

Περιεχόμενα

- Ανάπτυξη και επικύρωση μιας απλής και αξιόπιστης μεθόδου HPLC-UV
- *Vibrio spp* και κλιματική αλλαγή
- Η σημασία του αντιγριπικού εμβολιασμού για την εποχική γρίπη στις ομάδες κινδύνου

Συντακτική Επιτροπή

ΑΝΔΡ. ΓΡΗΓΟΡΑΤΟΥ

ΕΥΗ ΚΩΝΣΤΑ

ΑΓΓΕΛ. ΜΕΛΠΙΔΟΥ

ΜΑΡΙΛ. ΣΤΑΜΟΥΛΗ



ΕΝΗΜΕΡΩΤΙΚΟ ΔΕΛΤΙΟ 45 – ΜΑΡΤΙΟΣ 2023

*Σε αυτό το τεύχος του Δελτίου μας παρουσιάζονται ενδιαφέροντα άρθρα με θέμα την Ανάπτυξη και επικύρωση μιας απλής και αξιόπιστης μεθόδου HPLC-UV για τον προσδιορισμό των επιπέδων γεμισταβίνης σε ορό και την εφαρμογή στη φαρμακοκινητική ανάλυση», τα διάφορα είδη *Vibrio spp* και την κλιματική αλλαγή, καθώς και τη σημασία του αντιγριπικού εμβολιασμού για την εποχική γρίπη στις ομάδες κινδύνου, τα μέτρα πρόληψης και το ρόλο των εμπλεκόμενων φορέων.*

Τόσο καιρό δίψασε η καρδιά μας για χαρά. Αν και «Είναι Άνοιξη πια, δεν χωράει πίκρα μέσα στο φως», όπως πίστευε ο Γιάννης Ρίτσος.

Με τις καλύτερες ευχές μου,

Ανδριανή Γρηγοράτου

Ανάπτυξη και επικύρωση μιας απλής και αξιόπιστης μεθόδου HPLC-UV για τον προσδιορισμό των επιπέδων γεμισταβίνης σε ορό: εφαρμογή στη φαρμακοκινητική ανάλυση.

Κωνσταντίνος Λαφαζάνης^{1&}, Ηλίας Μπέγας^{1&}, Ίριδα Παπαποστόλου¹, Νίκος Σακελλαρίδης¹, Κωνσταντίνος Δήμας^{1*}

Εργαστήριο Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Ελλάδα.

(*Υπεύθυνος συγγραφέας αλληλογραφίας Email: kdimas@uth.gr, & Ίση συνεισφορά)

Εισαγωγή

Η γεμισταβίνη (gemcitabine, gem) είναι ένας αντιμεταβολίτης, ανάλογο πυριμιδίνης (δεοξυκυτιδίνης), που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία πολλών τύπων καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του παγκρέατος, του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα, του καρκίνου της ουροδόχου κύστης, του ουροθηλίου και των ωθηκών και του σαρκώματος μαλακών μορίων. Χορηγείται ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες, για παράδειγμα καρβοπλατίνη, πακλιταξέλη και σισπλατίνη, για τη θεραπεία του προχωρημένου καρκίνου των ωθηκών, για τη θεραπεία πρώτης γραμμής ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του μαστού και μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, αντίστοιχα.

Η γεμισταβίνη απαμινώνεται ενδοκυτταρικά και εξωκυτταρικά από την απαμινάση της κυτιδίνης προς τον ανενεργό μεταβολίτη της 2',2'-διφθοροδεοξουριδίνη ή 2'-δεοξυ-2',2'-διφθοροουριδίνη (dFdU). Η απαμίνωση εμφανίζεται στο αίμα, το ήπαρ, τα νεφρά και άλλους ιστούς και αυτή η μεταβολική οδός ευθύνεται για το μεγαλύτερο μέρος της κάθαρσης του φαρμάκου.

Λόγω της σημασίας του φαρμάκου και μελετών που συνδέουν το μεταβολισμό του με αυξημένη τοξικότητα (Ding X et al., 2015) η διεθνής επιστημονική κοινότητα έχει επιδοθεί στην ανάπτυξη μεθόδων κατάλληλων για τη μέτρηση των επιπέδων του φαρμάκου (therapeutic drug monitoring, TDM) σε ογκολογικούς ασθενείς. Στα πλαίσια αυτά στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται να έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι βασιζόμενες σε UV-HPLC (Ling-Zhi et al., 2003, Lanz et al., 2007, Wang et al., 2020, Yilmaz et al., 2003, Bruce Keith et al., 2002, Lin et al., 2004, Freeman et al., 1994, Kirstein et al., 2006) αλλά και HPLC σε συνδυασμό με φασματοσκοπία μάζας (MS-HPLC) (Sun Y et al., 2018). Μολονότι, οι MS-HPLC μέθοδοι χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα ευαισθησίας, γρήγορο χρόνο ανάλυσης και μικρή ποσότητα δείγματος, απαιτούν ακριβό και εξελιγμένο χρωματογραφικό εξοπλισμό και προσωπικό με υψηλή κατάρτιση. Στον αντίποδα, οι UV-HPLC μέθοδοι είναι συγκριτικά πιο απλές,

εγγυώνται επαρκή όρια ποσοτικοποίησης, καλή αξιοπιστία, και με χαμηλότερο κόστος γεγονός που τις κάνει περισσότερο κατάλληλες για εφαρμογές μέτρησης επιπέδων φαρμάκων.

Στα πλαίσια αυτά, ο στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η ανάπτυξη μιας απλής, αξιόπιστης και χαμηλού κόστους μεθόδου βασισμένης σε HPLC-UV για τον προσδιορισμό της γεμισταβίνης σε ορό η οποία και να μπορεί να εφαρμοστεί εύκολα για τη μέτρηση των επιπέδων του φαρμάκου στον ορό ογκολογικών ασθενών.

Υλικά και Μέθοδοι

Υλικά. Η χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση αντλίας SYKAM S1125 (version 1.0, Eresing, Germany, συνδεδεμένου με απαερωτή (ERC Inc, Japan), και ανιχνευτή UV-VIS μεταβλητού μήκους κύματος (Rigas Labs, Thessaloniki, Greece). Η χρωματογραφική στήλη ήταν Spherisorb S50DS2 (4,6mm x 25cm) (Milford, USA). Η κινητή φάση αποτελούνταν από 50mM NaH₂PO₄- H₃PO₄ (pH 6,6) - μεθανόλη σε αναλογία όγκων 97:3. Το 1,7-διμεθυλοουρικό οξύ (1,7U, Cayman chemical, USA) χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο (ΕΠ). Ο διαχωρισμός της gem και του ΕΠ πραγματοποιήθηκε με ισοκρατική έκλουση, η ταχύτητα ροής ήταν 1.0 ml/min, το μήκος κύματος ανίχνευσης ήταν 267nm και η θερμοκρασία της στήλης 40 °C. Η πρόσληψη και ανάλυση των δεδομένων της χρωματογραφίας έγινε με το λογισμικό Clarity (DataApex, Prague, The Czech Republic).

Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων. Τα πρότυπα διαλύματα της gem (5mM) και του εσωτερικού προτύπου 1,7U (750μM) παρασκευάστηκαν σε μεθανόλη. Τα διαλύματα εργασίας παρασκευάστηκαν σε συγκεντρώσεις 10, 100, 200, 500, 1000, 2000 και 4000μM αραιώνοντας τα πρότυπα διαλύματα με νερό (ultra-pure) και αποθηκεύτηκαν στους -20 °C.

Προετοιμασία δειγμάτων. Σε 200 μL ορού αίματος μύος, δειγμάτων βαθμονόμησης και δειγμάτων ποιοτικού ελέγχου προστέθηκαν 20 μL ΕΠ, έπειτα ακολούθησε ισχυρή ανακίνηση (vortex) των δειγμάτων για ένα λεπτό. Η κατακρήμνιση πρωτεϊνών πραγματοποιήθηκε προσθέτοντας στάγδην 80 μL υπερχλωρικού οξέος 6% v/v. Τα δείγματα ανακινήθηκαν έντονα για ένα λεπτό και παρέμειναν στον πάγο για 5 λεπτά. Εν συνεχεία, ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 13000 στροφές για 13 λεπτά στους 4 °C. Το υπερκείμενο του κάθε φυγοκεντρημένου δείγματος συλλέχθηκε σε ένα νέο σωλήνα αποθήκευσης (Eppendorf tube). Τελικά, 50 μL του υπερκειμένου ενέθηκαν στη χρωματογραφική στήλη.

Φαρμακοκινητική μελέτη. Για τη διεξαγωγή της φαρμακοκινητικής μελέτης χρησιμοποιήθηκαν αρσενικοί ανασοκατεσταλμένοι μύες, του στελέχους NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J (NOD/scid). Οι συνθήκες διαβίωσης των ζώων ήταν σε συνθήκες ελεύθερες παθογόνων με σταθερή θερμοκρασία (21°C) ενώ η πρόσβαση τους σε τροφή και νερό ήταν ελεύθερη. Η εναλλαγή τεχνητού φωτός ήταν καθορισμένη (7:00 πμ – 7:00 μμ).

Οι μύες χωρίστηκαν σε 8 ομάδες (5 ζώα/ομάδα). Ο μέσος όρος του βάρους τους κατά την έναρξη της μελέτης ήταν 27 ± 1 gr. Η πρώτη ομάδα αποτέλεσε την ομάδα ελέγχου (control), ενώ οι υπόλοιπες 7 ομάδες έλαβαν μία εφάπαξ δόση gem (100mg/kg). Το φάρμακο χορηγήθηκε είτε ενδοπεριτοναϊκώς (intraperitoneal, ip) είτε υποδοριώς (subcutaneous, sc).

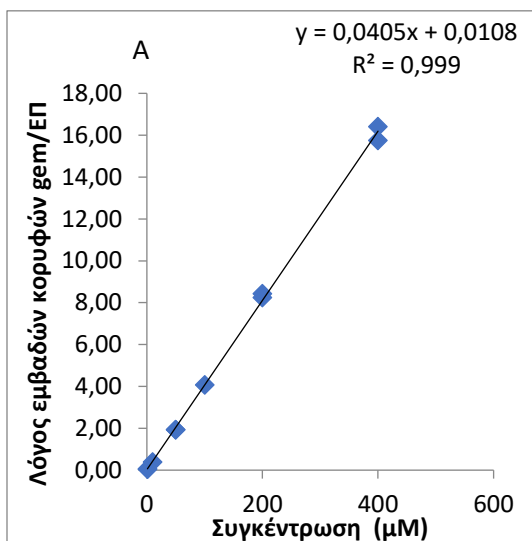
Το αίμα συλλέχθηκε από το εκάστοτε ζώο από την ουρά και έπειτα τα ζώα θυσιάστηκαν. Τα χρονικά σημεία συλλογής του αίματος ήταν 5, 15, 30 λεπτά και 1, 2, 4 και 6 ώρες. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και σε 200 μl υπερκευμένον προστέθηκαν 4μl THU (1μl/ml από stock 10mg/ml) ως συντηρητικό για να αποφευχθεί η διάσπαση του φαρμάκου. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν στους -20°C μέχρι να αναλυθούν. Η προκατεργασία των δειγμάτων καθώς και οι συνθήκες ανάλυσεως αυτών πραγματοποιήθηκαν υπό τις παραπάνω συνθήκες.

Στατιστική ανάλυση Για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό SPSS, έκδοση 26. Τα αποτελέσματα από τη φαρμακοκινητική μελέτη προέκυψαν από τη χρήση του προγράμματος PK Solver (Zhang et all, 2010) ενώ η σύγκριση των δύο οδών χορηγήσεως της gem αξιολογήθηκαν με Student's t-test. Στατιστικά σημαντικά θεωρήθηκαν οι διαφορές με $p < 0,05$.

Αποτελέσματα

Γραμμικότητα πρότυπης καμπύλης (Linearity of calibration curve)

Η πρότυπη καμπύλη ήταν γραμμική σε συγκεντρώσεις της gem μεταξύ 1-400μM ($R^2=0,9989$) και περιεγράφηκε από την εξίσωση $y = (0.0405 \pm 0.0004) x + 0.0108 (\pm 0.069)$. Ο συντελεστής παλινδρόμησης (regression coefficient, r^2) ήταν 0.999 (Εικόνα1). Τα δείγματα βαθμονόμησης υπολογίστηκαν εκ νέου σύμφωνα με τις προδιαγραφές του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων (EMA) για την επικύρωση βιοαναλυτικής μεθόδου χρησιμοποιώντας την προαναφερθείσα εξίσωση. Η διακύμανση τους και το σφάλμα δεν ήταν μεγαλύτερο από 2,92% και -8,31%, αντίστοιχα, εκτός από την χαμηλότερη τιμή όπου το σφάλμα της ήταν 16,2%. Οι εν λόγω τιμές δεν υπερβαίνουν εκείνες που συνίστανται από την EMA. (Πίνακας 1)



Εικόνα 1. Πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης της gem.

Πίνακας 1. Αποτελέσματα ακρίβειας και επαναληψιμότητας των δειγμάτων βαθμονόμησης.

Calibration (spiked) standards (μΜ)	Measured concentration (μΜ)	CV %	BIAS %
1 (n=5)	0,92	16,22	-8,31
10 (n=5)	9,36	2,62	-6,44
50 (n=5)	47,53	0,13	-4,94
100 (n=5)	100,05	0,77	0,05
200 (n=5)	206,06	1,52	3,03
400 (n=5)	397,76	2,92	-0,56

Ακρίβεια και Επαναληψιμότητα (Accuracy and Precision)

Η εντός σειράς (intra-day) ακρίβεια και επαναληψιμότητα της μεθόδου προσδιορίστηκε με την ανάλυση 5 δειγμάτων ποιοτικού ελέγχου σε τρία επίπεδα συγκεντρώσεων (25, 125 και 375 μΜ) εντός της ίδιας ημέρας (Πίνακας 2). Η μεταξύ σειρών (inter-day) ακρίβεια και επαναληψιμότητα της μεθόδου προσδιορίστηκε με την ανάλυση 5 δειγμάτων ποιοτικού ελέγχου σε τρία επίπεδα συγκεντρώσεων (25, 125 και 375 μΜ) εντός πέντε

διαφορετικών ημερών. Η ακρίβεια κυμάνθηκε από -7,77 έως 5,22 % και η επαναληψιμότητα από 2,47 έως 6,52 %.

