

Ερευνητική εργασία

Αξιολόγηση της διαγνωστικής απόδοσης ορολογικών μεθόδων διαλογής σε αιμοδοτικό πληθυσμό. Αναδρομική μελέτη (2018-2022) του Ορολογικού Εργαστηρίου του Κέντρου Αίματος ΑΧΕΠΑ

Μαγδαληνή Παπέ, Βασιλική Μπακαλούδη, Παρθένα Λαζαρίδου, Δημήτρης Πισώκας, Πασχαλιά Πουλιούδη, Γιώργος Νικολαΐδης, Αικατερίνη Μπουκουβάλα, Χριστίνα Ανδρικοπούλου, Σουλτάνα Νικολαΐδου, Ηλιάνα Πέντσιου, Χαρίκλεια Παφίλη, Μαρία Χατζηκύρκου
Εργαστήριο Συγκεντρωτικού Ορολογικού Ελέγχου, Κέντρο Αίματος Π.Γ.Ν.Θ. ΑΧΕΠΑ

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10077860>

137



Περίληψη

Οι ανοσοδιαγνωστικές εξετάσεις, που εφαρμόζονται για τον έλεγχο του αίματος, σαν βασική αρχή πρέπει να έχουν την άριστη ευαισθησία, ώστε να μπορούν να ανιχνεύουν όλους τους αιμοδότες που είναι πραγματικά θετικοί σε ένα μολυσματικό παράγοντα- λαμβάνοντας υπόψη και τα επίπεδα επιπολασμού λοιμωδών νόσων στην κοινότητα των αιμοδοτών, και επιπλέον να έχουν άριστη ειδικότητα ούτως ώστε να μην αποκλείονται πολλοί αιμοδότες, αν έχουμε ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Σκοπός της μελέτης είναι η ανάλυση του οροθετικού επιπολασμού των μεταδιδόμενων με τη μετάγγιση νοσημάτων κατά την περίοδο 2018-2022 και η επαλήθευση της ειδικότητας και της ακρίβειας των μεθόδων διαλογής κατόπιν σύγκρισης των αποτελεσμάτων

με επιβεβαιωτικές δοκιμασίες. Κατά τα έτη 2018-2022 ελέγχθηκαν συνολικά 875055 μονάδες αίματος στο Εργαστήριο Συγκεντρωτικού Ορολογικού Ελέγχου (ΕΣΟΕ) του Κέντρου Αίματος ΑΧΕΠΑ. Ο αλγόριθμος περιελάμβανε την εφαρμογή μεθόδων διαλογής για τον έλεγχο της σύφιλης, της ηπατίτιδας Β και C, των ιών HIV και HTLV I/II. Για όσα δείγματα καταγράφηκε επαναλαμβανόμενο αντιδρών αποτέλεσμα με τη δοκιμασία διαλογής πραγματοποιήθηκε περαιτέρω έλεγχος με επιβεβαιωτικές δοκιμασίες. Τα δεδομένα μας καταδεικνύουν τον χαμηλό επιπολασμό των μεταδιδόμενων με τη μετάγγιση νοσημάτων στον αιμοδοτικό πληθυσμό. Κατά συνέπεια, η θετική προγνωστική αξία ήταν χαμηλή, με αποτέλεσμα τον αποκλεισμό κάποιων μη μολυσματικών υποψήφιων αιμοδοτών, και τα αποτελέσματά μας δεν μπορούν να αποδοθούν σε κακή απόδοση των ορολογικών δοκιμασιών διαλογής. Η ειδικότητα για το σύνολο των εξετάσεων ήταν σύμφωνη με τις προσδοκίες μας και ίση ή καλύτερη με τη δηλωθείσα στα εσώκλειστα των αντιδραστηρίων. Η χρήση του επιβεβαιωτικού αλγόριθμου προσέφερε πολύτιμη βοήθεια στη διαχείριση και την ενημέρωση των αιμοδοτών.



Λέξεις κλειδιά

αιμοδοτές, αλγόριθμος, διαγνωστική ακρίβεια, ειδικότητα

Υπεύθυνος αλληλογραφίας

Μαγδαληνή Παπέ

Εργαστήριο Συγκεντρωτικού Ορολογικού Ελέγχου,
Κέντρο Αίματος, Π.Γ.Ν.Θ. ΑΧΕΠΑ
Κυριακίδη 1, 546 36, Θεσσαλονίκη
Τηλέφωνο: 2313303298,
email: magdalinipape@gmail.com

Εισαγωγή

Η εκπαίδευση των εθελοντών αιμοδοτών και η συνετή επιλογή τους, οι τεχνολογίες αδρανοποίησης των παθογόνων και φυσικά ο αποτελεσματικός έλεγχος για μολυσματικούς δείκτες είναι βασικά στοιχεία της στρατηγικής για την ασφάλεια του αίματος.^{1,2,3}

