων HCV και αποτελεί τον πιο συχνά αναγνωριζόμενο και καλά χαρακτηριζόμενο μηχανισμό μετάδοσης της νόσου. Η εφαρμογή των μεθόδων προσδιορισμού αντι-HCV έδειξε ότι η HCV λοίμωξη είναι υπεύθυνη για τη μεγάλη πλειοψηφία των περιπτώσεων ηπατίτιδας που εμφανίστηκαν και στις οποίες είχαν προηγηθεί μετάγγιση αίματος ή παραγώγων του καθώς και έκδηλη διαδερμική έκθεση σε αίμα.



α) Λήπτες αίματος

Πριν από την εφαρμογή υποχρεωτικού ελέγχου του αίματος (1990) για αντι-HCV αντισώματα υπήρχε ένα μεγάλο εύρος στα ποσοστά της συνδεόμενης με μετάγγιση ηπατίτιδας C στις διάφορες περιοχές του κόσμου καθώς και στις διάφορες περιοχές μιας χώρας από 0,5% στη Μ. Βρετανία³⁵⁴ και <2% σε Αυστραλία και Κεντρική Ευρώπη, 17,8% στην Ιταλία, 11% στην Ισπανία³⁵⁷, 13% στην Ελλάδα³⁷⁹, 8% στην Ιαπωνία³⁵⁵. Όπως ήταν αναμενόμενο, σημαντικό πρόβλημα δημιουργήθηκε στους πολυμεταγγιζόμενους που βρέθηκαν πολύ υψηλές συχνότητες HCV λοίμωξης. Σε Ιταλούς πολυμεταγγιζόμενους με θαλασσαιμία 80% είχαν επιβεβαιωμένα αντι-HCV αντισώματα³⁸⁰, επίσης 47% θαλασσαιμικά παιδιά της Αιγύπτου και 75% πολυμεταγγιζόμενοι ασθενείς με λευχαιμία που ήταν σε μακρά ύφεση και είχαν ενδείξεις ηπατικής νόσου³⁸¹.

Στην Ελλάδα, σε μελέτη 554 ασθενών με μεσογειακή αναιμία από 5 κέντρα θεραπείας (Αττική, Βόλος, Θεσσαλονίκη), η οροθετικότητα για αντι-HCV βρέθηκε να είναι 37,4%³⁸².

Ο έλεγχος των αιμοδοτών για αντι-HCV αντισώματα έχει σχεδόν εξαφανίσει την μετά μετάγγιση ηπατίτιδα C ως μια πηγή διασποράς της νόσου. Ο κίνδυνος HCV λοίμωξης μετά μετάγγιση είναι εξαιρετικά μικρός. Η εφαρμογή μεθόδων ανίχνευσης τρίτης γενεάς (ELISA-3) έχει οδηγήσει σε MMHC <0,2%.

Σε μια πρόσφατη μελέτη στις ΗΠΑ έχει υπολογισθεί ότι ο κίνδυνος να λάβει ένας μεταγγιζόμενος αίμα από αιμοδότη που βρίσκεται σε περίοδο παραθύρου είναι περίπου 1/100.000³⁸³. Στην Ευρώπη, τα τελευταία χρόνια έχουν δημοσιευθεί 3 τέτοιες περιπτώσεις³⁸⁴⁻³⁸⁶.

β) Λήπτες παραγώγων αίματος

Ο επιπολασμός των αντι-HCV αντισωμάτων στους αιμοφιλικούς εξαρτάται από την ποσότητα και τον τύπο του παραγώγου που τους χορηγήθηκε. Σχεδόν όλοι οι αιμοφιλικοί που ελάμβαναν μη παστεριωμένους εμπορικά διατιθέμενους συμπυκνωμένους παράγοντες πήξης έχουν HCV αντισώματα³⁸⁷⁻³⁸⁹.

Και οι προθερμασμένοι όμως παράγοντες πήξεως, δεν απάλλαξαν τους αιμορροφιλικούς από την HCV λοίμωξη παρ' ότι την μεταδίδουν σε μικρότερο βαθμό³⁹⁰.



Όσοι πήραν μόνο προθερμασμένους παράγοντες είχαν συχνότητα αντι-HCV αντισωμάτων 22% σε σχέση με 67% που είχαν όσοι πήραν μη προθερμασμένους παράγοντες³⁹¹.

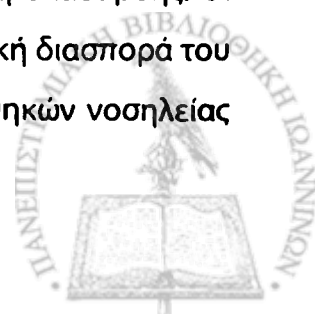
• Η χορήγηση αντι-D ανοσοσφαιρίνης σε γυναίκες ενδομυϊκά³⁹² και ενδοφλέβια³⁹³ ενοχοποιήθηκε για περιστατικά HCV λοίμωξης στη δεκαετία του 1970. Η χρήση ανοσοσφαιρίνης θεωρείται γενικώς ασφαλής για την μετάδοση HCV λοίμωξης. Παρόλα αυτά έχουν αναφερθεί 2 σοβαρά και 3 ελαφρά επεισόδια μετάδοσης ηπατίτιδας C σε ασθενείς με αγαμασφαιριναιμία που έλαβαν διάφορα προϊόντα που παρασκευάστηκαν με κλασματοποίηση κατά CoHn από πλάσμα αιμοδοτών που ήταν ανεξέλεγκτο για αντι-HCV αντισώματα³⁹⁴.

Το 1993, έγινε μετάδοση HCV λοίμωξης σε αγαμασφαιρινικούς ασθενείς από σκευάσματα εμπορικά που παρασκευάστηκαν από πλάσμα ελεγμένο για αντι-HCV αντισώματα με ELISA 2^{ης} γενεάς³⁹⁵. Η προσθήκη ενός επιπλέον βήματος στην επεξεργασία αδρανοποίησης των ιών στο πλάσμα φαίνεται ότι ήταν σημαντική γιατί έκτοτε δεν παρατηρήθηκαν νέα κρούσματα μετάδοσης. Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) και η Ευρωπαϊκή Ένωση (EU) απαιτούν η παρασκευή σκευασμάτων ανοσοσφαιρινών να γίνεται από αντι-HCV αρνητικούς αιμοδότες³⁹⁶.

γ) Αιμοκαθαρόμενοι ασθενείς

Η συχνότητα αντι-HCV αντισωμάτων μεταξύ ασθενών που βρίσκονται σε αιμοκάθαρση, είναι κατά μέσο όρο 20% μολονότι υπάρχουν ευρείες διακυμάνσεις στις διάφορες γεωγραφικές περιοχές με λιγότερο από 5% στη Μ. Βρετανία, Αυστραλία, Ν. Ζηλανδία και Ν. Αφρική, έως 30-40% στην Ταϊβάν, Σαουδική Αραβία, Ν. Αμερική και Ανατολική Ευρώπη. Ενδιάμεσες συχνότητες μεταξύ 5 και 30% έχουν αναφερθεί στις ΗΠΑ και Δ. Ευρώπη³⁹⁷⁻⁴⁰¹. Στην Ελλάδα, η συχνότητα στην ομάδα αυτή ασθενών είναι περίπου 20%^{402,403}.

Η υψηλή συχνότητα HCV λοίμωξης σε αιμοκαθαρόμενους ασθενείς στις περισσότερες εργασίες δεν έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται με τις μεταγίσεις αίματος και παραγώγων του, αλλά με τον αυξημένο χρόνο παραμονής στη μονάδα αιμοκάθαρσης. Οι παρατηρήσεις αυτές οδηγούν στην υπόθεση ότι υπάρχει ενδονοσοκομειακή διασπορά του ιού μεταξύ των ασθενών της μονάδος σαν αποτέλεσμα πλημμελών συνθηκών νοσηλείας



στις διάφορες μονάδες^{398,403-405}, που μπορεί να οδηγήσουν και σε επιδημίες στις συγκεκριμένες μονάδες⁴⁰³.

δ) *Μεταμόσχευση οργάνων*

Οι λήπτες οργάνων βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο όσον αφορά την μόλυνση από HCV. Η λοίμωξη μπορεί να προκληθεί είτε από τις μεταγγίσεις που απαιτούνται κατά τη μεταμόσχευση, είτε από την παρουσία HCV λοίμωξης στο δότη του οργάνου^{406,407}. Η χρησιμοποίηση εξετάσεων που ανιχνεύουν αντισώματα HCV πιθανόν να υποβαθμίζουν την πραγματική συχνότητα HCV λοίμωξης μεταξύ ληπτών οργάνων, επειδή βρίσκονται σε ανοσοκαταστολή και η ανίχνευση αντισωμάτων πιθανόν να μην είναι δυνατή⁴⁰⁷. Η ανίχνευση του HCV-RNA που θα μπορούσε να είναι πραγματικός δείκτης παρουσίας HCV-λοίμωξης σ' αυτή την περίπτωση συνήθως δεν ζητείται όταν δεν έχουν δημιουργηθεί καθόλου αντι-HCV αντισώματα παρά μόνο αν υπήρχαν αρχικά και μετά χάθηκαν^{408,409}.

Η δραματική μείωση της HCV λοίμωξης μετά μετάγγιση, μετά τον υποχρεωτικό έλεγχο των αιμοδοτών για αντι-HCV αντισώματα, είχε επίδραση ως προς την HCV μετάδοση και στη μεταμόσχευση οργάνων που απαιτούν μεγάλο αριθμό μεταγγίσεων (μυελός οστών, πνεύμονες, ήπαρ, καρδιά). Σε μια μελέτη που διεξήχθη μεταξύ 1987 και 1991⁴¹⁰, 14% των ασθενών που έλαβαν αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών ανέπτυξαν HCV λοίμωξη, ενώ η συχνότητα μετά τον έλεγχο του αίματος έπεσε στο 1,6%.

Ο κίνδυνος μετάδοσης από ένα αντι-HCV θετικό δότη οργάνου σε ένα αρνητικό λήπτη είναι πολύ υψηλός. Σε μερικές μελέτες φαίνεται ότι 90-100% από τους λήπτες νεφρών, ήπατος ή καρδιάς από HCV θετικούς δότες αναπτύσσουν λοίμωξη μετά την μεταμόσχευση^{406,407}, ενώ σε άλλες το ποσοστό είναι μικρότερο, $\approx 50-60\%$ ^{411,412}.

Στην Ελλάδα, προ της υποχρεωτικής εισαγωγής ελέγχου του αίματος για αντι-HCV σε μεταμοσχευμένους νεφροπαθείς, η συχνότητα αντι-HCV σ' αυτούς ήταν 10.2%⁴⁰⁵. Δεν είναι ακόμη γνωστό αν αλλαγή στη διαδικασία λήψεως και συντηρήσεως του μοσχεύματος μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο μετάδοσης HCV λοίμωξης όταν ο δότης είναι HCV θετικός. Στους λήπτες ηπατικού μοσχεύματος που είναι HCV θετικοί, η επαναμόλυνση από τον ιό του νέου οργάνου που προέρχεται από HCV αρνητικό δότη συμβαίνει σχεδόν κατά κανόνα^{413,414}.

Σήμερα, η Τράπεζα Μοσχευμάτων των ΗΠΑ συνιστά έλεγχο όλων των δοτών για αντι-HCV αντισώματα, και όταν ο δότης είναι θετικός, εάν η μεταμόσχευση αφορά



νεφρούς, πάγκρεας, δεν χρησιμοποιείται το μόσχευμα, εάν όμως η μεταμόσχευση αφορά καρδιά, πνεύμονες, ήπαρ και η κατάσταση του ασθενούς είναι σοβαρή και δεν επιτρέπει αναμονή, τότε μπορεί να γίνει μεταμόσχευση μετά από γραπτή συγκατάθεση του αρρώστου^{415,416}.

ε) Νοσοκομειακή μετάδοση

Προηγούμενες νοσοκομειακές νοσηλίες αποτελούν ένα παράγοντα κινδύνου σε ασθενείς με HCV λοίμωξη^{417,418}. Η συχνότητα της HCV λοίμωξης σε νοσηλευόμενους ποικίλλει σε διάφορες εργασίες από 2 έως 20% εξαρτώμενη και από την κλινική^{419,420}. Η νοσοκομειακή μετάδοση πιθανόν οφείλεται σε συνθήκες ανεπαρκούς τήρησης των σωστών συνθηκών νοσηλείας και κυρίως σε χρησιμοποίηση ιδίων εργαλείων και βελονών μεταξύ των ασθενών. Πιθανόν, η νοσοκομειακή νοσηλεία να παίζει κάποιο ρόλο στην αιτιολογία της HCV σε ασθενείς που δεν έχουν ιστορικό μεταγγίσεων ή κάποιας άλλης έκδηλης έκθεσης στον ιό. Μετάδοση από ασθενή σε ασθενή έχει αναφερθεί σε μια επιδημία HCV λοίμωξης σε ένα αιματολογικό τμήμα και μια παιδιατρική ογκολογική μονάδα²⁴. Επίσης, η μετάδοση της νόσου από καρδιοχειρουργό στον ασθενή του κατά τη διάρκεια της επέμβασης έχει αποδειχθεί^{421,422}.

Στην Ελλάδα περιγράφηκε νοσοκομειακή επιδημία οξείας ηπατίτιδας μετά από νοσηλεία σε παθολογικό τμήμα γενικού νοσοκομείου των Αθηνών με άσχημη πρόγνωση γιατί 60% των αρρώστων ανέπτυξαν κίρρωση του ήπατος σε 3 έτη από την έναρξη της νόσου⁴²³. Η δυνατότητα μετάδοσης HCV ιατρογενώς επιβάλλει την αυστηρή τήρηση των κανόνων υγιεινής, νοσηλείας και επεμβατικών παρεμβάσεων, γιατί η παραβίασή τους μπορεί να έχει δυσμενέστερες επιδράσεις στους αρρώστους αλλά και στο προσωπικό του Νοσοκομείου. Μετά τη δραματική μείωση της μετάδοσης της HCV λοίμωξης μετά από μετάγγιση είναι πιθανόν η νοσοκομειακή μετάδοση να γίνει ο πιο επικρατών τρόπος διασποράς της στο χώρο της υγείας.

στ) Χρήση ενδοφλέβιων ναρκωτικών ουσιών

Η παρεντερική χρήση ναρκωτικών ουσιών αποτελεί πιθανότατα το συχνότερο αίτιο διασποράς της HCV. Εργασίες από όλο τον κόσμο δείχνουν μια συχνότητα της νόσου στους τοξικομανείς από 70-90%⁴²². Στην Ελλάδα, ο επιπολασμός του αντι-HCV σε τοξικομανείς βρέθηκε επίσης υψηλός^{423,424}. Η σημασία του προβλήματος της HCV λοίμωξης στους



τοξικομανείς επιτείνεται από το γεγονός ότι στην πλειοψηφία τους (90%) οι θετικοί σε αντι-HCV αντισώματα ανεξάρτητα από τις τιμές των τρανσαμινασών έχουν ιστολογικές αλλοιώσεις χρόνιας ηπατίτιδας⁴²³.

ζ) Επαγγελματική έκθεση στο χώρο της υγείας

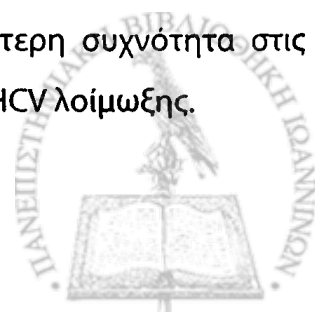
Έχει αποδειχθεί η μετάδοση της HCV λοίμωξης από μολυσμένους ασθενείς σε προσωπικό νοσοκομείων καθώς επίσης με μοριακές τεχνικές έχει επιβεβαιωθεί αυτός ο τρόπος μετάδοσης^{425,426}. Προοπτικές μελέτες έχουν δείξει ότι ο μέσος κίνδυνος εμφάνισης της νόσου μετά από τραυματισμό με βελόνα που χρησιμοποιήθηκε σε HCV θετικούς ασθενείς είναι 3% με ένα εύρος μεταξύ των διαφόρων μελετών από 0,3% έως και 10%^{427,430}. Όταν το τρύπημα με βελόνα προέρχεται από ασθενή με HCV-RNA θετικό αυξάνει η πιθανότητα μετάδοσης στο 10% ενώ όταν το HCV-RNA είναι αρνητικό, η πιθανότητα μετάδοσης είναι στο επίπεδο του 3%. Σε μια πρόσφατη Ιταλική μελέτη δεν βρέθηκε μετάδοση σε 105 τραυματισμούς από βελόνες χειρουργικής ραφής ή αιχμηρά εργαλεία σε αντίθεση με 1,2% μετάδοσης μετά από 331 τραυματισμούς με hollow-bore βελόνες⁴³¹. Οι εργαζόμενοι στα επαγγέλματα υγείας έχουν υψηλότερο ποσοστό αντι-HCV από τους αιμοδότες.

Στις ΗΠΑ, η συχνότητα αντι-HCV έχει βρεθεί συνολικά σε εργαζόμενους σε νοσοκομείο σε ποσοστό 1,4%⁴³², σε προσωπικό μονάδων τεχνητού νεφρού 2%⁴³³, σε προσωπικό μονάδων περίθαλψης τοξικομανών 10%⁴³³ και σε νοσοκομειακούς χειρουργούς 0,9%⁴³⁴.

Στις υπόλοιπες χώρες τα ποσοστά αντι-HCV που αναφέρονται μεταξύ εργαζομένων σε νοσοκομεία είναι στη Μ. Βρετανία 0,3-0,7%⁴²⁹, στη Γερμανία 0,8%⁴³⁵, στην Ισπανία 1,8%⁴³⁶, στην Ιταλία 2,2%⁴²⁸ και στη χώρα μας 0,48%⁴³⁷.

Οι οδοντίατροι φαίνεται ότι ευρίσκονται επίσης σε αυξημένο κίνδυνο για HCV λοίμωξη με συχνότητα αντι-HCV 2%⁴³⁸ στις ΗΠΑ και 6% στην Ιταλία⁴³⁹. Η συχνότητα φαίνεται ότι συνδέεται με το χρόνο άσκησης του επαγγέλματος, με το αν περιθάλπουν ναρκομανείς και με την συμμετοχή τους σε επεμβάσεις της στοματικής κοιλότητας.

Έτσι, η παρουσία της HCV λοίμωξης σε εργαζόμενους στο χώρο της υγείας φαίνεται ότι αντανακλά ότι συμβαίνει και στο γενικό πληθυσμό με μεγαλύτερη συχνότητα στις ομάδες εκείνες που νοσηλεύουν πληθυσμούς με αυξημένο ποσοστό HCV λοίμωξης.



5.4.1.2. Μη παρεντερική μετάδοση

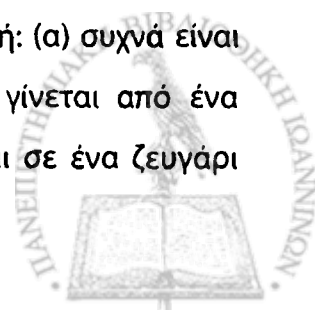
α) Περιγεννητική μετάδοση

Κάθετη μετάδοση της HCV λοίμωξης από τη μητέρα στο παιδί φαίνεται ότι συμβαίνει όπως αποδείχθηκε με εργασίες που φάνηκε ότι η περιοχή του HCV-RNA που κωδικογραφεί την πρωτεΐνη του περιβλήματος του ιού ήταν ίδια στο νεογνό και στη μητέρα⁴⁴⁰.

Η συχνότητα της περιγεννητικής μετάδοσης από μολυσμένη μητέρα στο νεογνό κυμαίνεται σε διάφορες εργασίες από 3 έως 5%^{441,442} και εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από το βαθμό του ιϊκού φορτίου στη μητέρα κατά την κύηση^{442,443}. Όταν το HCV-RNA είναι κάτω των 10^6 γενωμάτων/ml δεν φαίνεται να υπάρχει μετάδοση. Η κάθετη μετάδοση της HCV λοίμωξης φαίνεται ότι είναι συχνότερη στις περιπτώσεις που οι μητέρες είναι HIV φορείς⁴²². Ο θηλασμός του νεογνού από HCV θετική μητέρα δεν έχει κίνδυνο για τη μετάδοση της νόσου^{444,445}. Η διάγνωση της HCV λοίμωξης στα νεογνά παρουσιάζει πολλά προβλήματα γιατί δεν μπορεί να στηριχθεί στην ανίχνευση του αντι-HCV επειδή η παραγωγή αντισωμάτων στα νεογνά μπορεί να μην είναι ικανοποιητική και στην περίπτωση που ανιχνεύονται αντι-HCV αντισώματα στον ορό, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων πρόκειται για παθητική μεταφορά από την κυκλοφορία της μητέρας. Η παράταση της παρουσίας των αντισωμάτων αρκετούς μήνες μετά την γέννηση και η ύπαρξη HCV ιαίμας πιστοποιούν τη μετάδοση της νόσου. Η πολύ μικρή πιθανότητα μόλυνσης του νεογνού δεν επιβάλλει κάποια ιδιαίτερη σύσταση, θεραπεία ή περιορισμό σε αντι-HCV θετικές εγκύους.

β) Σεξουαλική μετάδοση και ενδοοικογενειακή διασπορά

Έμμεσες ενδείξεις υπάρχουν ότι η ηπατίτιδα C μεταδίδεται με τη σεξουαλική οδό. Ασθενείς γυναίκες που νοσηλευόταν σε κλινική σεξουαλικών μεταδιδόμενων νοσημάτων και είχαν σεξουαλικούς συντρόφους αντι-HCV θετικούς είχαν 3 φορές περισσότερες πιθανότητες να έχουν HCV λοίμωξη και 94% ομολογία των HCV στελεχών μεταξύ των συντρόφων⁴⁴⁶. Σε μια άλλη μελέτη⁴⁴⁷, 8,8% από 295 σεξουαλικούς συντρόφους 295 HCV θετικών ατόμων ήταν επίσης HCV θετικοί και στο 82% υπήρχε ομολογία των στελεχών. Όμως, τα παραπάνω δεν αποδεικνύουν την σεξουαλική μετάδοση επειδή: (α) συχνά είναι αδύνατο να εκμαιεύσει ο εξεταστής τη χρήση τοξικών ουσιών που γίνεται από ένα σεξουαλικό ζευγάρι, (β) το κοινό στέλεχος του HCV που παρουσιάζεται σε ένα ζευγάρι



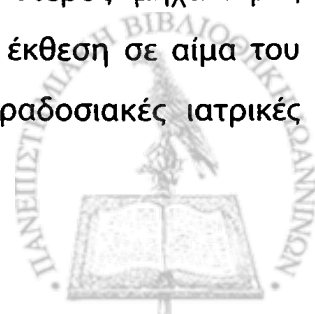
δηλώνει κάποια κοινή πηγή μόλυνσης και για τους 2 αλλά δεν αποδεικνύει εάν η μόλυνση έλαβε χώρα μεταξύ των συντρόφων ή και οι δύο μολύνθηκαν από κάποια άλλη ανεξάρτητη πηγή μετάδοσης εκτός της σεξουαλικής.

Εξάλλου, υπάρχουν γεγονότα που κάνουν πιο ισχνές τις αποδείξεις για σεξουαλική μετάδοση της HCV: (α) στη Γερμανία που υπήρξε επιδημικό κύμα εμφάνισης HCV σε γυναίκες που έλαβαν αντι-D ανοσοσφαιρίνη, κανένας από τους 94 συζύγους των γυναικών με χρόνια ενεργό HCV λοίμωξη, παρότι δεν ελάμβαναν προφύλαξη στη σεξουαλική επαφή, για 15 χρόνια, δεν εμφάνισε HCV⁴⁴⁸. (β) ο επιπολασμός της HCV λοίμωξης στις συζύγους αιμοφιλικών με θετικά αντι-HCV και αντι-HIV αρνητικούς δεν είναι αυξημένος και μια μικρή αύξηση παρατηρείται μόνο στις συζύγους αιμοφιλικών με HCV και συνύπαρξη HIV⁴⁴⁹. Από όλες τις μελέτες φαίνεται ότι η μετάδοση του ιού μέσω των ετεροφυλικών επαφών είναι αρκετά μικρή, $\approx 5\%$, σημαντικά μικρότερη από εκείνη των HBV και HIV, και φαίνεται ότι διάφοροι παράγοντες όπως ο αριθμός, συχνότητα και είδος των σεξουαλικών επαφών, συνύπαρξη HIV ή άλλου αφροδισίου νοσήματος, ύπαρξη εμμήνου ρύσεως και τα επίπεδα του HCV-RNA παίζουν ρόλο στη μετάδοση της νόσου με τη σεξουαλική οδό.

Η συχνότητα των αντι-HCV αντισωμάτων στους ομοφυλόφιλους είναι περίπου 8% ⁴⁵⁰, πολύ μικρότερη από εκείνη των HBV και HIV στην ομάδα αυτή⁴⁵¹. Σε μεγάλο αριθμό ομοφυλοφίλων στις ΗΠΑ, η συχνότητα της HCV λοίμωξης ήταν $1,6\%$ και ήταν ανεξάρτητη από τον αριθμό των σεξουαλικών συντρόφων, της συνύπαρξης HIV ή τον αριθμό των πρωκτικών σεξουαλικών επαφών^{452,453}. Στις ιερόδουλες στη χώρα μας, η συχνότητα HCV είναι περίπου 5% και σ' αυτή την περίπτωση πολύ χαμηλότερη απ' ότι εκείνη της HBV λοίμωξης⁴⁵⁴.

Ενδοοικογενειακή διασπορά της HCV λοίμωξης έχει αποδειχθεί σε διάφορες δημοσιεύσεις, ιδιαίτερα σε περιοχές με μέτρια ή υψηλή ενδημικότητα της νόσου^{455,456}. Στις περισσότερες περιπτώσεις έχουμε μεγαλύτερη συχνότητα στα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας που είχαν μεγαλύτερη διάρκεια επαφής με τον πάσχοντα, συνήθως σύζυγοι, αν και μερικές φορές και γονείς πασχόντων παιδιών.

Η σεξουαλική επαφή, η περιγεννητική μετάδοση και ο συγχρωτισμός έχουν θεωρηθεί μηχανισμοί ενδοοικογενειακής μετάδοσης. Όμως, πιθανότερος μηχανισμός ενδοοικογενειακής μετάδοσης είναι η μη ενθουμούμενη διαδερμική έκθεση σε αίμα του πάσχοντα είτε μέσω νοσοκομειακής νοσηλείας ή έκθεση σε παραδοσιακές ιατρικές



πρακτικές που χρησιμοποιούνται σκαριφιστήρες ή βελόνες όχι μιας χρήσης, οδοντιατρική θεραπεία, κλπ.

Η κοινή συναναστροφή δεν φαίνεται ότι παίζει κάποιο ρόλο γιατί δεν έχει ανιχνευθεί HCV-RNA σε σωματικά υγρά που δεν περιέχουν αίμα⁴⁴⁴.

5.4.1.3. Σποραδική HCV Ηπατίτιδα

Οξεία HCV ηπατίτιδα χωρίς να υπάρχει κάποιος ξεκάθαρος παράγοντας κινδύνου εξακολουθεί να εμφανίζεται. Ο μηχανισμός μετάδοσης της σποραδικής HCV είναι πιθανόν ένας συνδυασμός της ενδοφλέβιας χρήσης ναρκωτικών ουσιών που δεν αποκαλύπτεται στο ιστορικό, διαδερμική έκθεση, νοσοκομειακή, μη διαδερμικοί μηχανισμοί που περιλαμβάνουν σπάνιες περιπτώσεις σεξουαλικής μετάδοσης και πιθανόν κάποιοι άγνωστοι ακόμη τρόποι μετάδοσης.

Πρόσφατα, χρήστες κοκαΐνης θεωρείται ότι διατρέχουν σημαντικό κίνδυνο HCV μόλυνσης, επειδή μοιράζονται μολυσμένα με αίμα καλαμάκια⁴⁵⁷.

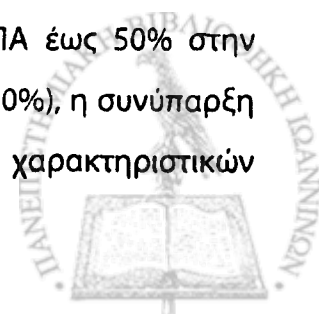
Στη χώρα μας, το ποσοστό της σποραδικής ηπατίτιδας (που δεν ανευρίσκεται γνωστή πηγή HCV λοίμωξης) είναι περίπου 9%.

5.4.1.4. HCV λοίμωξη σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο

Δείκτες ηπατίτιδας C ανιχνεύονται σε 70-80% των ασθενών που πριν ταξινομούνται σαν «κρυπτογενής ηπατίτιδα και κίρρωση» ή σποραδική «μη-A, μη-B ηπατίτιδα»^{458,459}.

Σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο και θετικό HBsAg από τη Νότια Ευρώπη, τις ΗΠΑ και την Άπω Ανατολή έχουν ευρεθεί αντι-HCV αντισώματα σε συχνότητες που κυμαίνονται από 10-20%^{459,460}. Η υψηλότερη συχνότητα συλλοίμωξης HBV και HCV έχει ευρεθεί στη Μεσόγειο, σε μερικές περιοχές της Κίνας, Ινδίας, Ινδονησίας, Ιαπωνίας και Ν. Ζηλανδίας, πιο συχνά σε ασθενείς με σοβαρή χρόνια ηπατίτιδα ή κίρρωση^{456,459,461} και μη ενεργό HBV λοίμωξη οφειλόμενη στην κατασταλτική δράση του HCV core αντιγόνου στον πολλαπλασιασμό του HBV.

Η παρουσία της HCV λοίμωξης έχει συνδεθεί με την χρόνια αλκοολική νόσο. Υπάρχουν διάφορες μελέτες^{422,463,464} που δείχνουν ότι η συχνότητα της HCV λοίμωξης σε αλκοολική ηπατοπάθεια κυμαίνεται από 25% στη Ν. Ευρώπη και ΗΠΑ έως 50% στην Ιαπωνία, η υψηλότερη συχνότητα υπάρχει σε εκείνους με κίρρωση (35-60%), η συνύπαρξη HCV σχετίζεται με την σοβαρότητα της ηπατικής νόσου, παρουσία χαρακτηριστικών



χρονίας ιϊκής ηπατίτιδας και μικρής επιβίωσης. Οι αλκοολικοί με συνύπαρξη HCV έχουν μεγαλύτερα επίπεδα ιαιμίας από τους μη αλκοολικούς ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα.

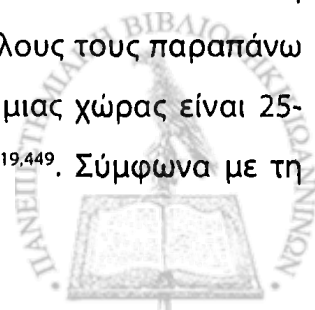
Στην περιοχή της Ηπείρου δεν βρέθηκε αυξημένη παρουσία HCV σε αλκοολικούς⁴⁶⁵ και ίσως αυτό οφείλεται στις διαφορετικές συνήθειες που χαρακτηρίζουν τον τρόπο ζωής των αλκοολικών της περιοχής μας.

5.4.1.5. Συχνότητα HCV λοίμωξης σε αιμοδότες και γενικό πληθυσμό

Η HCV λοίμωξη έχει ευρύτατη διασπορά σ' όλο τον κόσμο. Στους αιμοδότες, σε ορισμένες χώρες όπως η Μ. Βρετανία και οι Σκανδιναβικές η συχνότητα του HCV είναι πολύ χαμηλή: 0,04-0,09%^{466,467}. Χαμηλή συχνότητα από 0,15-0,5% έχει περιγραφεί στις ΗΠΑ^{419,468,469}, Δυτική Ευρώπη^{419,422} και Ισραήλ⁴⁷⁰. Μέτρια συχνότητα μεταξύ 0,6-1% έχει ευρεθεί σε μερικές περιοχές της Ν. Ευρώπης^{417,471}, Κένυα⁴⁷² και Ταϊλάνδη⁴⁷³. Συχνότητα μεταξύ 1 και 1,5% έχει αναφερθεί στην Ινδία⁴⁴⁹, Κίνα⁴⁷⁴, Κούβα⁴⁷⁵ και Αιθιοπία⁴⁷⁶. Υψηλή συχνότητα από 1,6-3,5% έχει βρεθεί στην Ιαπωνία⁴⁷⁷, Ινδονησία⁴⁷⁸, Τουρκία⁴⁷⁹, μερικές περιοχές της Ρωσίας⁴⁸⁰, Βραζιλία⁴⁸¹ και τη Μέση Ανατολή^{449,482}. Υπερβολικά υψηλή συχνότητα παρατηρείται στο Καμερούν (6,4%)⁴⁸³ και στην Αίγυπτο (14%)⁴⁸⁴. Η υψηλότερη συχνότητα έχει αναφερθεί σε αιμοδότες του Καΐρου⁴⁸⁵.

Στην Ελλάδα, η συχνότητα των αντι-HCV αντισωμάτων σε αιμοδοτικό πληθυσμό κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα, κάτω του 0,5%^{486,487}. Τα ποσοστά αντι-HCV θετικότητας στους αιμοδότες, στα οποία στηρίζονται οι περισσότερες εκτιμήσεις δεν είναι αντιπροσωπευτικά του τι συμβαίνει στο γενικό πληθυσμό γιατί οι αιμοδότες είναι ένας πληθυσμός αυστηρά επιλεγμένος από τους οποίους αποκλείονται όσοι είναι εκτεθειμένοι σε αυξημένο κίνδυνο λοιμώξεων.

Μελέτες που αφορούν την HCV συχνότητα σε γενικό πληθυσμό είναι δύσκολο να πραγματοποιηθούν και συνήθως αφορούν πάλι καθορισμένες ομάδες όπως εγκυμονούσες, στρατιώτες που έχουν περιορισμούς ως προς την ηλικία και το φύλο ή αφορούν μικρές απομονωμένες κοινωνικές ομάδες. Επίσης, στην ίδια χώρα είναι δυνατόν να υπάρχουν γεωγραφικές περιοχές ή μειονότητες που έχουν διαφορετική συχνότητα HCV λοίμωξης, εξαιτίας ασυνήθων τρόπων διαβίωσης και συνηθειών που τους εκθέτουν στη νόσο (tattoo, βελονισμός χωρίς αποστείρωση των εργαλείων). Παρ' όλους τους παραπάνω περιορισμούς φαίνεται ότι η συνολική συχνότητα στους αιμοδότες μιας χώρας είναι 25-50% χαμηλότερη απ' ότι στο γενικό πληθυσμό της ίδιας περιοχής^{419,449}. Σύμφωνα με τη



διαπίστωση αυτή η HCV συχνότητα σε γενικό πληθυσμό φαίνεται να είναι μικρότερη από 0,2% στη Β. Ευρώπη και σε κάποιες πολιτείες των ΗΠΑ, μεταξύ 0,5 και 1,5% στην Αυστραλία και άλλα μέρη των ΗΠΑ, περίπου 1-1,5% στη Ν. Ευρώπη και Ιαπωνία, μεγαλύτερη από 2% στην Ανατολική Ευρώπη, μεταξύ 2 και 5% στη Βραζιλία, άλλες χώρες της Ν. Αμερικής και της Μέσης Ανατολής και πάνω από 10% στη Βόρεια και Κεντρική Αφρική. Σε μια από τις λίγες μελέτες που έγιναν σε γενικό πληθυσμό στις ΗΠΑ όπου εξετάστηκαν 10.131 άτομα μεταξύ 1989 και 1992 βρέθηκε συχνότητα HCV 1,4% που σημαίνει ότι περίπου 3,5 εκατομμύρια άτομα σ' όλη τη χώρα είναι HCV θετικοί⁴⁴⁹. Σε όλες τις μελέτες, και εκείνες που αφορούν αιμοδοτικό και εκείνες που αφορούν γενικό πληθυσμό φαίνεται ότι υπάρχει συσχέτιση εμφάνισης HCV και ηλικίας, δηλ. στις μεγαλύτερες ηλικίες έχουμε και μεγαλύτερη συχνότητα της νόσου.

Οι επιβεβαιωμένοι HCV θετικοί αιμοδοτές έχουν ιστορικό παρεντερικής έκθεσης σε αίμα (μετάγγιση, IV χρήση ναρκωτικών ουσιών, tattoo ή επαγγελματική έκθεση σε βελόνες) σε ποσοστό 35-75% που γίνεται μεγαλύτερο σε περιοχές με χαμηλή συχνότητα της νόσου^{417,468,481,488}. Άλλοι παράγοντες που σχετίζονται σημαντικά με την παρουσία HCV είναι: ιστορικό προηγούμενης χειρουργικής επέμβασης, παρατεταμένη παραμονή σε νοσοκομείο πριν το 1970 σε μεγάλα άτομα και τώρα τελευταία η χρησιμοποίηση κοινών καλαμακίων στη χρήση κοκαΐνης^{417,418,457}.

Η απουσία HCV λοίμωξης παρά την παρουσία HBV, HDV και HEV⁴⁸⁹ σε πληθυσμό που παραδοσιακά δεν νοσηλεύεται σε νοσοκομείο, επιτείνει την διαπίστωση ότι η νοσοκομειακή νοσηλεία καλύπτει παρεντερική έκθεση στον ιό και έχει συμβάλει στο πρόσφατο παρελθόν στη διασπορά της νόσου.

Στην Ελλάδα, τα στοιχεία για τη συχνότητα HCV σε γενικό πληθυσμό είναι περιορισμένα. Σε μελέτη συγγενών ασθενών βρέθηκε 2,82%⁴⁸⁶, συγγενικού και φιλικού περιβάλλοντος ασθενών 0,48%⁴⁹⁰, σε ασθενείς ουρολογικού τακτικού εξωτερικού ιατρείου 0,95%⁴⁹¹. Στην Κρήτη, στην κοινότητα Σπηλίου του νομού Ρεθύμνου, βρέθηκε υψηλή συχνότητα αντι-HCV σε ποσοστό 10,9%⁴⁹². Επίσης, στο Κατάκωλο του νομού Ηλείας εμφανίζεται ποσοστό περίπου 8%⁴⁹³. Και στις 2 προηγούμενες περιπτώσεις που εμφανίζεται η αυξημένη αυτή συχνότητα της HCV λοίμωξης πιθανολογείται ότι η διασπορά υπήρξε ιατρογενής (κοινές σύριγγες, βελόνες και άλλα εργαλεία ιατρικής ή παραϊατρικής χρήσης).



5.5. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ

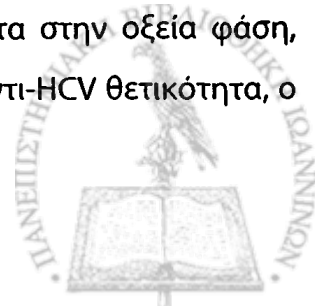
5.5.1. Κλινικά χαρακτηριστικά της ηπατίτιδας C

Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου ήταν γνωστές πολύ νωρίτερα από την ανακάλυψη του HCV λόγω εκτεταμένων ερευνών που έγιναν στη δεκαετία του 1970 για την MMH. Σε πολλές περιπτώσεις τα συμπτώματα μοιάζουν με τις άλλες μορφές ηπατίτιδας και συχνά μπορεί να προκληθεί σύγχυση.

5.5.1.1. Οξεία ηπατίτιδα C

Η πιο καλά μελετημένη μορφή της ηπατίτιδας C είναι η μετά μετάγγιση ηπατίτιδα. Τα συμπτώματα όμως και η φυσική πορεία της νόσου είναι ίδια και στην σποραδική μορφή της νόσου⁴⁹⁴. Το μεγαλύτερο ποσοστό (70%) της μετά μετάγγιση ή σποραδικής HCV είναι ανικτερική, με ήπια πορεία και μη διακρινόμενη κλινική συνδρομή. Στις περιπτώσεις που εμφανίζεται ίκτερος, η κλινική και βιοχημική εικόνα είναι ηπιότερη από ότι στην ηπατίτιδα B. Ποσοστό μικρότερο του 10% εμφανίζει σοβαρή συμπτωματολογία. Σε ένα μικρό ποσοστό νοσούντων είναι δυνατόν να εμφανισθούν πρόδρομα συμπτώματα (πυρετός) και να εμφανισθούν σκοτεινόχροα ούρα, κακουχία, ναυτία, κοιλιακές διαταραχές ή ίκτερος. Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της HCV λοίμωξης είναι ότι στην οξεία φάση μπορούν να παρουσιασθούν «πολλαπλές» κλινικές και βιοχημικές υποτροπές, ακόμη και μετά πλήρη ύφεση, στη διάρκεια των πρώτων 6 μηνών μετά την αρχική εκδήλωση της νόσου (πολυφασική διαδρομή)⁴⁹⁵. Η ηπατίτιδα C δεν εξελίσσεται σε κεραυνοβόλο μορφή, παρά μόνο πολύ σπάνια (<1%).

Σε αντίθεση με την ηπατίτιδα B, και παρά την ηπιότητα της οξείας φάσης, η μετάπτωση σε χρονιότητα παρατηρείται στο 50% των περιπτώσεων (2% στην ηπατίτιδα B). Η εξέλιξη σε χρονιότητα είναι σχεδόν σίγουρη όταν η νόσος παραμένει (βιοχημικά, ιστολογικά και ιολογικά) ενεργή για διάστημα μεγαλύτερο των 6 μηνών από την πρώτη της εκδήλωση. Τα αίτια που προκαλούν την μετάπτωση σε χρονιότητα δεν είναι γνωστά. Υπάρχουν ορισμένοι παράγοντες που χωρίς να έχει αποδειχθεί, θεωρούνται σαν δείκτες υψηλού κινδύνου μετάπτωσης σε χρονιότητα. Έτσι, το άρρεν φύλο, η μεγάλη ηλικία, το υψηλό ιικό φορτίο, η «πολυφασική» διαδρομή, σοβαρά συμπτώματα στην οξεία φάση, υψηλά επίπεδα ALT στην οξεία φάση, μεγάλος όγκος μεταγγίσεων, αντι-HCV θετικότητα, ο



γονότυπος, η ανοσοανεπάρκεια και ο βαθμός ηπατικής βλάβης (ιστολογικά) θεωρούνται παράγοντες υψηλού κινδύνου⁴⁹⁶.

Ο χρόνος επώασης της οξείας ΗCV κυμαίνεται από 6 έως 12 εβδομάδες⁴⁹⁷. Σε ασθενείς που μολύνθηκαν από παράγωγα αίματος, όπως ο παράγοντας VIII, ο χρόνος επώασης μπορεί να περιορισθεί μόνο σε 2-24 ημέρες με την λήψη του παραγώγου. Ο μέσος χρόνος επώασης είναι περίπου 7-8 εβδομάδες⁴⁹⁸.

Στην οξεία ηπατίτιδα C, περίπου 25-50% των ασθενών εμφανίζουν φυσιολογικές τιμές ALT 6 μήνες έως 1 χρόνο μετά την έναρξη της νόσου. Αυτοί οι ασθενείς γίνονται αντι-ΗCV θετικοί, ενώ το ΗCV-RNA εξαφανίζεται. Ένα ποσοστό ασθενών, περίπου 25%, έχουν φυσιολογικές τιμές ALT, είναι όμως ΗCV-RNA θετικοί. Όπως ήδη αναφέρθηκε στο άλλο 50% των ασθενών, η νόσος μεταπίπτει σε χρονιότητα.

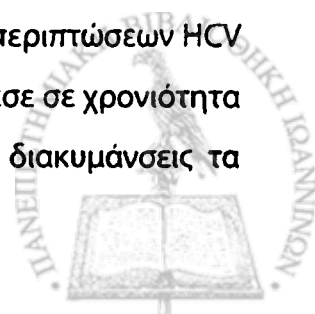
5.5.1.2. Κεραυνοβόλος ηπατίτιδα C

Η πρόκληση κεραυνοβόλου ηπατίτιδας C (με ανάπτυξη αντί-ΗCV αντισωμάτων και εμφάνιση ΗCV ιαιμίας) δεν έχει αποδειχθεί επαρκώς και υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η πορεία αυτής της κλινικής μορφής ηπατίτιδας είναι συνήθως θανατηφόρος και η ανάπτυξη των αντι-ΗCV αντισωμάτων καθυστερεί. Σε μια μελέτη αναφέρεται η ανάπτυξη κεραυνοβόλου μορφής ηπατίτιδας C σε 4 ασθενείς που ήταν θετικοί για αντι-ΗCV με ή χωρίς ΗCV-RNA και δεν είχαν άλλη ένδειξη ιογενούς λοίμωξης⁴⁹⁹. Άλλοι ερευνητές έχουν αναφέρει ότι δεν διαπίστωσαν συσχέτιση μεταξύ του ΗCV και της εμφάνισης κεραυνοβόλου ηπατίτιδας⁵⁰⁰.

Σε 2 μελέτες που αρχικά τέθηκε η διάγνωση της κεραυνοβόλου ηπατίτιδας μη-A, μη-B, διαπιστώθηκε στη μεν πρώτη περίπτωση ότι αιτιολογικός παράγων ήταν ο HEV⁵⁰¹, ενώ στη δεύτερη ήταν «κρυπτικής» μορφής HBV λοίμωξη⁵⁰². Άλλοι αναφέρουν ότι σε συνδυασμό ΗCV και HBV λοίμωξης αυξάνει πιθανόν ο κίνδυνος εμφάνισης κεραυνοβόλου ηπατίτιδας⁵⁰³.

5.5.1.3. Χρόνια ηπατίτιδα C.

Η μετάπτωση της νόσου σε χρόνια είναι η πιο συχνή από οποιαδήποτε άλλη μορφή ηπατίτιδας, κυρίως όταν αυτή οφείλεται σε μετάγγιση. Περίπου 60% των περιπτώσεων ΗCV μετά μετάγγιση καταλήγει σε χρονιότητα⁵⁰⁴. Η νόσος θεωρείται ότι μετέπεσε σε χρονιότητα όταν ο ασθενής έχει επίμονη παθολογική ανύψωση ή αυξάνονται με διακυμάνσεις τα



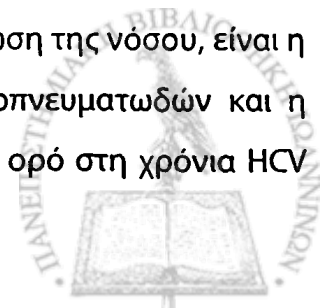
επίπεδα της ALT και είναι αντι-HCV θετικός για διάστημα μεγαλύτερο των 6 μηνών. Η πλειοψηφία των περιπτώσεων (60%) παρουσιάζει ιστολογικές αλλοιώσεις ενεργού ηπατίτιδας και πολύ συχνά (30%) η χρόνια επιμένουσα ηπατίτιδα (CPH) εξελίσσεται σε χρόνια ενεργό ηπατίτιδα (CAH). Στις διάφορες μελέτες παρουσιάζονται σημαντικές διαφορές στα ποσοστά μετάπτωσης της χρόνιας επιμένουσας σε χρόνια ενεργό ηπατίτιδα και αυτό οφείλεται στις διαφορετικές πηγές προέλευσης (εθελοντές αιμοδότες, μετά μετάγγιση, κλπ) και στα διαφορετικά κριτήρια επιλογής των ασθενών (ιστολογικά, βιοχημικά). Σε όλες τις μελέτες όμως είναι κοινή διαπίστωση ότι 20% των ασθενών με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα, θα καταλήξει σε κίρρωση ή σε ηπατοκυτταρικό καρκίνο.

Στην ηπατίτιδα C, σε σχέση με την ηπατίτιδα B παρατηρούμε ότι στην ηπατίτιδα C η χρόνια ενεργός αποτελεί συχνότερο εύρημα (50% στην HCV έναντι 5% στην HBV), η εξέλιξη της όμως σε κίρρωση είναι σπανιότερη (20% στην HCV έναντι 75% στην HBV).

Η χρόνια HCV όπως και η οξεία είναι πιο ήπια κλινικά, βιοχημικά και ιστολογικά. Προγνωστικοί δείκτες που να προβλέπουν τις περιπτώσεις που εξελίσσονται σε βαρύτερες καταστάσεις (χρόνια επιμένουσα προς χρόνια ενεργό και χρόνια ενεργό προς κίρρωση). Η ανοσοανεπάρκεια και ο γονότυπος 1b φαίνεται ότι συσχετίζονται με ταχύτερη εξέλιξη της ηπατικής νόσου⁵⁰⁵. Η κατάληξη σε κίρρωση έχει παρατηρηθεί ότι συμβαίνει έως και 20 χρόνια μετά την οξεία νόσο και η ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκίνου 25 χρόνια μετά σε ασθενείς με μετά μετάγγιση ηπατίτιδα. Σε ασθενείς της κατηγορίας αυτής δεν βρέθηκε διαφορά στην επιβίωση 20 χρόνια μετά σε σχέση με μια συγκρίσιμη ομάδα ελέγχου⁵⁰⁶. Στην ομάδα των ασθενών παρατηρήθηκαν περισσότεροι θάνατοι με ηπατική αιτία και ίσως μετά τα 20 χρόνια να αρχίζει ο αντίκτυπος στην επιβίωση.

