

11<sup>ο</sup> ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ  
ΙΟΛΟΓΙΑΣ



ΒΙΒΛΙΟ ΠΕΡΙΛΗΨΕΩΝ



ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ HUMAN PARECHOVIRUS ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ.....	5
ΕΙΣΑΓΟΜΕΝΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΑ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΜΕ ΙΟ ΖΙΚΑ ΣΕ ΝΙΟΠΑΝΤΡΟ ΖΕΥΓΑΡΙ ΕΛΛΗΝΩΝ.....	6
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΟΝΙΔΙΑΚΟΥ RNA ΤΟΥ ΙΟΥ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΣΕ ΟΡΟ ΑΙΜΑΤΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΗΒΕΑΓ ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β.....	7
ΟΡΟΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΗΣ ΣΤΟΝ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Α (HAV), ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ HIV-1 ΛΟΙΜΩΞΗ.....	8
ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ HIV ΛΟΙΜΩΞΗΣ, ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΚΑΙ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C ΣΕ ΨΥΧΙΑΤΡΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ.....	9
ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΡΑΝΣΑΜΙΝΑΣΑΙΜΙΑΣ ΣΕ ΨΥΧΙΑΤΡΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C.....	10
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΕΠΕΙΓΟΝΤΟΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΟΖΩΔΟΥΣ ΔΕΡΜΑΤΙΤΙΔΑΣ ΤΩΝ ΒΟΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟ ΕΠΙΔΗΜΙΚΟ ΚΑΙ ΤΑ ΕΜΒΟΛΙΑΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΤΟΥ ΙΟΥ.....	12
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΚΑΙ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΕΠΙΠΤΩΣΕΩΝ ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ ΒΟΟΕΙΔΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΟΖΩΔΟΥΣ ΔΕΡΜΑΤΙΤΙΔΑΣ.....	13
ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΠΥΛΗΣ ΕΙΣΟΔΟΥ ΚΑΙ ΔΙΑΣΠΟΡΑΣ ΤΟΥ ΙΟΥ RGNNV ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ, <i>Dicentrarchus labrax</i> .....	14
ΜΕΘΟΛΟΓΙΑ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΩΝ ΔΟΚΙΜΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ Β-ΡΕΤΡΟΪΩΝ ΤΩΝ ΜΙΚΡΩΝ ΜΗΡΥΚΑΣΤΙΚΩΝ.....	15
ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ – ΠΟΡΕΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΕΠΙΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΛΥΣΣΑΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ.....	16
ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ L1 ΤΟΥ ΙΟΥ HPV ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΠΡΟΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ ΣΤΟΝ ΤΡΑΧΗΛΟ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ.....	18
Η CORE+1/ARFP ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΟΥ HCV ΡΥΘΜΙΖΕΙ ΤΟΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΥΚΛΟ.....	19
ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΙΟΥ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟΥ ΠΥΡΕΤΟΥ ΚΡΙΜΑΙΑΣ-ΚΟΝΓΚΟ ΑΠΟ ΚΡΟΤΩΝΕΣ ..	20
NEXT GENERATION SEQUENCING ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ VAVDOS (ΙΟΣ GREEK GOAT ENCEPHALITIS).....	21
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ CMV ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΟ ΝΟΜΟ ΣΕΡΡΩΝ.....	23
ΑΣΗΠΤΗ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑ ΑΠΟ ΙΟ ΤΟΥ ΔΥΤΙΚΟΥ ΝΕΙΛΟΥ ΣΕ HIV ΑΣΘΕΝΗ.....	24
ΥΨΗΛΑ ΠΟΣΟΣΤΑ ΜΕΤΑΔΙΔΟΜΕΝΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΟΥΣ ΝΑΪΒΕ HIV -1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΗΣ ΒΟΡΕΙΑΣ ΕΛΛΑΔΑΣ. ΔΕΔΟΜΕΝΑ 2012 ΕΩΣ 2016.....	25
ΟΞΕΙΕΣ ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΣΕ ΤΡΙΤΟΒΑΘΜΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ: ΜΙΑ ΠΡΟΟΠΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ.....	26
ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΤΡΙΣΤΕΤΣΑΣ ΤΩΝ ΕΣΠΕΡΙΔΟΕΙΔΩΝ (CITRUS TRISTEZA VIRUS) ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΤΟΥ ΜΕ ΚΛΑΣΙΚΕΣ ΚΑΙ ΣΥΓΧΡΟΝΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ (NGS).....	28



ΠΡΩΤΕΟΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥ ΑΡΧΙΚΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ ΣΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΠΝΟΥ-TOBACCO MOSAIC VIRUS ΚΑΙ DsRNA-ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ TMV.....	29
ΙΟΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΧΡΩΜΑΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΡΟΔΙΤΗ (GRLDaV): ΕΝΑΣ DNA ΙΟΣ ΜΕ ΕΥΡΕΙΑ ΔΙΑΣΠΟΡΑ ΣΤΟΥΣ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥΣ ΑΜΠΕΛΩΝΕΣ .....	30
ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΜΟΣΑΪΚΟΥ ΤΗΣ ΚΑΡΠΟΥΖΙΑΣ.....	31
ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΧΛΩΡΩΤΙΚΟΥ ΙΚΤΕΡΟΥ ΤΩΝ ΚΟΛΟΚΥΝΘΟΕΙΔΩΝ (CUCURBIT CHLOROTIC YELLOWS VIRUS, CCYV) ΜΕ ΤΟ ΦΟΡΕΑ ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥ .....	32
ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΜΙΑΣ STEM – LOOP REVERSE TRANSCRIPION PCR ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΓΡΑΦΙΚΑ ΕΝΕΡΓΩΝ ΕΝΤΕΡΟΪΩΝ ΜΕΣΩ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΑΡΝΗΤΙΚΗΣ ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑΣ RNA ΚΛΩΝΟΥ.....	34
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΑΣ ΙΣΟΘΕΡΜΙΚΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ (REVERSE TRANSCRIPTION-LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION, RT-LAMP) ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΕΝΤΕΡΟΪΩΝΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ C .....	35
ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΠΕΔΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΑΣ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΑ ΕΤΗ 2014-2016 ΣΤΟ ΝΟΜΟ ΣΕΡΡΩΝ .....	36
ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΔΗΜΙΑΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ ΣΤΗ ΒΟΡΕΙΑ ΕΛΛΑΔΑ, 2016.....	37
ΜΟΡΙΑΚΗ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΝΟΡΟΪΩΝ GI.4 ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ .....	38
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΝΕΑΣ ΠΟΛΥΠΛΕΚΤΙΚΗΣ PCR (MULTIPLEX PCR) ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΙΟΓΕΝΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΕΝΗΛΙΚΩΝ.....	39
ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΗ ΕΚΤΡΟΠΗ ΣΕ ΣΤΕΛΕΧΗ ΙΩΝ ΓΡΙΠΗΣ Α(H3N2) ΠΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΑΝ ΣΕ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΣΤΗ Β. ΕΛΛΑΔΑ. ....	40
ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ IN VITRO ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΕΜΒΟΛΙΑΚΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ SABIN 1 ΚΑΙ COXSACKIE A13. 41	
T-RECS: ΜΑΖΙΚΗ ΚΑΙ ΤΑΧΕΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ/ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΠΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ. ....	42
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΚΩΔΙΚΟΝΙΟΥ 72 ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ P53 ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΑΡΑΛΛΑΓΗΣ T350G ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ E6 ΤΟΥ HPV16 ΜΕ ΤΗ ΣΟΒΑΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΤΡΑΧΗΛΙΚΗΣ ΕΝΔΟΕΠΙΘΗΛΙΑΚΗΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΔΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΘΕΤΙΚΕΣ ΓΙΑ HPV16 .....	43
ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ P16 ΚΑΙ ΣΥΝΔΕΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΑΥΤΩΝ ΜΕ ΥΨΗΛΟΥ ΚΑΙ ΧΑΜΗΛΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΔΥΣΠΛΑΣΙΕΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΓΙΑ HPV-16 ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	44



# Συνεδρία 1



## ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ HUMAN PARECHOVIRUS ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

<sup>1</sup>Νικόλαος Σιαφάκας, <sup>1</sup>Σπυρίδων Πουρνάρας

<sup>1</sup>Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας, ΠΓΝ «ΑΤΤΙΚΟΝ»

**Εισαγωγή:** Οι παρεκοϊοί (Human Parechovirus – HPeV) είναι ευρύτατα διαδεδομένοι σε μικρά παιδιά και έχουν συνδεθεί με σοβαρές λοιμώξεις του γαστρεντερικού, αναπνευστικού και κεντρικού νευρικού συστήματος, όπως επίσης με περιστατικά μυοκαρδίτιδας και νεογνικής σήψης. Η παρούσα μελέτη επιχείρησε να διερευνήσει, για πρώτη φορά, την κυκλοφορία των Parechovirus στην Ελλάδα.

**Υλικά και Μέθοδοι:** Ελήφθησαν 166 δείγματα κοπράνων, 123 ENY, 22 ολικού αίματος, 5 φαρυγγικά επιχρίσματα και 5 υλικά δερματικής βλάβης από 261 παιδιά ηλικίας 1 ημέρας – 14 ετών από τον Οκτώβριο του 2009, έως τον Ιούνιο του 2016. Τα δείγματα εξετάστηκαν για την παρουσία RNA Parechovirus με In-House, Real-Time RT-PCR ειδική για τη φυλογενετικά σταθερή 5'-UTR, ενώ η ταυτοποίηση των θετικών δειγμάτων έγινε με βάση το γονίδιο της καψιδικής πρωτεΐνης VP1.

**Αποτελέσματα:** Ανιχνεύθηκαν μόλις 3 στελέχη Parechovirus σε δείγματα κοπράνων από διαφορετικούς ασθενείς, 2 από τα οποία ταυτοποιήθηκαν ως HPeV-1 και 1 HPeV-3 (ιδιαίτερα λοιμογόνος τύπος). Το 1ο στέλεχος HPeV-1 ανιχνεύθηκε τον Οκτώβριο του 2010 σε άρρεν 29 ημερών με εμπύρετη νόσο και θετική δοκιμασία αιμοσφαιρίνης στα κόπρανα, ενώ το 2ο ανιχνεύθηκε τον Δεκέμβριο του 2016 σε άρρεν 8 μηνών με εμετούς και επίσης αιμοσφαιρίνη στα κόπρανα. Το στέλεχος HPeV-3 ανιχνεύθηκε τον Οκτώβριο του 2010 σε θήλυ 5 ετών με λοίμωξη κατωτέρου αναπνευστικού και γαστρεντερίτιδα από σαλμονέλλα.

**Συζήτηση:** Η πρώτη μελέτη της επιδημιολογίας των Parechovirus κατέγραψε χαμηλό επιπολασμό τους στην Ελλάδα. Παρόλα αυτά, η σοβαρότητα των λοιμώξεων που προκάλεσαν τα συγκεκριμένα στελέχη και ιδιαίτερα η ανίχνευση του HPeV-3, καθιστά σημαντική την τακτική επιδημιολογική τους επιτήρηση.

**ΕΙΣΑΓΟΜΕΝΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΑ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΜΕ ΙΟ ΖΙΚΑ ΣΕ ΝΙΟΠΑΝΤΡΟ ΖΕΥΓΑΡΙ ΕΛΛΗΝΩΝ**

Π. Ιωάννου<sup>1</sup>, Ε. Παπαδοπούλου<sup>2</sup>, Σ. Σουνδουλουνάκη<sup>1</sup>, Ν. Σπερνοβασίλης<sup>1</sup>, Α. Παπά<sup>2</sup>, Α. Γκίκας<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Α' Παθολογική κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου

<sup>2</sup> Α' Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Ο ιός Ζίκα ανήκει στην οικογένεια των Φλαβοϊών και, όταν προκαλεί λοίμωξη, εμφανίζεται με μη ειδικά συμπτώματα όπως πυρετό, εξάνθημα, αρθραλγίες και κεφαλαλγία, καθιστώντας δύσκολη τη διαφορική διάγνωση από άλλες ιογενείς λοιμώξεις. Η μετάδοση γίνεται με νύγμα μολυσμένων κουνουπιών του γένους *Aedes*, καθώς και σεξουαλικά και διαπλακουντιακά, ενώ έχει αναδυθεί σε σημαντικό παθογόνο τα τελευταία χρόνια, μετά από την εμφάνιση περιστατικών μικροκεφαλίας στην Κεντρική και τη Νότια Αμερική. Αρκετά εισαγόμενα κρούσματα λοίμωξης από τον ιό Ζίκα έχουν αναφερθεί στην Ευρώπη σε άτομα που επέστρεψαν από ενδημικές περιοχές. Σε αυτήν την εργασία περιγράφουμε τα πρώτα εισαγόμενα κρούσματα λοίμωξης από τον ιό Ζίκα σε δύο Έλληνες ασθενείς.

Πρόκειται για έναν άνδρα και μια γυναίκα οι οποίοι πήγαν στην Κούβα για ταξίδι του μέλιτος και εκεί εμφάνισαν συμπτώματα συμβατά με λοίμωξη από τον ιό Ζίκα. Η διάγνωση έλαβε χώρα μετά την επιστροφή τους στην Ελλάδα μέσω της ανίχνευσης του RNA του ιού σε δείγματα αίματος και ούρων, καθώς και ειδικών για τον ιό IgM και IgG αντισωμάτων στο αίμα των ασθενών. Τα περιστατικά αυτά αναδεικνύουν τον κίνδυνο που ελλοχεύει στη χώρα μας από επιστρέφοντες ταξιδιώτες, καθώς στην Ελλάδα υπάρχουν κουνούπια *Aedes albopictus*, που θα μπορούσαν να αποτελέσουν φορείς του ιού Ζίκα και να προκληθεί επιδημία. Ταυτόχρονα, διαφαίνεται και ο κίνδυνος διαπλακουντιακής μετάδοσης του ιού και εμφάνισης νευρολογικών επιπλοκών σε έμβρυα και στη χώρα μας εάν εισαγόμενα περιστατικά σε έγκυες γυναίκες παραμείνουν αδιάγνωστα. Συνεπώς, απαιτείται επαγρύπνηση για τη διάγνωση παρόμοιων περιστατικών τόσο για την υγεία των ασθενών όσο και για τη διαφύλαξη της Δημόσιας Υγείας.



## ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΟΝΙΔΙΑΚΟΥ RNA ΤΟΥ ΙΟΥ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΣΕ ΟΡΟ ΑΙΜΑΤΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΗΒΕΑΓ ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β

Α. Λαράς, Στ. Χατζηγιάννης, Ε. Πανοπούλου, Α. Χατζηγιάννη

Εργαστήριο Β Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής, Ιπποκράτειο ΓΝΑ

**Σκοπός:** Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV) αναπαράγεται στα ηπατοκύτταρα μέσω του cccDNA, μήτρα παραγωγής αγγελιοφόρου και προγονιδιακού RNA (pgRNA). Το pgRNA καλύπτεται από πυρηνοκαψίδιο προ της ανάστροφης μεταγραφής στο ήπαρ. Εγκαψιδιωμένο pgRNA έχει ανιχνευθεί και σε ορό ασθενών. Στο ήπαρ το pgRNA αντικατοπτρίζει την αναπαραγωγική δραστηριότητα του HBV, ενώ ανίχνευσή του στον ορό πιθανώς σχετίζεται με την αποτελεσματικότητα της αντι-ιικής θεραπείας. Σκοπός της μελέτης είναι η ανάπτυξη και εφαρμογή ποσοτικής Real-Time-PCR για τη μέτρηση pgRNA στον ορό.