Είναι σημαντικό να λαμβάνονται ακριβή αποτελέσματα για κατάλληλους δείκτες μολυσματικών παραγόντων, που μπορούν να μεταδοθούν από προϊόντα αίματος, προκειμένου να διασφαλιστεί η υγεία των ληπτών.^{4,5}

Η επιλογή αδειοδοτημένων, κατάλληλων και επικυρωμένων μεθόδων διαλογής και επιβεβαίωσης θα πρέπει να πληροί τα ισχύοντα εθνικά πρότυπα. Οι αλγόριθμοι διαλογής θα πρέπει να σχεδιάζονται λαμβάνοντας υπόψη τα επιδημιολογικά δεδομένα του ελεγ-

χόμενου αιμοδοτικού πληθυσμού, καθώς αυτά επηρεάζουν τη προ-δοκιμαστική πιθανότητα ενός ακριβούς αποτελέσματος και την απόδοση των δοκιμασιών.^{6,7}

Οι μέθοδοι διαλογής θα πρέπει να έχουν υψηλή ειδικότητα, για να αποφεύγεται η αδικαιολόγητη απώλεια προϊόντων αίματος λόγω μη ειδικής αντιδραστικότητας. Συμπληρωματικές δοκιμασίες μπορούν επιπρόσθετα να πραγματοποιηθούν, προκειμένου να μεγιστοποιείται η αποτελεσματικότητα των συνδυασμένων αναλύσεων. Αυτές θα πρέπει να έχουν παρόμοια ευαισθησία και ειδικότητα με τις δοκιμασίες προσυμπτωματικού ελέγχου και να χρησιμοποιούν διαφορετικούς στόχους ανίχνευσης.^{8,9,10}

Αιμοδοσίες που εμφανίζουν επανειλημμένα αντιδρών αποτέλεσμα σε οποιαδήποτε εξέταση διαλογής, πρέπει να υποβάλλονται σε επιβεβαιωτική δοκιμασία,

προκειμένου να προσδιοριστεί η πραγματική κατάσταση του αιμοδότη.^{11,12}

Συνιστάται η ανάπτυξη αλγόριθμων σε εθνικό επίπεδο, που να επιτρέπουν την κατάλληλη και συνεπή έρευνα και επίλυση της αντιδραστικότητας στις δοκιμασίες διαλογής. Σε περιπτώσεις επιβεβαιωμένων θετικών αποτελεσμάτων, θα πρέπει να πραγματοποιείται κατάλληλη διαχείριση των αιμοδοτών, με την παροχή πληροφοριών και παρακολούθηση αυτών με τη λήψη δειγμάτων επανελέγχου.

Στη χώρα μας η ανάπτυξη και προαγωγή του εθνικού συστήματος αιμοδοσίας είναι αρμοδιότητα του Εθνικού Κέντρου Αιμοδοσίας (Ε.ΚΕ.Α.). Ο ορολογικός έλεγχος πραγματοποιείται σε δύο (2) κέντρα αίματος ανά την επικράτεια, τόσο για την κάλυψη ιδίων αναγκών των κέντρων αυτών όσο και για την κάλυψη σχετικών αναγκών των διασυνδεδεμένων με αυτά υπηρεσιών αιμοδοσίας των νοσοκομείων της χώρας.

Τα δύο (2) κέντρα αίματος της χώρας είναι το Εθνικό Κέντρο Αιμοδοσίας και το Κέντρο Αίματος ΑΧΕΠΑ. Το Εργαστήριο Συγκεντρωτικού Ορολογικού Ελέγχου (Ε.Σ.Ο.Ε) του Κέντρου Αίματος ΑΧΕΠΑ άρχισε να λειτουργεί την 12η Ιουνίου 2017.

Σκοπός της μελέτης μας ήταν να αναλύσουμε τον οροθετικό επιπολασμό μολυσματικών παραγόντων σε εθελοντές αιμοδότες, την περίοδο 2018–2022 και να επαληθεύσουμε την ειδικότητα και την ακρίβεια των μεθόδων διαλογής κατόπιν σύγκρισης των αποτελεσμάτων με επιβεβαιωτικές δοκιμασίες.¹³

Υλικό και μέθοδοι

Κατά τα έτη 2018-2022 ελέγχθηκαν συνολικά 875055 μονάδες αίματος ή προϊόντα αίματος (π.χ. αιμοπεταλιαφαιρέσεις) στο Εργαστήριο Συγκεντρωτικού Ορολογικού Ελέγχου (Ε.Σ.Ο.Ε) του Κέντρου Αίματος ΑΧΕΠΑ.