Ο προσδιορισμός των σποραδικών περιπτώσεων χρόνιας ηπατίτιδας C είναι πιο δυσχερής και στις περισσότερες περιπτώσεις η διάγνωση γίνεται είτε με τον έλεγχο αιμοδοτών είτε με την εμφάνιση μη ειδικών συμπτωμάτων είτε με τυχαία ανακάλυψη αυξημένων τιμών της ALT.

Η χρόνια HCV ηπατίτιδα σπάνια προκαλεί εμφανή συμπτώματα ή ενοχλήματα και η εμφάνιση ικτέρου χαρακτηρίζει την ύπαρξη προχωρημένης νόσου, την ανάπτυξη κίρρωσης ή την εμφάνιση επιπλοκής που σχετίζεται με την πρωτοπαθή νόσο. Μεταξύ των επιβαρυντικών παραγόντων που θεωρούνται ότι προκαλούν επιδείνωση της νόσου, είναι η προχωρημένη ηλικία στο χρόνο της λοίμωξης, η κατάχρηση οινόπνευματων και η ταυτόχρονη λοίμωξη από HBV ή από HIV. Τα επίπεδα της ALT στον ορό στη χρόνια HCV



λοίμωξη εμφανίζουν συνήθως αυξομειώσεις κατά τη διάρκεια μηνών ή ετών και κυμαίνονται από το 2πλάσιο μέχρι το 8πλάσιο των ανώτερων φυσιολογικών τιμών αν και σε μερικές περιπτώσεις έχουμε μεγαλύτερη αύξηση ή και φυσιολογικές τιμές. Η γGT είναι συνήθως υψηλότερη απ' ό τι σε άλλες ιογενείς ηπατίτιδες. Η ανύψωση της AST σε επίπεδα μεγαλύτερα της ALT υποδηλώνει την ανάπτυξη κίρρωσης, όπως και η παράταση του χρόνου προθρομβίνης και η πτώση της λευκωματίνης του ορού.

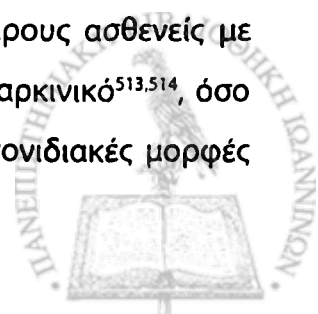
5.5.1.4. HCV και ηπατοκυτταρικός καρκίνος

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ χρόνιας λοίμωξης και ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Η συσχέτιση αυτή ενισχύεται από την ανεύρεση μεγάλης συχνότητας αντι-HCV αντισωμάτων σε ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνο^{507,508}.

Στην Ιαπωνία, που ο καρκίνος του ήπατος αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου μεταξύ των καρκίνων, 70-80% των αρρώστων βρέθηκαν αντι-HCV θετικοί⁵⁰⁹.

Στην Ευρώπη, ΗΠΑ και την Ιαπωνία, φαίνεται ότι ο ρόλος του HCV στην ανάπτυξη ηπατοκυτταρικού καρκίνου είναι σημαντικότερος από εκείνο του HBV. Στη χώρα μας που η συχνότητα της HBV λοίμωξης είναι αρκετά υψηλή, ο HBV φαίνεται ότι ευθύνεται για την πλειοψηφία των ηπατοκυτταρικών καρκίνων, ενώ ο HCV ευθύνεται για την πλειοψηφία των HBV αρνητικών περιπτώσεων^{507,510}.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει το σημαντικό ρόλο του HCV στην παθογένεση του ηπατικού καρκινώματος. Οι περισσότεροι όμως πιστεύουν ότι επειδή ο ηπατοκυτταρικός καρκίνος στη μεγαλύτερη αναλογία των ασθενών εμφανίζεται σε έδαφος κίρρωσης, η φλεγμονή και αναγέννηση του ηπατοκυτταρικού παρεγχύματος θα πρέπει μάλλον να αποτελεί τον κυριότερο προδιαθεσικό παράγοντα καρκινογένεσης. Ο HCV είναι RNA ιός που δεν μεταγράφεται αντίστροφα και δεν ενσωματώνεται στο DNA του ξενιστή. Δεν έχει αποδειχθεί επίσης ότι το γονιδιώμά του περιλαμβάνει ογκογονίδια. Η φυσική πορεία της χρόνιας HCV λοίμωξης χαρακτηρίζεται από συνεχιζόμενη χαμηλού βαθμού ηπατική νέκρωση και αναγέννηση, χωρίς να μεσολαβούν μακρόχρονα διαστήματα σχετικής τρανσαμινασικής ηρεμίας, που χαρακτηρίζουν τον υγιή HBV «φορέα». Το HCV-RNA παραμένει θετικό στο μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών με χρόνια HCV λοίμωξη ακόμη και όταν επιπλακεί με ηπατοκυτταρικό καρκίνο^{511,512}. Στους περισσότερους ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνο, το HCV-RNA ανιχνεύεται με PCR τόσο στον καρκινικό^{513,514}, όσο και στον παρακείμενο μη καρκινικό ιστό⁵¹³. Ανιχνεύεται όχι μόνο σε γονιδιακές μορφές



(genomic) αλλά και σε αναπαραγωγίμες (replicative), ενδεικτικό της συνεχιζόμενης αναπαραγωγής του⁵¹³. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς με HCV και ηπατοκυτταρικό καρκίνο έχουν κίρρωση και οι περισσότερες μελέτες δεν δείχνουν ουσιαστική αύξηση του κινδύνου εμφάνισης του ηπατοκυτταρικού καρκίνου, εκτός από αυτό που προσδίδει η παρουσία της κίρρωσης^{514,515}. Ο γονότυπος του HCV και ιδιαίτερα ο 1b, πιθανότατα σχετίζεται με τη βαρύτητα της χρόνιας λοίμωξης και την εξέλιξη της σε κίρρωση. Έχει επίσης βρεθεί ότι όσο η ηπατική βλάβη γίνεται βαρύτερη ο επιπολασμός του 1b αυξάνει. Όλα τα παραπάνω κάνουν πολύ πιθανή την υπόθεση ότι η καρκινογόνος δράση του HCV είναι έμμεση μέσω χρονίζουσας ηπατικής φλεγμονής.

Πολυπαραγοντικές μελέτες που η επίδραση του HCV συνεκτιμάται με άλλους πιθανούς παράγοντες καρκινογένεσης, δείχνουν ότι η μεγάλη ηλικία⁵¹⁶, η παλιά (και όχι η τρέχουσα) κατάχρηση αλκοόλ^{516,252}, πιθανώς το κάπνισμα^{252,517}, δρουν σαν συμπράγοντες.

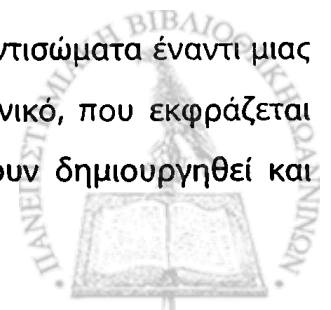
Η ετήσια συχνότητα του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος είναι 0.25-1.2 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις και από ηπατίτιδα C 1-4% ετήσια. Ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκινώματος σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C είναι 1-5% μετά από 20 χρόνια. Μετά την εγκατάσταση κίρρωσης ο κίνδυνος αυξάνεται σε 1-4% ανά έτος.

5.5.1.5. Εξωηπατικές εκδηλώσεις και σύνδρομα στην HCV λοίμωξη

Πολύ ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι επιδράσεις του ιού της ηπατίτιδας C (HCV) στο ανοσιακό σύστημα και στην πρόκληση αυτοανοσίας. Ο HCV δεν παρουσιάζει μόνο ηπατοτροπισμό αφού πολλαπλασιάζεται στα μεγάλα μονοπύρρηνα και τα λεμφοκύτταρα και σχετίζεται με την εκδήλωση αυτοάνοσων εκδηλώσεων που μπορεί να προκαλέσουν διαγνωστικά προβλήματα με τις αυτοάνοσες ηπατοπάθειες. Με επιδημιολογικές και κλινικές παρατηρήσεις, οι γονότυποι του HCV έχουν ενοχοποιηθεί στην πρόκληση διαφόρων εξωηπατικών εκδηλώσεων και συνδρόμων που σχετίζονται αιτιοπαθογενετικά με την εμφάνιση αυτοανοσίας⁵¹⁸. Οι σημαντικότερες HCV εξωηπατικές εκδηλώσεις μέχρι σήμερα αναφέρονται στη συνέχεια.

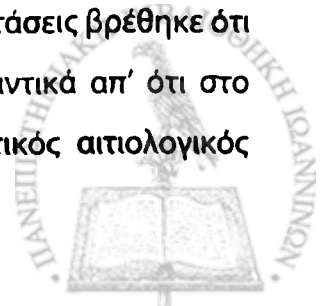
α. ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑ ΚΑΙ HCV

(α1) Αντι-GOR. Σε ασθενείς με HCV ηπατίτιδα ανιχνεύονται αντισώματα έναντι μιας ανθρώπινης πρωτεΐνης (αντι-GOR)⁵¹⁹. Το αντιγόνο GOR είναι πυρηνικό, που εκφράζεται περισσότερο στους ιστούς ηπατοκυτταρικού καρκίνου⁵¹⁹, ενώ έχουν δημιουργηθεί και



κλώνοι T-λεμφοκυττάρων με έκφραση GOR από ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνο και χρόνια ηπατίτιδα C⁵²⁰. Ακόμη δεν γνωρίζουμε αν το αντι-GOR είναι αυτοαντίσωμα που παραμένει όταν ενεργοποιηθεί η παραγωγή του από την HCV λοίμωξη ή αν αντανακλά χημική αντίδραση μεταξύ ιικών αντιγόνων και αυτοαντιγόνων αφού έχει διαπιστωθεί σχετική μοριακή ομολογία μεταξύ του GOR και του πυρηνικού πεπτιδίου του HCV⁵²¹. Τα αντι-GOR μπορούν να αναζητηθούν με ELISA που χρησιμοποιεί συνθετικό πεπτιδίο 27 αμινοξέων (spGOR2). Το 80% των ασθενών με MAMB ηπατοπάθεια στην Ιαπωνία έχουν αντι-GOR αντισώματα. Το αυτοαντίσωμα αυτό είναι ειδικό της HCV λοίμωξης αφού διαπιστώθηκε σε 3 από 6 άτομα με χρόνια HCV, σε 11 από 14 άτομα με χρόνια HCV, ενώ δεν διαπιστώθηκε σε άλλες αυτοάνοσες ηπατοπάθειες, στο συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο ή σε υγιείς μάρτυρες⁵²². Η αναζήτηση του αντι-GOR ίσως έχει πρακτική σημασία στη διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας όταν καθυστερεί η ορομετατροπή⁵²³. Η παρουσία των αντι-GOR δεν έχει παθογενετική, κλινική ή προγνωστική σημασία, αφού δεν συσχετίζεται με την ηλικία, το φύλο, τον τρόπο μετάδοσης, την ηπατική βιολογία, την ιστολογική βαρύτητα της ηπατίτιδας ή την ανταπόκριση στην α-ιντερφερόνη⁵²⁴.

(α2) *Αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 1 και HCV.* Η διαφορική διάγνωση μεταξύ MAMB ηπατίτιδας και των αυτοάνοσων ηπατίτιδων γινόταν προ της ανακάλυψης της HCV με την αναζήτηση αυτοαντισωμάτων που εθεωρούντο ειδικά για τις αυτοάνοσες. Οι ασθενείς με αυτοάνοση ηπατίτιδα διακρίνονται σε 4 ομάδες ανάλογα με την ειδικότητα των αυτοαντισωμάτων [τύπος 1, τύπος 2 (α και β), τύπος 3, τύπος 4]. Η σχέση του HCV με τους τύπους της αυτοάνοσης ηπατίτιδας 1 και 2 έχει προκαλέσει εκτενείς συζητήσεις. Αρχικά, με τις ELISA 1^{ης} γενεάς δινόταν υψηλά ποσοστά αντι-HCV οροθετικότητας (40%) στην αυτοάνοση ηπατοπάθεια τύπου 1 (λυκοειδής ή κλασσική) επειδή η δοκιμασία αυτή έδινε ψευδώς θετικά αποτελέσματα σε πολλές περιπτώσεις ενεργού αυτοανόσου ηπατίτιδας τύπου 1 που συνοδεύονταν από πολυκλωνική υπεργαμμασφαιριναιμία ή που οι οροί είχαν καταψυχθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα⁵²⁵. Η χρησιμοποίηση (α) των πλέων ειδικών ορολογικών εξετάσεων δεύτερης και τρίτης γενεάς και των αντίστοιχων επιβεβαιωτικών δοκιμασιών (RIBA 2 & 3) καθώς και η εφαρμογή της RT-PCR για αναζήτηση HCV ιαυμίας βοήθησαν στη διερεύνηση αυτού του προβλήματος. Έτσι, με τις νέες εξετάσεις βρέθηκε ότι η συχνότητα των αντι-HCV στην ηπατίτιδα τύπου 1 δεν διέφερε σημαντικά απ' ότι στο γενικό πληθυσμό, γεγονός που μαρτυρά ότι ο ιός δεν είναι σημαντικός αιτιολογικός



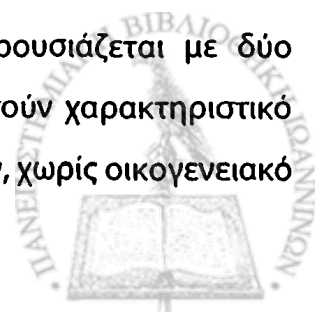
παράγοντας και σπάνια μπορεί να συνυιάρχει. Εξάλλου, η κλινική εικόνα της χρόνιας λοίμωξης από την HCV είναι διαφορετική από αυτή της αυτοάνοσης ηπατίτιδας⁵²⁶.

(α3) *Αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 2 και HCV.* Η αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 2 χαρακτηρίζεται από την παρουσία των αντι-LKM-1 των οποίων αντιγόνο στόχος είναι μικροσωμιακή πρωτεΐνη 33 αμινοξέων, 50 kD, τμήμα του κυτοχρώματος P₄₅₀ II D₆, ενζυμικού συστήματος που συμμετέχει στο μεταβολισμό των φαρμάκων⁵²⁷. Αντι-LKM που διαφέρουν μεταξύ τους ανάλογα με τον τύπο του ανοσοφθορισμού, παρατηρούνται σε 3 ομάδες ηπατοπαθειών: (α) αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 2 (αντι-LKM-1), (β) χρήση φαρμάκων (αντι-LKM-2) και (γ) χρόνια λοίμωξη δέλτα (αντι-LKM-3)⁵²⁸. Δεν γνωρίζουμε αν τα αντι-LKM-1 έχουν παθογόνο δράση. Πιθανόν να αποτελούν επιφαινόμενο αν και έχει διατυπωθεί η άποψη ότι προκαλούν κυτταρόλυση αφού ο στόχος τους εκφράζεται στην πλασματοκυτταρική μεμβράνη των ηπατοκυττάρων⁵²⁹. Στην Ιταλία, ασθενείς με αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 2 παρουσιάζουν σε υψηλό ποσοστό αντι-HCV (90%) και HCV ιαίμια, δεν ανταποκρίνονται στην κορτιζόνη, ενώ η ηπατοπάθεια υποχωρεί με την ιντερφερόνη^{530,531}. Εξίσου υψηλά ποσοστά διαπιστώθηκαν και σε άλλες χώρες: στη Γαλλία 50%⁵³², στη Γερμανία⁵³³, ενώ δεν διαπιστώθηκε το ίδιο στις ΗΠΑ⁵³⁴ και τη Μ. Βρετανία⁵³⁵. Η αιτία της διαφοράς αυτής που παρατηρείται μεταξύ των διαφόρων χωρών είναι άγνωστη και ίσως οφείλεται στο γενετικό υπόστρωμα, σε περιβαλλοντολογικούς παράγοντες ή σε διαφορετικούς γονότυπους του ιού⁵³⁶.

Η αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 2 υποδιαιρείται σε 2 υποομάδες, την 2α και την 2β. Μόνο οι αντι-HCV αρνητικοί ασθενείς με αντι-LKM-1 είναι αληθινές περιπτώσεις αυτοάνοσης ηπατίτιδας τύπου 2 (2α) και αυτοί έχουν ανταπόκριση στη θεραπεία με κορτικοστεροειδή. Η αυτοάνοση ηπατίτιδα 2β χαρακτηρίζεται από τα αντι-LKM-1 και HCV ιαίμια. Στη δεύτερη περίπτωση, η ηπατική νόσος αποδίδεται στον ιό και η παρουσία αντι-LKM-1 είναι επιφαινόμενο.

β. ΟΨΙΜΗ ΔΕΡΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΦΥΡΙΑ (PORPHYRIA CUTANEA TARDA Η SYMPTOMATICA - PCT)

Είναι η συχνότερη μορφή πορφυρίας στον κόσμο και παρουσιάζεται με δύο μορφές: την συγγενή (10%) που μεταβιβάζεται με σωματικό επικρατούν χαρακτηριστικό και την σποραδική (90%) που προσβάλλει συνήθως άνδρες 40-50 ετών, χωρίς οικογενειακό



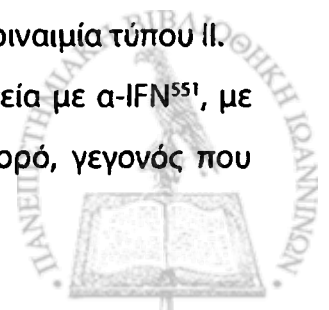
ιστορικό που συχνά κάνουν κατάχρηση οινόπνευματων⁵³⁷. Πρόσφατα, συσχετίστηκε η εκδήλωση της σποραδική PCT με χρόνια HCV λοίμωξη μετά από την ανεύρεση σε ασθενείς αυτής της κατηγορίας υψηλής επίπτωσης αντι-HCV⁵³⁸. Πιθανόν, ο HCV να αποτελεί σημαντικό παθογόνο παράγοντα ηπατικής βλάβης σε ασθενείς με σποραδική PCT και σε συνδυασμό με κατάχρηση οινόπνευματος να προκαλούν κλινική έκφραση της ενζυμικής διαταραχής και κίρρωσης του ήπατος⁵³⁹, είτε λόγω προκλήσεως χαμηλής συγκέντρωσης ενδοκυττάριας γλουταθειόνης, είτε λόγω διαταραχής του ηπατικού μεταβολισμού του σιδήρου. Σε ασθενείς με σποραδική PCT πρέπει να εξετάζουμε για αντι-HCV και HCV-RNA και όσοι έχουν ενεργό ηπατική βλάβη να χορηγείται αντιϊκή θεραπεία.

γ. ΜΙΚΤΗ ΚΡΥΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑ

Η ιδιοπαθής μικτή κρουσφαιριναιμία συχνά (30%) συνοδεύεται από βλάβες χρόνιας ηπατοπάθειας⁵⁴⁰. Δεν έχει διευκρινισθεί όμως αν είναι η αιτία της ηπατικής νόσου ή το αποτέλεσμα αυτής. Παλαιότερα, είχε συσχετισθεί ο HBV με την αιτιοπαθογένεια της κρουσφαιριναιμίας τύπου II λόγω καθίζησης HBsAg και αντι-HBs στο κρουϊζημα αν και αυτό αμφισβητήθηκε⁵²⁷.

Η χρόνια HCV αποτελεί την αιτία κρουσφαιριναιμίας τύπου II και III⁵⁴¹⁻⁵⁴³ αφού έχει απομονωθεί HCV-RNA στο κρουϊζημα και σε ανοσοσυμπλέγματα με αντι-HCV⁵⁴⁴. Η συχνότητα των αντι-HCV στη μικτή κρουσφαιριναιμία τύπου II είναι 42-70%⁵⁴⁵ και της HCV ιαιμίας 86%⁵⁴⁶. Το HCV-RNA είναι συμπυκνωμένο μέχρι 1.000 φορές στο κρουϊζημα και τα αντι-HCV 100 φορές σε όσες περιπτώσεις υπήρχαν, αφού συχνά οι ασθενείς είναι οροαρνητικοί. Η συχνότητα των κρουσφαιρινών σε ασθενείς με χρόνια HCV ποικίλλει (5%⁵⁴⁷, 41%⁵⁴⁸, 13%⁵⁴⁹, 54%⁵⁵⁰) και συχνά συνοδεύεται από αντι-GOR. Πιο συχνά διαπιστώνεται ο τύπος III παρά ο II και στις περισσότερες περιπτώσεις ασυμπτωματικά. Μπορεί να συνοδεύει λοίμωξη με όλους τους μέχρι τώρα γνωστούς HCV γονότυπους, όμως σε ασθενείς με κρουσφαιριναιμία συναντάται συχνότερα ο γονότυπος 1b. Η συμμετοχή του HCV στην αιτιοπαθογένεια της κρουσφαιριναιμίας συνίσταται στη διέγερση των Β-λεμφοκυττάρων με αποτέλεσμα την παραγωγή πολυκλωνικής γ-σφαιρίνης και την εκδήλωση κρουσφαιριναιμίας τύπου III. Όταν κάποιος κλώνος λεμφοκυττάρων αυτονομηθεί, παράγεται μονοκλωνική σφαιρίνη εκφράζοντας κρουσφαιριναιμία τύπου II.

Η ιδιοπαθής μικτή κρουσφαιριναιμία ανταποκρίνεται στη θεραπεία με α-IFN⁵⁵¹, με εξαφάνιση ή ελάττωση της συγκέντρωσης των κρουσφαιρινών στον ορό, γεγονός που



ενισχύει την ένδειξη εμπλοκής του HCV στην παθογένεια της νόσου. Η διαπίστωση σε ασθενή «ιδιοπαθούς» κρουσφαιριναιμίας θα πρέπει να κατευθύνει τον κλινικό γιατρό στον έλεγχο για χρόνια HCV λοίμωξη.

δ. ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΟΝΕΦΡΙΤΙΔΕΣ

Η χρόνια HCV λοίμωξη μπορεί να είναι αιτία μεμβρανοϋπερπλαστικής σπειραματονεφρίτιδας που συχνά συνοδεύεται από ασυμπτωματική κρουσφαιριναιμία. Η μεμβρανώδης σπειραματονεφρίτιδα είναι η συχνότερη νεφροπάθεια σε ασθενείς με χρόνια HBV λοίμωξη, ενώ σπανιότατα συνοδεύει την HCV λοίμωξη⁵⁵². Οι ασθενείς με HCV λοίμωξη και παθολογικά ευρήματα από την γενική ούρων, θα πρέπει να διερευνώνται για πιθανή ύπαρξη σπειραματονεφρίτιδας και επίσης όλοι οι ασθενείς με μεμβρανοϋπερπλαστική σπειραματονεφρίτιδα θα πρέπει να εξετάζονται για την παρουσία πιθανής HCV λοίμωξης.

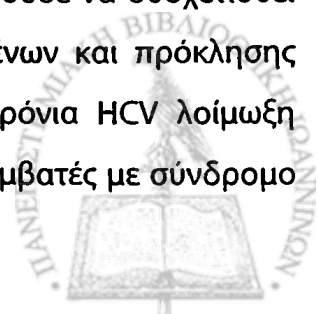
ε. ΘΡΟΜΒΟΠΕΝΙΚΗ ΠΟΡΦΥΡΑ

Έχουν αναφερθεί μεμονωμένα περιστατικά αυτοάνοσης θρομβοπενίας που επιπλέκει οξεία⁵⁵³ και χρόνια HCV χωρίς πυλαία υπέρταση και χωρίς θεραπεία⁵⁵⁴. Αντισώματα έναντι του HCV διαπιστώθηκαν σε ποσοστό 19% σε μια μεγάλη σειρά 112 ασθενών με θρομβοπενική πορφύρα άγνωστης αιτιολογίας⁵⁵⁵. Στους μισούς ασθενείς, η HCV λοίμωξη είχε προηγηθεί της εκδήλωσης της θρομβοπενίας, ενώ ανευρέθηκε HCV-RNA στα αιμοπετάλια, συνηγορώντας υπέρ ενεργού μόλυνσής τους. Η θεραπεία με α-IFN φαίνεται να οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των αιμοπεταλίων που είναι ανεξάρτητη από την ανταπόκριση της ηπατικής νόσου⁵⁵⁶.

στ. ΧΡΟΝΙΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΙΑΛΑΔΕΝΙΤΙΔΑ (ΣΥΝΔΡΟΜΟ SJÖGREN)

Το σύνδρομο Sjögren χαρακτηρίζεται από ελαττωμένη έκκριση των δακρυϊκών και σιαλογόνων αδένων που οφείλεται σε αυτοάνοση αντίδραση έναντι αντιγόνων του αδενικού επιθηλίου.

Ο HCV είναι ιός που αποβάλλεται στο σίελο⁵⁵⁷⁻⁵⁵⁹ και θα μπορούσε να συσχετισθεί παθογενετικά με το σύνδρομο Sjögren μέσω προσβολής των αδένων και πρόκλησης γενικότερης αυτοάνοσης διαταραχής. Σε 57% των ασθενών με χρόνια HCV λοίμωξη παρουσιάστηκαν ιστολογικές αλλοιώσεις των σιαλογόνων αδένων συμβατές με σύνδρομο



Sjögren αλλά τα κλινικά συμπτώματα δεν ταυτίζονταν με το σύνδρομο αυτό⁵⁶⁰. Και από τα αποτελέσματα άλλων εργασιών δεν φαίνεται να συμφωνούν οι ιστολογικές αλλοιώσεις με την κλινική εικόνα του συνδρόμου Sjögren και επίσης ασθενείς με κλινικό σύνδρομο της νόσου δεν παρουσίαζαν αυξημένη συχνότητα αντι-HCV⁵⁶¹. Έτσι, ακόμη δεν έχει αποδειχθεί ότι ο HCV αποτελεί ένα από τα αίτια του συνδρόμου Sjögren.

Σε ασθενείς όμως με σύνδρομο ξηρότητας και αυξημένες τρανσαμινάσες θα πρέπει να ελέγχεται το ενδεχόμενο της χρόνιας HCV λοίμωξης.

Ζ. ΑΠΛΑΣΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Ακριβή δεδομένα που να σχετίζουν την απλαστική αναιμία με την HCV λοίμωξη δεν υπάρχουν. Αρχικά, η συσχέτιση της οξείας μη-A, μη-B ηπατίτιδας βασίστηκε σε κλινικές κυρίως παρατηρήσεις⁵⁶² αλλά και στη διαπίστωση ότι ορός από χιμπατζήδες με οξεία μη-A, μη-B ηπατίτιδα προκαλούσε αναστολή στη λειτουργία των αρχέγονων κυττάρων του μυελού *in vitro*⁵⁶³. Έχουν εκφραστεί 3 υποθετικοί μηχανισμοί πρόκλησης απλαστικής αναιμίας από τον HCV: (α) κυτταροτοξική δράση στα αρχέγονα προγονικά κύτταρα, (β) αυτοανοσιακή πρόκληση κυτταροτοξικής αντίδρασης και παραγωγής λεμφοκινών και (γ) τροποποίηση της λειτουργίας των αρχέγονων κυττάρων με μη έκφραση των υποδοχέων των αυξητικών παραγόντων της αιμοποίησης. Όμως, ο HCV δεν φαίνεται να είναι η αιτία της απλαστικής αναιμίας που επιπλέκει ήπια ή κεραυνοβόλο, συνηθέστερα σποραδική, μη-A, μη-B ηπατίτιδα. Έτσι, σε μελέτες ασθενών με απλαστική αναιμία, μετά από οξεία μη-A, μη-B ηπατίτιδα δεν διαπιστώθηκε HCV-RNA ή οροθετικότητα με ανοσοενζυματικές μεθόδους.

Άλλα νοσήματα που πιθανόν να συνδέονται με HCV είναι η ρευματοειδής αρθρίτιδα, σακχαρώδης διαβήτης, οζώδης πολυαρτηρίτιδα, κνίδωση, οζώδες ερύθημα, έλκος κερατοειδούς του Mooren και ομαλός λειχήνας.

5.6. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΣΤΗΝ HCV ΛΟΙΜΩΞΗ

Όπως αναφέρθηκε, ο HCV προκαλεί τόσο οξεία όσο και χρόνια ηπατίτιδα. Η μετάβαση στη χρονιότητα είναι ανεξάρτητη της ηλικίας των ασθενών ή του τρόπου μετάδοσης του ιού.



Ο ΗCV ανιχνεύεται στο ήπαρ, στα ηπατοκύτταρα, τα επιθηλιακά κύτταρα των χοληφόρων και τα φλεγμονώδη κύτταρα του ήπατος (ηπατοτρόπος ιός) με ανοσοϊστοχημικές τεχνικές και με «in situ» υβριδισμό. Επιπλέον, με PCR ανιχνεύεται στο περιφερικό αίμα, τόσο στον ορό όσο και στα Τ και Β λεμφοκύτταρα^{564,565}. Ο ιός έχει επίσης ευρεθεί στους σιελογόνους αδένες και τον σπλήνα ασθενών με ΗCV⁵⁶⁶.

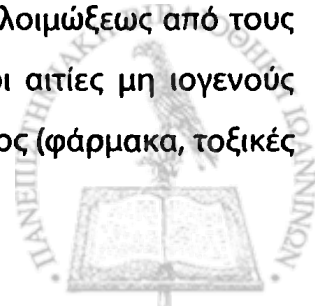
Σήμερα φαίνεται ότι η προϊούσα ηπατική βλάβη στη χρόνια ηπατίτιδα C είναι αποτέλεσμα μιας αντίδρασης επιβραδυνόμενου τύπου με αυξανόμενα επίπεδα TH1 κυτταροκινών. Έχει βρεθεί ελάττωση της IL-10 που πιθανόν είναι αποτέλεσμα της ανασταλτικής επίδρασης της IFN-γ (που βρέθηκε να έχει ενδοηπατική αύξηση) ή μπορεί να είναι αποτέλεσμα μιας ειδικής δράσης του ιού. Επίσης παρατηρήθηκε αύξηση της IL-2 που σχετιζόταν με τη βαρύτητα της ίνωσης του ήπατος και της πυλαίας φλεγμονής. Η IL-4 είναι επίσης χαμηλή⁵⁶⁷⁻⁵⁶⁹. Με τα ευρήματα αυτά διατυπώθηκε η εξής υπόθεση: η παραμονή και ο πολλαπλασιασμός του ιού είναι το αρχικό ερέθισμα της ανοσητικής απάντησης επιβραδυνόμενου τύπου. Η απάντηση αυτή ελέγχει μερικά τη συγκέντρωση του ιού αλλά αδυνατεί να τον εκριζώσει στους περισσότερους ασθενείς.

Η ανοσολογική πίεση που ασκείται στον ιό οδηγεί σε μεταλλάξεις που έχουν σαν αποτέλεσμα την αύξηση των αντιδράσεων υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου και ανακύκλωση μιας συνεχούς ενεργοποίησης τύπου TH1. Η ηπατική καταστροφή προκύπτει από την ενεργοποίηση διαφόρων μη ειδικών αντιδράσεων που προκαλούνται από τα μακροφάγα και τα κυτταροτοξικά Τ κύτταρα. Εάν επιβεβαιωθεί αυτή η υπόθεση, θεραπευτικοί παράγοντες που επιδρούν σε αυτούς τους μεσολαβητές της ηπατικής βλάβης πιθανόν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση της νόσου.

5.7. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C

5.7.1. Μη ειδικές εξετάσεις

Προ της ανακάλυψης του ΗCV, η διάγνωση της μη-A, μη-B ηπατίτιδας γινόταν εμμέσως δια του αποκλεισμού των γνωστών ηπατιτίδων: (α) οξείας HBV (απουσία HBsAg και IgM αντι-HBc), (β) οξείας HAV (απουσία IgM αντι-HAV), (γ) επιλοιμώξεις ενός ήδη HBV φορέα από τον ιό της ηπατίτιδας δέλτα (απουσία IgM αντι-HDV), (δ) λοιμώξεως από τους ιούς CMV και EBV. Επίσης, έπρεπε να αποκλεισθούν όλες εκείνες οι αιτίες μη ιογενούς προελεύσεως που είναι δυνατόν να προκαλέσουν φλεγμονή του ήπατος (φάρμακα, τοξικές ουσίες, οινόπνευμα, κλπ).



Εφόσον όλοι αυτοί οι παράγοντες αποκλείονταν και τα επίπεδα της αλανινοαμινοτρανσφεράσης (ALT) ήταν μεγαλύτερα από 2,5 φορές πάνω από τα ανώτερα φυσιολογικά όρια είχαμε μη-Α, μη-Β ηπατίτιδα. Οι τιμές της ALT στην οξεία αλλά και χρόνια μη-Α, μη-Β ηπατίτιδα, συχνά παρουσιάζουν διακυμάνσεις που εμφανίζονται με 2 τύπους. Στον πρώτο παρατηρείται μια κορύφωση των τιμών της ALT ενώ στο δεύτερο παρατηρούνται συχνές αυξομειώσεις των τιμών του ενζύμου.

5.7.2. Ειδικές εξετάσεις

Η κλωνοποίηση του HCV είχε σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία ειδικών διαγνωστικών εξετάσεων για την ανίχνευση στον ορό ασθενών αντισωμάτων έναντι του ιού αυτού (αντι-HCV), γεγονός που οδήγησε στη δραματική μείωση της μετάδοσης του ιού με τις μεταγγίσεις που αποτελούσαν και τον κύριο τρόπο μετάδοσης μέχρι τότε.

5.7.2.1. Ανοσοενζυματική δοκιμασία ELISA

Η πρώτη εμπορική εργαστηριακή δοκιμασία που εφαρμόστηκε για την διάγνωση της νόσου αλλά και για τον έλεγχο των αιμοδοτών για αντισώματα έναντι του HCV, ήταν μια ανοσοενζυματική δοκιμασία (ELISA-1) πρώτης γενεάς, που χρησιμοποιούσε σαν αντιγόνο μια ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη, την C100-3, από την NS₄ περιοχή του γονιδιώματος, που είχε παραχθεί σε μύκητες και ήταν προϊόν σύντηξης με την SOD. Η ευαισθησία ήταν χαμηλή (70-80%) και ψευδώς θετικά αποτελέσματα παρουσιάζονταν σε ασθενείς με υψηλές συγκεντρώσεις ανοσοσφαιρινών⁵⁷⁰⁻⁵⁷². Η μειωμένη ευαισθησία της ELISA-1 μπορεί να αποδοθεί στο μικρότερο επιπολασμό του αντι-C₁₀₀₋₃ σε σχέση με εκείνο των αντι-C₂₂ και αντι-C₃₃, που ίσως να οφείλεται είτε στο ότι η περιοχή του πυρηνοκαψιδίου είναι πολύ καλά διατηρημένη στα στελέχη του ιού σε αντίθεση με τις μη δομικές περιοχές, είτε στο ότι οι δομικές πρωτεΐνες παρουσιάζουν πιο έντονη ανοσολογική δράση.

Ακολούθησε η πιο ευαίσθητη και ειδική δοκιμασία ELISA δεύτερης γενεάς που χρησιμοποίησε 2 επιπλέον ανασυνδυασμένα αντιγόνα, το c22-3 και c200. Η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη c22-3, είναι μια δομική πρωτεΐνη που κωδικογραφείται από την θεωρούμενη ως περιοχή του πυρήνα (core) του HCV γονιδιώματος. Η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη, μη δομική c200 κωδικογραφείται από τα θεωρούμενα σαν NS₃ και NS₄ τμήματα του HCV γονιδιώματος. Η γενετικά ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη c200 περιέχει την αλληλουχία αμινοξέων της πρωτεΐνης c33-c και γενικά σχετίζεται με την αλληλουχία των αμινοξέων της c100-3.



Η c33-c κωδικογραφείται από το θεωρούμενο ως NS₃ τμήμα του HCV γενώματος. Η ELISA-2 (δεύτερης γενεάς) ανίχνευε μέχρι 95% των μολυσμένων με HCV δηλαδή, δηλαδή είχε μεγαλύτερη ευαισθησία καθώς και ειδικότητα σε σχέση με την ELISA-1^{25,573}. Επιπλέον, η ELISA-2 ανιχνεύει την HCV ορομετατροπή πολύ νωρίτερα από την ELISA-1 και θετικοποιείται 4-6 εβδομάδες μετά τη λοίμωξη.

Αντισώματα έναντι αντιγόνων από την ιϊκή περιοχή του γονιδιώματος (C₂₂) έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία στην πρώιμη διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας HCV και της χρόνιας σποραδικής⁵⁷⁴. Επίσης, από άλλες μελέτες φαίνεται ότι τα αντισώματα που αναπτύσσονται μετά τη μόλυνση από τον ιό της HCV, αντιδρούν πιο συχνά με την C_{33-c} πρωτεΐνη από ότι με την C₁₀₀₋₃²⁵.

Πρόσφατα κυκλοφόρησε η ELISA 3^{ης} γενεάς που περιλαμβάνει μια ακόμη μη δομική πρωτεΐνη, από την περιοχή της ιϊκής πολυμεράσης (NS₅). Η προσθήκη της NS₅ δεν ήταν η μοναδική αλλαγή που είχαμε στην ELISA αυτής της γενεάς, αλλά επιπλέον έγιναν μερικές γενετικές τροποποιήσεις στα υπάρχοντα αντιγόνα που οδήγησαν στη βελτίωση των πρωτεϊνών από την core και την NS₃ περιοχή (C₂₂ και C₃₃). Σε διάφορες μελέτες έχει ανεβρεθεί ότι ένα ποσοστό ασθενών που έχει μολυνθεί από HCV αναπτύσσει αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης NS₅. Τα πλεονεκτήματα από την προσθήκη του NS₅ αντιγόνου παραμένουν αναπόδεικτα και η βελτιωμένη ευαισθησία της ELISA 3^{ης} γενεάς συνδέονται με την βελτίωση του NS₃ και όχι με την προσθήκη NS₅^{575,576}, υπάρχει όμως σημαντική απώλεια αιμοδοτών λόγω μη ικανοποιητικής ειδικότητας. Πρόσφατες τροποποιήσεις στα NS₅ είχαν οδηγήσει σε βελτίωση της ειδικότητας. Επιπλέον, το core αντιγόνο εμφανίζει πιο καλά διατηρημένη δομή μεταξύ των διαφόρων HCV γονοτύπων και αντισώματα έναντι αυτού ανιχνεύονται πιο συχνά από τα άλλα αντιγόνα (Πίνακας 10).

Πίνακας 10. Συχνότητα παρουσίας των διαφόρων HCV αντισωμάτων

Αντισώματα	Ποσοστό θετικότητας (%)
αντι-core	92,8
αντι-NS ₃	92,3
αντι-NS ₄	80,5
αντι-NS ₅	75,6



5.7.2.2. Επιβεβαιωτικές δοκιμασίες

Ένα επαναλαμβανόμενο θετικό αποτέλεσμα με ELISA θα πρέπει να επιβεβαιωθεί με την τεχνική του ανοσοαποτυπώματος με ανασυνδυασμένα αντιγόνα του ιού. Η πρώτη και περισσότερο χρησιμοποιούμενη τεχνική είναι η RIBA της εταιρείας Chiron που χρησιμοποιεί την τεχνική της ανοσοκαθήλωσης σε ταινίες (strip immunoblot assay). Η RIBA 2.0 είναι στην ουσία μια ανοσοενζυματική μέθοδος 2^{ης} γενεάς για τον ποιοτικό διαχωρισμό των αντισωμάτων έναντι τεσσάρων ξεχωριστών πρωτεϊνών που κωδικογραφούνται από το HCV γονιδίωμα, σε ορό ή πλάσμα. Οι 5-1-1, C₁₀₀₋₃ και C_{33-c} είναι μη δομικές πρωτεΐνες παραγόμενες από τις περιοχές NS₃ και NS₄ του HCV γονιδιώματος. Η C₂₂₋₃ είναι δομική πρωτεΐνη παραγόμενη από την core περιοχή του HCV.

Τα αντιγόνα αυτά αφού υποστούν σύντηξη με την πρωτεΐνη της ανθρώπινης δισμουτάσης του υπεροξειδίου (SOD) ακινητοποιούνται σε ταινίες (strips) νιτροκυτταρίνης.

Η RIBA 3.0 έχει σε σχέση με την RIBA 2.0 τις εξής διαφορές: (α) η RIBA 3.0 έχει την πρωτεΐνη NS₅ και η 5-1-1 συνυπάρχει με την C₁₀₀, (β) η RIBA 3.0 χρησιμοποιεί σαν αντιγόνα 3 ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες και 2 ζώνες συνθετικών πεπτιδίων εν αντιθέσει με την RIBA 2.0 που τα αντιγόνα είναι ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες.

Ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες είναι οι C_{33-c}, NS₅ και SOD ενώ οι 2 ζώνες συνθετικών πεπτιδίων περιέχουν πεπτίδια που προέρχονται από την περιοχή του νουκλεοκαψιδίου (C₂₂) και από την περιοχή C₁₀₀ του HCV γονιδιώματος.

Θετική θεωρείται η δοκιμασία όταν αντιδρά ο ορός μας με 2 ιικά αντιγόνα. Όταν έχουμε αντίδραση με 1 αντιγόνο, τότε η δοκιμασία θεωρείται απροσδιορίστου αποτελέσματος (indeterminate). Ουσιαστικά, η RIBA είναι ορολογική εργαστηριακή εξέταση που χρησιμοποιεί τα ίδια HCV αντιγόνα που περιλαμβάνονται και στην ELISA. Σαν τεχνική όμως, είναι πιο ειδική γιατί αποφεύγονται οι περισσότερες ψευδώς θετικές αντιδράσεις που έχουμε στην ELISA⁵⁷⁷.

Ένα θετικό αποτέλεσμα με ELISA μπορεί να σημαίνει ενεργό οξεία ή χρόνια HCV λοίμωξη, παλαιά λοίμωξη ή να είναι ψευδώς θετικό⁵⁷⁸. Επίσης, η ανίχνευση αντισωμάτων στον ορό μπορεί να είναι αποτέλεσμα μεταβίβασης ετοιμών αντισωμάτων μετά από μετάγγιση αίματος ή παραγώγων του, αλλά εξαφανίζονται μετά από λίγες εβδομάδες. Σε νεογνό η παρουσία αντι-HCV τις περισσότερες φορές είναι μητρικής προέλευσης και εξαφανίζονται σε μερικούς μήνες.



Τα αντι-HCV δεν είναι προστατευτικά αντισώματα και η παρουσία τους συχνά σημαίνει μολυσματικότητα και σχετίζεται με ιαμία.

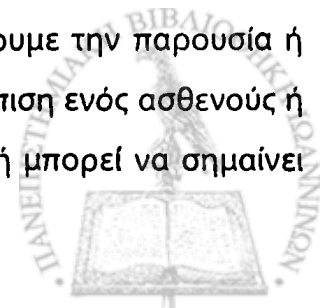
Άλλες επιβεβαιωτικές δοκιμασίες εκτός της RIBA είναι οι Innolia-III, Murex Blot και Pasteur που χρησιμοποιούν ανασυνδυασμένα αντιγόνα/πεπτίδια σε ταινίες νιτροκυτταρίνης και η Matrix-1/2 που έχουμε την εμφάνιση χρώματος. Υπάρχει μεγάλος αριθμός μελετών που αφορούν την σύγκριση μεταξύ των διαφόρων δοκιμασιών καθώς και μεταξύ δοκιμασιών διαφόρων γενεών. Εκεί που υπάρχει συμφωνία είναι ότι τα ισχυρά θετικά αποτελέσματα της ELISA που παρουσιάζουν ισχυρή αντιδραστικότητα με 3 ή 4 αντιγόνα στην RIBA θα αντιδράσουν και με όλες τις άλλες επιβεβαιωτικές δοκιμασίες. Οι διαφορές υπάρχουν όταν έχουμε ασθενώς θετικά αποτελέσματα που στη RIBA εκφράζονται με αντιδραστικότητα 2 ή 1 αντιγόνων. Η εισαγωγή της RIBA 3.0, με τα C100 και NS₄ πεπτίδια και την τροποποίηση στο NS₃, έδωσε την αίσθηση της ελάττωσης του προβλήματος των αδιευκρίνιστων επειδή τα περισσότερα από τα RIBA 2.0 αδιευκρίνιστα με την RIBA 3.0 ταυτοποιούνταν σαν αρνητικά⁵⁷⁹. Για παράδειγμα, το 38% των ELISA HCV θετικών δειγμάτων αιμοδοτών από την Σκωτία ήταν RIBA 2.0 αδιευκρίνιστα. Με τη χρήση RIBA 3.0 το ποσοστό αυτό ελαττώθηκε στο 8%⁵⁸⁰. Η χρησιμοποίηση όμως της ELISA 3^{ης} γενεάς με την προσθήκη του NS₅ αντιγόνου έχει αυξήσει σημαντικά τα αδιευκρίνιστα με μονοαντιδραστικότητα στο NS₅ και απαιτείται βελτίωση της ειδικότητας του NS₅ και για τις ELISA και RIBA 3^{ης} γενεάς.

5.7.2.3. Επιπλέον ανοσοενζυμικές δοκιμασίες

Διαγνωστικές δοκιμασίες για ανίχνευση IgM αντι-HCV αντισωμάτων έναντι μη δομικών (C100) ή πυρηνικών αντιγόνων έχουν εφαρμοσθεί, αλλά δεν διαχωρίζουν οξεία από χρόνια HCV λοίμωξη. Ο ρόλος της παρουσίας των IgM αντι-HCV αντισωμάτων δεν έχει διευκρινισθεί^{581,582}.

5.7.2.4. Τεχνικές μοριακής βιολογίας

Στην ηπατίτιδα C η ιαμία είναι μικρότερη από εκείνη που παρατηρείται στην ηπατίτιδα B στις φάσεις ενεργού ιϊκού πολλαπλασιασμού. Η ανίχνευση του ιϊκού γενώματος είναι τώρα ένα βασικό σημείο της HCV διάγνωσης. Εάν δεν γνωρίζουμε την παρουσία ή απουσία ιαμίας δεν είναι δυνατόν να προχωρήσουμε στην αντιμετώπιση ενός ασθενούς ή αιμοδότη με θετικά αντι-HCV αντισώματα, επειδή η θετικότητα αυτή μπορεί να σημαίνει



οξεία, χρόνια ή ληθείσα λοίμωξη. Προ της έναρξης αντιϊκής θεραπείας, η γνώση της ποσότητας του ιϊκού φορτίου και ο γονότυπος είναι αναγκαία στοιχεία και για την απόφαση χορήγησής της καθώς και για την παρακολούθηση της πορείας της HCV νόσου. Η καλύτερη μέθοδος διάγνωσης της οξείας και χρόνιας HCV λοίμωξης είναι η διαπίστωση αιμίας με τον προσδιορισμό των πυρηνικών οξέων του ιού με διπλή PCR μετά από αντίστροφη μεταγραφή (RT διπλή PCR). Επειδή όμως η τεχνική αυτή είναι σχετικά πολύπλοκη, αρχικά όταν εφαρμόσθηκε σε εργαστήρια πειραματικά, υπήρχε μεγάλη διαφορά στα αποτελέσματα και έτσι, σε μια πολυκεντρική μελέτη, μόνο το 16% των συμμετεχόντων εργαστηρίων έδωσαν αποτελέσματα που συμπίπτουν⁵⁸³, γεγονός που επιτείνει τις αρχικές προβλέψεις ότι είναι αναγκαία η ανάπτυξη περισσότερο ελεγμένων τεχνικών, οι οποίες να είναι ευαίσθητες και να περιορίζουν τον κίνδυνο επιμολύνσεων, να είναι δε εφαρμόσιμες σε εργαστήρια όχι μόνο αναφοράς, να απαιτούν μικρότερο χρόνο και να είναι φθηνότερες. Σήμερα και εμπορικά αντιδραστήρια διατίθενται, τα οποία αναμένεται σε σύντομο διάστημα να καταστήσουν την εφαρμογή των τεχνικών αυτών υπόθεση ρουτίνας.

