



ΕΝΗΜΕΡΩΤΙΚΟ ΔΕΛΤΙΟ 20 – ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2016

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

**1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ
ΑΝΤΙΚΑΤΑΘΛΙΠΤΙΚΩΝ &
ΑΝΤΨΥΧΩΤΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ
ΜΕ ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΙ
ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ**

**2. ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΜΗ
ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑΣ ΕΝΟΣ ΗΒV
DNA+ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ:
ΨΕΥΔΩΣ ΘΕΤΙΚΟ Η΄ ΟΧΙ;**

**3. 1904-2016: ΤΑ 112Α
ΓΕΝΕΘΛΙΑ ΤΗΣ ΧΡΩΣΤΙΚΗΣ
GIEMSA**

**4. Η ΖΩΗ ΜΕΛΑ-ΙΩΑΝΝΙΔΗ ΣΤΟ
ΣΥΝΔΕΣΜΟ ΕΛΛΗΝΙΔΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΩΝ ΣΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ
ΤΗΣ ΚΑΤΟΧΗΣ**

Λοιπόν τέλειωσε η μαγεία των εορτών των Χριστουγέννων και η ενδόμυχη επιθυμία μας να ξαναγίνουμε παιδιά, το πρόβλημα όμως δε λύθηκε μετά από τόσα χρόνια. Από πού έρχεται ο Αϊ-Βασίλης, από το Ροβανιέμι της Φινλανδίας, όπως γράφουν οι ταξιδιωτικοί οδηγοί ή από την Καισαρεία, όπως μας τραγουδούν τα παιδιά στα πρωτοχρονιάτικα κάλαντα; Και γιατί ο père Noël περνάει πρώτα από τη Γαλλία, ο Babbo Natale περνάει από την Ιταλία, ο Father Christmas από τη Βρετανία, ο Sinterklaas από την Ολλανδία, ο Weihnachtsmann από τη Γερμανία, ο Santa Claus από την Αμερική και μετά έρχεται ο Αϊ-Βασίλης την Πρωτοχρονιά στη χώρα μας; Μήπως γι' αυτό το έλκηθρό του έχει μισσαδειάσει από δώρα για τα παιδιά και μας ρίχνει μόνο μια φευγαλέα ματιά πάνω από τον ώμο του; Μήπως επειδή σ' όλο τον κόσμο υπάρχουν παιδιά που δεν έχουν σπίτι, δυσκολεύεται να αφήσει τα δώρα του, γιατί δεν βρίσκει την καμινάδα να κατέβει;

Μετά τις πασπαλισμένες με χρυσόσκονη γιορτές ήρθε το χιόνι με τη σιωπή του. Όπως στροβιλίζονται οι νιφάδες του χιονιού θυμάμαι το Γιάννη Ρίτσο που γράφει σε ένα ποίημά του για τη νύχτα που ένας Χριστός γεννιέται: “...Κάνε, καλέ θεούλη νάχουν όλα τα παιδάκια – ένα ποταμάκι γάλα, μπόλικά αστεράκια, μπόλικά τραγούδια. – Κάνε, καλέ θεούλη νάναι όλοι καλά – έτσι που και μεις να μη ντρεπόμαστε για τη χαρά μας – ...»

Σε αυτό το τεύχος διαβάστε τις εργασίες που βραβεύτηκαν στο 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας στα Ιωάννινα και αναφέρονται η μία στην επαναληψιμότητα ενός θετικού αποτελέσματος για ηπατίτιδα Β (HBV DNA+) και η άλλη στον προσδιορισμό αντικαταθλιπτικών φαρμάκων με υγρή χρωματογραφία, θυμηθείτε τον Gustav Giemsa (ναι, αυτόν της χρωστικής) και ενημερωθείτε για το Euromedlab Αθήνα 2017.