Το Ε.Σ.Ο.Ε είναι υπεύθυνο για τον ορολογικό έλεγχο μονάδων αίματος από 36 συνολικά Υπηρεσίες Αιμοδοσίας (Κεντρικής, Δυτικής και Ανατολικής Μακεδονίας, Θράκης, Ηπείρου, Στερεάς Ελλάδας και Θεσσαλίας).

Αναλυτικά, στα πέντε έτη της μελέτης, πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθοι έλεγχοι μονάδων αίματος: 170736 το 2018, 164190 το 2019, 167017 το 2020, 181787 το 2021 και 191325 το 2022.

Ακολουθώντας το πρωτόκολλο ελέγχου, κάθε μονάδα αίματος ελέγχθηκε υποχρεωτικά έναντι:

- της σύφιλης (ανάστροφος αλγόριθμος-ανίχνευση αντισωμάτων IgG και IgM έναντι του *Treponema pallidum*)
- του επιφανειακού αντιγόνου του ιού της ηπατίτιδας Β (HBsAg)

- των αντισωμάτων έναντι του ιού της ηπατίτιδας C (αντι-HCV)
- του HIV-1 (αντι-HIV-1) και του HIV-2 (αντι-HIV-2), συμπεριλαμβανομένων ορισμένων σπανίων παραλλαγών του ιού (π.χ. HIV-1 τύπος O) καθώς και το αντιγόνο P24
- των αντισωμάτων έναντι του ανθρωπίνου Τ-λεμφοτρόπου ιού τύπου I (αντί-HTLV-I) και II (αντί-HTLV-II)

Ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε με την εφαρμογή μεθόδων διαλογής υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας σε αυτοματοποιημένα συστήματα αναλυτών τελευταίας τεχνολογίας και μεγάλης παραγωγικότητας.

Ειδικότερα εφαρμόστηκαν η μέθοδος CLIA (Ανοσοεξέταση Χημιοφωταύγειας) στον αναλυτή LIASON (DiaSorin) για τον έλεγχο της σύφιλης και οι μέθοδοι ChLIA (Ανοσοεξέταση Χημιοφωταύγειας) στον αναλυτή PRISM (2018-2019) και CMIA (Μικροσωματιδιακή Ανοσοεξέταση Χημιοφωταύγειας) στον αναλυτή Alinity-s (2020-2022) για τον έλεγχο της ηπατίτιδας Β και C, των ιών HIV και HTLV (Abbott Diagnostics).

Στα πλαίσια του ελέγχου ποιότητας αντιδραστηρίων, τεχνικών, μεθόδων και εξοπλισμού, εφαρμόστηκαν προγράμματα εσωτερικού ποιοτικού ελέγχου (καθημερινά), και προγράμματα εξωτερικής διασφάλισης ποιότητας.

Τα δείγματα με απόλυτες μετρήσεις χαμηλότερες της τιμής του ορίου θετικότητας (cutoff) θεωρήθηκαν μη αντιδρώντα ενώ τα δείγματα με απόλυτες μετρήσεις υψηλότερες ή ίσες της τιμής του ορίου θετικότητας θεωρήθηκαν αρχικά αντιδρώντα. Ειδικότερα, για τον έλεγχο της ηπατίτιδας Β και C, των ιών HIV και HTLV, τα δείγματα με τιμές S/CO υψηλότερες ή ίσες του 1.00 θεωρήθηκαν αντιδρώντα. Όσον αφορά τον έλεγχο της σύφιλης, μετρήσεις μεταξύ 0.9 and 1.1 αξιολογήθηκαν ως γκριζα ζώνη (GZ), σύμφωνα με το εσωκλειστο του αντιδραστηρίου και υποβλήθηκαν στο ίδιο πρωτόκολλο με τα αντιδρώντα.

Σύμφωνα με τον αλγόριθμο του Υπουργείου Υγείας τα αρχικά αντιδρώντα δείγματα επανεξετάστηκαν εις διπλούν με την ίδια μέθοδο διαλογής. Από αυτά ορισμένα παρέμειναν αρχικά αντιδρώντα (IR-initial reactive), ενώ εάν σε κάποια οι επαναλαμβανόμενες δοκιμές ήταν αντιδραστικές, αυτά θεωρήθηκαν επαναλαμβανόμενα αντιδρώντα (RR-repeatedly reactive). Για όλα αυτά τα δείγματα (IR και RR) πραγματοποιήθηκε επιπλέον έλεγχος, από τον ασκό πλάσματος, με την κύρια μέθοδο αλλά και με δεύτερη μέθοδο στον αναλυτή Architect (Abbott Diagnostics). Η δεύτερη μέθοδος εφαρμόζεται συγκεντρωτικά για όλη τη χώρα στο Ε.ΚΕ.Α. Για όσα δείγματα καταγράφηκε επαναλαμβανόμενο αντιδρών αποτέλεσμα με τη δοκιμασία διαλογής τα αντίστοιχα παράγωγα απορρίφθηκαν και πραγματοποιήθηκε περαιτέρω έλεγχος με επιβεβαιωτικές δοκιμασίες.