Με την τεχνική της RT/διπλής PCR, το RNA του ιού αφού μετατραπεί με ανάστροφη μεταγραφή σε cDNA, πολλαπλασιάζεται με τη χρησιμοποίηση θερμοάντοχης πολυμεράσης και συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων σαν εκκινητών (primers), ανά 2 ζεύγη, εσωτερικών και εξωτερικών από καλά διατηρημένη περιοχή του ιϊκού γονιδιώματος. Η πιο κατάλληλη σήμερα θεωρείται η 5'NCR περιοχή που είναι πολύ καλά διατηρημένη σε όλα τα στελέχη του ιού που έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα. Εκτελούνται δύο γύροι αντιδράσεων περίπου 30 κύκλων ο καθένας. Ο κάθε κύκλος περιλαμβάνει 1 min στους 95 °C για απομάκρυνση των αλυσίδων του cDNA, 1 min στους 37 °C για τη σύνδεση των εκκινητών με τις αλυσίδες τους μονόκλωνου πλέον cDNA και 1 min στους 72 °C για επέκταση της μεταγραφής. Το αποτέλεσμα της RT/διπλής PCR αναλύεται με ηλεκτροφόρηση σε γέλη αгарόζης 2% μετά από χρώση με βρωμιούχο εθίντιο για μελέτη σε περιβάλλον υπεριώδους φωτός. Το αποτέλεσμα της αντίδρασης πρέπει να καθορίζεται με προσδιορισμό της αλληλουχίας των βάσεων ή με υβριδισμό με ανιχνευτή προερχόμενο από τη γνωστή αλληλουχία των πυρηνικών οξέων του HCV και όχι μόνο από τον υπολογισμό του μοριακού βάρους, γιατί το τελευταίο μπορεί να είναι ψευδοθετικό. Σήμερα, υπάρχει πιο εύκολος τρόπος αξιολόγησης του αποτελέσματος με υβριδισμό σε



πλακίδια και μέτρηση της οπτικής πυκνότητας (όπως στην τεχνική ELISA). Η ευαισθησία της μεθόδου (RT/διπλή PCR) είναι πολύ υψηλή (1-5 ιικά γονιδιώματα/50 μm³).

Η απουσία σήματος στην PCR δεν πρέπει να λαμβάνεται πάντοτε σαν απουσία ιαιμίας, γιατί μπορεί οι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται να μην αναγνωρίζουν το ιικό γονιδίωμα λόγω ετερογένειας του ιού. Γι' αυτό, είναι σημαντική η επιλογή των εκκινητών (primers) να γίνεται από πολύ καλά διατηρημένες περιοχές.

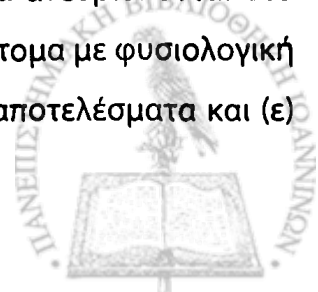
HCV-RNA, με την RT/διπλή PCR, μπορεί να ανιχνευθεί σε κύτταρα και ιστούς. Ιαιμία παρατηρείται στο 40-80% των οροθετικών ατόμων, ανάλογα από την περιοχή του ιικού γονιδιώματος, από την οποία επιλέγονται οι εκκινητές της PCR.

Στον Πίνακα 11 φαίνεται η συσχέτιση της θετικότητας της PCR ανάλογα με την αντιδραστικότητα που έχουμε στην RIBA 3.0⁵⁸⁴. Αξίζει να αναφερθεί ότι δεν έχει περιγραφεί θετικότητα σε περιπτώσεις με NS₅ μονοαντιδραστικότητα.

Πίνακας 11. Συσχέτιση αντιδραστικότητας των αποτελεσμάτων της RIBA 3.0 με θετικότητα στην PCR.

Αντιδραστικότητα στην RIBA 3.0	Αριθμός ανιχνευθέντων	PCR θετικότητα (%)
4 αντιγόνα	82	69 (84.1)
3 αντιγόνα	54	40 (74,1)
2 αντιγόνα	41	14 (34.1)
1 αντιγόνο	945	5 (0.53)

Οι πιθανές ενδείξεις για χρησιμοποίηση RT/PCR είναι: (α) η διάγνωση HCV λοίμωξης σε ασθενείς αρνητικούς για αντι-HCV αντισώματα που ανήκουν σε ομάδες υψηλού κινδύνου ή σε ανοσοκατεσταλμένους (ασθενείς με HIV λοίμωξη, μετά από μεταμόσχευση ήπατος ή νεφρού και σε αιμοκαθαρόμενους), (β) επίσπευση της διάγνωσης HCV λοίμωξης σε νεογνό (6 μήνες) επειδή τα μητρικά HCV αντισώματα μπορούν να ανευρίσκονται στο νεογέννητο μέχρι 12 μήνες, (γ) ανίχνευση ιαιμίας σε αντι-HCV θετικά άτομα με φυσιολογική τιμή ALT, (δ) ανίχνευση ιαιμίας σε άτομα με αδιευκρίνιστα στη RIBA αποτελέσματα και (ε) παρακολούθηση της αντιϊκής θεραπείας.



Συμπερασματικά, ως προς την εργαστηριακή διάγνωση θα πρέπει να αναφέρουμε τον αλγόριθμο επιβεβαιωτικών μεθόδων ενός αντι-HCV ατόμου⁵⁸⁵ και την αποδοχή ή απόρριψή του σαν αιμοδότη (Σχήμα 8).

5.8. ΠΡΟΛΗΨΗ

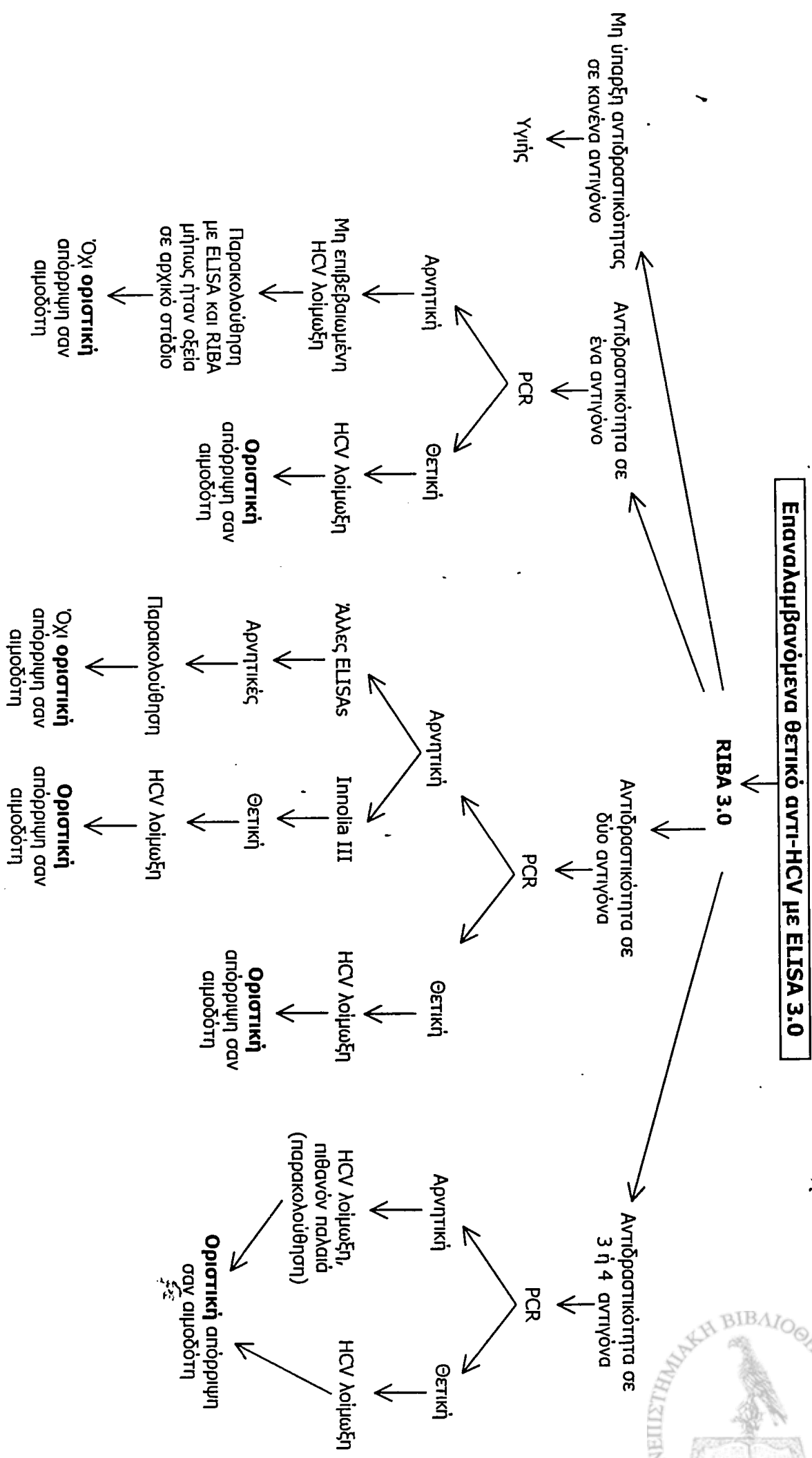
Η προφύλαξη από την HCV λοίμωξη μπορεί να συμβεί σε δύο επίπεδα: (α) στην «προ της έκθεσης» προφύλαξη που περιλαμβάνει όλες εκείνες τις στρατηγικές που στοχεύουν στην αποφυγή της έκθεσης στον ιό, και (β) στην «μετά την έκθεση» προφύλαξη που περιλαμβάνει την έγκαιρη αντιμετώπιση κατά το δυνατόν στην οξεία λοίμωξη για να αποφευχθεί η χρονιότητα.

Ως προς το πρώτο επίπεδο, ο έλεγχος των αιμοδοτών για αντι-HCV έχει μια δραματική επίδραση στην ελάττωση του κινδύνου της MMH-C. Ο έλεγχος με ELISA πρώτης γενεάς ελάττωσε τον κίνδυνο μέχρι $\approx 80\%$ σε περιοχές με επικρατούσα HCV λοίμωξη από γονότυπο 1, ανεξάρτητα από τη συχνότητα της νόσου^{386,586}. Η αντικατάσταση της ELISA πρώτης γενεάς με δεύτερης υπολογίζεται ότι μείωσε τον κίνδυνο σε $<0.5\%$. Πράγματι, δεν είχαν αναφερθεί περιστατικά MMH-C μετά την εισαγωγή ELISA 2.0 σε μελέτες που περιελάμβαναν περισσότερους από 1.500 λήπτες αίματος^{421,587}. Ευκαιριακές περιπτώσεις όμως εξακολουθούν να παρουσιάζονται από μονάδες που ελήφθησαν κατά την περίοδο του παραθύρου μεταξύ έκθεσης στον ιό και εμφάνισης αντι-HCV αντισωμάτων (ορομετατροπή)^{383,386}. Αυτό αποτελεί ένα πρόβλημα και πρέπει να αναπτυχθούν πιο βελτιωμένα αντιδραστήρια που να ελαττώσουν όσο το δυνατόν περισσότερο την περίοδο του παραθύρου.

Ταυτόχρονα με τον έλεγχο των αιμοδοτών για αντι-HCV, υποχρεωτικός έλεγχος pooling πλάσματος με PCR για παρουσία HCV-RNA, η κατεργασία με solvent-detergent και η χρησιμοποίηση πιο δραστικών μεθόδων στην αδρανοποίηση των ιών που έχουν περίβλημα σε μεγάλες ποσότητες πλάσματος έχουν σχεδόν εξαλείψει την HCV μετάδοση με τους παράγοντες πήξης και τις ανοσοσφαιρίνες.

Η προφύλαξη της νοσοκομειακής μετάδοσης απαιτεί σχολαστική έρευνα για την κατανόηση του ακριβούς μηχανισμού μετάδοσης και πρέπει να ακολουθούνται πιστά οι οδηγίες του CDC που αφορούν την νοσοκομειακή προφύλαξη για τα μεταδοτικά νοσήματα. Στις χειρουργικές κλινικές πολλοί τραυματισμοί μπορούν να αποφευχθούν με





Σχήμα 8. Αλγόριθμος χειρισμού δειγμάτων θετικών για HCV αντισώματα.

ήπατος που σπάνια συνίσταται σ' αυτή την ομάδα δείχνει στην πλειοψηφία των ασθενών κάποιο βαθμό νεκροφλεγμονώδους δραστηριότητας.

Η χορήγηση αντιϊκής θεραπείας θα πρέπει να αποθαρρύνεται σε HCV (+) ασθενείς με μονίμως φυσιολογικά επίπεδα ALT. Πρέπει όμως να παρακολουθούνται σε τακτά χρονικά διαστήματα για να μη διαφύγουν επεισόδια βιοχημικής αναζωπύρωσης, που δεν αποκλείεται να συμβούν ακόμη και μετά περιόδους μακροχρόνιας ύφεσης⁵⁹⁴.

Μονοθεραπεία με IFN-α έχει χορηγηθεί σε επτά μη τυχαιοποιημένες μελέτες⁵⁹⁴⁻⁶⁰⁰, και σε τρεις τυχαιοποιημένες μελέτες⁶⁰¹⁻⁶⁰³ σε δόση 3-5 MU τρεις φορές την εβδομάδα για 6-12 μήνες.

Στη μελέτη των Orito et al⁶⁰⁰ χορηγήθηκε μεγάλη δόση 10 MU τρεις φορές την εβδομάδα για 6 μήνες ενώ στη μελέτη των Van Thiel et al⁶⁰¹ χορηγήθηκε δόση 5 MU καθημερινά για 12 μήνες.

Στις 5 μη ελεγχόμενες μελέτες⁵⁹⁵⁻⁵⁹⁹ με 78 ασθενείς, η χορήγηση 3 MU IFN-α τρεις φορές την εβδομάδα για 6 μήνες, η ανταπόκριση στο τέλος της αγωγής ήταν 27% και η μακροχρόνια ανταπόκριση έξι μήνες μετά το τέλος της θεραπείας ήταν 9%, αποτελέσματα παρόμοια με αντίστοιχα της χορήγησης IFN-α στη χρόνια ηπατίτιδα C με αυξημένα επίπεδα ALT.

Στις 3 τυχαιοποιημένες μελέτες⁶⁰²⁻⁶⁰⁴ η ανταπόκριση στο τέλος της αγωγής ήταν 6-50% και η μακροχρόνια ανταπόκριση 6 μήνες μετά τη θεραπεία 0-21.6% σε σύγκριση με το 0-7.7% και 0-5.1% στις ομάδες ελέγχου.

Άνοδος των τρανσαμινασών κατά τη διάρκεια χορήγησης IFN-α και της εξάμηνης παρακολούθησης μετά τη διακοπή της παρατηρήθηκε στους 42 (52.5%) από τους 78 ασθενείς των 5 μη τυχαιοποιημένων μελετών^{595,596,598-600}.

Η άνοδος της ALT κατά τη χορήγηση IFN-α έχει μερικώς αποδοθεί στην IFN-α και στην αύξηση της ανοσιακής αντίδρασης κατά των μολυσμένων με τον HCV ηπατικών κυττάρων, που αυτή προκαλεί και/ή στην αυξημένη έκφραση των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων που πυροδοτεί τον μηχανισμό κυτταροτοξικής ανοσίας⁶⁰⁵⁻⁶⁰⁶.

5.9.2. Αυξημένα επίπεδα τρανσαμινασών.

Η IFN-α αποτελεί διεθνώς αποδεκτή θεραπεία για τη χρόνια ηπατίτιδα C από τις αρχές της δεκαετίας του 1990^{607,608}. Η μακροχρόνια όμως ανταπόκριση, παραμονή



αρνητικού HCV-RNA και τρανσαμινασών στα φυσιολογικά επίπεδα τουλάχιστον για 6 μήνες μετά τη διακοπή της θεραπείας, παρατηρήθηκε μόνο στο 10-20% των ασθενών⁶⁰⁷⁻⁶¹⁰.

Η ανταπόκριση μπορεί να αυξηθεί είτε με μεγαλύτερες δόσεις IFN-α ή με μεγαλύτερης χρονικής διάρκειας θεραπεία με αύξηση όμως των παρενεργειών και του κόστους θεραπείας⁶¹¹⁻⁶¹³.

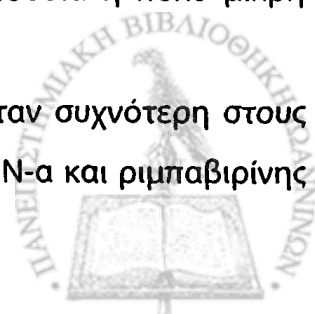
Η ριμπαβιρίνη είναι ένα νουκλεοσιδικό ανάλογο της γουανοσίνης που αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό πολλών διαφορετικών RNA και DNA ιών και του HCV⁶¹⁴. Η ριμπαβιρίνη που χορηγείται από το στόμα είναι γενικά καλά ανεκτή πλην όμως η ανταπόκριση είναι βιοχημική, ενώ είναι αμελητέα η ιολογική⁶¹⁵⁻⁶²⁰. Ο συνδυασμός όμως IFN-α και ριμπαβιρίνης έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Η πρώτη διπλή-τυφλή τυχαίοποιημένη μελέτη έδειξε ότι ο συνδυασμός IFN-α-2b (3 MU τρεις φορές την εβδομάδα) και ριμπαβιρίνης (1.000-2.000 mg καθημερινά) για 24 εβδομάδες είχαν σημαντικά υψηλότερη μακροχρόνια ιολογική ανταπόκριση από ότι η χορήγηση IFN-α και εικονικού φαρμάκου (18/50 ή 36% έναντι 9/50 ή 18%, $p=0,047$). Ιδιαίτερα, ένα χρόνο μετά τη διακοπή της θεραπείας η ανταπόκριση ήταν σημαντικά υψηλότερη (42% έναντι 20%, $p=0.03$) καθώς και σε ασθενείς με υψηλό ιϊκό φορτίο ($>3 \times 10^5$ genome Eq/ml) (12/19 ή 41% έναντι 1/26 ή 4%, $p=0,009$)⁶²¹.

Η διπλάσια αποτελεσματικότητα της συνδυαστικής θεραπείας συγκριτικά με τη μονοθεραπεία με IFN-α θα πρέπει να συνοδεύεται και από παράλληλη ελάττωση των επιπλοκών της νόσου. Μακροχρόνια παρακολούθηση των ανταποκριθέντων ασθενών θα επιβεβαιώσει την αναφερόμενη υπόθεση.

Δύο μεγάλες πολυκεντρικές τυχαίοποιημένες μελέτες στην Ευρώπη (832 ασθενείς)⁶²² και στις ΗΠΑ (912 ασθενείς)²⁵ επιβεβαίωσαν την υπεροχή της συνδυασμένης θεραπείας IFN-α και ριμπαβιρίνης για 48 εβδομάδες έναντι της μονοθεραπείας με IFN-α. Η Ευρωπαϊκή μελέτη έδειξε σημαντικά μεγαλύτερη ιολογική ανταπόκριση έξι μήνες μετά τη διακοπή της συνδυασμένης θεραπείας (43%) έναντι της μονοθεραπείας με IFN-α (19%) ($p<0.001$).

Πέντε ανεξάρτητοι παράγοντες σχετίζονταν με την ιολογική ανταπόκριση: ιϊκό φορτίο $<2 \times 10^6$ copies/ml, ηλικία ≤ 40 ετών, γονότυποι 2 ή 3, απουσία ή πολύ μικρή ηπατική ίνωση και το γυναικείο φύλο.

Διακοπή της θεραπείας λόγω ανεπιθυμητών συμβαμάτων ήταν συχνότερη στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία 48 εβδομάδων είτε σε συνδυασμό IFN-α και ριμπαβιρίνης



(19%) είτε μονοθεραπεία IFN-α (13%) έναντι των ασθενών που έλαβαν συνδυαστική θεραπεία για 24 εβδομάδες (8%)⁶²². Η Αμερικανική μελέτη επιβεβαίωσε τα παραπάνω ευρήματα.

Πολυκεντρική τυχαιοποιημένη μελέτη έδειξε ότι η συνδυαστική θεραπεία υπερέχει και στις περιπτώσεις ασθενών που είχαν λάβει μονοθεραπεία με IFN-α και υποτροπίασαν μετά τη διακοπή της⁶²³. Τα ευρήματα αυτά οδήγησαν την Παγκόσμια Συναινετική Συνδιάσκεψη για την ηπατίτιδα C της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Μελέτης του Ήπατος στο Παρίσι, τον Φεβρουάριο του 1999, να προτείνει τη συνδυαστική θεραπεία IFN-α και ριμπαβιρίνης σε όλους τους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C για έξι τουλάχιστον μήνες σε όσους έχουν μολυνθεί από τους γονοτύπους 2 ή 3 και 12 μήνες για όσους έχουν μολυνθεί από τον γονότυπο 1 ή έχουν υψηλό ιικό φορτίο ($> 2 \times 10^6$ copies/ml)⁶²⁴.

Η πλέον αποτελεσματική τακτική είναι η χορήγηση συνδυαστικής θεραπείας για 24 εβδομάδες και ο έλεγχος του HCV-RNA με αντίδραση αλυσιδωτής πολυμεράσης (PCR). Εάν το HCV-RNA είναι θετικό, συνιστάται διακοπή της θεραπείας. Εάν το HCV-RNA είναι αρνητικό και έχουμε παρουσία 4 ή 5 ευνοϊκών προγνωστικών παραγόντων, συνιστάται διακοπή της θεραπείας. Αντίθετα, εάν το αρνητικό HCV-RNA στις 24 εβδομάδες συνδέεται με λιγότερους των 4 ευνοϊκών παραγόντων συνιστάται συνέχιση της θεραπείας για 24 ακόμη εβδομάδες⁶²⁵.

5.9.3. Προοπτικές.

Η σύνδεση της IFN-α με πολυαιθυλενο-γλυκόλη (PEG) και η παρασκευή PEG-IFN φαίνεται να αποτελεί ελπιδοφόρο μήνυμα στην αντιμετώπιση του προβλήματος της χρόνιας ηπατίτιδας C. Τα πλεονεκτήματα της PEG-ιντερφερόνης είναι ότι η PEG καθυστερεί την αποβολή της ιντερφερόνης από τον οργανισμό, αυξάνει η έκταση και η διάρκεια της δραστηριότητάς της και χαρακτηρίζεται από ελαττωμένη αντιγονικότητα. Η κάθαρση της PEG-IFN γίνεται 30% από τους νεφρούς και 70% μετά από καταβολισμό στο ήπαρ και διάσπαση μετά τη σύνδεση της IFN με κυτταρικούς υποδοχείς. Εξάλλου, δεν απαιτείται ελάττωση της δόσης σε αντιρροπούμενη κίρρωση. Η φαρμακοκινητική της PEG-IFN επιτρέπει τη χορήγησή της μια φορά την εβδομάδα και επιτυγχάνονται ικανοποιητικά επίπεδα του φαρμάκου στον ορό. Η PEG-IFN είναι καλά ανεκτή και οι παρενέργειές της (γριππώδες σύνδρομο, αδυναμία, ελάττωση ουδετεροφίλων, θρομβοπενία) είναι παρόμοιες με αυτές της κοινής IFN-α.



Σε τυχαιοποιημένη μελέτη χορηγήθηκε PEG-IFN σε τρεις δόσεις (0.5, 1.0, 1.5 mcg/kg μία φορά την εβδομάδα) και συγκρίθηκε με 3 MU IFN-α τρεις φορές την εβδομάδα για 48 εβδομάδες σε 1219 ασθενείς. Η παρακολούθηση μετά τη διακοπή της θεραπείας ήταν για 24 εβδομάδες.

Από τους 1219 ασθενείς, 70% είχαν γονότυπο 1 και 74% είχαν υψηλό ιικό φορτίο (HCV-RNA $>2 \times 10^6$ copies/ml).

Πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι το χαμηλό ιικό φορτίο ($<2 \times 10^6$ copies/ml) και γονότυπος μη-1 ήταν προγνωστικοί παράγοντες για μακροχρόνια ανταπόκριση. Ασθενείς με αυτά τα χαρακτηριστικά που έλαβαν 0.5, 1.0 και 1.5 mcg/kg PEG-IFN είχαν μακροχρόνια ανταπόκριση 53%, 59% και 60% έναντι 33% της IFN-α. Διακοπή της θεραπείας παρατηρήθηκε με παρόμοια συχνότητα σε όλες τις θεραπευτικές δόσεις (6-11%)⁶²⁶.

Η χορήγηση συνδυασμού PEG-IFN σε δόση 0.35-1.4 mcg/kg υποδόρια, μια φορά την εβδομάδα και ριμπαβιρίνης (600-1.200 mg καθημερινά) για 24 εβδομάδες έχει τις ίδιες παρενέργειες με τη συνδυαστική θεραπεία IFN-α και ριμπαβιρίνης, με πιθανότητα μεγαλύτερης ελάττωσης της αιμοσφαιρίνης. Η ριμπαβιρίνη φαίνεται να ενισχύει την αντιϊκή δράση της PEG-IFN η οποία φαίνεται να έχει μεγαλύτερη δραστηριότητα από την κοινή IFN και πλεονεκτεί καθότι γίνεται μια φορά την εβδομάδα.



6. Ο ΙΟΣ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Ε (HEV)

6.1. ΙΟΛΟΓΙΑ

6.1.1. Δομή, βιολογία και γενετική οργάνωση του ιού

Ο HEV είναι ένας σφαιρικός RNA ιός που ανήκει στην οικογένεια των Caliciviridae. Δεν έχει περίβλημα και έχει οδοντώσεις. Είναι μεγαλύτερος από τον HAV και έχει μέγεθος 32-34 nm⁶²⁷. Το γονιδίωμά του αποτελείται από RNA 7,5 kb, μονόκλωνο πολυαδενυλιωμένο με 3 ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης (ORF). Το ORF1 αποτελείται από μια μεγάλη αλληλουχία βάσεων (5079) και αντιπροσωπεύει τα 2/3 του συνόλου του γενώματος. Το ORF1 είναι η μη δομική περιοχή και θεωρείται ότι κωδικογραφεί μια πολυμεράση και μια ελικάση.

Το ORF2 είναι μέρος της δομικής περιοχής και πιθανά αντιπροσωπεύει το καψίδιο και κωδικογραφεί τις κύριες δομικές πρωτεΐνες του καψιδίου του HEV γενώματος.

Το ORF3 είναι η μικρότερη περιοχή (369 βάσεων) και καλύπτει εν μέρει τα ORF1 και ORF2. Ακόμη δεν είναι γνωστή η λειτουργία του αλλά φαίνεται πιθανή η δραστηριότητά του σαν αντιγόνο.

6.2. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ – ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Ένα μικρό ποσοστό των περιπτώσεων οξείας ιογενούς ηπατίτιδας που εμφανιζόταν σε νεαρές και μεσαίες ηλικίες στην Ασία και την Ινδία θεωρήθηκε ότι προκαλείται από κάποιο παράγοντα ανεξάρτητο των ιών HAV και HBV⁶²⁸. Η νόσος αυτή εμφανιζόταν είτε σποραδικά με μορφή επιδημίας είτε ενδημικά και συνδεόταν με την κατανάλωση ποσίμου ύδατος μολυσμένου με κόπρανα. Αυτός ο τύπος ηπατίτιδας για πρώτη φορά αποδείχθηκε στο Νέο Δελχί της Ινδίας το 1953, όταν καταγράφηκαν 29.000 περιπτώσεις ικτερικής ηπατίτιδας μετά από ευρεία μόλυνση των ποσίων υδάτων της πόλης από κόπρανα⁶²⁹. Μια παρόμοια επιδημία παρουσιάστηκε επίσης σε άλλη πόλη της Ινδίας, την Ahmedabad, που είχε τα ίδια αίτια⁶³⁰. Αρχικά και τα δύο αυτά επιδημικά κύματα αποδόθηκαν στην ηπατίτιδα Α αλλά αναδρομική ορολογική ανάλυση σε δείγματα που είχαν διατηρηθεί δεν απέδειξε ότι η HAV ή HBV λοίμωξη ήταν αιτιολογικοί παράγοντες⁶²⁸.

Εκτεταμένες επιδημίες εντερικά μεταδιδόμενης ηπατίτιδας παρατηρήθηκαν επίσης στην Δημοκρατία της Κιργκίζιας της πρώην Σοβιετικής Ένωσης. Μεταξύ 1955 και 1956



περισσότερες από 10.800 περιπτώσεις παρουσιάστηκαν σε άτομα νεαρής και μεσαίας ηλικίας και το ενδιαφέρον ήταν ότι $\approx 18\%$ των προσβληθεισών εγκύων γυναικών πέθαναν⁶³¹. Τα επιδημιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά αυτών των επιδημιών ήταν ακριβώς ίδια με εκείνα της επιδημίας του Ν. Δελχί. Ακολούθως, σποραδικές ή επιδημικές μορφές παρουσιάστηκαν στη Β. Ινδία⁶³² και το Κασμίρ⁶³³.

Επίσης, ίδιες περιπτώσεις αναφέρθηκαν στη Ν. Ασία, δηλαδή στις περιοχές της Βιρμα⁶³⁴ και του Νεπάλ⁶³⁵ και συνδεόταν με υψηλή θνητότητα σε εγκυμονούσες. Μεταξύ Ιουνίου 1976 και Αυγούστου 1977 περισσότερες από 20.000 ικτερικών περιπτώσεων εμφανίστηκαν στη Βιρμα και το ποσοστό θνητότητας στις εγκυμονούσες ήταν 18%. Η εμφάνιση της ηπατίτιδας Ε στο Πακιστάν⁶³⁶ έγινε γνωστή μετά την εμφάνιση της ηπατίτιδας Ε στις ΗΠΑ σε 4 Πακιστανούς που μόλις είχαν επιστρέψει από το Κάρατσι και με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ευρέθηκαν στους ορούς τους, από την οξεία φάση της νόσου, αντισώματα έναντι σωματιδίων του ιού 27-34 nm που απομονώθηκαν από τα κόπρανα ασθενών με ηπατίτιδα Ε.

Επιδημίες ηπατίτιδας Ε επίσης έχουν αναφερθεί στην Αφρική και συγκεκριμένα στην Αλγερία, ανατολικό Σουδάν και Σομαλία. Και εδώ υπήρχε αυξημένη θνητότητα στις εγκυμονούσες που προσεβλήθησαν από τη νόσο⁶³⁷. Περισσότερες από 90 περιπτώσεις ΗΕV αναφέρθηκαν στο Μεξικό μεταξύ Ιουνίου και Οκτωβρίου το 1986. Ορολογικές και ιολογικές μελέτες σε δείγματα κοπράνων και ορού αντίστοιχα δείχνουν ότι ο αιτιολογικός παράγοντας για τη νόσο στη Β. Αμερική είναι ίδιος ή παρόμοιος με εκείνο των άλλων περιοχών της γης⁶³⁸.

Σήμερα γνωρίζουμε ότι η ΗΕV λοίμωξη έχει παρατηρηθεί και σε χώρες της Ευρώπης, κυρίως σε ταξιδιώτες από ενδημικές περιοχές^{639,640}. Δευτερογενή όμως κρούσματα δεν έχουν παρατηρηθεί, πιθανόν λόγω των πολύ καλών συνθηκών υγιεινής και διαβίωσης που επικρατούν στις χώρες αυτές. Σποραδικές περιπτώσεις ηπατίτιδας Ε σε ενδημικές περιοχές έχουν περιγραφεί χωρίς να έχει διευκρινισθεί ο ακριβής τρόπος μετάδοσης του ιού⁶⁴¹.

Ο ΗΕV ευθύνεται για περισσότερο από 50% των οξείων ιογενών ηπατιτίδων σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες της Ασίας και της Αφρικής⁶⁴².



6.2.1. Επιδημιολογία του HEV στην Ελλάδα

Στη χώρα μας ο ιός της ηπατίτιδας E ενοχοποιείται για το 3% των οξείων μη-A, μη-B, μη-C ηπατιτίδων ή για το 0.5% του συνόλου των οξείων ιογενών ηπατιτίδων⁶⁴³. Σεξουαλική μετάδοση του ιού δεν φαίνεται να συμβαίνει⁶⁴⁴. Όμως, η παρουσία αντισωμάτων έναντι του HEV ευρέθηκε σε μεγαλύτερη συχνότητα σε ασθενείς με μη-A, μη-B ηπατίτιδα (7,6%), σε αιμοκαθαρόμενους (6,4%) και στους τοξικομανείς (4,1%) σε σχέση με το γενικό πληθυσμό (2,4%), γεγονός που συνηγορεί για πιθανότητα παρεντερικής μετάδοσής του στον τόπο μας⁶⁴⁵⁻⁶⁴⁷. Έτσι, η ενδημικότητά του στο γενικό πληθυσμό στην Ελλάδα φαίνεται να είναι πολύ χαμηλή και η μετάδοσή του γίνεται με διαφορετικό τρόπο απ' ότι στις αναπτυσσόμενες χώρες.

6.2.2. Ηπατίτιδα E και μεταγίσεις

Η μετάδοση της ηπατίτιδας E με μεταγίσεις δεν πρέπει να αποκλεισθεί αλλά δεν φαίνεται ιδιαίτερα αυξημένη η συχνότητά της σε ομάδες πολυμεταγγιζόμενων σε σχέση με το γενικό πληθυσμό^{648,649}.

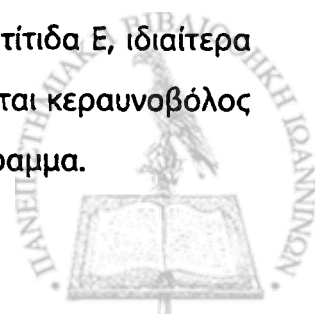
6.2.3. Πηγή της λοίμωξης και τρόπος μετάδοσης

Ο HEV αποβάλλεται στα κόπρανα και η λήψη μολυσμένου πόσιμου νερού θεωρείται ο σημαντικότερος τρόπος διασποράς του, ευθυνόμενος σχεδόν αποκλειστικά για την πρόκληση επιδημιών. Μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο ίσως να συμβαίνει, αλλά δεν φαίνεται να παίζει ουσιαστικό ρόλο στη διασπορά του ιού.

6.3. ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ

6.3.1. Κλινική εκδήλωση της νόσου

Η οξεία HEV μοιάζει κλινικά με την οξεία ηπατίτιδα A και είναι πάντοτε μια αυτοπεριοριζόμενη, συχνά χολοστατική ηπατίτιδα⁶²⁷. Προσβάλλει κυρίως ενήλικες κατά την τρίτη και τέταρτη δεκαετία της ζωής και συνήθως στα παιδιά έχει υποκλινική πορεία. Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται σε εγκύους που προσβάλλονται από ηπατίτιδα E, ιδιαίτερα στο τρίτο τρίμηνο της κύησης, επειδή αρκετά συχνά (10-20%) εμφανίζεται κεραυνοβόλος ηπατίτιδα με υψηλή θνητότητα⁶²⁷. Η πορεία της νόσου φαίνεται στο διάγραμμα.



Συνοπτικά τα συμπτώματα και κλινικά χαρακτηριστικά της HEV λοίμωξης φαίνεται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12. Συμπτώματα και κλινικά χαρακτηριστικά της HEV λοίμωξης

-
- Ηπατική φλεγμονή, ίκτερος, ναυτία.
 - Κυρίως αυτοπεριοριζόμενη νόσος, όπως η ηπατίτιδα Α.
 - Υψηλή θνητότητα σε εγκυμονούσες γυναίκες (μέχρι 20%).
 - Δεν έχουμε μεγάλη μετάδοση στο οικογενειακό περιβάλλον των προσβεβλημένων (διαφορά με ΗΑV λοίμωξη).
 - Πιο σοβαρή στις μεγάλες ηλικίες.
 - Μεγαλύτερη διάρκεια διατήρησης αυξημένης της ALT.
-

6.4. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η οξεία ηπατίτιδα Ε δεν οδηγεί σε χρονιότητα. Η διάγνωση γίνεται με τον προσδιορισμό IgM αντισωμάτων με ELISA (IgM αντι-HEV). Τα IgG αντισώματα, που επίσης προσδιορίζονται με ELISA παρουσιάζονται κατά τη διάρκεια της οξείας ηπατίτιδας Ε και παραμένουν για πολλά χρόνια, προστατεύοντας από επαναμολύνσεις (IgG αντι-HEV). Η παρουσία μόνο IgG αντι-HEV σημαίνει παλαιά λοίμωξη Ε που ιάθηκε. Ο ιός έχει απομονωθεί στα κόπρανα με ανοσοηλεκτρονικό μικροσκόπιο κατά την οξεία φάση της νόσου με χρησιμοποίηση ορού από τη φάση της ανάρρωσης. Σήμερα, είναι δυνατόν στην οξεία φάση της HEV λοίμωξης να ανιχνευθεί το RNA του ιού με RT-PCR.

6.5. ΠΡΟΛΗΨΗ - ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η HEV λοίμωξη αποτελεί σημαντική αιτία νοσηρότητας στις αναπτυσσόμενες χώρες που ευθύνεται για περισσότερο από 50% των οξείων ηπατιτίδων αλλά και για τη θνητότητα εγκύων γυναικών κυρίως τρίτου τριμήνου της κύησης.



Στην συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων η υδατογενής διασπορά ευθύνεται στις χώρες υψηλής ενδημικότητας για τη διατήρηση της νόσου. Η βελτίωση των συνθηκών υγιεινής και διαβίωσης καθώς και των συστημάτων ύδρευσης και αποχέτευσης αποτελούν τα μόνα μέχρι στιγμής μέτρα περιορισμού της HEV λοίμωξης. Δεν υπάρχει ακόμη προστατευτικό εμβόλιο έναντι του HEV.

Η θεραπεία είναι ίδια με εκείνη της ηπατίτιδας Α.



7. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τα τελευταία χρόνια, η περιοχή της Ηπείρου παρουσιάζει ιδιαίτερο επιδημιολογικό ενδιαφέρον ως προς τις ηπατίτιδες, δεδομένου ότι είναι ο κύριος αποδέκτης φυγάδων από τη γειτονική Αλβανία, χώρα με αυξημένη επίπτωση ιογενών ηπατιτίδων⁶⁵⁰⁻⁶⁵². Η καταγραφή επομένως της κατάστασης, που επικρατεί σήμερα στην περιοχή μας, είναι αναγκαία προκειμένου να διαφανούν πιθανές μελλοντικές μεταβολές, λαμβάνοντας υπ' όψη ότι δεν υπάρχουν ακριβή επιδημιολογικά δεδομένα.

Εξάλλου, η μετάδοση των ηπατιτίδων με την μετάγγιση αίματος και παραγώγων του δημιουργεί ένα πρόσθετο ενδιαφέρον για τη μελέτη των δεικτών τους σε αιμοδοτικό πληθυσμό. Αν και οι αιμοδότες αποτελούν πληθυσμό στον οποίο έχει γίνει αυστηρή προεπιλογή, εντούτοις είναι δυνατόν να έχουμε μέχρι κάποιου σημείου πληροφορίες και για τη συχνότητα μιας λοίμωξης στο γενικό πληθυσμό μιας περιοχής. Αυτό ισχύει ιδιαίτερα στην Ελλάδα, που η πλειονότητα των αιμοδοτών δεν είναι εθελοντές που αιμοδοτούν σε τακτά διαστήματα, αλλά ευκαιριακοί αιμοδότες που αιμοδοτούν για το συγγενικό ή φιλικό τους περιβάλλον, συνήθως για πρώτη φορά. Έτσι, η μελέτη αυτή σχεδιάστηκε με διπλό σκοπό: (α) να προσδιορίσει τον επιπολασμό των δεικτών της λοίμωξης από τους ιούς των ηπατιτίδων Α, Β, C, D και Ε σε αιμοδοτικό πληθυσμό της περιοχής της Ηπείρου και να ελέγξει αν υπάρχουν διαφορές ανάλογα με την παρουσία των παραπάνω δεικτών σε κλινικές, βιοχημικές, βιολογικές και ιστολογικές παραμέτρους και (β) να διερευνήσει εάν στους αιμοδότες αυτής της περιοχής υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας αντι-HBc σαν μόνου δείκτη HBV λοίμωξης ή μαζί με αντι-HBs σε τίτλο <math><20\text{ mIU/ml}</math> και HBV ιαίμιας, για έλεγχο της υπόθεσης αν έχει αξία ο επιπλέον έλεγχος των αιμοδοτών για αντι-HBc για πρόληψη της μετάδοσης HBV με μετάγγιση αίματος, που παρά τον έλεγχο για HBsAg εξακολουθεί να εμφανίζεται σε σπάνιες περιπτώσεις.



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η συγχρονική (cross-sectional) αυτή μελέτη πραγματοποιήθηκε στην Αιμοδοσία του Π.Π.Γ.Ν.Ι. από τον Ιανουάριο του 1994, έως τον Δεκέμβριο του 1996.

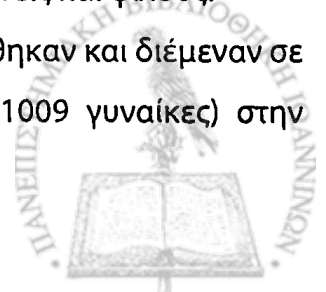
Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν αιμοδότες που είχαν γεννηθεί στους 4 νομούς της Ηπείρου και διέμεναν τουλάχιστον τα τελευταία 5 χρόνια στην περιοχή αυτή.

Ο κάθε αιμοδότης, ανεξάρτητα του αριθμού των αιμοδοσιών που είχε στα 3 χρόνια της μελέτης, συμπεριλήφθηκε μόνο μια φορά (πρώτη αιμοληψία).

Η επιλογή των αιμοδοτών για αιμοδοσία γίνεται όπως καθορίζουν οι διεθνείς κανόνες Αιμοδοσίας. Ιδιαίτερη προσοχή δίνεται στον αποκλεισμό αιμοδοτών με ιστορικό ηπατίτιδας, ενδοφλέβιας χρήσης ναρκωτικών ουσιών, ομοφυλοφιλικών ή αμφιφυλικών σχέσεων καθώς και σεξουαλικών επαφών με χρήστες ναρκωτικών ουσιών καθώς και πρόσφατης μετάγγισης αίματος ή παραγώγων του. Τα κριτήρια αυτά ίσχυσαν και για τους αιμοδότες που συμμετείχαν στη μελέτη.

Εξετάστηκαν συνολικά 6.696 αιμοδότες, ηλικίας 18-60 ετών, με μεση ηλικία τα 36 χρόνια. Από αυτούς, 2.097 (31,3%, 1.479 άνδρες και 618 γυναίκες) αιμοδότησαν εθελοντικά και 4.599 (68,7%, 3.816 άνδρες και 783 γυναίκες) ευκαιριακά για συγγενείς και φίλους.

1.919 αιμοδότες (28,7%, 1.527 άνδρες και 392 γυναίκες) γεννήθηκαν και διέμεναν σε αστικές περιοχές ενώ 4.777 αιμοδότες (71,3%, 3.768 άνδρες και 1009 γυναίκες) στην ύπαιθρο (Πίνακας 1).



Στη μελέτη αυτή, σαν αστικές περιοχές θεωρήθηκαν οι πρωτεύουσες των 4 νομών της Ηπείρου (Ιωάννινα, Άρτα, Πρέβεζα, Ηγουμενίτσα). Σύμφωνα με την Εθνική Στατιστική Υπηρεσία Ελλάδας (ΕΣΥΕ) αστικές περιοχές θεωρούνται εκείνες που έχουν >10.000 κατοίκους. Όλες οι πρωτεύουσες πληρούν αυτή την προϋπόθεση, πλην της Ηγουμενίτσας. Οι ημιαστικές και αγροτικές περιοχές θεωρήθηκαν υπαίθρος.

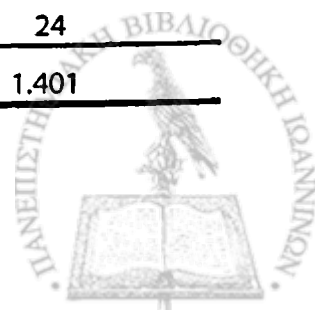
Στον Πίνακα 2 φαίνεται η κατανομή των αιμοδοτών κατά νομό, ηλικία και φύλο.

Πίνακας 1. Κατανομή των αιμοδοτών κατά νομό, φύλο και τόπο κατοικίας.

Νομός	ΑΝΔΡΕΣ			ΓΥΝΑΙΚΕΣ			Α:Γ
	Αστικός πληθυσμός	Πληθυσμός υπαίθρου	Σύνολο	Αστικός πληθυσμός	Πληθυσμός υπαίθρου	Σύνολο	
Ιωάννινα	1.100	2.235	3.335	281	687	968	3:1
Άρτα	126	229	355	25	47	72	5:1
Πρέβεζα	209	626	835	54	119	173	5:1
Θεσπρωτία	92	678	770	32	156	188	4:1
Σύνολο	1.527	3.768	5.295	392	1.009	1.401	

Πίνακας 2. Κατανομή των αιμοδοτών ανά δεκαετία ηλικιών, φύλο και νομό της Ηπείρου.

	Ηλικίες	Άνδρες	Γυναίκες
ΙΩΑΝΝΙΝΑ	20-29	1.313	393
	30-39	1.036	285
	40-49	721	189
	50-60	265	101
ΑΡΤΑ	20-29	155	33
	30-39	110	13
	40-49	70	13
	50-60	20	13
ΠΡΕΒΕΖΑ	20-29	248	71
	30-39	276	44
	40-49	228	44
	50-60	83	14
ΘΕΣΠΡΩΠΙΑ	20-29	240	60
	30-39	245	65
	40-49	208	39
	50-60	77	24
ΣΥΝΟΛΟ		5.295	1.401



1.2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Από κάθε αιμοδότη, με τη συγκατάθεσή του, μετά το πέρας της αιμοδοσίας λαμβανόταν δύο δείγματα αίματος. Από το ένα δείγμα γινόταν αυθημερόν ο ορολογικός έλεγχος για HAV, HEV, HBV και HCV ενώ από το άλλο δείγμα (που συλλεγόταν σε αποστειρωμένο σωληνάριο) μετά τη φυγοκέντρηση λαμβανόταν σε αποστειρωμένο σωληνάριο επίσης ο ορός που φυλασσόταν σε βαθιά κατάψυξη (-80 °C) με σκοπό την εκτέλεση μοριακών τεχνικών (PCR), σε διάστημα 7-10 ημερών, στα θετικά δείγματα που θα προέκυπταν από τον ορολογικό έλεγχο.

Οι αιμοδοτές με θετικό HBsAg καθώς και εκείνοι με αντι-HCV θετικό ή με αδιευκρίνιστο αποτέλεσμα μετά από τεχνική ανοσοαποτύπωσης τρίτης γενεάς (RIBA 3.0) ειδοποιούνταν να προσέλθουν για περαιτέρω έλεγχο της ηπατικής λειτουργίας τους.

1.3. ΜΕΘΟΔΟΙ

1.3.1. Δείκτες HAV λοίμωξης

Προσδιορίστηκαν ολικά αντισώματα (IgM + IgG) έναντι του ιού της ηπατίτιδας A (αντι-HAV). Για τον προσδιορισμό τους χρησιμοποιήθηκε η ανοσοενζυμική μέθοδος (EIA) της εταιρείας Abbott Lab (HAVAB EIA). Θετικά θεωρήθηκαν τα δείγματα που η τιμή της οπτικής τους πυκνότητας (OD) ήταν μικρότερη ή ίση με την τιμή του ορίου της μεθόδου.

1.3.2. Δείκτες HBV και HDV λοίμωξης

Οι δείκτες που προσδιορίστηκαν για την ηπατίτιδα B ήταν το HBsAg, το αντι-HBc (IgM και ολικό), το αντι-HBs, το αντιγόνο e του HBV (HBeAg) και το αντίσωμα κατά του HBeAg (αντι-HBe), με μικροσωματιδιακή ανοσοενζυματική μέθοδο (MEIA) (IMX Abbott GmbH Diagnostika, Wiesbaden-Delkenheim, Germany). Στους φορείς της ηπατίτιδας B προσδιορίστηκαν επίσης αντισώματα έναντι της ηπατίτιδας-δέλτα με ανοσοενζυματική μέθοδο (EIA) της εταιρείας Abbott.

Στους αιμοδοτές με θετικό HBsAg καθώς και σε εκείνους με αρνητικό HBsAg αλλά με αντι-HBc θετικό χωρίς την παρουσία αντι-HBs ή με αντι-HBs σε χαμηλό τίτλο (<20 mIU/ml) γινόταν προσδιορισμός του HBV-DNA με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR).