**Υλικό-Μέθοδος:** Στο σχεδιασμό της μεθόδου, αξιοποιήθηκαν δομικές διαφορές στο 5'-άκρο του μορίου, με τοποθέτηση του 3'έκκινητή μετά το κοινό για mRNA σήμα πολυαδενυλίωσης και ειδικούς pgRNA/preCmRNA 5'έκκινητές. Η μέθοδος εφαρμόστηκε σε ορό ασθενών στη διακοπή αντιικής αγωγής παράλληλα με μέτρηση HBV-DNA.

**Αποτελέσματα:** Η ειδικότητα της μεθόδου βεβαιώθηκε με παράλληλες μετρήσεις HBV-DNA προ της αντίστροφης μεταγραφής ενώ η ευαισθησία προσδιορίστηκε σε 10 copies/reaction. Από 30 ασθενείς με ΗΒεΑg(-) χρόνια ηπατίτιδα Β υπό μακροχρόνια αγωγή με NAs, βρέθηκε θετικός για pgRNA ένας μόνο ασθενής ο οποίος υποτροπίασε βιοχημικά και ιολογικά άμεσα μετά τη διακοπή της θεραπείας.

**Συμπεράσματα:** Η ανίχνευση του pgRNA του HBV κατά τη διάρκεια αντι-ιικής θεραπείας με νουκλεοσ(τ)ιδικά ανάλογα πιθανώς να σχετίζεται με την έκβαση διακοπής επιτυχούς μακροχρόνιας αγωγής.



## ΟΡΟΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΗΣ ΣΤΟΝ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Α (HAV), ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ HIV-1 ΛΟΙΜΩΞΗ

Ο. Τσαχουρίδου<sup>1</sup>, Δ. Χατζηδημητρίου<sup>2</sup>, Λ. Σκούρα<sup>2</sup>, Γ. Αδαμαντίνη<sup>1</sup>, Ε. Παπαδημητρίου<sup>2</sup>, Χ. Γώγου<sup>1</sup>, Κ. Φραγκούλη<sup>2</sup>, Α. Μαργαρίτη<sup>2</sup>, Ζ. Αντωνιάδου<sup>2</sup>, Α. Ντζιοβάρη<sup>1</sup>, Σ. Μεταλλίδης<sup>1</sup>

1. Α Παθολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, ΑΠΘ.
2. Εθνικό Κέντρο Αναφοράς AIDS βορείου Ελλάδας, Ιατρική Σχολή ΑΠΘ.

**Εισαγωγή:** Οι HIV ασθενείς αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου για λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Α, κυρίως λόγω επικίνδυνων σεξουαλικών πρακτικών. Παρότι οι κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν τον εμβολιασμό των ασθενών αυτών και τον τακτικό ορολογικό τους έλεγχο, η συμμόρφωση και η ολοκλήρωση του εμβολιαστικού πλάνου στους ασθενείς με HIV-1 λοίμωξη παραμένουν σε χαμηλά επίπεδα.

**Ασθενείς-Μέθοδος:** Πρόκειται για μια αναδρομική επιδημιολογική μελέτη 10 ετών, 2005-2015, των ασθενών που παρακολουθούνται στη Μονάδα Ειδικών Λοιμώξεων του ΠΓΝΘ ΑΧΕΠΑ. Συνολικά ελέγχθηκαν 1210 ασθενείς με ορολογικό έλεγχο έναντι του ιού της ηπατίτιδας Α (HAV), ενώ ελέγχθηκε η συμμόρφωσή τους στον εμβολιασμό στους ασθενείς χωρίς προστασία και η αντισωματική τους απάντηση τουλάχιστον 6 μήνες μετά.

**Αποτελέσματα:** Η μέση διάρκεια της HIV λοίμωξης των ασθενών ήταν 5.1 έτη και το 78.2% αυτών ελάμβαναν αντιρετροϊκή αγωγή. Από το σύνολο των ασθενών, 338 είχαν φυσική ανοσία και 20 δεν υποβλήθηκαν ποτέ σε ορολογικό έλεγχο. 852 ασθενείς ήταν υποψήφιοι για ανοσοποίηση έναντι της HAV, βάσει του ορολογικού ελέγχου, ενώ 627 (73.6%) ολοκλήρωσαν το εμβολιαστικό σχήμα (2 δόσεις εμβολίου). Η πλήρης έλλειψη ασφαλιστικής ενημερότητας (κάλυψης) ήταν ανεξάρτητος παράγοντας μη συμμόρφωσης στο εμβόλιο ( $p < 0.0005$ ). Επιπροσθέτως, το χαμηλό μορφωτικό επίπεδο συσχετιζόταν με κακή συμμόρφωση στον εμβολιασμό έναντι της ηπατίτιδας Α ( $p < 0.0005$ ). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση παλινδρόμησης, η εθνικότητα ( $p = 0.027$ ) και ο αριθμός των CD4 κυττάρων (HAV,  $p < 0.001$ ) ήταν στατιστικά σημαντικοί παράγοντες για τη συμμόρφωση στον εμβολιασμό.

**Συμπεράσματα:** Σε αυτή τη μελέτη η εμβολιαστική κάλυψη για την HAV δεν ήταν πλήρης στον HIV πληθυσμό στη Β. Ελλάδα. Επίσης, το χαμηλό μορφωτικό επίπεδο και η έλλειψη ασφαλιστικής κάλυψης συνετέλεσαν στην κακή συμμόρφωση στον εμβολιασμό, οδηγώντας σε χαμηλή προστασία του οροθετικού πληθυσμού.





## ΜΕΛΕΤΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ HIV ΛΟΙΜΩΞΗΣ, ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ Β ΚΑΙ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑΣ C ΣΕ ΨΥΧΙΑΤΡΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ.

Ε. Λάσκος<sup>1</sup>, Ι. Δανιήλ<sup>1</sup>, Μ. Μπαλαχούτη<sup>2</sup>, Β. Βούλγαρης<sup>3</sup>, Β. Μαμάκου<sup>3</sup>, Ν. Τζουράς<sup>1</sup>, Μ. Γεωργιάδου<sup>1</sup>, Σ. Χαρπαντίδης<sup>1</sup>, Α. Δημητριάδης<sup>4</sup>, Μ. Δημούτσος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Μικροβιολογικό-Βιοχημικό Εργαστήριο, Ψ. Ν. Α. “Δρομοκαΐτειο”

<sup>2</sup>Επιτροπή Νοσοκομειακών Λοιμώξεων, Ψ. Ν. Α. “Δρομοκαΐτειο”

<sup>3</sup>Παθολογικό Τμήμα, Ψ.Ν.Α. “Δρομοκαΐτειο”

<sup>4</sup>Ψυχιατρικό Τμήμα “Αγία Μαρκέλλα”, Ψ. Ν.Α. “Δρομοκαΐτειο”

**Εισαγωγή:** Οι λοιμώξεις από HIV και τους ιούς ηπατίτιδας Β (HBV) και ηπατίτιδας C (HCV) είναι σοβαρές και αποτελούν κίνδυνο για τη δημόσια υγεία. Οι ψυχιατρικοί ασθενείς εκδηλώνουν συμπεριφορές (επισφαλής σεξουαλική δραστηριότητα, ενδοφλέβια χρήση ουσιών, κ.ά.) που αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης των λοιμώξεων αυτών.

**Σκοπός:** Η μελέτη της συχνότητας HIV λοίμωξης, ηπατίτιδας Β και C σε ασθενείς ψυχιατρικού Νοσοκομείου.

**Υλικό και μέθοδοι:** Κατά την περίοδο δύο ετών (2015-2016) πραγματοποιήθηκε έλεγχος για HIV, HBV και HCV λοίμωξη σε 3585 ασθενείς του Ψ.Ν.Α. “Δρομοκαΐτειο”. Ο ορολογικός έλεγχος για HIV Ag/Ab, HbsAg και Anti-HCV έγινε στο Μικροβιολογικό Εργαστήριο του Νοσοκομείου χρησιμοποιώντας τη μέθοδο μικροσωματιδιακής ανοσοεξέτασης χημειοφωταύγειας (CMIA, Architect i1000SR, Abbott).

**Αποτελέσματα:** Από τους 3585 ψυχιατρικούς ασθενείς, οι 330 (9,2%) -260 (78,8%) άνδρες και 70 (21,2%) γυναίκες-ευρέθησαν οροθετικοί (296 (8,3%) μόνο σε HIV ή HBV ή HCV και 34 (0,9%) με συλλοίμωξη). 279 (7,8%) ασθενείς -224 άνδρες, 42,9 ± 10,0 ετών και 55 γυναίκες, 42,4 ± 9,9 ετών- διεγνώσθησαν με HCV, 46 (1,4%) ασθενείς -28 άνδρες, 48,7 ± 12,8 ετών και 14 γυναίκες, 46,7 ± 16,1 ετών- με HBV, και 39 (1,1%) ασθενείς -34 άνδρες, 39,2 ± 8,6ετών και 5 γυναίκες, 35,0 ± 8,3 ετών- με HIV λοίμωξη. Από τους ασθενείς με HCV, 29 (10,4%) είχαν και HIV λοίμωξη και 4 (1,4%) ήταν οροθετικοί και σε HBV. Μόνο ένας ασθενής με HBV εμφάνισε συννοσηρότητα με HIV λοίμωξη.

**Συμπεράσματα:** Η συχνότητα ανεύρεσης οροθετικών ασθενών για λοιμώξεις από HIV, HBV και HCV βρέθηκε να είναι σημαντική μεταξύ των ψυχιατρικών ασθενών, ενώ η συχνότητα συλλοίμωξης φαίνεται να είναι μεγαλύτερη στους θετικούς για HCV ασθενείς. Οι λοιμώξεις από HIV και HCV παρατηρήθηκαν σε νεαρότερες ηλικίες απ'ότι η ηπατίτιδα Β.



## ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΡΑΝΣΑΜΙΝΑΣΑΙΜΙΑΣ ΣΕ ΨΥΧΙΑΤΡΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ Β ΚΑΙ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ C.

Ε. Λάσκος<sup>1</sup>, Ι. Δανιήλ<sup>1</sup>, Μ. Μπαλαχούτη<sup>2</sup>, Β. Βούλγαρης<sup>3</sup>, Β. Μαμάκου<sup>3</sup>, Δ. Κραβαριώτου<sup>1</sup>, Κ. Μεσολογγίτης<sup>1</sup>, Σ. Χαρπαντίδης<sup>1</sup>, Α. Δημητριάδης<sup>4</sup>, Μ. Δημούτσος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Μικροβιολογικό-Βιοχημικό Εργαστήριο, Ψ. Ν. Α. “Δρομοκαΐτειο”

<sup>2</sup>Επιτροπή Νοσοκομειακών Λοιμώξεων, Ψ. Ν. Α. “Δρομοκαΐτειο”

<sup>3</sup>Παθολογικό Τμήμα, Ψ.Ν.Α. “Δρομοκαΐτειο”

<sup>4</sup>Ψυχιατρικό Τμήμα “Αγία Μαρκέλλα”, Ψ. Ν.Α. “Δρομοκαΐτειο”

**Εισαγωγή:** Οι λοιμώξεις από ιούς της ηπατίτιδας Β (HBV) και της ηπατίτιδας C (HCV) είναι συχνές σε ψυχιατρικούς ασθενείς. Οι τρανσαμινάσες ασπαρτική αμινοτρανσφεράση (AST ή SGOT) και αλανινική αμινοτρανσφεράση (ALT ή SGPT) είναι ηπατικά ένζυμα που αποτελούν δείκτες ηπατοκυτταρικής φλεγμονής και βλάβης.

**Σκοπός:** Η διερεύνηση των επιπέδων SGOT και SGPT στον ορό αίματος ψυχιατρικών ασθενών με ηπατίτιδα Β και ηπατίτιδα C.

**Υλικό και μέθοδοι:** Κατά την περίοδο δύο ετών (2015-2016), μετρήθηκαν οι τιμές ορού SGOT και SGPT σε 317 ασθενείς του Ψ.Ν.Α. “Δρομοκαΐτειο” -250 άνδρες, 43,5±10,5 ετών και 67 γυναίκες, 43,7±11,4 ετών- που ήταν οροθετικοί για HBV και HCV. Οι μετρήσεις των SGOT και SGPT έγιναν με σπεκτροφωτομετρική μέθοδο (Cobas Integra 800, Roche) και ο ορολογικός έλεγχος για HbsAg και Anti-HCV με τη μέθοδο μικροσωματιδιακής ανοσοεξέτασης χημιοφωταύγειας (CMIA, Architect i1000SR, Abbott) στο Μικροβιολογικό-Βιοχημικό Εργαστήριο του Νοσοκομείου.

**Αποτελέσματα:** Από τους 317 οροθετικούς ασθενείς, 275 (86,8%) -222 (80,7%) άνδρες, 42,8 ± 9,9 ετών και 53 (19,3%) γυναίκες 42,6 ± 9,9ετών-ήταν οροθετικοί σε HCV, και 42 (13,2%)-28 (66,7%) άνδρες, 49,1 ± 12,9 ετών και 14 (33,3%) γυναίκες, 47,9 ± 16,0 ετών-σε HBV. Στους ασθενείς με HCV οι τιμές ορού των SGOT (47,9 ± 50,1 IU/L) και SGPT (58,8 ± 81,0 IU/L) ευρέθηκαν σε υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με εκείνες των ασθενών με HBV (33,7 ± 30,4 IU/L και 35,4 ± 54,0 IU/L, αντίστοιχα), (t-test,  $p=0.075$  και  $p=0.071$ , αντίστοιχα). Επίσης, το ποσοστό των ασθενών που είχαν παθολογικά αυξημένες τιμές SGOT και SGPT ήταν σημαντικά υψηλότερο ( $\chi^2$  test,  $p<0.001$ ) ανάμεσα στους ασθενείς με HCV από εκείνο στους ασθενείς με HBV (47,3% έναντι 19,1%, αντίστοιχα).

**Συμπεράσματα:** Η λοίμωξη από HCV βρέθηκε να είναι συχνότερη στους ψυχιατρικούς ασθενείς και να εμφανίζει υψηλότερα επίπεδα τρανσαμινασαιμίας σε σχέση με την ηπατίτιδα Β.