Οι επιβεβαιωτικές εξετάσεις, που εφαρμόστηκαν στο Ε.Σ.Ο.Ε, ήταν οι FTA (Δοκιμασία Φθορισμού) και ΤΡΗΑ (Δοκιμασία Αιμοσυγκόλλησης) για τη σύφιλη, INNO-LIA (Μέθοδος Ανοσοαποτύπωσης) για τους ιούς HTLV και HCV, Western Blot (Μέθοδος Ανοσοαποτύπωσης) για τον ιό HIV, και δοκιμασία εξουδετέρωσης για τον ιό HBV. Η ευαισθησία των επιβεβαιωτικών εξετάσεων ήταν παρόμοια με τις μεθόδους διαλογής και η ειδικότητά τους κυμαινόταν περίπου στο 99,9%.

Η διαχείριση των δειγμάτων και η εκτέλεση των εξετάσεων έγινε με βάση τις καταγεγραμμένες διαδικασίες του εργαστηρίου (συμμόρφωση με τις Κατευθυντήριες Οδηγίες Ορθής Πρακτικής, όπως αυτές καθορίζονται από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή για την Αιμοδοσία και τη Μετάγγιση του Αίματος (CD-P-TS) του Συμβουλίου της Ευρώπης και έχουν υιοθετηθεί από τη χώρα μας).

Για να αξιολογήσουμε την αξιοπιστία των ανοσοδιαγνωστικών μεθόδων διαλογής, χρησιμοποιήσαμε ως κριτήρια, τη συχνότητα των περιπτώσεων με επιβεβαιωμένη λοίμωξη και τα ποσοστά των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων, την ειδικότητα (Specificity) και τη θετική προγνωστική αξία (PPV).

Αποτελέσματα

Με τη δοκιμασίες διαλογής βρέθηκαν επαναλαμβανόμενα θετικά, για το σύνολο των μολυσματικών δεικτών, 4118 (0,47%) δείγματα.

Το ποσοστό οροθετικότητας δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντική μεταβολή ανά έτος. Αναλυτικά ανά έτος, καταγράφησαν τα ακόλουθα ποσοστά οροθετικότητας: 2018 (0,52%) 893 δείγματα, 2019 (0,54%) 890 δείγματα, 2020 (0,43%) 715 δείγματα, 2021 (0,42%) 771 δείγματα, και 2022 (0,44%) 849 δείγματα (πίνακας 1).

Όλα τα επαναλαμβανόμενα αντιδρώντα δείγματα ελέγχθηκαν με επιβεβαιωτικές δοκιμασίες. Με την εφαρμογή του αλγόριθμου, επιβεβαιώθηκε λοίμωξη, για το σύνολο των ελεγχόμενων μολυσματικών δεικτών, σε 1026 (0,12%) δείγματα. Η κατανομή ήταν σχεδόν ταυτόσημη ανά έτος ελέγχου. Αναλυτικά καταγράφηκαν τα ακόλουθα ποσοστά επιβεβαιωμένων λοιμώξεων: 2018 (0,13%) 221 περιπτώσεις, 2019 (0,12%) 206 περιπτώσεις, 2020 (0,11%) 182 περιπτώσεις, 2021 (0,12%) 211 περιπτώσεις, και 2022 (0,11%) 206 περιπτώσεις (πίνακας 1).

Δε καταγράφηκε καμία περίπτωση συλλοίμωξης.

Για κάθε μολυσματικό δείκτη και για όλη την αναφερόμενη περίοδο ελέγχου εκτιμήσαμε τις εξής παραμέτρους:

- αριθμός επαναλαμβανόμενων αντιδρώντων δειγμάτων (RR, repeatedly-reactive)
- αριθμός δειγμάτων που επιβεβαιώθηκαν ως θετικά (TP, true-positive)
- αριθμός μη επιβεβαιωμένων ψευδώς θετικών δειγμάτων (FP, false-positive)
- ειδικότητα (Specificity (%))
- θετική προγνωστική αξία (PPV (%)).

Τα αποτελέσματά μας καταγράφονται αναλυτικά στον πίνακα 2.