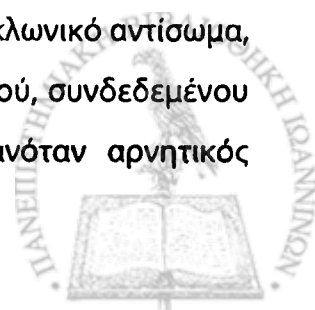


Σύμφωνα με την τεχνική αυτή, η απομόνωση του HBV-DNA από τον ορό γινόταν με βρασμό 100 μl ορού για 45 λεπτά, φυγοκέντρωση στους 4 °C, στα 12.000 g για 20 λεπτά και αποθήκευση του υπερκείμενου στους -20 °C μέχρι της εφαρμογής της PCR. Η ποσοτική αύξηση του HBV-DNA με PCR (amplification) γινόταν σε αποστειρωμένα σωληνάρια ώστε ο τελικός όγκος της αντίδρασης να είναι 100 μl. Κατά σειρά προστίθεντο 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 100 μg/ml BSA, 2.5 U Taq-DNA πολυμεράση (Promega), 20 μM από κάθε νουκλεοτίδιο dATP, dCTP, dGTP, dTTP (1% Triton-x 100), 50 pmoles από κάθε ολιγο-νουκλεοτίδιο (primer) (Sorin Biomedica, Italy) ως ακολούθως: Primer 1: 1955-1974 5' TTGCCTCTGACTTCTTTCC3' και Primer 2: 2401-2381 5' TCTGCGAGGCGAGGGACTTCT 3' ειδικά για την περιοχή του core γονιδίου¹. Πέντε (5) μl από το απομονωμένο HBV-DNA προστίθεντο στην αντίδραση και το μίγμα καλυπτόταν με ορυκτέλαιο (Sigma) για να αποφευχθεί η εξάτμιση στις υψηλές θερμοκρασίες που αναπτυσσόταν στη συνέχεια.

Η σύνθεση του DNA γινόταν στους 35 κύκλους [(1ος κύκλος: 93 °C, 2 min/48 °C, 1 min/68 °C, 2 min) (34 κύκλοι: 93 °C, 1 min/48 °C, 1 min/68 °C, 2 min)] σε αυτόματο θερμοανακυκλωτή (TECHNO). Το προϊόν της αντίδρασης αυτής είναι τμήμα DNA 447 bp (ζεύγη βάσεων)¹. Σε κάθε PCR εξέταση περιλαμβανόταν θετικός και αρνητικός μάρτυρας της PCR (ο όγκος του ορού αντικαθίστατο από αποστειρωμένο νερό). Για την αποφυγή επιμολύνσεων και εμφάνισης ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων τηρήθηκαν αυστηρά οι αρχές που διέπουν τη σωστή εφαρμογή της PCR από τη λήψη και προετοιμασία (χειρισμό) του δείγματος έως τους χώρους που χρησιμοποιήθηκαν.

Η αποδιάταξη του δίκλωνου DNA (που ήταν το προϊόν της PCR) γινόταν σε 20 μl προϊόντος PCR με θέρμανση στους 100 °C για 15 λεπτά, στη συνέχεια ψύξη απότομα σε 4 °C για 10 λεπτά και ακολουθούσε η ανίχνευση με DEIA [Gen-ETI-K] HBV-Core (Sorin, Biomedica, Italy) που είναι συνδυασμός υβριδισμού και ανοσοενζυματικής μεθόδου σύμφωνα με το πρωτόκολλο της εταιρείας.

Συνοπτικά, η μέθοδος βασίζεται στον υβριδισμό αρχικά του αποδιατεταγμένου δίκλωνου DNA (του προϊόντος της PCR) με ένα ολιγονουκλεοτίδιο (2047-2121 του γονιδίου core του HBV) που είναι βιοτυνιλιωμένο στο 5' άκρο του και συνδεδεμένο με στρεπταβιδίνη που καλύπτει τα φρεάτια του πλακιδίου της ανοσοενζυμικής μεθόδου. Ο υβριδισμός γινόταν στους 50 °C για 1 ώρα, ακολουθούσε επώαση με αντι-DNA μονοκλωνικό αντίσωμα, έναντι δίκλωνου DNA για 1 ώρα και προσθήκη IgG αντισώματος ποντικού, συνδεδεμένου με το ένζυμο horseradish peroxidase. Σε κάθε εξέταση περιλαμβανόταν αρνητικός



μάρτυρας (Tris-HCl buffer, MgCl₂, BSA) και θετικός μάρτυρας (διάλυμα με μονόκλωνο DNA, συμπληρωματικό του βιοτυνιλιωμένου και συνδεδεμένου με στρεπταβιδίνη στο πλακίδιο της αντίδρασης). Στην DEIA χρησιμοποιήθηκε επίσης ο θετικός και αρνητικός μάρτυρας των αντιδραστηρίων της PCR. Το κατώτερο όριο ανίχνευσης της μεθόδου αυτής είναι μεταξύ 10 και 100 DNA αντίγραφα (copies) του αρχικού δείγματος που χρησιμοποιείται για πολλαπλασιασμό (amplification), δηλ. 100-1000 copies/ml του εξετασθέντος ορού². Με την παραπάνω μέθοδο δεν παρατηρήθηκαν θετικά αποτελέσματα, μετά εξέτασης ορού επαναλαμβανόμενων αιμοδοτών αρνητικών σε όλους τους δείκτες της ηπατίτιδας Β.

1.3.3. Δείκτες HCV λοίμωξης

Τα αντι-HCV αντισώματα προσδιορίστηκαν με ανοσοενζυματική μέθοδο (EIA) τρίτης γενεάς (Murex Diagnostics). Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται μικροπλάκες με βυθίσματα που καλύπτονται με ένα συνδυασμό HCV αντιγόνων που κωδικοποιούνται από την δομική περιοχή του πυρήνα και τις μη δομικές περιοχές του ιού που είναι NS₃ (πρωτεάση/ελικάση), NS₄ και NS₅ (πολυμεράση).

Η HCV EIA τρίτης γενεάς έχει μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα σύμφωνα με την κατασκευάστρια Εταιρεία (100% και 99.3% αντίστοιχα) έναντι εκείνων της πρώτης (70-80% και 63-93% αντίστοιχα) και δευτέρας γενεάς (95% και 98% αντίστοιχα) και ανιχνεύει νωρίτερα τα αντι-HCV αντισώματα στην ορομετατροπή στην οξεία HCV ηπατίτιδα.

Τα θετικά δείγματα εξετάστηκαν ξανά εις διπλούν και θεωρήθηκαν θετικά εφόσον η οπτική τους πυκνότητα (OD) ήταν μεγαλύτερη από εκείνη του ορίου της μεθόδου. Στη συνέχεια, τα επαναλαμβανόμενα θετικά με EIA δείγματα εξετάστηκαν με τη μέθοδο του ανοσοαποτυπώματος σε ταινίες νιτροκυτταρίνης RIBA 3.0 (Chiron Corporation, Emeryville, California). Πάνω στις ταινίες ανιχνεύονται ποιοτικά αντισώματα έναντι τεσσάρων HCV αντιγόνων, δηλ. πρωτεϊνών που κωδικογραφούνται από το γονιδίωμα του HCV. Τα HCV αντιγόνα που χρησιμοποιούνται στη RIBA 3.0 είναι οι ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες c33-c και NS₅ και τα συνθετικά πεπτίδια C22 και C100.

Ανάλογα με την αντιδραστικότητα που είχαμε στη RIBA 3.0, τα αποτελέσματα αξιολογήθηκαν σαν θετικά (αντιδραστικότητα ίση ή μεγαλύτερη 1+ σε δύο ή περισσότερα αντιγόνα), αδιευκρίνιστα (αντιδραστικότητα σε ένα μόνο αντιγόνο) και αρνητικά (καμία αντιδραστικότητα).



Στα RIBA 3.0 θετικά και αδιευκρίνιστα δείγματα ακολούθησε προσδιορισμός του HCV-RNA με ανάστροφη μεταγραφή και PCR με οδηγούς για τη μέθοδο φωλεάς (nested RT-PCR). Η τεχνική της nested RT-PCR για την ανίχνευση του HCV RNA ήταν ίδια με αυτή που περιγράφηκε στον προσδιορισμό του HBV-DNA με διαφορές μόνο στην απομόνωση HCV-RNA από τον ορό και στη διπλή ενίσχυση (amplification) με χρησιμοποίηση οδηγών (primers) από τη μη κωδικογραφούμενη περιοχή του HCV γονιδιώματος (5' UTR) (Sorin Biomedica, Italy).

Η αλληλουχία στα ολιγονουκλεοτίδια στον primer 1CH που χρησιμοποιείται στην cDNA σύνθεση ήταν 5'GGTGACGGTCTACGAGACCTC3' (από -1 έως -21). Η αλληλουχία των ολιγονουκλεοτιδίων στον primer 2CH που χρησιμοποιούνται στην πρώτη PCR ήταν 5'AACTACTGTCTTCACGCAGAA3' (από -289 έως -269).

Οι δύο primers 1TS και 4CH που χρησιμοποιήθηκαν στη δεύτερη PCR ήταν 5'GCGACCCAACACTACTCGGCT3' (από -70 έως -90), και 5'ATGGCGTTAGTATGAGTG3' (από -257 έως -240)³.

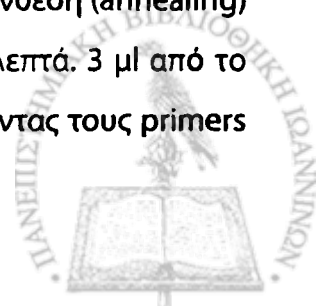
Το 5' βιοτυνιλιωμένο probe 3CH που χρησιμοποιείται στη DEIA ήταν 5'CGGTGAGTACACCGCAATTGCCAGGACGACCGGGTCCTTCT3' (από -185 έως -143). Μια συμπληρωματική ακολουθία στο 3CH χρησιμοποιήθηκε σαν θετικός μάρτυρας για την DEIA.

1.3.3.1. Απομόνωση του RNA και cDNA σύνθεση

Το ολικό RNA εξαγόταν από 100 μl ορού με θέρμανση στους 95 °C για 30 δευτερόλεπτα και ταχεία ψύξη σε πάγο για 5 λεπτά και ακολούθως με ταχεία φυγοκέντρηση. Το εξαχθέν RNA στο υπερκείμενο μεταγραφόταν σε cDNA χρησιμοποιώντας τον 1CH primer με ανάστροφη μεταγραφάση (Promega Corporation) (25 U για κάθε δείγμα).

1.3.3.2. Nested PCR (μέθοδος της φωλεάς)

Το παραχθέν cDNA πολλαπλασιαζόταν με διπλή PCR. Στην πρώτη ο πολλαπλασιασμός γινόταν σε 34 κύκλους χρησιμοποιώντας τον 2CH primer και περιλαμβάνοντας αποδιάταξη (denaturation) στους 94 °C για 2 λεπτά, σύνθεση (annealing) στους 50 °C για 1 λεπτό και επιμήκυνση (extension) στους 72 °C για 2 λεπτά. 3 μl από το προϊόν της πρώτης PCR πολλαπλασιαζόταν σε 24 κύκλους χρησιμοποιώντας τους primers



1TS και 4CH. Κάθε κύκλος περιελάμβανε αποδιάταξη στους 94 °C για 1 λεπτό, σύνθεση στους 50 °C για 1 λεπτό και επιμήκυνση στους 72 °C για 1 λεπτό.

Τέλος, η ανίχνευση του HCV-RNA γινόταν με DEIA (GEN-ETI-K, Sorin Biomedica, Italy) όπως περιγράφηκε ήδη στην ανίχνευση του HBV-DNA. Το κατώτερο όριο ανίχνευσης είναι μεταξύ 10 και 100 αντίγραφα (copies) HCV-RNA στο αρχικό δείγμα που χρησιμοποιήθηκε για ανάστροφη μεταγραφή².

1.3.4. Δείκτες HEV λοίμωξης

Οι δείκτες που προσδιορίστηκαν για την ηπατίτιδα E ήταν IgG αντισώματα (IgG αντι-HEV) με ανοσοενζυματική μέθοδο (EIA) της Εταιρείας Abbott. Η μέθοδος αυτή βασίζεται σε δύο ανασυνδυασμένα αντιγόνα (5G-3 και 8-5) προερχόμενα από τα 2 ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης (ORFs) του ιού που εκφράζονται σε *Escherichia coli*. Τα δείγματα εξετάστηκαν σύμφωνα με τις οδηγίες της εταιρείας και θετικά θεωρήθηκαν εκείνα που η τιμή της οπτικής τους πυκνότητας ήταν επαναλαμβανόμενα μεγαλύτερη ή ίση με την τιμή του ορίου της μεθόδου.

Όλα τα IgG αντι-HEV θετικά δείγματα εξετάστηκαν επίσης για IgM αντι-HEV με ανοσοενζυματική μέθοδο (EIA) της Εταιρείας Genelabs Diagnostics. Η επιβεβαίωση των δειγμάτων που παρουσίασαν με EIA αντι-HEV αντισώματα έγινε με τη μέθοδο του ανοσοαποτυπώματος (Western blot) με τη χρήση ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών και συνθετικών πεπτιδίων.

Η πραγματοποίηση της επιβεβαιωτικής δοκιμασίας έγινε στα εργαστήρια της Abbott στη Γερμανία, όπου και εστάλησαν οι οροί.

1.3.5. Εργαστηριακές εξετάσεις ηπατικής λειτουργίας

Ο βιοχημικός έλεγχος, που πραγματοποιήθηκε στους αιμοδότες με θετικό HBsAg ή HCV αντισώματα, περιελάμβανε τη μέτρηση των επιπέδων των αμινοτρανσφερασών [ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (AST), και αλανινο-αμινοτρανσφεράση (ALT)], της γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάσης (γGT), της χολερυθρίνης, της αλκαλικής φωσφατάσης. Επίσης έγινε ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών και χρόνος προθρομβίνης (PT) ή INR.



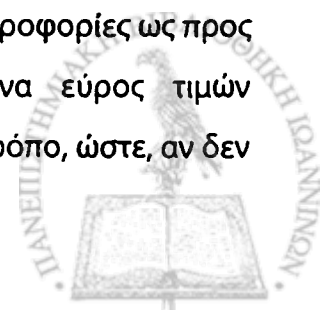
1.4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η παρούσα μελέτη είναι μελέτη επιπολασμού ή αλλιώς συγχρονική μελέτη. Ο όρος χρησιμοποιείται για να δηλώσει μελέτες, που όλες οι μετρήσεις γίνονται κατά το ίδιο χρονικό διάστημα και μόνο μία φορά⁶⁵³. Τα κύρια πλεονεκτήματα των συγχρονικών μελετών είναι η σχετική ευκολία τους (μπορεί να γίνουν με λίγα χρήματα σε μικρό χρονικό διάστημα), καθώς και η δυνατότητα επιλογής του μελετούμενου δείγματος από το γενικό πληθυσμό, κάτι που μεγιστοποιεί την ικανότητα γενίκευσης. Τα κυριότερα μειονεκτήματά τους είναι: (α) ότι δεν μπορούν να διακρίνουν μεταξύ αιτίας και αποτελέσματος, εκτός αν υπάρχουν συνοδές ενδείξεις από προηγούμενη έρευνα για τη βιολογική σημασία διαφόρων παραμέτρων. (β) Επηρεάζονται από το συστηματικό σφάλμα διάρκειας (length bias). Το σφάλμα διάρκειας οφείλεται στη μεγαλύτερη αντιπροσώπευση περιστατικών με μεγαλύτερη διάρκεια νόσησης στο μελετούμενο δείγμα σε μια οποιαδήποτε χρονική στιγμή. Ο επιπολασμός, όπως γνωρίζουμε, είναι ανάλογος με τη διάρκεια της νόσου. Άρα η πιθανότητα επιλογής ενός ατόμου στις συγχρονικές μελέτες είναι ανάλογη της διάρκειας της νόσου από την έναρξή της ως την κατάληξή της. (γ) Είναι δύσκολοι οι υπολογισμοί, όταν υπάρχουν άτομα που ενώ είχαν διαγνωστεί με τη νόσο, τη στιγμή που γίνεται η συγχρονική μελέτη βρίσκονται σε θεραπεία ή ύφεση. Το πρόβλημα είναι μεγαλύτερο για τα περιστατικά που βρίσκονται σε ύφεση, οπότε η νόσος μπορεί και να μην καταγράφεται καθόλου. Το πρόβλημα ξεπερνιέται, αν υπάρχουν κατάλληλοι εργαστηριακοί δείκτες που εξακολουθούν να παραμένουν θετικοί ακόμη και στην ύφεση της νόσου⁶⁵⁴.

Στη μελέτη αυτή, πράγματι, υπήρχαν δείκτες σε όλους τους τύπους των ηπατιτίδων που μελετήσαμε (HAV, HEV, HBV, HDV, HCV) που παραμένουν ισόβια και μας επιτρέπουν να διαπιστώσουμε αν υπήρξε μόλυνση με ηπατίτιδα και σε τι κατάσταση βρίσκεται ο ιός στο εξεταζόμενο άτομο (οξεία, χρόνια, παλαιά λοίμωξη) την περίοδο που το εξετάσαμε.

Επιπολασμός (Prevalence) είναι ο αριθμός των αιμοδοτών με την παρουσία του υπό έλεγχο δείκτη ηπατίτιδας στον εξεταζόμενο αιμοδοτικό πληθυσμό στη συγκεκριμένη περίοδο (1994-1996). Υπολογίστηκε με βάση τον τύπο $P=B/N$, όπου **B** ο αριθμός των ατόμων με τον υπό έλεγχο δείκτη ηπατίτιδας και **N** ο συνολικός αιμοδοτικός πληθυσμός που εξετάστηκε⁶⁵⁴.

Το διάστημα εμπιστοσύνης (confidence interval) μας παρέχει πληροφορίες ως προς την ακρίβεια της παρατηρηθείσας τιμής. Το διάστημα 95% (ένα εύρος τιμών κατασκευασμένο για να εξηγήει την τυχαία μεταβλητότητα, κατά τέτοιο τρόπο, ώστε, αν δεν



υπήρχαν συστηματικά σφάλματα στην έρευνα, η πιθανότητα το διάστημα να περιέχει την «αληθινή» τιμή να είναι 95%) υπολογίστηκε με βάση τον τύπο: $P_{u,l} = P \pm 1,96[P(1-P)/n]^{1/2}$ όπου P είναι ο επιπολασμός κάθε τύπου ηπατίτιδας και n ο αριθμός των εξετασθένων αιμοδοτών⁶⁵⁴.

Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με τη στατιστική δοκιμασία χ^2 που χρησιμοποιείται σαν κριτήριο συσχέτισης ποιοτικών χαρακτηριστικών⁶⁵⁵. Στη μελέτη μας η παρουσία καθενός από τους δείκτες όλων των ηπατιτίδων συσχετίσθηκε με το φύλο, τις ηλικιακές ομάδες (<20-29, 30-39, 40-49, 50-59), τον τόπο καταγωγής (4 νομοί της Ηπείρου) και την περιοχή διαμονής (αστική, ύπαιθρος). Οι προϋποθέσεις εφαρμογής του χ^2 έχουν ελεγχθεί και τηρηθεί, δηλαδή έγινε διόρθωση κατά Yates όταν μία ή περισσότερες αναμενόμενες τιμές ήταν μικρότερες του 5 και εφαρμογή του Fisher's exact test όπου δεν ήταν δυνατή η εφαρμογή του χ^2 κατά Yates⁶⁵⁶. Τιμές του p μικρότερες του 0.05 θεωρούνται σημαντικές.



2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.1. ΔΕΙΚΤΕΣ ΗΑΝ ΛΟΙΜΩΞΗΣ.

Από τους 6,696 αιμοδοτές που εξετάστηκαν, 4.262 (63.7%) βρέθηκαν θετικοί για ολικά αντισώματα έναντι της ηπατίτιδας Α.

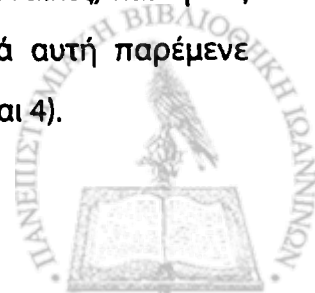
Στους άνδρες συνολικά ο επιπολασμός προηγούμενης ΗΑΝ λοίμωξης ήταν 64.4% (3.412/5.295) ενώ στις γυναίκες 60.7% (850/1.401). Υπήρχε οριακά στατιστικά σημαντική διαφορά στην ύπαρξη ΗΑΝ αντισωμάτων μεταξύ ανδρών και γυναικών ($\chi^2= 6.6$, $p<0.05$), η οποία κυρίως οφειλόταν στις διαφορετικές συχνότητες μεταξύ ανδρών και γυναικών του νομού Ιωαννίνων και Θεσπρωτίας ($p<0.05$) (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Επιπολασμός (%) των οροθετικών ΗΑΝ αιμοδοτών κατά νομό και φύλο.

	ΑΝΔΡΕΣ		ΓΥΝΑΙΚΕΣ		ΣΥΝΟΛΟ	
	+ / Σ*	(%)	+ / Σ	(%)	+ / Σ	(%)
Ιωάννινα	2.029/3.335	(60,8)	555/968	(57,3)	2.584/4.303	(60,1)
Άρτα	189/355	(53,2)	35/72	(48,6)	224/427	(52,5)
Πρέβεζα	621/835	(74,4)	118/173	(68,2)	739/1.008	(73,3)
Θεσπρωτία	573/770	(74,4)	142/188	(75,5)	715/958	(74,6)
Σύνολο	3.412/5.295	(64,4)	850/1.401	(60,7)	4.262/6.696	(64,0)
Διαφορά	$\chi^2= 97,8$	$p<0.001$	$\chi^2= 30,4$	$p<0.001$	$\chi^2= 137,85$	$p<0.001$

* +/Σ= αριθμός οροθετικών ατόμων/συνολικός αριθμός εξετασθέντων

Η παρουσία όμως των αντισωμάτων έναντι της ΗΑΝ στους αιμοδοτές διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των τεσσάρων νομών ($\chi^2= 137,85$, $p<0.001$). Συγκεκριμένα, στους νομούς Θεσπρωτίας (74.4% στους άνδρες και 75.5% στις γυναίκες) και Πρέβεζας (74.4% στους άνδρες και 68.2% στις γυναίκες) είχαμε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τους νομούς Ιωαννίνων (60.8% στους άνδρες και 57.3% στις γυναίκες) και Άρτας (53.2% στους άνδρες και 48.6% στις γυναίκες) ($p<0.001$). Η διαφορά αυτή παρέμενε συνολικά σταθερή και στα δύο φύλα, στις μικρότερες ηλικίες (Πίνακες 3 και 4).



Πίνακας 4. Επιπολασμός (%) οροθετικών HAV αιμοδοτών κατά ηλικία, νομό και φύλο.

Ηλικία	Ιωάννινα		Άρτα		Πρέβεζα		Θεσπρωτία	
	A (%)	Γ (%)	A (%)	Γ (%)	A (%)	Γ (%)	A (%)	Γ (%)
<20 - 29	26,6	18,5	19,0	0,0	34,5	27,9	40,4	37,8
30 - 39	70,5	69,2	71,0	71,4	78,1	84,8	81,7	89,1
40 - 49	90,7	93,9	93,2	100,0	97,3	96,6	98,6	96,8
50 - 59	98,3	93,9	100,0	100,0	98,5	98,5	100,0	100,0
Σύνολο	60,8	57,3	53,2	48,6	74,4	68,2	74,4	75,5
p	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

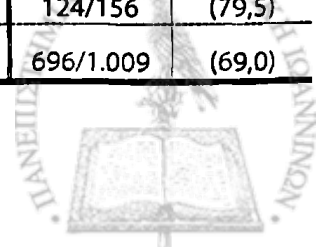
A= άνδρες, Γ= γυναίκες

Στατιστικά σημαντική διαφορά είχαμε ως προς την παρουσία των αντι-HAV αντισωμάτων στις ηλικίες των αιμοδοτών από 19 έως 29 ετών, ανεξαρτήτως φύλου και νομού σε σχέση με τις μεγαλύτερες ηλικίες ($p < 0.001$). Οι μικρότερης ηλικίας αιμοδοτές είχαν σαφώς μικρότερη συχνότητα παρουσίας των αντισωμάτων (Πίνακας 4).

Επίσης σε όλους τους νομούς, τόσο μεταξύ των ανδρών ($\chi^2 = 201,1$) όσο και μεταξύ των γυναικών ($\chi^2 = 79,7$), υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.001$) μεταξύ αιμοδοτών που γεννήθηκαν και διαμένουν στις πόλεις σε σχέση με εκείνους που γεννήθηκαν και διαμένουν στην ύπαιθρο. Στους κατοίκους της υπαίθρου η παρουσία των HAV αντισωμάτων ήταν μεγαλύτερη (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. Επιπολασμός (%) HAV οροθετικών αιμοδοτών σε σχέση με την καταγωγή (αγροτική ή αστική) και το φύλο.

Νομός	ΑΝΔΡΕΣ				ΓΥΝΑΙΚΕΣ			
	Αστικός Πληθυσμός		Πληθυσμός υπαίθρου		Αστικός Πληθυσμός		Πληθυσμός υπαίθρου	
	+/Σ	(%)	+/Σ	(%)	+/Σ	(%)	+/Σ	(%)
Ιωάννινα	479/1.100	(43,5)	1.546/2.235	(69,2)	101/281	(35,9)	452/687	(65,8)
Άρτα	55/126	(43,7)	134/229	(58,5)	7/25	(28,0)	29/47	(61,7)
Πρέβεζα	145/209	(69,4)	477/626	(76,2)	27/54	(50,0)	91/119	(76,5)
Θεσπρωτία	53/92	(57,6)	520/678	(76,7)	19/32	(59,4)	124/156	(79,5)
Σύνολο	732/1.527	(47,9)	2.677/3.768	(71,0)	154/392	(39,3)	696/1.009	(69,0)



2.2. ΔΕΙΚΤΕΣ HBV ΚΑΙ HDV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Από τους 6.696 αιμοδότες, οι 1.055 (15.8%, 95% CI: 14.9 – 16.6%) είχαν τουλάχιστον ένα δείκτη HBV λοίμωξης.

* HBsAg ανιχνεύθηκε σε 57/6.696 (0.9%, 95% CI: 0.6-1.1%). Σε κανένα αιμοδότη δεν υπήρχε επιλοίμωξη με ηπατίτιδα δέλτα όπως επίσης και το IgM αντι-HBc ήταν σε όλους αρνητικό.

Από τους 998 αιμοδότες με αντισώματα έναντι του ιού οι 716 (71.7%) είχαν αντι-HBc με συνύπαρξη προστατευτικού αντισώματος σε τίτλους >20 mIU/ml (με ή χωρίς συνύπαρξη αντι-HBe). Οι υπόλοιποι 282 (28.3%) είτε δεν είχαν καθόλου αντι-HBs, είτε το αντι-HBs ανιχνευόταν σε τίτλους <20 mIU/ml και το αντι-HBc ήταν ο μόνος δείκτης ή συνυπήρχε με αντι-HBe (Πίνακας 6).

Πίνακας 6. Ορολογικό πρότυπο των 1.055 αιμοδοτών με δείκτες λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Β.

Ορολογικός δείκτης	Άνδρες (N=5.295)		Γυναίκες (N=1.401)	
	n	%	n	%
HBsAg	47	0,9	10	0,7
Αντι-HBc+αντι-HBs>20 mIU/ml	178	3,4	31	2,2
Αντι-HBc+αντι-HBs >20 mIU/ml + αντι-HBe	398	7,5	109	7,8
Μόνο αντι-HBc χωρίς άλλο δείκτη	41	0,8	14	1,0
Αντι-HBc+αντι-HBe	64	1,2	10	0,7
Anti-HBc+αντι-HBs<20 mIU/ml	29	0,5	13	0,9
Αντι-HBc+αντι-HBs < 20 mIU/ml+αντι-HBe	104	2,0	7	0,5
Σύνολο	861	16,3	194	13,8

N= αριθμός ελεγχθέντων, n= αριθμός θετικών. Οι συντμήσεις είναι ίδιες με αυτές που αναφέρονται στο κείμενο.



Η παρουσία των δεικτών της HBV λοίμωξης αυξανόταν με την ηλικία και στους τέσσερις νομούς και στα δύο φύλα. Οι αιμοδότες ηλικίας 19-39 ετών είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη συχνότητα ($\chi^2= 98, p<0.001$) σε σχέση με τις ηλικίες 40-60 ετών (Πίνακας 7). Αλλά και μεταξύ των αιμοδοτών ηλικίας 18-29 και 30-39 υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ($\chi^2=144, p<0.001$).

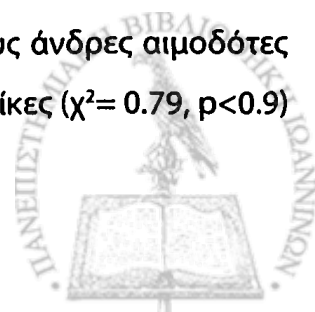
Πίνακας 7. Κατανομή δεικτών λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV) κατά ηλικία και φύλο.

Ηλικία (έτη)	Άνδρες			Γυναίκες		
	Εξετασθέντες (n)	Οροθετικοί για HBV δείκτες (n)	%	Εξετασθέντες (n)	Οροθετικοί για HBV δείκτες (n)	%
<20-29	1.956	78	4,0	557	23	3,9
30-39	1.667	260	15,6	407	54	13,3
40-49	1.227	360	29,3	285	67	23,5
50-59	445	163	36,4	152	50	32,9
Σύνολο	5.295	861	16,3	1.401	194	13,8

Μεταξύ ανδρών και γυναικών υπήρχε μεγαλύτερη στατιστικά σημαντική συχνότητα παρουσίας των HBV δεικτών στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες ($\chi^2= 4,16, p<0.05$) (Πίνακας 8).

Στους άνδρες η παρουσία δεικτών HBV λοίμωξης ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στους νομούς Πρέβεζας και Θεσπρωτίας ($\chi^2= 121.5, p<0.001$). Σε σχέση με τους άνδρες του νομού Ιωαννίνων παρέμενε μεγαλύτερη σε όλες τις ηλικίες ($p<0.001$) ενώ σε σχέση με τους άνδρες του νομού Άρτας η παρουσία ήταν σημαντικά μεγαλύτερη μόνο στη δεκαετία των ηλικιών από 50 - 59 ετών ($\chi^2= 3.89, p<0.05$). Στις γυναίκες ο επιπολασμός ήταν σημαντικά μεγαλύτερος σε όλες τις ηλικίες στο νομό Θεσπρωτίας ($p<0.001$).

Στους αιμοδότες που κατάγονταν και διέμεναν στην ύπαιθρο, υπήρχε συνολικά μεγαλύτερος επιπολασμός των HBV δεικτών σε σχέση με εκείνους που κατάγονταν και διέμεναν στην ύπαιθρο ($\chi^2= 185, p<0.001$). Η διαφορά οφείλεται στους άνδρες αιμοδότες και για όλους τους νομούς ($\chi^2= 45, p<0.001$) και δεν ισχύει για τις γυναίκες ($\chi^2= 0.79, p<0.9$) (Πίνακας 9).



Πίνακας 8. Κατανομή HBV δεικτών ανά δεκαετία ηλικιών, φύλο και νομό της Ηπείρου.

Ηλικίες	Άνδρες				Γυναίκες			
	Αριθμός εξετασθέντων	Αριθμός HBsAg (+)	HBV δεικτές συνολικά n (%)	Αριθμός HBsAg (+)	Αριθμός εξετασθέντων	Αριθμός HBsAg (+)	HBV δεικτές συνολικά n (%)	
ΙΩΑΝΝΙΝΑ	20-29	1.313	3	37 (3.2%)	393	1	16 (4.7%)	
	30-39	1.036	7	118 (12.1%)	285	0	29 (10.2%)	
	40-49	721	6	166 (23.9%)	189	4	38 (22.2%)	
	50-60	265	1	75 (28.7%)	101	2	25 (26.7%)	
ΑΡΤΑ	20-29	155	2	7 (5.8%)	33	0	1 (3.0%)	
	30-39	110	1	19 (18.2%)	13	0	2 (15.4%)	
	40-49	70	0	21 (30.0%)	13	1	1 (15.4%)	
	50-60	20	0	5 (25.0%)	13	0	2 (15.4%)	
ΠΡΕΒΕΖΑ	20-29	248	3	11 (5.6%)	71	0	1 (1.4%)	
	30-39	276	4	51 (19.9%)	44	1	5 (13.6%)	
	40-49	228	4	79 (36.4%)	44	0	7 (15.9%)	
	50-60	83	2	39 (49.4%)	14	0	6 (42.9%)	
ΘΕΣΠΡΟΤΙΑ	20-29	240	1	16 (7.1%)	60	0	3 (5.0%)	
	30-39	245	5	55 (24.5%)	65	0	17 (26.1%)	
	40-49	208	6	78 (40.4%)	39	1	15 (41.0%)	
	50-60	77	2	38 (52.0%)	24	0	15 (62.5%)	
ΣΥΝΟΛΟ	5.295	47 (0.9%)	815 (16.3%)	1.401	10 (0.7%)	183 (13.8%)		

Πίνακας 9. Επιπολασμός (%) HBV θετικών αιμοδοτών σε σχέση με την καταγωγή (αγροτική ή αστική) και το φύλο.

Νομός	ΑΝΔΡΕΣ				ΓΥΝΑΙΚΕΣ			
	Αστικός Πληθυσμός		Πληθυσμός υπαίθρου		Αστικός Πληθυσμός		Πληθυσμός υπαίθρου	
	+/ Σ	%	+/ Σ	%	+/ Σ	%	+/ Σ	%
Ιωάννινα	120/1.100	(10,9)	293/2.235	(13,1)	28/281	(10,0)	87/687	(12,7)
Άρτα	7/126	(5,6)	48/229	(21,0)	1/25	(4,4)	6/47	(12,8)
Πρέβεζα	35/209	(16,7)	158/626	(25,2)	6/54	(11,1)	14/119	(11,8)
Θεσπρωτία	5/92	(5,4)	196/678	(28,9)	13/32	(40,6)	38/156	(24,4)
Σύνολο	167/1.527	(10,9)	695/3.768	(18,4)	48/392	(12,2)	145/1.009	(14,4)

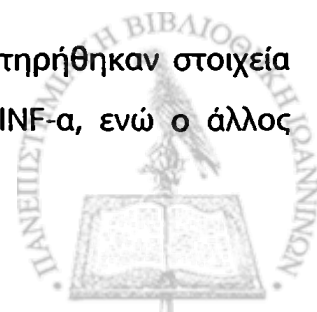
Μεταξύ εθελοντών και ευκαιριακών αιμοδοτών υπήρχε οριακά στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την παρουσία HBV δεικτών ($p=0.018$, $\chi^2= 5.48$). Οι ευκαιριακοί αιμοδότες είχαν μικρότερη συχνότητα (Πίνακας 10).

Πίνακας 10. Επιπολασμός (%) HBV δεικτών σε εθελοντές αιμοδότες και σε αιμοδότες του συγγενικού περιβάλλοντος.

	Εθελοντές αιμοδότες	HBV δείκτες	Συγγενικό περιβάλλον	HBV δείκτες
άνδρες	1479	261 (17.6%)	3.816	601 (15.7%)
γυναίκες	618	102 (16.5%)	783	91 (11.6%)
συνολο	2097	363 (17.3%)	4599	692 (15.0%)

Οι αιμοδότες με θετικό HBsAg είχαν αντιγόνο e (HBeAg) θετικό μόνο σε 2 περιπτώσεις (άνδρες, ο ένας ηλικίας 19 χρόνων και ο άλλος 48 χρόνων). Και οι δύο είχαν αυξημένα επίπεδα ALT και HBV-DNA πολύ αυξημένο.

Ο ένας δέχθηκε να υποβληθεί σε βιοψία ήπατος όπου παρατηρήθηκαν στοιχεία χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας και ετέθη σε θεραπευτική αγωγή με INF- α , ενώ ο άλλος αρνήθηκε να παρακολουθηθεί.



Στον Πίνακα 11 φαίνεται το ορολογικό πρότυπο των αιμοδοτών με θετικό HBsAg. Όλοι οι αιμοδότες με θετικό HBsAg που δεν ήταν HBeAg(+) δεν είχαν επηρεασμένη ηπατική βιολογία και το HBV-DNA ήταν αρνητικό.

*

Πίνακας 11. Ορολογικό πρότυπο των αιμοδοτών με HBsAg θετικό.

η φορέων	HBSAG	Ολικό αντι-HBc	IGM αντι-HBc	HBeAg	Αντι- HBe	HBV- DNA	HDV	Ηπατική βιολογία
2 άρρενες	+	+	-	+	-	+	-	Παθολογική
55 (άρρενες-θήλειες)	+	+	-	-	+	-	-	Φυσιολογική

Οι 282 αιμοδότες με αρνητικό HBsAg που είτε δεν είχαν αντι-HBs, είτε το αντι-HBs ανιχνευόταν σε τίτλους <20 mIU/ml εξετάστηκαν και για την παρουσία HBV-DNA. Κανένας από αυτούς δεν παρουσίασε ιαιμία. Καμία περίπτωση μετά μετάγγισης HBV λοίμωξης δεν έχει αναφερθεί μέχρι σήμερα στους λήπτες των μονάδων αίματος που προέρχονταν από τους παραπάνω HBsAg αρνητικούς, αντι-HBc θετικούς αιμοδότες.

2.3. ΔΕΙΚΤΕΣ HCV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

41/6.696 (0.6%) αιμοδότες είχαν αντισώματα αντι-HCV με EIA τρίτης γενεάς. Από αυτούς, οι 34 ήταν άνδρες και οι 7 γυναίκες.

Όλοι οι EIA θετικοί αιμοδότες, όπως ήδη αναφέρθηκε, υπεβλήθηκαν σε περαιτέρω επιβεβαιωτικό έλεγχο με RIBA 3.0. Με τη δοκιμασία αυτή επιβεβαιώθηκαν σαν θετικοί 8 (19.5%, 7 άνδρες και 1 γυναίκα) και σαν αδιευκρίνιστοι (indeterminate) άλλοι 8 (19.5%, 6 άνδρες και 2 γυναίκες) ενώ οι υπόλοιποι 25 (61%) ήταν αρνητικοί (Πίνακας 12).

Αν και η ανίχνευση αντι-HCV αντισωμάτων δεν σχετίζονταν στατιστικά σημαντικά με την κατά ηλικία (δεκαετίες) και ανά νομό κατανομή, η οροθετικότητα για αντι-HCV αντισώματα ήταν στατιστικά συχνότερη στους αιμοδότες άνω των 30 ετών ($\chi^2= 6.92, p<0.01$), γεγονός που έχει επισημανθεί από προηγούμενες μελέτες.

Από τους 8 αιμοδότες που ήταν RIBA θετικοί, οι 7 είχαν επηρεασμένη ηπατική βιολογία (αυξημένη ALT) και είχαν επίσης ανιχνεύσιμο HCV-RNA, ενώ η βιοψία ήπατος έδειξε στοιχεία συμβατά με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα. Ο αιμοδότης που δεν είχε επηρεασμένη ηπατική βιοχημεία παρακολούθηθηκε για διάστημα ενός έτους και ουδέποτε παρουσίασε κάποια διαταραχή στον ηπατικό έλεγχο, ούτε ανιχνεύθηκε ποτέ HCV-RNA.



Πίνακας 12. Κατανομή των αντι-HCV αντισωμάτων ανά ηλικία, νομό και φύλο.

	Ηλικία	Άνδρες			Γυναίκες		
		EIA (+)	RIBA 3.0 (+)	RIBA 3.0 αδιευκρ.	EIA (+)	RIBA 3.0 (+)	RIBA 3.0 αδιευκρ.
ΙΩΑΝΝΙΝΑ	<20-29	11	2	2	0	0	0
	30-39	5	0	1	1	0	1
	40-49	5	2	1	3	0	1
	50-60	4	1	1	0	0	0
ΑΡΤΑ	<20-29	0	0	0	1	1	0
	30-39	1	1	0	0	0	0
	40-49	0	0	0	0	0	0
	50-60	0	0	0	0	0	0
ΠΡΕΒΕΖΑ	<20-29	0	0	0	0	0	0
	30-39	1	0	0	0	0	0
	40-49	0	0	0	0	0	0
	50-60	2	0	0	0	0	0
ΘΕΣΠΡΩΠΙΑ	<20-29	0	0	0	1	0	0
	30-39	2	1	0	0	0	0
	40-49	2	0	1	1	0	0
	50-60	1	0	0	0	0	0
Σύνολο		34	7	6	7	1	2

Οι 8 αιμοδότες με αδιευκρίνιστα αποτελέσματα στην RIBA, στην τακτική παρακολούθηση που είχαν δεν παρουσίασαν διαταραχή της ηπατικής βιοχημείας, ούτε ανιχνεύσιμο HCV-RNA. Η αντιδραστικότητα στα HCV αντιγόνα που χρησιμοποιούνται στη RIBA 3.0 στα αδιευκρίνιστα και θετικά αποτελέσματα φαίνεται στον Πίνακα 13.

Πίνακας 13. Αντιδραστικότητα των RIBA θετικών και αδιευκρίνιστων αιμοδοτών.

n	Αντιγόνα				Αποτέλεσμα RIBA
	C100	C33c	C22	NS5	
7	4+	4+	4+	4+	Θετικό
1	-	4+	4+	-	Θετικό
4	-	1+	-	-	Αδιευκρίνιστο
1	1+	-	-	-	Αδιευκρίνιστο
2	-	-	1+	-	Αδιευκρίνιστο
1	-	-	-	1+	Αδιευκρίνιστο

RIBA= μέθοδος ανοσοαποτύπωσης για την ηπατίτιδα C.

C100, C33c, C22, NS5= ανασυνδυασμένα αντιγόνα του γονιδιώματος του ιού.



2.4. ΔΕΙΚΤΕΣ ΗΕV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

IgG αντι-HEV ανιχνεύθηκαν με EIA σε 14 (10 άνδρες και 4 γυναίκες) από τους 6.696 αιμοδότες (0.2%). Κανείς από τους 14 αυτούς αιμοδότες δεν ήταν θετικός ως προς τα IgM αντισώματα. Στα δείγματα των θετικών με EIA αιμοδοτών έγινε όπως αναφέρθηκε επιβεβαιωτική δοκιμασία ανοσοαποτυπώματος (W.B.) και κανένα δείγμα δεν επιβεβαιώθηκε σαν θετικό.

Μόνο 2 από τα δείγματα ήταν αδιευκρίνιστα (αντιδραστικότητα μόνο στο 5G-3 αντιγόνο).

Δεν υπήρχε συσχέτιση των θετικών με EIA αιμοδοτών με φύλο, ηλικία, καταγωγή ή τόπο διαμονής.



3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η Ήπειρος είναι μια περιοχή με σχετικά κλειστό πληθυσμό, όπου επιδημιολογικές μελέτες μπορούν να γίνουν με ακρίβεια^{465,657,658}.

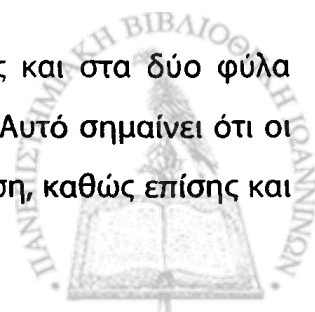
Τα τελευταία χρόνια, η περιοχή αυτή παρουσιάζει ιδιαίτερο επιδημιολογικό ενδιαφέρον ως προς τις ηπατίτιδες, δεδομένου ότι είναι ο κύριος αποδέκτης οικονομικών μεταναστών από τη γειτονική Αλβανία, χώρα με αυξημένη επίπτωση ιογενών ηπατιτίδων⁴⁶⁵. Η καταγραφή, επομένως, της κατάστασης που επικρατεί σήμερα στην περιοχή μας είναι αναγκαία αφενός, προκειμένου να διαφανούν πιθανές μελλοντικές επιπτώσεις των δημογραφικών αλλαγών στην επιδημιολογία των ηπατιτίδων, αφετέρου για να προταθούν διάφορες πολιτικές που θα μπορούσαν να επιδράσουν στην αποφυγή δυσάρεστων συνεπειών της παραπάνω κατάστασης.

3.1. ΔΕΙΚΤΕΣ HAV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Είναι γνωστό ότι η διασπορά του HAV στην Ελλάδα, όπως και στον υπόλοιπο κόσμο έχει σχέση με την κατάσταση των υγειονομικών υπηρεσιών, το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο και την κατάσταση του δικτύου ύδρευσης και αποχέτευσης κάθε περιοχής. Από προηγούμενες μελέτες που αναφέρονται σε άλλες περιοχές της χώρας μας, φαίνεται ότι η ανεύρεση ολικών αντι-HAV αντισωμάτων μετατοπίζεται στις μεγαλύτερες ηλικίες, ενώ στην παιδική ηλικία, έχουμε χαμηλή παρουσία της HAV λοίμωξης⁴⁷. Αυτό, πιθανότατα συμβαίνει γιατί στις τελευταίες δεκαετίες είχαμε σημαντική βελτίωση των συνθηκών διαβίωσης και έτσι και στη χώρα μας η νόσος αυτή ακολουθεί το μοντέλο που παρατηρείται και στις ανεπτυγμένες χώρες, δηλ. χαμηλό ποσοστό ολικά αντι-HAV αντισωμάτων στην παιδική ηλικία και υψηλότερη παρουσία στις μεγαλύτερες ηλικίες^{659,660}.

Η μελέτη αυτή, η πρώτη που γίνεται στην περιοχή της Ηπείρου για την καταγραφή της παρουσίας ολικών αντισωμάτων HAV λοίμωξης, δείχνει ότι και σε αυτή την περιοχή της χώρας μας έχουμε, στις νεαρότερες ηλικίες, σημαντική μείωση της συχνότητας της νόσου με μερικές διαφορές όσον αφορά τους τέσσερις νομούς της Ηπείρου που συμπεριλήφθηκαν στην έρευνα.

Στους νομούς Πρέβεζας και Θεσπρωτίας, σε όλες τις ηλικίες και στα δύο φύλα φαίνεται μεγαλύτερη συχνότητα επαφής με τον ιό της ηπατίτιδας Α. Αυτό σημαίνει ότι οι συνθήκες ύδρευσης και αποχέτευσης πιθανόν να χρειάζονται βελτίωση, καθώς επίσης και



διαπαιδαγώγηση του πληθυσμού για την τήρηση των κανόνων υγιεινής διαβίωσης σε ατομικό και κοινωνικό επίπεδο.

Ιδιαίτερα σήμερα, με ύπαρξη πολλών οικονομικών μεταναστών από τη γειτονική Αλβανία που γνωρίζουμε την υψηλή συχνότητα της ηπατίτιδας Α στον πληθυσμό της⁶⁵³, απαιτείται μεγαλύτερη προσοχή.

Παρά τη σημαντική βελτίωση των συνθηκών διαβίωσης στην ύπαιθρο σήμερα, εντούτοις και στους τέσσερις νομούς, παρατηρείται σημαντικά αυξημένη συχνότητα παρουσίας της ΗΑV λοίμωξης στους κατοίκους της υπαίθρου σε σχέση με τους κατοίκους των αστικών περιοχών, γεγονός που υποδεικνύει τη δραστηριοποίηση των Υπηρεσιών Δημόσιας Υγείας, ιδιαίτερα για την ενημέρωση του αγροτικού πληθυσμού.

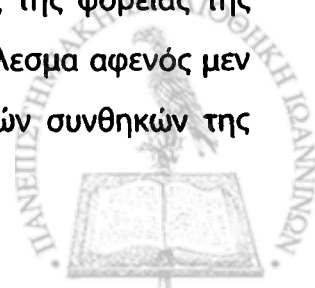
Συγκρίνοντας τα αποτελέσματά μας με εκείνα άλλων περιοχών της χώρας μας^{660.661} φαίνεται ότι η ηλικιακή καμπύλη προσβολής από τον ΗΑV μετατοπίζεται προς τις μεγαλύτερες ηλικίες, αφενός γιατί τα οροθετικά άτομα των μικρών ηλικιών μετατοπίζονται προς τις μεγαλύτερες ηλικίες και αφετέρου γιατί η βελτίωση των συνθηκών διαβίωσης είχε σαν αποτέλεσμα την επαφή με τον ιό στις μεγαλύτερες ηλικίες.

Η ανεύρεση υψηλού επιπολασμού των αντισωμάτων στους νομούς Θεσπρωτίας και Πρέβεζας χρήζει περαιτέρω μελέτης αν και πιθανότατα υποδεικνύει την επαγρύπνηση και εντατικοποίηση των Υπηρεσιών Υγείας των δύο νομών καθώς και την προσπάθεια ένταξης οικονομικών μεταναστών από την Αλβανία που κατοικούν στις περιοχές αυτές σε προγράμματα διαφώτισης και ενημέρωσης σχετικά με τη νόσο.