## Συνεδρία 2



**ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΕΠΕΙΓΟΝΤΟΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΟΖΩΔΟΥΣ ΔΕΡΜΑΤΙΤΙΔΑΣ ΤΩΝ ΒΟΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟ ΕΠΙΔΗΜΙΚΟ ΚΑΙ ΤΑ ΕΜΒΟΛΙΑΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ ΤΟΥ ΙΟΥ**

Ε.Ι. Αγιαννιωτάκη, Κ.Ε. Τασιούδη, Σ.Χ. Χαϊντούτης, Π. Ηλιάδου, Ο. Μαγγανά- Βουγιούκα, Α. Κιρτζαλίδου, Θ. Αλεξανδρόπουλος, Α. Σαχπατζίδης, Ε. Πλευράκη, Χ.Ι. Δόβας, Ε. Χονδροκούκη



## ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΚΑΙ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΩΝ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΕΠΙΠΤΩΣΕΩΝ ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗ ΒΟΟΕΙΔΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΟΖΩΔΟΥΣ ΔΕΡΜΑΤΙΤΙΔΑΣ

Σ.Χ. Χαϊντούτης<sup>1</sup>, Π.-Δ. Κατσούλος<sup>2</sup>, Χ.Ι. Δόβας<sup>1</sup>, Ζ.Σ. Πολυζοπούλου<sup>1</sup>, Γ.Δ. Μπρέλλου<sup>3</sup>, Ε.Ι. Αγιαννωτιάκη<sup>4</sup>, Κ.Ε. Τασιούδη<sup>4</sup>, Ε. Χονδροκούκη<sup>4</sup>, Ο. Παπαδόπουλος<sup>5</sup>, Χ. Καρατζιάς<sup>2</sup>, Κ. Μπόσκος<sup>2</sup>

1 Διαγνωστικό Εργαστήριο, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

2 Κλινική Παραγωγικών Ζώων, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

3 Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

4 Τμήμα Μοριακής Διαγνωστικής, Αφθώδη Πυρετού, Ιολογικών, Ρικετσιακών και Εξωτικών νοσημάτων, Κτηνιατρικό Κέντρο Αθηνών, Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Αθήνα

5 Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νοσημάτων, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Σκοπός της μελέτης ήταν ο προσδιορισμός συγκεκριμένων ιολογικών και αιματολογικών παραμέτρων και η διερεύνηση των κλινικών επιπτώσεων έπειτα από ανοσοποίηση βοοειδών κατά της οζώδους δερματίτιδας. Η έρευνα πραγματοποιήθηκε σε μια εκτροφή 215 βοοειδών γαλακτοπαραγωγής που ανοσοποιήθηκε με ζωντανό εμβόλιο ελαττωμένης λοιμογόνου δύναμης (στέλεχος Neethling-LSDV). Για τη διαφοροποίηση του εμβολιακού ιού από το επιδημικό/άγριο στέλεχος, αναπτύχθηκε μια μέθοδος real-time PCR που στοχεύει στο γονίδιο EEV του ιού. Κατά τη διάρκεια της διερεύνησης λαμβάνονταν δείγματα αίματος, σιέλου, υλικά παρακέντησης από τα σημεία εμβολιασμού, οζίδια δέρματος και δείγματα τριχών. Επίσης, καταγράφονταν τα επίπεδα της γαλακτοπαραγωγής της εκτροφής και συλλεγόταν δείγματα γάλακτος από τη δεξαμενή ψύξης. Ο ιολογικός έλεγχος στο αίμα των ζώων κατέδειξε την παρουσία DNA εμβολιακού στελέχους μεταξύ των ημερών 6 και 15 έπειτα από τον εμβολιασμό, στο 63% των ζώων που συμπεριλήφθηκαν στις επαναλαμβανόμενες δειγματοληψίες. Όλα τα δείγματα σιέλου και γάλακτος ήταν αρνητικά. Στο 12% των ζώων παρατηρήθηκαν οιδήματα στο σημείο του εμβολιασμού, με κυτταρολογική εικόνα άσηπτης φλεγμονής. Σε 19 ενήλικες αγελάδες παρατηρήθηκαν μικρού μεγέθους δερματικά οζίδια, με διάρκεια παρουσίας τουλάχιστον 10 ημέρες. Ο εμβολιακός ιός ανιχνεύθηκε στα οζίδια που λήφθηκαν, καθώς και σε τρίχες από 2 ζώα. Τα αποτελέσματα της ιστοπαθολογικής εξέτασης των οζιδίων ήταν συμβατά με βιβλιογραφικά δεδομένα της φυσικής νόσου. Μεταβολές στις αιματολογικές παραμέτρους καταγράφηκαν μόνο στις ενήλικες αγελάδες. Τέλος, παρατηρήθηκε μείωση της ημερήσιας γαλακτοπαραγωγής των αγελάδων μέχρι την ημέρα 12 μετά τον εμβολιασμό. Συμπερασματικά, καταδεικνύεται η ανάγκη διαφοροποίησης του εμβολιακού από τον επιδημικό ιό, καθώς το εμβόλιο που αξιολογήθηκε προκαλεί αντιδράσεις με εικόνα ανάλογη της φυσικής νόσου.

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΠΥΛΗΣ ΕΙΣΟΔΟΥ ΚΑΙ ΔΙΑΣΠΟΡΑΣ ΤΟΥ ΙΟΥ RGNNV ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ, *Dicentrarchus labrax***

Ε. Λάμπου<sup>1</sup>, Κ. Μπιτχαβά<sup>1</sup>, Τ. Χασαλεύρης<sup>2</sup>, Χ. Δοβας<sup>2</sup>, Θ. Παπαδόπουλος<sup>2</sup>, Φ. Αθανασοπούλου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Ιχθυολογίας και Ιχθυοπαθολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 43100 Καρδίτσα.

<sup>2</sup>Διαγνωστικό Εργαστήριο, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 546 27 Θεσσαλονίκη.

Η ιογενής εγκεφαλοπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια (Viral encephalopathy and retinopathy, VER) είναι μία σοβαρή νόσος των ψαριών που αποτελεί σημαντικό πρόβλημα στις υδατοκαλλιέργειες, κυρίως στην εκτροφή λαβρακιού, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε μεγάλες απώλειες προνυμφών αλλά και ψαριών μεγαλύτερου μεγέθους. Αιτιολογικοί παράγοντες της νόσου είναι συγγενείς RNA ιοί που ανήκουν στο γένος *Betanodavirus* της οικογένειας *Nodaviridae*. Ο εγκέφαλος και ο αμφιβληστροειδής χιτώνας του οφθαλμού θεωρούνται κύριοι ιστοί - στόχοι. Ωστόσο, η πύλη εισόδου και η πορεία του ιού μέχρι την εγκατάσταση της μόλυνσης στο ΚΝΣ δεν έχουν ακόμα διασαφηνιστεί. Αναλογιζομένων των ανωτέρω, διερευνήθηκε η δυνατότητα επιτυχούς μόλυνσης ευρωπαϊκού λαβρακιού, *Dicentrarchus labrax*, με τον *Red-spotted grouper nervous necrosis virus* (RGNNV) μετά από ενοφθαλμισμό του ιού στον επιπεφυκότα, τα βράγχια, την πλευρική γραμμή και τον οισοφάγο νεαρών ατόμων του είδους. Επιπλέον, εξετάσθηκε με real-time RT-PCR η εξέλιξη της λοίμωξης και η κατανομή του ιϊκού φορτίου σε ιστούς των λαβρακιών κατά τα πρώτα στάδια μετά τον ενοφθαλμισμό του ιού. Η εκδήλωση κλινικών συμπτωμάτων τυπικών της νόσου, σε συνδυασμό με την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του ιού σε ιστούς λαβρακιών από όλες τις πειραματικές ομάδες, υποδηλώνουν ότι ο RGNNV εισέρχεται στον οργανισμό μέσω διαφόρων πυλών εισόδου. Παρόλο που ο αρχικός εντοπισμός του ιού και το μοτίβο διασποράς του στους ιστούς διέφερε μεταξύ των πειραματικών ομάδων, η εξάπλωση του ιού στον εγκέφαλο και τον οφθαλμό φαίνεται ότι επιτυγχάνεται νευρογενώς, καθώς ο ιός εντοπίσθηκε νωρίς σε νευρικούς ιστούς και η ιαίμια ανιχνεύτηκε μετά την εγκατάσταση της λοίμωξης στον εγκέφαλο. Τα αποτελέσματα της έρευνας συμβάλλουν στη γνώση της παθογένειας της νόσου.

**ΜΕΘΟΛΟΓΙΑ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΩΝ ΔΟΚΙΜΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ Β-ΡΕΤΡΟΪΩΝ ΤΩΝ ΜΙΚΡΩΝ ΜΗΡΥΚΑΣΤΙΚΩΝ**

Τ. Χασαλεύρης<sup>1</sup>, Ε. Αποστολίδη<sup>2</sup>, Ν.Δ. Γιαδίνης<sup>3</sup>, Δ. Ψάλλα<sup>2</sup>, Β. Ψύχας<sup>2</sup>, Ι. Ιωάννου<sup>4</sup>, Π. Κωνσταντίνου<sup>4</sup>, Χ.Ι. Δόβας<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Διαγνωστικό Εργαστήριο, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup> Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

<sup>3</sup> Κλινική Παραγωγικών Ζώων, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

<sup>4</sup> Κτηνιατρικές Υπηρεσίες Κύπρου, Λευκωσία, Κύπρος

Οι ιοί του ενζωτικού ενδορινικού αδενοκαρκινώματος (ΕΕΑ) των προβάτων (*Enzootic nasal tumor virus-1*, ENTV-1) και των αιγών (*Enzootic nasal tumor virus-2*, ENTV-2) ανήκουν στο γένος *Betaretrovirus* και έχουν ευρεία γεωγραφική κατανομή στις χώρες της Μεσογείου. Προκαλούν νεοπλασματική εξαλλαγή κυρίως των εκκριτικών επιθηλιακών κυττάρων του ρινικού βλεννογόνου και τη δημιουργία ενδορινικού αδενοκαρκινώματος χαμηλής κακοήθειας. Η διάγνωση του νοσήματος στην πράξη στηρίζεται κυρίως στα νεκροτομικά και ιστοπαθολογικά ευρήματα. Η μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα των ιικών στελεχών, σε συνδυασμό με την παρουσία ενδογενών β-ρετροϊών στο γονιδίωμα των ξενιστών, δυσχεραίνουν σημαντικά την ανίχνευση και τον μοριακό χαρακτηρισμό τους. Ως αποτέλεσμα οι εξελικτικές τους σχέσεις είναι ανεπαρκώς μελετημένες διεθνώς, ενώ η αξιοπιστία των μοριακών δοκιμών διάγνωσης του ΕΕΑ αμφισβητείται. Στόχος της μελέτης ήταν η ανάπτυξη νέας ταχείας και χαμηλού κόστους τεχνικής για τον μοριακό χαρακτηρισμό των δύο β-ρετροϊών. Ως εκμαγείο, χρησιμοποιήθηκε ιικό RNA που απομονώθηκε από δείγματα ρινικών εκκριμάτων. Πραγματοποιήθηκε αντίστροφη μεταγραφή του ιικού γονιδιωματικού RNA μετά από υβριδισμό ενός ειδικού «anchor» εκκινητή, σε συντηρημένη περιοχή του πολυαδενυλιωμένου 3' άκρου και του τμήματος R των εξωγενών β-ρετροϊών. Στη συνέχεια ακολούθησε ενίσχυση με αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) χρησιμοποιώντας επιπλέον έναν ανοδικό εκκινητή με μεγάλο εύρος ανίχνευσης στελεχών β-ρετροϊών. Η αλληλούχιση των προϊόντων της PCR κατέδειξε ότι η μέθοδος μπορεί να ανιχνεύσει επιτυχώς τμήμα του γονιδίου Env και το U3-R άκρο του ιικού γονιδιώματος των εξωγενών ιών του γένους *Betaretrovirus* και να τους διαχωρίσει από τους συγγενείς ενδογενείς ρετροϊούς. Με βάση τον μοριακό χαρακτηρισμό κυπριακών στελεχών του ENTV-1, κατέστη εφικτή η ανάπτυξη ευαίσθητης και αξιόπιστης δοκιμής real-time RT-PCR για την προθανάτια διάγνωση του νοσήματος στην Κύπρο.



**ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ – ΠΟΡΕΙΑ ΤΟΥ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΕΠΙΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΛΥΣΣΑΣ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ**

Κ.Ε. Τασιούδη, Λ.Μ. Κορού, Π. Ηλιάδου, Δ. Παπαθεοδώρου, Γ. Μαρκαντωνάτος, Μ. Τζανή, Α. Κιρτζαλίδου, Ο. Μαγγανά-Βουγιούκα, Θ. Αλεξανδρόπουλος, Ε. Χονδροκούκη





## Συνεδρία 3



## ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ L1 ΤΟΥ ΙΟΥ ΗΡV ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΠΡΟΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ ΣΤΟΝ ΤΡΑΧΗΛΟ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Χ. Κοτταρίδη<sup>1</sup>, Μ. Κυργίου<sup>2</sup>, Α. Πουλιάκης<sup>1</sup>, Μ. Μαγκανά<sup>1</sup>, Ε. Άγα<sup>1</sup>, Α. Σπάθης<sup>1</sup>, Α. Mitra<sup>2</sup>, Γ. Μακρή<sup>3</sup>, Χ. Χρέλιας<sup>3</sup>, Β. Μπάκου<sup>4</sup>, Ε. Παρασκευαΐδης<sup>5</sup>, Ι. Παναγιωτίδης<sup>6</sup>, Π. Καρακίτσος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

<sup>2</sup>Department of Surgery and Cancer, IRDB, Faculty of Medicine, Imperial College, London W12 0NN, UK

<sup>3</sup> Γ' Μαιευτική-Γυναικολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

<sup>4</sup> Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

<sup>5</sup> Μαιευτική-Γυναικολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων

<sup>6</sup> Β' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν», Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Η μεθυλίωση του DNA του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV), έχει προταθεί ως ένας νέος βιοδείκτης. Στην παρούσα εργασία, συσχετίστηκαν τα επίπεδα μεθυλίωσης 12 CpG θέσεων κατά μήκος του γονιδίου L1 του ιού, με την ιστολογική διάγνωση σε προκαρκινικές και καρκινικές αλλοιώσεις του τραχήλου της μήτρας. Αξιολογήθηκε αν η μεθυλίωση των μελετηθέντων θέσεων του γονιδίου L1, μπορεί να προβλέψει την παρουσία υψηλού βαθμού ιστολογικών αλλοιώσεων σε γυναίκες που είναι θετικές για το γονότυπο HPV 16. Χρησιμοποιήθηκε η τεχνολογία της Πυροαλληλούχησης (Pyrosequencing) με την οποία μετρήθηκαν ποσοτικά τα επίπεδα της μεθυλίωσης σε 145 γυναίκες. Βρέθηκε ότι τα επίπεδα της μεθυλίωσης των υπό μελέτη θέσεων αυξήθηκαν σημαντικά με τη σοβαρότητα των αλλοιώσεων (CIN3+=17.9%(±7.2) vs CIN2=11.6%(±6.5),  $p<0.001$  or vs CIN1 =9.0%(±3.5),  $p<0.001$ ). Η μέση τιμή της μεθυλίωσης βρέθηκε ότι μπορεί να προβλέψει τις CIN3+ περιπτώσεις. Η περιοχή κάτωθεν της καμπύλης (Area Under Curve-AUC) που κατασκευάστηκε για τις CIN2+ περιπτώσεις, ήταν μεγαλύτερη για τις θέσεις 5611, 6389 και 6457 ενώ για τις περιπτώσεις CIN3+ ήταν μεγαλύτερη για τη θέση 7145. Κατά την αξιολόγηση των ορίων στις τιμές μεθυλίωσης, για την πρόβλεψη των CIN3+ περιπτώσεων, οι μέγιστες τιμές ευαισθησίας και ειδικότητας (75.7% και 76.0% αντίστοιχα), θετικής και αρνητικής προγνωστικής αξίας (74.7% και 77.0% αντίστοιχα), επιτεύχθηκαν για τιμή μέσης μεθυλίωσης 14% με συνολική ακρίβεια 75.9%. Συμπερασματικά, το αυξημένο ποσοστό μεθυλίωσης του γονιδίου L1 του ιού HPV, βρέθηκε να σχετίζεται με αυξημένη σοβαρότητα της νόσου και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ξεχωρίσει τις γυναίκες με υψηλού βαθμού ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις του τραχήλου της μήτρας που έχουν μολυνθεί από τον ιό HPV 16.