Συζήτηση

Οι εγκαταστάσεις και οι διαδικασίες του Εργαστηρίου Συγκεντρωτικού Ορολογικού Ελέγχου (Ε.Σ.Ο.Ε) του Κέντρου Αίματος ΑΧΕΠΑ, συμμορφώνονται με τις Κατευθυντήριες Οδηγίες Ορθής Πρακτικής, όπως αυτές καθορίζονται από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή για την Αιμοδοσία και τη Μετάγγιση του Αίματος (CD-P-TS) του Συμβουλίου της Ευρώπης και έχουν υιοθετηθεί από τη χώρα μας.

Πίνακας 1 Οροθετικότητα έναντι όλων των ελεγχόμενων μολυσματικών δεικτών. Ανάλυση ανά έτος.

Ελεγχόμενες μονάδες αίματος	Έτος	Σύνολο θετικών με δοκιμασία διαλογής	Σύνολο δειγμάτων με επιβεβαιωμένη λοίμωξη
170736	2018	893 (0,52%)	221 (0,13%)
164190	2019	890 (0,54%)	206 (0,12%)
167017	2020	715 (0,43%)	182 (0,11%)
181787	2021	771 (0,42%)	211 (0,12%)
191325	2022	849 (0,44%)	206 (0,11%)

Πίνακας 2 Παράμετροι αξιολόγησης των διαγνωστικών μεθόδων διαλογής.

	RR	TP	FP	SP (%)	PPV (%)
HBV	576	448 (0,05%)	128	99.98	77,77
HCV	858	134 (0,01%)	724	99.92	15,62
HIV	507	40 (0,004%)	467	99.95	7,89
HTLV	298	7 (0,0008%)	291	99.97	2,35
ΣΥΦΙΛΗ	1879	397 (0,04%)	1482	99.83	21,13

RR-επαναλαμβανόμενα αντιδρόντα, TP-επιβεβαιωμένα θετικά, FP-ψευδώς θετικά, SP-ειδικότητα (%), PPV-θετική προγνωστική αξία (%)

Οι ανοσοδιαγνωστικές δοκιμές θα πρέπει να εκτελούνται σύμφωνα με τις πλέον πρόσφατες επιστημονικές και τεχνικές διαδικασίες, οι οποίες αντικατοπτρίζουν τις καλύτερες σύγχρονες πρακτικές. Οι πρακτικές θα πρέπει να αναθεωρούνται τακτικά και να επικαιροποιούνται, λαμβάνοντας υπόψη την επιστημονική πρόοδο, όσον αφορά την ανίχνευση παθογόνων παραγόντων, που μπορούν να μεταδοθούν μέσω της μετάγγισης.

Μία εξέταση διαλογής, για να είναι αποτελεσματική, θα πρέπει ο επιπολασμός της νόσου στον πληθυσμό στόχο να είναι υψηλός, καθώς μια πολύ ευαίσθητη ανάλυση σε χαμηλό επιπολασμό θα οδηγήσει σε αυξημένο αριθμό ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων.

Τα δεδομένα του εργαστηρίου μας καταδεικνύουν χαμηλό επιπολασμό των μεταδιδόμενων με τη μετάγγιση νοσημάτων στον αιμοδοτικό πληθυσμό. Κατά συνέπεια, η θετική προγνωστική αξία είναι χαμηλή και τα δεδομένα μας δεν μπορούν να αποδοθούν σε κακή απόδοση των ορολογικών δοκιμασιών διαλογής.

Εξάιρεση αποτελεί η υψηλή θετική προγνωστική αξία όσον αφορά τον έλεγχο για την ηπατίτιδα Β, υποδηλώνοντας ενδεχομένως σχετικά αυξημένο επιπολασμό της νόσου στον αιμοδοτικό πληθυσμό. Είναι γνωστό, ότι η Ελλάδα συγκαταλέγεται ακόμη στις περιοχές ενδιάμεσης ενδημικότητας, με τις μελέτες να καταδεικνύουν επιπολασμό της ηπατίτιδας Β στο γενικό πληθυσμό γύρω στο 2,5-3%. Χρήσιμο θα ήταν να γίνουν στοχευμένες επιδημιολογικές έρευνες στον αιμοδοτικό πληθυσμό, ανά γεωγραφικά διαμερίσματα, προκειμένου να διαπιστωθεί η συχνότητα των φορέων HBV και να ληφθούν επικαιροποιημένες κατευθυντήριες οδηγίες ελέγχου (π.χ. υποχρεωτικός έλεγχος με anti-HBc) σε εθνικό επίπεδο.^{14,15,16}

Τα περισσότερα ψευδώς θετικά αποτελέσματα της μελέτης μας αφορούσαν τον έλεγχο της ηπατίτιδας C και σε σημαντικότερο βαθμό τον έλεγχο της σύφιλης.