3.2. ΔΕΙΚΤΕΣ ΗΒV ΚΑΙ ΔΕΛΤΑ ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Η παρούσα μελέτη, όσον αφορά την ηπατίτιδα Β έδειξε ότι ο επιπολασμός του ΗΒsAg σε αιμοδότες της περιοχής μας είναι λίγο μικρότερος του 1% (0,9%). Ο επιπολασμός αυτός είναι μεγαλύτερος εκείνου που παρουσιάζεται σε άλλες Δυτικοευρωπαϊκές χώρες και τις ΗΠΑ, ενώ η παρουσία σε ποσοστό περίπου 16% των δεικτών προηγούμενης λοίμωξης από τον ΗΒV, στον ίδιο πληθυσμό, είναι επίσης αρκετά μεγαλύτερη⁶⁶².

Σε προηγούμενη μελέτη που είχε πραγματοποιηθεί την διετία 1977-1978 σε αιμοδότες της περιοχής της Ηπείρου για τον προσδιορισμό του ΗΒsAg, ο επιπολασμός είχε βρεθεί 3,3%⁶⁶³. Έτσι βλέπουμε μια σημαντική μείωση της συχνότητας της φορείας της ηπατίτιδας Β στον αιμοδοτικό πληθυσμό της Ηπείρου, που είναι αποτέλεσμα αφενός μεν της βελτίωσης των κοινωνικοοικονομικών καθώς και των υγειονομικών συνθηκών της



περιοχής, αφετέρου δε της πολιτικής που έχει ασκηθεί στον τομέα αυτό, με ενημέρωση των αποκαλυπτομένων φορέων αιμοδοτών, έλεγχο των οικογενειών τους και εμβολιασμό όλων των ευαίσθητων στον ιό συγγενών τους. Επίσης, η καθιέρωση ελέγχου του HBsAg προγεννητικά όλων των εγκύων της περιοχής μας που παρακολουθούνται στα νοσοκομεία και ο έγκαιρος εμβολιασμός των παιδιών φορέων μητέρων έχει συμβάλλει στη μείωση της περιγεννητικής μετάδοσης της νόσου στην Ήπειρο.

Τέλος, η εντατικοποίηση του εμβολιασμού στις ομάδες υψηλού κινδύνου και οι προφυλάξεις στη γενετήσια επαφή και λόγω του κινδύνου της HIV λοίμωξης, φαίνεται να παίζουν κάποιο επιπρόσθετο ρόλο.

Όπως διαπιστώθηκε, ο επιπολασμός των δεικτών HBV λοίμωξης και στα δύο φύλα αυξάνεται με την ηλικία. Το γεγονός αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία για την Αιμοδοσία γιατί δείχνει ότι πρέπει να ενταθούν οι προσπάθειες προσέλευσης εθελοντών αιμοδοτών από νεαρότερες ηλικίες.

Παρότι στις περισσότερες εργασίες⁶⁶⁴ φαίνεται ότι ο επιπολασμός λοιμωδών παραγόντων είναι μικρότερος στους εθελοντές αιμοδότες παρά στους ευκαιριακούς, στην μελέτη μας δεν αποδεικνύεται τέτοια συσχέτιση αλλά αντιθέτως στους ευκαιριακούς αιμοδότες υπάρχει ελαφρώς μικρότερος επιπολασμός (οριακά στατιστικώς σημαντική διαφορά $\chi^2 = 5,48$, $p=0,018$). Αυτό μάλλον εξηγείται από το γεγονός ότι οι εθελοντές αιμοδότες στην περιοχή μας ανήκουν στις μεγαλύτερες ηλικίες που όπως ήδη αναφέρθηκε έχουμε μεγαλύτερη συχνότητα HBV δεικτών.

Η μεγάλη εισροή στην Ήπειρο οικονομικών μεταναστών που άρχισε από το 1991 και κυρίως προερχόταν από τη γειτονική Αλβανία, χώρα με συχνότητα HBsAg περίπου 25%⁶⁵⁷, φαίνεται ότι δεν επηρέασε μέχρι σήμερα αρνητικά την επίπτωση του HBsAg, τουλάχιστον στον αιμοδοτικό πληθυσμό.

Πιθανόν, όμως, αν υπάρχουν κάποιες επιδράσεις αυτού του γεγονότος, να εμφανισθούν σε απώτερο χρονικό διάστημα. Φαίνεται όμως ότι η εντατικοποίηση των προσπαθειών για πρόληψη έναντι της ηπατίτιδας Β (ενημέρωση, εμβολιασμός) που λόγω του παραπάνω γεγονότος ενισχύθηκαν μετά και από την απαίτηση της κοινής γνώμης, είχε σαν αποτέλεσμα να μην ανακοπεί η πτωτική πορεία της νόσου.

Σε μελέτες από τον υπόλοιπο Ελλαδικό χώρο, η συχνότητα HBsAg σε αιμοδότες δείχνει στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις σε διάφορες γεωγραφικές περιφέρειες με τους



νομούς Πέλλας (4.2%), Ροδόπης (1.5%), Τρικάλων (3.6%), Καρδίτσας (1.27%) και Πιερίας (1.1%) να έχουν την υψηλότερη συχνότητα⁶⁶⁵.

Εδώ θα πρέπει να αναφερθεί ότι οι διαφορές που παρουσιάζονται στη συχνότητα της HBV λοίμωξης στον αιμοδοτικό πληθυσμό στις διάφορες περιοχές της χώρας μας σχετίζονται με τις διαφορετικές τοπικές συνθήκες που διαμορφώνουν και την επιδημιολογία της νόσου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η Κρήτη⁶⁶⁶ που αντίθετα με την περιοχή μας, οι αιμοδότες μικρότερων ηλικιών έχουν μεγαλύτερη συχνότητα δεικτών HBV λοίμωξης. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στον τρόπο ζωής στο συγκεκριμένο νησί, με ιδιαίτερη τουριστική κίνηση που η σεξουαλική επαφή φαίνεται να είναι ο κύριος τρόπος μετάδοσης. Αντίθετα, στην Ήπειρο, η αυξημένη συχνότητα των δεικτών στις μεγαλύτερες ηλικίες, άνω των 40 χρόνων, δείχνει ότι η επαφή με τον HBV έγινε σε προηγούμενες δεκαετίες, όταν η παρουσία του ιού στην Ελλάδα ήταν υψηλότερη. Η ενδοοικογενειακή διασπορά φαίνεται ότι ήταν ο κύριος τρόπος μετάδοσης της νόσου στην περιοχή μας όπως φαίνεται και από άλλες εργασίες μας⁶⁶⁷.

Αξίζει να σημειωθεί η επικράτηση και στην περιοχή μας του μεταλλαγμένου στην προπυρηνική περιοχή στελέχους του HBV αφού μόνο σε δύο περιπτώσεις είχαμε την παρουσία του HBeAg που και στις δύο περιπτώσεις συνδεόταν με ιαμμία και διαταραγμένη ηπατική βιοχημεία.

Τέλος, θα πρέπει να σημειώσουμε την απουσία της ηπατίτιδας δέλτα στους αιμοδότες μας που φαίνεται ότι συνολικά για την Ελλάδα δεν αποτελεί πρόβλημα, σε αντίθεση με άλλες Βαλκανικές χώρες.

3.4. ΔΕΙΚΤΕΣ HCV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Στη χώρα μας τα τελευταία στοιχεία τα σχετικά με τον επιπολασμό των αντι-HCV αντισωμάτων σε αιμοδοτικό πληθυσμό, έχουν δείξει ποσοστό κάτω του 0.14%⁶⁶⁵. Στην παρούσα μελέτη, ο επιπολασμός των αντισωμάτων έναντι της HCV στους αιμοδότες της Ηπείρου ανέρχεται στο 0.6%, ποσοστό σχετικά υψηλότερο. Αυτό όμως πιθανότατα οφείλεται ότι στην συγκεκριμένη μελέτη οι αιμοδότες, που πολλές φορές κατά τη διάρκεια ενός έτους αιμοδοτούν συχνότερα από μία φορά (2-4 φορές) συμπεριλήφθηκαν μόνο την πρώτη φορά που αιμοδότησαν κατά τη διάρκεια της μελέτης, ενώ στα στοιχεία που δίνονται από την Κεντρική Υπηρεσία Αιμοδοσίας του Υπουργείου ο επιπολασμός αναφέρεται επί του συνολικού αριθμού αιμοληψιών ανά έτος.

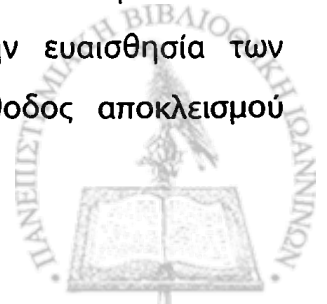


Επίσης, οι περισσότεροι από τους αιμοδότες έδιναν αίμα για πρώτη φορά. Για τους δύο παραπάνω λόγους οι αιμοδότες της μελέτης πλησιάζουν αρκετά δείγμα γενικού πληθυσμού της περιοχής, χωρίς βεβαίως να είναι απόλυτο τέτοιο δείγμα. Η ανίχνευση αντι-HCV αντισωμάτων στους αιμοδότες δεν σχετιζόταν στατιστικά σημαντικά με την κατά ηλικία (ανά δεκαετίες) και κατά νομό κατανομή. Εντούτοις, η οροθετικότητα για τα αντι-HCV αντισώματα ήταν πολύ σημαντικά συχνότερη ($p < 0.01$) στους αιμοδότες άνω των 30 ετών, γεγονός που έχει ήδη επισημανθεί από προηγούμενες μελέτες^{668,669}.

Θα πρέπει να σημειωθεί ο πολύ μικρότερος επιπολασμός της ηπατίτιδας C στους αιμοδότες σε σχέση με εκείνο που παρατηρείται για την ηπατίτιδα B, γεγονός που επιβεβαιώνει την ύπαρξη διαφορών στον ίδιο πληθυσμό (όπως για παράδειγμα η σεξουαλική και η κάθετη μετάδοση). Η διαφορά αυτή παρατηρείται σε όλη την χώρα και αποτελεί αντίθεση με ότι συμβαίνει στη Δ. Ευρώπη και τις ΗΠΑ που η ηπατίτιδα C έχει τη μεγαλύτερο επιπολασμό στον αιμοδοτικό πληθυσμό.

Όπως και στην ηπατίτιδα B έτσι και στην περίπτωση της ηπατίτιδας C, υπάρχουν διακυμάνσεις στη συχνότητά τους στους αιμοδότες στις διάφορες περιοχές της χώρας. Υψηλότερος επιπολασμός παρατηρείται στους νομούς Εύρου (0.39%), Δωδεκανήσου (0.33%), Κιλκίς (0.34%), Τρικάλων (0.33%) και Χανίων (0.3%)⁶⁷⁰. Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει το γεγονός ότι κανείς από τους αιμοδότες με επιβεβαιωμένη ηπατίτιδα C δεν ανέφερε στο ιατρικό του ιστορικό κάποιο παράγοντα κινδύνου, που να σχετίζεται με τη νόσο. Αυτό υποδεικνύει ότι πιθανόν και άλλοι παράγοντες σχετίζονται με τη μετάδοση της νόσου που χρήζουν περαιτέρω διερεύνηση. Πιθανόν, οδοντιατρικές πράξεις, ενδοσκοπικές επεμβάσεις, ακόμη και νοσοκομειακή νοσηλεία χωρίς μετάγγιση να αποτελούν την αιτία για τη διασπορά της ηπατίτιδας C.

Στοιχείο, που και από αυτή τη μελέτη αναδεικνύεται είναι ότι παρά την αύξηση της ευαισθησίας των μεθόδων ανίχνευσης αντισωμάτων για τον HCV, ακόμη και με τις ανοσοενζυμικές μεθόδους (EIA) τρίτης γενεάς, παραμένουν προβλήματα που αφορούν την ειδικότητα των μεθόδων. Έτσι, ένα σημαντικό ποσοστό των θετικών με EIA αιμοδοτών (61% στη δική μας μελέτη) δεν επιβεβαιώνεται με τις επιβεβαιωτικές δοκιμασίες όπως είναι η RIBA. Βέβαια, πρέπει να τονίσουμε ότι, παρόλο που η ειδικότητα των δοκιμασιών του ανοσοαποτυπώματος (RIBA) είναι υψηλή, δεν συμβαδίζει με την ευαισθησία των ανοσοενζυμικών μεθόδων και δεν μπορεί να προταθεί ως μέθοδος αποκλεισμού ιαιμίας^{368,578}.



Επίσης, τα αποτελέσματα της RIBA εξαρτώνται κατά πολύ από την ομάδα στην οποία ανήκουν τα ελεγχόμενα δείγματα^{25,671}. Έτσι, έχειδειχθεί ότι η επιβεβαίωση με RIBA, είναι μικρότερη όταν πρόκειται για δείγματα ορών από ομάδες χαμηλού κινδύνου (όπως οι αιμοδότες) σε σχέση με τον αντίστοιχο έλεγχο δειγμάτων από ασθενείς που ανήκουν σε ομάδες υψηλού κινδύνου^{368,672}.

Η αυξημένη ευαισθησία των διαγνωστικών εξετάσεων (ΕΙΑ) που δεν συμβαδίζει με αντίστοιχη ειδικότητα, αποτελεί πρόβλημα στη λειτουργία των Αιμοδοσιών, γιατί ένας αριθμός αιμοδοτών αποκλείεται από αιμοληψίες, επειδή έχουν θετικό αποτέλεσμα στις ανοσοενζυμικές μεθόδους (ΕΙΑ) που δεν επιβεβαιώνεται στη συνέχεια με τις επιβεβαιωτικές μεθόδους. Αυτό έχει σαν συνέπεια οικονομικό κόστος λόγω των επανειλημμένων εξετάσεων στις οποίες υποβάλλεται ο αιμοδότης, όπως επίσης και κοινωνικό λόγω της αβεβαιότητας στην οποία βρίσκεται ο αιμοδότης και το οικογενειακό του περιβάλλον για την κατάσταση της υγείας του, χωρίς στην πραγματικότητα να υπάρχει πρόβλημα.

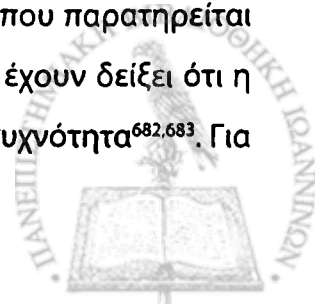
Θα πρέπει να αναφερθεί ότι όπου η RIBA ήταν θετική είχαμε σε πολύ μεγάλο ποσοστό (7/8, 87.5%) HCV ιαίμια, όπως επίσης βιοχημική και ιστολογική εικόνα συμβατή με χρόνια HCV λοίμωξη. Αντιθέτως, στους αιμοδότες με αδιευκρίνιστα αποτελέσματα δεν επιβεβαιώθηκε η παρουσία HCV ιαίμιας, ούτε διαταραγμένης ηπατικής βιοχημείας. Η ομάδα αυτή των αιμοδοτών που έχουν αδιευκρίνιστα αποτελέσματα στη RIBA (μονοαντιδραστικότητα σε ένα αντιγόνο) εξακολουθεί να αποτελεί πρόβλημα στην διαγνωστική προσέγγιση της HCV λοίμωξης.

3.5. ΔΕΙΚΤΕΣ ΗΕV ΛΟΙΜΩΞΗΣ

Ο ιός της ηπατίτιδας Ε έχει βρεθεί ότι είναι ο αιτιολογικός παράγοντας, εντερικά μεταδιδόμενης μη-Α, μη-Β ηπατίτιδας σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές^{11,673-675}.

Η λοίμωξη εμφανίζεται σαν επιδημία ή σποραδικά και ακολουθεί συνήθως ήπια διαδρομή^{67,676}. Όμως, έχει επίσης ενοχοποιηθεί για πρόκληση κεραυνοβόλου ηπατίτιδας σε ενδημικές περιοχές^{677,678}, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της κήσεως⁶⁷⁹ και σε νεογνά⁶⁸⁰.

Μολονότι, γενικά είναι παραδεκτό ότι, στους πληθυσμούς των ανεπτυγμένων χωρών μόνο ταξιδιώτες ή μετανάστες από ενδημικές χώρες έχουν αυξημένο κίνδυνο για ΗΕV λοίμωξη, η μεγάλη μετακίνηση των ανθρώπων από χώρα σε χώρα που παρατηρείται στην εποχή μας, απαιτεί προσεκτική αντιμετώπιση⁶⁸¹. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η ΗΕV μπορεί να είναι ενδημική στην Ευρώπη, παρότι βρίσκεται σε μικρή συχνότητα^{682,683}. Για



παράδειγμα, στην Ιταλία, οι περισσότερες περιπτώσεις ηπατίτιδας E δεν συνδεόταν με ταξίδι σε ενδημικές περιοχές⁶⁸⁴. Επιπλέον, ορολογικές μελέτες σε ανεπτυγμένες χώρες έχουν δείξει σε αιμοδοτικό πληθυσμό επιπολασμό από 0.4 έως 3.2%^{682,684,685}.

Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ένα χαμηλό επιπολασμό της HEV λοίμωξης στην Ευρώπη, ιδιαίτερα στις νότιες περιοχές, η μετάδοση όμως της λοίμωξης δεν μπορεί να εξηγηθεί στις περισσότερες περιπτώσεις. Στην Ελλάδα περιγράφηκαν δύο περιπτώσεις οξείας μη-A, μη-B ηπατίτιδας που ο αιτιολογικός παράγοντας ήταν ο HEV. Οροεπιδημιολογικές μελέτες από την Αθήνα δεν έδειξαν αυξημένη συχνότητα αντι-HEV αντισωμάτων σε χρόνια αιμοκαθαρόμενους ασθενείς⁶⁸⁶ ή σε ομάδες υψηλού κινδύνου⁶⁸⁷.

Στην περιοχή της Ηπείρου, από την παρούσα μελέτη αναδεικνύεται ο πολύ μικρός επιπολασμός της HEV λοίμωξης σε αντίθεση με τις άλλες ηπατίτιδες. Επίσης, σημασία έχει το γεγονός ότι κανένας αιμοδότης από αυτούς που βρέθηκαν θετικοί με δοκιμασία EIA δεν επιβεβαιώθηκε σαν θετικός. Όπως και στην περίπτωση της διάγνωσης της HCV, σε αιμοδοτικό πληθυσμό που είναι χαμηλού κινδύνου (λόγω προεπιλογής) φαίνεται ότι ένα θετικό αποτέλεσμα με ανοσοενζυματική μέθοδο είναι πιθανότατα αρνητικό με επιβεβαιωτικές δοκιμασίες.

Από μελέτη που έγινε στην περιοχή μας, επίσης έχει δειχθεί ότι δεν υπήρχαν αντι-HEV αντισώματα σε παιδιά, iv χρήστες ναρκωτικών ουσιών και πολυμεταγγιζόμενου ασθενείς με αιμοσφαιρινοπάθειες και αιματολογικές κακοήθειες⁶⁸⁸. Αντιθέτως, από την ίδια μελέτη προκύπτει ότι οικονομικοί μετανάστες από τη Νότιο Αλβανία, ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα (B, C, B και D) καθώς και αιμοακαθαρόμενοι ασθενείς είχαν μεγαλύτερη συχνότητα παρουσίας αντι-HEV αντισωμάτων (4.85%, 5.30% και 1.34% έως 9.70%, ανάλογα με τη Μονάδα Τεχνητού Νεφρού, αντίστοιχα). Επίσης, παρά το μικρό ποσοστό αντίχνευσης HEV λοίμωξης σε αιμοδοτικό πληθυσμό στην περιοχή μας, μια προκαταρκτική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε εγχείρηση ανοικτής καρδιάς έδειξε αυξημένο επιπολασμό ηπατίτιδας E⁶⁸⁹. Οι ασθενείς αυτοί όμως χειρουργήθηκαν σε νοσοκομεία εκτός Ηπείρου, όπου και μεταγγίσθηκαν. Συμπερασματικά προκύπτει ότι στην περιοχή μας έχουμε πολύ χαμηλή συχνότητα HEV λοίμωξης.

3.6. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ANTI-HBc ΚΑΙ HBV ΙΑΙΜΙΑΣ ΣΤΟΥΣ ΑΙΜΟΔΟΤΕΣ

Παρά τη χρησιμοποίηση ευαίσθητων δοκιμασιών (3ης γενεάς) για τον υποχρεωτικό έλεγχο των αιμοδοτών για το αντιγόνο επιφανείας του ιού ηπατίτιδας B (HBsAg), ακόμη και



σήμερα εξακολουθεί να εμφανίζεται μετά μετάγγιση ηπατίτιδα Β (ΜΜΗΒ) αποτελώντας το 10% περίπου των περιπτώσεων μετά μετάγγισης ηπατίτιδας, σε λήπτες αίματος χωρίς HBsAg³⁵.

Το αντίσωμα κατά του αντιγόνου του πυρηνοκαψιδίου του ιού της ηπατίτιδας Β (αντι-HBc) είναι ο πιο κοινός δείκτης παλαιάς ή ενεργού λοίμωξης από τον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV). Το αντίσωμα αυτό εμφανίζεται νωρίς κατά την οξεία φάση της νόσου και συνήθως παραμένει σε όλη τη διάρκεια της ζωής. Δεν είναι προστατευτικό αντίσωμα και σε χρόνια HBV λοίμωξη διατηρείται σε υψηλούς τίτλους. Ο έλεγχος των αιμοδοτών για αντι-HBc άρχισε στις ΗΠΑ το 1986 όχι για την πρόληψη της ηπατίτιδας Β αλλά ως επικουρικός δείκτης μαζί με τον προσδιορισμό της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) σε μια προσπάθεια μείωσης της μετά μετάγγισης μη -Α, μη -Β ηπατίτιδας^{690,691}. Τα παραπάνω εφαρμόστηκαν αργότερα και σε χώρες της Δυτικής Ευρώπης. Ο έλεγχος των αιμοδοτών για αντι-HBc στις παραπάνω χώρες εξακολουθεί να γίνεται και σήμερα, όχι πλέον για την πρόληψη της ηπατίτιδας C αλλά για την έμμεση υπόδειξη μόλυνσης από τον ιό της επίκτητης ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου (HIV) για άτομα που ανήκουν σε ομάδες μεγάλου κινδύνου⁶⁹², καθώς και για να ελαττώσει τον κίνδυνο της ΜΜΗΒ^{693,694}. Πράγματι έχουν αναφερθεί περιπτώσεις ΜΜΗΒ όπου το μεταγγιζόμενο αίμα ήταν αντι-HBc θετικό χωρίς παρουσία HBsAg^{693,695}.

Είναι γνωστό ότι στην οξεία HBV λοίμωξη, εκτός από την περίοδο του παραθύρου που προηγείται της δυνατότητας ανίχνευσης του HBsAg στην αρχική φάση της νόσου, υπάρχει και μια δεύτερη περίοδος αργότερα (στη φάση της κάθαρσης) όπου ο ασθενής μπορεί να είναι μολυσματικός ενώ το HBsAg να είναι κάτω από τα όρια ανίχνευσης που έχουν και οι πλέον ευαίσθητες διαγνωστικές μέθοδοι. Τότε το IgM αντι-HBc είναι ο μόνος δείκτης οξείας HBV λοίμωξης προ της εμφάνισης του προστατευτικού αντισώματος κατά του HBsAg (αντι-HBs) μαζί με το DNA του ιού (HBV-DNA)^{176,696}. Επιπρόσθετα, πρόσφατα και παλαιότερα βιβλιογραφικά δεδομένα έχουν δείξει τη μετάδοση ΜΜΗΒ από αιμοδοτές αρνητικούς σε όλους τους δείκτες HBV λοίμωξης (HBsAg, αντι-HBc και HBV-DNA) και με φυσιολογικές τιμές ALT^{697,698}. Επίσης, μεταλλάξεις του HBV που μπορούν να διαφύγουν από τις διαγνωστικές μεθόδους ανίχνευσης του HBsAg μπορεί να έχουν ως μόνο εργαστηριακό εύρημα την παρουσία αντι-HBc^{699,700}.

Από τις μελέτες αυτές καθώς και από άλλες που έχουν αναφερθεί στη διεθνή βιβλιογραφία, συνεπάγεται ότι κάποιοι αιμοδοτές με αρνητικό HBsAg μπορεί να είναι



δυναμικά μολυσματικοί. Γι' αυτούς τους λόγους μελετήθηκε προοπτικά στη διάρκεια μιας τριετίας (1994-1996) η πιθανή συσχέτιση μεταξύ αντι-HBc και HBV ιαιμίας στον αιμοδοτικό πληθυσμό της Ηπείρου.

Στη μελέτη μας, παρά τη σχετικά υψηλή συχνότητα αντι-HBc σε σχέση με τις ΗΠΑ και χώρες της Δυτικής Ευρώπης είτε ως μόνου δείκτη HBV λοίμωξης είτε με συνύπαρξη αντι-HBs σε χαμηλούς μη προστατευτικούς τίτλους, δεν βρέθηκε συσχέτιση της παρουσίας του με HBV ιαιμία. Τα αποτελέσματα αυτά συμπίπτουν με εκείνα μελετών από χώρες με χαμηλή ενδημικότητα της HBV λοίμωξης όπως ΗΠΑ, Καναδάς και Μ. Βρετανία^{204,205,701}.

Η απουσία μετά μετάγγισης ηπατίτιδας Β στους λήπτες, παρά την χορήγηση των μονάδων αίματος που ήταν HBsAg αρνητικές αλλά αντι-HBc θετικές ενισχύει τα αποτελέσματα της μελέτης μας. Προκαταρκτικές μελέτες στην Ελλάδα έχουν δείξει επίσης απουσία HBV ιαιμίας με τεχνικές μοριακού υβριδισμού και PCR σε αιμοδότες θετικούς για το αντι-HBc^{702,703}. Αντίθετα, σε χώρες με υψηλή ενδημικότητα έχει ευρεθεί συσχέτιση του αντι-HBc με παρουσία HBV-DNA σε αιμοδότες^{203,704}.

Οι μεγάλες αποκλίσεις που εμφανίζονται στις διάφορες μελέτες ως προς τη συσχέτιση της παρουσίας του αντι-HBc με HBV ιαιμία, δείχνουν ίσως ότι η παρουσία ενός θετικού αντι-HBc μπορεί να έχει διαφορετική σημασία σε κάθε άτομο^{203,704}. Για παράδειγμα, η χώρα καταγωγής και αν ο αιμοδότης ανήκει σε ομάδα υψηλού κινδύνου⁷⁰⁵ (σεξουαλική συμπεριφορά ή χρήση ιν ναρκωτικών ουσιών) μπορεί να έχει προγνωστική σημασία.

Μια άλλη εξήγηση μπορεί να είναι προβλήματα στη μέθοδο της PCR, όπως η χρήση ηπαρινισμένου πλάσματος, ο εμπλουτισμός των ιϊκών σωματιδίων στο αρχικό δείγμα με υπερφυγοκέντρωση^{706,707} και η πιθανότητα ο HBV να παραμένει στο ήπαρ και όχι στο αίμα ατόμων με θετικό αντι-HBc⁷⁰⁸. Σύμφωνα με τους Nemoto και συν.⁷⁰⁸ σχεδόν 100% των αντι-HBc θετικών ζώντων δοτών ήπατος είχαν αρνητικά αποτελέσματα για HBV DNA στον ορό αλλά θετικά στο ήπαρ. Επειδή οι αιμοδότες στη μελέτη μας με αντι-HBc θετικό είχαν σε επαναλαμβανόμενες εξετάσεις φυσιολογικά επίπεδα ALT, δεν θεωρήθηκε ηθικό να υποβληθούν σε βιοψία ήπατος. Η πιθανότητα ότι τα επίπεδα της HBV ιαιμίας ήταν χαμηλότερα του ορίου ανίχνευσης της PCR που χρησιμοποιήσαμε, δεν μπορεί να αποκλεισθεί. Είναι γνωστό ότι πολύ ευαίσθητες μέθοδοι PCR μπορούν να ανιχνεύουν ακόμη και ένα ιϊκό σωματίδιο. Αυτό όμως δεν σημαίνει ότι τα δείγματα αυτά είναι σίγουρα μολυσματικά. Οι Wang και συν. έδειξαν ότι καμία μονάδα αίματος από τις 9 που ήταν



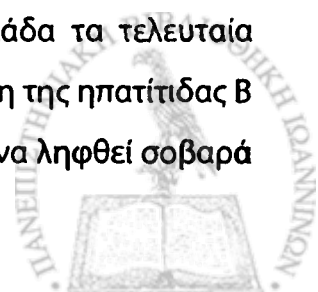
αρνητικές για HBsAg αλλά θετικές με PCR για HBV-DNA δεν μετέδωσε HBV λοίμωξη στους λήπτες όταν μεταγγίσθηκαν.

Από την άλλη πλευρά, περίπου 100 ιικά σωματίδια ανά ml έχουν αποδειχθεί μολυσματική δόση, τουλάχιστον στους χιμπατζήδες⁷⁰⁹.

Οι διαφορές αυτές που υπάρχουν στις διάφορες μελέτες μπορεί να εξηγήσουν τις διαφοροποιήσεις στις στρατηγικές που ακολουθεί η κάθε χώρα στο επίπεδο ελέγχου του αίματος, ούτως ώστε και η ασφάλεια των παρεχομένων μεταγγίσεων να εξασφαλίζεται και ο αριθμός των αιμοδοτών να μη μειώνεται σημαντικά. Η αυξημένη ευαισθησία και ειδικότητα της PCR στον προσδιορισμό του HBV-DNA στον ορό έχει δείχθει σε διάφορες μελέτες⁷¹⁰. Η πιο πιθανή εξήγηση ανίχνευσης HBV-DNA παρά την απουσία HBsAg είναι ότι η παραπάνω μέθοδος έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από ότι οι κλασικοί ορολογικοί μέθοδοι προσδιορισμού του HBsAg σε περιπτώσεις με χαμηλού βαθμού ιαιμία. Πράγματι οι Ulrich και συν.⁷¹¹ έχουν δείξει με την PCR τύπου φωλιάς (nested) ότι μπορεί να ανιχνευθεί HBV-DNA σε επίπεδα κάτω της μολυσματικής δόσης χιμπατζήδων.

Για τις περιπτώσεις που έχουμε μόνο αντι-HBc χωρίς κανένα άλλο δείκτη HBV λοίμωξης θα πρέπει να τονιστεί το μεγάλο ποσοστό των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων που έχουν όλες οι κυκλοφορούσες μέχρι σήμερα διαγνωστικές δοκιμασίες. Όπως γίνεται αντιληπτό, το γεγονός αυτό χρήζει ιδιαίτερης προσοχής, αφού μπορεί να απορρίπτονται αιμοδότες χωρίς στην ουσία να έχουν HBV λοίμωξη⁷¹². Για αυτό το λόγο, πολλοί συνιστούν την απόρριψη αιμοδοτών με αντι-HBc μόνο όταν αυτό ανιχνεύεται σε πολύ υψηλό τίτλο⁷¹².

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη δεν τεκμηρίωσε την αναγκαιότητα ελέγχου των αιμοδοτών της Ηπείρου για το αντι-HBc καθώς η παρουσία του μόνου ή σε συνδυασμό με μη προστατευτικούς τίτλους αντι-HBs δεν συσχετιζόνταν με HBV ιαιμία. Επιπλέον, η χρησιμοποίηση του αντι-HBc για έλεγχο των αιμοδοτών με βάση τα στοιχεία της μελέτης αυτής θα επέφερε απώλεια του 4.2% των αιμοδοτών (282/6.696) ενώ θα αύξανε το κόστος του εργαστηριακού ελέγχου. Χρειάζεται όμως να γίνουν και άλλες προοπτικές μελέτες μεγάλου αριθμού αιμοδοτών από διάφορες περιοχές της χώρας μας ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα που θα απαντούν στο ερώτημα της αναγκαιότητας ή μη της χρήσης του αντι-HBc ως δοκιμασία πληθυσμιακού ελέγχου (screening) των αιμοδοτών. Επίσης, η μεταβολή του πληθυσμού που πραγματοποιείται στην Ελλάδα τα τελευταία χρόνια με τη μόνιμη παρουσία ανθρώπων από χώρες με υψηλή επίπτωση της ηπατίτιδας Β που για να καλυφθούν αιμοδοτικές μας ανάγκες αιμοδοτούν, θα πρέπει να ληφθεί σοβαρά



υπόψη όσον αφορά την ασφάλεια των μεταγίσεων και την εφαρμογή ή όχι σε εθνικό επίπεδο των νέων τεχνικών ανίχνευσης του HBV-DNA.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν: (α) να καταγράψει τη συχνότητα των δεικτών των ηπατιτίδων A, B, C, D, E σε αιμοδοτικό πληθυσμό της Ηπείρου και να συσχετίσει την παρουσία τους με κλινικές, βιοχημικές και βιολογικές παραμέτρους και (β) να διαπιστώσει αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας αντι-HBc σαν μόνου δείκτη HBV λοίμωξης ή σε συνδυασμό με αντι-HBs <20 mIU/ml και HBV ιαίμιας και επομένως αν θα ήταν χρήσιμος ο έλεγχος των αιμοδοτών για αντι-HBc, για πρόληψη μετάδοσης HBV λοίμωξης με μετάγγιση.

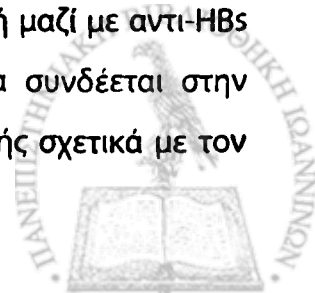
Υλικό της μελέτης απετέλεσαν 6.696 αιμοδοτές, ηλικίας 18-60 ετών, με μέση ηλικία 36 ετών που όλοι είχαν γεννηθεί στους 4 νομούς της Ηπείρου και διέμεναν τουλάχιστον τα 5 τελευταία χρόνια στην περιοχή αυτή. Από τους 2.097 (31.3%, 1.479 άνδρες και 618 γυναίκες) αιμοδότησαν εθελοντικά και 4.599 (68.7%, 3.816 άνδρες και 783 γυναίκες) ευκαιριακά για συγγενείς και φίλους. Όλοι οι παραπάνω αιμοδοτές ελέγχθηκαν για HAV, HEV, HBV, HDV και HCV λοίμωξη. Οι δείκτες που προσδιορίστηκαν ήταν: IgG αντι-HAV (Abbott Lab), IgG αντι-HEV (Abbott Lab), IgM αντι-HEV (Genelabs Diagnostics), HbsAg, αντι-HBc (IgM και ολικό), αντι-HBs, HbeAg, αντι-Hbe (Abbott Lab). Στους φορείς ηπατίτιδας B προσδιορίστηκαν αντι-δέλτα αντισώματα (Abbott Lab) και HBV-DNA με PCR (Sorin Biomedica). Αντι-HCV αντισώματα προσδιορίστηκαν με EIA 3^{ης} γενεάς (Murex Diagnostics) και τα θετικά δείγματα επιβεβαιώθηκαν με τη μέθοδο του ανοσοαποτυπώματος RIBA 2.0 ή 3.0 (Chiron Corporation). Επίσης, το HCV-RNA προσδιορίστηκε με PCR (Sorin Biomedica). Όσοι αιμοδοτές ήταν HbsAg ή HCV θετικοί εξετάστηκαν για διαταραχές της βιολογίας του ήπατος και υποβλήθηκαν σε βιοψία ήπατος. Σε 282 αιμοδοτές με παρουσία αντι-HBc χωρίς αντι-HBs ή με αντι-HBs <20 mIU/ml προσδιορίστηκε το HBV-DNA.



Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας το 63.65% των αιμοδοτών βρέθηκαν ότι είχαν θετικά IgG αντι_HAV αντισώματα. Στις μεγαλύτερες ηλικίες, σε όλους τους νομούς διαπιστώθηκε αυξημένο ποσοστό αντισωμάτων σε σχέση με τις μικρότερες, ενώ στους νομούς Πρέβεζας και Θεσπρωτίας υπήρχε στατιστικά σημαντικώς αυξημένη συχνότητα προηγούμενης HAV λοίμωξης σε σχέση με τους άλλους δύο νομούς. Οι αιμοδότες που κατοικούν στην ύπαιθρο έχουν επίσης μεγαλύτερο ποσοστό παρουσίας HAV λοίμωξης. Αντίθετα, αντι-HEV αντισώματα παρουσίασαν μόνο 14 από τους 6.696 αιμοδότες και κανένας από αυτούς δεν επιβεβαιώθηκε με επιβεβαιωτική δοκιμασία (Western blot). Όσον αφορά την HBV λοίμωξη, 1.055 από τους 6.696 (15.8%) αιμοδότες είχαν ένα τουλάχιστον ιϊκό δείκτη. Πενήντα επτά στους 6.696 (0.9%) είχαν HBsAg θετικό χωρίς επιλοίμωξη με ηπατίτιδα δέλτα. Το IgM αντι-HBc ήταν αρνητικό σε όλους τους αιμοδότες. Από τους 998 αιμοδότες με αντισώματα, 716 (71.6%) είχαν αντι-HBc με συνύπαρξη προστατευτικού τίτλου αντι-HBs >20 mIU/ml ενώ οι υπόλοιποι 282 (28.2%) είτε δεν είχαν αντι-HBs, είτε το αντι-HBs ήταν σε τίτλους <20 mIU/ml. Και εδώ η παρουσία των HBV δεικτών αυξανόταν με την ηλικία.

Κανένας από τους 282 αιμοδότες που ήταν αρνητικοί και είχαν αντι-HBc μόνο ή σε συνδυασμό με αντι-HBs <20 mIU/ml και ελέγχθηκαν για HBV-DNA δεν βρέθηκε θετικός. Αντι-HCV αντισώματα προσδιορίστηκαν σε 41 από τους 6.696 (0.6%) αιμοδότες και από αυτούς με RIBA επιβεβαιώθηκαν 8 (19.5%) σαν θετικοί, 8 (19.5%) σαν αδιευκρίνιστοι ενώ οι υπόλοιποι 25 (61%) ήταν αρνητικοί. Από 8 RIBA θετικούς οι 7 είχαν ανιχνεύσιμο HCV-RNA και επηρεασμένη ηπατική βιοχημεία και ιστολογική εικόνα χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας, ενώ ένας ήταν HCV-RNA αρνητικός με φυσιολογική ηπατική βιολογία.

Συμπερασματικά, η μεν ηπατίτιδα E δεν φαίνεται να αποτελεί πρόβλημα για τον αιμοδοτικό πληθυσμό της Ηπείρου, η δε ηπατίτιδα A βαίνει συνεχώς μειούμενη στις νεαρότερες ηλικίες, σαν αποτέλεσμα της βελτίωσης των βιο-κοινωνικών συνθηκών καθώς και του επιπέδου υγιεινής της περιοχής. Η ηπατίτιδα B έχει και αυτή φθίνουσα πορεία, λόγω της σωστής στρατηγικής που εφαρμόσθηκε για την αντιμετώπισή της. Όσον αφορά την ηπατίτιδα C, η συχνότητα είναι ίσως κάπως μεγαλύτερη από εκείνη άλλων περιοχών της χώρας, μελλοντικές όμως μελέτες θα δείξουν την τάση ανόδου ή μείωσης που παρουσιάζει. Η παρουσία του αντι-HBc σε ποσοστό 4.2% των αιμοδοτών μόνου του ή μαζί με αντι-HBs σε τίτλους μη θεωρούμενους σαν προστατευτικούς, δεν φαίνεται να συνδέεται στην περιοχή μας με HBV-ιαιμία. Για την εφαρμογή όμως εθνικής στρατηγικής σχετικά με τον



υποχρεωτικό έλεγχο του αίματος για αντι-ΗΒc, θα πρέπει να γίνουν και άλλες μελέτες αυτού του τύπου σε διάφορες περιοχές της χώρας για να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα.

Σήμερα, με τη δυνατότητα ελέγχου κάθε αιμοδότη για HBV-DNA με NAT μεθόδους (ανίχνευσης των νουκλεϊκών οξέων του ιού) που πιθανόν ανιχνεύουν και διάφορα μεταλλαγμένα στελέχη του HBV, φαίνεται ότι η χρησιμότητα του ελέγχου των αιμοδοτών για αντι-ΗΒc μειώνεται ακόμη περισσότερο.



strengthened while the use of vaccination schedule against HAV in the sensitive population seems rationale. The socioeconomic conditions related to the exposure of HAV are also discussed. The prevalence of HBV markers in blood donors in our region was higher than that in the USA and northern European countries but appears to have declined significantly in the period of study. This decline may suggest improvement in the general measures of HBV prevention in our region. The presence of anti-HBc alone or with low titers of anti-HBs (no protectable), does not seem to be connected with HBV-viraemia in our blood donors. The need of a mandatory screening of the donors for anti-HBc in our region does not reveal from this study, whereas the admission of this test will lead to a further rejection of blood donors. Before the consideration of anti-HBc screening of donors for prevention of HBV transmission by transfusion, further studies in all the regions of the country are necessary. Today, the availability of HBV-DNA testing in each donor, individually, by NAT (nucleic acid amplification technology) that also has the potential to detect HBsAg-mutant forms of HBV could be a future solution for safer blood transfusion.



determined by EIA 3.0 (Murex) and the confirmatory assay RIBA 2.0 or 3.0 was used for the repeatedly positive by HCV EIA blood donors. HCV-RNA also determined in these blood donors by PCR (Sorin Biomedica).

282 donors negative for HBsAg but positive for anti-HBc alone or in combination with low-titered anti-HBs (<20 mIU/ml) were further investigated for the presence of HBV-DNA.

IgG anti-HAV antibodies detected in 63.65% of the blood donors. There was a statistically significant difference between blood donors from the prefecture of Preveza and Thesprotia, compared to those of Ioannina and Arta ($p < 0.0005$). There was a difference between rural and urban residence, while the seropositivity for anti-HAV was associated with the age of the donors independently of their prefecture origin.

In a contrary way, anti-HEV antibodies were found only in 14/6.696 donors and none of them was confirmed as positive by western blot (WB). 1.055 donors out of 6.696 (15.8%) were found to be positive for at least one serological marker of HBV infection. HBsAg was detected in 57 of 6.696 donors (0.85%) without coinfection with hepatitis delta.

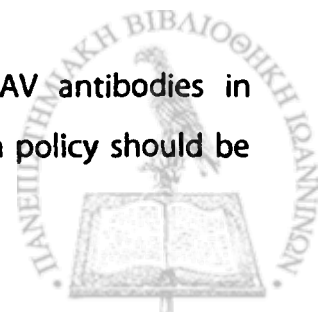
Among the 998 donors with detectable HBV markers other than HBsAg, 716 (71.6%) had anti-HBc with protective anti-HBs titers (>20 mIU/ml) independent of the presence or absence of anti-Hbe, whereas the remaining 282 donors (28.2%) had anti-HBc alone or in combination with anti-Hbe or with anti-HBs titers < 20 mIU/ml.

These 282 donors were investigated for the presence of HBV-DNA by using the above-mentioned PCR. None of them found to be positive for HBV-DNA. Anti-HCV antibodies were detected in 41/6.696 (0.6%) blood donors and of these 8 (19.5%) were RIBA 2.0 or 3.0 positive, 8 (19.5%) had indeterminate result and 25 (61%) were RIBA negative.

Seven donors out of 8 RIBA positive had detectable HCV-RNA and abnormal liver biology. The liver biopsy in these donors showed chronic active hepatitis. Only 1 of the 8 RIBA positive donors was HCV-RNA negative with normal liver biology.

In conclusion, this study demonstrated that HEV is not a problem in the blood donors or Epirus region. There is a number of sensitive blood donors for HAV infection in our region (in ages lower than 30 years).

In addition, the presence of increased frequency of anti-HAV antibodies in Thesprotia and Preveza prefectures, possibly suggests that their health policy should be



strengthened while the use of vaccination schedule against HAV in the sensitive population seems rationale. The socioeconomic conditions related to the exposure of HAV are also discussed. The prevalence of HBV markers in blood donors in our region was higher than that in the USA and northern European countries but appears to have declined significantly in the period of study. This decline may suggest improvement in the general measures of HBV prevention in our region. The presence of anti-HBc alone or with low titers of anti-HBs (no protectable), does not seem to be connected with HBV-viraemia in our blood donors. The need of a mandatory screening of the donors for anti-HBc in our region does not reveal from this study, whereas the admission of this test will lead to a further rejection of blood donors. Before the consideration of anti-HBc screening of donors for prevention of HBV transmission by transfusion, further studies in all the regions of the country are necessary. Today, the availability of HBV-DNA testing in each donor, individually, by NAT (nucleic acid amplification technology) that also has the potential to detect HBsAg-mutant forms of HBV could be a future solution for safer blood transfusion.

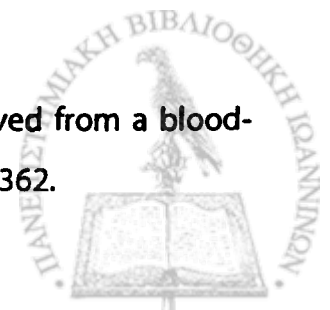


ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

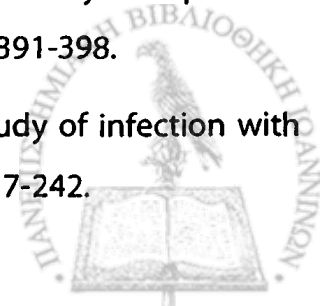
1. Cockayne EA. Catarrhal jaundice, sporadic and epidemic and its relation to acute yellow atrophy of the liver. Q J Med 1912; 6: 1.
2. Robert B. Textbook of Human Virology. Second Edition. 1991: 498.
3. McCallum FO: Early studies of viral hepatitis. Br Med Bull 1972; 28: 105-108.
4. World Health Organization: Viral hepatitis. Report of a WHO scientific group. WHO Tech Rep Ser 1973; 512: 1-52.
5. Krugman S, Giles JP, Hammond J: Infectious hepatitis: Evidence for two distinctive clinical, epidemiological and immunological types of infection. JAMA 1967; 200: 365-373.
6. Deinhardt F: Hepatitis in primates. Adv Virus Res 1976; 20: 113-117.
7. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH: Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a virus-like agent associated with acute illness. Science 1973; 182: 1026-1028.
8. International Workshop on Hepatitis A Virus Infection: Summary of discussion and statement of opinions on selected issues at an international workshop in Athens, 17-19 November, 1980. Eur J Clin Microbiol 1983; 2: 57-73.
9. Provost PJ, Hilleman MR: Propagation of human hepatitis A virus in cell cultures in vitro. Proc Soc Exp Biol Med 1979; 160: 213-221.



10. Frösner GG, Deinhardt F, Scheid R, et al: Propagation of human hepatitis A virus in a hepatoma cell line. *Infection* 1979; 7: 303-306.
11. Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, et al: Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Science* 1990; 247: 1335-1339.
12. Lürman: Eine Icterusepidemia. *Berlin Klin* 1885; 22: 20-23.
13. Findlay GM, McCallum FO: Note on acute hepatitis and yellow fever immunization. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1937; 31: 297-308.
14. Sawyer WA, Meyer KF, Eaton MP, et al: Jaundice in army personnel in the western region of the United States and its relation to vaccination against yellow fever. *Am J Hyg* 1944; 39: 337-432, 40:35-107.
15. Blumberg BS, Alter JH, Visnich S: A «new» antigen in leukemia sera. *JAMA* 1965; 191: 541-546.
16. London WT, Sutnick AI, Blumberg BS: Australia antigen and acute viral hepatitis. *Ann Intern Med* 1969; 70: 55-59.
17. Blumberg BS: Australia antigen and the biology of hepatitis B. *Science* 1977; 197: 17-25.
18. Wand R, Krugman S, Giles JP, et al: Infectious hepatitis. Studies of its natural history and prevention. *N Engl J Med* 1958; 258: 407-416.
19. Krugman S, Ward R, Giles JP. The natural history of infectious hepatitis. *Am J Med* 1962; 32: 717-728.
20. Krugman S, Giles JP: Viral hepatitis. New light on an old disease. *JAMA* 1970; 212: 1019-1029.
21. Krugman S, Giles JP, Hammond J: Hepatitis virus: effect of heat on the infectivity and antigenicity of the MS-1 and MS-2 strain. *J Infect Dis* 1970; 122: 432-436.
22. Rizzeto M, Canese MG, Arico S, et al: Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. *Gut* 1977; 18: 997-1003.
23. Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-362.