Ευχόμαστε Καλή Χρονιά σε όλους, με υγεία, ειρήνη και δημιουργικότητα.
Ανδριανή Γρηγοράτου



ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΚΑΤΑΘΛΙΠΤΙΚΩΝ & ΑΝΤΙΨΥΧΩΤΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΜΕ ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΙ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ

¹ Α. Πουλιόπουλος, ²Α. Κρόκος, ² Ε. Τσακελίδου, ¹ Α. Ορφανίδης, ³ Ο. Μαστρογιάννη, ¹ Ε. Γκίκα, ² Γ. Θεοδωρίδης, ¹ Ν. Ράικος

¹ Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Α.Π.Θ.

² Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμήμα Χημείας, Α.Π.Θ.

³ Ιατροδικαστική Υπηρεσία Θεσσαλονίκης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε ανάπτυξη μεθόδου υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με φασματομετρία μαζών σε σειρά (LC-MS/MS) για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό 16 ευρέως συνταγογραφούμενων αντιψυχωτικών και αντικαταθλιπτικών φαρμάκων με στόχο την εφαρμογή της σε βιολογικά δείγματα κλινικών αλλά και νεκροτομικών περιστατικών. Η μέθοδος μελετήθηκε για τη βελτιστοποίηση της ανάκτησης των φαρμάκων από ορό αίματος, ούρα και μεταθανάτιο ολικό αίμα. Για την προκατεργασία εφαρμόστηκε η τεχνική QUECHERS και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με την απλή μέθοδο πρωτεϊνικής καταβύθισης. Δοκιμάστηκαν διαφορετικά πρωτόκολλα QUECHERS, δύο σταδίων αλλά και προσαρμοσμένα ενός σταδίου και παρουσιάζονται για πρώτη φορά αποτελέσματα απομόνωσης αυτών των φαρμάκων με προσαρμοσμένο πρωτόκολλο QUECHERS ενός βήματος. Ο διαχωρισμός των ενώσεων πραγματοποιήθηκε σε στήλη τύπου C-18 BEH Aquuity με χρωματογραφία υπερυψηλής πίεσης μέσα σε 11 min με βαθμωτή έκλυση ενώ η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση γίνεται με την τεχνική SRM (selective reaction monitoring) σε φασματογράφο σε σειρά. Το βέλτιστο πρωτόκολλο προσαρμοσμένης QUECHERS ενός βήματος που περιλαμβάνει προσθήκη ακετονιτριλίου, ανθρακικού καλίου και θεικού μαγνησίου σε 100 μL δείγματος, αναδευση, φυγοκέντριση και εξάτμιση, επιτυγχάνει ικανοποιητική ανάκτηση των 16 φαρμάκων της τάξεως του 85% και ταυτόχρονα τον ικανοποιητικό καθαρισμό του δείγματος από ενδογενείς παρεμποδίσσεις, ενώ παρέχει απλότητα και σύντομους χρόνους χειρισμού του δείγματος. Επιπλέον πλεονεκτεί στους μικρούς όγκους απαιτούμενου δείγματος. Η μεθοδός ποσοτικού προσδιορισμού επικυρώθηκε και παρείχε ακριβή (+/- 8%) και επαναλήψιμα (6%) αποτελέσματα σε σύντομο χρονικό διάστημα, παράμετρο πολύ κρίσιμη για την εφαρμογή της σε περιστατικά που χρήζουν τοξικολογικής εξέτασης. Επιπλέον καλύπτει μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων με δυνατότητα εφαρμογής της τόσο για την ανίχνευση υποθεραπευτικών χαμηλών συγκεντρώσεων, όσο και για τον έλεγχο τοξικών επιπέδων. Εφαρμόστηκε με επιτυχία για τον προσδιορισμό 13 περιστατικών για τον έλεγχο των επιπέδων των φαρμάκων σε ορό αίματος συνταγογραφούμενων ασθενών καθώς και σε 9 περιστατικά μεταθανάτιων δειγμάτων αίματος και ούρων και μπορεί να αποτελέσει αξιόπιστο και σημαντικό εργαλείο στην τοξικολογική ανάλυση.