Όσον αφορά τον έλεγχο της ηπατίτιδας C, επισημαίνεται ότι από τις 134 επιβεβαιωμένες περιπτώσεις, στις 51 δεν ανιχνεύτηκε ιικό φορτίο (μοριακός έλεγχος αρνητικός). Οι οδηγίες των υπηρεσιών αιμοδοσίας ορίζουν, ότι αποκλείονται από την διαδικασία της αιμοδοσίας άτομα με τρέχουσα αλλά και παρελθούσα λοίμωξη από HCV. Οι μονάδες αίματος από αιμοδοτές με επιβεβαιωμένο αντι-HCV, αλλά χωρίς ιικό φορτίο, θεωρητικά μόνο μπορεί να μην είναι μολυσματικές, καθώς η ασφάλεια τέτοιων μονάδων δεν έχει αποδειχθεί με μελέτες και ως εκ τούτου απορρίπτονται.^{17,18}

Όσον αφορά τον έλεγχο της σύφιλης, η εφαρμογή του ανάστροφου αλγόριθμου κατέδειξε ψευδώς θετικά αποτελέσματα σε σημαντικό βαθμό. Επισημαίνεται, ότι το 1/3 (453/1482) περίπου αυτών των περιπτώσεων της μελέτης μας, σχετίζεται με αντιδραστικότητα εντός της γκριζας ζώνης. Η απώλεια πάντως των αντίστοιχων παραγώγων, αντισταθμίζεται από τη μεγιστοποίηση της ασφάλειας ανίχνευσης, που προσφέρει ο αναστροφος αλγόριθμος (αυτοματοποιημένη μέθοδος με υψηλή ειδικότητα, αντικειμενικότητα και επαναληψιμότητα των μετρήσεων) σε σύγκριση με τον παραδοσιακό αλγόριθμο (κίνδυνος ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων, λόγω της χαμηλής ευαισθησίας ακόμη και όταν η μόλυνση είναι πρόσφατη και του φαινομένου της προζώνης, αδυναμία εντοπισμού παρελθούσας λοίμωξης, υποκειμενικότητα στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων).^{19,20,21}

Σχετικά με την HTLV I/II λοίμωξη, τα αποτελέσματα μας αποδεικνύουν ότι ο επιπολασμός της στον αιμοδοτικό πληθυσμό της χώρας μας είναι εξαιρετικά χαμηλός. Τα δεδομένα αυτά αναδεικνύουν την ανάγκη

επανακαθορισμού του αλγορίθμου για τον έλεγχο της HTLV I/II λοίμωξης και ανοίγουν τη συζήτηση προς την κατεύθυνση εφαρμογής ελέγχου μόνο στους αιμοδότες 1ης φοράς.^{22,23}

Η ειδικότητα για το σύνολο των εξετάσεων διαλογής και για όλους τους ελεγχόμενους παράγοντες, ήταν σύμφωνη με τις προσδοκίες μας και ίση ή καλύτερη με τη δηλωθείσα στα εσώκλειστα των αντιδραστηρίων, διασφαλίζοντας ότι η απουσία λοίμωξης στους αιμοδότες καταδεικνύεται εργαστηριακά με αρνητικά αποτελέσματα.

Είναι σημαντικό να γνωρίζουμε, ότι όταν σχεδιάζεται αλγόριθμος ανάλυσης, ιδανικά οι δοκιμασίες διαλογής (screening) θα πρέπει να είναι τόσο ειδικές όσο και ευαίσθητες. Ωστόσο, αυτό είναι συχνά δύσκολο να επιτευχθεί, καθώς ο επιπολασμός των λοιμώξεων στον αιμοδοτικό πληθυσμό είναι χαμηλός και ένας σημαντικός αριθμός δοτών χωρίς λοίμωξη μπορεί να προβάλλονται ως ψευδώς θετικοί.

Λόγω της αλληλεπίδρασης της ευαισθησίας και της ειδικότητας, οι δοκιμασίες ελέγχου screening δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά για τη διάγνωση μιας λοίμωξης σε αιμοδότες. Δότες, που έχουν θετικό τεστ screening, θα πρέπει να αξιολογούνται και με άλλες μεθόδους, προκειμένου να επιβεβαιωθεί το αποτέλεσμα. Οι επιβεβαιωτικές δοκιμασίες είναι απαραίτητο βήμα του αλγορίθμου, βοηθούν στη αποσαφήνιση των αποτελεσμάτων των μεθόδων διαλογής και μας βοηθούν να υποστηρίξουμε τη διαγνωστική μας βεβαιότητα.