INTRA-DAY n=5	MEAN	SD	CV%	BIAS
QC-25 μM	25,90	1,18	4,56	3,61
QC-125 μM	127,35	4,18	3,28	1,88
QC-375 μM	345,86	21,72	6,28	-7,77
INTER-DAY n=5	MEAN	SD	CV%	BIAS
QC-25 μM	26,31	1,71	6,52	5,22
QC-125 μM	124,58	3,08	2,47	-0,33
QC-375 μM	361,45	10,73	2,97	-3,61

Πίνακας 2. Intra-day & inter-day αποτελέσματα ακρίβειας και επαναληψιμότητας.

Ανάκτηση (Recovery)

Η απόλυτη ανάκτηση της gem από τον ορό ήταν $96.53 \pm 6.75\%$ (25 μM, n = 9), $93.6 \pm 4.62\%$ (125 μM, n = 9) και $96.29 \pm 6.77\%$ (375 μM, n = 9). Η μέση ανάκτηση του εσωτερικού προτύπου καθορίστηκε στο $82.77 \pm 2.69\%$ (n = 27).

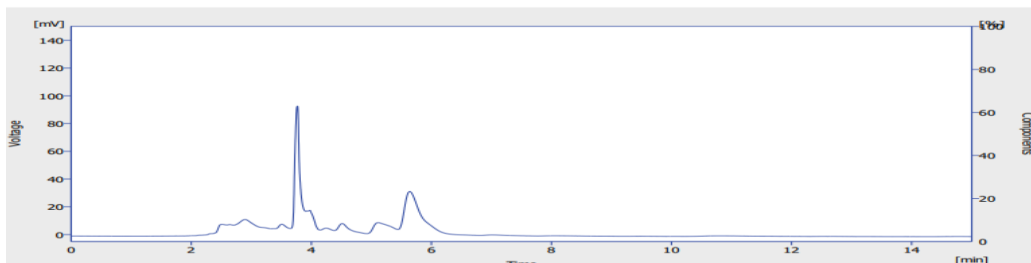
Κατώτερο όριο ποσοτικοποίησης (Lower Limit of Quantification, LLOQ) και όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LOD)

Σύμφωνα με την EMA, το κατώτερο όριο ποσοτικοποίησης (LLOQ) είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας σ' ένα δείγμα το οποίο μπορεί να υπολογιστεί με μία αποδεκτή ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Ως εκ τούτου, το LLOQ είναι η χαμηλότερη τιμή της πρότυπης καμπύλης και καθορίστηκε στα 1μM με CV 16,2% και Bias -8,31 % (n = 5), το οποίο είναι εντός ορίων της EMA ($\pm 20\%$). Το όριο ανίχνευσης, ορίζεται ως η ποσότητα της ουσίας, με αναλογία σήματος προς τον θόρυβο του χρωματογραφικού συστήματος μεγαλύτερο του 3 και καθορίστηκε στα 0,17μM (n=4).

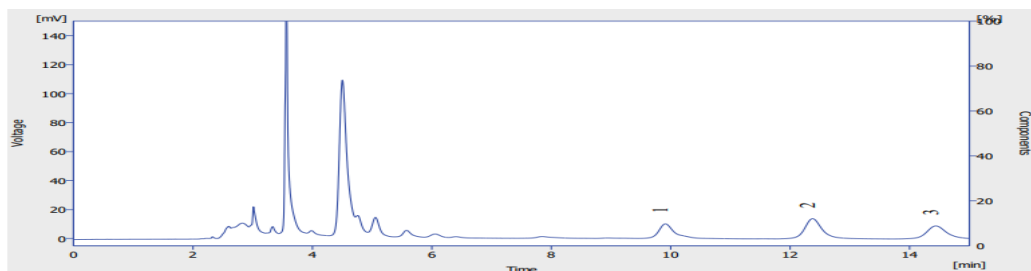
Εξειδίκευση (Specificity)

Στην εικόνα 3 εμφανίζονται χρωματογραφήματα ορού μύος χωρίς λήψη gem (Εικόνα 3Α), ορού μύος με προκαθορισμένη συγκέντρωση gem 80μM και του ΕΠ (Εικόνα 3Β), δείγμα ορού μύος μία ώρα μετά τη χορήγηση του φαρμάκου (Εικόνα 3Γ) πρότυπο ανθρώπινου ορού χωρίς την προσθήκη A gem (Εικόνα 3Δ) και

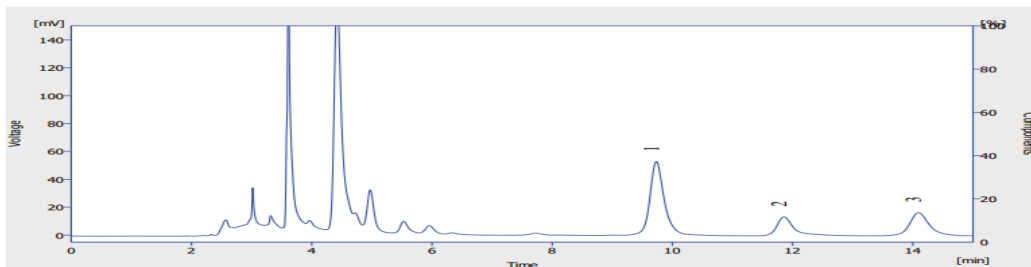
πρότυπο ανθρώπινου ορού με την προσθήκη gem 160μM και του ΕΠ (Εικόνα 3Ε). Δεν παρατηρήθηκαν παρεμβολές από τις ενδογενείς ενώσεις του ορού (serum matrix endogenous compounds) στους χρόνους έκλουσης της gem και του ΕΠ.



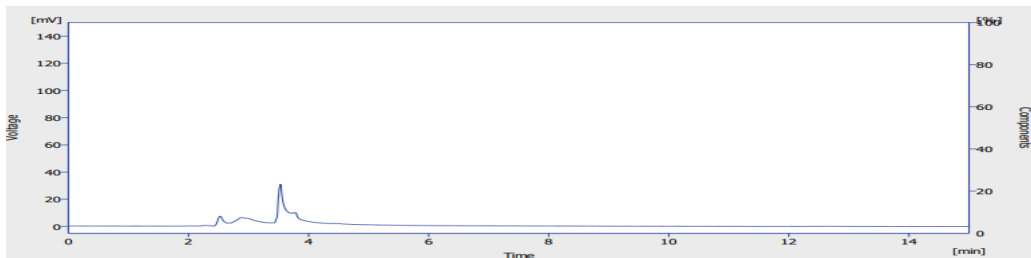
B



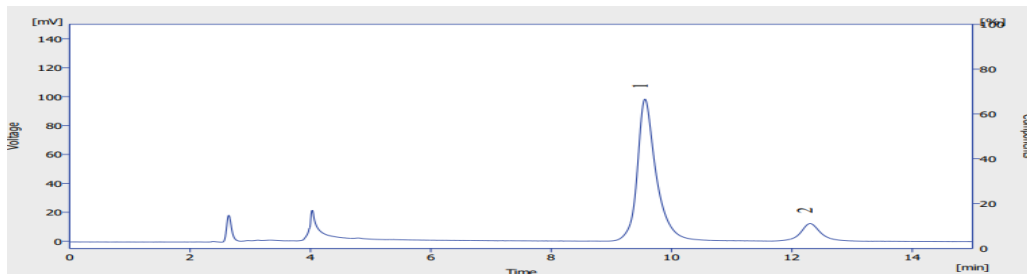
Γ



Δ



E



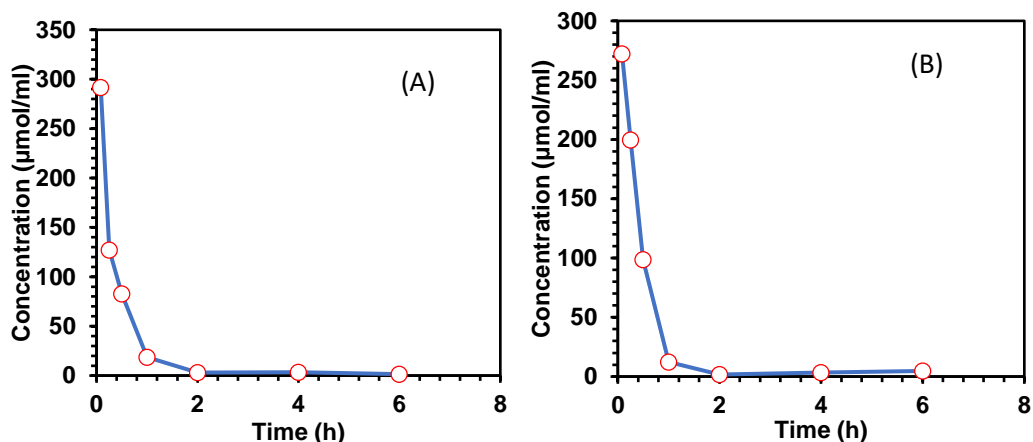
Εικόνα 3. Χρωματογραφήματα: (Α) blank ορού από μυ, (Β) ορό από μυ 1 ώρα μετά τη χορήγηση 100 mg / kg της Gem sc, (Γ) spiked διάλυμα ορού από μυ 80 μM συγκέντρωσης Gem, (Δ) blank ανθρώπινου ορού και (Ε) spiked διάλυμα ανθρώπινου ορού συγκέντρωσης 160 μM . 1= gem, 2= ΕΠ & 3= dFDU.

Σταθερότητα (Stability)

Η σταθερότητα των δειγμάτων ορού από μύες αξιολογήθηκε σε δείγματα ποιοτικού ελέγχου χαμηλής (25 μM) και υψηλής (375 μM) συγκέντρωσης τα οποία είχαν αποθηκευτεί για 8 βδομάδες στους -20 °C. Οι συγκεντρώσεις υπολογίστηκαν εκ νέου μέσω μίας νέας πρότυπης καμπύλης. Η μέση τιμή (τυπική απόκλιση) των δειγμάτων ποιοτικού ελέγχου ήταν 22,58 (2,16) και 390,71 (47,99), για την 25 μM και 375 μM συγκέντρωση, αντίστοιχα. Ενώ το σφάλμα (bias) για την κάθε συγκέντρωση ήταν -9,7 and 4,2 % αντίστοιχα (n = 3). Οι εν λόγω τιμές ήταν μικρότερες του 15% υποδεικνύοντας ότι η gem παραμένει σταθερή σε δείγματα ορών ποντικών για το προαναφερθέν χρονικό διάστημα στους -20 °C (EMA, 2011).

Φαρμακοκινητική μελέτη

Η μέθοδος εφαρμόστηκε για την φαρμακοκινητική ανάλυση (μέτρηση των επιπέδων του φαρμάκου) της gem η οποία χορηγήθηκε σε μύες είτε sc είτε ip (Εικόνα 2). Πιο αναλυτικά, στην περίπτωση της sc χορήγησης του φαρμάκου οι δείκτες, $T_{1/2}$, T_{max} , C_{max} and AUC_{0-t} ήταν 1.03 h, 0.083 h, 272.14 $\mu\text{mol/L}$ and 135.99 $\mu\text{mol/L}\cdot\text{h}$, αντίστοιχα. Ενώ για την ip χορήγηση αυτής, οι δείκτες $t_{1/2}$, T_{max} , C_{max} and AUC_{0-t} καθορίστηκαν στα 0.85 h, 0.083 h, 291.542 $\mu\text{mol/L}$ και 121.227 $\mu\text{mol/L}\cdot\text{h}$, αντίστοιχα. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο οδών χορηγήσεως της gem στον μυ ($p > 0,05$, Mann-Whitney test, πίνακας 3).



Εικόνα 2. Φαρμακοκινητική εικόνα της gem χορηγούμενης σε αρσενικούς μύες. Τα ζώα έλαβαν μια δόση του φαρμάκου (single dose) στα 100 mg/Kg είτε ip (A) είτε sc (B).

Πίνακας 3. Αποτελέσματα φαρμακοκινητικών παραμέτρων μετά την IP και την SC χορήγηση της gem σε μύες.

Parameter (Unit)	IP	SC	p*
t _{1/2} (h)	0,86	1,03	1.000
T _{max} (h)	0,08	0,08	1.000
C _{max} (μmol/L)	291,54	272,14	0.310
AUC 0-t (μmol/L*h)	121,23	135,99	0.095

* Mann-Whitney test

Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη, αναπτύχθηκε και πιστοποιήθηκε μία απλή και χαμηλού κόστους HPLC-UV μέθοδος για τον προσδιορισμό του αντικαρκινικού φαρμάκου gem σε ορό μυών. Παράλληλα, η μέθοδος εφαρμόστηκε στη μέτρηση των επιπέδων του φαρμάκου και την πραγματοποίηση φαρμακοκινητικών μελετών σε μύες.

Καθώς η gem είναι ένα φάρμακο που χορηγείται για τη θεραπεία ποικίλων τύπων καρκίνου, θελήσαμε να αναπτύξουμε και να επικυρώσουμε μία νέα αναλυτική μέθοδο για τον προσδιορισμό της η οποία χαρακτηρίζεται από αποδεκτό χρόνο ανάλυσης που βρίσκεται κοντά στη συντομότερη σε διάρκεια HPLC-UV μέθοδο (Mark

N.Kirstein et al 2006) με τη διαφορά πως οι χρωματογραφικές συνθήκες της δικής μας μεθόδου ήταν πολύ πιο απλές καθώς αποφεύχθηκε η χρήση τροποποιητών της στατικής φάσης (ion-pair reagent) όπως στην περίπτωση των Mark N.Kirstein et al 2006 μιας και η παρουσία τους οδηγεί σε αργή εξισορρόπηση της στήλης καθιστώντας έτσι τη δική μας μέθοδο ένα σημαντικό εργαλείο με ενδεχόμενη – μελλοντική εφαρμογή στην κλινική πράξη.