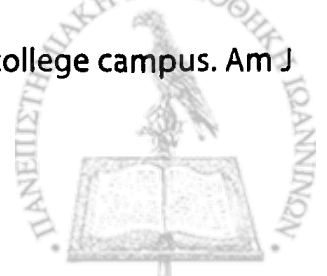
24. Kuo G, Choo Q-L, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244: 362-364.
25. McHutchison JG, Person JL, Govindarajan S, et al. Improved detection of hepatitis C virus antibodies in high-risk populations. *Hepatology* 1992; 15: 19-25.
26. Simons JN, Pilot-Matias TJ, Leary TP, et al: Identification of two-flavovirus-like genomes in the GB hepatitis agent. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 3401-3405.
27. Schlauder GG, Dawson GJ, Simons JN, et al: Molecular and serologic analysis in the transmission of the GB hepatitis agents. *J Med Virol* 1995; 46: 81-90.
28. Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, et al: Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nature Med* 1995; 1: 564-569.
29. Gust ID, Coulepis AG, Feinstone SM, et al. Taxonomic classification of hepatitis A virus. *Intervirology* 1983; 20: 1.
30. Siege G, Frösner GG. Characterization and classification of virus particles associated with hepatitis A. II. Type and classification of nucleic acid. *J Virol* 1978; 26: 48-53.
31. Rakela J, Fay OH, Stevenson D, et al. Similarities of two hepatitis A virus strains. *Bull WHO* 1976; 54: 561-564.
32. Scheid R, Deinhardt F, Frösner G, et al. Inactivation of hepatitis A and B viruses and risk of iatrogenic transmission: *Viral Hepatitis 1981 International Symposium*. Philadelphia, Franklin Institute Press, 1982: 627-628.
33. Peterson DA, Hurley TR, Hoff JC, et al. Hepatitis A virus: infectivity and chlorine treatment. *Viral Hepatitis 1981 International Symposium*. Philadelphia, Franklin Institute Press, 1982: 624-625.
34. Villarejos VM, Provost PJ, Ittensohn OL, et al. Seroepidemiologic investigations of human hepatitis caused by A, B and a possible third agent. *Proc Soc Exp Biol Med* 1976; 152: 524-528.
35. Szmuness W, Dienstag JL, Purcell RH, et al. The prevalence of antibody to hepatitis A antigen in various parts of the world. *Am J Epidemiol* 1977; 106: 391-398.
36. Gust ID, Lehmann NI, Dimitrikakis MA. A seroepidemiologic study of infection with HAV and HBV in five Pacific islands. *Am J Epidemiol* 1979; 110: 237-242.



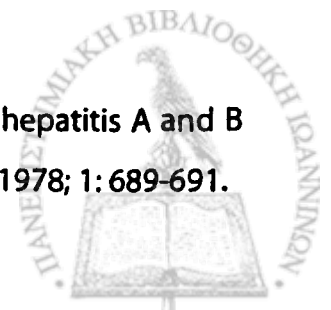
37. Frösner GG, Papaevangelou G, Butler R, et al. Antibodies against hepatitis A in different European countries. I. Comparison of prevalence data in different age groups. *Am J Epidemiol* 1979; 110: 70-76.
38. Holland P, Golosova T, Szmuness W, et al. Viral hepatitis markers in Soviet and America blood donors. *Transfusion* 1980; 20: 504-510.
39. Szmuness W, Dienstag JL, Purcell RH, et al. Distribution of antibody to hepatitis A antigen in urban adult populations. *N Engl J Med* 1976; 295: 755-759.
40. Lange W, Masihi KN. Virushepatiden. Zur Epidemiologies der Hepatitis A in Bernil (West). *Bundesgesundheitsblatt* 1982; 25: 265-272.
41. Gust IA, Feinstone SM. Hepatitis A. In: *Progress in Liver Disease. Vol IX.* Popper H, Saffner F, eds. Saunders 1990: 371-390.
42. Shapiro CN, Coleman PJ, McQuillan GM, Alter MJ, Margolis HS. Epidemiology of hepatitis A: seroepidemiology and risk groups in the USA. *Vaccine* 1992; 10(Suppl 1): S58-S59.
43. Skinhoj P, Mikkelsen F, Hollinger FB: Hepatitis A in Greenland: importance of specific antibody testing in epidemiologic surveillance. *Am J Epidemiol* 1977; 105: 140-147.
44. Wong DC, Purcell RH, Rosen L. Prevalence of antibody to hepatitis A and B viruses in selected populations in the South Pacific. *Am J Epidemiol* 1979; 110: 227-236.
45. Papaevangelou G, Roumeliotou-Karayannis A, Contoyannis P. Changing epidemiology of viral hepatitis in Greece. *Infection* 1982; 10: 1-4.
46. Kremastinou J, Kalapothaki V, Trichopoulos D. The changing epidemiologic pattern of hepatitis A infection in urban Greece. *Am J Epidemiol* 1984; 120: 703.
47. Μπασούκου-Μαμάση Π, Σταματοπούλου Γ, Τσάνταλη Χ, Δανιηλίδης Δ. Οροεπιδημιολογική μελέτη του επιπολασμού της ηπατίτιδας τύπου Α στη Βόρειο Ελλάδα. *Δελτ. Ελλ. Μικροβιολογικής Εταιρείας* 1990; 35: 110-117.
48. Papaevangelou G. Epidemiology of hepatitis A in Mediterranean countries. *Vaccine* 1992; 10(Suppl 1): S63-S66.



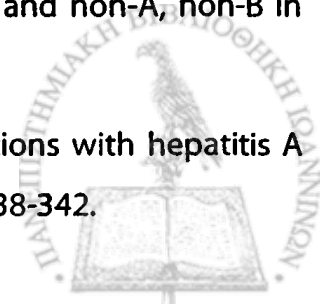
49. Αρβανιτίδου Μ, Ρουμελιώτου Α, Γρηγοριάδου Α, Χράπαλου Κ, Παπαευαγγέλου Γ. Μελέτη του επιπολασμού της Ηπατίτιδας Α στην Ελλάδα. Δελτ. Ελλ. Μικροβιολογικής Εταιρείας 1989; 34: 365-371.
50. Νικολάου Α, Μανωλάκου Κ, Καψάλη Ε, και συν. Η ηπατίτιδα μείζον πρόβλημα στους αθίγγανους της Αττικής. Αρχ. Ελλ. Ιατρικής 1995; 12(2): 138-141.
51. Gust ID. Epidemiological patterns of hepatitis A in different part of the world. Vaccine 1992; 10(Suppl 1): S56-S58.
52. Κρεμαστινού Τ. Επιδημιολογία ηπατίτιδας Α. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 1988; 5: 126-128.
53. Latham RH, Schable CA: Foodborne hepatitis A at a family reunion: use of IgM-specific hepatitis A serologic testing. Am J Epidemiol 1982; 115: 640-645.
54. Tassopoulos N, Roumeliotou-Karayannis A, Sakka M, et al. An epidemic of hepatitis A in an institution for young children. Am J Epidemiol 1987; 125: 302-307.
55. Villarejos VM, Serra J, Anderson-Visona K, Holsey JW. Hepatitis A in households. Am J Epidemiol 1982; 115: 577-586.
56. Τασσόπουλος Ν, Παπαευαγγέλου Γ, Σακκά Μ, Καλαφάτης Π, Σιόντη Ε, Purcell R. Απέκκριση του ιού της ηπατίτιδας Α στα κόπρανα αρρώστων με σποραδική τύπου Α ηπατίτιδα. Materia Medica Greca 1986; 14: 71-76.
57. Belshe RB: Textbook of human virology. 2nd ed. Mosby-Year Book, Inc, 1991; 498-513.
58. Hillis WD. An outbreak of infectious hepatitis among chimpanzee handlers at a United States air force base. Am J Hyg 1961; 73: 316-328.
59. Dienstag JL, Feinstone SM, Kapikian AZ, et al. Fecal shedding of hepatitis A antigen. Lancet 1975; i: 765.
60. Dienstag JL. Immune electron microscopy and hepatitis A. Lancet 1975; i: 102.
61. Capps RB, Bennett AM, Stokes J Jr. Epidemic infectious hepatitis in an infant's orphanage. I. Epidemiologic studies in student nurses. Arch Int Med 1952; 89: 6-23.
62. Clark W, Sacks D, Williams H. Outbreak of infectious hepatitis in college campus. Am J Trop Med Hyg 1958; 7: 268-279.



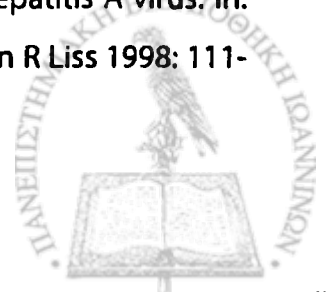
63. Bothwell PW, Martin D, Macara AW, et al. Infectious hepatitis in Bristol (1959-1962). *Br Med J* 1963; 2: 1613-1617.
64. Hadler SL: Global impact of HAV: changing patterns. 1990 International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, Houston, April 4-8, 1990.
65. Morse LJ, Bryan JA, Hurley JP, et al. The Holy Cross College football team hepatitis outbreak. *JAMA* 1972; 219: 706-708.
66. Murphey WJ, Petrie LM, Work SD Jr: Outbreak of infectious hepatitis apparently milkborne. *Am J Public Health* 1946; 36: 169-173.
67. Hooper RR, Jules CW, Routenberg JA, et al. An outbreak of type A viral hepatitis at the naval training center. San Diego: Epidemiologic Evaluation. *Am J Epidemiol* 1977; 105: 148-155.
68. Chaudhuri AKR, Cassie G, Silver M: Outbreak of foodborne type A hepatitis in greater Glasgow. *Lancet* 1975; 2: 223.
69. Schoenbaum SC, Baker O, Jezek Z: Common-source epidemic of hepatitis due to glazed and ice pastries. *Am J Epidemiol* 1976; 104: 74-80.
70. Zachoval R, Frösner G, Deinhardt F, John I: Hepatitis A transmission by cold meats. *Lancet* 1981; 2: 260.
71. Tassopoulos NC, Papaevangelou GJ, Ticehurst JR, Purcell RH. Fecal excretion of Greek strains of hepatitis A virus in patients with hepatitis A and in experimentally infected chimpanzees. *J Infect Dis* 1986; 154: 231-237.
72. Dougherty W, Altman R. Viral hepatitis in New Jersey 1960-1961. *Am J Med* 1962; 32: 704-716.
73. Centers for Disease Control. Water-related disease outbreaks surveillance. Annual Summary. CDC, Atlanta, GA 1978: 1.
74. Barbara JA, Howell DR, Briggs M. Posttransfusion hepatitis A. *Lancet* 1982; i: 738.
75. Noble RC, Kane MA, Reeves SA, et al. Posttransfusion hepatitis A in a neonatal intensive care unit. *JAMA* 1984; 252: 2711.
76. Papaevangelou G, Frosner GG, Economidou J, et al. Prevalence of hepatitis A and B virus infection in multiply transfused thalassemic patients. *Br Med J* 1978; 1: 689-691.



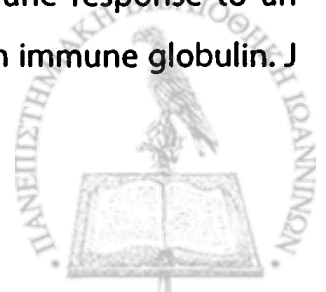
77. Stevens CE, Silbert JA, Miller DR, et al. Serologic evidence of hepatitis A and B virus infection in thalassemia patients: a retrospective study. *Transfusion* 1978; 18: 94-98.
78. Prowse C, Follett E, Prince A. Hepatitis A virus transmission by blood products: proceedings of a symposium held at the New York Blood Center. *Vox Sang* 1993; 67(Suppl 1): 1-10.
79. Szmuness W, Purcell RH, Dienstag JL, et al. Antibody to hepatitis A antigen in institutionalized mentally retarded patients. *JAMA* 1977; 237: 1702-1705.
80. Tabor E, Jones R, Gerety RJ, et al. Asymptomatic viral hepatitis types A and B in an adolescent population. *Pediatrics* 1979; 62: 1026-1030.
81. Mosley JW. The epidemiology of viral hepatitis: An overview. *Am J Med Sci* 1975; 270: 253-270.
82. Mathiesen LR. The hepatitis A virus infection. *Liver* 1981; 1: 81-109.
83. Norkrans G, Nilsson LA, Frösner G, et al. Serum immunoglobulin levels in hepatitis non-A, non-B: A comparison with hepatitis A and B. *Infection* 1980; 8: 98-100.
84. Mathiesen LR, Skinhoj P, Hardt F, et al. Epidemiology and clinical characteristics of acute hepatitis type A, B and non-A, non-B. *Scand J Gastroenterol* 1979; 14: 849-856.
85. Krugman S, Ward R, Giles JP. The natural history of infectious hepatitis. *Am J Med* 1962; 32: 717-728.
86. Routenberg JA, Dienstag JL, Harrison WO, et al. A food borne epidemic of hepatitis A virus (HAV) infection among navy recruits. Abstract. *Gastroenterology* 1975; 69: 859.
87. Wachter WEC, Riordan JF, Snodgrass PJ, et al. The Holy Cross hepatitis outbreak. Clinical and biochemical abnormalities. *Arch Intern Med* 1972; 130: 357-360.
88. Routenberg JA, Dienstag JL, Harrison WO, et al. Foodborne outbreak of hepatitis A: clinical and laboratory features of acute and protracted illness. *Am J Med Sci* 1979; 278: 123-137.
89. Mathiesen LR, Skinhoj P, Nielsen JO, et al. Hepatitis type A, B and non-A, non-B in fulminant hepatitis. *Gut* 1980; 21: 72-77.
90. Drucher J, Tabor E, Gerety RJ, et al. Simultaneous acute infections with hepatitis A and hepatitis B viruses in a chimpanzee. *J Infect Dis* 1979; 139: 338-342.



91. Hindman SH, Maynard JE, Bradley DW, et al. Simultaneous infection with type A and B hepatitis viruses. *Am J Epidemiol* 1977; 105: 135-139.
92. Papaevangelou G, Tassopoulos N, Roumeliotou-Karayannis A, et al. Etiology of fulminant viral hepatitis in Greece. *Hepatology* 1984; 4: 369-372.
93. Τασσόπουλος Ν, Μουσούλης Γ, Καραμηνάς Σ. Ιός σαν κεραυνοβόλος ιογενής ηπατίτιδα Α σε ενήλικα. *Ιατρική* 1983; 43: 85-87.
94. Decker RH, Overby LR, Ling C-M, et al. Serological studies of transmission of hepatitis A in humans. *J Infect Dis* 1979; 139: 74-82.
95. Zachoval R, Kroener M, Brommer M, et al. Serology and infection production during the early phase of acute hepatitis A. *J Infect Dis* 1990; 161: 353-354.
96. Frösner GG, Scheid R, Wolf H, et al. Immunoglobulin M anti-hepatitis A virus determination by reorienting gradient centrifugation for diagnosis of acute hepatitis A. *J Clin Microbiol* 1979; 9: 476-478.
97. Roggendorf M, Frösner GG, Deinhardt F, et al. Comparison of solid phase test systems for demonstrating antibodies against hepatitis A virus (anti-HAV) of the IgM class. *J Med Virol* 1980; 5: 47-62.
98. Rakela J, Stevenson D, Edwards VM, et al. Antibodies to hepatitis A virus: patterns by two procedures. *J Clin Microbiol* 1977; 5: 110-111.
99. Krugman S, Friedman H, Lattimer C. Viral hepatitis type A. Identification by specific complement fixation and immune adherence tests. *N Engl J Med* 1975; 292: 1141-1143.
100. Locarnini SA, Coulepis AG, Kaldor J, et al. Coproantibodies in hepatitis A: detection by enzyme-linked immunosorbent assay and immune electron microscopy. *J Clin Microbiol* 1980; 11: 710-716.
101. Frösner GG, Overby LR, Flehmig B, et al. Seroepidemiological investigation of patients and family contacts in an epidemic of hepatitis A. *J Med Virol* 1977; 1: 163-173.
102. Villarejos VM, Hu R, Visona KA. Persistence and reinfection with hepatitis A virus. In: Zuckerman AJ (ed). *Viral Hepatitis and Liver Disease*. New York, Alan R Liss 1998: 111-112.



103. Frösner GG, Gauss-Müller V, Siegl G, et al. Adaption of human hepatitis A virus to growth in tissue culture and development of chronic persistent infection. In: Szmuness W, Alter HJ, Maynard JE eds. Viral hepatitis. 1981 International Symposium. Philadelphia, Franklin Institute Press, 1982: 803-804.
104. Vallbracht A, Gabriel P, Maier K, et al. Cell-mediated cytotoxicity in hepatitis A virus infection. *Hepatology* 1986; 6: 1308-1314.
105. Vallbracht A, Maier K, Stierhof Y-D, et al. Liver-derived cytotoxic T cells in hepatitis A virus infection. *J Infect Dis* 1989; 160: 209-217.
106. Boggs JD, Melnick JL, Conrad ME. Viral hepatitis: clinical and tissue culture studies. *JAMA* 1970; 214: 1041-1044.
107. Krugman S. Effect of human immune serum globulin on infectivity of hepatitis A virus. *J Infect Dis* 1976; 134: 70-74.
108. Mosley JW, Reisler DM, Bachott D et al. Comparison of two lots immune serum globulin for prophylaxis of infectious hepatitis. *Am J Epidemiol* 1968; 87: 539-550.
109. Immunization Practices Advisory Committee. Immune globulins for protection against viral hepatitis. *MMWR* 1981; 30:423-435.
110. Lim WL, Yeoh EK. Hepatitis A vaccination. *Lancet* 1992; i: 304.
111. Horng YC, Chang MH, Lee CY, et al. Safety and immunogenicity of hepatitis A vaccine in healthy adult volunteers. *J Gastroenterol Hepatol* 1993; 8: 338-341.
112. Hilleman MR, Calandra GB, Hesley TM, et al. Vaccines against hepatitis A and B. *J Gastroenterol Hepatol* 1993; 8: 521-526.
113. Tilzey AJ, Palmer SJ, Barrow S, et al. Clinical trial with inactivated hepatitis A vaccine and recommendations for its use. *Br Med J* 1992; 304: 1272-1276.
114. Muller R, Bock HL, Clemens R, Jilg W. Active immunization against hepatitis A. *Deutsche Med Wochenschrift* 1993; 118: 1101-1104.
115. Green MS, Cohen D, Lerman Y, et al. Depression of the immune response to an inactivated hepatitis A vaccine administered concomitantly with immune globulin. *J Infect Dis* 1993; 168: 740-743.



116. Robinson WS. Genetic variation among hepatitis B and related viruses. *Ann NY Acad Sci* 1980; 354: 371-378.
117. Summers J, Smolec JM, Snyder R. A virus similar to human hepatitis B virus associated with hepatitis and hepatoma in woodchucks. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 4533-4537.
118. Marion PL, Oshiro LS, Regnery DC, et al. A virus in Beechey ground squirrels which is related to hepatitis B virus in man. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 2941-2945.
119. Bayer ME, Blumberg BS, Wermer B. Particles associated with Australia antigen in the sera of patients with leukemia, Down's syndrome and hepatitis. *Nature* 1968; 218: 1057-1059.
120. Kim CY, Tilles JG. Purification and biophysical characterization of hepatitis B antigen. *J Clin Invest* 1973; 52: 1176-1186.
121. Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet* 1970; 1: 695-698.
122. Shimada T, Shihata T, Karasawa T, et al. Light microscopic localization of hepatitis B virus antigens in the human pancreas. *Gastroenterology* 1981; 81: 998-1005.
123. Di Bisceglie AM, et al. Hepatitis B virus replication within the human spleen. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 2850-2852.
124. Mason WS, Taylor JM. Experimental systems for the study of hepadnavirus and hepatitis delta virus infection. *Hepatology* 1989; 6: 635-645.
125. Lieberman HM, Tung WW, Shafritz DA. Splenic replication of hepatitis B in the chimpanzee chronic carrier. *J Med Virol* 1987; 21: 347-359.
126. Le Bouvier GL. The heterogeneity of Australia antigen. *J Infect Dis* 1971; 122: 671-675.
127. Carman WF, Zanetti AR, Karayiannis P, et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet* 1990; 336: 325-328.
128. Bancroft WH, Mundon FK, Russell PK. Detection of additional antigen determinants of hepatitis B antigen. *J Immunol* 1972; 109: 842-848.



129. Soulier JP, Courouce-Pauty AM: New determinants of hepatitis B antigen (Au or HB antigen). *Vox Sang* 1973; 25: 212-234.
130. Bradley DW, Mc Caustland KA, Cook EH, et al. Posttransfusion non-A, non-B hepatitis in chimpanzees: physicochemical evidence that the tubule-forming agent is a small, enveloped virus. *Gastroenterology* 1985; 88: 773-779.
131. Mosley JW, Edwards VM, Meihaus JE, et al. Subdeterminants d and y of hepatitis B antigen as epidemiologic markers. *Am J Epidemiol* 1972; 95: 529-535.
132. Halmosdi G, Vall D, Matkovics A. The changing subtypes of hepatitis B surface antigen in Hungary and the lack of correlation with severity and chronicity of the disease. *Infection* 1977; 5: 149-151.
133. Tiollais P, Pource C, Brechot C, et al. Biology of hepatitis B virus. *Science* 1981; 213: 406-410.
134. Tiollais P, Buendia MA, Brechot C, et al. Structure genetic organization and transcription of hepadna viruses. In: *Liver Hepatitis and Liver Disease: Proceedings of the International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease held at the Barbican Centre, London, May 26-28, 1987* (ed. Zuckerman AJ), 295. Alan R Liss Inc, New York, USA.
135. Schodel F, Weimer T, Will H. HBV: Molecular biology and immunology. *Biotest Bull* 1990; 4: 63-68.
136. Tiollais P, Pourcel C, Dejean A. The hepatitis B virus. *Nature* 1985; 317: 489-495.
137. Okamoto H, Imai M, Usuda S, et al. Hemagglutination assay of polypeptide coded by the pre-S region of hepatitis B virus with monoclonal antibody: correlation of pre-S polypeptide with the receptor for polymerized human serum albumin in serums containing hepatitis B antigens. *J Immunol* 1985; 134, 1212.
138. Ou JH, Loub O, Rutter WJ, et al. Hepatitis B virus gene function: the precore region targets the core antigen to cellular membranes and causes the secretion of the e antigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 1578-1582.



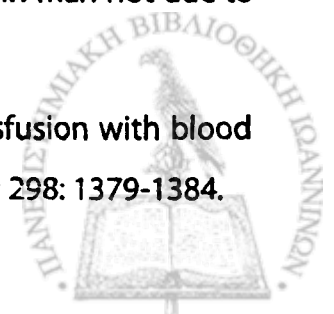
139. Standring DN, Ou JH, Masiarz FR, et al. A signal peptide encoded within the precore region of hepatitis B virus directs the secretion of a heterogeneous population of e antigens in *Xenopus* oocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 8405-8409.
140. Weimer T, Saefeld J, Weiel H, et al. Expression of the hepatitis B virus core gene in vitro and in vivo. *J Virol* 1987; 61: 3109-3112.
141. Ulrich PP, Bhat RA, Kelly I, et al. A precore-defective mutant of hepatitis B virus associated with e antigen-negative chronic liver disease. *J Med Virol* 1990; 32: 109.
142. Delius H, Gough NM, Cameron CH, et al. Structure of the hepatitis B virus genome. *J Virol* 1983; 47: 337.
143. Seto E, Yewrs TS, Peterlin BM, et al. Trans-activation of the human immunodeficiency virus long terminal repeat by the hepatitis B virus X protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 8286-8290.
144. Χατζηγιάννης ΣΙ, Schiff ER. Ιογενής ηπατίτιδα. Η αντιμετώπιση της χρόνιας ηπατίτιδας Β. Μονογραφία την για την Εταιρεία Schering-Plough International. Adelphi Communications Ltd, Cheshire, UK, 1992: 3.
145. Cattaneo R, Wiel H, Hernandez N, et al. Signals regulating hepatitis B surface antigen transcription. *Nature* 1983; 305: 336-341.
146. Treinin M, Laub O. Identification of a promoter element located upstream from the hepatitis B virus X gene. *Mol Cell Biol* 1987; 7: 545-550.
147. Edgington TS, Ritt DJ. Intrahepatic expression of serum hepatitis virus-associated antigens. *J Exp Med* 1971; 134: 871-874.
148. Murphy BL, Peterson M, Ebert JW, et al. Immunofluorescent localization of hepatitis B antigens in chimpanzee tissues. *Intervirology* 1975/1976; 6: 207-209.
149. Blum HE, Stowring L, Figus A, et al. Detection of hepatitis B virus DNA in hepatocytes, bile duct epithelium and vascular elements by in situ hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 6685-6688.
150. Howard CR, Burrell CJ. Structure and nature of hepatitis B antigen. *Prog Virol* 1976; 22: 36-41.



151. Darrel RW, Jacob GB. Hepatitis B surface antigen in human tears. *Arch Ophthal* 1978; 96: 674-676.
152. Heathcote J, Cameron CH, Dane DS. Hepatitis B antigen in saliva and semen. *Lancet* 1974; 1: 71-73.
153. Primack WA, Schoeneman M, Spitzer A, et al. Hepatitis B surface antigen in synovial fluid during chronic renal failure: A potential danger to medical personnel. *Transplant Proc* 1977; 9: 1673-1674.
154. Tripatzis I. Australia antigen in urine and feces. *Am J Dis Child* 1972; 123: 401-404.
155. Linneman CC, Goldberg S. HBsAg in breast milk. *Lancet* 1974; 2: 155-158.
156. Darani M, Gerber M. Hepatitis B antigen in vaginal secretions. *Lancet* 1974; 2: 1008-1012.
157. Gudat F, Bianchi L. Evidence for phasic sequences in nuclear HBsAg formation and membrane-directed flow of core particles in chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1977; 73: 1194-1197.
158. Yamada G, Sahamoto Y, Mizumo M, et al. Electron and immunoelectron microscopic study of Dane particle formation chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1982; 83: 348-351.
159. Hoofnagle JH, Michalak T, Nowoslawski A, et al. Immunofluorescence microscopy in experimentally induced, type B hepatitis in the chimpanzee. *Gastroenterology* 1978; 74: 182-186.
160. Mathiesen LR, Fauerholdt L, Moller AM, et al. Immunofluorescence studies for hepatitis A virus and hepatitis B surface and core antigen in liver biopsies from patients with acute viral hepatitis. *Gastroenterology* 1979; 77: 623-625.
161. Magnus LO, Espmark JA. New specificities in Australia antigen positive sera distinct from the Le Bouvier determinants. *J Immunol* 1972; 109: 1017-1021.
162. Takahashi K, Imai M, Miyakawa Y, et al. Duality of hepatitis B e antigen in serum of persons infected with hepatitis B virus: Evidence for the nonidentity of e antigen with immunoglobulins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75: 1952-1956.



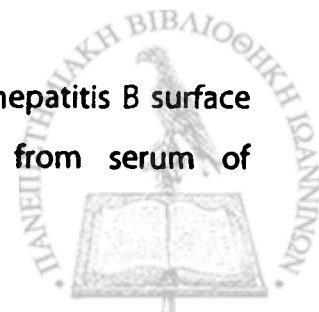
163. Takahashi K, Akabane Y, Gotanda T, et al: Demonstration of hepatitis B e antigen in the core of the Dane particles. *J Immunol* 1979; 122: 275-279.
164. Hindman SH, Gravelle CR, Murphy BL, et al: «e» antigen, Dane particles, and serum DNA polymerase activity in HBsAg carriers. *Ann Intern Med* 1976; 85: 458-460.
165. Beinman SV, Berris B, Sinclair JC, et al. e antigen and anti-e in HBsAg carriers. *Lancet* 1975; 2: 1173-1174.
166. Tabor E, Ziegler JL, Gerety RJ. Hepatitis B e antigen in the absence of hepatitis B surface antigen. *J Infect Dis* 1980; 141: 289-292.
167. *Diseases of the Liver, Seventh Edition*, L. Schiff and E.R. Schiff (eds). 1993, p. 504.
168. Hoofnagle JH, Gerety RI, Kaplan PM, et al. Antibody to hepatitis B core antigen: a sensitive indicator of hepatitis B virus replication. *N Engl J Med* 1974; 290: 1336-1340.
169. Krugman S, Overby LR, Mushahwar IK, et al. Viral hepatitis, type B: studies on natural history and prevention re-examined. *N Engl J Med* 1979; 300: 101-103.
170. Hoofnagle JH, Gerety RI, Smallwood LA, et al. Subtyping of hepatitis B surface antigen and antibody by radioimmunoassay. *Gastroenterology* 1977; 72: 290-293.
171. Perrillo RP, Chau KH, Overby LR, et al. Anti-hepatitis B core immunoglobulin M in the serologic evaluation of hepatitis B virus infection and simultaneous infection with type B, delta agent and non-A, non-B viruses. *Gastroenterology* 1983; 85: 163-165.
172. Sjogren MH, Lemon SM. Low molecular weight IgM antibody to hepatitis B core antigen in chronic infections with hepatitis B virus. *J Infect Dis* 1983; 148: 445-447.
173. Tsuda F, Nait OS, Takai E, et al. Low molecular weight (7S) immunoglobulin M antibody against hepatitis B core antigen in the serum for differentiating acute from persistent hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1984; 87: 159-163.
174. Tabor E, Gerety RI. Possible role of immune response to hepatitis B core antigen in protection against hepatitis B infections. *Lancet* 1984; 1: 172-175.
175. Coursaget P, Yronnet B, Bourdie C, et al. HBsAg positive reactivity in man not due to hepatitis B virus. *Lancet* 1987; 2: 1354-1358.
176. Hoofnagle JH, Seeff LB, Boles ZB, et al. Type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. *N Engl J Med* 1978; 298: 1379-1384.



177. Huang SN. Structural and immunoreactive characteristics of hepatitis B core antigen. *Am J Med Sci* 1975; 270: 131-135.
178. McMahon BJ, Parkinson AJ, Helminiak C, et al. Response to hepatitis B vaccine of persons positive for antibody to hepatitis B core antigen. *Gastroenterology* 1992; 103: 590-594.
179. Berquist KR, Magnard JE, Murphy BL, et al. Infectivity of serum containing HBsAg and antibody to e antigen. *Lancet* 1976; 1: 1026-1030.
180. Schwitzer IL, Edwards YM, Brezina M, et al. e antigen in HBsAg carrier mothers. *N Engl J Med* 1975; 293: 940-945.
181. Takahashi K, Miyakawa Y, Gotanda T, et al. Shift from free «small» hepatitis B e antigen to IgG-bound «large» form in the circulation of human being and a chimpanzee acutely infected with hepatitis B virus. *Gastroenterology* 1979; 77: 1193-1195.
182. Krugman S, Giles JP. Viral hepatitis, type B (MS-2 strain): further observations on natural history and prevention. *N Engl J Med* 1973; 288: 755-759.
183. Almeida JD, Waterson AP. Immune complexes in hepatitis. *Lancet* 1969; 2: 983-987.
184. Alpert E, Isselbacher KJ, Schur PH, et al. The pathogenesis of arthritis associated with viral hepatitis complement-component studies. *N Engl J Med* 1971; 285: 185-187.
185. Ogra PL. Immunologic aspects of hepatitis-associated antigen and antibody in human body fluids. *J Immunol* 1973; 110: 1197-1200.
186. Barker LF, Peterson MR, Shulman NR, et al. Antibody responses in viral hepatitis type B. *JAMA* 1973; 223: 1005-1009.
187. Lander JJ, Giles JP, Purcell RH, et al. Viral hepatitis B (MS-2 strain) detection of antibody after primary infection. *N Engl J Med* 1971; 285: 303-306.
188. Χατζηγιάννης Σ, Schiff ER. Ιογενής ηπατίτιδα: η αντιμετώπιση της χρόνιας ηπατίτιδας B. Μονογραφία για την Εταιρεία Schering-Plough International. Adelphi Communications Ltd, Cheshire, UK, 1992: 569.



189. Stevens CE, Neurath RA, Beasley RP, et al. HBeAg and anti-HBe detection by radioimmunoassay. Correlation with vertical transmission of hepatitis B virus in Taiwan. *J Med Virol* 1979; 3: 237-241.
190. Xu ZY, Liu CB, Francis DP, et al. Prevention of perinatal acquisition of hepatitis B virus carriage using vaccine: preliminary report of a randomized, double-blind placebo-controlled and comparative trial. *Pediatrics* 1985; 76: 713-718.
191. Hyams KC, Osman NM, Khaled EM, et al. Maternal-infant transmission of hepatitis B in Egypt. *J Med Virol* 1988; 24: 191-197.
192. Mosley JW. Hepatitis B virus infection in dentists. *N Engl J Med* 1975; 293: 729-732.
193. Zachoral R, Frosner G, Demhardt F, et al. Persistence of hepatitis B virus antigen in dried blood. *Lancet* 1981; 1: 778-781.
194. Stornello C. Transmission of hepatitis B via human bite (Letter). *Lancet* 1991; 338: 1024-1027.
195. Alter HJ, Holland PV, Purcell RH, et al. Post-transfusion hepatitis after exclusion of commercial and hepatitis B antigen-positive donors. *Ann Intern Med* 1972; 69: 691-699.
196. Barker LF, Murray R. Relationship of virus dose to incubation time of clinical hepatitis and time of appearance of hepatitis-associated antigen. *Am J Med Sci* 1972; 263: 27-33.
197. Trepo CG, Prince AM. Absence of complete homologous immunity in hepatitis B infection after massive exposure. *Ann Intern Med* 1976; 85: 427-430.
198. Reinicke V, Dybkjaer E, Poulsen H, et al. A study of Australia-antigen-positive blood donors and their recipients with special reference to liver histology. *N Engl J Med* 1972; 286: 867-870.
199. Gerety RJ, Tabor E, Hoofnagle JH, et al. Tests of HBV-associated antigen and antibodies. In Vyas GN, Cohen SN, Schmid R (eds) *Viral Hepatitis: Etiology, Epidemiology, Pathogenesis and Prevention*. Philadelphia, Franklin Institute Press, 1978: 121-123.
200. Ackerman Z, Gazitt Y, Wands JR, et al. Unmasking of circulating hepatitis B surface antigen (HBsAg) following removal of immune complexes from serum of



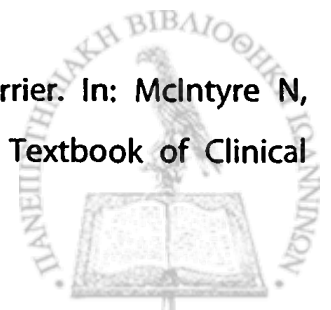
- hepatocellular carcinoma. In: Zuckerman AJ (ed): Viral hepatitis and Liver Disease. New York, Alan R Liss, 1988: 783-785.
201. Holland PV. Available methods to further reduce post-transfusion hepatitis. In: Samuness W, Alter HJ, Maynard JE (eds): Viral Hepatitis: 1981 International Symposium. Philadelphia, Franklin Institute Press 1982: 563-571.
202. Schifman RB, Rivers SL, Sampliner RE, et al. Significance of isolated B core antibody in blood donors. Arch Intern Med 1993; 153: 2261-2264.
203. Wang JT, Wang TH, Sheu JC, et al. Detection of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in plasma of volunteer blood donors negative for hepatitis B surface antigen. J Infect Dis 1991; 163: 397-400.
204. Douglas DD, Taswell HF, Rakela J, et al. Absence of hepatitis B virus DNA detected by polymerase chain reaction in blood donors who are hepatitis B surface antigen negative and antibody to hepatitis B core antigen positive from a United States population with low prevalence of hepatitis B serologic markers. Transfusion 1992; 33:212-216
205. Scully JH, Sung H, Pennie R, et al. Detection of hepatitis B virus DNA in the serum of Canadian hepatitis B surface antigen negative, anti-HBc positive individuals using the polymerase chain reaction. J Med Virol 1994; 44(3): 293-297.
206. Aach RD, Alter JH, Hollinger FB, et al. Risk of transfusion blood containing antibody to hepatitis B surface antigen. Lancet 1974; 2: 190-193.
207. Rinker J, Galambos JT. Prospective study of hepatitis B in thirty-two inadvertently infected people. Gastroenterology 1981; 81: 686-691.
208. John TJ, Ninan GT, Rajagopalan MS, et al. Epidemic hepatitis B caused by commercial human immunoglobulin. Lancet 1979; 1: 1074-1076.
209. Szmuness W, Prince Am, Hirsch RL, et al. Familial clustering of hepatitis B infection. N Engl J Med 1979; 289: 1162-1166.
210. Wright RA. Hepatitis B and the HBsAg carrier. An outbreak related to sexual contact. JAMA 1975; 232: 717-721.



211. Bernuau G, Benhamou JP. Fulminant and subfulminant liver failure. In: Mc Intyre N, Benhamou J-P, Bircher J, Rizzetto M, Rodes J, eds. Oxford Textbook of Clinical Hepatology. Oxford: Oxford University Press, 1991: 923-942.
212. Dusheiko G, Hoofnagle JH. Hepatitis B. In: McIntyre N, Benhamou J-P, Bircher J, Rizzetto M, Rodes J, eds. Oxford Textbook of Clinical Hepatology. Oxford: Oxford University Press, 1991: 571-592.
213. Alberti A, Trenolada F, Fattocivh G, Bortolotti F, Realdi G. Virus replication and liver disease in chronic hepatitis B virus infection. Dig Dis Sci 1983; 28: 962-966.
214. Mondelli M, Mieli-Vergani G, Alberti A, et al. Specificity of T lymphocyte cytotoxicity to autologous hepatocytes in chronic HBV infection: evidence that T cells are directed against HBcAg expressed in hepatocytes. J Immunol 1982; 129: 2773-2778.
215. Magnus L. From subtypes to genotypes: a 25 year perspective on the genetic variability of the hepatitis B virus. Hepatitis Forum. Abbott Laboratories Educational Services, Firstquarter, 1994; 1.
216. Χατζηγιάννης Σ. Κλινική προσέγγιση χρόνιας ιογενούς ηπατίτιδας. 1ο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο Ηπατολογίας - Χρόνια Ηπατίτιδα - Πυλαία Υπέρταση. Εκδότης: Δ. Τσαντούλας, Αθήνα 1993: 144.
217. Sherlock S. Diseases of the Liver and Biliary System (8th Ed). Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1989.
218. Lucke B, Mallory T. The fulminant form of epidemic hepatitis. Am J Pathol 1946; 22: 687.
219. Lettau LA, McCarthy JG, Smith MH, et al. An outbreak of severe hepatitis due to delta and hepatitis B virus in parenteral drug abusers and their contacts. N Engl J Med 1987; 317: 1256-1262.
220. Carman WF, Fagan EA, Hadziyannis SJ, et al. Association of a precore genome variant of hepatitis B virus with fulminant hepatitis. Hepatology 1991; 14: 219-222.
221. Gimson AES, Tedder RS, White YS, et al. Serological markers in fulminant hepatitis B. GUT 1983; 24: 615-617.



222. Bernuau J, et al. Multivariate analysis of prognostic factors in fulminant hepatitis B. *Hepatology* 1986; 6: 648-651.
223. Dienstag JL, et al. Urticaria associated with acute viral hepatitis type B. *Ann Intern Med* 1978; 89: 34.
224. Cosgriff TM, Arnold WJ. Digital vasospasm and infarction associated with hepatitis B antigenemia. *JAMA* 1976; 235: 1362.
225. Hayman JM, Read WA. Some clinical observations on an outbreak of Jaundice following yellow fever vaccination. *Am J Med Sci* 1945; 209: 281.
226. Pittsley RA, et al. Acute hepatitis B simulating dermatomyositis. *JAMA* 1978; 239: 959.
227. Toda G, et al. Infantile papular acrodermatitis (Gianotti's disease): and intrafamilial occurrence of acute hepatitis B with jaundice: age dependency of clinical manifestations of hepatitis B virus infection. *J Infect Dis* 1978; 138: 211.
228. Fernandez B, McCarty DJ. The arthritis of viral hepatitis. *Ann Intern Med* 1971; 74: 207.
229. Wands JR, et al. The pathogenesis of arthritis associated with acute hepatitis B surface antigen-positive hepatitis: complement activation and characterization of circulating immune complexes. *J Clin Invest* 1975; 55: 930.
230. Apstein MD, et al. Neuropsychological dysfunction in acute viral hepatitis. *Digestion* 1979; 19: 349.
231. Ιογενείς Ηπατίτιδες. Νεώτερα δεδομένα. Ιατρική Εταιρεία Αθηνών. Δ.Χ. Τσαντούλας; Ηπατίτιδα Β. Φυσική ιστορία και θεραπεία. 1994: 86-100.
232. Brown JL, Carnam WF, Thomas HC. The clinical significance of molecular variation within the hepatitis B virus genome. *Hepatology* 1992; 15: 144-146.
233. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol* 1991; 13: 372-374.
234. Desmet VJL. Immunopathology of chronic viral hepatitis. *Hepatogastroenterol* 1991; 38: 14-21.
235. Hadziyannis SJ. Diagnostic flow chart in the hepatitis B carrier. In: McIntyre N, Benhamou J-P, Bricher J, Rizzetto M, Rodes J (eds). *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*. Oxford: Oxford University Press 1991: 599-605.



236. Villa E, Rubbiani L, Barchi T, et al. Susceptibility of chronic symptomless HBsAg carriers to ethanol-induced hepatic damage. *Lancet* 1982; 2: 1243-1244.
237. Foutch PG, et al. Concomitant hepatitis B surface antigen and antibody in thirteen patients. *Ann Intern Med* 1983; 99: 460.
238. Hadziyannis SJ, Hadziyannis AS, Dourakis S, Alexopoulou A, Horsch A, Hess G. Clinical significance of quantitative anti-HBc IgM assay in acute and chronic HBV infection. *Hepatogastroenterol* 1993; 40: 588-593.
239. Seeff LB, Koff RS. Evolving concepts of the clinical and serologic consequences of hepatitis B virus infection. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 11-22.
240. Hadziyannis S, Mericas GE, Afroudakis AP: Hepatitis associated antigens in chronic liver diseases. *Lancet* 1970; 2: 100.
241. Alberti A, Pontisso P. Hepatitis viruses as aetiological agent of hepatocellular carcinoma. *Ital J Gastroenterol* 1991; 23: 452-456.
242. Ozturk M, Bressac B, Puisieux A, et al. p53 mutation in hepatocellular carcinoma after aflatoxin exposure. *Lancet* 1991; 338: 1356-1359.
243. Shafritz DA, Shoural D, Sherman HI, Hadziyannis SJ, Kew MC. Integration of hepatitis B virus DNA into the genome of liver cells in chronic liver disease and hepatocellular carcinomas. *N Engl J Med* 1981; 305: 1067-1073.
244. Oliveri F, Brunetto MR, Actis GC, Bonino F. Pathobiology of chronic hepatitis virus infection and hepatocellular carcinoma. *Ital J Gastroenterol* 1991; 23: 498-502.
245. DeFrancis R, Meucci G, Vecchi M, et al. The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. *Ann Intern Med* 1993; 118: 191-194.
246. Popper H, Shafritz DA, Hoofnagle JH. Relation of the hepatitis B virus carrier state to hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1987; 7: 764-772.
247. Slagle BL, Zhou YZ, Birchmeier W, Scorsone KA. Detection of E-Cadherin gene in hepatitis B virus positive chinese hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 1993; 18: 752-762.



248. Scorsone KA, Zhou YZ, Butel JS, Stagle BL. P53 mutations cluster at codon 249 in hepatitis B virus-positive hepatocellular carcinomas from China. *Cancer Res* 1992; 52: 1653-1658.
249. Kim CM, Koike K, Saito I, Miyamura T, Jay G. HBx gene of hepatitis B virus induces liver cancer transgenic mice. *Nature* 1991; 351: 317-320.
250. Colombo M, DeFrancis R, Del Ninno E, et al. Hepatocellular carcinoma in Italian patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1991; 325: 675-680.
251. Weissberg JI, Andress LL, Smith CL, et al. Survival in chronic hepatitis B. An analysis of 379 patients. *Ann Intern Med* 1984; 101: 613-616.
252. Tsukuma H, Hiyama T, Tanaka S, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. *N Engl J Med* 1993; 328: 1797-1801.
253. Centers for Disease Control: Protection against viral hepatitis. Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP). *MMWR* 1990; 39(RR-2): 1-26.
254. Centers for Disease Control: Prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus: prenatal screening of all pregnant women for hepatitis B surface antigen. *MMWR* 1988; 32: 341-346.
255. Poovorawan Y, Sangpavat S, Pongpunglert W, et al. Longterm efficacy of hepatitis B vaccine to infants born to hepatitis B e antigen positive mothers. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11: 816-821.
256. Poovorawan Y, Sangpavat S, Pongpunglert W, et al. Comparison of a recombinant DNA hepatitis B vaccine alone or in combination with hepatitis B immunoglobulin for the prevention of perinatal acquisition of hepatitis B carriage. *Vaccine* 1990; 8(Suppl): 556-559.
257. American Academy of Pediatrics, Committee of Infectious Diseases: Universal hepatitis B immunization. *Pediatrics* 1992; 89: 795-800.
258. West DJ, Calandra GB, Ellis RW. Vaccination of infants and children against hepatitis B. *Ped Clin North Am* 1990; 37(3) 585-601.



259. Eagan EA, Tolley P, Smith HM, et al. Hepatitis B vaccine: Immunogenicity and follow-up including two year booster doses in high risk health care personnel in a London teaching hospital. *J Med Virol* 1987; 21: 49-56.
260. Hadler SC, Francis DP, Maynard JE, et al. Long term immunogenicity and efficacy of hepatitis B vaccine in homosexual men. *N Engl J Med* 1986; 315: 209-
261. Harrison TJ, Valliamai T, Hopes EA, et al. Hepatitis B virus antibody escape mutant from Singapore. *J Gastroenterol Hepatol* 1993; 8: 580-582.
262. Lau JYN, Alexander GJM, Alberti A. Viral hepatitis. *Gut* 1991; (Suppl): S47-S62.
263. Kruskall MS, Alper CA, Awdeh Z, et al. The immune response to hepatitis B vaccine in humans: inheritance patterns in families. *J Exp Med* 1992; 175: 495-502.
264. Del Canho R, Grosheide PM, Voogd M, et al. Immunogenicity of 20 mg of recombinant DNA hepatitis B vaccine in healthy neonates. A comparison of three different vaccination schemes. *J Med Virol* 1993; 41: 30-34.
265. Pearl KK, Ortiz AA, Pearl W: Efficacy of immunization with a combination of serum and recombinant hepatitis B vaccines. *Infect Control Hosp Epidemiology* 1993; 14: 476-478.
266. Ribera EF, Dutca AJ. Polyneuropathy associated with administration of hepatitis B vaccine. *N Engl J Med* 1983; 309: 614-
267. Goolsby LPG. Erythema nodosum after recombine HAZY hepatitis B vaccine. *N Engl J Med* 1989; 21: 1198-1199.
268. Rogenson SJ, Nye FJ. Hepatitis B vaccine associated with erythema nodosum and polyarthritis. *Br Med J* 1990; 301: 345-
269. Freid H, Conen D, Conzelmann M, Steinmann E. Uveitis after hepatitis B vaccination. *Lancet* 1987; ii: 631-632.
270. Halsey NA. Discussion of Immunization Practices Advisory Committee (American Academy of Pediatrics recommendation for universal hepatitis B vaccination). *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12: 446-449.
271. Anon A. Hepatitis B in WHO's EPI. *Lancet* 1992; 339: 610.



272. Niederau C, Heintges T, Lange S, et al. Long-term follow-up of HBeAg positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N Engl J Med*, 1996; 334: 1422-1427.
273. Bonino F. Management of anti-HBe positive chronic hepatitis. In: Mignet IP. *Progress in Hepatology*. Paris 1993: 55-61.
274. Hadziyannis S. Interferon alpha-2b treatment of HBeAg negative serum HBV-DNA positive chronic hepatitis B. *Br J Hepatol* 1990; 11: S.133-136.
275. Lampertico P, Ninno E, Manzin A, et al. A randomized-controlled trial of a 24-month course of interferon-alpha 2b in patients with chronic hepatitis B who had hepatitis B virus DNA without hepatitis B e antigen in serum. *Hepatology* 1997; 26: 1621-1625.
276. Hoofnagle JH, di Bisceglie AM. The treatment of chronic viral hepatitis. *N Engl J Med* 1997; 336: 347-356.
277. Zeuzem S, de Man RA, Honkoop P et al. Dynamics of hepatitis B virus infection in vivo. *J Hepatol* 1997; 27(3): 431-436.
278. Allen MI, Deslauriers M, Andrews CW et al. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. *Hepatology* 1998; 27: 1670-1677.
279. Farrel G. Hepatitis Be antigen seroconversion: effects of lamivudine alone or in combination with interferon alpha. *J Med Virol* 2000; 31(3): 374-379.
280. Yao GB. Management of hepatitis B in China. *J Med Virol* 2000; 61(3): 392-397.
281. Lok A. Current treatment options in chronic hepatitis B. AGA Postgraduate Course, May 20-21, 2000.
282. Lai CL, Chien RN, Leung NW, et al. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *N Engl J Med* 1998; 339: 61-68.
283. Dienstag JL, Schiff ER, Wright TI, et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. *N Engl J Med* 1999; 34: 1256-1263.
284. Schiff E, Cianciara J, Kowdley K et al. Durability of HBeAg seroconversion after lamivudine monotherapy in controlled phase II and III trials. International Lamivudine Investigator Group (Abstract). *Hepatology* 1988; 28: 163A.