## Η CORE+1/ARFP ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΟΥ ΗCV ΡΥΘΜΙΖΕΙ ΤΟΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΥΚΛΟ

Σ. Μουσταφά, Ι. Καρακασιλιώτης, Π. Μαυρομαρά

Εργαστήριο Ιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ

Σχολή Επιστημών Υγείας, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

**Σκοπός της εργασίας:** Ο ιός της ηπατίτιδας C είναι ένας μικρός RNA ιός θετικής πολικότητας με περίβλημα της οικογένειας Flaviviridae. Το γονιδίωμά του μήκους περίπου 9.600 βάσεων κωδικοποιεί τουλάχιστον 10 δομικές και μη δομικές ιικές πρωτεΐνες. Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν την παρουσία ενός λειτουργικού εναλλακτικού πλαισίου ανάγνωσης μέσα στο γονίδιο της core, στο +1 πλαίσιο ανάγνωσης, το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη γνωστή ως πρωτεΐνη εναλλακτικού πλαισίου ανάγνωσης (ARFP) ή core+1 ή F. Οι δύο επικρατέστερες ισομορφές της core+1/ARFP που έχουν βρεθεί είναι η core+1/ARFP/Long που εκφράζεται από το κωδικόνιο 26 και η core+1/ARFP/Short που ξεκινά από το 85/87. Μέχρι σήμερα, υψηλός επιπολασμός core+1/ARFP αντισωμάτων σε ασθενείς έχει συσχετιστεί με το ηπατοκαρκίνωμα. Εντούτοις, η βιολογική σημασία της core+1/ARFP παραμένει άγνωστη. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διευκρινιστεί ο βιολογικός ρόλος της core+1/ARFP χρησιμοποιώντας δύο πειραματικές προσεγγίσεις.

**Υλικά & Μέθοδοι:** Προκειμένου να διερευνηθεί η αλληλεπίδραση της core+1/ARFP με το κύτταρο-ξενιστή κατασκευάστηκαν κυτταρικές σειρές Huh7.5 εκφράζοντας σταθερά τις core+1/ARFP ισομορφές γονοτύπου 1a. Επίσης, δημιουργήθηκαν διαγονιδιακά ποντίκια που εκφράζουν ηπατοειδικά την core+1/ARFP/S πρωτεΐνη του γονοτύπου 1a. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν είναι η πρωτεωμική και στοχευμένες συστοιχίες μονοπατιών καθώς επίσης η επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων έγινε με qPCR και ανοσοαποτύπωση κατά western.

**Αποτελέσματα :** Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι οι HCV 1a core+1/ARFP ισομορφές προάγουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ρυθμίζοντας την έκφραση σημαντικών μορίων του κυτταρικού κύκλου και προάγουν την ογκογένεση.

**Συμπεράσματα:** Η μελέτη αυτή χαρακτηρίζει για πρώτη φορά την βιολογική σημασία της core+1/ARFP και υποδηλώνει έναν πιθανό ρόλο της στην ανάπτυξη ηπατικού καρκίνου.

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΙΟΥ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟΥ ΠΥΡΕΤΟΥ ΚΡΙΜΑΙΑΣ-ΚΟΝΓΚΟ ΑΠΟ ΚΡΟΤΩΝΕΣ**

Α. Παπά<sup>1</sup>, Κ. Τσιόκα<sup>1</sup>, Α. Κοντάνα<sup>1</sup>, Ε. Παπαδοπούλου<sup>1</sup>, Ε. Γαβανά<sup>1</sup>, Ν. Γιαδίνης<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup> Κλινική Παραγωγικών Ζώων, Κτηνιατρική Σχολή Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

**Εισαγωγή:** Ο ιός του αιμορραγικού πυρετού Κριμαίας-Κονγκό (Crimean - Congo hemorrhagic fever virus, CCHFV) μεταδίδεται στον άνθρωπο κυρίως μέσω νύγματος μολυσμένων κροτώνων, προκαλώντας στον άνθρωπο νόσο με θνητότητα περίπου 30%.

**Υλικό** της μελέτης αποτέλεσαν 3 κρότωνες που συλλέχθηκαν τον Ιούνιο του 2015 από αίγα η οποία εμφάνισε αναιμία (Ht: 7%) και απεβίωσε μερικές μέρες αργότερα. Στο υλικό συμπελαμβάνονταν 19 δείγματα ορού αίματος από ζώα της ίδιας κτηνοτροφικής μονάδας που συλλέχθηκαν τον Οκτώβριο του 2015.

**Μέθοδοι:** Για την ταυτοποίηση των κροτώνων σε επίπεδο είδους εφαρμόστηκαν κατάλληλες διχοτομικές κλειδες. Ακολούθησε ομογενοποίηση των κροτώνων, εκχύλιση γενετικού υλικού και εφαρμογή RT-nested PCR και real time RT-PCR για την ανίχνευση του CCHFV. Ο έλεγχος των αντισωμάτων στους ορούς αίματος των ζώων έγινε με τη μέθοδο ELISA. Απομόνωση του ιού έγινε σε κυτταροκαλλιέργεια Vero E6.

**Αποτελέσματα:** Οι κρότωνες ταυτοποιήθηκαν ως *Rhipicephalus bursa* (1 θηλυκός και 1 αρσενικός) και *Hyalomma marginatum* (ένας θηλυκός). Γενετικό υλικό CCHFV ανιχνεύτηκε και στους 3 κρότωνες ενώ στέλεχος του ιού απομονώθηκε από έναν κρότωνα *R. bursa*. Η αλληλούχιση νουκλεοτιδίων και η φυλογενετική ανάλυση έδειξε ότι το στέλεχος του ιού ανήκει στη γενετική ομάδα «Europe 2». Σε 8/19 (42,1%) δείγματα ορού αίματος των ζώων ανιχνεύθηκαν IgG αντισώματα έναντι του CCHFV.

**Συμπέρασμα:** Ο CCHFV γενετικής ομάδας “Europe 2” κυκλοφορεί στην Ελλάδα. Δεν είναι γνωστό εάν ο ιός ήταν η αιτία της νόσου της αίγας ή εάν η παρουσία του ιού συνετέλεσε στη θανατηφόρα κατάληξη ή εάν επρόκειτο για ένα τυχαίο εύρημα. Χρειάζονται έρευνες για να αποσαφηνιστεί η παθογόνος δράση του CCHFV στα ζώα και ο ρόλος της γενετικής ομάδας Europe 2.

Η έρευνα διεξήχθη στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος COMPARE (No 643476).



## NEXT GENERATION SEQUENCING ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ VANDOS (ΙΟΣ GREEK GOAT ENCEPHALITIS)

A. Παπά, E. Παπαδοπούλου, A. Μελίδου

Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, ΑΠΘ

**Εισαγωγή:** Το ιικό στέλεχος Vandos απομονώθηκε το 2004 από κρότωνα *Ixodes ricinus* που συλλέχθηκαν από αίγες στον Βάβδο Χαλκιδικής. Αλληλούχηση μέρους του γονιδιώματος του ιού με Sanger είχε δείξει ότι είναι όμοιο με το στέλεχος Vergina (φλαβιϊός Greek goat encephalitis, GGEV) που απομονώθηκε το 1969 από ιστό εγκεφάλου νεογέννητης αιγός με συμπτώματα εγκεφαλίτιδας. Σκοπός της μελέτης ήταν η αλληλούχηση ολόκληρου του γονιδιώματος του στελέχους Vandos και η φυλογενετική του ανάλυση.

**Υλικό και Μέθοδοι:** Ιικό RNA εκχυλίστηκε από υπερκείμενο καλλιέργειας του ιού και χρησιμοποιήθηκε για next generation sequencing σε μηχάνημα Ion Torrent. Τα reads συγκρίθηκαν αρχικά με την αλληλουχία του στελέχους Vergina και μετά με άλλους φλαβιϊούς μεταδιδόμενους με κρότωνα (TBEV, TSEV, SSEV, SGEV, LIV). Η φυλογενετική ανάλυση έγινε με το πακέτο MEGA.v7.

**Αποτελέσματα:** Η πολυπρωτεΐνη του στελέχους Vandos έχει μέγεθος 10.245 νουκλεοτίδια και παρουσιάζει 9 νουκλεοτιδικές διαφορές από το στέλεχος Vergina. Τέσσερις καταλήγουν σε αλλαγή αμινοξέος. Επίσης έγινε αλληλούχηση των 3- και 5-NCRs του στελέχους. Τα δύο στελέχη GGEV (Vandos και Vergina) αποτελούν μαζί με τον TSEV έναν ξεχωριστό γενετικό κλάδο ο οποίος διακρίνεται από την τριπλέτα ALG στην πρωτεΐνη E.

**Συμπεράσματα:** Έγινε αλληλούχηση ολόκληρου του γονιδιώματος του στελέχους Vandos, το δεύτερο στέλεχος του ιού GGEV. Παρ' όλο που τα δύο στελέχη απομονώθηκαν με διαφορά 35 ετών, το γονιδίωμά τους παρουσιάζει ελάχιστες διαφορές καταδεικνύοντας τον ελάχιστο ρυθμό εξέλιξης αυτού του ιού. Θα πρέπει να ελέγχονται για φλαβιϊούς τα ζώα με συμπτώματα εγκεφαλίτιδας, ιδιαίτερα την εποχή που είναι ενεργοί οι κρότωνα *I. ricinus*, ώστε να γίνει γνωστή η επιδημιολογία του GGEV.

Η έρευνα διεξήχθη στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος COMPARE (No 643476).



## Συνεδρία 4



## ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ CMV ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΟ ΝΟΜΟ ΣΕΡΡΩΝ.

Σ. Μελά, Α. Μέγαλου, Α.Πούλου, Π. Κουδούνης, Ν.Παπαιωάννου, Α.Παπαδόπουλος, Χ.Πουλίδου, Μ.Λαζαρίδου Φ.Μάρκου

Εργαστήριο Βιοπαθολογίας Γενικού Νοσοκομείου Σερρών

Ο κυτταρομεγαλιός είναι υπεύθυνος για διάφορα κλινικά σύνδρομα εκ των οποίων το σοβαρότερο είναι η συγγενής λοίμωξη. Η συγγενής λοίμωξη μπορεί να καταλήξει στον ενδομήτριο θάνατο ή στην εκδήλωση της νόσου ( πρόωρος τοκετός , ίκτερος , πνευμονία , συμπτώματα από ΚΝΣ ). Κρίνεται επομένως απαραίτητος ο προγεννητικός έλεγχος γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας.

**ΣΚΟΠΟΣ:** Η καταγραφή της ανοσιακής κατάστασης εγκύων γυναικών για CMV λοίμωξη.

**ΥΛΙΚΟ – ΜΕΘΟΔΟΣ:** Κατά τη διάρκεια μιας τριετίας ( 2014 – 2016 ) εξετάσθηκαν 678 γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Η μέτρηση του τίτλου IgG και IgM αντισωμάτων έγινε με μικροσωματιδιακή ανοσοενζυμική μέθοδο ( Architect – Abbott ).

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Συνολικά εξετάσθηκαν 678 γυναίκες και βρέθηκαν οροαρνητικές 153 (22,56 % ), θετικές 525( 77,4 %). Από τις 525 με θετικό τίτλο IgG οι 124 (23,6%) είχαν τιμή > 500 AU/ml και στις 21(4%)εξ αυτών ο τίτλος ήταν > 1000 AU/ml. Σε μία περίπτωση με τίτλο > 1000 διαπιστώθηκαν και IgM θετικά αντισώματα. Στο σύνολο των γυναικών είχαμε 17 (2,5%)περιπτώσεις με IgM θετικά αντισώματα. Ψηλότερο ποσοστό οροαρνητικών (28%) παρατηρήθηκε στις ηλικίες 18-30.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:** Μεγαλύτερος κίνδυνος για πρωτοπαθή και ενδεχομένως συγγενή λοίμωξη παρατηρήθηκε στις μικρότερες ηλικίες. Στο σύνολο των γυναικών ο κίνδυνος για οξεία λοίμωξη ανέρχεται σε ποσοστό 2,5%. Ψηλός τίτλος αντισωμάτων δεν αποκλείει επανεργοποίηση του ιού με ότι κινδύνους αυτό συνεπάγεται. Κατά συνέπεια η παρακολούθηση πρέπει να είναι συνεχής καθ 'όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Τέλος διαπιστώθηκε φοβερή έλλειψη στην ενημέρωση σχετικά με τα προβλήματα που ενδέχεται να προκαλέσει στο έμβρυο η λοίμωξη από CMV.



## ΑΣΗΠΤΗ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑ ΑΠΟ ΙΟ ΤΟΥ ΔΥΤΙΚΟΥ ΝΕΙΛΟΥ ΣΕ HIV ΑΣΘΕΝΗ

Δ. Πιλάλας<sup>1</sup>, Δ. Χατζηδημητρίου<sup>2</sup>, Λ. Σκούρα<sup>2</sup>, Α. Μαργαρίτη<sup>2</sup>, Ό. Τσαχουρίδου<sup>1</sup>, Ε. Παπαδημητρίου<sup>2</sup>, Α. Παπά<sup>3</sup>, Σ. Μεταλλίδης<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Μονάδα Ειδικών Λοιμώξεων, Α΄ Παθολογική Κλινική, Π.Γ.Ν ΑΧΕΠΑ, Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup> Εθνικό Κέντρο Αναφοράς AIDS Βορείου Ελλάδος

<sup>3</sup> Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Αρμποιών και αιμορραγικών πυρετών, Α΄Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Η εμφάνιση του ιού του Δυτικού Νείλου (ΙΔΝ) lineage 2 στην περιοχή της Βόρειας Ελλάδας το 2010 συνοδεύτηκε από σημαντικές επιδημίες του ιού στον ελλαδικό χώρο για 5 διαδοχικά χρόνια. Συνολικά, 11 κρούσματα λοίμωξης με ΙΔΝ σε ασθενείς με HIV λοίμωξη αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία. Περιγράφουμε ένα περιστατικό άσηπτης μηνιγγίτιδας σε ασθενή με διαγνωσμένη HIV λοίμωξη σταδίου C2 (σάρκωμα Kaposi) κατά CDC ο οποίος είχε αρνηθεί την έναρξη αντιρετροϊκής αγωγής. Ο ασθενής προσήλθε στη Μονάδα Ειδικών Λοιμώξεων του Π.Γ.Ν. ΑΧΕΠΑ, όπου και παρακολουθείται, με εμπύρετη κεφαλαλγία αιφνίδιας έναρξης και διάρκειας 3 ημερών. Στην κλινική εξέταση δεν παρουσίαζε παθολογικά ευρήματα. Ο ασθενής νοσηλεύθηκε προκειμένου να διερευνηθεί η συμπτωματολογία και να χορηγηθεί εμπειρική αγωγή για υποψία μηνιγγίτιδας σε ανοσοκατεσταλμένο ασθενή. Παρουσίασε ταχεία βελτίωση και του χορηγήθηκε εξιτήριο την 4<sup>η</sup> μέρα νοσηλείας του. Με βάση την κλινική πορεία και τα αποτελέσματα του παρακλινικού ελέγχου, τέθηκε η διάγνωση άσηπτης μηνιγγίτιδας. Μετά την εμφάνιση μιας σειράς περιστατικών μηνιγγοεγκεφαλίτιδας από ΙΔΝ στην περιοχή της Κεντρικής Μακεδονίας (Αύγουστος 2010) πραγματοποιήθηκε εργαστηριακός έλεγχος (25η ημέρα μετά την έναρξη της νόσου) ο οποίος επιβεβαίωσε τη λοίμωξη με τον ΙΔΝ.