Διευκρινίζεται, ότι στις περιπτώσεις επιβεβαιωμένης λοίμωξης, δεν καθορίζουμε το στάδιο της λοίμωξης,

διότι αυτό διαφέρει ανάλογα με τον ελεγχόμενο μολυσματικό παράγοντα και επιπλέον ο ακριβής καθορισμός απαιτεί κλινικο-εργαστηριακή προσέγγιση. Εξάλλου, ο ρόλος των υπηρεσιών αιμοδοσίας είναι η αξιολόγηση της καταλληλότητας των δοτών, με την εφαρμογή κριτηρίων αποδοχής/αποκλεισμού.

Σε περιπτώσεις επιβεβαιωμένων θετικών αποτελεσμάτων, ενεργοποιείται η κατάλληλη διαδικασία διαχείρισης του αιμοδότη, συμπεριλαμβανομένης της σχετικής ενημέρωσής του και των διαδικασιών παρακολούθησης.²⁴

Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε ότι διαπιστώθηκαν χαμηλά επίπεδα οροθετικότητας έναντι όλων των μολυσματικών δεικτών σε όλα τα χρόνια ελέγχου. Η χρήση του επιβεβαιωτικού αλγορίθμου προσέφερε πολύτιμη βοήθεια στη διαχείριση-ενημέρωση των αιμοδοτών.

Συνιστάται η ανάπτυξη αλγορίθμων σε εθνικό επίπεδο, που να διασφαλίζουν την κατάλληλη και συνεπή έρευνα και επίλυση της αντιδραστικότητας στις δοκιμασίες διαλογής. Η διασφάλιση της ποιότητας για προσυμπτωματικές και επιβεβαιωτικές εξετάσεις για λοιμώδεις δείκτες είναι ιδιαίτερα σημαντική και συνεπάγεται συγκεκριμένες προσεγγίσεις. Μόνο δοκιμές που έχουν αδειοδοτηθεί θεωρούνται κατάλληλες για την αιμοδοσία.

Θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη έμφαση στην εκπαίδευση και τη διαρκή αξιολόγησή του προσωπικού, τη συντήρηση και βαθμονόμηση του εξοπλισμού, τη διαχείριση των δειγμάτων, την παρακολούθηση των συνθηκών αποθήκευσης των αντιδραστηρίων, μαζί με τεκμηρίωση όλων αυτών των ενεργειών.



Summary

Diagnostic performance of the serology screening testing of blood donors. Retrospective study (2018–2022) conducted at the Serology Laboratory of AHEPA Blood Center

Magdalini Pape*, Vasiliki Bakaloudi, Parthena Lazaridou, Dimitris, Pisokas, Pashalia Poulioudi, George Nikolaidis, Aikaterini Boukouvala, Christina Andrikopoulou, Soultana Nikolaidou, Iliana Pentsiou, Chariklia Pafli, Maria Chatzikyrkou

Serology Laboratory, Blood Center, AHEPA University General Hospital of Thessaloniki

*Corresponding author

The use of screening tests in a blood donor population, a population with a low prevalence of infectious markers, is a complex process. All assays should have high levels both of sensitivity and specificity. Increased sensitivity is of outmost importance to detect and remove potentially infectious blood products from the blood supply and eliminate false negative results. At the same time, specificity is also important in reducing the number of false positive results, in order to avoid unnecessary exclusion of certain donors. The aim of our study was to analyze the seroprevalence of transfusion-transmissible infectious agents of voluntary blood donors within the period 2018–2022 and verify the accuracy of screening tests followed by confirmatory assays. The study conducted at the Serology Laboratory of AHEPA Blood Center. Blood samples were tested for syphilis, HBsAg, anti-HCV, anti-HTLV I/II and HIV Ag/Ab. The screening strategy included repeated testing of reactive samples, followed by confirmatory testing. Our results confirmed the low prevalence of transfusion transmitted infections in Greek blood donors. As a consequence, the positive predictive value of the screening assays was poor, something not attributed to poor performance of the selected screening tests, and a relevant number of uninfected donations were excluded. Specificity for all assays was within our expectations and definitely equal or better than the value demonstrated on the reagent inserts. The use of the confirmatory algorithm offered valuable help in the management of blood donors.