285. Leung NWY, Lai CL, Chang P, et al. Three year lamivudine therapy in chronic HBV. *J Hepatology*, 1999; 30(Suppl 1): 59.
286. Schaim SW, Heathcote J, Cianciara J, et al. and International Lamivudine Study Group. Lamivudin and alpha interferon combination treatment in patients with chronic hepatitis B infection: a randomized trial.
287. Tassopoulos NC, Vopes R, Pastore G, et al. Efficacy in patients with hepatitis B e antigen negative/hepatitis B virus DNA positive (precore mutant) chronic hepatitis B. *Hepatology* 1999; 29: 889-896.
288. Tassopoulos NC, Vopes R, Pastore G, et al. Post lamivudine treatment follow-up of patients with HBeAg negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 1999; 30 (Suppl 1): 15.
289. Chayma K, Suzyki Y, Kobayashi M et al. Emergence and takeover of VMDD motif mutant hepatitis B virus during long-term lamivudin therapy and re-takeover by wild type after cessation of therapy. *Hepatology* 1998; 27: 1711-1716.
290. Liaw YF, Chien RN, Yeh CT, et al. Acute exacerbation and hepatitis B virus clearance after emergence of VMDD motif mutation during lamivudine therapy. *Hepatology* 1999; 30: 567-572.
291. Lai CL, Yen MF, Cheng CC, et al. An open comparative study of lamivudine and famciclovir in the treatment of chronic hepatitis B infection. *Hepatology* 1998; 4: 318A.
292. de Man RA, Habal F, Marcellin P, et al. And for the Fanciclovir Hepatitis B Study Group. A randomized placebo-controlled study on the efficacy of 12-month fanciclovir treatment in patients with chronic HBeAg+hepatitis. *J Hepatol* 1999; 30(Suppl 1); 59.
293. Perrilo R, Schiff E, Yoshida F, et al. Adefovir depivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. *Hepatol* 2000; 32: 129-134.
294. Malik AH. Chronic Hepatitis B virus infection treatment strategies for the next milenium. *Ann Int Med* 2000; 132: 723-731.
295. Chisary F, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathology. Springer Sermin Immunopathol 1995; 17: 261-281.



296. Thomas H. Requirements for new therapies in the management of chronic hepatitis B. In: Goals for the Management of Chronic Hepatitis B. Glaxo Wellcome Satellite Symposium, 16 April 1998.
297. Lai MMC, Hwang SB, Chao M. Significance of HD antigen in HDV replication (Abst). International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease. Tokyo 1993: 25-
298. Chao M, Hieh SY, Taylor Z. Role of two forms of HDV antigen evidence for a mechanism of self limiting genome replication. *J Virol* 1990; 64: 5066-5069.
299. Rizzetto M. The Delta agent. *Hepatology* 1981; 1: 127-131.
300. Rizzetto M, Ottobrelli A, Smedile A. Hepatitis delta infection and liver transplantation. *Progress in Hepatology*. JP Miguet, D. Dhumeaux (eds). John Libbey Eurotext, Paris 1993: 121-125.
301. Rizzetto M, Canese MG, Gerin JL, et al. Transmission of the hepatitis B virus-associated delta antigen to chimpanzees. *J Infect Dis* 1980; 141: 590-602.
302. Rizzetto M, Shih JWK, Gocke DJ, et al. Incidence and significance of antibodies to delta antigen in hepatitis B virus infection. *Lancet* 1979; 2: 986-990.
303. Smedile A, Lavarini C, Crivelli O, et al. Radioimmunoassay detection of IgM antibodies to the HBV-associated delta antigen: clinical significance in delta infection. *J Med Virol* 1982; 9: 131-138.
304. Lettau LA, Alfred HJ, Glew RH, et al. Nosocomial transmission of delta hepatitis. *Ann Intern Med* 1986; 104: 631-635.
305. Mijch AM, Barnes R, Crowe SM, et al. An outbreak of hepatitis B and D in butchers. *Scand J Infect Dis* 1987; 19: 179-184.
306. Zanetti RA, Tanzi E, Ferroni P, et al. Vertical transmission of the HBV associated delta agent. *Prog Clin Biol Res* 1983; 143: 127-132.
307. Bonino F, Caporaso N, Dentico P, et al. Familiar clustering and spreading of hepatitis delta virus infection. *J Hepatol* 1985; 1: 221-226.
308. Caredda F, Rossi E, Monforte AA, et al. An outbreak of delta agent among a group of drug addicts and their contacts. *J Infect Dis* 1984; 149: 286-287.



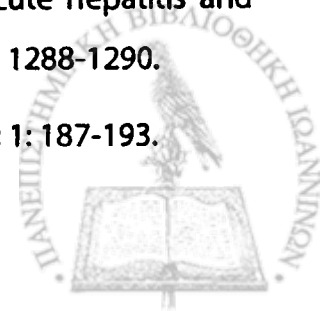
309. DeCock KM, Govindarajan S, Chin KP, et al. Delta hepatitis in the Los Angeles area: A report of 126 cases. *Ann Intern Med* 1986; 105: 108-114.
310. Raimondo G, Smedile A, Gallo L, et al. Multicenter study of prevalence of HBV associated delta infection and liver disease in drug addicts. *Lancet* 1982; 1: 249-251.
311. Jacobson IM, Dienstag JL, Werner BG, et al. Epidemiology and clinical impact of hepatitis D virus (delta) infection. *Hepatology* 1985; 5: 188-191.
312. Hershov RC, Chomel BB, Graham DR, et al. Hepatitis D virus infection in Illinois State facilities for the developmentally disabled: epidemiology and clinical manifestations. *Ann Intern Med* 1989; 109: 779-785.
313. Rosina F, Saracco G, Rizzetto M, et al. Risk of posttransfusion infection with the hepatitis delta virus. A multicenter study. *N Engl J Med* 1985; 312: 1488-1491.
314. Rizzetto M, Ponzetto A, Bonino F, et al. Hepatitis delta virus infection: clinical and epidemiological aspects. In: *Viral Hepatitis and Liver Disease: Proceedings of the International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, held at the Barbican Center, London, May 26-28, 1987*. Zuckerman AJ (ed). Alan R Liss Inc, New York, NY-USA, 1988.
315. Ponzetto A, Seef LB, Bushell-Bales Z, et al. Hepatitis B markers in United States drug addicts with special emphasis on the delta hepatitis virus. *Hepatology* 1984; 4: 1111-1115.
316. Polish LB, Gallagher M, Fields HA, et al. Delta hepatitis: molecular biology and clinical and epidemiological features. *Clin Microb Rev* 1993, 6: 211.
317. Rizzetto M, Verme G. Hepatitis D. In: McIntyre N, Benhamou J-P, Bircher J, Rodes J (eds). *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*. Oxford: Oxford University Press, 1991: 592-598.
318. Hadziyannis SJ, Hatzakis A, Papaioannou C, et al. Endemic hepatitis delta virus infection in a Greek community. *Prog Clin Biol Res* 1987; 234: 461-466.
319. Tassopoulos N, Sjogren M, Ticehurst J, et al. Significance of IgM antibody to hepatitis B core antigen in a Greek population with chronic hepatitis B virus infection. *Liver* 1986; 6: 275-280.



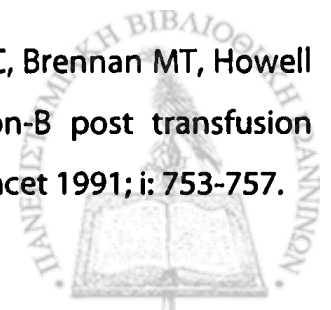
320. Roumeliotou-Karayannis A, Tassopoulos N, Karpodini E, et al. Prevalence of HBV, HDV and HIV infections among intravenous drug addicts in Greece. *Eur J Epidemiol* 1987; 3: 143-146.
321. Smedile A, Dentico P, Zanetti A, et al. Infection with the delta agent in chronic HBsAg carriers. *Gastroenterology* 1981; 81: 992-997.
322. Moestrup T, Hansson GB, Widell A, et al. Clinical aspects of delta infection. *Br Med J* 1983; 286: 87-90.
323. Tassopoulos NC, Papaevangelou GJ, Sjogren MH, et al. Natural history of acute hepatitis B surface antigen positive hepatitis in Greek adults. *Gastroenterology* 1987; 92: 1844-1850.
324. Smedile A, Farci P, Verme G, et al. Influence of delta infection on severity of hepatitis B. *Lancet* 1982; 2: 945-947.
325. Govindarajan S, Chin KP, Redekker AG, et al. Fulminant B viral hepatitis: Role of delta agent. *Gastroenterology* 1984; 86: 1417-1420.
326. Τασσόπουλος Ν, Ρουμेलιώτου-Καραγιάννη Α, Κολαΐτης Ν, Παπαευαγγέλου Γ. Κύρια χαρακτηριστικά και μορφές κεραυνοβόλου ιογενούς ηπατίτιδας στην Ελλάδα. *Ιατρική* 1983; 44: 233-239.
327. Τασσόπουλος Ν, Παπαευαγγέλου Γ. Κεραυνοβόλος ιογενής ηπατίτις. *Ιατρική* 1982; 42: 95-104.
328. Saracco G, Macaguo S, Rosina F, et al. Serologic markers with fulminant hepatitis in persons positive for hepatitis B surface antigen. A worldwide epidemiologic and clinical survey. *Ann Intern Med* 1988; 108: 1380-1383.
329. Farci P, Smedile A, Lavarini C, et al. Delta hepatitis in inapparent carriers of hepatitis B surface antigen. A disease stimulating acute hepatitis B progressive to chronicity. *Gastroenterology* 1983; 85: 669-673.
330. Purcell RH, Gerin JL, Rizzetto M, et al. Experimental transmission of the delta agent to chimpanzees. *Prog Natl Biol Res* 1983; 143: 79-89.



331. Colombo M, Cambieri R, Rumi MG, et al. Long-term delta super-infection in hepatitis B surface antigen carriers and its relationship to the course of chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1983; 85: 235-239.
332. Arico S, Aragona M, Rizzetto M, et al. Clinical significance of antibody to the hepatitis delta virus in symptomless HBsAg carriers. *Lancet* 1986; 2: 356-357.
333. Smedile A, Rizzetto M, Denniston K, et al. Type D hepatitis: the clinical significance of hepatitis D virus RNA in serum as detected by a hybridization-based assay. *Hepatology* 1986; 6: 1297-1302.
334. Farci P, Gerin JL, Aragona M, et al. Diagnostic and prognostic significance of the IgM antibody to the hepatitis delta virus. *JAMA* 1986; 255: 1443-1446.
335. Frommel D, Allain JR, Courouce AM, et al. Long-lasting abatement of HBsAg synthesis induced by acute delta infection. *Lancet* 1983; 1: 656-657.
336. Hadziyannis SJ, Sherman JM, Leiberman HM, et al. Liver disease activity and hepatitis B virus replication in chronic delta antigen positive hepatitis B virus carriers. *Hepatology* 1985; 5: 544-547.
337. Krogsgaard K, Kryger P, Aldershvile J, et al. Delta infection and suppression of hepatitis B virus replication in chronic HBsAg carriers. *Hepatology* 1987; 7: 12-15.
338. Tassopoulos N, Roumeliotou-Karayannis A, Papaevangelou G: Acute delta hepatitis and hepatitis B antigen carriage. *Ann Intern Med* 1986; 105: 804-805.
339. Rizzetto M, Verme G, Recchia S, et al. Chronic hepatitis in carriers of hepatitis B surface antigen, with intrahepatic expression of delta antigen. An active and progressive disease unresponsive to immunosuppressive treatment. *Ann Intern Med* 1983; 98: 437-441.
340. Rizzetto M, Purcell RH, Gerin JL. Epidemiology of HBV-associated delta agent: Geographical distribution of anti-delta and prevalence in polytransfused HBsAg carriers. *Lancet* 1980; 1: 1215-1218.
341. Craxi A, Raimondo G, Longo G, et al. Delta agent infection in acute hepatitis and chronic HBsAg carriers with and without liver disease. *Gut* 1984; 25: 1288-1290.
342. Rizzetto M, Verme G. Delta hepatitis: present status. *J Hepatol* 1985; 1: 187-193.



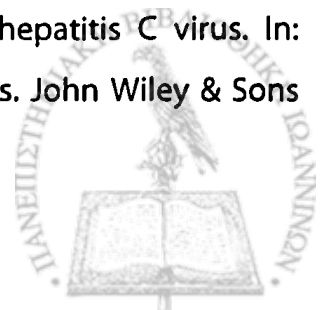
343. Chen D-S, Lai M-Y, Sung J-L. Delta agent infection in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma - An infrequent finding in Taiwan. *Hepatology* 1984; 4: 502-503.
344. Βαφειάδη-Ζουμπούλη Ε. Ηπατίτιδα Δέλτα: Φυσική ιστορία και θεραπεία. Στο: Ιογενείς Ηπατίτιδες. Νεώτερα Δεδομένα. Ιατρική Εταιρεία Αθηνών. Αθήνα 1994: 101-107.
345. Hadziyannis SJ. Delta antigen positive chronic liver disease in Greece: clinical aspects and natural course. *Prog Clin Biol Res* 1983; 143: 209-217.
346. Hadler SC, Monzon M, Ponzetto A, et al. Delta virus infection and severe hepatitis. An epidemic in the Yucpa Indians of Venezuela. *Ann Intern Med* 1984; 100: 339-344.
347. Dalekos GN, Galanakis E, Zervou E, et al. Interferon- α treatment of children with chronic hepatitis D virus infection: The Greek experience. *Hepato-Gastroenterology* 2000; 47: 1072-1076.
348. Rosina F, Pintus C, Rizzetto M, et al. Long term interferon treatment of chronic hepatitis D: A multicenter Italian study. *J Hepatol* 1990; 11: 149-150.
349. Virginia M, Werch J. Serum alanine aminotransferase of donors in relation to the risk of non-A, non-B hepatitis in recipients: the transfusion-transmitted viruses study. *N Engl J Med* 1981; 304: 989.
350. Alter HJ, Purcell RH, Holland PV, Ailing DW, Koziol DE. Donor transaminase and recipient hepatitis: impact on blood transfusion services. *J Am Med Associ* 1981; 246: 630-634.
351. Reesink HW, Van der Poel CL. Blood transfusion and hepatitis: still a threat? *Blut* 1989; 58: 1-6.
352. Alter HJ. Post-transfusion hepatitis: clinical features, risk and donor testing. In: *Infection, Immunity and Blood Transfusion*. RY Dold, LF Barker (eds). Ar Lis Inc, NY, 1985: 47-61.
353. Dienstag JL. Hepatitis non-A, non-B: Cat last. *Gastroenterology* 1990; 99: 1170-1180.
354. Contreras M, Barbara JAJ, Anderson CC, Ranasinghe E, Moore C, Brennan MT, Howell DR, Aloysius S, Yardumian A. Low incidence of non-A, non-B post transfusion hepatitis in London confirmed by hepatitis C virus serology. *Lancet* 1991; i: 753-757.



355. Japanese Red Cross non-A, non-B Hepatitis Research Group. Effect of screening for hepatitis C virus antibody and hepatitis B virus core antibody on incidence of post-transfusion hepatitis. *Lancet* 1991; ii: 1040-1041.
356. Dienstag JL, Alter JH. Non-A, non-B hepatitis: evolving epidemiologic and clinical perspective. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 67-81.
357. Esteban JI, Gonzalez A, Hernandez JM, Viladomiu L, et al. Hepatitis C virus in a study of transfusion associated hepatitis. *N Engl J Med* 1990; 323: 1107-1112.
358. Alter HJ. Transfusion-associated non-A, non-B hepatitis: the first decade in viral hepatitis and liver disease. Zucherman AJ (ed). Alan R. Liss, N.Y. 1988: 537-542.
359. Wood GM, Levy LJ, Losowsky MS, Cooke DI, Read AE, Hambling MH, Clarke SKR, Waight P, Polakoff S: Chronic liver disease. A case control study of the effect of previous blood transfusion. *Public health* 1989; 103: 105-112.
360. Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, Amy J, Overby, Lacy R, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-361.
361. Choo Q-L, Richman KH, Han JH, Berger K, Lee C, Dong C, et al. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1991; 88: 2451-2455.
362. Feinstone S. Hepatitis C virus. *Eur J Gastroenterol-Hepatol* 1991; 3: 572-579.
363. Han JH, Shymala V, Richman KH, Brauer MJ, Irvine B, Urdea MS, et al. Characterization of the terminal regions of hepatitis C viral RNA: identification of conserved sequences in the 5' untranslated region and poly(A) tails at the 3' end. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1991; 88: 1711-1715.
364. Takamizawa A, Mori C, Fuke I, Manabe S, Murakami S, Fujita J, et al. Structure and organization of the hepatitis C virus genome isolated from human carriers. *J Virol* 1991; 65: 1105-1113.
365. Ulrich PP, Romeo JM, Lane PK. Detection semiquantitation and genetic variation in hepatitis C virus sequences amplified from the plasma of blood donors with elevated alanine aminotransferase. *J Clin Invest* 1990; 86: 1609-1614.



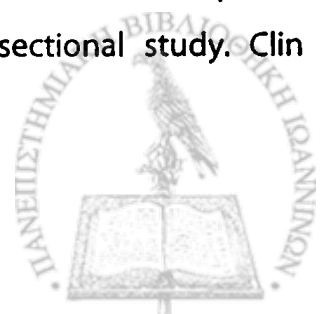
366. Dourakis S, Brown J, Kumar U, Karayiannis P, Kernoff P, Chiba J, et al. Serological response and detection of viraemia in acute hepatitis C infection. *J Hepatol* 1992; 14: 370-374.
367. Van der Poel CL, Bresters D, Reesink HW, et al. Early anti-hepatitis C virus response with second generation C200-C22 ELISA. *Vox Sang* 1992; 62: 208-211.
368. Houghton M, Weiner A, Han J, et al. Molecular biology of the hepatitis C viruses: implications for diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology* 1991; 14: 381-388.
369. Bonino F, Brunetto MR, Baldi M. Serology HCV. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991; 3: 580-584.
370. Speight G, Goia G, Parker MD, Westaway EG. Gene mapping and positive identification of the non-structural proteins NS2A, NS3, NS4B and NS5 of the flavivirus kunjin and their cleavage site. *J Gen Virol* 1988; 69: 23-34.
371. Falgout B, Chanock R, Lai C-. Proper processing of dengue virus non-structural glycoprotein NS1 requires the N-terminal hydrophobic signal sequence and the downstream non-structural protein NS2a. *J Virol* 1989; 63: 1852-1860.
372. Gorbalenya AE, Koonin EV, Donchenko AP, Blinov VM. Two related superfamilies of putative helicases involved in replication, recombination, repair and expression of DNA and RNA genomes. *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 4713-4730.
373. Weiner AJ, Brauer M, Rosenblatt J, Richman KH, Tung J, Crawford K, et al. Variable and hypervariable domains are found in the regions of HCV corresponding to the flavivirus envelope and NS1 proteins and the pestivirus envelope glycoprotein. *Virology* 1991; 180: 842-848.
374. Kato N, Hijikata M, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Ohkostii S, Sugimura T, et al. Molecular cloning of the human hepatitis C virus genome from Japanese patients with non-A, non-B hepatitis. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 9524-9528.
375. Maertens G, Stuyver L. Genotypes and genetic variation of hepatitis C virus. In: Zuckerman A, Harrison T, eds. *Molecular Medical Science Series*. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England, 1997: 183-233.



376. Χατζάκης Α. Γονότυποι και ορότυποι του ιού της ηπατίτιδας C (HCV). Στο: Ηπατίτιδα C. Χαζηγιάννης ΣΙ (εκδ). Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδη, Αθήνα 1994: 51-56.
377. Simmonds P. Variability of hepatitis C virus. *Hepatology* 1995; 21: 570-583.
378. Kyoto T-K, Kenjiro Y, Noboru M, et al. Antigenicities of group I and II hepatitis C virus polypeptides - molecular basis of diagnosis. *Virology* 1993; 192: 430-437.
379. Makris K, Kouvelis V, Drakopoulos I, Oikonomou E, Maniatis A. Frequency and characteristics of post-transfusion hepatitis in Greece with emphasis on hepatitis C: comparing second and third generation assays. *Transfusion Med* 1995; 5: 213-224.
380. Mozzi F, Rebullia T, Locatelli E, Contino G, Bellobuono A, Sirchia G, Antibody to hepatitis C virus in Italian thealassemics evaluation with second generation tests. Proceeding of the Third International Symposium on HCV. Strassbourg, France. September 1991: 90.
381. Locasciulli A, Gornati G, Tagger A, Ribero M. Hepatitis C virus infection and chronic liver disease in children with leukemia in long term remission. *Blood* 1991; 6: 1619-1622.
382. Πολίτη Κ, Βρεττου Ε, Richardson SC, Αθανασίου Μ, Μανίτσα Α, Σωφρονιάδου Κ, Δρόσου Μ, Χάνος Γ, Χασαποπούλου Ε, Λιακοπούλου Θ, Ζέϊκος Γ. Η ηπατίτιδα C στη μεσογειακή αναιμία. *Ιατρική* 1992; 61: 48-53.
383. Schreiber GB, Busch MP, Kleinman Sh, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N Engl J Med* 1996; 334: 1685-1690.
384. Vrieling H, Van der Poel CL, Reesink HW, Zaaijer HL, Lelie PN. Transmission of hepatitis C virus by anti-HCV-negative blood transfusion. Case Report. *Vox Sang* 1995; 68: 55-56.
385. Kitchen AD, Wallis PA, Gorman Am. Donor-to-donor and donor-to-patient transmission of hepatitis C virus. *Vox Sang* 1996; 70: 112-113.
386. Widell A, Elmud H, Persson MH, Jonsson M, Transmission of hepatitis C via both erythrocyte and platelet transfusions from a single donor in serological window-phase of hepatitis C. *Vox Sang* 1996; 71: 55-57.



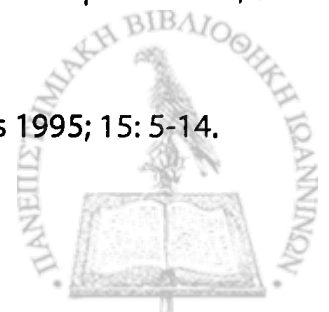
387. Mauser-Bunschoten EP, Bresters D, Van Driemelen AA, Roosenċaal G, et al. Hepatitis C infection and viremia in Dutch hemophilia patients. *J Med Virol* 1995; 45: 241-246.
388. Brettler DB, Alter HJ, Dienstag JL, Forsberg AD, Levine PH. Prevalence of hepatitis C virus antibody in a cohort of hemophilia patients. *Blood* 1990; 76: 254-256.
389. Blanchete VS, Vorstman E, Shore A, Wang E, et al. Hepatitis C infection in children with hemophilia A and B. *Blood* 1991; 78: 285-289.
390. Rumi MG, Colombo M, Gringeri A, Mannucci M. High prevalence of antibody to hepatitis C virus in multitransfused hemophiliacs with normal transaminase levels. *Ann Intern Med* 1990; 112: 379-380.
391. Makris M, Preston FE, Triger DR, Underwood JCE, Choo Q-L, Kuo G, Houghton M. Hepatitis C antibody and chronic liver disease in haemophilia. *Lancet* 1990; 335: 1117-1119.
392. Dittman S, Roggendorf M, Durkop J, Wiese M, Lorbeer B, Deinhardt F. Long-term persistence of hepatitis C virus antibodies in a single-source outbreak. *J Hepatol* 1991; 13: 323-327.
393. Power JP, Lawlor E, Davidson F, et al. Hepatitis C viremia in recipients of Irish intravenous anti-D immunoglobulin. *Lancet* 1994; 344: 1166-1167.
394. Hany M, Ryan A, Webster AD. Long-term safety and tolerability of intravenous immunoglobulin. *Lancet* 1991; 338: 194-195.
395. Healey CL, Sabharwal NK, Daub J, Davidson F, et al. Outbreak of acute hepatitis C following the use of anti-hepatitis C virus-screened intravenous immunoglobulin therapy. *Gastroenterology* 1996; 110: 1120-1126.
396. Dood RY. Hepatitis C virus antibodies and infectivity: paradox pragmatism and policy. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 4-10.
397. Fabrizi F, Lungtu G, Guarnori I, Raffaele L, et al. Virological characteristics of hepatitis C virus infection in chronic hemodialysis patients: a cross-sectional study. *Clin Nephrol* 1995; 44: 49-55.



398. Dussol B, Berthezene P, Brunet P, Roubicek C, Berland Y. Hepatitis C virus infection among chronic dialysis patients in the south of France. A collaborative study. *Am J Kidney Dis* 1995; 25: 399-404.
399. Simon N, Courouce AM, Lemarrec N, Trepo C, Ducamp S. A twelve year natural history of hepatitis C virus infection in hemodialyzed patients. *Kidney Int* 1994; 46: 504-511.
400. Gilli P, Siffritti S, De Paoli Vitali E, Bedani PL. Prevention of hepatitis C virus in dialysis units. *Nephron* 1995; 70: 301-306.
401. Fujiyama S, Kawano S, Sato S, Shimada H, et al. Changes in prevalence of anti-HCV antibodies associated with preventive measures among hemodialysis patients and dialysis staff. *Hepato-Gastroenterology* 1995; 42: 162-165.
402. Chan TM, Lok AS, Cheng IK, Chan RT. Prevalence of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: a longitudinal study comparing the results of RNA and antibody assays. *Hepatology* 1993; 17: 5-8.
403. Niu MT, Coleman PJ, Alter MJ. Multicenter study of hepatitis C virus infection in chronic hemodialysis patients and hemodialysis center staff members. *Am J Kidney Dis* 1993; 22: 568-573.
404. Λουίζου Κ, Λιλής Δ, Κραββαρίτης Α, Δουμάς Λ, Χατζηκωνσταντίνου Β. Αντισώματα έναντι του ιού της ηπατίτιδας C σε αιμοδιυλιζόμενους ασθενείς. *Ιατρική* 1992; 61: 76-79.
405. Μπολέτης Ι, Σταθάκης Χ, Μυριαγκού Β, Παπαστάθη Ε, Γούμενος Δ, Βαφειάδη Ε, Κωστάκης Α, Χατζάκης Α, Βοσνίδης Γ. Επιπολασμός αντισώματος έναντι του ιού της ηπατίτιδας C σε αιμοκαθαρόμενους και σε ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού. *Ιατρική* 1992; 61: 80-84.
406. Wreghitt TG, Gray JJ, Allam JP, Poulain J, et al. Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation in the United Kingdom. *J Hepatol* 1994; 20: 768-772.
407. Pereira BJ, Milford EL, Kirkman RL, Quan S, et al. Prevalence of hepatitis C virus RNA in organ donors positive for hepatitis C antibody and in recipients of their organs. *N Engl J Med* 1992; 327: 910-915.



408. Genesca J, Vila J, Cordoba J, Sauleda S, et al. Hepatitis C virus infection in renal transplant recipients: epidemiology, clinical impact, serological confirmation and viral replication. *J Hepatol* 1995; 22: 272-277.
409. Hsu HH, Wright TL, Tsao SC, Combs C, et al. Antibody response to hepatitis C virus infection after liver transplantation. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 1169-1174.
410. Norol F, Roche B, Girardin MF, Kuentz M, et al. Hepatitis C virus infection and allogenic bone marrow transplantation. *Transplantation* 1994; 57: 393-397.
411. Candinas D, Joller-Jemelka HI, Schlumpf R, Wicki A, Mutimer DJ, Keusch G, Largiader F. Hepatitis C RNA prevalence in a Western European organ donor pool and virus transmission by organ transplantation. *J Med Microbiol* 1994; 41: 220-223.
412. Tesi RJ, Waller K, Morgan CJ, Delaney S, et al. Transmission of hepatitis C by kidney transplantation: the risks. *Transplantation*; 1994; 57: 826-831.
413. Weinstein JS, Poterucha JJ, Zein N, Wiesner RH, Persing DH, Rakela J. Epidemiology and natural history of hepatitis C infection in liver transplant recipients. *J Hepatol* 1995; 22(Suppl 1): 154-159.
414. Wright TL, Donegan E, Hsu H, Ferrell L, et al. Recurrent and acquired hepatitis C virus infection in liver transplant recipients. *Gastroenterology* 1992; 103: 317-322.
415. Ho M. Hepatitis C virus. Another agent transmitted by transplanted organs. *N Engl J Med* 1992; 325: 507-509.
416. Pereira BJB, Milford EI, Kirkman RL, Levey AS. Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation. *N Engl J Med* 1991; 325: 454-460.
417. Esteban JI, Lopez-Talavera JC, Genesca J, Madoz P, et al. High rate of infectivity and liver disease in blood donors with antibodies to hepatitis C virus. *Ann Intern Med* 1991; 115: 443-449.
418. Chiaramonte M, Stroffolini T, Lorenzoni U, et al. Risk factors in community-acquired chronic hepatitis C virus infection: A case-control study in Italy. *J Hepatol* 1996; 24: 129-134.
419. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C in the West. *Semin Liver Dis* 1995; 15: 5-14.



420. Allander T, Gruber A, Naghavi M, et al. Frequent patient to patient transmission of hepatitis C virus in a haematology ward. *Lancet* 1995; 345: 603-607.
421. Esteban JI, Gomez J, Mortell M, Cabot B, et al. Transmission of hepatitis C virus by a cardiac surgeon. *N Engl J Med* 1996; 334: 555-560.
422. Esteban JI, Genesca J, Alter HJ. Hepatitis C: Molecular biology pathogenesis, epidemiology, clinical features and prevention. In: Boyer JL, Ockner Rk, eds. *Progress in Liver Disease*, Vol 10. Philadelphia: WB Saunders Co, 1992: 253-282.
423. Παπαθεωρίδης ΓΒ, Τασσόπουλος ΝΚ. Η επιδημιολογία του ιού της ηπατίτιδας C. *Ιατρική* 1993; 64: 504-508.
424. Νταλέκος ΓΝ, Μερκουρόπουλος Μ, Μαυρίδης Α, Ζερβού Ε, Μασαλάς Κ, Τσιάνος ΕΒ. Συχνότητα της ηπατίτιδας C σε τοξικομανείς. *Ιατρική* 993; 63: 51-54.
425. Seef LB. Hepatitis C from a needlestick injury. *Ann Intern Med* 1991; 115: 411.
426. Suzuki K, Mizokami M, Lau Jyn, et al. Confirmation of hepatitis C virus transmission through needlestick accident by molecular evolutionary analysis. *J Infect Dis* 1994; 170: 1575-1578.
427. Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E, Furuta S. Hepatitis C virus infection in health care workers. In: Nishioka K, Suzuki H, Mishiro S, Oda T, eds. *Viral Hepatitis and Liver Disease*. Tokyo, Springer-Verlag 1994: 479-482.
428. Puro V, Petrosillo N, Ippolito G, Aloisi MS, Boumis E, Rava L. Occupational hepatitis C virus infection in Italian health care workers. Italian Study Group on Occupational Risk of Blood-borne infections. *Am J Public Health* 1995; 85: 1272-1275.
429. Zuckerman J, Clewley G, Griffiths P, Cockcroft A. Prevalence of hepatitis C antibodies in clinical health care workers. *Lancet* 1994; 343: 1618-1620.
430. Mitsui T, Iwano K, Masuko K, Yamazaki C, et al. Hepatitis C virus infection in medical personnel after needlestick accident. *Hepatology* 1992; 16: 1109-1114.
431. Puro V, Petrosillo N, Ippolito G. Risk of hepatitis C seroconversion after occupational exposure in health care workers. Italian Group on Occupational Risk of Bloodborne Infections. *Am J Infect Control* 1995; 23: 273-277.



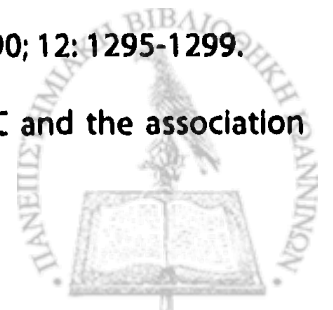
432. Gerberding JL. Incidence and prevalence of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, hepatitis C virus and cytomegalovirus among health care personnel at risk for blood exposure: final report from a longitudinal study. *J Infect Dis* 1994; 170: 1410-1414.
433. Patti AM, Santi AL, Pompa MG, Vescia N, et al. HCV and occupational hazard. Proceedings of the Third International Symposium on HCV. Strasbourg, France, September 1991: 88.
434. Panlilio AL, Shapiro CN, Schable CA, Mendelson MH, et al. Serosurvey of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and hepatitis C virus infection among hospital-based surgeons. *J Am Coll Surg* 1995; 180: 16-24.
435. Weber B, Rabenau H, Berger A, Schenermann EH, et al. Seroprevalence of HCV, HAV, HBV, HDV, CMV and HIV in high risk groups. *Int J Med Microb Virol Parasitol Infect Dis* 1995; 282: 102-112.
436. Peter-Trallero E, Gilla G, Alcorta M, Elosequi ME, Saenz-Dominguez JR. Low risk of acquiring the hepatitis C virus for the health personnel. *Med Clin (Barcelona)* 1992; 99: 609-611.
437. Ραπποπούλου-Γιγή Μ, Ζαραφείδου Ε, Ορφανού-Κουμερκερίδου Ε, Κυζιρίδης Ι, Τσακίρη Ι, Γουλής Γ. Επιπολασμός αντισωμάτων έναντι του ιού της ηπατίτιδας C και δεικτών λοιμώξεως με τον ιό της ηπατίτιδας Β σε νοσοκομειακό προσωπικό. *Ιατρική* 1992; 61: 104-106.
438. Klein RS, Freeman K, Taylor PE, Stevens CE. Occupational risk for hepatitis C virus infection among New York city dentists. *Lancet* 1991; 338: 1539-1542.
439. Ribero ML, Tagger A, Testori T, Nardi G, Grossi A, Mattana A, et al. Prevalence of HCV antibody among Italian dental practitioners. Proceedings of the Third International Symposium on HCV. Strasbourg, France, September 1991: 96.
440. Inoue Y, Miyamura T, Unayama T, Takahashi K, Saito I. Maternal transfer of HCV. *Nature* 1991; 353: 609-612.
441. Ohto H, Terzawa S, Sasaki N, et al. Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. *N Engl J Med* 1994; 330: 744-750.



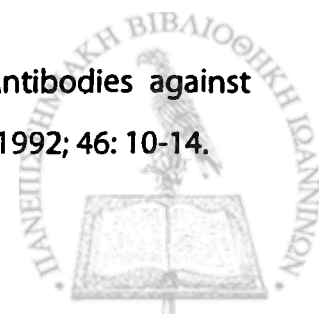
442. Lam JPH, McOmish F, Burns SM, et al. Infrequent vertical transmission of hepatitis C virus. *J Infect Dis* 1993; 167: 572-576.
443. Lin HH, Kao JH, Hsu HY, et al. Possible role of high titer maternal viremia in perinatal transmission of hepatitis C virus. *J Infect Dis* 1994; 169: 638-641.
444. Hsu HH, Wright TL, Luba D, Martin M, et al. Failure to detect hepatitis C virus genome in human secretions with the polymerase chain reaction. *Hepatology* 1991; 14: 763-767.
445. Ogasawara S, Kage M, Kosai KI, Shimamatsu K, Kojiro M. Hepatitis C virus RNA in saliva and breast milk of hepatitis C carrier mothers. *Lancet* 1993; 341: 561.
446. Thomas DL, Zenilman JM, Alter HJ, et al. Sexual transmission of hepatitis C virus among patients attending sexually transmitted diseases clinics in Baltimore. An analysis of 309 sex partnerships *J Infect Dis* 1995; 171: 768-775.
447. Chayama K, Kobayashi M, Tsubota A, Koida I, Arase Y, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H. Molecular analysis of intranspousal transmission of hepatitis C virus. *J Hepatol* 1995; 22: 431-439.
448. Meisel H, Reip A, Faltus B, et al. Transmission of hepatitis C virus to children and husbands by women infected with contaminated anti-D-immunoglobulin. *Lancet* 1995; 345: 1209-1211.
449. Brettler DB, Mannucci PM, Gringeri A, et al. The low risk of hepatitis C virus transmission among sexual partners of hepatitis C-infected hemophiliac males: an international multicentre study. *Blood* 1992; 80: 540-543.
450. Mortimer PP, Cohen BJ, Litton PA, et al. Hepatitis C virus antibody. *Lancet* 1989; 334: 798.
451. Βασιλοπούλου-Καδά Ε, Χατζάκης Α, Τασσόπουλος ΝΚ, Πολυχρονάκη Ε, Χατζηβασιλείου Μ, Στρατηγός Ι. Επιπολασμός αντισώματος ηπατίτιδας C (αντι-HCV) σε ομοφυλόφιλους άνδρες. *Ιατρική* 1992; 61: 68-71.
452. Donahue JG, Nelson KE, Munoz A, et al. Antibody to hepatitis C virus among cardiac surgery patients, homosexuals and intravenous drug users in Baltimore, Maryland. *Am J Epidemiol* 1991; 134: 1206-1211.



453. Osmond DH, Charlebois E, Sheppard HW, et al. Comparison of risk factors for hepatitis C and hepatitis B virus infection in homosexual men. *J Infect Dis* 1993; 167: 66-71.
454. Ρουμελιώτου Α, Κοτσιανοπούλου Μ, Παπουτσάκης Γ, Παπαευαγγέλου Γ. Σεξουαλική μετάδοση του HCV. *Ιατρική* 1992; 61: 72-75.
455. Alter MJ. Epidemiology of community-acquired hepatitis C. In: Hollinger FB, Lemon JM, Margolis H, eds. *Viral hepatitis and liver disease*. Baltimore: Williams & Wilkins: 1991: 410-413.
456. Mansell CJ, Locarnini SA. Epidemiology of hepatitis C in the East. *Semin Liver Dis* 1995; 15: 15-32.
457. Conry-Cathilena C, VanRaden MA, Gible J, Melpolder J, et al. Routes of infection, viremia and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1996; 334: 1691-1696.
458. Hopf U, Moller B, Kuther D, Stemerowicz R, et al. Long-term follow-up of post-transfusion and sporadic chronic hepatitis non-A, non-B and frequency of circulating antibodies to hepatitis C virus (HCV). *J Hepatol* 1990; 10: 69-79.
459. Sanchez-Tapias JM, Barrera J, Costa J, Ercilla MG, et al. Hepatitis C virus infection in patients with non alcoholic chronic liver disease. *Ann Intern Med* 1990; 112: 921-924.
460. Fattovich G, Tagger A, Brollo L, Giustina G, et al. Hepatitis C virus infection in chronic hepatitis B virus carriers. *J Infect Dis* 1991; 163: 400-402.
461. Fong TL, Di Bisceglie AM, Waggoner JG, Banks SM, Hoofnagle JH. The significance of antibody to hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1991; 14: 64-67.
462. Shih CM, Chen CM, Chen SY, Lee YH. Modulation of the trans-suppression activity of hepatitis C virus core protein by phosphorylation. *J Virol* 1995; 69: 1160-1171.
463. Pares A, Barrera JM, Caballeria J, et al. Hepatitis C virus antibodies in chronic alcoholic patients: association with severity of liver injury. *Hepatology* 1990; 12: 1295-1299.
464. Koff RS, Dienstag JL. Extrahepatic manifestations of hepatitis C and the association with alcoholic liver disease. *Semin Liver Dis* 1995; 15: 101-109.



465. Dalekos GN, Zervou E, Merkouropoulos MH, Tsianos EV. Prevalence of hepatitis B and C viruses infection in chronic alcoholics with or without liver disease in Ioannina - Greece. Low incidence of HCV infection. *Eur J Epidemiol* 1996; 12: 21-25.
466. Garson JA, Clewley JP, Simmonds P, Zhang LQ, et al. Hepatitis C viraemia in United Kingdom blood donors. A multicentre study. *Vox Sang* 1992; 62: 218-223.
467. Nordoy I, Schrupf E, Elgjo K, Flesland O, et al. Liver disease in anti-hepatitis C virus-positive Norwegian blood donors. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 77-81.
468. Dawson GJ, Lesniewski RR, Stewart JL, Boardway KM, et al. Detection of antibodies to hepatitis C virus in US blood donors. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 551-556.
469. Kleinman S, Alter HJ, Busch M, et al. Increased detection of hepatitis C virus (HCV)-infected blood donors by a multiple antigen HCV enzyme immunoassay. *Transfusion* 1992; 32: 805-813.
470. Bar-Shany S, Green MS, Slepion R, Shinar E. Ethnic differences in the prevalence of anti-hepatitis C antibodies and hepatitis B surface antigen in Israeli blood donors by age, sex, country of birth and origin. *J Viral Hepatitis* 1995; 1: 39-44.
471. Lai ME, Mazzoleni Ap, Farzi P, Melis A, et al. Markers of hepatitis C virus infection in Sardinian blood donors. *J Med Virol* 1993; 41: 282-288.
472. Ilako FM, McLigeyo SO, Riyat MS, Lule GN, Okoth FA, Kaptich D. The prevalence of hepatitis C virus antibodies in renal patients, blood donors and patients with chronic liver disease in Kenya. *East African Med J* 1995; 72(6): 362-364.
473. Luengrojanakul P, Vareesangthip K, Chainuvati T, Murata K, et al. Hepatitis C virus infection in patients with chronic liver disease or chronic renal failure and blood donors in Thailand. *J Med Virol* 1994; 44: 287-292.
474. Zhang YY, Guo LS, hao LJ, Hansson BG, Widell A, Nordenfelt E. Antibodies to hepatitis C virus and hepatitis C virus RNA in Chinese blood donors determined by ELISA, recombinant immunoblot assay and polymerase chain reaction. *Chin Med J* 1993; 106: 171-174.
475. Galban Garcia E, Padron G, Arus Soler E, Gonzalez O, et al. Antibodies against hepatitis C virus. Study in voluntary blood donors. *Cuba* 1991; *GEN* 1992; 46: 10-14.



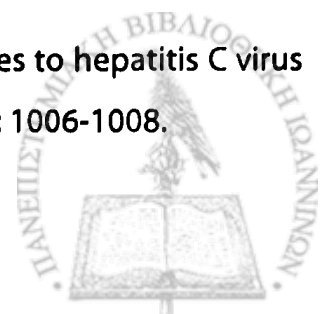
476. Frommel D, Tekle-Haimanot R, Berhe N, Aussel L, et al. A survey of antibodies to hepatitis C virus in Ethiopia. *Amer J Trop Med* 1993; 49: 435-439.
477. Watanabe J, Matsumoto C, Fujimura K, et al. Predictive value of screening tests for persistent hepatitis C virus infection evidenced by viremia. Japanese experience. *Vox Sang* 1993; 65: 199-203.
478. Sulaiman HA, Julitasari A, Sie A, Rustum M, et al. Prevalence of hepatitis B and C viruses in healthy Indonesian blood donors. *Tran Roy Soc Trop Med* 1995; 89: 167-170.
479. Bilgin N, Simsek H, Haberal M. Prevalence of anti-HCV positivity in hemodialysis and renal transplant patients at our center. *Transplant Proc* 1993; 25: 3261-3262.
480. Tretskaia TA, Shakhgil'dian IV, Iashina TL, Kravchenko VK, et al. The incidence of detecting hepatitis C virus antibodies in different age groups of the population in northeastern Ukraine. *Vop Virusol* 1993; 38: 137-138.
481. Patino-Sarcinelli F, Hyman J, Camacho LA, Linhares DB, Azebedo JG. Prevalence and risk factors for hepatitis C antibodies in volunteer blood donors in Brazil. *Transfusion* 1994; 34: 138-144.
482. Abdelae M, Rowbottom D, Zawawi T, Scott T, Gilpin C. Epidemiology of hepatitis C virus: A study of male blood donors in Saudi Arabia. *Transfusion* 1994; 34: 135-137.
483. Ndume PM, Skalsky J. Hepatitis C virus infection in different populations in Cameroon. *Scand J Infect Dis* 1993; 25: 689-692.
484. Darwish MA, Raouf TA, Rushdy P, Constantine NT, Rao MR, Edelman R. Risk factors associated with a high seroprevalence of hepatitis C virus infection in Egyptian blood donors. *Am J Trop Med* 1993; 49: 440-447.
485. Bassily S, Hyams KC, Fouad RA, Samaan MD, Hibbs RG. A high risk of hepatitis C infection among Egyptian blood donors: the role of parenteral drug abuse. *Am J Trop Med* 1995; 52: 503-505.
486. Πολίτη Κ. Ηπατίτιδα C και αιμοδοσία. Στο: Χατζηγιάνη Σ.Ι. Ηπατίτιδα C. Εκδ. Πασχαλίδης, Αθήνα 1994: 143-151.



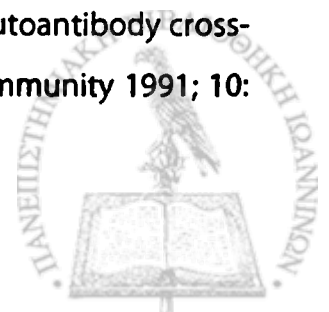
487. Νταλέκος ΓΝ, Ζερβού Ε, Τσιάνος ΕΒ. Επιπολασμός αντι-HCV αντισωμάτων σε υγιείς, αλκοολικούς και μειονοτικό πληθυσμό της Ηπείρου. Στο: Ηπατίτιδα C. Χατζηγιάννης Σ.Ι. (εκδ). Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδη. Αθήνα 1995: 157-163.
488. Van der Poel CL, Reesink HW, Plaisier ADD, Verstraten JW, et al. Parenteral risk factors in HCV infected blood donors confirmed by second generation RIBA and PCR. Proceedings of the Third International Symposium on HCV. Strassbourg, France. September 1991: 103.
489. Blitz-Dorfman L, Monsalve F, Porto L, et al. Epidemiology of hepatitis C virus in Western Venezuela. Lack of specific antibody in Indian communities. J Med Virol 1994; 43: 287-290.
490. Μαραντίδου Ο, Αυγερίδης Κ, Αλεξανδροπούλου Ζ, Πέτρου Α, Τσιλεδάκη Μ, Κουτούγκου Ε, Θεοδώρου Ε, Μανιάτη Α. Συχνότητα δεικτών μεταδοτικών νοσημάτων στο αίμα εθελοντών αιμοδοτών και αιμοδοτών συγγενικού ή φιλικού περιβάλλοντος. Αιματολογικό Διήμερο, Λάρισα Νοέμβριος 1994: ???.
491. Τσελίκης Β, Ιγνατιάδης Θ, Γιαννοπούλου Μ, Σοφράς Σ, Κουρουπάκης Δ, Τσαντούλας Δ, Κοκκίνη Γ, Δημόπουλος Κ. Αντι-HCV οροθετικότητα σε ασθενείς τακτικού εξωτερικού ιατρείου. Στο: Χατζηγιάννη Σ.Ι.: Ηπατίτιδα C. Εκδ. Πασχαλίδης. Αθήνα 1995: 166-168.
492. Lionis C, Koulentaki M, Biziagos E, Kouroumalis E. Current prevalence of hepatitis A, B and C in a well-defined area in rural Crete, Greece. J Viral Hep 1997; 4: 55-61.
493. Χατζηγιάννης Σ, Μπράμος Ι, Γκιουστόζι Α, Παπαϊωάννου Χ, Τέρπου Χρ, Ρηγιώτης Κ, Αθανασόπουλος Δ, και συν. Εστία υπερενδημικότητας ηπατίτιδας C στην Ελλάδα. Στο: Χατζηγιάννης Σ.Ι. Ηπατίτιδα C. Εκδόσης Πασχαλίδης, Αθήνα 1995: 169-174.
494. Alter MJ, Margolis HS, Krawczynsky K. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. N Engl J Med 1992; 327: 1989-1905.
495. Dienstag JL. Non-A, non-B hepatitis. Recognition, epidemiology and clinical features. Gastroenterology 1983; 85: 439-442.
496. Alter HJ, The hepatitis C virus and its relationship to the clinical spectrum of NANB hepatitis. J Gastroenterol Hepatol 1990; Suppl 1: 78-94.