Η κατακρήμνιση των πρωτεϊνών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση 6% υπερχλωρικού οξέος σε ένα μόνο βήμα, καθώς αυτό ήταν επαρκές για την κατεργασία του δείγματος προσφέροντας ένα ακόμα πλεονέκτημα στη μέθοδο μας έναντι άλλων περισσότερο πολύπλοκων και χρονοβόρων διαδικασιών όπως της εκχύλισης υγρού-υγρού (Wang et al., 2020) ή της στερεής εκχύλισης. Η διαδικασία της πρωτεϊνικής κατακρήμνισης έχει εφαρμοστεί σε διάφορες άλλες αναλυτικές μεθόδους στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν είτε οργανικοί διαλύτες (Lanz et al., 2007, Yilmaz et al., 2003, Keith et al., 2002, Lin et al., 2004, Freeman et al., 1994) ή TCA (Ling-Zhi et al., 2003) ενώ το υπερχλωρικό οξύ αναφέρεται μόνο σε μία ακόμη μέθοδο (Kirstein et al., 2006).

Η επιλογή της ισοκρατικής έκλουσης εξασφάλισε επαρκή διαχωρισμό της gem, του κύριου μεταβολίτη της dFDU και του εσωτερικού προτύπου, ενώ ο χρόνος ανάλυσης της gem και του εσωτερικού προτύπου ήταν 12,5 λεπτά. Η Gem αναλύθηκε υπό ισοκρατικές συνθήκες σε ποικίλες μεθόδους (Ling-Zhi et al., 2003, Lanz et al., 2007, Lin et al., 2004, Yilmaz et al., 2003, Freeman et al., 1994, and Kirstein et al., 2006) όπου αναφέρεται πως η διάρκεια ανάλυσης ήταν από 10 έως 24 λεπτά (Ling-Zhi et al., 2003, Lanz et al., 2007, Lin et al., 2004, Yilmaz et al., 2003, Freeman et al., 1994, and Kirstein et al., 2006). Επομένως, ο χρόνος ανάλυσης της gem πλησιάζει την συντομότερη σε διάρκεια ανάλυσης μέθοδο (Mark N.Kirstein et al 2006). Μολονότι, η βαθμωτή έκλουση προσφέρει συντομότερο χρόνο έκλουσης της gem (Wang et al., 2020), η ισοκρατική έκλουση είναι προτιμητέα εξαιτίας της απλότητας της, καθώς δεν απαιτείται επανα-εξισορρόπηση της στήλης.

Κατά τη διάρκεια πιστοποίησης της μεθόδου δοκιμάστηκε ένας σημαντικός αριθμός ουσιών ως εσωτερικά πρότυπα (2-deoxycytidine, 1-Methylxanthine, 1-Methyluric acid, 7-methylxanthine, 7-Methyluric acid και 3-Methylxanthine) αλλά κανένα από αυτά δεν διαχωρίζονταν επαρκώς από την gem, την dFDU και τις ενδογενείς ουσίες του ορού (matrix interferences). Τελικά, η ένωση η οποία επιλέχθηκε ως εσωτερικό πρότυπο (ΕΠ) ήταν το 1,7U καθώς εμφάνισε ικανοποιητικό διαχωρισμό από το υπό μελέτη φάρμακο και τον κύριο μεταβολίτη αυτού με ταυτόχρονα ικανοποιητικό χρόνο έκλουσης. Επιπροσθέτως, το 1,7U είναι μία ένωση χαμηλού κόστους, αποδεκτή για τέτοιου είδους μελέτες καθώς δεν περιλαμβάνεται στη διατροφή των ανθρώπων (ούτε και των μυών) και δεν είναι συνταγογραφούμενο φάρμακο.

Μετά την ανάπτυξη και την επικύρωση της αναλυτικής μεθόδου, ακολούθησε η φαρμακοκινητική μελέτη για τον προσδιορισμό των επιπέδων της gem σε ορό μυών. Για την εν λόγω μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ανοσοκατεσταλμένοι μύες NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J. Το στέλεχος αυτό επιλέχθηκε καθώς είναι ένα από τα κυριότερα στελέχη ανοσοκατεσταλμένων μυών που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη ανθρώπινων

ξενοσχευμάτων καρκινικών όγκων και τη δημιουργία αντίστοιχων ζωικών προτύπων καρκίνου για τη μελέτη αντικαρκινικών θεραπειών.

Η gem χορηγήθηκε σε μία εφάπαξ δόση των 100 mg/Kg είτε ενδοπεριτοναϊκώς (ip) είτε υποδορίως (sc). Τα χρονικά σημεία (time points) συλλογής του αίματος ήταν 5, 15, 30 λεπτά και 1, 2, 4 και 6 ώρες και για τις δύο οδούς χορήγησης.

Για την φαρμακοκινητική μελέτη, προσδιορίστηκαν οι ακόλουθες παράμετροι $t_{1/2}$, T_{max} , C_{max} and AUC_{0-t} με τη χρήση του λογισμικού PK Solver. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο οδών χορήγησης της gem. Το φάρμακο ήταν ανιχνεύσιμο μέχρι και τις 6 ώρες μετά την χορήγηση του και με τις δύο οδούς χορήγησης. Συνοπτικά τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ουσιαστικά δεν υπήρχε διαφορά στις φαρμακοκινητικές παράμετρους μεταξύ των δύο οδών χορήγησης που σημαίνει ότι η υποδόρια χορήγηση είναι ουσιαστικά ισοδύναμη με την ενδοπεριτοναϊκή.

Τέλος, καθώς η μέθοδος μας χαρακτηρίζεται από απλή προκατεργασία δείγματος και αποδεκτό χρόνο ανάλυσης, προσπαθήσαμε να δοκιμάσουμε την εφαρμογή της στη χρήση εμπορικά διαθέσιμων δειγμάτων ανθρώπινων ορού. Η χρωματογραφική ανάλυση κατέδειξε πως δεν υπάρχουν παρεμβολές στους χρόνους έκλουσης της gem και του εσωτερικού προτύπου από τις ενδογενείς ενώσεις του ορού. Ως εκ τούτου, θα μπορούσε εν δυνάμει να χρησιμοποιηθεί στην κλινική ρουτίνα για τον προσδιορισμό των επιπέδων του φαρμάκου σε ασθενείς με καρκίνο, μελέτες οι οποίες είναι σε εξέλιξη στο εργαστήριό μας.

Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία, αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μια απλή, ευαίσθητη, ειδική και φθηνή μέθοδος HPLC ανάστροφης φάσης, σε συνδυασμό με ανίχνευση υπεριώδους ακτινοβολίας (HPLC-UV coupled) για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό της γεμισταβίνης στον ορό ποντικών.

Η μέθοδος εφαρμόστηκε με επιτυχία σε μοντέλα ποντικών για τον προσδιορισμό των επιπέδων του φαρμάκου και τη διεξαγωγή φαρμακοκινητικών μελετών.

Καθώς η γεμισταβίνη είναι εγκεκριμένη για τη θεραπεία πολλών τύπων καρκίνου είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με άλλα χημειοθεραπευτικά φάρμακα, η τρέχουσα μέθοδος μπορεί να αποδειχθεί σημαντικό εργαλείο για την παρακολούθηση των επιπέδων του φαρμάκου σε ογκολογικούς ασθενείς με στόχο την εφαρμογή εξατομικευμένης θεραπείας.

Ευχαριστίες: η έρευνα συγχρηματοδοτήθηκε από εθνικούς πόρους της ΕΕ και της Ελλάδος μέσω του επιχειρησιακού προγράμματος Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα και Καινοτομία, ενταγμένη στο ΕΠ ΕΡΕΥΝΑ – ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ – ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ (κωδικός έργου: T1EDK- 01612).

Αναφορές (References)

Bilal, Yılmaz, Yücel (Yaşar); Kadioğlu, Yılmaz; Aksoy. 2003. Simultaneous determination of gemcitabine and its metabolite in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, Volume 791, Issues 1–2, Pages 103-109.

Bruce; Keith, Yan; Xu, Jean L; Grem. 2002. Measurement of the anti-cancer agent gemcitabine in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 785 (2003) 65–72.

Lucas de Sousa; Cavalcante, Gisele; Monteiro. 2014. Gemcitabine: Metabolism and molecular mechanisms of action, sensitivity and chemoresistance in pancreatic cancer. *European Journal of pharmacology*.

Christian; Lanz, Martin; Fruh, Wolfgang; Thormann, Thomas; Cerny, Bernhard H; Lauterburg. 2007. Rapid determination of gemcitabine in plasma and serum using reversed-phase HPLC. *Journal of separation science*. (12):1811-20.

Ding X, Chen W, Fan H, Zhu B, 2015. Cytidine deaminase polymorphism predicts toxicity of gemcitabine-based chemotherapy. Gene, Volume 559, Issue 1, Pages 31-37.

European Medicines Agency (EMA), 2011. www.ema.europa.eu/en

K B; Freeman, S; Anliker, M; Hamilton, D; Osborne, P H; Dhahir, R; Nelson, S R; Allerheiligen. 1994. Validated assays for the determination of gemcitabine in human plasma and urine using high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr B Biomed Appl*. 665(1):171-81

Mark N; Kirstein, Iman; Hassan, Dan E; Guire, Dennis R; Weller, Jason W; Dagit, James E; Fisher, Rory P; Rimmel. 2006. High-performance liquid chromatographic method for the determination of gemcitabine and 2',2'-difluorodeoxyuridine in plasma and tissue culture media. *Journal of Chromatography B*, Volume 835, Issues 1–2, Pages 136-142.

Wang, Ling-Zhi; Goh, Boon-Cher; Lee, How-Sung; Noordhuis, Paul; Peters, Godefridus J. 2003. An Expedient Assay for Determination of Gemcitabine and Its Metabolite in Human Plasma Using Isocratic Ion-Pair Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *Therapeutic Drug Monitoring*, Volume 25, Issue 5, p 552-557.

Neng-ming; Lin, Su; Zeng, Sheng-lin; Ma, Yun; Fan, Hai-jun; Zhong, Luo; Fang. 2004. Determination of gemcitabine and its metabolite in human plasma using high-pressure liquid chromatography coupled with a diode array detector. *Acta Pharmacol Sin*. (12):1584-9.

Yilin; Sun, Le; Zhen, Ying; Peng, Jiankun; Wang, Fei; Fei, Lixiang; Aa, Wenjiao; Jiang, Xue; Pei, Li; Lu, Jie; Liu, Guangj; Wang, Kun; Hao. 2018. Simultaneous determination of gemcitabine prodrug, gemcitabine and its major

metabolite 2', 2'-difluorodeoxyuridine in rat plasma by UFLC-MS/MS. *Journal of Chromatography B*, Volume 1084, Pages 4-13.

Meng; Wang, Ryoichi; Hiraki, Norihiro; Nakamura, Tadashi; Hayama, Takuji; Yasuda, Yasuyoshi; Miyata, Hideki; Sakai, Mihoko N; Nakashima, Mikiro; Nakashima, Kaname; Ohyama. 2020. Determination of Gemcitabine in Plasma of Bladder Cancer Patients by Hydrophilic Interaction Chromatography with Ultraviolet Detection. *Journal of Chromatographic Science*, Volume 58, Issue 7, Pages 587–590.

"*Vibrio spp* και κλιματική αλλαγή"

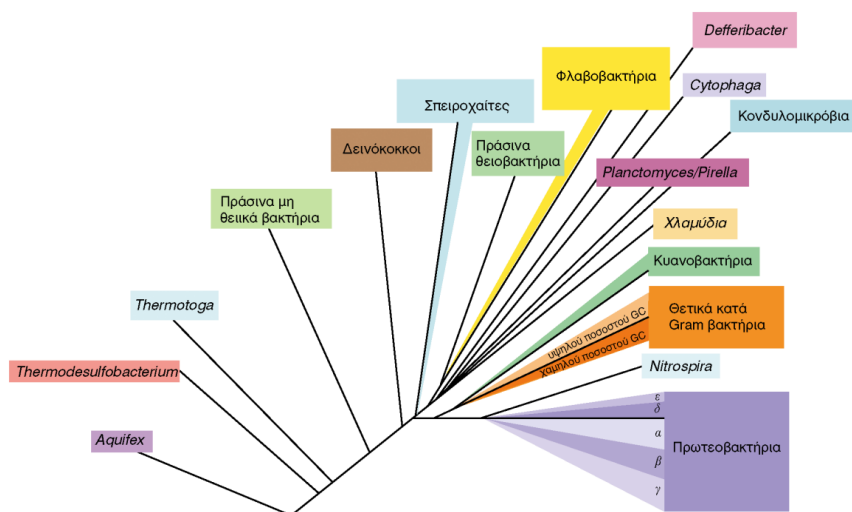
Παρασκευή-Μαρία Αφέντογλου

Μικροβιολογικό εργαστήριο, ΓΝΑ Κοργιαλενιο- Μπενάκειο ΕΕΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γένος *Vibrio spp* συμπεριλαμβάνει Gram-αρνητικά γ-πρωτεοβακτήρια (γάμμα), με σχήμα καμπύλης ράβδου, τα οποία χωρίζονται ανάλογα με τη μορφολογία τους. ^[1,2] Το 1854 ο Filippo Pacini απομόνωσε μικροοργανισμούς από ασθενείς με χολέρα που τους ονόμασε *δονούμενους* εκ του λατινικού «vibrio= δόνηση» λόγω της κινητικότητάς τους. ^[3]

Τα πρωτεοβακτήρια περιλαμβάνουν διάφορες υποομάδες και αποτελούν το μεγαλύτερο φύλο των βακτηρίων, εικόνα 1.