## ΥΨΗΛΑ ΠΟΣΟΣΤΑ ΜΕΤΑΔΙΔΟΜΕΝΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΟΥΣ ΝΑΪΒΕ HIV -1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΤΗΣ ΒΟΡΕΙΑΣ ΕΛΛΑΔΑΣ. ΔΕΔΟΜΕΝΑ 2012 ΕΩΣ 2016.

Λ. Σκούρα<sup>1</sup>, Ε. Παπαδημητρίου<sup>1</sup>, Δ. Πιλάλας<sup>2</sup>, Ο. Τσαχουρίδου<sup>2</sup>, Ζ. Αντωνιάδου<sup>1</sup>, Α. Μαργαρίτη<sup>1</sup>, Κ. Φραγκούλη<sup>1</sup>, Α. Κουρελής<sup>1</sup>, Σ. Μεταλλίδης<sup>2</sup>, Δ. Χατζηδημητρίου<sup>1</sup>

1.Εθνικό Κέντρο Αναφοράς AIDS Β. Ελλάδας, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

2. Μονάδα Ειδικών Λοιμώξεων, Α΄Παθολογική Κλινική Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης ΑΧΕΠΑ, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης Θεσσαλονίκη.

Η επιδημία της HIV λοίμωξης στη Βόρεια Ελλάδα χαρακτηρίζεται από την παρουσία τοπικών δικτύων διασποράς με έντονη επίδραση στην αύξηση της μεταδιδόμενης αντοχής στα αντιρετροϊκά φάρμακα σε διπλάσια επίπεδα από τα αντίστοιχα στο ευρωπαϊκό πρόγραμμα επιδημιολογικής επιτήρησης για την περίοδο 2008-2010 (17.4% έναντι 8.3%)

Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν ο προσδιορισμός του ποσοστού μεταδιδόμενης αντοχής σε νεοδιαγνωσθέντες HIV-1 ασθενείς που δεν έχουν λάβει αντιρετροϊκή θεραπεία (naïve), κατά την περίοδο 2012-2016.

Σε 456 δείγματα naïve ασθενών πραγματοποιήθηκε γονοτυπική ανάλυση του *pol* γονιδίου του HIV-1 (πρωτεάση και τμήματος της ανάστροφης μεταγραφάσης) με τα συστήματα αντιδραστηρίων Trugene HIV-1 Genotyping Kit (Siemens) και ViroSeq HIV-1 Genotyping Kit (Abbott Molecular). Η ανεύρεση των μεταλλάξεων που σχετίζονται με αντοχή έγινε σύμφωνα με τη λίστα SDRM (Surveillance Drug Resistance Mutation list, 2009).

Ο συνολικός επιπολασμός της μεταδιδόμενης αντοχής ήταν 18.4%. Το υψηλότερο ποσοστό αντοχής καταγράφηκε για τους μη νουκλεοσιδικούς αναστολείς (NNRTIs) (16.2%, 74/456). Μικρότερα ποσοστά μεταδιδόμενης αντοχής καταγράφηκαν για τους νουκλεοσιδικούς αναστολείς της ανάστροφης μεταγραφάσης (NRTIs) και τους αναστολείς πρωτεάσης (PIs) (5.7% και 1.1% αντίστοιχα). Σε ποσοστό 4.4% παρατηρήθηκε διπλή μεταδιδόμενη αντοχή και στα NNRTIS και στα NRTIs. Συχνότερη μετάλλαξη αντοχής η K103N σε ποσοστό 10.74% (49/456), ενώ παρόμοιο ποσοστό καταγράφηκε για τις Y181C (5.26%, 24/456) και T215 revertant (5.04%, 23/456).



Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας ο επιπολασμός της μεταδιδόμενης ανοχής εξακολουθεί να κυμαίνεται σε υψηλά ποσοστά. Για την περίοδο με αυξητική τάση από το 2012 στο 2015. Επίσης το μεγαλύτερο ποσοστό TDR εξακολουθεί να παρατηρείται στην κατηγορία των NNRTIs, φαρμάκων πρώτης γραμμής στην αντιρετροϊκή θεραπεία, γεγονός που υπογραμμίζει την αναγκαιότητα του γονοτυπικού ελέγχου πριν την έναρξη της αντιρετροϊκής αγωγής αλλά και τη συνεχή επιτήρηση.

## **ΟΞΕΙΕΣ ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΣΕ ΤΡΙΤΟΒΑΘΜΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ: ΜΙΑ ΠΡΟΟΠΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ**

Ε. Παπαδοπούλου<sup>1</sup>, Β. Κουλουρίδα<sup>2</sup>, Αικ. Παπαδημητρίου<sup>2</sup>, Β. Τοσουνίδου<sup>2</sup>, Α. Παπά<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Α' Εργαστήριο Μικροβιολογίας Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup> Μικροβιολογικό-Βιοχημικό-Ιολογικό τμήμα Γ.Ν.Παπαγεωργίου Θεσσαλονίκης

**Εισαγωγή:** Η αιτιολογική διάγνωση της οξείας ιογενούς νευρολογικής λοίμωξης είναι δύσκολη, δεδομένου ότι τα συμπτώματα της νόσου δεν είναι συγκεκριμένα και η επιτυχία της εργαστηριακής διάγνωσης σχετίζεται με πολλές παραμέτρους. Η παρούσα μελέτη είχε σκοπό να καθορίσει την εργαστηριακή διάγνωση με μοριακές μεθόδους σε δείγματα εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY) που ελήφθησαν κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης της νόσου.

**Υλικό-Μέθοδοι:** 29 δείγματα ENY που ελήφθησαν κατά τη διάρκεια δύο ετών (Νοέμβριος 2014 - Νοέμβριος 2016), από ισάριθμους νοσηλευόμενους ασθενείς ηλικίας 5 έως 69 έτων (17 άρρενες), με οξείες λοιμώξεις του νευρικού συστήματος συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Η λήψη των δειγμάτων έγινε 1-9 ημέρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων. Έγινε έλεγχος με μοριακές μεθόδους για την παρουσία ερπητοϊού 1 (HSV-1), ερπητοϊού 2 (HSV-2), μεγαλοκυτταροϊού (CMV), του ιού της ανεμευλογιάς-έρπητα ζωστήρα (VZV), του ιού Epstein-Barr (EBV), ερπητοϊού 6 (HHV-6), ερπητοϊού 7 (HHV-7), εντεροϊών (EV), τον ιό του Δυτικού Νείλου και για φλεβοϊούς.

**Αποτελέσματα:** Εργαστηριακή διάγνωση ετέθη σε 12 από τα 29 περιστατικά (41,3%). 6 (20,7%) θετικά VZV, 3 (10,3%) για εντεροϊούς, 2 (6,9%) για EBV και ένα (3,4%) για HSV-1. Πέντε από τους ασθενείς είχαν εγκεφαλίτιδα, πέντε μηνιγγίτιδα, ενώ δύο συμπτώματα από το περιφερικό νευρικό σύστημα.

**Συμπεράσματα:** Η άμεση και ακριβής αιτιολογική διάγνωση της οξείας νευρολογικής λοίμωξης είναι σημαντική για τον ασθενή αλλά και για τη δημόσια υγεία. Η εφαρμογή της



multiplex και μεμονωμένης PCR, έθεσε την εργαστηριακή διάγνωση σε περίπου το ήμισυ των περιστατικών, γεγονός που υποδηλώνει ότι απαιτούνται περισσότερες προσπάθειες όπως η εφαρμογή της τεχνολογίας αλληλούχισης επόμενης γενεάς στα κλινικά εργαστήρια.

Η μελέτη χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα COMPARE EU (Grant number 643.476).

## Συνεδρία 5



## **ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΤΡΙΣΤΕΤΣΑΣ ΤΩΝ ΕΣΠΕΡΙΔΟΕΙΔΩΝ (*CITRUS TRISTEZA VIRUS*) ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΤΟΥ ΜΕ ΚΛΑΣΙΚΕΣ ΚΑΙ ΣΥΓΧΡΟΝΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ (NGS)**

Δ. Μπερή, Ο. Κεκτσίδου και Χ. Βαρβέρη

Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Εργαστήριο Ιολογίας, Στ. Δέλτα 8, 14561 Κηφισιά

Η πρώτη αναφορά για την παρουσία του αφιδομεταδιδόμενου ιού της τριστέτσας των εσπεριδοειδών (*Citrus tristeza virus*, CTV) έγινε στη χώρα μας πριν από 17 περίπου χρόνια (1). Αν και για μια δεκαετία τουλάχιστον φαινόταν ότι τα μέτρα περιορισμού που εφαρμόστηκαν σε εφαρμογή της φυτοϋγειονομικής νομοθεσίας ήταν ικανά να κρατήσουν υπό έλεγχο την εξάπλωση του ιού, την τελευταία τριετία εμφανίστηκαν νέες εστίες και νέα στελέχη του ιού. Ο ανοσολογικός χαρακτηρισμός των στελεχών με το εξειδικευμένο για επιθετικά στελέχη μονοκλωνικό αντίσωμα MCA13 καθώς και ο μοριακός χαρακτηρισμός τους με RT-PCR, RFLP και αλληλούχηση των προϊόντων της RT-PCR έδειξε ότι πρόκειται για διαφορετικά στελέχη από εκείνα που είχαν διαπιστωθεί στο παρελθόν στις περιοχές παραγωγής εσπεριδοειδών στη χώρα μας. Για την περαιτέρω ταυτοποίηση απομόνωσης από φυτό μανταρινιάς (M423GR) που προερχόταν από αγρό της Λακωνίας, χρησιμοποιήθηκε η τεχνολογία αλληλούχησης νέας γενιάς (NGS) Illumina και ως εκμαγείο τα παραγόμενα siRNAs κατά τη διαδικασία μόλυνσης των φυτών από τον ιό. Έγινε ανάγνωση ενός συνόλου 15.839.000 βάσεων (reads) οι οποίες αναλύθηκαν με διάφορα προγράμματα βιοπληροφορικής (Velvet, AssemblyAssembler, maq, FAsTQC και Tablet/VirusDetect). Οι αλληλουχίες της απομόνωσης M423GR του CTV στο δείγμα χαρτογραφήθηκαν με γνωστές πλήρεις αλληλουχίες απομονώσεων αναφοράς του CTV με αποτέλεσμα τη συναρμολόγηση ολοκλήρου του γονιδιώματος αυτής, μήκους 19.232 νουκλεοτιδίων. Η φυλογενετική ανάλυση της M423GR έδειξε τη μεγαλύτερη γενετική συγγένεια με την αμερικανική CTV-VT FS2-2 (99 % ομοιότητα) και την ελληνική ήπια



απομόνωση λεμονιάς από το λεμονοδάσος Πόρου Τροιζηνίας L192GR (98 % ομοιότητα) (2). Το αποτέλεσμα αυτό δείχνει ότι είναι πολύ πιθανό να μην πρόκειται για επικίνδυνη απομόνωση του ιού.

### **ΠΡΩΤΕΟΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥ ΑΡΧΙΚΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ ΣΤΗΝ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΠΝΟΥ-TOBACCO MOSAIC VIRUS ΚΑΙ DsRNA-ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ TMV.**

Naga Charan Konakalla<sup>1,2</sup>, Αθανάσιος Καλδής<sup>1</sup>, Μαργαρίτα Μπερμπάτη<sup>1</sup>, Hema Masagaru<sup>2</sup>, Sebastien Carpentier<sup>3,4</sup>, Ανδρέας Ε. Βολουδάκης<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών και Γεωργικού Πειραματισμού, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 11855, Ελλάς

<sup>2</sup> Department of Virology, Sri Venkateswara University, Tirupati 517502, India

<sup>3</sup> Department of Biosystems, KU Leuven, Leuven, Belgium

<sup>4</sup> SYBIOMA: Facility for SYstems BIOlogy based MAss spectrometry, Leuven, Belgium

Η RNA παρεμπόδιση (RNA interference, RNAi) είναι ένας αλληλουχίας-εξειδικευμένος μηχανισμός γονιδιακής σιώπησης που εμφανίζεται σε όλους τους ευκαρυώτες. Η RNAi ενεργοποιείται από το δίκλωνο RNA (double stranded [ds] RNA) και προστατεύει τα κύτταρα έναντι παθογόνων και μεταθετών στοιχείων. DsRNAs για το γόνο p126 (καταστολέας της σιώπησης) και την καψιδιακή πρωτεΐνη του TMV παρήχθησαν με *in vitro* μεταγραφής και εφαρμόστηκαν σε φύλλα καπνού (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi). Η εξωγενής εφαρμογή των dsRNAs είχε ως αποτέλεσμα την προστασία (50-65%) έναντι της TMV μόλυνσης. Επιπλέον, αναφέρεται η πολύ γρήγορη διασυστηματική μεταφορά των TMV dsRNA\_p126 μορίων και η ανίχνευση ενός ιικής προέλευσης μικρού παρεμποδίζοντος RNA (virus derived siRNA) στα τοπικά αλλά και διασυστηματικά φύλλα με την εφαρμογή ποσοτικής RT-PCR και stem-loop RT-PCR, αντίστοιχα.