ΜΕΘΟΔΟΙ

Ανάλυση

Χρωματογραφικό σύστημα ACQUITY UPLC H-Class System –(Waters Corporation) με στήλη Acquity BEH C18 column (150 × 2.1 mm i.d., 1.7 μm; Waters και προστήλη Acquity BEH C18 VanGuard pre-column (5 mm × 2.1 mm i.d., 1.7 μm; Waters). Κινητή φάση A: ακετονιτρίλιο 95%, νερό 5% B: Νερό, 0.1 % μυρμηκικό οξύ. Εφαρμόστηκε πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης: 0-2.80 min: από 30% σε 50% A, από 2.80 σε 6.40 min: 65 % A, 6.40–6.50 min: 100% A, 6.50-7.00 min: 100% διαλύτης A, 7.01-11.00 min : 30% A.

Ροή κινητής φάσης και θερμοκρασία στήλης 0.30 mL/min και 50°C. Εγχυόμενος όγκος δείγματος 5 μL. Η ανίχνευση έχει με φασματογράφο μαζών Xevo TQD (Waters, UK) με MS/MS και ηλεκτροψεκασμό υπό τις βέλτιστες συνθήκες για κάθε ένωση. Η ανάλυση των δεδομένων έγινε με το πρόγραμμα TargetLynx της Waters®.

Προκατεργασία

Σε 100 μL δείγματος αίματος προστίθενται 600 μl ακετονιτριλίου, 5 mg K₂CO₃ and 150 mg MgSO₄ και ανανειγνύονται έντονα. Στην συνέχεια έπειτα από φυγοκέντριση το υπερκείμενο εξατμίζεται και επαναδιαλύεται σε 100 μL κινητής φάσης που περιέχει εσωτερικό πρότυπο (μιδαζολάμη, 2 μg/mL) και εισάγεται στο σύστημα για ανάλυση.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η μέθοδος αφού αξιολογήθηκε ως προς την ευαισθησία, γραμμικότητα, επαναληψιμότητα, ακρίβεια και επίδραση υποστρώματος εφαρμόστηκε σε πραγματικά δείγματα κλινικά και μεταθανάτια.

Κατηγορία φαρμάκου	Ένωση	Γραμμική περιοχή (µg/mL)	Καμπύλη βαθμονόμησης	R ²	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)
Αντιψυχωσικά	CLORPROMAZINE	0,001-0,5	$y=2,1017x+0,0018$	0,9993	0,009	0,034
	CLOZAPINE	0,01-6	$y=0,833x+0,1736$	0,9815	0,496	1,835
	HALOPERIDOL	0.001-0,5	$y=5,476x+0,0038$	0,9999	0,008	0,031
	QUETIAPINE	0,01-6	$y=0,389x+0,0602$	0,9887	0,350	1,298
	RISPERIDONE	0,001-0,5	$y=0,00328x-0,003$	0,9957	0,022	0,082
	OLANZAPINE	0,001-0,5	$y=0,785x-0,0014$	0,9996	0,007	0,026
Αντικαταθλιπτικά (SSRI, SNRI, τρικυκλικά, τετρακυκλικά)	AMITRIPTYLINE	0,001-0,5	$y=1,432x-0,0055$	0,9954	0,009	0,034
	NORTRIPTYLINE	0,001-0,5	$y=1,874x+0,0069$	0,9988	0,018	0,067
	MIRTAZAPINE	0,01-6	$y=1,842x+0,038$	0,9998	0,043	0,165
	FLOUOXETINE	0,01-6	$y=0,847x+0,1569$	0,9881	0,577	2,132
	CITALOPRAME	0,001-0,5	$y=1,128x-0,0005$	0,9988	0,025	0,092
	PAROXETINE	0,001-0,5	$y=1,941x+0,0036$	0,9993	0,034	0,126
	SERTRALINE	0,001-0,5	$y=0,0513x-0,002$	0,9878	0,025	0,092
	VENLAFAXINE	0,01-6	$y=2,9608x+0,4622$	0,9963	0,458	1,693
υπνωτικά	ZOLPIDEM	0,001-0,5	$y=2,121x-0,021$	0,9999	0,007	0,028
IS	MIDAZOLAM (I.S.)		-	-	-	-

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά ποσοτικοποίησης της μεθόδου για τα 16 αντικαταθλιπτικά και αντιψυχωσικά φάρμακα.