Εικόνα 1. Αναλυτικό φυλογενετικό δέντρο των κυριότερων γενεαλογικών γραμμών (φύλων) των βακτηρίων, βασισμένο σε συγκρίσεις των αλληλουχιών του 16S ριβοσωματικού RNA. Πηγή: <https://mediasrv.aua.gr/eclass/courses/PREDCS100/>

Τα γάμμα πρωτεοβακτήρια είναι αυτόχθονα σε υδάτινα περιβάλλοντα, όπου παίζουν σημαντικό ρόλο στον κύκλο των θρεπτικών ουσιών.^[5] Αυτά τα βακτήρια αποτελούν μια εξαιρετικά ποικιλόμορφη ομάδα και είναι γνωστά όχι μόνο για την ικανότητά τους να προσαρμόζονται γρήγορα στις περιβαλλοντικές αλλαγές, αλλά και για την εγγενή ικανότητα τους να αποκτούν και να μεταδίδουν εξωγενές DNA μέσω γεγονότων (events) οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων (HGT)¹, ειδικά μεταξύ παθογόνων στελεχών.^[6]

Τα βακτήρια *Vibrio spp.* της οικογένειας *Vibrionaceae*, μπορεί να βρεθούν είτε σε κατάσταση ελεύθερης φυσικής διαβίωσης σε παράκτια ύδατα, όπου υπάρχουν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις μεταξύ Μαΐου και Οκτωβρίου, όταν οι θερμοκρασίες του νερού είναι υψηλότερες, είτε σε σχέση με θαλάσσια ζώα και σωματίδια, όπως πλαστικά και φυτοπλαγκτόν. Τα είδη *Vibrio spp.* είναι προαιρετικά αναερόβια, που είναι θετικά για οξειδάση και δεν σχηματίζουν σπόρια.^[5, 7, 8] Όλα τα μέλη του γένους είναι κινητά. Είναι σε θέση να έχουν πολικό ή πλάγιο μαστίγιο, με ή χωρίς έλυτρα.^[9] Τα είδη *Vibrio spp.* διαθέτουν συνήθως δύο χρωμοσώματα, κάτι που είναι ασυνήθιστο για τα βακτήρια.^[10,11] Κάθε χρωμόσωμα έχει μια ξεχωριστή και ανεξάρτητη αρχή αντιγραφής και διατηρούνται μαζί με την πάροδο του χρόνου στο γένος.^[12,13] Πρόσφατα φυλογενετικά δέντρα έχουν κατασκευαστεί με βάση μια σειρά γονιδίων με ανάλυση αλληλουχίας πολλαπλών τόπων.^[2]

Επί του παρόντος, υπάρχουν 123 επικυρωμένα είδη, σύμφωνα με τη Βάση Δεδομένων Ταξινόμησης Γονιδιώματος (Genome Taxonomy Database).^[14] Εξ αυτών, τα *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus*, και *Vibrio alginolyticus* είναι τα 4 είδη, γνωστά και ως “big four”, που είναι τα συχνότερα σχετιζόμενα με λοιμώξεις (vibriosis) στον άνθρωπο.^[15] Τα βακτήρια αυτού του γένους, ζουν φυσιολογικά σε υφάλμυρα ή αλμυρά νερά, όπου προσκολλώνται εύκολα στα κελύφη των καβουριών, γαρίδων και άλλων οστρακοειδών που περιέχουν χιτίνη. Τα *Vibrio spp.* βρίσκονται συνήθως σε θαλάσσια περιβάλλοντα. Τα θαλάσσια είδη *Vibrio* είναι ιδιαίτερα ανθεκτικά στο αλάτι και μπορούν να αναπτυχθούν σε μεγάλο εύρος αλατότητας.^[16] Οι λοιμώξεις (vibrioses) από *Vibrio spp.* συνήθως προκαλούνται από κατανάλωση μολυσμένων

¹ **Οριζόντια μεταφορά** γονιδίων είναι η μετάδοση των [γενετικών πληροφοριών](#) που είναι γραμμένες στο [DNA](#) μεταξύ διαφόρων οργανισμών. Πολλαπλά τμήματα του DNA μπορούν να μεταφερθούν ταυτόχρονα σε άλλα μέλη του ίδιου είδους (ερμηνεύεται η δημιουργία της ανοχής των βακτηριδίων στα αντιβιοτικά) ή σε μέλη άλλων ειδών. Σε αντίθεση με την κατακόρυφη μεταφορά των [γονιδίων](#) κατά την αναπαραγωγή των οργανισμών, τα γονίδια που μεταφέρονται οριζόντια δεν γίνονται πάντα γονίδια που μεταβιβάζονται στους απογόνους τους. Τρεις τυπικοί μηχανισμοί οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων σε μικρόβια είναι: ο **μετασηματισμός** (transformation: εισαγωγή [γουκλειικών οξέων](#), δηλ. πρόσληψη DNA από το περιβάλλον), η **μεταγωγή** (transduction: μεταβίβαση γονιδίου μέσω κάποιου ιού, δηλ. μεταφορά γονιδίων από το ένα κύτταρο στο άλλο με βακτηριοφάγους) και η **σύζευξη** (conjugation: γονιδιακή μεταφορά μέσω των [πλασμιδίων](#), δηλ. άμεση μεταφορά γονιδίων από ένα κύτταρο- δότη σε ένα κύτταρο-δέκτη).

Το 1/6 των γονιδίων στο γονιδίωμα ή **γένωμα** (genome) των [βραδυπόρων](#) βρέθηκε ότι έχει αποκτηθεί μέσω οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων, **γεγονός που θα μπορούσε ενδεχομένως να έχει επηρεάσει την εξαιρετική ανθεκτικότητά τους σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες.**

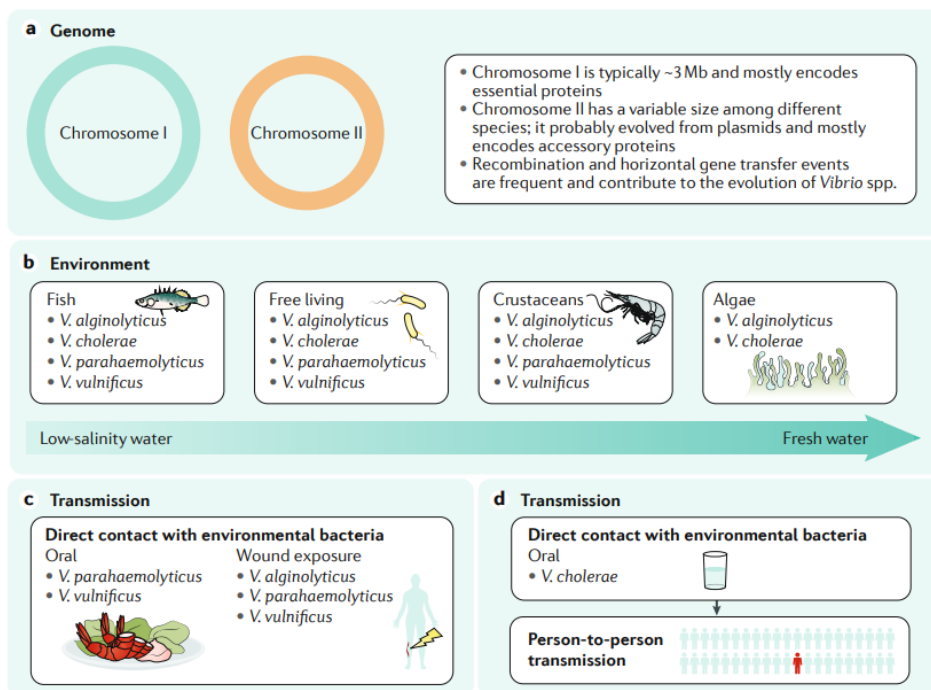
θαλασσινών (τροφιμογενής μόλυνση), ή μολυσμένου νερού και θα μπορούσαν να αποβούν θανατηφόρες, ειδικά σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς ή σε περίπτωση αποτυχίας της αντιμικροβιακής θεραπείας, εικόνα 2, σχήμα 1. [17,18]

Σε πολλές χώρες παρατηρείται τα τελευταία χρόνια μια αυξανόμενη ανθεκτικότητα στα επί του παρόντος χρησιμοποιούμενα αντιβακτηριακά φάρμακα, γεγονός το οποίο εγείρει ανησυχίες για τις εναπομείνουσες επιλογές θεραπείας, αλλά και την ασφάλεια των τροφίμων. [19,20]

From: [Vibrio spp. infections](#)

Species	Source of infection			Route of infection		Clinical manifestations
	Seafood	Sea water	Fresh water	Oral	Wound exposure	
<i>Vibrio cholerae</i> (O1 or O139 strains)	Rarely	Rarely	Yes	Yes	Rarely	Cholera and gastroenteritis; rarely wound infections
<i>Vibrio cholerae</i> (other strains)	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Gastroenteritis and wound and ear infections; rarely primary septicaemia
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Yes	Rarely	No	Yes	Yes	Gastroenteritis and wound infections; rarely sepsis
<i>Vibrio vulnificus</i>	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Gastroenteritis, wound infections and sepsis
<i>Vibrio alginolyticus</i>	No	Yes	No	No	Yes	Most commonly ear and wound infections; rarely sepsis
<i>Vibrio fluvialis</i>	No	Yes	No	Yes	Yes	Gastroenteritis; more rarely wound, eye and ear infections
<i>Vibrio hollisae</i> ^a	Yes	Yes	No	Yes	No	Gastroenteritis and wound infections; rarely sepsis
<i>Vibrio mimicus</i>	Rarely	Yes	No	Yes	Yes	Gastroenteritis; more rarely wound, eye and ear infections
<i>Vibrio metschnikovii</i>	No	Yes	No	Probably	No	Gastroenteritis and sepsis

Εικόνα 2. Οι λοιμώξεις (vibrioses) από διάφορα είδη του γένους *Vibrio spp.* και οι κλινικές τους εκδηλώσεις. Πηγή: Nature Reviews Disease Primers (Nat Rev Dis Primers) ISSN 2056-676X (online)



Σχήμα 1. Τρόποι μετάδοσης και μόλυνσης από το *Vibrio* spp. Πηγή: Baker-Austin C, Oliver JD, Alam M, Ali A, Waldor MK, Qadri F, Martinez-Urtaza J. *Vibrio* spp. Infections. Nature Reviews Disease Primers. 2018, 4, 1–19

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πραγματοποιήθηκε βιβλιογραφική ανασκόπηση που αφορούσε την τελευταία δεκαετία σε βάσεις δεδομένων του google scholar, pubmed NCBI, EMBASE, ιστοσελίδες του CDC, ECDC, WHO, με λέξεις-κλειδιά: vibriosis, clinical manifestations, epidemiology, climate change, microbiology, environmental warming, Cholera and Other *Vibrio* Illness Surveillance (COVIS), συστήματα επιτήρησης που συλλέγουν πληροφορίες *Vibrio*: Δίκτυο Ενεργής Εποπτείας Τροφιμογενών Ασθενειών (FoodNet), Σύστημα επιτήρησης επιδημιών τροφιμογενών ασθενειών (FDOSS), Εθνικό Σύστημα Παρακολούθησης Αντιμικροβιακής Αντίστασης για Εντερικά Βακτήρια (NARMS), Εθνικό δίκτυο μοριακής υποτυποποίησης για την επιτήρηση τροφιμογενών ασθενειών (PulseNet), Εθνικό Σύστημα Παρακολούθησης Δηλούμενων Νοσημάτων (NNDSS), Εθνικό Σύστημα Αναφοράς Επιδημιών (NORS).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παρατηρείται παγκοσμίως έλλειψη συνεχούς και συστηματικής ενημέρωσης του επιδημιολογικού χάρτη και των βάσεων δεδομένων της επιτήρησης του *Vibrio spp.* και των λοιμώξεων που προκαλεί, αλλά επίσης παρουσιάζεται περιορισμένη διαθεσιμότητα τους. ^[17]