Μελετήθηκε η επίδραση του TMV dsRNA\_p126 στο πρωτόμα του καπνού, στα αρχικά στάδια της μόλυνσης του TMV (< 15 min μετά την εφαρμογή του TMV). Πρωτεομική ανάλυση του καπνού έδειξε ότι η μόλυνση με TMV επηρεάζει πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη φωτοσύνθεση, στο μεταβολισμό ενέργειας, στην ανταπόκριση σε καταπονήσεις και στην άμυνα του φυτού. 585 πρωτεΐνες αναγνωρίστηκαν με gel- και label-free πρωτεομικές τεχνικές σε συνδυασμό με



φασματοσκοπία μάζας. Από αυτές, 19 πρωτεΐνες αυξήθηκαν σημαντικά (π.χ. cysteine protease inhibitor, RNA binding glycine rich protein) και 17 πρωτεΐνες μειώθηκαν σημαντικά (π.χ. carbonic anhydrase, chloroplastic PsbO4) λόγω της TMV μόλυνσης. Τα επίπεδα των πρωτεϊνών αυτών επανήλθαν στα κανονικά επίπεδα όταν μόρια dsRNA\_p126 (μαζί με τον TMV) εφαρμόστηκαν στον καπνό. Είναι αξιοσημείωτο ότι πέντε πρωτεΐνες βρέθηκαν σε υψηλότερα ποσά στη μεταχείριση dsRNA\_p126+TMV σε σύγκριση με τα φυτά καπνού όπου εφαρμόστηκε νερό. Τα αποτελέσματα αυτά αποτελούν την πρώτη υψηλής απόδοσης πρωτεομική ανάλυση στα πολύ αρχικά στάδια της αλληλεπίδρασης καπνού/TMV και της επίδρασης των TMV p126-προερχόμενων dsRNAs στην εν λόγω αλληλεπίδραση.

### **ΙΟΣ ΤΟΥ ΜΕΤΑΧΡΩΜΑΤΙΣΜΟΥ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΡΟΔΙΤΗ (GRLDaV):** **ΕΝΑΣ DNA ΙΟΣ ΜΕ ΕΥΡΕΙΑ ΔΙΑΣΠΟΡΑ ΣΤΟΥΣ ΕΛΛΗΝΙΚΟΥΣ ΑΜΠΕΛΩΝΕΣ**

Χ.Λ. Σασσάλου<sup>1</sup>, Α. Αυγελής<sup>2</sup>, Κ. Ευθυμίου<sup>1</sup>, Ν. Ι. Κατής<sup>1</sup>, Β. Ι. Μαλιόγκα<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας, Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, τηλ.2310998855, 54124 Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup> Ινστιτούτο Αμπέλου, Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός «ΔΗΜΗΤΡΑ», 71307 Ηράκλειο Κρήτης

Τα τελευταία χρόνια η χρήση της καινοτόμου τεχνολογίας αλληλούχησης νέας γενιάς (Next generation sequencing, NGS) έχει οδηγήσει στην ταυτοποίηση νέων ιών στην άμπελο. Ένας από αυτούς είναι και ο ιός του μεταχρωματισμού των φύλλων της ποικιλίας Ροδίτη (GRLDaV). Πρόκειται για έναν DNA ιό του γένους *Badnavirus*, ο οποίος ταυτοποιήθηκε πρόσφατα στη χώρα μας ως ένα νέο παθογόνο της αμπέλου διεθνώς. Στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκε η συχνότητα παρουσίας του ιού σε ποικιλίες αμπέλου που καλλιεργούνται στην Ελληνική επικράτεια καθώς και το εύρος της γενετικής του παραλλακτικότητας. Πιο συγκεκριμένα, ελέγχθηκαν μοριακά (PCR) δείγματα πρέμνων αυτοχθόνων και ξενικών ποικιλιών αμπέλου που συλλέχτηκαν από διάφορες περιοχές της χώρας. Ο έλεγχος κατέδειξε υψηλή συχνότητα του GRLDaV σε αυτόχθονες αυτόριζες ποικιλίες από τα νησιά των Κυκλάδων, μικρότερη στις αυτόχθονες εμβολιασμένες ποικιλίες, ανιχνεύθηκε επίσης σε δύο διαφορετικά υποκείμενα, ενώ δεν εντοπίστηκε στις ξενικές ποικιλίες. Προκαταρκτική συγκριτική ανάλυση αλληλουχιών του γονιδιώματος διαφόρων απομονώσεων του ιού κατέδειξε υψηλά ποσοστά γενετικής διαφοροποίησης. Περαιτέρω μελέτες για την διασπορά του ιού στον Ελλαδικό χώρο, αλλά και για την κατανόηση των



μηχανισμών που επηρεάζουν την παραλλακτικότητα και εξέλιξη του ιού στην άμπελο διεξάγονται στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του ΑΠΘ.

### ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΜΟΣΑΪΚΟΥ ΤΗΣ ΚΑΡΠΟΥΖΙΑΣ

Ε. Ξαξίρη<sup>1</sup>, C. Desbiez<sup>2</sup>, Β.Ι. Μαλιόγκα<sup>1</sup>, Κ. Ταχόπουλος<sup>1</sup>, Η. Lecoq<sup>2</sup>, P. Millot<sup>2</sup>, C. Wipf-Scheibel<sup>2</sup>, Ν.Ι. Κατής<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας, Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, 54 124, Θεσσαλονίκη

Ο ιός του μωσαϊκού της καρπουζιάς (WMV, γένος *Potyvirus*) είναι από τους πιο σημαντικούς και ευρέως διαδεδομένους ιούς των κολοκυνθοειδών παγκοσμίως. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι οι απομονώσεις του ιού κατατάσσονται φυλογενετικά στις ομάδες G1, G2 και G3 (ή "EM"-αναδυόμενες), ενώ εντοπίστηκαν και περιπτώσεις ανασυνδυασμού μεταξύ G1-G2. Στη χώρα μας, αν και είναι γνωστή η υψηλή συχνότητα παρουσίας του ιού δεν υπάρχουν πληροφορίες για τη γενετική παραλλακτικότητα των πληθυσμών του. Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε φυλογενετική ανάλυση τριών περιοχών του γονιδιώματος (P1, P3-CI και NIb-CP) 130 ιικών απομονώσεων που συλλέχθηκαν κατά τα έτη 2013-2015 και 18 απομονώσεων από προηγούμενα έτη (14 δείγματα από το 1994 και 1 από κάθε έτος 1997, 2003, 2005, 2009). Τα φυλογενετικά δέντρα κατέταξαν τις περισσότερες απομονώσεις στις 3 γνωστές ομάδες, ενώ ανιχνεύθηκαν και περιπτώσεις ανασυνδυασμών. Ενδιαφέρον εμφανίζει η κατάταξη ορισμένων απομονώσεων σε διαφορετικούς φυλογενετικούς κλάδους από τους ήδη γνωστούς. Καμία από τις απομονώσεις των παρελθόντων ετών που μελετήθηκαν δεν χαρακτηρίστηκε ως EM γεγονός που υποδεικνύει ότι τα στελέχη EM πιθανώς έχουν εισαχθεί πρόσφατα στην Ελλάδα, όπως έχει παρατηρηθεί και σε άλλες χώρες της Μεσογειακής λεκάνης. Οι



παράγοντες που συμβάλλουν στην αυξημένη γενετική διαφοροποίηση του WMV και οι αγρονομικές της επιπτώσεις είναι υπό διερεύνηση.

## ΜΕΛΕΤΗ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΟΥ ΧΛΩΡΩΤΙΚΟΥ ΙΚΤΕΡΟΥ ΤΩΝ ΚΟΛΟΚΥΝΘΟΕΙΔΩΝ (*CUCURBIT CHLOROTIC YELLOWS VIRUS, CCYV*) ΜΕ ΤΟ ΦΟΡΕΑ ΚΑΙ ΤΟΥΣ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥ

Χ.Γ. Ορφανίδου<sup>1</sup>, Λ. Λώτος<sup>1</sup>, Α. Μπαλτζή<sup>1</sup>, Ν. Δήμου<sup>1</sup>, Μ.Μ. Μαθιουδάκης<sup>2</sup>, Ι. Λιβιεράτος<sup>2</sup>, Ν.Ι. Κατής<sup>1</sup>, Β.Ι. Μαλιόγκα<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Σχολή Γεωπονίας, Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Τμήμα Γεωπονίας, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, 54 124, Θεσσαλονίκη

<sup>2</sup>Μεσογειακό Αγρονομικό Ινστιτούτο Χανίων, Τμήμα Αειφόρου Γεωργίας, Εργαστήριο Ιολογίας Φυτών, Αλσύλιο Αγροκήπιο, 73 100, Χανιά

Ο ιός του χλωρωτικού ικτέρου των κολοκυνθοειδών (*Cucurbit chlorotic yellows virus, CCYV* γένος *Crinivirus*, οικ. *Closteroviridae*) σχετίζεται με την ασθένεια του ικτέρου στα κολοκυνθοειδή και μεταδίδεται με τον αλευρώδη *Bemisia tabaci*. Διαθέτει διηρημένο γονιδίωμα μήκους 8607ντ (RNA1) και 8041ντ (RNA2), αντίστοιχα. Στην Ελλάδα, αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 2014 και οι γνώσεις για την επιδημιολογία και την παθογένειά του είναι περιορισμένες. Για το λόγο αυτό, συλλέχτηκαν δείγματα κολοκυνθοειδών με συμπτώματα ικτέρου, καθώς και αυτοφυή (40 είδη, 23 οικογένειες). Ακολούθησε μοριακός έλεγχος και γενετικός χαρακτηρισμός απομονώσεων του ιού. Επίσης, μελετήθηκε η μετάδοση του ιού από τον *B. tabaci*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο CCYV εντοπίζεται σε καλλιέργειες κολοκυνθοειδών σε Ρόδο και Κρήτη. Επίσης, ταυτοποιήθηκαν 13 είδη ζιζανίων (10 οικογένειες) ως εναλλακτικοί ξενιστές του, ενώ η αλληλούχηση της ΚΠ ανέδειξε χαμηλά επίπεδα γενετικής παραλλακτικότητας. Οι δοκιμές μετάδοσης έδειξαν





σημαντικές διαφορές ( $P < 0.01$ ) όσον αφορά τον αριθμό των ατόμων, ενώ ο φορέας παραμένει ιοφόρος για 4 ημέρες. Επίσης, διερευνήθηκε η ικανότητα 3 πρωτεϊνών (p22, ΚΠ, p26) ως καταστολέων της RNA σίγησης. Ακολουθήθηκε η διαδικασία παροδικής έκφρασης της κάθε πρωτεΐνης με συν-αγροεμπότισμό με πλασμιδιακό φορέα έκφρασης της GFP σε φυτά *Nicotiana benthamiana*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μόνο η p22 είναι πιθανός καταστολέας της σίγησης RNA, ενώ ο ακριβής τρόπος δράσης της είναι υπό διερεύνηση. Τέλος, γίνεται προσπάθεια κατασκευής μολυσματικού cDNA κλώνου του ιού για τη μελέτη της παθογένειάς του.

## Συνεδρία 6



## **ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΜΙΑΣ STEM – LOOP REVERSE TRANSCRIPTIION PCR ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΓΡΑΦΙΚΑ ΕΝΕΡΓΩΝ ΕΝΤΕΡΟΪΩΝ ΜΕΣΩ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΑΡΝΗΤΙΚΗΣ ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑΣ RNA ΚΛΩΝΟΥ**

Τ. Δημητρίου<sup>1</sup>, Α. Φίκατας<sup>1</sup>, Μ. Δάσκου<sup>1</sup>, Ζ. Κυριακοπούλου<sup>1</sup>, Δ. Μόσιαλος<sup>1</sup>, Κ. Γκαρτζονίκα<sup>2</sup>, Σ. Λεβειδιώτου-Στεφάνου<sup>2</sup>, Π. Μαρκουλάτος<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Εργαστήριο Μικροβιολογίας – Ιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>2</sup> Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Οι εντεροϊοί ανήκουν στην οικογένεια Picornaviridae. Το γένωμα τους είναι ένα μονόκλωνο RNA θετικής πολικότητας μήκους περίπου 7.500 βάσεων. Κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής των εντεροϊών, απαραίτητο βήμα αποτελεί η σύνθεση του αρνητικής πολικότητας RNA κλώνου, ο οποίος αποτελεί τη μήτρα για τη σύνθεση των νέων κλώνων θετικής πολικότητας που θα αποτελέσουν τα νέα ιικά γενώματα.

Οι περισσότερες λοιμώξεις των εντεροϊών είναι ασυμπτωματικές και εμφανίζονται πιο συχνά σε άνδρες από ότι σε γυναίκες, όμως μπορούν να προκαλέσουν ένα φάσμα από διακριτά κλινικά συμπτώματα με σοβαρότερα την άσηπτη μηνιγγίτιδα και την πολιομυελίτιδα, κρίνοντας έτσι απαραίτητη την ανίχνευσή τους.

Η κλασσική μέθοδος ανίχνευσης της ενεργότητας των εντεροϊών προϋποθέτει τη χρονοβόρα διαδικασία των κυτταροκαλλιεργειών η οποία παρουσιάζει σημαντικά μειονεκτήματα κυρίως ως προς την ευαισθησία. Επιπλέον, η χρήση μιας Real-Time ποσοτικής PCR προϋποθέτει ειδικό και ακριβό εξοπλισμό.

Στην παρούσα εργασία αναπτύχθηκε μία ειδική Stem-loop RT-PCR, η οποία επιτρέπει την ανίχνευση του αρνητικής πολικότητας κλώνου. Η τεχνική αυτή χάρη στη χαρακτηριστική δομή και αλληλουχία του εκκινήτη που χρησιμοποιείται κατά την RT, παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία και εξειδίκευση, ενώ παράλληλα μειώνει σημαντικά το χρόνο ανίχνευσης σε σχέση με τις κυτταροκαλλιεργείες. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μοριακής αυτής τεχνικής, είναι δυνατή η ανίχνευση του κλώνου αρνητικής πολικότητας ακόμη και 2 ώρες μετά την μόλυνση κυττάρων.



Η τεχνική αυτή εφαρμόστηκε επίσης με επιτυχία τόσο στην ανίχνευση ενεργότητας Coxsackie A ιών, που δεν εμφανίζουν κυτταροπαθογόνο δράση, αλλά και στην ανίχνευση της ενεργότητας των ιών έπειτα από θερμική αδρανοποίηση, καθιστώντας την ειδική αυτή RT-PCR ένα χρήσιμο εργαλείο.

### **ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΑΣ ΙΣΟΘΕΡΜΙΚΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ (REVERSE TRANSCRIPTION-LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION, RT-LAMP) ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΕΝΤΕΡΟΪΩΝΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ C**

Μ. Δάσκου<sup>1</sup>, Τ. Δημητρίου<sup>1</sup>, Φ. Τέκος,<sup>1</sup> Ζ. Κυριακοπούλου<sup>1</sup>, Γ. Αμούτζιας<sup>2</sup>, Δ. Μόσιαλος<sup>1</sup>, Π. Μαρκουλάτος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Μικροβιολογίας-Ιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>2</sup>Εργαστήριο Βιοπληροφορικής, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Οι εντεροϊοί ανήκουν στην οικογένεια Picornaviridae και στο γένος Enterovirus. Το γονιδίωμα τους είναι μονόκλωνο RNA θετικής πολικότητας (+)ssRNA μήκους περίπου 7.500 βάσεων, το οποίο περιβάλλεται από ένα πρωτεϊνικό καψίδιο εικοσαεδρικής συμμετρίας. Οι περισσότερες μολύνσεις με εντεροϊούς είναι ασυμπτωματικές, αλλά σε ένα ποσοστό οδηγούν στην εμφάνιση σοβαρών ασθενειών όπως η άσηπτη μηνιγγίτιδα και η παραλυτική πολιομυελίτιδα. Λόγω των ασυμπτωματικών μολύνσεων, μπορούν να κυκλοφορούν «σιωπηλά» μέσα σε έναν πληθυσμό με αποτέλεσμα να ελλοχεύει ο κίνδυνος πιθανών εξάρσεων. Για αυτό, κρίνεται αναγκαία η ύπαρξη μίας γρήγορης και εύκολης μεθόδου ανίχνευσης τους, ώστε να προληφθούν τέτοια γεγονότα.