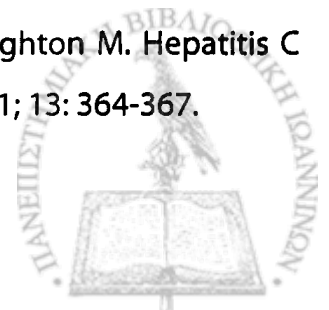
497. Gerlich WH, Thomssen A. Terminology, structure and laboratory- diagnosis of hepatitis viruses. In: McIntyre N, Benhamou J-P, Bircher J, Rizzetto M, Rodes J, eds. Oxford Textbook of Clinical Hepatology. Oxford: Oxford University Press 1991: 537-565.
498. Alberti A, Realdi G. Parenterally-acquired non-A, non-B (type C) hepatitis. In: McIntyre N, Benhamou J-P, Bircher J, Rizzetto M, Rodes J, eds. Oxford Textbook of Clinical Hepatology. Oxford: Oxford University Press 1991: 605-617.
499. Yanagi M, Kaneko S, Unoura M, et al. Hepatitis C virus in fulminant hepatic failure. N Engl J Med 1991; 324: 1895-1901.
500. Liang TJ, Jeffers L, Findo A, et al. Lack of evidence for hepatitis C virus in non-A, non-B fulminant and late-onset hepatic failure. Hepatology 1991; 14: 68A.
501. Sallie R, Tibbs C, Silva AE, et al. Detection of hepatitis «E» but not «C» in sera of patients with fulminant NANB hepatitis. Hepatology 1991; 14: 68A.
502. Wright TL, Mamish D, Combs C, et al. Hepatitis B virus and apparent fulminant non-A, non-B hepatitis. Lancet 1992; 339: 952-955.
503. Feray C, Gigou M, Samuel D, et al. Hepatitis C (HCV) RNA and hepatitis B (HBV) DNA in patients with fulminant hepatitis. Hepatology 1991; 14: 130A.
504. Koretz RL, Abbey H, Coleman E, et al. Non-A, non-B post-transfusion hepatitis-looking back in the second decade. Ann Intern Med 1993; 119: 110-115.
505. DiBisceglie AM, Goodman ZD, Ishak KG, et al. Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic post-transfusion hepatitis. Hepatology 1991; 14: 969-974.
506. Seef BL, Buskel-Bales BS, Wright EC, et al. Long-term mortality after transfusion associated non-A, non-B hepatitis. N Engl J Med 1992; 327: 1906-1911.
507. Kaklamani E, Trichopoulos D, Tzonou A, et al. Hepatitis B and C viruses and their interaction in the origin of hepatocellular carcinoma. JAMA 1991; 265: 1974-1976.
508. Colombo M, Choo QL, DelNinno E, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. Lancet 1989; 2: 1006-1008.



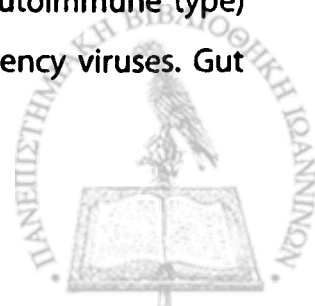
509. Nishioka K, Watanabe J, Futura S, et al. A high prevalence of antibody to the hepatitis C virus in patients with hepatocellular carcinoma in Japan. *Cancer* 1991; 67: 429-433.
510. Papatheodoridis GV, Delladetsima I, Koutelou M, Katsoulidou A, Hatzakis A, Tassopoulos NC: Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Greek patients with chronic liver disease. *J Hepatol* 1994; 20: 311-314.
511. Ruiz J, Sangro B, Cuende JI, et al. Hepatitis B and C viral infections in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1992; 16: 637-641.
512. Shen JC, Huang GT, Smith L-N, et al. Hepatitis C and viruses in hepatitis B surface antigen-negative hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1992; 103: 1322-1327.
513. Gerber MA. Relation of hepatitis C virus to hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1993; 17 (Suppl 3): S108-S111.
514. Simonetti RG, Camma C, Fiorello F, et al. Hepatitis C virus infection as a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. A case-control study. *Ann Intern Med* 1992; 116: 97-192.
515. Goritsas C, Lambropoulou-Karatzas C. Risk factors of hepatocellular carcinoma. A case control study. *J Hepatol* 1993; 18(Suppl 1): 80.
516. Ikeda K, Satoh, Koida I, et al. A multivariate analysis of risk factors for hepatocellular carcinogenesis: A prospective observation of 795 patients with viral and alcoholic cirrhosis. *Hepatology* 1993; 18: 47-53.
517. Tzionou A, Trichopoulos D, Kaklamani E, et al. Epidemiologic assessment of interactions of hepatitis C virus with seromarkers of hepatitis B and D viruses, cirrhosis and tobacco smoking in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 1991; 49: 377-380.
518. Pawlowsky JM, Roudot-Thoraval F, Simmonds P, Mellor J, BenHayahia M, Andre C, Voisin MC, Intrator L, Zafrani ES, Dunae J, Dhumeaux D. Extra-hepatic immunological manifestations in chronic hepatitis C: role of HCV serotypes. *Hepatology* 1994; 20: 385A.
519. Mishiro S, Takeda K, Hoshi Y, Yoshikawa A, Gotanda T, Itoh Y. An autoantibody cross-reactive to hepatitis C virus core and host nuclear antigen. *Autoimmunity* 1991; 10: 269-273.



520. Manns MP. Autoimmunity and hepatitis C. In: Progress in Hepatology. Miguet JP, Dhumeaux D, eds. Paris 1993: 79-88.
521. Lohr HF, Gerken G, Michel G, Meyer Zum Buschenfelde K-H. In vitro secretion of anti-GOR protein and anti-hepatitis C virus antibodies in patients with chronic hepatitis C. Gastroenterology 1994; 107: 1443-1448.
522. Michel G, Ritter A, Gerken G, Meyer Zum Buschenfelde KH, Decker R, Manns MP. Anti-GOR and hepatitis C virus in autoimmune liver disease. Lancet 1992; 339: 267-269.
523. Yoshizawa H, Nojiri N, Takahashi K. Measurement of anti-GOR antibodies in prevention of post-transfusion non-A, non-B hepatitis. Lancet 1991; 337: 47-48.
524. Lau JYN, Davis GL, Orito E, Quian KP, Mizokami M. Significance of antibody to the host gene derived epitope GOR in chronic hepatitis C virus infection. J Hepatol 1992; 17: 253-257.
525. Rowan BP, Smith A, Gleeson D, Hunt LP, Warnes TW. Hepatitis C virus in autoimmune liver disease in the UK: aetiological agent of artefact. GUT 1994; 35: 542-546.
526. Fried MW, Draguescu JO, Shindo M, Simpson LH, Banks SM, Hoofnagle JH, DiBisceglie AM. Clinical and serological differentiation of autoimmune and hepatitis C virus-related chronic hepatitis. Dig Dis Sci 1993; 38: 631-636.
527. Manns MP, Griffin KJ, Sullivan KF, Johnson EF. LKM-1 autoantibodies recognize a short-linear sequence in P450IID6, a cytochrome P-450 monooxygenase. J Clin Invest 1991; 88: 1370-1378.
528. Crivelli O, Lavarini C, Chiaberge D. Microsomal autoantibodies in chronic infection with the HBsAg associated delta (δ) agent. Clin Exp Immunol 1983; 54: 1370-1378.
529. Loeper J, Descatoire V, Maurice M. Cytochrome P-450 in human hepatocyte plasma membrane: recognition by several autoantibodies. Gastroenterology 1993; 104: 203-216.
530. Margin S, Craxi A, Fabiano C, Fiorentino G, Almasio P, Palazzou-Prinzello G, Provenzano G, Pagliaro L, Choo QL, Kou G, Plito A, Han J, Houghton M. Hepatitis C virus replication in autoimmune chronic hepatitis. J Hepatol 1991; 13: 364-367.



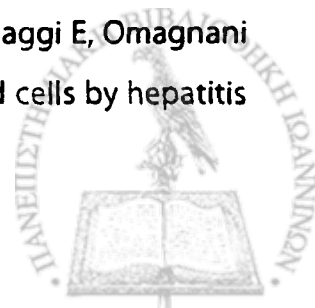
531. Todros L, Touscoz G, D'Urso N. Hepatitis C virus-related chronic liver disease with autoantibodies to liver kidney microsomes (LKM). Clinical characterization from idiopathic LKM-positive disorders. *J Hepatol* 1991; 13: 128-131.
532. Lunel F, Abuat N, Frangeul L, Gripon P, Perrin M, Coz YL, Valla D, Borggta E, Yamamoto AM, Hurax JM, Opolon P, Homberg JG. Liver/kidney microsome antibody type 1 and hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1992; 16: 630-636.
533. Mitchel LS, Jeffers LJ, Reddy KR, Cheinquer H, Coelho-Little E, Moreda R, Parker T, Silva M, Li XM, deMedina M, Coelho-Morges S, Hill M, Altman R, Manns MP, Schiff ER. Detection of hepatitis C virus antibody by first and second generation assays and polymerase chain reaction in patients with autoimmune chronic hepatitis type I, II and III. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 1027-1034.
534. Czaja AJ, Manns MP, Homburger HA. Frequency and significance of antibodies to liver/kidney microsome type 1 in adults with chronic active hepatitis. *Gastroenterology* 1992; 103: 1290-1295.
535. Garson JA, Lenzi M, Ring C. Hepatitis C viraemia in adults with type 2 autoimmune hepatitis. *J Med Virol* 1991; 34: 223-226.
536. Lenzi M, Johnson PJ, McFarlane IG. Antibodies to hepatitis C virus in autoimmune liver disease: evidence for geographical heterogeneity. *Lancet* 1991; 338: 277-280.
537. DeVerneuil H, Aitken G, Nordmann Y. Familial and sporadic porphyria cutanea tarda: two different diseases. *Hum Genet* 1978; 44: 145-151.
538. Fargion S, Piperno A, Cappelini MD, Sampietro M, Frakanzani AI, Romano R, Caldarelli R, Marcelli R, Vecchi L, Fiorelli G. Hepatitis C virus and porphyria cutanea tarda: evidence for a strong association. *Hepatology* 1992; 16: 1322-1326.
539. DeCastro M, Sanchez J, Herrera JF, Chaves A, Duran R, Garcia-Buey L, Garcia-Monzon C, Sequi J, Moreno-Otero R. Hepatitis C virus antibodies and liver diseases in patients with porphyria cutanea tarda. *Hepatology* 1993; 17: 551-557.
540. Berk L, Schalm SW, Heijtkink RA. Severe chronic active hepatitis (autoimmune type) mimicked by coinfection of hepatitis C and human immunodeficiency viruses. *Gut* 1991; 32: 1198-1200.



541. Casato M, Taliani G, Pucillo LP, Gofferedo F, Lagana B, Bonomo L. Cryoglobulinemia and hepatitis C virus. *Lancet* 1991; 337: 499-500.
542. Ferri C, Greco F, Longombardo G, Palla P, Moretti A, Marzo E. Antibodies to hepatitis C virus in patients with mixed cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 1606-1610.
543. Martin P. Hepatitis C. More than just a liver disease. *Gastroenterology* 1993; 1034: 320-323.
544. Chung RT, Agnello V, Weiner NJ, Dienstag JL, Kaplan LM. A role for hepatitis C virus infection in the pathogenesis of essential mixed cryoglobulinemia: Selective concentration of HCV antigen and RNA in cryoprecipitates. *Gastroenterology* 1992; 102: 794A.
545. Dammaco F, Sansonno D. Antibodies to hepatitis C is essential in mixed cryoglobulinaemia. *Clin Exp Immunol* 1992; 87: 352-356.
546. Ferri C, Greco F, Longobardo G, Palla P, Moretti E, Marzo E, Mazzoni A, Pasero G, Bombardieri S. Association between hepatitis C virus and mixed cryoglobulinaemia. *Clin Exp Rheum* 1991; 9: 621-624.
547. Zifroni A, Bartur S. Monoclonal gammopathy and cryoglobulinemia in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1993; 18: 231A.
548. Farahvash MK, Ghosh S, Osborn TG, Bacon BR. Cryoglobulinemia is common in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1993; 18: 231A.
549. Levey S, Bjornsson B, Banner B, Kuhns M, Malhotra R, Whitman N. Type II mixed cryoglobulinemia in chronic hepatitis C infection: A clinic-pathologic analysis of 10 cases. *Hepatology* 1993; 18: 240A.
550. Cacoub P, Lunel F, Musset L, Opolon P, Piette J-C. Hepatitis C virus and cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 1993; 328: 1121-1122.
551. O'Connor BM, Clifford JS, Lawrence WD, Logue GI. Alpha-interferon to severe cold agglutinin disease. *Ann Intern Med* 1989; 111: 255-256.
552. Rolino C, Rokatello D, Giachino O, Basolo B, Piccoli G. Hepatitis C virus infection and membranous glomerulonephritis. *Nephron* 1991; 59: 319-320.



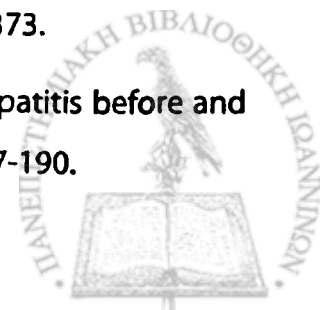
553. Domingo P, Ris J, Martinez E, Casas F. Erythema nodosum and hepatitis C. *Lancet* 1990; 336: 1377.
554. Durand JM, Lefevke P, Telle H, Kaplanski G, Quiles N, Soubeyrand J. Thrombocytopenic purpura and hepatitis C virus infection. *Haematologia* 1993; 78: 135.
555. Silva M, Li X, Cheinker H, Kolodny L, Radick J, La Rue S. HCV associated idiopathic thrombocytopenic purpura. *Gastroenterology* 1992; 102: 889A.
556. Durand JM, Cretel E, Retornaz F, Lefevre P, Kaplanski G, Soubeyrand J. Alpha interferon therapy in thrombocytopenia associated with hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 1994; 21: 277-278.
557. Dusheiko GM, Smith M., Scheuer PJ. Hepatitis C virus transmitted by human bite. *Lancet* 1990; ii: 503-504.
558. Takamatsu K, Koyanagi Y, Okita K, Yamamoto N. Hepatitis C virus RNA in saliva. *Lancet* 1990; 336: 1515.
559. Wang J-T, Want T-H, Sheu J-C, Lin J-T, Chen D-S. Hepatitis C virus RNA in saliva of patients with posttransfusion hepatitis and low efficiency of transmission among spouses. *J Med Virol* 1992; 36: 28-31.
560. Haddad J, Deny P, Muntz-Gotheil C, Ambrosini J-C, Thrinchet J-C, Pateron D, Mal F, Callard P, Beaugrand M. Lymphocytic sialadenitis of Sjogren syndrome associated with chronic hepatitis C virus liver disease. *Lancet* 1992; 339: 321-323.
561. Aceti A, Taliani G, Sorice M, Amendolea MA. HCV and Sjogren's syndrome. *Lancet* 1992; 339: 1425-1426.
562. Perillo RP, Pohl DA, Roodman ST, Tsai CC. Acute non-A, non-B hepatitis with serum sickness-like syndrome and aplastic anemia. *JAMA* 1981; 245: 494-496.
563. Zeldis JB, Boendner PJ, Hellings JA, Steinberg H. Inhibition of human hemopoiesis by non-A, non-B hepatitis virus. *J Med Virol* 1989; 27: 34-38.
564. Zignego AL, Macchia D, Monti M, Thiers V, Mazzetti M, Foschi M, Maggi E, Omagnani S, Gentilini P, Brechot C. Infection of peripheral mononuclear blood cells by hepatitis C virus. *J Hepatol* 1992; 15: 382-386.



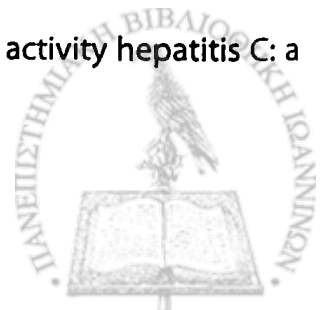
565. Boyer N, Marcellin P. Pathogenesis, diagnosis and management of hepatitis C. *J Hepatol* 2000; 31 (Suppl 1): 96-112.
566. Shapiro S, Gershtein V, Elias N, et al. mRNA cytokine profile in peripheral blood cells from chronic hepatitis C virus (HCV)-infected patients; effects of interferon-alpha (IFN- α) treatment. *Clin Exp Immunol* 1998; 114: 55-60.
567. Napoli J, Bishop GA, McGuinness PH, et al. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection correlates with increased intrahepatic expression of TH1-associated cytokines. *Hepatology* 1996; 24: 759-765.
568. Muller HM, Pfaff E, Goeser T, Kallinowski B, Solbach C, Theilmann L. Peripheral blood leukocytes serve as a possible extrahepatic site for hepatitis C virus replication *J Gen Virol* 1993; 74: 669-676.
569. Takamatsu K, Okayasu I, Koyanagi Y, Yamamoto N. Hepatitis C virus propagates in salivary glands. *J Infect Dis* 1992; 165: 973-974.
570. Boudart D, Lucas JC, Muller JY, Le Carrer D, Planchon B, Harousseau JL. False positive hepatitis C virus antibody tests in paraproteinaemia. *Lancet* 1990; 1: 63.
571. McFarlane IG, Smith HM, Johnson PJ, Bray GP, Vergani D, Williams R. Hepatitis C virus antibodies in chronic active hepatitis: pathogenic factor of false-positive results, *Lancet* 1990; 1: 754-757.
572. Theilmann L, Blazek M, Goeser T, Gmelin K, Kommerell B, Fiehn W. False positive anti-HCV tests in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1990; 2: 1346.
573. Alter HJ. New kit on the block: evaluation of second generation assays for detection of antibody to the hepatitis virus. *Hepatology* 1992; 15: 350-353.
574. Brown J, Dourakis S, Karayannis P, Goldin R, Chiba J, Ohba H, Miyamura T, Thomas HC: Seroprevalence of hepatitis C virus nucleocapsid antibodies in patients with cryptogenic chronic liver disease. *Hepatology* 1992; 15: 175-179.
575. Lee SR, Wood CL, Lane MJ, et al. Increased detection of hepatitis C virus infection in commercial plasma donors by a third-generation screening assay. *Transfusion* 1995; 35: 845-849.



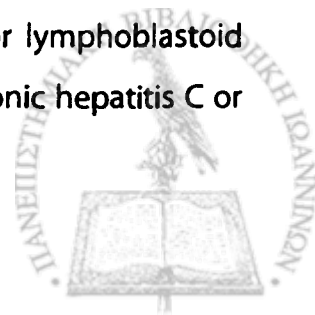
576. Courouce AM, Barin F, Botte C, et al. A comparative evaluation of the sensitivity of seven anti-hepatitis C virus screening tests. *Vox Sang* 1995; 69: 213-216.
577. Dourakis S, Brown J, Karayannis P, Kumar U, Saito I, Chiba J, Miyamura T, Thomas HC. Serological response and detection of viraemia in acute hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 1992; 14: 370-376.
578. Van der Poel CL, Cuypers HTM, Reesink HW, et al. Confirmation of hepatitis C virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. *Lancet* 1991; 337: 317-319.
579. Zaaier HL, Cuypers HTM, Reesink HW, et al. New immunoblot resolves indeterminate results for antibody to hepatitis C virus (letter). *Transfusion* 1994; 34: 184.
580. Dow BC, Coote I, Munro H, et al. Confirmation of hepatitis C virus antibody in blood donors. *J Med Virol* 1993; 41: 215-220.
581. Zaaier HL, Mimms LT, Cuypers HTM, et al. Variability of IgM response in hepatitis C virus infection. *J Med Virol* 1993; 40: 184-187.
582. Pawlotsky JM, Darthuy F, Remire J, et al. Significance of anti-hepatitis C virus core IgM antibodies in patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol* 1995; 47: 285-291.
583. Zaaier HL, Cuypers HTM, Reesink HW, et al. Reliability of polymerase chain reaction for detection of hepatitis C virus. *Lancet* 1993; 341: 722-724.
584. Dow BC, Buchanan I, Munro H, et al. Relevance of RIBA-3 supplementary test to HCV PCR positivity and genotypes for HCV confirmation of blood donors. *J Med Virol* 1996; 49: 132-136.
585. Follett EAC, Dow BC. Issues and strategies of HCV blood donor testing. In: *Hepatitis C 1997: Essays and Expert Opinions on its Natural History, Epidemiology, Diagnosis and Therapy*. Abbott Diagnostics Educational Services. Decker R, Troonen H, eds. 1997: 86-9.
586. Donahue JG, Munoz A, Ness PM, Brown DE, et al. The declining risk of post-transfusion hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1992; 327: 369-373.
587. Wang YJ, Lee SD, Hwang SJ, et al. Incidence of post-transfusion hepatitis before and after screening for hepatitis C virus antibody. *Vox Sang* 1994; 67: 187-190.



588. Rosa D, Campagnoli S, Moretto C, Guenzi E, et al. A quantitative test to estimate neutralizing antibodies to the hepatitis C virus: cytofluorimetric assessment of envelope glycoprotein 2 binding to target cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(S): 1759-1763.
589. Zibert A, Schrier E, Roggendorf M. Antibodies in human sera specific to hyper-variable region 1 of hepatitis C virus can block viral attachment. *Virology* 1995; 208: 653-661.
590. Alberti A. Interferon therapy of acute hepatitis C. *Viral Hep Rev* 1995; 1: 37-47.
591. Omata M, Yokosuka O, Takano S, Kato N, et al. Resolution of acute hepatitis C after therapy with natural beta interferon. *Lancet* 1991; 338: 914-915.
592. Viladomiu L, Genesca J, Esteban JI, Allende H, et al. Interferon- α in acute post-transfusion hepatitis C: a randomized controlled trial. *Hepatology* 1992; 15: 767-769.
593. Lampertico P, Rumi M, Romeo R, Craxi A, et al. A multicenter randomized controlled trial of recombinant interferon- α 2b in patients with acute transfusion-associated hepatitis C. *Hepatology* 1994; 19: 19-22.
594. Alberti A. Management of HCV related liver disease. IASL-EASL Postgraduate Course: Prevention and Intervention in Liver Disease. Madrid 2002; 140-150.
595. Serfaty L, Chazoullieres O, Pawlotsky JM, et al. Interferon alpha therapy in patients with chronic hepatitis C and persistently normal aminotransferase activity. *Gastroenterology* 110: 291-295.
596. Ideo G, Bellobuono A, Temprini S et al. Poor efficacy of alpha-interferon treatment in patients affected by chronic hepatitis C with normal or near normal ALT levels. *Gastroenterology* 1996; 110: 1215A.
597. Areias J, Pedroto I, Freitas T, et al. Hepatitis C virus carriers with normal ALT activity: viremia, genotype and effect of interferon therapy. *Gastroenterology* 1996; 110: 1144A.
598. Nordoy I, Krarup HB, Bell IV, et al. Interferon- α 2b therapy in low activity hepatitis C: a pilot study. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 1256-1260.



599. Silverman AL, Piquette DL, Filipiak CL, et al. Alpha-interferon treatment of HCV-RNA-positive patients with normal or near normal levels. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 1793-1795.
600. Orito E, Mizokami M, Suzuki K, et al. Interferon alpha therapy for individuals with normal serum ALT before treatment. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 12: 58-61.
601. Van Thiel D, Caraceni P, Molloy PJ, et al. Chronic hepatitis C in patients with normal or near normal ALT levels. *J Hepatol* 1995; 23: 503-508.
602. Rosini A, Ravaggi A, Biasi L, et al. Virological response to interferon treatment in hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels and chronic hepatitis. *Hepatology* 1997; 26: 1012-1017.
603. Sangiovanni A, Morales R, Sprinzi G, et al. Interferon alpha treatment of HCVRNA carriers with persistently normal transaminase levels : a pilot randomized controlled study. *Hepatology* 1998; 27: 853-856.
604. Longo F, Tran A, Dantin S, et al. Virological and histological effects of interferon treatment in HCV-positive patients with persistently normal ALT levels. *Hepatology* 1998; 28: 705A.
605. Tassopoulos NC. Treatment of patients with chronic hepatitis C and normal ALT levels. *J Hepatology* 1999; 31(Suppl 1): 193-196.
606. Baron S, Tying SK, Fleischmann WR Jr, et al. The interferons mechanisms of action and clinical applications. *JAMA* 1991; 266: 1375-1383.
607. Davis GL, Balart LA, Schiff ER, et al. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alpha. *N Engl J Med* 1989; 321; 1501-1506.
608. Di Bisceglie Am, Martin P, Kassianides C, et al. Recombinant interferon alpha therapy for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1989; 321: 1506-1510.
609. Chemello L, Bonetti P, Cavaletto L, et al. Randomized trial comparing three different regimns of alpha-2a-interferon in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995; 22: 700-706.
610. Bardelli F, Messori A, Rampazzo R, et al. Effect of recombinant or lymphoblastoid interferon-alpha on alanine aminotransferase in patients with chronic hepatitis C or chronic non-A, non-B hepatitis. *Clin Drug Invest* 1995; 9: 239-254.



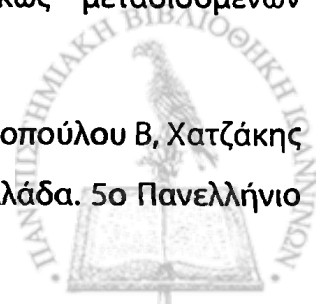
611. Reichard O, Foberg U, Fryden A, et al. High sustained response rate and clearance of viremia in chronic hepatitis C after treatment with interferon-alfa 2b for 60 weeks. *Hepatology* 1994; 19: 280-285.
612. Poynard T, Bedossa P, Chevallier M, et al. A comparison of three interferon alfa-2b regimens for the long-term treatment of chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1995; 332: 1457-1462.
613. Lin R, Roach E, Zimmerman S, Strasser S, Farrel G, for the Australia Hepatitis C Study Group. Interferon alfa-2b for chronic hepatitis C: effect of dose increment and duration of treatment on response rates. *J Hepatol* 1995; 23: 487-496.
614. Patterson JL, Fernandez-Larson R. Molecular mechanisms of action of ribavirin. *Rev Infect Dis* 1990; 12: 1132-1146.
615. Reichard O, Anderson J, Schvarcz R, Weiland O. Ribavirin treatment for chronic hepatitis C. *Lancet* 1991; 337: 1085-1061.
616. Di Bisceglie Am, Shindo M, Fong TL, et al. A pilot study of ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hepatology* 1992; 16: 649-654.
617. Reichard O, Yun ZB, Sonnerborg A, Weiland O. Hepatitis C viral RNA titers in serum prior to, during, and after oral treatment with ribavirin for chronic hepatitis C. *J Med Virol* 1993; 41: 99-102.
618. Di Bisceglie Am, Conjeevaram HS, Fried MW, et al. Ribavirin as therapy for chronic hepatitis C. *Ann Intern Med* 1995; 123: 897-903.
619. Camps J, Garcia N, Riezu-Boj JL, et al. Ribavirin in the treatment of chronic hepatitis C unresponsive to alfa interferon. *J Hepatol* 1993; 19: 408-412.
620. Dusheiko G, Main J, Thomas H, et al. Ribavirin treatment for patients with chronic hepatitis C: results of a placebo-controlled study. *J Hepatol* 1996; 25: 591-598.
621. Reichard O, Norkrans G, Fryden A, et al for the Swedish Study Group. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of interferon alpha-2b with and without ribavirin for chronic hepatitis C. *Lancet* 1998; 351: 83-87.



622. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, et al. Randomized trial of interferon a2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon a2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998; 352: 1426-1432.
623. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 339: 1433-1439.
624. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. *J Hepatol* 1999; 30: 956-961.
625. Poynard T, McHutchinson J, Goodman Z, et al. For the ALGOVIR C project group. Is an "a la carte" combination interferon alfa-2b plus ribavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? *Hepatology* 2000; 31: 211-218.
626. Trepo C, Lindsay K, Niederau C, et al. Pegylated interferon alfa-2b (PEG-INTRON) monotherapy is superior to interferon-alfa-2b (INTRON-A) for the treatment of chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2000; 32(Suppl 2): 29.
627. Bradley DW: Hepatitis E: Epidemiology, aetiology and molecular biology. *Rev Med Virol* 1992; 2: 19-28.
628. Wong DC, Purcell RH, Sreenivasan MA, et al. Epidemic and endemic hepatitis in India: Evidence for non-A/non-B hepatitis virus etiology. *Lancet* 1980; 2: 876-878.
629. Viswanathan R. Infectious hepatitis in Delhi (1955-1956): A critical study: *Epidemiology. Indian J Med Res* 1957; 45: 1-30.
630. Sreenivasan MA, Banerjee K, Pandya PG, et al. Epidemiological investigations of an outbreak of infectious hepatitis in Ahmedabad city during 1975-1976. *Indian J Med Res* 1978; 67: 197-206.
631. Sergeev NW, Paktoris EA, Ananev WA, et al. General characteristics of Botkin's disease occurring in Kirgiz Republic of USSR in 1955-1956. *Soviet Healthcare Kirgizii* 1957; 5: 16-23.
632. Tandon BN, Joshi YK, Jain SK, et al. An epidemic of non-A, non-B hepatitis in North India. *Indian J Med Res* 1982; 75: 739-744.



633. Khuroo SM, Duermeyer W, Zargar SA, et al. Acute sporadic non-A/non-B hepatitis in India. *Am J Epidemiol* 1983; 118: 360-364.
634. Myint H, Soe MM, Khin T, et al. A clinical and epidemiological study of an epidemic non-A, non-B hepatitis in Rnagoon. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34: 1183-1189.
635. Kane MA, Bradley DW, Shrestha SM, et al. Epidemic non-A, non-B hepatitis in Nepal. Recovery of a possible etiologic agent and transmission studies in marmosets. *J Am Med Associ* 1984; 252: 3140-3145.
636. De Cock KM, Bradley DW, Sandford NL, et al. Epidemic non-A, non-B hepatitis in patients from Pakistan. *Ann Intern Med* 1987; 106: 227-230.
637. Centers for Disease Control. Enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. East Africa. *MMWR* 1987; 36: 241-244.
638. Velazquez O, Stetler HC, Avila C, et al. Epidemic transmission of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis in Mexico, 1986-1987. *JAMA* 1990; 263: 3281-3285.
639. Hepatitis E among vs travelers 1989-1992. *MMWR Morbid Mortal Whly Rep* 1993; 42: 1-4.
640. Skidmore SJ, yarbough PO, Gabor KA, Tam AW, Reyes GR, Flower AJE: Imported hepatitis E in UK. *Lancet* 1991;337: 1541.
641. Shapiro CN: Transmission of hepatitis viruses. *Ann Intern Med* 1994; 120: 82-84.
642. Zuckerman AJ. Hepatitis E virus. The main cause of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Br Med J* 1990; 300: 1475-1476.
643. Tassopoulos NC, Krawczynski K, Hatzakis A, et al. Role of hepatitis E virus in the etiology of community-acquired non-A, non-B hepatitis in Greece. *J Med Virol* 1994; 42: 124-128.
644. Ψυχογιού Μ, Χατζάκης Α, Ζακοπούλου Ν και συν. Ηπατίτιδα Ε και σεξουαλική μετάδοση. 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο AIDS και σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων. Αθήνα 10-13 Φεβρουαρίου 1994; περ. σελ. 43.
645. Ψυχογιού Μ, Τασόπουλος Ν, Παπαθεοδωρίδης Γ, Τζάλα Λ, Αγγελοπούλου Β, Χατζάκης Α. Η ηπατίτιδα Ε ως αιτία οξείας μη-Α, μη-Β ηπατίτιδας στην Ελλάδα. 5ο Πανελλήνιο



Συνέδριο AIDS και σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων. Αθήνα 10-13 Φεβρουαρίου 1994; περ. σελ. 40.

646. Ψυχογιού Μ, Κατσουίδου Α, Κρεμαστινού Ε και συν. Λοίμωξη από ιό ηπατίτιδας Ε σε ομάδες υψηλού κινδύνου μη-Α, μη-Β ηπατίτιδας. 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο AIDS και σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων. Αθήνα 10-13 Φεβρουαρίου 1994; περ. σελ. 41.
647. Μαλλιώρα Α, Ψυχογιού Μ, Κατσουλίδου Α, Κρεμαστινού Γ, Χατζάκης Α, Στεφανής Κ. Επιπολασμός αντισωμάτων ηπατίτιδας Ε σε χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών ουσιών. Προκαταρκτικά δεδομένα. 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο AIDS και σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων. Αθήνα 10-13 Φεβρουαρίου 1994; περ. σελ. 42.
648. Politis C, Georgacopoulou E, Miariti N, Vrettou H, Richardson CL, Tsiolkas H. Association of hepatitis E with B and C in multitransfused patients with Thalassaemia in Greece. V Regional Congress of ISBT, Venezia 2-5 July, 195 (Abstr. σελ. 132).
649. Λιάπη ΓΚ, Ζερβού Ε, Νταλέκος ΓΝ, Γουδέβενος Ι, Τσιάνος ΕΒ, Σιδεράς ΔΑ. Ιογενής ηπατίτιδα και HTLV I/II λοίμωξη μετά από καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις: Υπάρχει συσχέτιση; 1ο Εθνικό Συνέδριο AIDS και Σεξουαλικών Μεταδιδόμενων Νοσημάτων. Θεσσαλονίκη 8-10 Μαρτίου 1996; περ. σελ. 12.
650. Mantero G, Zonaro A, Alberti A, Bertolo P, Primi D. DNA enzyme immunoassay: general method for detecting products of polymerase chain reaction. Clin Chem 1991; 37: 422-424.
651. Dalekos GN, Zervou E, Elisaf M, et al. Increased prevalence of markers of GBV-C/HGV infection in a selected cohort of haemodialysis patients negative for other blood-borne viruses (letter). Nephrol Dial Transpl 1999; 14: 255-6.
652. Imberti L, Cariani E, Bettinardi A, et al. An immunoassay for specific amplified HCV sequences. J Virol Methods 1991; 34: 233-243.
653. Ιωαννίδη Ι. Αρχές Αποδεικτικής Ιατρικής. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσα, Αθήνα, 2000; σελ. 195-196.
654. Ahlbom A, Norel S. Εισαγωγή στη σύγχρονη επιδημιολογία. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσα, Αθήνα, 1992; σελ. 124-125.



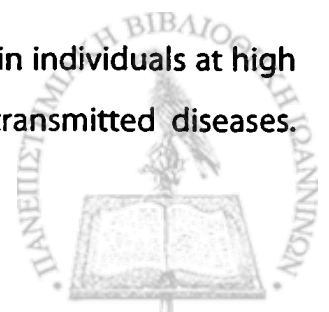
655. Τριχόπουλος Δ. Ιατρική Στατιστική. Ιατρικές Εκδόσεις Παρισιάνου, Αθήνα, 1975; σελ. 64-68.
656. Τριχόπουλος Δ. Ιατρική Στατιστική. Παρισιάνου, 1975; σελ. 72-73.
657. Dalekos GN, Zervou E, Karabini F, Tsianos EV. Prevalence of viral markers among refugees from Southern Albania. Increased incidence of infections with hepatitis A, B and D viruses. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7: 553-558.
658. Dalekos GN, Zervou E, Karabini F, Bourantas K, Elisaf M, Siamopoulos KC. Prevalence of antibodies to human T-lymphotropic virus types I and II in volunteer blood donors and high risk groups in northwestern Greece. *Transfusion* 1995; 35: 503-506.
659. Αρβανιτίδου Τ, Ρουμελιώτου Α, Γρηγοριάδου Α, Χράπαλου Π, Καραγιαννίδης Α, Τσάνταλη Χ, και συν.: Σημαντική μείωση του επιπολασμού και επιπτώσεως της ηπατίτιδας Α σε μαθητικό πληθυσμό αγροτικής κοινότητας. 13ο Εθνικό Συνέδριο Μικροβιολογίας, Θεσσαλονίκη 2-3 Απριλίου 1988. Περίληψη 22.
660. Ζερβού Ε, Νταλέκος ΓΝ, Αλφαντάκη Σ, Γαλανάκης Ε και συν. Επιπολασμός αντι-HAV IgG αντισωμάτων στον παιδιατρικό και αιμοδοτικό πληθυσμό της Β.Δ. Ελλάδας. *Δελτίο Ελλ Μικροβιολ Ετ* 1997; 42(2): 218-222.
661. Μαυρομιχάλης Ι, Skidmore S, Δηματιά-Ζαχαράκη Μ, Μανιός Σ, Σκλαβούνου-Τσουρουκτσόγλου Σ: Οροεπιδημιολογική μελέτη της ηπατίτιδας Α στη Βόρειο Ελλάδα. Πρακτικά 6ου Πανελληνίου Συνεδρίου Γαστρεντερολογίας 6: 73-79, Θεσσαλονίκη, 1982.
662. Kline WE, Bowman RJ, McCurdy KKE, O'Malley JP, Sandler SG. Hepatitis B core antibody (anti-HBc) in blood donors in the United States: implications for surrogate testing programs. *Transfusion* 1987; 27: 99-102.
663. Κολαϊτης Ν., Γκίοκα Α., Ρουμελιώτου-Καραγιάννη Α. Οι ασυμπτωματικοί φορείς του αντιγόνου της επιφανείας του ιού της ηπατίτιδας Β (HBsAg) εις την Ήπειρο. *Δελ Έλλ Μικροβ Ετ* 1979; 24: 151-159.
664. Van der Poel CL, Ten Veen JH, Reesink HW, Cuypers HTM, Lellie PN. Transmission of hepatitis B virus by HBV-DNA PCR negative blood transfusion. *Vox Sang* 1994; 67: S2 (Abstract No 0214).



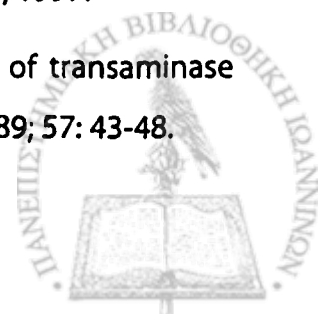
665. Επιδημιολογικά δεδομένα λοιμώξεων στον αιμοδοτικό πληθυσμό. Δελτίο του Συντονιστικού Κέντρου Αιμοεπαγρύπνησης (ΣΚΑΕ). Φεβρουάριος 2001.
666. Koylentaki M, Spanoudakis S, Kantidaki E, et al. Prevalence of hepatitis B and C markers in volunteer blood donors in Crete: a 5-year study. *J Viral Hepat* 1999; 6: 243-248.
667. Ζερβού Ε, Ξάνθη Ε, Καραμπίνη Φ, και συν. Ενδοοικογενειακή διασπορά HBV λοίμωξης. 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοπαθολογίας. 18-21 Απριλίου 2000, αρ. περ. 103.
668. Rizzeto M, Esteban R, Weiland Treppe C. Hepatitis C. Prevalence and incidence of both infection and disease. In: *Seminars on Hepatitis C, Luxembourg*. Edited by European Commission 1994; p: II-4-9.
669. Τσαντούλας Δ. Ο νέος παγκόσμιος και Ελληνικός χάρτης επιπολασμού της HCV λοίμωξης. Στο: Χατζηγιάννη Σ.Ι., Εκδ. Ηπατίτιδα C, 1995. Αθήνα, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδη, 1996, σελ. 14-19.
670. Πολίτη Κ, Καβαλλιέρου Λ, Τσιρογιάννη Π, και συν. Στόχοι της αιμοεπαγρύπνησης και σχεδιασμός έργου. Αποτελέσματα επιδημιολογικής έρευνας για τις λοιμώξεις που μεταδίδονται με το αίμα κατά το 1997. *Ελλ Δελτ AIDS*, 1999; 7(4): 283-294.
671. Tobler LH, Busch MP, Wilber J, et al. Evaluation of indeterminate C22-3 reactivity in volunteer blood donors. *Transfusion* 1994; 32: 408-414.
672. Mollison PL. Infections agents transmitted by transfusion. In: Mollison PL (ed), *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 9th Ed, Blackwell Scientific Publications, 1993; p: 710-785.
673. Lok AS, Kwan WK, Moechli R, et al. Seroepidemiological survey of hepatitis E in Hong Kong by recombinant-based enzyme immunoassays. *Lancet* 1992; 340: 1205-1208.
674. Thomas DL, Mahley RW, Badur S, et al. Epidemiology of hepatitis E virus infection in Turkey. *Lancet* 1993; 341: 1561-1562.
675. Skidmore SJ, Yarbough PO, Gabor KA, et al. Hepatitis E virus: the cause of a waterborne hepatitis outbreak. *J Med Virol* 1992; 37: 58-60.



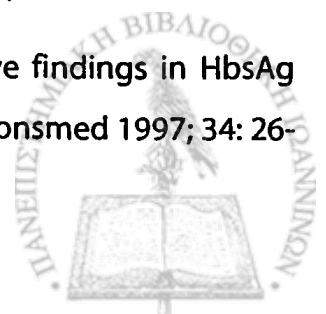
676. Tan D, Im SW, Yao JL, et al. Acute sporadic hepatitis E virus infection in southern China. *J Hepatol* 1995; 23: 239-245.
677. Sallie R, Silva AE, Purdy M, et al. Hepatitis C and E in non-A, non-B fulminant hepatic failure : a polymerase chain reaction and serological study. *J Hepatol* 1994; 20: 580-588.
678. Bradley DW. Enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis. *Br Med Bull* 1990; 46: 442-461.
679. Tsega E, Hansson BG, Krawczynski K, et al. Acute sporadic viral hepatitis in Ethiopia: causes, risk factors, and effects on pregnancy. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 961-965.
680. Song DY, Zhuang H, Kang XC, et al. Hepatitis E in Hetian City : a report of 562 cases. In: Hollinger FB, Lemon SM, Margolis HS, eds. *Viral hepatitis and liver diseases: proceedings of the 1990 International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1991; 528-531.
681. Trautwein C, Kiral G, Tillmann HL, et al. Risk factors and prevalence of hepatitis E in German immigrants from the former Soviet Union. *J Med Virol* 1995; 45: 429-434.
682. Zaaijer HL, Kok M, Lelie PN, et al. Hepatitis E in the Netherlands imported and endemic (letter). *Lancet* 1993; 341: 826.
683. Lavanchy D, Morel B, Frei PC. Seroprevalence of hepatitis E virus in Switzerland (letter). *Lancet* 1994 ; 344 : 747-748.
684. Zanetti AR, Dawson GJ. Hepatitis E in Italy: seroepidemiological survey. The Study Group of hepatitis E. *J Med Virol* 1994; 42: 318-320.
685. Psychogiou M, Tassopoulos NC, Papatheodoridis GV, et al. Hepatitis E virus infection in a cohort of patients with acute non-A, non-B hepatitis. *J Hepatol* 1995; 23: 668-673.
686. Psychogiou M, Vaindirli E, Tzala E, et al. Hepatitis E virus (HEV) infection in hemodialysis patients. The Mutlicentre Haemodialysis Cohort Study on Viral Hepatitis. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 1093-1095.
687. Psychogiou M, Tzala E, Boletis J, et al. Hepatitis E virus infection in individuals at high risk of transmission of non-A, non-B hepatitis and sexually transmitted diseases. *Scand J Infect Dis* 1996; 28: 443-445.



688. Dalekos GN, Zervou E, Elisaf M, et al. Antibodies to hepatitis E virus among several populations in Greece: increased prevalence in a hemodialysis unit. *Transfusion* 1998; 38: 589-595.
689. Dalekos GN, Liapi GK, Zervou E, et al. Infections from viral hepatitis and HTLV-I/II after open-heart surgery in northwestern Greece: a preliminary study (abstract). *Gut* 1996; 39(Suppl. 3): A15.
690. Koziol DE, Holland DPV, Alling DW, Melpolder JC, Solomion RE, Purcell RH et al. Antibody to hepatitis B core antigen as a paradoxical marker for non-A, non-B hepatitis agents in blood. *Ann Intern Med* 1986; 184: 4888-4895.
691. Sugg U, Schenzle D, Hess G. Antibodies to hepatitis B core antigen in blood donors screened for alanine aminotransferase level and hepatitis non-A, non-B in recipients. *Transfusion* 1988; 28: 386-388.
692. Kern JM, Croy BB. A review of transfusion-associated AIDS litigation:1984 through 1993. *Transfusion* 1994; 34: 484-491.
693. Dood RY, Popovsky MA. Antibodies to hepatitis B core antigen and the infectivity of the blood supply. *Transfusion* 1991; 31:443-9.
694. Mosley JW, Stevens CE, Aach RD, Hollinger FB, Mimms LT, Solomor LR et al. Donor screening for antibody to hepatitis B core antigen and hepatitis B virus infection in transfusion recipients. *Transfusion* 1995; 35: 5-12.
695. Hoofnagle JH. Posttransfusion hepatitis B (Editorial). *Transfusion* 1990; 30: 384-6.
696. Liang TJ, Bodenheimer HC, Yanhee R, Brown NV, Chang K, Huang J, et al. Presence of hepatitis B and C viral genomes in US blood donors as detected by polymerase chain reaction amplification. *J Med Virol* 1994; 42:151-157.
697. Jongerius JM, Van der Poel CL, Van Leeuwen EF. Simple look back strategy on post-transfusion hepatitis B in a patient with multiple donor exposition. Abstract A-323, Joint Congress International Society of Blood Transfusion. Deutsche Gesellschaft fur Transfusionsmedizin und Immunhamatologie Frankfurt, October 1-4, 1997.
698. Driss F, Boboc B, Zarski JP. An epidemiological and clinical study of transaminase levels and hepatitis B antibodies in 1.100 blood donors. *Vox Sang* 1989; 57: 43-48.



699. Lai ME, Farci P, Figus A, Balestrieri A, Arnone M, Vyas GN. Hepatitis B virus DNA in the serum of Sardinian blood donors negative for hepatitis B surface antigen. *Blood* 1989; 73:17-19.
700. Brechot C, Degos F, Lugassy C, Thiers V, Zafrani S, Franco D, et al. Hepatitis B virus DNA in patients with chronic liver disease and negative tests for hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med* 1985; 312: 270-276.
701. Allain JP, Reeves I, Kitchen AD, Wenham D, Williamson JL. Feasibility and usefulness of an efficient anti-HBc screening programme in blood donors. *Transfusion Med* 1995; 5: 259-265.
702. Χαλίλη Μ, Κοιλάκος Γ, Παπανικολάου Θ, Αθανασόπουλος Α, Μεγαλακάκη Α, Αντωνοπούλου Α. Προσδιορισμός του DNA του ιού της ηπατίτιδας Β σε εθελοντές αιμοδότες με αρνητικό το επιφανειακό αντιγόνο της ηπατίτιδας Β και θετικό σε υψηλό τίτλο το αντι-core αντίσωμα. Πρακτικά 6ου Πανελληνίου Αιματολογικού Συνεδρίου, Καβάλα 11-14 Νοεμβρίου 1993, Περίληψη Νο 86.
703. Tseliou P, Christoforidou M, Rigoroulou A, Spiliotakara A, Dimitrakopoulos GO. Detection of HBV-DNA in blood units with anti-HBc as the only positive serological marker. Abstract A-272, Joint Congress International Society of Blood Transfusion. Deutsche Gesellschaft fur Transfusionsmedizin und Immunhamatologie Frankfurt, October 1-4, 1997.
704. Nagaraju K, Misra S, Saraswat S, Choudhary N, Masih B, Ramesh V et al. High prevalence of HBV infectivity in blood donors detected by the dot blot hybridization assay. *Vox Sang* 1994; 67:183-186.
705. Korelitz JJ, Busch MP, Kleinmman SH, et al. Relationship between antibody to hepatitis B core antigen and retroviral infections in blood from volunteer donors. *Transfusion* 1996; 36: 232-237.
706. Michalak TI, Pasquinelli C, Guilhot S, Chisari FV. Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest* 1994; 93: 230-239.
707. Henning H, Dennin RH, Haase D, Kirchner H. HBV-DNA positive findings in HbsAg negative blood donors and patients. *Beitr Infusionsther Transfusionsmed* 1997; 34: 26-30.



708. Vemoto S, Sugiyama K, Marusawa H, et al. Transmission of hepatitis B virus from hepatitis B core antibody-positive donors in living related liver transplants. *Transplantation* 1998; 65: 494-499.
709. Prince AM, Stephan W, Protman B. B-propiolactone/ultraviolet inactivation of viruses in blood derivatives. *Rev Infect Dis* 1983; 5: 92-107.
710. Kaneko S, Feinstone SM, Miller RH. Rapid and sensitive method for the detection of serum hepatitis B virus DNA using the polymerase chain reaction technique. *J Clin Microbiol* 1989; 27:1930-1933.
711. Ulrich PP, Bhat RA, Seto B, Mark D, Sninsky J, Vyas GN. Enzymatic amplification of hepatitis B virus DNA in serum compared with infectivity testing in chimpanzees. *J Infect Dis* 1989; 160: 37-43.
712. Hughes W, Barr A, Dow BC, Follet EAC, Barbara JAJ. A multicentre assessment of the specificity of ten anti-HBc screening tests. *Transfusion Med* 1995; 5: 225-230.