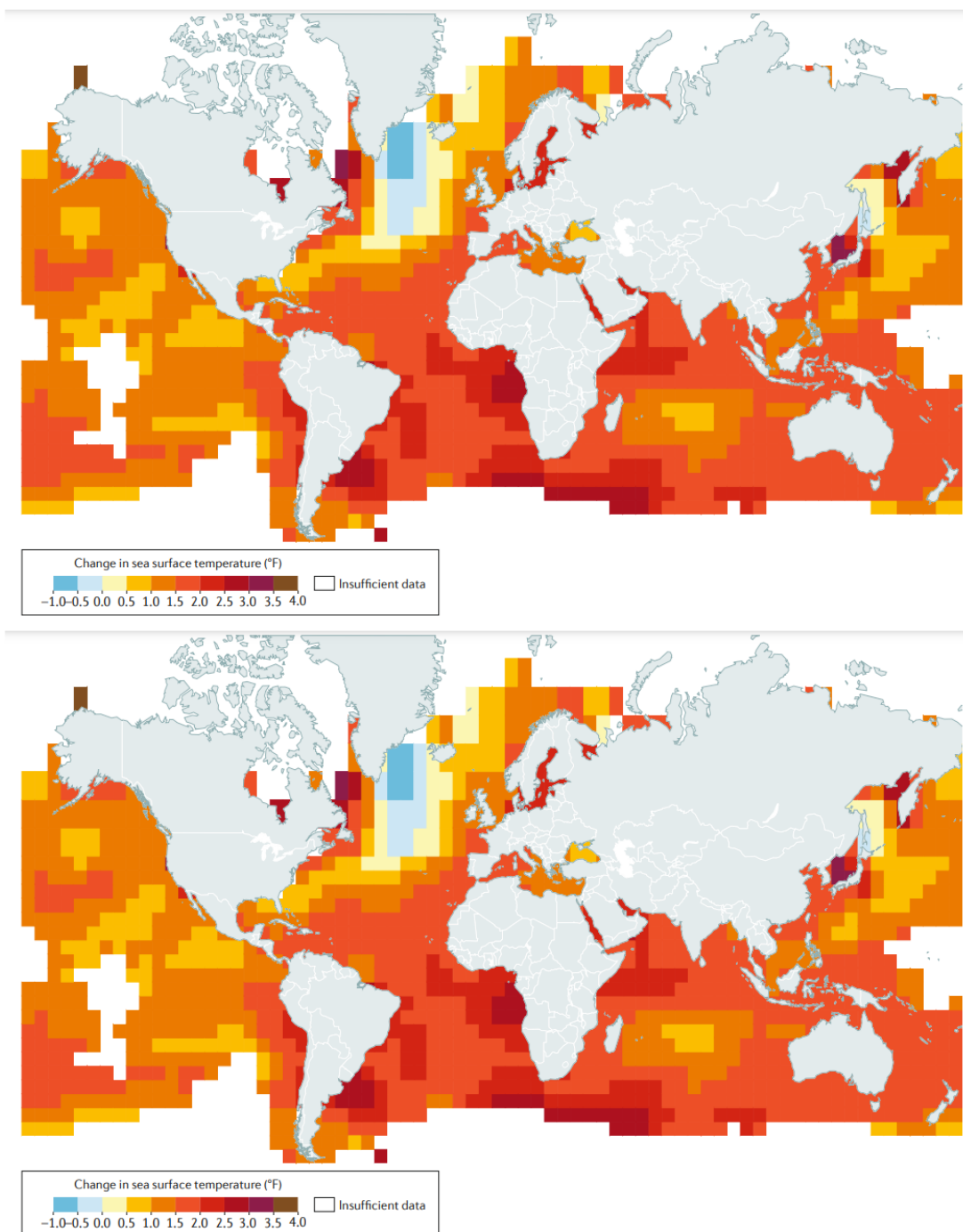
ΚΛΙΜΑΤΙΚΗ ΑΛΛΑΓΗ ΚΑΙ ΟΙ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΤΗΣ ΑΝΑΦΟΡΙΚΑ ΜΕ ΤΙΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ *Vibrio spp.*

Η αύξηση της θερμοκρασίας και ειδικότερα η ραγδαία υπερθέρμανση σε παράλιες περιοχές ως συνέπεια της κλιματικής αλλαγής, είναι πιθανότατο να επεκτείνει σε μεγάλο βαθμό τη γεωγραφική επέκταση και τις επιπτώσεις του παθογόνου *Vibrio spp.* ^[21]

Ήδη από το 2000 έχουν προκύψει εντυπωσιακά στοιχεία αυτής της διαδικασίας, συμπεριλαμβανομένων βασικών μελετών που αξιολογούν την σχέση μεταξύ της μεταβαλλόμενης αφθονίας αυτών των βακτηριδίων στο περιβάλλον και της υπερθέρμανσης του πλανήτη. ^[22]

Αυτές οι μελέτες, σε συνδυασμό με την προτίμηση αυτών των παθογόνων παραγόντων να αναπτύσσονται σε ζεστό, υφάλμυρο νερό, υποδηλώνουν ότι αυτά τα βακτήρια πιθανά θα συνεχίσουν να προκαλούν λοιμώξεις σε ένα σενάριο διαρκούς μεταβολής του κλίματος με αύξηση της θερμοκρασίας, εικόνα 3.

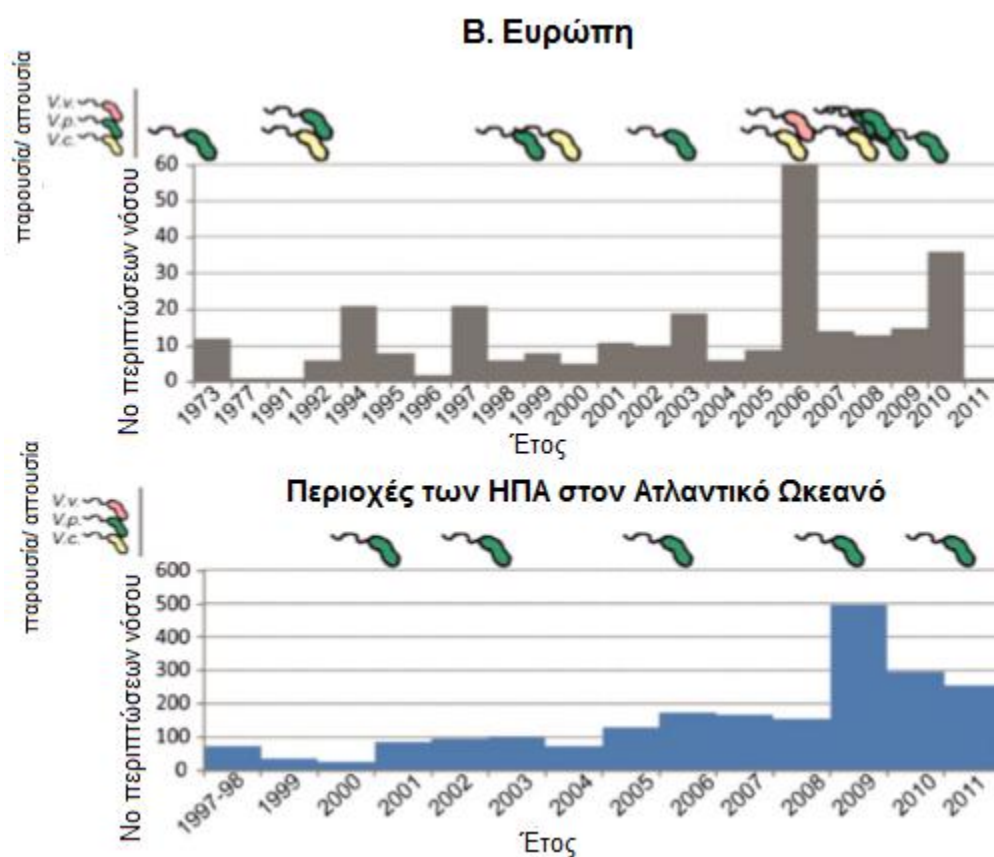
Στην εικόνα 3. καταγράφεται η μέση τιμή των μεταβολών της θερμοκρασίας στην επιφάνεια της θάλασσας παγκοσμίως, μεταξύ των ετών 1901 και 2015. Οι μετρήσεις βασίζονται στον συνδυασμό μεταξύ των άμεσων μετρήσεων και των δορυφορικών. Τα δεδομένα δείχνουν ότι οι ωκεανοί είναι αυτοί που έχουν θερμανθεί περισσότερο, παρότι περιφερειακά δεν υπάρχει αντίστοιχη αύξηση, (π.χ Β. Αμερική).



Εικόνα 3. Επίδραση της κλιματικής αλλαγής στις λοιμώξεις που προκαλούνται από *Vibrio spp.* Πηγή: IPCC, 2018: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis*.

Η μελέτη με δεδομένα από τις παρατηρηθείσες διαφορές στις θερμοκρασίες των ακτών της Αγγλίας και Ουαλίας, έδωσαν θεαματικά αποτελέσματα, εδραιώνοντας το γεγονός της ταχείας αύξησης και εξάπλωσης του *Vibrio spp.* [21]

Συλλέχθηκαν δείγματα από 3 περιοχές στις οποίες είχε σημειωθεί αύξηση των θερμοκρασιών του παράλιου νερού και βρέθηκαν θετικά στην παρουσία του *Vibrio spp.* Ταυτοποιήθηκαν τα είδη *Vibrio rotiferianus* και *Vibrio jasicida* καθώς και *Vibrio parahaemolyticus*. [21]



Εικόνα 4. Καταγεγραμμένες λοιμώξεις από *Vibrio spp.* σε χώρες της Β. Ευρώπης (συμπεριλαμβανομένων χωρών της Βαλτικής) και των ακτών του Ατλαντικού στις ΗΠΑ, μεταξύ των ετών 1958–2011. Φαίνεται η παρουσία *V. cholerae* (κίτρινο), *V. parahaemolyticus* (πράσινο) και *V. vulnificus* (ροζ).

Πηγή: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.160915711

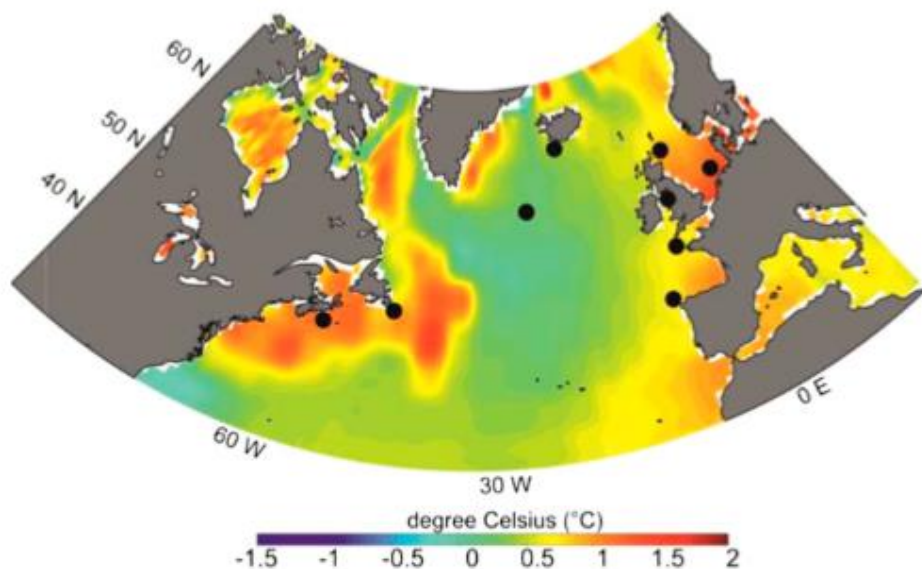
Η εφαρμογή μεθόδων ανάλυσης ολόκληρου του γονιδιώματος με αλληλούχιση, έριξε φως στη δομή και τις μολυσματικές ιδιότητες πολλών ειδών του γένους *Vibrio spp.*, στην αποσαφήνιση των πηγών προέλευσης επιδημιών που προκλήθηκαν από αυτά και στον καθορισμό της εξελεγκτικής τους ιστορίας. [2, 6]

Ειδικότερα με τη χολέρα, οι ταξιδιωτικές μετακινήσεις εμπλέκονται και ενοχοποιούνται στη μετάδοση και εξάπλωση της νόσου. [23]

Η περιοχή της Βεγγάλης απετέλεσε πηγή πολλών πανδημικών κυμάτων του *V. cholerae* και της πανδημίας O3:K6 από το *V. parahaemolyticus*. [16]

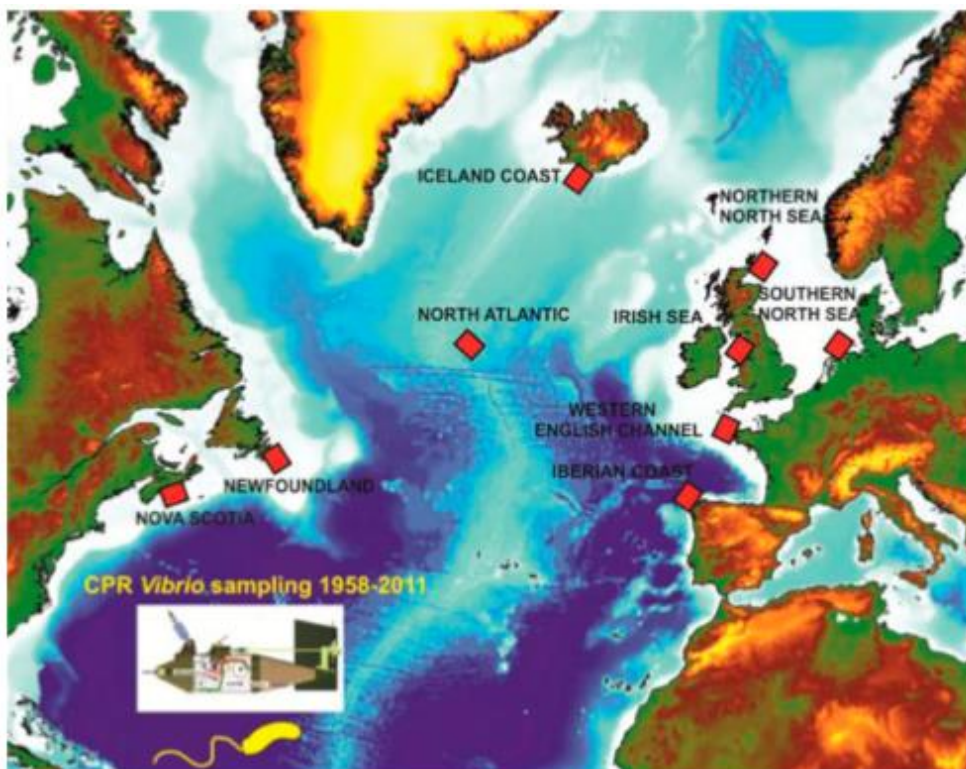
Η ταχεία διασπορά του *V. parahaemolyticus* κατά την εξάπλωση της πανδημίας O3:K6 το 1990 και στις αρχές του 2000, αλλά και το 2012 όταν εξαπλώθηκε στις ΒΔ περιοχές του Ειρηνικού ωκεανού το στέλεχος ST36 τεκμηριώνουν ότι μηχανισμοί μετακίνησης υδάτων με αυξημένες θερμοκρασίες είναι αυτοί που εμπλέκονται. [16]

Μεγάλης κλίμακας οικολογικές και παλαιοντολογικές αναλύσεις αποδεικνύουν ότι οι παρατηρούμενες κλιματικές αλλαγές έχουν μεγάλο αντίκτυπο στους θαλάσσιους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Ωστόσο, η επίδραση της κλιματικής αλλαγής με την αύξηση της θερμοκρασίας των υδάτων στους θαλάσσιους προκαρυωτικούς οργανισμούς και ειδικότερα στο γένος *Vibrio spp.* κατέστη δυνατή να επιβεβαιωθεί με μελέτες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν δείγματα πλαγκτόν που είχαν συλλεχθεί στα μισά του προηγούμενου αιώνα και ήταν συντηρημένα σε φορμαλίνη, από περιοχές του εύκρατου Β. Ατλαντικού, εικόνες 4, 5, 6. [24]



Εικόνα 5. Αλλαγές στη θερμοκρασία του Β. Ατλαντικού (βαθμοί κελσίου °C) κατά τη διάρκεια της μελέτης μεταξύ των ετών 1890-1958 και 200-2011. Τα ζεστά χρώματα είναι περιοχές στις οποίες παρατηρείται αύξηση θερμοκρασίας. Οι κουκίδες δείχνουν τις περιοχές στις οποίες έγινε δειγματοληψία.