Ενδεικτικά αναφέρονται οι συγκεντρώσεις φαρμάκων που βρέθηκαν σε πραγματικά δείγματα που αναλύθηκαν με την μέθοδο. Με την μέθοδο ανιχνεύτηκαν και προσδιορίστηκαν σε κλινικά δείγματα mirtazapine, zolpidem, quetiapine, haloperidol and clozapine 0.45 µg/mL, 0.02 µg/mL, 0.07 µg/mL, 0.19 µg/mL και 4.3 µg/mL.

Σε νεκροτομικά δείγματα βρέθηκαν haloperidol, citalopram, sertraline, quetiapine, clozapine and olanzapine σε συγκεντρώσεις 0.20 µg/mL, 0.70 µg/mL, 0.32 µg/mL, 4.10 µg/mL και 0.027 µg/mL.

Βιβλιογραφία:

L. Anzillotti, S. Odoardi, S. Strano-Rossi, Cleaning up blood samples using a modified “QuEChERS” procedure for the determination of drugs of abuse and benzodiazepines by UPLC-MSMS(☆), Forensic Sci. Int. 243 (2014) 99–106.

V. Alves, C. Conceição, J. Gonçalves, H.M. Teixeira, J.S. Câmara, Improved Analytical Approach Based on QuEChERS/UHPLC-PDA for Quantification of Fluoxetine, Clomipramine and their Active Metabolites in Human Urine Samples, J. Anal. Toxicol. (2016).

S. Dulaurent, G. Lachâtre, J.-M. Gaulier, O28: Use of QuEChERS salts: Biological and forensic toxicological applications, *Toxicol. Anal. Clin.* 26 (2014) S17.

S. Matsuta, K. Nakanishi, A. Miki, K. Zaitso, N. Shima, T. Kamata, H. Nishioka, M. Katagi, M. Tatsuno, K. Tsuboi, H. Tsuchihashi, K. Suzuki, Development of a simple one-pot extraction method for various drugs and metabolites of forensic interest in blood by modifying the QuEChERS method, *Forensic Sci. Int.* 232 (2013) 40–45.

M.L. Schmidt, N.H. Snow, Making the case for QuEChERS-gas chromatography of drugs, *TrAC Trends Anal. Chem.* 75 (2016) 49–56.

K. Usui, M. Hashiyada, Y. Hayashizaki, Y. Igari, T. Hosoya, J. Sakai, M. Funayama, Application of modified QuEChERS method to liver samples for forensic toxicological analysis, *Forensic Toxicol.* 32 (2013) 139–147.

K. Usui, Y. Hayashizaki, M. Hashiyada, M. Funayama, Rapid drug extraction from human whole blood using a modified QuEChERS extraction method, *Leg. Med.* 14 (2012) 286–296.

J.L. Westland, F.L. Dorman, QuEChERS extraction of benzodiazepines in biological matrices, *J. Pharm. Anal.* 3 (2013) 509–517.

Multiresidue analytical method using dispersive solid-phase extraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry to determine pharmaceuticals in whole blood, (n.d.).

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967306017821> (accessed November 1, 2016).

T. Rejczak, T. Tuzimski, A review of recent developments and trends in the QuEChERS sample preparation approach, *Open Chem.* 13 (2015).

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΜΗ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑΣ ΕΝΟΣ HBV DNA+ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ: ΨΕΥΔΩΣ ΘΕΤΙΚΟ Η΄ ΟΧΙ;

¹Χ. Πετροπούλου, ¹Σ. Μουζοπούλου, ¹Χ. Παπαδημητρίου, ¹Α. Αλεξανδροπούλου, ¹Ε. Λαϊνά, ¹Π. Σακελλαράκη, ¹Α. Μούγιου

¹ Εργαστήριο Μοριακού Ελέγχου, Ν. Υ. Αιμοδοσίας Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Πατρών, Πάτρα

Εισαγωγή:

Η μελέτη εστιάζει στον ιό της Ηπατίτιδας Β, τον πιο συχνά μεταδιδόμενο μέσω μετάγγισης ιό¹⁰. Σε αντίθεση με τους ιούς HIV και HCV όπου το 100% των δειγμάτων που περιέχουν ιικό RNA, μετά την περίοδο του παραθύρου, εμφανίζουν και θετικό ορολογικό έλεγχο για τα αντίστοιχα αντισώματα, κατά την εργαστηριακή διερεύνηση του ιού HBV, παρατηρείται, σε μεγάλη συχνότητα, ασυμφωνία μεταξύ του ορολογικού ελέγχου για HbsAg και του μοριακού ελέγχου για HBV-DNA. Συγκεκριμένα, στο 2-15 % των δειγμάτων ανιχνεύεται HbsAg χωρίς να ανιχνεύεται HBV-DNA ή και το αντίθετο⁶.

Κατά την περίοδο του παραθύρου, ο χρόνος που απαιτείται για το διπλασιασμό του ιικού φορτίου του ιού HBV είναι μεγαλύτερος (2-3 ημέρες), σε σχέση με το χρόνο που απαιτείται για το διπλασιασμό του ιικού φορτίου των ιών HIV και HCV (14 και 20 ώρες αντίστοιχα)⁶. Το γεγονός αυτό συνεπάγεται ότι χρειάζονται αρκετές εβδομάδες πριν το ιικό φορτίο ανέλθει σε ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις και καθιστά προβληματικό τον ταυτόχρονο έλεγχο πολλών δειγμάτων (pooling), αφού μειώνεται σημαντικά η πιθανότητα εύρεσης του μολυσμένου δείγματος, λόγω αραιώσης⁶.

Η εισαγωγή της τεχνολογίας των νουκλεϊκών οξέων στο συστηματικό έλεγχο των αιμοδοτών στα τέλη της δεκαετίας του 90΄ οδήγησε στην αποκάλυψη μιας νέας κλινικής οντότητας γνωστής ως Λανθάνουσα Ηπατίτιδας Β ή occult HBV λοίμωξης (OBI)¹. Συγκεκριμένα ως occult HBV λοίμωξη ορίζεται η κατάσταση ανίχνευσης ιικού DNA στον ορό του ασθενούς, χωρίς να ανιχνεύεται HbsAg, συνήθως με ταυτόχρονη παρουσία anti-HBcore, μετά την περίοδο της αρχικής λοίμωξης^{1,4,6,10}.

Η Λανθάνουσα Ηπατίτιδα Β παρατηρείται συχνότερα σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας και χαρακτηρίζεται από ιικό φορτίο μικρότερο των 1000 IU/mL (στις περισσότερες περιπτώσεις μικρότερο των 100 IU/mL), συνοδεύεται από την παρουσία αντισωμάτων έναντι του core αντιγόνου (anti-HBcore) ενώ τα επίπεδα της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) είναι φυσιολογικά. Σχεδόν το 50% των περιπτώσεων, φέρουν και το προστατευτικό αντίσωμα anti-HBs, γεγονός το οποίο αποτελεί ένδειξη εμμένοντος ιού σε φαινομενικά αποδραμούσα λοίμωξη. Ωστόσο η μολυσματικότητα των παραγώγων δεν είναι αμελητέα, όταν ο τίτλος του anti-HBs είναι χαμηλός και μάλιστα σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς που λαμβάνουν τέτοιου είδους παράγωγα, ακόμα και υψηλός τίτλος μπορεί να μην είναι προστατευτικός^{6,7}. Σε λίγες περιπτώσεις, τόσο το anti-HBcore όσο και το anti-HBs είναι αρνητικά και η κατάσταση αυτή ορίζεται ως οξεία HbsAg αρνητική λοίμωξη.

Το πολύ χαμηλό ιικό φορτίο που παρατηρείται στην occult HBV λοίμωξη έχει τις εξής συνέπειες: αφενός μεν μειώνει την πιθανότητα εύρεσης μολυσμένου δείγματος σε αναμειγμένα δείγματα (pooling), επηρεάζοντας την ασφάλεια του μεταγγιζόμενου αίματος, αφετέρου δε περιπλέκει τον αλγόριθμο που ακολουθείται για την ανίχνευση και επιβεβαίωση της HBV λοίμωξης⁶.