Παραδοσιακά, η διάγνωση μολύνσεων από εντεροϊούς περιλαμβάνει κυτταροκαλλιέργεια, ακολουθούμενη από οροεξουδετέρωση μέσω χρήσης αντισωμάτων. Η μέθοδος αυτή είναι επίπονη, χρονοβόρα, και όχι τόσο πρακτική. Πλέον, έχουν αναπτυχθεί



μοριακές τεχνικές ανίχνευσης των εντεροϊών, όπως για παράδειγμα οι: PCR, RT-PCR και qRT-PCR.

Μία εναλλακτική προσέγγιση μπορεί να αποτελέσει η LAMP (Loop-mediated isothermal amplification). Η LAMP είναι μία νέα ισοθερμική τεχνική ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων, που πραγματοποιείται σε ένα βήμα.

Στην παρούσα εργασία, αναπτύχθηκε μία γρήγορη, υψηλής ευαισθησίας και εξειδίκευσης ισοθερμική τεχνική αντίστροφης μεταγραφής (Reverse Transcription-Loop mediated amplification, RT-LAMP) για την ανίχνευση των εντεροϊών της ομάδας C (EV-Cs). Η τεχνική αυτή σχεδιάστηκε με βάση πρότυπες αλληλουχίες εντεροϊών της ομάδας C και εφαρμόστηκε τόσο σε πρότυπα όσο και σε κλινικά στελέχη. Τα αποτελέσματα από την εφαρμογή της μεθόδου, καθιστούν αυτή την τεχνική ένα κατάλληλο διαγνωστικό εργαλείο για την ανίχνευση των εντεροϊών της ομάδας C.

#### **ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΠΕΔΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΣΗΣ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΑΣ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΑ ΕΤΗ 2014-2016 ΣΤΟ ΝΟΜΟ ΣΕΡΡΩΝ**

Σ.Μελά, Α.Μέγαλου, Α.Πούλου, Π.Κουδούνης, Ν.Παπαιωάννου, Μ.Χαιτόγλου, Α.Βέλλιος, Ε.Μάγειρα, Δ.Θεοδωρίδου, Φ.Μάρκου

Εργαστήριο Βιοπαθολογίας Γενικού Νοσοκομείου Σερρών

Η ερυθρά είναι μια ήπια νόσος σε παιδιά και ενήλικες, με σοβαρές συνέπειες όταν μολυνθεί το έμβρυο στις πρώτες εβδομάδες της κύησης. Ο κίνδυνος συγγενών ανωμαλιών σε περίπτωση προσβολής της εγκύου ανέρχεται σε ποσοστό 80-85% (Best 2007). Επομένως είναι πολύ σημαντικός ο εντοπισμός γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας χωρίς ανοσία στην ερυθρά.

Υλικό- Μέθοδος: Κατά τη διάρκεια τριετίας, στα πλαίσια προγεννητικού ελέγχου ελέχθησαν 678 γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας (18-45 ετών) για ύπαρξη αντισωμάτων έναντι της ερυθράς. Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν η μικροσωματιδιακή ανοσοενζυμική (Architect Abbot).

Αποτελέσματα: Από τα 678 εξετασθέντα δείγματα στα 588(86,7%) ανευρέθηκαν θετικά IgG αντισώματα, τα 54(8%) ήταν αμφίβολα και τα 36(5,3%) αρνητικά. Ιδιαίτερα αυξημένο είναι το ποσοστό των αρνητικών και αμφίβολων (17,7%) στις ηλικίες 18-30 σε σύγκριση με τις μεγαλύτερες ηλικίες (8,33%). Επίσης ψηλό ποσοστό(63,7%) γυναικών ηλικίας 18-30 ετών



είχαν τίτλο IgG αντισωμάτων 10-50 IU/ml ενώ γυναίκες άνω των 30 ετών (50,7%) είχαν τίτλο >50. Όσον αφορά τα IgM αντισώματα σε 674(99,4%) γυναίκες ήταν αρνητικά, σε 3(0,44%) αμφίβολα και σε 1(0,15%) θετικά.

Συμπεράσματα: Σημαντικό ποσοστό γυναικών παρουσίασε αρνητικά, αμφίβολα αλλά και χαμηλό τίτλο IgG αντισωμάτων όπως έχει διαπιστωθεί και από άλλες γυναίκες σε ανεπτυγμένες χώρες (Duszak 2009). Αυτός ο πληθυσμός γυναικών είναι ευαίσθητος στην λοίμωξη με τον ιό της ερυθράς με ότι κινδύνους αυτό συνεπάγεται για το έμβρυο. Κρίνεται σκόπιμος προληπτικός έλεγχος των γυναικών πριν την αναπαραγωγική ηλικία και επανεμβολιασμός τους όταν κρίνεται απαραίτητο. Επίσης οροαρνητικές και με χαμηλό τίτλο αντισωμάτων γυναίκες κατά τη διάρκεια της κύησης, θα πρέπει να εμβολιαστούν μετά τη γέννα.

## **ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΔΗΜΙΑΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ ΣΤΗ ΒΟΡΕΙΑ ΕΛΛΑΔΑ, 2016**

Σ. Παππά<sup>1</sup>, Ε. Παπαδοπούλου<sup>1</sup>, Ε. Ροηλίδης<sup>2</sup>, Α. Παπά<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Α' Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup> Γ' Παιδιατρική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

**Εισαγωγή:** Η ιογενής γαστρεντερίτιδα είναι μια εντερική λοίμωξη που οφείλεται σε διάφορους ιούς, συχνότερα σε νοροϊούς, ροταϊούς και αδενοϊούς. Κατά τους τελευταίους μήνες του 2016 παρατηρήθηκε αύξηση της συχνότητας εμφάνισης ιογενούς γαστρεντερίτιδας στη Βόρεια Ελλάδα. Σκοπός της μελέτης ήταν να διερευνηθούν τα αίτια αυτής της επιδημίας, ιδιαίτερα σε παιδιά.

**Υλικό-Μέθοδοι:** Υλικό της μελέτης ήταν 19 δείγματα κοπράνων που ελήφθησαν κατά τη διάρκεια 4 μηνών (Σεπτέμβριος - Δεκέμβριος 2016) από ισάριθμους ασθενείς κυρίως παιδικής ηλικίας που εμφάνισαν συμπτώματα οξείας γαστρεντερίτιδας. Περισσότεροι ασθενείς 14 (73,7%) ήταν κορίτσια. Η λήψη των δειγμάτων έγινε στην οξεία φάση της νόσου. Εφαρμόστηκαν διάφορες PCR τόσο για την ανίχνευση όσο και για την τυποποίηση των ιών. Τα δείγματα ελέγχθηκαν για την παρουσία ροταϊοίων, νοροϊοίων, αστροϊοίων, αδενοϊοίων και σαποροϊών.



**Αποτελέσματα:** Εργαστηριακή διάγνωση γαστρεντερίτιδας ετέθη σε 14 από τα 19 (73,7%) περιστατικά. Συγκεκριμένα, σε 6 δείγματα (42,85%) ανιχνεύτηκε νοροϊός, σε 6 (42,85%) ανιχνεύτηκαν ροταϊοί, σε 3 (21,4%) αδενοϊοί, και σε ένα δείγμα (7,14%) ανιχνεύτηκε αστροϊός. Σε δύο ασθενείς παρατηρήθηκαν συνλοιμώξεις: σε έναν ασθενή ανιχνεύτηκε νοροϊός και αστροϊός, και σε έναν δεύτερο ασθενή ανιχνεύτηκε αδενοϊός και ροταϊός. Όλοι οι νοροϊοί ήταν τύπου GII.

**Συμπεράσματα:** Φάνηκε ότι διάφοροι ιοί ήταν η αιτία των περιστατικών γαστρεντερίτιδας, με επικρατέστερους τους νοροϊούς τύπου GII και τους ροταϊούς. Οι συνλοιμώξεις ήταν σχετικά συχνές. Η άμεση και ακριβής αιτιολογική διάγνωση της οξείας γαστρεντερίτιδας είναι σημαντική για τον ασθενή και για τη δημόσια υγεία.

Η έρευνα διεξήχθη στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος COMPARE (No 643476).

## **ΜΟΡΙΑΚΗ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΝΟΡΟΙΩΝ GII.4 ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ**

*<sup>1</sup>Νικόλαος Σιαφάκας, <sup>1</sup>Μαρία Λαφαζάνη, <sup>1</sup>Σπυρίδων Πουρνάρας*

<sup>1</sup>Εργαστήριο Κλινικής Μικροβιολογίας, ΠΓΝ «ΑΤΤΙΚΟΝ»

**Εισαγωγή:** Τα στελέχη του γονοτύπου GII.4 των νοροϊών προκαλούν την πλειοψηφεία σποραδικών και επιδημικών περιστατικών οξείας γαστρεντερίτιδας τις τελευταίες 2 δεκαετίες, λόγω της περιοδικής εμφάνισης νέων αντιγονικών παραλλαγών. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της μοριακής επιδημιολογίας στελεχών GII.4 σε παιδιά, σε σύγκριση με τα τρέχοντα πανδημικά στελέχη.

**Υλικά και Μέθοδοι:** Μελετήθηκαν 51 στελέχη νοροϊών GII.4 τα οποία ανιχνεύθηκαν σε παιδιά ηλικίας 17 ημερών έως 14 ετών κατά τη διάρκεια 30 μηνών (1/2013 - 6/2015). Η γονοτυπική ταυτοποίηση πραγματοποιήθηκε με βάση το γονίδιο ORF2 της καψιδικής πρωτεΐνης VP1 και ακολούθησε συγκριτική φυλογενετική ανάλυση των στελεχών που ανιχνεύθηκαν και ομολόγων στελεχών GII.4 που κυκλοφορούν διεθνώς.

**Αποτελέσματα:** Τα περισσότερα στελέχη GII.4 (44/51) προερχόντουσαν από δείγματα κοπράνων με ημερομηνία συλλογής μεταξύ του Μαρτίου και του Δεκεμβρίου 2013. Η



συχνότητα ανίχνευσης στελεχών GII.4 μειώθηκε δραματικά το 2014 και το 2015, όπως και η γενικότερη επίπτωση γαστρεντερίτιδας από νοροϊούς. Συνολικά, 45/51 στελέχη συνδεόντουσαν φυλογενετικά με πανδημικά στελέχη της αντιγονικής παραλλαγής «Sydney 2012», ενώ ένα στέλεχος τυποποιήθηκε ως παλαιότερου τύπου GII.4 «New Orleans 2009». Αξιοσημείωτη είναι η ανίχνευση 5 στελεχών GII.4 που δεν μπορούσαν να ταξινομηθούν σε οποιαδήποτε από τις ήδη γνωστές αντιγονικές παραλλαγές.

**Συμπεράσματα:** Η παρούσα μελέτη διερεύνησε για πρώτη φορά στην Ελλάδα τη μοριακή επιδημιολογία των νοροϊών GII.4, δείχνοντας την επικράτηση στελεχών της παραλλαγής «Sydney 2012» που κυκλοφορεί διεθνώς τα τελευταία 5 χρόνια, τα οποία προκάλεσαν επιδημικές εξάρσεις το 2013. Τα στελέχη που δεν μπορούσαν να τυποποιηθούν πιθανώς αντιπροσωπεύουν μία αναδυόμενη γενετική παραλλαγή του νοροϊού GII.4, η οποία χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

#### **ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΝΕΑΣ ΠΟΛΥΠΛΕΚΤΙΚΗΣ PCR (MULTIPLEX PCR) ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΙΟΓΕΝΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΠΑΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΕΝΗΛΙΚΩΝ**

Γ. Καπνίση<sup>1</sup>, Χ. Κήττας<sup>1</sup>, Α. Γιαννάκη<sup>1</sup>, Ν. Μαργαρίτη<sup>1</sup>, Α. Κωνσταντινίδης<sup>2</sup>, Α. Μάκης<sup>3</sup>, Ε. Πριάβαλη<sup>1</sup>, Σ. Λεβειδιώτου-Στεφάνου<sup>1</sup>, Κ. Γκαρτζονίκα<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων <sup>2</sup>Πνευμονολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

<sup>3</sup>Παιδιατρική Κλινική, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΚΟΠΟΣ:** Οι ιογενείς λοιμώξεις, ιδιαίτερα του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) και του Αναπνευστικού Συστήματος (ΑΣ), αποτελούν σημαντικό πρόβλημα της δημόσιας υγείας. Απαιτείται ταχεία και έγκυρη ανίχνευση των παθογόνων αιτίων που τις προκαλούν. Η εφαρμογή των μοριακών τεχνικών και ιδιαίτερα της Multiplex PCR βοηθά σημαντικά στην αιτιολογική τους διάγνωση.

**ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ:** Για το σκοπό αυτό ελέγχθηκαν συνολικά 76 δείγματα ΕΝΥ ασθενών με κλινική υποψία μηνιγγίτιδας ή/και εγκεφαλίτιδας με το FilmArray ME, που αποτελεί ένα αυτοματοποιημένο σύστημα πολυπλεκτικής PCR για την ταυτόχρονη ανίχνευση 14 παθογόνων αιτίων λοιμώξεων του ΚΝΣ. Επιπρόσθετα ελέγχθηκαν 80 ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα ασθενών με κλινική υποψία λοίμωξης του ΑΣ με το FilmArray



RS panel (FilmArray, bioMerieux), που επιτρέπει την ταυτόχρονη ανίχνευση 20 παθογόνων υπεύθυνων για λοιμώξεις του ΑΣ. Παράλληλα εφαρμόστηκαν κλασικές μικροβιολογικές τεχνικές ή/και άλλες μοριακές μέθοδοι.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:** Συνολικά ανιχνεύτηκαν παθογόνα αίτια σε 17 από τα 76 δείγματα ΕΝΥ. Αναλυτικότερα ανιχνεύτηκαν ιοί σε 10 δείγματα ΕΝΥ (10/17, 58,8%), βακτήρια σε 6 (6/17, 35,3%) και 1 μύκητας (1/17, 5,9%). Στο 80% των ιογενών λοιμώξεων ο VZV ήταν ο κύριος αιτιολογικός παράγοντας. Σε 54 από τα 80 ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα ανιχνεύτηκε τουλάχιστον ένας αιτιολογικός παράγοντας και πιο συγκεκριμένα, ιοί σε 53 δείγματα (53/54, 98,1%), με επικρατέστερους τους RSV (38,6%) και Influenza A (29,8%), και βακτήρια σε 2 δείγματα. Περισσότερα του ενός παθογόνα βρέθηκαν σε 6 ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα (11,1%), με επικράτηση των ιογενών συν-λοιμώξεων. Ο μέσος χρόνος διεκπεραίωσης της εξέτασης και αναφοράς του αποτελέσματος ήταν 2,5 ώρες από την παραλαβή των δειγμάτων. Η πολυπλεκτική PCR είναι μια εφαρμογή που συνέβαλε στην ταχεία διάγνωση και διαφοροδιάγνωση λοιμώξεων του ΚΝΣ και του ΑΣ, στην ανίχνευση συν-λοιμώξεων και στην ταχύτερη έναρξη στοχευμένης θεραπείας με τελικό αποτέλεσμα την καλύτερη έκβαση της πορείας του ασθενούς.