Πηγή: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.160915711



Εικόνα 6. Περιοχές δειγματοληψίας των αναδρομικών μοριακών μελετών των *Vibrio spp.* πληθυσμών από το 1958-2011 (κόκκινα τετραγωνάκια). Πηγή: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.160915711

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αποτελεί αδιαφιλονίκητο πλέον γεγονός ότι η παρατηρούμενη κλιματική αλλαγή με συνεπακόλουθη την αύξηση της θερμοκρασίας στο υδάτινο περιβάλλον, ευνοεί την εμφάνιση επιδημιών από το *Vibrio spp.* σε παγκόσμια κλίμακα. ^[25] Όντως, βρισκόμαστε ως πλανήτης σε «ζεστά νερά». Τα αποτελέσματα που αναφέρονται από τη Διακρατική Επιτροπή Εμπειρογνομόνων για την Κλιματική Αλλαγή [Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC-2019)], κάνουν λόγο για φυσική, χημική και βιολογική επίδραση της αύξησης της θερμοκρασίας στην ατμόσφαιρα και στους ωκεανούς ως αποτέλεσμα της κλιματικής αλλαγής. Τα νέα αυτά δεν είναι καθόλου ενθαρρυντικά, με δεδομένο ότι ο συνδυασμός της θέρμανσης των ωκεανών, της αύξησης της στάθμης των θαλασσών (υδάτων), και η αύξηση των ανθρωπίνων δραστηριοτήτων στα παράκτια ύδατα, θέτουν αυξημένα επικίνδυνες προϋποθέσεις για τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ ανθρώπων και *Vibrio spp.* ^[15, 17, 24, 26, 27] Τα τρία πιο σημαντικά, για την επίπτωση τους στην υγεία του ανθρώπου, είδη:

- ✓ *V. cholerae* (αιτιολογικός παράγοντας για τη χολέρα στον άνθρωπο),
- ✓ *V. vulnificus*, υπεύθυνο για την σήψη των μολυσμένων άκρων και

✓ *V. parahaemolyticus*, υπεύθυνο για οξεία διαρροϊκή νόσο

πιστοποιήθηκαν από το CDC (CDC, 2006) ως οι κύριοι καθοριστές των λοιμώξεων από *Vibrio spp.* (vibrioses). Οι παθογόνοι αυτοί μικροοργανισμοί προκαλούν τις αντίστοιχες τροφιμογενείς ασθένειες (λοιμώξεις) όταν καταναλωθούν ωμές τροφές μολυσμένες (θαλασσινά), οστρακοειδή, νερό, ή έρθουν σε επαφή με μολυσμένα αλμυρά και υφάλμυρα νερά μέρη του ανθρώπινου σώματος τα οποία έχουν πληγές, ή δεν υπάρχει σωστή προστασία και προφύλαξη των χεριών κατά τη διαχείριση και επεξεργασία μολυσμένων οστρακοειδών. Σύμφωνα με το CDC, περίπου 80.000 άνθρωποι νοσούν στις ΗΠΑ από λοιμώξεις- vibrioses και 100 άνθρωποι πεθαίνουν από τη μόλυνση. [28] Οι διαρκώς μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες (π.χ. η αύξηση της θερμοκρασίας των επιφανειακών υδάτων) μπορεί να αυξήσει σημαντικά τον κίνδυνο λοιμώξεων που σχετίζονται με δυνητικά ανθρωπο-παθογόνα είδη *Vibrio spp.* Η κλιματική αλλαγή μπορεί να οδηγήσει σε επιταχυνόμενα οικολογικά προβλήματα και να εγείρει πρόσθετα ζητήματα δημόσιας υγείας. Την επόμενη δεκαετία, οι αυξήσεις της θερμοκρασίας του αέρα (με τα σχετικά μακροχρόνια καυτά καλοκαίρια) και οι συχνές έντονες καταιγίδες, σε συνδυασμό με αυξημένες θερμοκρασίες επιφανειακών υδάτων (έως $\geq 30^{\circ}\text{C}$) που προβλέπονται σε πολλές παράκτιες περιοχές του πλανήτη, θα μπορούσαν να προκαλέσουν μαζικούς θανάτους από υδρόβιους οργανισμούς και πιθανώς σημαντική αύξηση της επίπτωσης της διαρροϊκής νόσου. [29] Η αποτελεσματική παρακολούθηση των ειδών-στόχων *Vibrio spp.*, η δημιουργία προγνωστικών μοντέλων με βάση περιβαλλοντικούς δείκτες, καθώς και η έγκαιρη ανταπόκριση από τις αρχές δημόσιας υγείας (π.χ. μέτρα πρόληψης και θεραπείας για την καταπολέμηση σχετικών ασθενειών), θα μπορούσε να συμβάλλουν στη μείωση της πιθανότητας εμφάνισης των vibrioses. [29-38]

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Canellas ALB, Lopes IR, Mello MP, Paranhos R, de Oliveira BFR, Laport MS. *Vibrio* Species in an Urban Tropical Estuary: Antimicrobial Susceptibility, Interaction with Environmental Parameters, and Possible Public Health Outcomes. *Microorganisms* 2021, 9(5), 1007
2. Thompson FL, Gevers D, Thompson CC, Dawyndt P, Naser S, Hoste B, Munn CB, Swings J (2005). "Phylogeny and Molecular Identification of *Vibrio*'s on the Basis of Multilocus Sequence Analysis". *Applied and Environmental Microbiology*. 71 (9): 5107–5115
3. [Shakeri](#) A. Filippo Pacini-A Life of Achievement. *JAMA Dermatol*. 2018, 154(3):300. doi: 10.1001/jamadermatol.2017.5356
4. Stöppler M. "Medical Definition of *Vibrio cholerae*". *Med Terms Dictionary*. MedicineNet. Retrieved 2021-06-03
5. Zhang X, Lin H, Wang X, Austin B. Significance of *Vibrio* species in the marine organic carbon cycle—A review. *Sci. China Earth Sci*. 2018, 61, 1357–1368
6. Baker-Austin C, Trinanes J, Martinez-Urtaza J. The new tools revolutionizing *Vibrio* science. *Environ. Microbiol*. 2020, 22, 4096–4100
7. Bowley J, Baker-Austin C, Porter A, Hartnell R, Lewis C. Oceanic hitchhikers—Assessing pathogen risks from marine microplastic. *Trends Microbiol*. 2021, 29, 107–116
8. Madigan M, Martinko J, eds. (2005). *Brock Biology of Microorganisms* (11th ed.). Prentice Hall. ISBN 978-0-13-144329-7
9. Fazlurrahman K, Nazia T, Raksha A, Young-Mog K. "Motility of *Vibrio* spp.: regulation and controlling strategies". *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020, 104 (19): 8187–8208
10. Trucksis M, Michalski J, Deng Y K, Kaper JB. "The *Vibrio cholerae* genome contains two unique circular chromosomes". *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998, 95 (24): 14464–14469

11. Okada K, Iida T, Kita-Tsukamoto K, Honda T. "Vibrios Commonly Possess Two Chromosomes". *Journal of Bacteriology*. 2005, 187 (2): 752–757
 12. Rasmussen T, Jensen R B, Skovgaard O. "The two chromosomes of *Vibrio cholerae* are initiated at different time points in the cell cycle". *The EMBO Journal*. 2007, 26 (13): 3124–3131
 13. Kirkup BC, Chang LA, Chang S, Gevers D, Polz MF. "Vibrio chromosomes share common history". *BMC Microbiology*. 2010, 10: 137
 14. Genome Taxonomy Database (GTDB). Available online: <https://gtdb.ecogenomic.org/tree> (accessed on 7 June 2020)
 15. Baker-Austin C, Trinanés J, González-Escalona N, Martínez-Urtaza J. Non-Cholera Vibrios: The microbial barometer of climate change. *Trends Microbiol*. 2017, 25, 76–84
 16. Sulav Indra P, Mahbubur R, Abdus SM, Arifur R K, Tofazzal I. "Identification of marine sponge-associated bacteria of the Saint Martin's island of the Bay of Bengal emphasizing on the prevention of motile *Aeromonas septicemia* in *Labeo rohita*". *Aquaculture*. 2021, 545: 737156
 17. Baker-Austin C, Oliver JD, Alam M, Ali A, Waldor MK, Qadri F, Martínez-Urtaza J. *Vibrio* spp. infections. *Nat. Rev. Dis. Primers* 2018, 4, 1–19
 18. Regev Y, Davidovich N, Berzak R, Lau SC, Scheinin AP, Tchernov D, Morick D. Molecular identification and characterization of *Vibrio* species and *Mycobacterium* species in wild and cultured marine fish from the Eastern Mediterranean Sea. *Microorganisms*. 2020, 8, 863
 19. Elmahdi S, DaSilva LV, Parveen S. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in various countries: A review. *Food Microbiol*. 2016, 57, 128–134
 20. Loo KY, Letchumanan V, Law JWF, Pusparajah P, Goh BH, Ab Mutalib NS, He YW, Lee LH. Incidence of antibiotic resistance in *Vibrio* spp. *Rev. Aquac*. 2020, 12, 2590–2608
 21. Harrison J, Nelson K, Morcrette H, Morcrette C, Preston J, Helmer L, et al. The increased prevalence of *Vibrio* species and the first reporting of *Vibrio jasicida* and *Vibrio rotiferianus* at UK shellfish sites. [Water Research](#). 2022, [Volume 211](#), 117942
 22. IPCC, 2018: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1535 pp.
 23. www.WHO.int/cholera. En
 24. Vezzulli L, Grande C, Reidb PC, Hélaouët P, Edwardsb M, Höfled MG, Brettard I, Colwelle RR, Pruzzoa C. Climate influence on *Vibrio* and associated human diseases during the past half-century in the coastal North Atlantic. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.160915711
 25. Froelich BA, and Daines DA. In hot water: effects of climate change on *Vibrio*–human interactions. *Environmental Microbiology*. 2020, 22(10): 4101–4111 doi:10.1111/1462-2920.14967
 26. Deeb R, Tufford D, Scott GI, Moore JG, Dow K. Impact of Climate Change on *Vibrio vulnificus* Abundance and Exposure Risk. [Estuaries and Coasts](#). 2018, volume 41, pages 2289–2303
 27. Baker-Austin C, Trinanés JA, Salmenlinna S, Löfdahl M, Siitonen A, Taylor NGH, Martínez-Urtaza J. Heat Wave–Associated Vibriosis, Sweden and Finland, 2014. *Emerg Infect Dis*. 2016, 22(7):1216–1220. doi: 10.3201/eid2207.151996
 28. <https://www.cdc.gov › investigations>. Page last reviewed: March 5, 2019
 28. UND Programme. 2013. *Climate Change Strategy of Ajara*. Tbilisi: The United Nations Development Programme; (2013)
 29. Nishibushi M. Miscellaneous human pathogens. In: Thompson F, Austin B, Swings J, editors. *The Biology of Vibrios*. ASM Press; (2006). p. 423
 30. Akhmedov R, Haley BJ, Rajabov M, Ahmadova S, Gurbanov S, Colwell RR, et al. Detection of *Vibrio cholerae* in environmental waters including drinking water reservoirs of Azerbaijan. *Environ Microbiol Rep*. 2013,5(1):30–8.
 31. Valero A, Arroyo-López FN, Cabo ML, Chen S, Pérez-Díaz IM. Editorial: *Vibrio* Species in the Food Processing Chain. *Front Microbiol*. 2021, 12:796796. doi: 10.3389/fmicb.2021.796796. eCollection 2021.
 32. Trinanés J, Martínez-Urtaza J. Future scenarios of risk of *Vibrio* infections in a warming planet: a global mapping study. *The Lancet: Planetary health*. 2021, 5(7): E426-E435
 33. ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2016. *Vibrio* MapViewer. <https://e3geoportal.ecdc.europa.eu/SitePages/Vibrio%20Map%20Viewer.aspx> [accessed 17 April 2017]
 34. NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration). 2016. NOAA Optimum Interpolation (OI) SST v2. <http://www.esrl.noaa.gov/psd/data/gridded/tables/sst.html> [accessed 17 April 2017]
 35. [Semenza JC](#), [Trinanés J](#), [Lohr W](#), [Sudre B](#), [Löfdahl M](#), [Martínez-Urtaza J](#), [Nichols GL](#), [Rocklöv J](#). Environmental Suitability of *Vibrio* Infections in a Warming Climate: An Early Warning System. [Environ Health Perspect](#). 2017, 125(10): 107004
 36. WHO. Climate change and health. Feb 1, 2018. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/climate-change-and-health> (accessed April 3, 2021).
- Vibrio* spp.: Life Strategies, Ecology, and Risks in a Changing Environment. Sampaio A, Silva V, Poeta P, Aonofriesei F. *Diversity* 2022, 14, 97. <https://doi.org/10.>

Η σημασία του αντιγριπικού εμβολιασμού για την εποχική γρίπη στις ομάδες κινδύνου: μέτρα πρόληψης, ρόλος εμπλεκόμενων φορέων

Μαρία- Ελένη Αντωνίου

Νοσηλεύτρια, ΜΕΘ, Γενικό Νοσοκομείο Νίκαιας Πειραιά «Άγιος Παντελεήμων»