Πολύ σημαντικό εργαλείο για την επιβεβαίωση ενός HBV DNA θετικού αποτελέσματος αποτελούν οι ορολογικοί δείκτες της Ηπατίτιδας Β. Σε περιοχές με χαμηλή ενδημικότητα, όπως οι Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής και η Βόρεια Ευρώπη, η ανίχνευση anti-HBcore επιβεβαιώνει την παρουσία HBV DNA, ενώ αντίθετα σε περιοχές με υψηλή ενδημικότητα, όπως η Ανατολική Ασία και η Υποσαχάρια Αφρική, όπου η συχνότητα του anti-HBcore στον αιμοδοτικό πληθυσμό αγγίζει το 50%, η ανίχνευση του αντισώματος αυτού δεν αποτελεί αξιόπιστο δείκτη για την επιβεβαίωση ενός HBV DNA θετικού αποτελέσματος. Σ' αυτές τις περιοχές, η παρουσία HBV DNA σε συνδυασμό με υψηλούς τίτλους anti-HBs (>200mIU/mL) μπορεί να προέρχεται από επιμόλυνση και απαιτούνται ειδικά πρωτόκολλα επιβεβαίωσης⁶.

Ένας δεύτερος παράγοντας είναι ο αριθμός των επανελέγχων. Το χαμηλό ιικό φορτίο, που παρατηρείται τόσο κατά την περίοδο του παραθύρου, όσο και στην περίπτωση της Λανθάνουσας Ηπατίτιδας Β, καθιστά την ευαισθησία της μεθόδου πολύ κρίσιμο παράγοντα. Πολλές προσεγγίσεις μπορούν να ακολουθηθούν για να αυξηθεί η ευαισθησία μιας μεθόδου (αύξηση του όγκου του πλάσματος που χρησιμοποιείται κατά την απομόνωση νουκλεϊκών οξέων (extraction), υπερφυγοκέντρωση για συμπύκνωση ιικών των σφαιριδίων, χρήση nested PCR)⁶. Η μια από αυτές στηρίζεται στην αρχή της κατανομής Poisson με βάση την οποία η πιθανότητα να ανιχνευθεί ένα σπάνιο γεγονός (στη συγκεκριμένη περίπτωση η παρουσία HBV-DNA) αυξάνει όσο αυξάνει ο αριθμός των επανελέγχων. Θετικό δείγμα θεωρείται το δείγμα στο οποίο ανιχνεύεται επανειλημμένως HBV-DNA. Ο έλεγχος δειγμάτων από τον ασκό ή δειγμάτων επανάκλησης συμβάλει στην αναγνώριση τυχόν επιμόλυνσης του αρχικού δείγματος (ειδικά σε περιοχές με υψηλή ενδημικότητα)⁶.

Η Ελλάδα κατατάσσεται στις χώρες με μικρή προς ενδιάμεση ενδημικότητα⁸, γεγονός το οποίο καταδεικνύει τη μεγάλη σημασία του μοριακού ελέγχου στη διαδικασία της ασφαλούς μετάγγισης¹.

Σκοπός:

Το αντικείμενο της μελέτης ήταν η διαπίστωση της επίδρασης του κυμαινόμενου ιικού φορτίου στην επαναληψιμότητα ενός HBV DNA+ αποτελέσματος. Η μελέτη αναλύει τα δεδομένα του μοριακού ελέγχου αιμοδοτών και των επανελέγχων (στο ίδιο ή σε νέο δείγμα, καθώς και σε δείγμα από τον ασκό) για την επιβεβαίωση ενός αρχικά θετικού για HBV DNA αποτελέσματος, με αρνητικό ορολογικό έλεγχο.