**ΠΙΘΑΝΗ ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΗ ΕΚΤΡΟΠΗ ΣΕ ΣΤΕΛΕΧΗ ΙΩΝ ΓΡΙΠΗΣ Α(H3N2) ΠΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΑΝ ΣΕ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΣΤΗ Β. ΕΛΛΑΔΑ.**

Α Μελίδου\*<sup>1</sup>, Γ Γκιούλα<sup>1</sup>, Μ Εξηντάρη<sup>1</sup>, Ε Ιωάννου<sup>1</sup>, Κ Γκολφινόπουλου<sup>2</sup>, Τ Γεωργακοπούλου<sup>2</sup>, Σ Τσιόδρας<sup>2</sup>, Α Παπά-Κονιδάρη<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Γρίπης Β. Ελλάδας, Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup>Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕΕΛΠΝΟ), Αθήνα

Ο ιός γρίπης Α(H3N2) επικράτησε κατά την φετινή περίοδο γρίπης 2016-17 και η πλειονότητα των στελεχών που κυκλοφόρησαν στην Ευρώπη, όπως και στην Ελλάδα, ανήκαν στο φυλογενετικό κλάδο 3C.2a1. Οι ιοί αυτοί είχαν αντιγονική συγγένεια με το στέλεχος του εμβολίου στο Βόρειο Ημισφαίριο A/Hong Kong/4801/2014, το οποίο μετά από σύσταση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας θα εμπεριέχεται και στο εμβόλιο της επόμενης περιόδου, 2017/18. Παρατηρήθηκαν σχετικά υψηλά ποσοστά αποτυχιών του εμβολίου κατά την περίοδο 2016/17 στην Ελλάδα, ειδικά στην ηλικιακή ομάδα >65 ετών. Η πλειονότητα των στελεχών που ανιχνεύθηκαν σε εμβολιασμένους ασθενείς ανήκε στον





φυλογενετικό κλάδο 3C.2a1, με δύο χαρακτηριστικές μεταλλάξεις στην αλληλουχία της αιμοσυγκολλητίνης τους, τις N122D και T135K. Και οι δύο αυτές μεταλλάξεις βρίσκονται πάνω σε αντιγονικούς επιτόπους της αιμοσυγκολλητίνης του ιού και προκαλούν την απώλεια μια θέσης γλυκοσιλίωσης, πιθανώς προκαλώντας αντιγονική εκτροπή. Λόγω της αυξημένης κυκλοφορίας των στελεχών αυτών στην Ελλάδα, καθώς και σε άλλες Ευρωπαϊκές χώρες, περαιτέρω αντιγονικές μελέτες είναι απαραίτητες, ώστε να διευκρινηθεί η συσχέτιση των μεταλλάξεων αυτών με την αντιγονικότητα των στελεχών ιών γρίπης A(H3N2) που τις φέρουν και έτσι με την αποτελεσματικότητα του εμβολίου.

### **ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ *IN VITRO* ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΕΜΒΟΛΙΑΚΟΥ ΣΤΕΛΕΧΟΥΣ SABIN 1 ΚΑΙ COXSACKIE A13**

Τ. Δημητρίου<sup>1</sup>, Φ. Τέκος<sup>1</sup>, Μ. Δάσκου<sup>1</sup>, Ζ. Κυριακοπούλου<sup>1</sup>, Δ. Μόσιαλος<sup>1</sup>, Γ. Αμούτζιας<sup>2</sup>, Κ. Γκαρτζονίκα<sup>3</sup>, Σ. Λεβειδιώτου-Στεφάνου<sup>3</sup>, Π. Μαρκουλάτος<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Εργαστήριο Μικροβιολογίας – Ιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>2</sup> Εργαστήριο Βιοπληροφορικής, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>3</sup> Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Οι εντεροϊοί ανήκουν στην οικογένεια Picornaviridae. Το γένωμα τους είναι μονόκλωνο RNA θετικής πολικότητας μήκους περίπου 7.500bp και περιβάλλεται από ένα εικοσαεδρικό πρωτεϊνικό καψίδιο. Οι εντεροϊοί που προσβάλλουν τον άνθρωπο ταξινομούνται σε τέσσερις ομάδες: EV-A, EV-B, EV-C και EV-D. Οι πολιοϊοί, το σημαντικότερο μέλος της ομάδας C, διακρίνονται σε τρεις ορότυπους (PV1, PV2, PV3) και είναι οι αιτιολογικοί παράγοντες της παραλυτικής πολιομυελίτιδας. Από το 1960 χρησιμοποιούνται δύο εμβόλια για την εξάλειψη της ασθένειας, αρχικά το IPV και κατόπιν το



πιο αποτελεσματικό OPV. Ωστόσο, το OPV εμφάνισε το μειονέκτημα της εμβολιοσυνδεόμενης παραλυτικής πολιομυελίτιδας (VAPP: Vaccine-associated paralytic poliomyelitis) και της κυκλοφορίας των εμβολιοπροερχόμενων πολιοϊών (VDPVs: Vaccine-Derived Polioviruses) μέσω της συσσώρευσης μεταλλάξεων ή και ανασυνδυασμών στο γένωμα των εξασθενημένων εμβολιακών στελεχών Sabin.

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η μελέτη των ανασυνδυασμών που προέκυψαν έπειτα από ταυτόχρονη μόλυνση κυττάρων Rd χρησιμοποιώντας τα πρότυπα στελέχη Sabin 1 και Coxsackie A13. Για το λόγο αυτό, σχεδιάστηκαν ειδικά ζεύγη εκκινητών για την ανίχνευση πιθανών ανασυνδυασμών που καλύπτουν ολόκληρο το γονιδίωμα των ιών Sabin 1 και Coxsackie A13 και εκτελέστηκαν PCR αντιδράσεις χρησιμοποιώντας τα παραπάνω ζεύγη για την ενίσχυση των αντίστοιχων τμημάτων. Ακολούθησε αλληλούχηση των προϊόντων και επεξεργασία των νουκλεοτιδικών αλληλουχιών μέσω προγραμμάτων βιοπληροφορικής για την ανάλυση των ανασυνδυασμών.

Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης προέκυψαν επτά διαφορετικοί ανασυνδυασμοί στις γενωμικές περιοχές 2A και 2B. Παράλληλα, σχεδιάστηκαν πιθανά μοντέλα της δευτεροταγούς δομής των RNA μορίων στις θέσεις όπου εντοπίστηκαν οι ανασυνδυασμοί, μέσω των οποίων δομών προκύπτει ισχυρή σύνδεση μεταξύ των θέσεων ανασυνδυασμού και της δευτεροταγούς δομής των RNA μορίων.

#### **T-RECS: ΜΑΖΙΚΗ ΚΑΙ ΤΑΧΕΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ/ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΙΙΚΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ.**

M. Τσιμπίδης<sup>1</sup>, Γ. Μπαχούμης<sup>1</sup>, Κ. Μιμούλη<sup>1</sup>, Ζ. Κυριακοπούλου<sup>2</sup>, D.L. Robertson<sup>3</sup>, Π. Μαρκουλάτος<sup>2</sup>, Γρ. Αμούτζιας<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Βιοπληροφορικής, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

<sup>2</sup>Εργαστήριο Ιολογίας και Βακτηριολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

<sup>3</sup>Σχολή Επιστημών Ζωής, Πανεπιστήμιο του Μάντσεστερ, Η.Β.

Τα περισσότερα διαθέσιμα υπολογιστικά εργαλεία που ανιχνεύουν ανασυνδυασμούς στους ιούς δεν είναι προσαρμοσμένα για το μεγάλο όγκο δεδομένων που ήδη παράγεται από τις νέες τεχνολογίες αλληλούχησης. Ένα νέο εργαλείο χρειάζεται, που να μπορεί να αναλύει εκατοντάδες ή ακόμα και χιλιάδες ιικά γονιδιώματα ή και νουκλεοτιδικά κομμάτια, για ανίχνευση ανασυνδυασμών. Με αυτό το σκεπτικό αναπτύξαμε το T-RECs, ένα γραφικό



υπολογιστικό εργαλείο που δουλεύει σε περιβάλλον Windows και μπορεί να κάνει i) γενοτύπηση, ii) να ομαδοποιήσει ακολουθίες με κάποιο όριο νουκλεοτιδικής ταύτισης iii) να εντοπίσει πρόσφατους ανασυνδυασμούς μεταξύ διαφορετικών εξελικτικών ομάδων ιών, iv) να μελετήσει με similarity plots πιθανούς ανασυνδυασμούς, v) να ενσωματώσει στα αποτελέσματα πληροφορίες για τους διάφορους γενετικούς τόπους. Η εφαρμογή του T-RECs σε 555 πλήρη γονιδιώματα και σε 2500 νουκλεοτιδικά κομμάτια νοροϊών έδειξε ότι η περιοχή μεταξύ των ORF1 – ORF2 υφίσταται πολύ συχνά ανασυνδυασμό.

#### **ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΚΩΔΙΚΟΝΙΟΥ 72 ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ P53 ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΑΡΑΛΛΑΓΗΣ T350G ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ E6 ΤΟΥ HPV16 ΜΕ ΤΗ ΣΟΒΑΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΤΡΑΧΗΛΙΚΗΣ ΕΝΔΟΕΠΙΘΗΛΙΑΚΗΣ ΑΛΛΟΙΩΣΗΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΔΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΘΕΤΙΚΕΣ ΓΙΑ HPV16**

Κ. Λάμπρου<sup>1</sup>, Γ. Μοσχονάς<sup>1</sup>, Δ. Τσακογιάννης<sup>1</sup>, Τ. Δημητρίου<sup>1</sup>, Ζ. Κυριακοπούλου<sup>1</sup>, Ε. Μάστορα<sup>1</sup>, Χ. Κοτταρίδη<sup>2</sup>, Π. Καρακίτσος<sup>2</sup>, Π. Μαρκουλάτος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Μικροβιολογίας-Ιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>2</sup>Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚΟΝ», Ιατρική Σχολή, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ο πολυμορφισμός στο κωδικόνιο 72 της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης p53 παρουσιάζει σημαντικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Στην παρούσα μελέτη ο πολυμορφισμός του κωδικονίου 72 ελέγχθηκε με τη μέθοδο PCR-RFLP σε περιπτώσεις ασθενών με προκαρκινικές αλλοιώσεις και σε περιπτώσεις καρκίνου του



τραχήλου της μήτρας. Επίσης πραγματοποιήθηκε ανάλυση της αλληλουχίας του γονιδίου E6 του HPV16 έτσι ώστε να ελεγχθεί αν η παρουσία της παραλλαγής T350G σε συνδυασμό με τους διαφορετικούς γενότυπους της p53 μπορούν να αυξήσουν την ευπάθεια των ασθενών στην ανάπτυξη τραχηλικών αλλοιώσεων.

Τα αποτελέσματα έδειξαν μεγάλη επικράτηση του γενοτύπου p53 Arg/Arg στις γυναίκες με υψηλού βαθμού δυσπλασία και καρκίνο του τραχήλου, καθώς επίσης ότι το αλληλόμορφο Arg προσδίδει στους ασθενείς αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη σοβαρότερης ενδοεπιθηλιακής τραχηλικής αλλοίωσης ( $\chi^2$  test = 7.997, P = 0.0047) ενώ ο OR ήταν 3 (95% CI:1.38-6.66). Τα αποτελέσματα επίσης έδειξαν ότι ασθενείς που φέρουν το γενότυπο p53 Arg/Arg και έχουν μολυνθεί από την παραλλαγή T350G του HPV16 παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο για την ανάπτυξη υψηλότερου βαθμού δυσπλασίας.

Η παρούσα μελέτη προτείνει ότι το ογκογόνο δυναμικό του HPV16 αυξάνεται με την παρουσία του γενοτύπου p53 Arg/Arg στον ελληνικό γυναικείο πληθυσμό μέσω της ειδικής αλληλεπίδρασης των πρωτεϊνών E6 (L83V) p53 (Arg-72) μεταβάλλοντας την ευπάθεια του ασθενούς για την ανάπτυξη τραχηλικής δυσπλασίας.

#### **ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΟΓΚΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ P16 ΚΑΙ ΣΥΝΔΕΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ ΑΥΤΩΝ ΜΕ ΥΨΗΛΟΥ ΚΑΙ ΧΑΜΗΛΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΔΥΣΠΛΑΣΙΕΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΓΙΑ HPV-16 ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

**Ε. Μπέλλα<sup>1</sup>, Γ. Μοσχονάς<sup>1</sup>, Δ. Τσακογιάννης<sup>1</sup>, Κ. Λάμπρου<sup>1</sup>, Τ. Δημητρίου<sup>1</sup>, Ζ. Κυριακοπούλου<sup>1</sup>, Χ. Κοτταρίδη<sup>2</sup>, Π. Καρακίτσος<sup>2</sup>, Π. Μαρκουλάτος<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Μικροβιολογίας-Ιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

<sup>2</sup>Εργαστήριο Διαγνωστικής Κυτταρολογίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚΟΝ», Ιατρική Σχολή, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Το p16 (επίσης γνωστό ως CDKN2/MTS-1/INK4a) είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 9p21 και αποτελείται από τρία εξόνια. Η αδρανοποίηση του έχει ως αποτέλεσμα την παράκαμψη της φυσιολογικής αναστολής του κυτταρικού κύκλου στο σημείο ελέγχου G1/S σε περίπτωση κυτταρικής βλάβης και συνεπώς έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και πιστεύεται ότι συμβάλλει



στην κακοήθεια. Ο L. Yan και οι συνεργάτες του μελέτησαν τη συχνότητα δύο πολυμορφισμών στο εξώνιο 3 του γονιδίου p16 (540C→G και 580C→T) και κατέληξαν στο ότι ο ένας εκ των δύο πολυμορφισμών (580C→T) πιθανώς σχετίζεται με την ανάπτυξη καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της συσχέτισης των δύο προαναφερθέντων πολυμορφισμών (540C→G και 580C→T) του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p16 με χαμηλού και υψηλού βαθμού δυσπλασίες για HPV-16 θετικών κλινικών δειγμάτων.

Συμπερασματικά προτείνεται ότι η επικράτηση του p16 540CC γονότυπου έχει σημαντική προστατευτική επίδραση στην ανάπτυξη υψηλότερου βαθμού τραχηλικών ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων στον Ελληνικό γυναικείο πληθυσμό, καθώς επίσης και ότι φορείς του αλληλομόρφου C έχουν μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης σοβαρού βαθμού δυσπλασίας. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη σύνδεση του πολυμορφισμού p16 580C/T με την εμφάνιση προκαρκινικών και καρκινικών αλλοιώσεων. Τέλος προτείνεται πως ο 540G/580C μπορεί να αποτελέσει ένα σημαντικό απλότυπο κινδύνου για την ανάπτυξη υψηλού βαθμού δυσπλασίας μεταξύ των Ελληνίδων γυναικών.