Εισαγωγή

Από την εποχή του Ιπποκράτη έχει διατυπωθεί η αξία και η σημασία της πρόληψης μιας νόσου έναντι της θεραπείας της. Η λήψη της απόφασης για τον υποχρεωτικό ετήσιο αντιγριπικό εμβολιασμό, ειδικότερα στις ομάδες υψηλού κινδύνου, αποτελεί μια προγραμματισμένη επιχειρησιακή στρατηγική του Υπουργείου Υγείας, μέσω της οποίας μειώνεται ο κίνδυνος από τις αρνητικές επιπτώσεις (μείωση νοσηρότητας, θνησιμότητας, και θνητότητας) στην υγεία αυτής της πληθυσμιακής ομάδας. Τα δεδομένα αποδεικνύουν ότι ο φετινός συνδυασμός γρίπης, αναπνευστικού συγκυτιακού ιού (RSV) και SARS-CoV-2 αποτελούν παράγοντες που καθιστούν τον αντιγριπικό εμβολιασμό αναγκαία συνθήκη. Τα χαμηλά ποσοστά γρίπης που παρατηρήθηκαν το 2020-2021, λόγω της εφαρμογής προληπτικών μέτρων για την αποτροπή μετάδοσης και περιορισμού της εξάπλωσης της πρόσφατης πανδημίας, δυστυχώς φαίνεται ότι για το 2022-2023 δεν ισχύουν. Η διεθνής βιβλιογραφία αποδεικνύει την αποτελεσματικότητα του αντιγριπικού εμβολιασμού σε όλες τις ηλικιακές ομάδες [1-7]. Στόχος των διεθνών οργανισμών υγείας είναι ο εμβολιασμός του πληθυσμού έναντι του ιού της γρίπης να ξεπερνά το 75% του συνόλου. Τα ετήσια δεδομένα του ΚΕΕΛΠΝΟ δείχνουν εξαιρετικά χαμηλά ποσοστά εμβολιαστικής κάλυψης του νοσηλευτικού προσωπικού, σε ποσοστό 10.93% για τα νοσοκομεία και 24.31% για τα ΚΥ το έτος 2015- 2016 [8]. Για το έτος 2017-2018, τα ποσοστά ήταν 24.9% και 40.2% αντίστοιχα. Για την περίοδο 2017-2018, η ιατρική υπηρεσία εμβολιάστηκε σε ποσοστό 40.3% έναντι 35.1% της νοσηλευτικής υπηρεσίας, το λοιπό

επιστημονικό προσωπικό εμβολιάστηκε κατά 29.2%, η τεχνική υπηρεσία κατά 31.7% και η διοικητική υπηρεσία κατά 31.2% [3].

1. ΣΗΜΑΣΙΑ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΓΡΙΠΗΣ ΤΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΑΥΞΗΜΕΝΟΥ ΚΙΝΔΥΝΟΥ, ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ

Οι πρόσφατες επιδημιολογικές προβλέψεις, βασιζόμενες στα δεδομένα από τον ΕΟΔΥ αναφορικά με την εποχική γρίπη, τονίζουν ότι η συνδυαστική εμφάνιση της εποχικής γρίπης με τους αναπνευστικούς ιούς (RSV-respiratory viruses) και του κορονοϊού (SARS-CoV-2) ενισχύουν τους φόβους για έξαρση των κρουσμάτων στην κοινότητα για τα προσεχή έτη, αυξάνοντας τη νοσηρότητα του πληθυσμού, με επιπτώσεις μεγάλες στις ευπαθείς ομάδες που θα μπορούσαν να οδηγήσουν έως και σε θανάτους [8-13]. Κατά τα έτη 2020-2021 (περίοδος πρόσφατης πανδημίας) η εμφάνιση της γρίπης φάνηκε περιορισμένη σε χαμηλά επίπεδα, γεγονός που θα μπορούσε να δικαιολογηθεί από τη λήψη και τήρηση μέτρων προσωπικής υγιεινής και μέτρων προφύλαξης. Επιπρόσθετα, οι κοινωνικές αποστάσεις που επιβλήθηκαν και τηρήθηκαν, καθώς και ο περιορισμός των μετακινήσεων λόγω του lockdown, συνέβαλαν στον περιορισμό της εμφάνισης και μετάδοσης της γρίπης. Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται παγκοσμίως και στην Ελλάδα επίσης, χαμηλή εμβολιαστική κάλυψη στον γενικό πληθυσμό αναφορικά με τη γρίπη [10-12]. Οι επιπτώσεις της χαμηλής εμβολιαστικής κάλυψης του πληθυσμού έχουν αρνητικό αντίκτυπο στο σύστημα υγείας, με αποτέλεσμα να αυξάνονται οι ημέρες νοσηλείας, να αυξάνεται η φαρμακευτική αντιϊκή δαπάνη και να ασκείται ασφυκτική πίεση στη λειτουργία των νοσοκομείων, με αυξημένες ροές ασθενών με γρίπη στα ΤΕΠ, κατά τις ημέρες γενικής εφημερίας. Παρόμοια εικόνα παρατηρείται και στα παιδιατρικά νοσοκομεία της Αττικής και της επικράτειας γενικότερα. Οι ΜΕΘ ασφυκτιούν από το μεγάλο αριθμό βαριά νοσοούντων από επιπλοκές της γρίπης, το προσωπικό στις δομές υγείας εξουθενώνεται και δημιουργούνται χαμένες ημέρες για τους νοσοούντες, από την εργασία και τις δραστηριότητές τους. Οπότε, συνολικά οι επιπτώσεις αφορούν τόσο σε οικονομικό, όσο και σε κοινωνικό επίπεδο [10-13]. Ο εμβολιασμός αποτελεί καθοριστικής σημασίας παρέμβαση της Δημόσιας Υγείας για τη διασφάλιση της ατομικής και κοινωνικής υγείας του πληθυσμού, ως η καλύτερη και ασφαλέστερη βασική στρατηγική πρόληψης έναντι των λοιμωδών νόσων γενικότερα, αλλά και ειδικότερα της εποχικής γρίπης. Ως λοιμώδης νόσημα, η γρίπη πλήττει ιδιαίτερα τις ευπαθείς ομάδες του πληθυσμού, αλλά και το προσωπικό που εργάζεται σε χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας

[14-16]. Ο ιός της γρίπης είναι ένας RNA ιός, είναι εξαιρετικά μεταλλάσσόμενος γενετικά και αντιγονικά, με δυνατότητα, όταν υπάρχει χαμηλή εμβολιαστική κάλυψη στον πληθυσμό, να προκαλέσει πανδημία. Ως εκ τούτου, τα νεότερα αντιγριπικά εμβόλια ενσωματώνουν τμήματα στελεχών του ιού με τις νέες μεταλλάξεις του, ώστε να θωρακίζουν αποτελεσματικά την ανοσία της αγέλης [17-19]. Ο ΕΟΦ που διενεργεί την φαρμακοεπαγρύπνηση αναφέρει ότι το νέο αντιγριπικό εμβόλιο που διατίθεται για χρήση, συμπεριλαμβάνει και τα νέα στελέχη του ιού της γρίπης. Επισημαίνει ότι δεν αναφέρονται ανεπιθύμητες παρενέργειες (πλην των προβλεπόμενων, όπως τοπικός ερεθισμός, διάρροια, κνησμός, ερεθισμός του δέρματος, εξάνθημα). Επίσης, δεν αναφέρονται ούτε συμπτώματα που μοιάζουν με εκείνα της γρίπης, όπως βήχας, πόνος στο στόμα και στο λαιμό και κνησμός τοπικά στο σημείο εφαρμογής του εμβολίου [20-21]. Πολλοί παράγοντες, όπως οι αυξημένες εισροές μεταναστών και προσφύγων, οι συνθήκες φτώχειας για ομάδες του πληθυσμού, η επανεμφάνιση ασθενειών που είχαν στο παρελθόν εκλείψει, όπως για παράδειγμα η φυματίωση, η πρόσφατη πανδημία της νόσου COVID-19 και άλλες, καθιστούν τον εμβολιασμό αναγκαιότητα για συλλογική ανοσία με σκοπό να διατηρηθεί η υγεία των πολιτών και είναι δεσμευτική ως ατομικό δικαίωμα, αλλά και ως κοινωνική ευθύνη. Ο αντιγριπικός εμβολιασμός είναι αναγκαίο να επαναλαμβάνεται κάθε χρόνο. Συστήνεται κατά προτεραιότητα στις παρακάτω ομάδες του πληθυσμού:

- ενήλικες ηλικίας άνω των 60 ετών
- παιδιά ηλικίας 6 μηνών και άνω
- ενήλικες με ένα ή περισσότερους επιβαρυντικούς παράγοντες, όπως το άσθμα
- ασθενείς με χρόνια νοσήματα
- ασθενείς με καρδιακή νόσο με σοβαρή αιμοδυναμική διαταραχή
- ασθενείς με νευρολογικά και νευρομυϊκά νοσήματα
- ανοσοκατασταλμένους και μεταμοσχευμένους ασθενείς
- πολυμεταγγιζόμενους ασθενείς
- έγκυες, λεχρίδες και θηλάζουσες γυναίκες
- άτομα με νοσογόνο παχυσαρκία ($\Delta\text{ΜΣ} > 40\text{kg/m}^2$) και παιδιά με $\Delta\text{ΜΣ} > 95\text{ηΕΘ}$.
- άτομα με αυτοάνοσα νοσήματα
- άτομα που βρίσκονται σε στενή επαφή με παιδιά μικρότερα των 6 μηνών ή φροντίζουν ή ζουν με άτομα που έχουν υποκείμενο νόσημα
- κλειστούς πληθυσμούς, όπως προσωπικό και εσωτερικοί σπουδαστές σχολείων, στρατιωτικών και αστυνομικών σχολών, ειδικών σχολείων, νεοσύλλεκτοι, ιδρύματα χρονίων πασχόντων, μονάδες φιλοξενίας ηλικιωμένων και σωφρονιστικά ιδρύματα

- εργαζόμενους σε χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας (ιατρονοσηλευτικό προσωπικό, λοιποί εργαζόμενοι, φοιτητές επαγγελματιών υγείας σε κλινική άσκηση)
- κέντρα διαμονής προσφύγων, μεταναστών και άστεγων
- σε ειδικά επαγγέλματα όπως κτηνίατροι, πτηνοτρόφοι, χοιροτρόφοι, εκτροφείς, σφαγείς και γενικά άτομα που έρχονται σε συστηματική επαφή με πτηνά ή χοίρους.

2. Κοινωνικοί εταίροι εμπλεκόμενοι στην υλοποίηση της εμβολιαστικής κάλυψης ατόμων ηλικίας άνω των 60 ετών

Προκειμένου να γίνει σωστός εμβολιαστικός προγραμματισμός, θα πρέπει να ληφθούν υπόψη τα επιδημιολογικά μεσοπρόθεσμα και μακροπρόθεσμα οφέλη του εμβολιασμού για την ασθένεια. Να γίνει επιδημιολογική επιτήρηση μετά την εφαρμογή του εμβολιαστικού προγράμματος και να διαφυλαχθεί σε υψηλά ποσοστά (75% και άνω) η εμβολιαστική κάλυψη στον πληθυσμό. Τα ανωτέρω ισχύουν ακόμα και στην περίπτωση που η ασθένεια τείνει να εξαλειφθεί, αλλά υπάρχει φόβος επανεμφάνισής της [22]. Κατά το τρέχον έτος η Εθνική Επιτροπή Εμβολιασμού θα δώσει επιπρόσθετη βαρύτητα, για την αύξηση του εμβολιαστικού ποσοστού στην ομάδα άνω των 60-65 ετών. Τα ποσοστά εμβολιασμού κατά της εποχικής γρίπης στην ΕΕ και παγκοσμίως παραμένουν σημαντικά χαμηλότερα από τον στόχο κάλυψης του 75 % για τα άτομα άνω των 60-65 ετών [22-23]. Παρά τα αποδεικτικά στοιχεία σχετικά με την σοβαρότητα της γρίπης μεταξύ των ατόμων μεγαλύτερης ηλικίας, μόνο ένα κράτος μέλος της ΕΕ έχει επιτύχει τον στόχο κάλυψης [24]. Λόγω των επιπλοκών από τη νόσηση με τον ιό της γρίπης, που θα μπορούσε να αποβεί έως και θανατηφόρα στην ηλικιακή ομάδα άνω των 60 ετών, η πρόληψη μέσω του εμβολιασμού αποτελεί μονόδρομο ως βέλτιστη γραμμή άμυνας. Τα άτομα αυτής της ομάδας έχουν κατά πλειοψηφία υποκείμενα νοσήματα (ΣΔ I και II, καρδιαγγειακά νοσήματα, υπέρταση, αυτοάνοσα νοσήματα, κακοήθειες ή νεοπλασίες, υπό χημειο-ακτινοθεραπείες), είναι υπέρβαρα και λαμβάνουν συστηματικά φαρμακευτική αγωγή για διάφορα νοσήματα. Οι περισσότεροι έχουν στενή επαφή με παιδιά προσχολικής και σχολικής ηλικίας και έτσι είναι ακόμα πιο ευάλωτοι στο να μολυνθούν από τον ιό της γρίπης. Μεγάλο ποσοστό εξαρτάται από φροντιστές για να τους υποστηρίξουν στην καθημερινότητά τους εξαιτίας κινητικών προβλημάτων που πιθανώς αντιμετωπίζουν. Σε επίπεδο Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας ο εμβολιασμός κατά της γρίπης σε άτομα άνω των 65 ετών, σχετίζεται με την ολοκλήρωση των εμβολιαστικών προγραμμάτων ενηλίκων, στα πλαίσια της πρόληψης και της προαγωγής της υγείας. Η επίτευξη των στόχων των εμβολιαστικών προγραμμάτων αποτυπώνεται μέσω του αποτελέσματος της επαρκούς ανοσολογικής κάλυψης. Το Υπουργείο Υγείας με σχετικές εγκυκλίους και ο ΕΟΔΥ μέσω του Εθνικού Προγράμματος Εμβολιασμών, λαμβάνοντας υπόψιν τα επιδημιολογικά δεδομένα και πληροφορίες, ως άμεσα εμπλεκόμενοι φορείς, προωθούν