Key words

blood donor population; algorithm; diagnostic accuracy; specificity

Βιβλιογραφία

1. EDQM. The Collection, Testing and Use of Blood and Blood Components in Europe. 21st Edition 2023. Annual Report .<http://www.who.edqm.eu>.
2. Balint B, Vucetic D, Todorovic-Balint M, Borovcanin N, Jovanovic-Cupic S, Mandusic V. Safety improving by complementary serological and molecular testing combined with pathogen reduction of the donated blood in window period. *Transfus Apher Sci* 2013; 49: 103–104.
3. Blood donor selection: guidelines on assessing donor suitability for blood donation. Dec; 2018; https://www.who.int/bloodsafety/publications/guide_selection_assessing_suitability.pdf 2012.
4. WHO. Screening donated blood for transfusion-transmissible infections. Geneva: WHO; 2009.
5. Dodd RY, Notari EP, Stramer SL. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window-period risk in the American Red Cross blood donor population. *Transfusion* 2002; 42:975–979.
6. Sharma UK, Stramer SL, Wright DJ, Glynn SA, Hermansen S, Schreiber GB, *et al*. Impact of changes in viral marker screening assays. *Transfusion* 2003; 43:202–214.
7. Zou S, Stramer SL, Dodd RY. Donor testing and risk: current prevalence, incidence, and residual risk of transfusion-transmissible agents in US allogeneic donations. *Transfus Med Rev* 2012; 26:119–128.
8. Mahony JB, Chernesky MA. 2000. Immunoassays for the diagnosis of infectious diseases, p 202–214. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (ed), *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed. ASM Press, Washington, DC.
9. Hodinka RL. 2010. Serological tests in clinical virology, p 133–150. In Jerome KR (ed.), *Lennette's Laboratory Diagnosis of Viral Infections*, 4th ed. Informa Healthcare USA, Inc., New York, NY.
10. Marks V. False-positive immunoassay results: a multicenter survey of erroneous immunoassay results from assays of 74 analytes in 10 donors from 66 laboratories in seven countries. *Clin Chem* 2002; 48:2008–2016.
11. Kiely P, Stewart Y, Castro L. Analysis of voluntary blood donors with biologic false reactivity on chemiluminescent immunoassays and implications for donor management. *Transfusion* 2003; 43:584–589.
12. Kiely P, Walker K, Parker S, Cheng A. Analysis of sample-to-cutoff ratios on chemiluminescent immunoassays used for blood donor screening highlights the need for serologic confirmatory testing. *Transfusion* 2010; 50:1344–1351.
13. Šimundić AM. Measures of Diagnostic Accuracy: Basic Definitions. *EJIFCC*. 2009; 19:203–211.
14. Leung VK, Lee CK, Chau TN, Cheung WI, Lo FH, Lai KB, *et al*. A probable case of transfusion-transmitted hepatitis B virus infection in an immunosuppressed recipient caused by an occult HBV-infected donor with negative ID-NAT. *Transfus Med* 2010; 20:276–277.
15. Candotti D, Boizeau L, Laperche S. Occult hepatitis B infection and transfusion-transmission risk. *Transfus Clin Biol* 2017; 24:189–195.
16. Seed CR, Maloney R, Kiely P, Bell B, Keller AJ, Pink J, *et al*. Infectivity of blood components from donors with occult hepatitis B infection: results from an Australian lookback programme. *Vox Sang* 2015; 108:113–122.
17. Zervou EK, Boumba DS, Liaskos Ch, Georgiadou S, Tsianos EV, Dalekos GN. Low Prevalence of HCV, HIV, and HTLV-I/II Infection Markers in Northwestern Greece: Results of a 3-Year Prospective Donor Study (1995–1997). *Eur J Intern Med* 2003; 14:39–44.
18. Lanini S, Easterbrook PJ, Zumla A, Ippolito G. Hepatitis C: global epidemiology and strategies for control. *Clin Microbiol Infect* 2016; 22:833–838.
19. Kaur G, Kaur P. Syphilis testing in blood donors: an update. *Blood Transfus* 2015; 13:197–204.
20. Binnicker MJ, Jespersen DJ, Rollins LO. Direct comparison of the traditional and reverse syphilis screening algorithms prevalence of syphilis. *J Clin Microbiol* 2012; 50:48–50.
21. Mishra S, Boily MC, Ng V, Gold WL, Okura T, Shaw M, *et al*. The laboratory impact of changing syphilis screening from the rapid plasma reagin to a treponemal enzyme immunoassay: a case-study from the Greater Toronto Area. *Sex Transm Dis* 2011; 38:190–196.
22. Πολίτη Κ, Καβαλλιέρου Α, Γεωργακοπούλου Ε, Γούναρη Φ, Ζερβού Ε, Σπηλιωτοπούλου Ι, και συν. Συχνότητα αντι-HTLV-I-II σε αιμοδοτικό πληθυσμό στην Ελλάδα Πολυκεντρική μελέτη, *ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ* 1999; 16:480–487.
23. Stamoulis K., Kastaniotis G., *et al*. Low prevalence of HTLV-I/II infection markers: A 6-Years retrospective analysis. ISBT 2005, 9th European, Athens.
24. Kaur G, Kaur P, Basu S, Kaur R, Sharma S. Donor notification and counseling. Experience and challenges. *Transfus Apher Sci* 2013; 49:291–294.