την προσπάθεια υλοποίησης του αντιγριπικού εμβολιασμού. Οι Δήμοι, τα Κοινοτικά διαμερίσματα, οι Μονάδες Υγείας, οι προσωπικοί γιατροί, οι ιδιώτες γιατροί και τα ιδιωτικά κέντρα παροχής υπηρεσιών υγείας, τα φαρμακεία στα οποία επίσης διενεργούνται εμβολιασμοί, ως έμμεσα εμπλεκόμενοι φορείς, οφείλουν να εφαρμόσουν τα ανωτέρω. Οι δυσκολίες με τις οποίες πολλές φορές έρχονται αντιμέτωποι οι έμμεσα εμπλεκόμενοι, είναι η μη έγκαιρη διαθεσιμότητα από τους προμηθευτές ικανού αριθμού εμβολίων για να καλυφθούν οι εμβολιαστικές ανάγκες και η άρνηση για εμβολιασμό από την συγκεκριμένη ηλικιακή ομάδα. Στα αρνητικά συγκαταλέγεται η ελλιπής ενημέρωση του κοινού για την ανάγκη εμβολιασμού, η άγνοια και η αμέλεια. Η ψυχική κόπωση των τελευταίων ετών από τον συνεχή βομβαρδισμό πληροφοριών αναφορικά με την πανδημία, και ο εγκλεισμός, επιδεινώνουν περαιτέρω την κατάσταση. Ο βαθμός επιρροής του Υπουργείου Υγείας και του ΕΟΔΥ παραμένει σε χαμηλά επίπεδα και ο ρόλος τους σε σχέση με την πειθώ σημειώνει αρνητικό πρόσημο. Επιπλέον, η ετερογένεια λόγων των ειδικών, αναφορικά με την αποτελεσματικότητα των αντιγριπικών εμβολίων, έχουν αρνητικό αντίκτυπο και δεν πείθουν τον κοινό. Οι μελέτες έχουν δείξει ότι η αποτελεσματικότητα του αντιγριπικού εμβολίου παρουσίαζε πάντα διακυμάνσεις. Για παράδειγμα μελέτη του 2021 απέδειξε ότι μεταξύ ενηλίκων που νοσηλεύτηκαν με γρίπη, οι εμβολιασμένοι ασθενείς είχαν κατά 26% χαμηλότερο κίνδυνο εισαγωγής σε ΜΕΘ και κατά 31% χαμηλότερο κίνδυνο θανάτου από τη λοίμωξη, σε σύγκριση με τους ανεμβολίαστους [1,2,6,7]. Μελέτη του 2018, για την περίοδο 2012–2015, απέδειξε ότι οι εμβολιασμένοι ασθενείς είχαν 59% λιγότερες πιθανότητες να εισαχθούν σε ΜΕΘ από εκείνους που δεν είχαν εμβολιαστεί [2,4,5].

3. ΥΛΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΑΠΟΦΑΣΗΣ ΑΝΤΙΓΡΙΠΙΚΟΥ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ (5 ΣΤΑΔΙΑ)

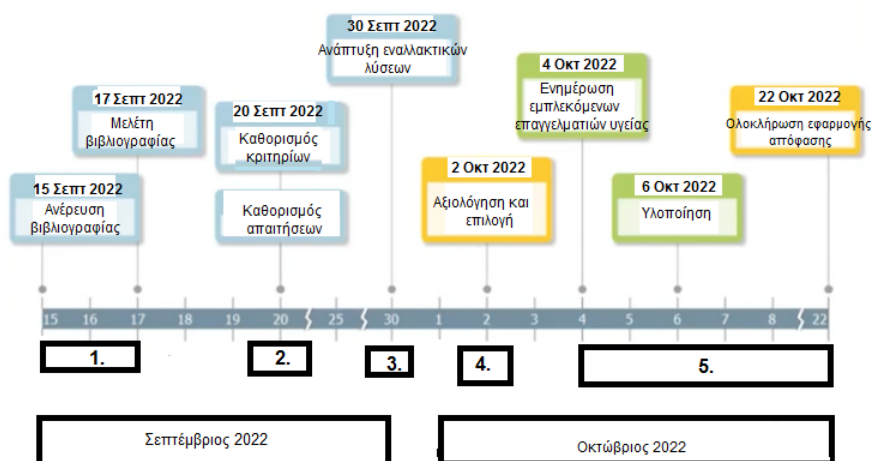
Το χρονοδιάγραμμα υλοποίησης του εμβολιασμού περιλαμβάνει τα παρακάτω στάδια:

- a) Αναγνωρίζοντας το πρόβλημα αναφορικά με τον αντίκτυπο της νόσησης από γρίπη στην ομάδα ενηλίκων >60 ετών αποφασίζεται στις 15 Σεπτεμβρίου 2022 σε συνεργασία με τις ομοσπονδίες και ενώσεις ατόμων με σακχαρώδη διαβήτη, αυτοάνοσα νοσήματα, καρδιαγγειακά νοσήματα, μεταμοσχευμένους, χρόνια πάσχοντες με αναπνευστικά προβλήματα και λαμβάνοντες συστηματικά φαρμακευτικά σκευάσματα, τις αντίστοιχες επιστημονικές εταιρείες, τους ραδιοτηλεοπτικούς σταθμούς και τον έντυπο τύπο, να αρχίσει ενημέρωση του πληθυσμού στόχου. Στο στάδιο αυτό έχει υπάρξει η σχετική βιβλιογραφική και επιδημιολογική ενημέρωση με πρόσφατα δεδομένα και μελέτες.
- b) Στις 20 Σεπτεμβρίου 2022 καθορίζονται τα κριτήρια και οι απαιτήσεις προκειμένου να ενισχυθεί το ποσοστό εμβολιασμού της ομάδας στόχου. Θα πρέπει να πληρούνται κάποιες προϋποθέσεις, όπως δυνατότητα για άμεση εφαρμογή της απόφασης, διαθέσιμα κονδύλια από τον κρατικό προϋπολογισμό,

συντονισμός στο ανθρώπινο δυναμικό και να αναπτυχθεί καλή συνεργασία μεταξύ των εμπλεκόμενων φορέων. Σημαντικοί παράγοντες είναι η πειθώ, οι γνώσεις, η εκπαίδευση και η επιστημονική τεκμηρίωση σύμφωνα με την πρόσφατη βιβλιογραφία, αλλά και η ομοφωνία.

- c) Στις 30 Σεπτεμβρίου αναπτύσσονται εναλλακτικές λύσεις. Οι προτάσεις για την καμπάνια που θα διενεργηθεί αφορούν σε σποτ, διαφημίσεις, βίντεο, αφίσες σε σταθμούς μετρό και στάσεις μέσω μαζικής μεταφοράς, σε κεντρικά σημεία και πλατείες αστικών περιοχών. Πιθανόν να διανεμηθεί ενημερωτικό υλικό μέσω ταχυδρομείου. Μπορούν να πραγματοποιηθούν συζητήσεις και ομιλίες από έγκριτο επιστημονικό προσωπικό σε ΚΑΠΗ και Πνευματικά Κέντρα Δήμων και Κοινοτήτων.
- d) Στις 2 ως 4 Οκτωβρίου 2022 γίνεται η αξιολόγηση των προτάσεων και η επιλογή των καταλληλότερων. Αποφασίζεται επιπλέον η συμμετοχή επαγγελματιών υγείας, καθώς και ατόμων που υποστηρίζουν καθημερινά την ομάδα στόχου (συνοδοί, συγγενείς, φροντιστές) στις επιλεγείσες δράσεις, καθώς και ορισμένων κοινωνικών οργανισμών οι οποίοι συμμετέχουν αφίλοκερδώς.
- e) Στις 6 Οκτωβρίου 2022 ξεκινά η υλοποίηση δράσεων η οποία έχει χρονικό ορίζοντα εφαρμογής την καταληκτική ημερομηνία 22 Οκτωβρίου 2022.

ΥΛΟΠΟΙΗΣΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΑΠΟΦΑΣΗΣ ΑΝΤΙΓΡΙΠΙΚΟΥ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ ΗΛΙΚΙΑΣ >60 ΕΤΩΝ



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το ποσοστό της η εμβολιαστικής κάλυψης κάθε χώρας συνιστά δείκτη ποιότητας των υπηρεσιών υγείας και αντικατοπτρίζει το επίπεδο των παρεχόμενων υπηρεσιών δημόσιας υγείας στο σύνολό τους. Ο εμβολιασμός κατά της γρίπης, συστήνεται ετησίως σε όλες τις χώρες της ΕΕ. Στην Ευρώπη, όπως και στην Ελλάδα, η εμβολιαστική

κάλυψη αγγίζει το 42% έναντι του ποσοστού άνω του 75% που προβλέπεται από το διεθνή στόχο και είναι χαμηλό. Οι πολιτικές εμβολιασμού μεταξύ των χωρών διαφέρουν. Εντός ΕΕ μόνο η Σερβία έχει νομοθετήσει τον αντιγριπικό εμβολιασμό ως υποχρεωτικό. Τα αντιγριπικά εμβόλια παρασκευάζονται επικαιροποιημένα και αναφέρονται περιορισμένες και ελεγχόμενες παρενέργειές τους. Η τεκμηριωμένη πειθώ, η σοβαρότητα λόγου και έργων του πολιτικού προσωπικού και η ομοφωνία του επιστημονικού κόσμου αποτελούν βασικούς παράγοντες στην εξάλειψη του φόβου και των πιθανών φραγμών, μειώνοντας τις αντιεμβολιαστικές πεποιθήσεις. Ο φετινός χειμώνας θα βρει ευάλωτο ανοσολογικά τον πληθυσμό και ο συνδυασμός της εποχικής γρίπης, των αναπνευστικών ιών και του SARS-CoV-2 θα αποτελέσει εκρηκτικό παράγοντα αύξησης των κρουσμάτων, ειδικότερα για τις ευπαθείς ομάδες.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Belongia, E.A., Skowronski, D.M., McLean, H.Q., Chambers, C., Sundaram, M.E., De Serres, G. (2017). Repeated annual influenza vaccination and vaccine effectiveness: review of evidence. *Expert Rev Vaccines*,16(7):1-14
2. Smetana, J., Chlibek, R., Shaw, J., Splino, M., Prymula, R. (2017). Influenza vaccination in the elderly. *Hum Vaccin Immunother*,14(3):540-549
3. Maltezou, H.C., Theodoridou, K., Ledda, C., Rapisarda, V., Theodoridou, M. (2018). Vaccination of healthcare workers: is mandatory vaccination needed? *Expert Review of Vaccines*, 18(1): 5-13
4. Pang, Y., Yu, M., Lv, M., Lu, M., Wu, J., et al. (2021). Repeated influenza vaccination and hospitalization outcomes among older patients with cardiovascular or respiratory diseases. *Hum Vaccin Immunother*, 17(12):5522-5528
5. Doyle, J.D., Beacham, L., Martin, E.T., Talbot, H.K., Monto, A., et al. (2021). Relative and Absolute Effectiveness of High-Dose and Standard-Dose Influenza Vaccine Against Influenza-Related Hospitalization Among Older Adults-United States, 2015-2017. *Clin Infect Dis*, 72(6):995-1003
6. Marano, G., Boracchi, P., Luconi, E., Pariani, E., Pellegrinelli, L., Galli, C., et al. (2021). Evaluation of influenza vaccination efficacy in reducing influenza-related complications and excess mortality in Northern Italy (2014-2017). *Expert Rev Vaccines*, 20(1):73-81
7. Sugishita, Y., Sugawara, T. (2021). Effectiveness and cost-effectiveness of influenza vaccination for elderly people. *Vaccine*, 39(52):7531-7540
8. ΚΕΕΛΠΝΟ 2016. Αντιγριπικός εμβολιασμός για τους επαγγελματίες υγείας
9. ΚΕΕΛΠΝΟ 2016. Εποχική γρίπη, ερωτήσεις και απαντήσεις για το κοινό
10. WHO, Immunization Coverage, Fact Sheet 2018
11. ΕΟΔΥ 2021-2022. Η Δραστηριότητα της Γρίπης στην Ελλάδα το 2021-2022
12. European Centre for Disease Prevention and Control – ECDC
13. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza, Λονδίνο, Ηνωμένο Βασίλειο – WHOCC
14. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Seasonal-influenza-vaccination-antiviral-use-europe.pdf>
15. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs378/en/>
16. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/vaccination/docs/seasonflu_staffwd2014_en.pdf
17. Leo, O., Guinnigham, A., Stern, P.L. (2011). Vaccine immunology. *Perspectives in Vaccinology*, 1(1): 25-59
18. Préziosi, M., Halloran, M.E. (2003). Effects of Pertussis Vaccination on Disease: Vaccine Efficacy in Reducing Clinical Severity. *Clinical Infectious Diseases*, 37 (6): 772–779
19. www.Niaid.nih.gov. 2012 «Vaccine Types»
20. <https://www.eof.gr>

21. <http://www.ema.europa.eu>
22. (<http://eur-lex.europa.eu>)
23. Ye, C., Zhu, W., Yu, J., Li, Z., Hu, W., Hao L, et al. (2018). Low coverage rate and awareness of influenza vaccine among older people in Shanghai, China: A cross-sectional study. Hum Vaccin Immunother, 14(11):2715-2721
24. (ECDC, Overview of vaccination recommendations and coverage rates in the EU Member States for the 2013–14 and 2014–15 influenza seasons).



Θήρα, τοιχογραφία της άνοιξης, Ύστερη εποχή του χαλκού, 1500 π.Χ.



Πρωτομαγιά στην Ερέτρια, Σπύρος Βασιλείου, 1968