Μέθοδος:

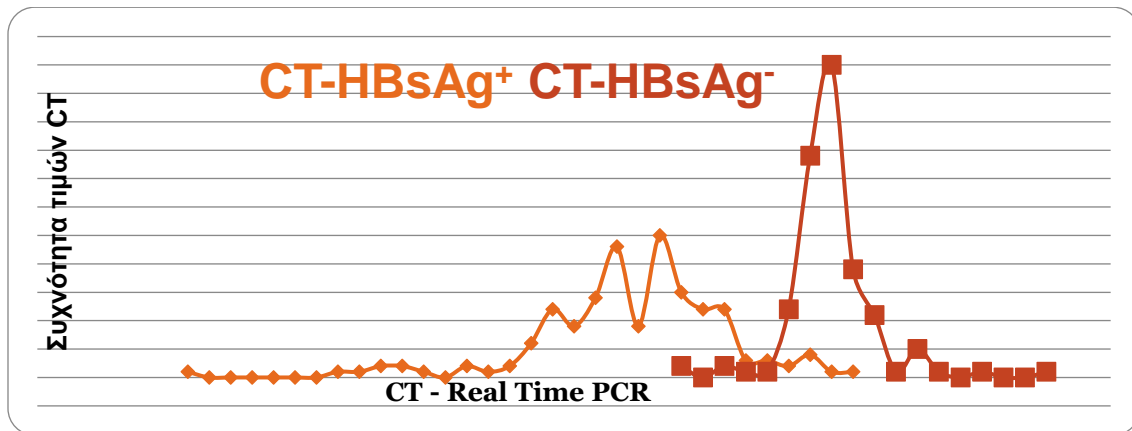
Το εργαστήριο Μοριακού ελέγχου του ΠΓΝΠ ανιχνεύει HBV-DNA με τη μέθοδο real time PCR στο σύστημα cobas s201 και τη χρήση του kit TaqScreen MPXv.2 της Roche Diagnostics. Το LOD για το HBV-DNA είναι τα 2,3 IU/mL (βάσει κατασκευαστή). Το σύστημα επιτρέπει την ταυτόχρονη ανίχνευση και των τριών ιών (HBV, HCV, HIV) με βασικό πλεονέκτημα της μεθόδου να είναι η χρήση σεσημασμένων, με διαφορετικά φθοριοχρώματα ανιχνευτών (probes), γεγονός το οποίο καταργεί τη δοκιμασία διάκρισης.

Το σημείο στο οποίο το κάθε δείγμα εισέρχεται στην εκθετική φάση της αντίδρασης ορίζεται ως <<κατώφλι>> μεταβολής του ρυθμού αύξησης της συγκέντρωσης του παραγόμενου προϊόντος (**Threshold Cycle** ή **CT**) και ανιχνεύεται ως σήμα φθορισμού. Η μεταβολή αυτή πραγματοποιείται σε συγκεκριμένο κύκλο και εξαρτάται

απόλυτα από την αρχική συγκέντρωση του κάθε δείγματος. Όσα λιγότερα αντίγραφα περιέχονται στο δείγμα τόσοι περισσότεροι κύκλοι απαιτούνται για να εισέλθει η αντίδραση στην εκθετική της φάση⁵.

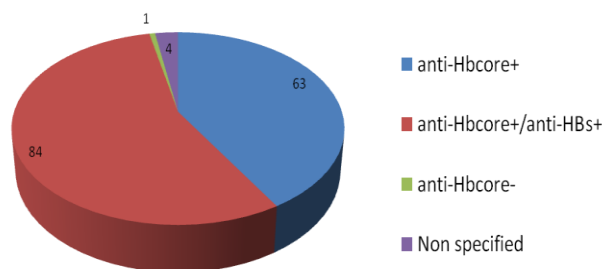
Αποτελέσματα:

Από 1/7/2013 έως 1/8/2016 το Εργαστήριο Μοριακού Ελέγχου της Νοσηλευτικής Υπηρεσίας Αιμοδοσίας του Π. Γ. Ν. Πατρών έλεγξε 198.464 ασκούς. Ανίχνευση HBV-DNA παρατηρήθηκε σε 317 αιμοδότες. Οι 165 ήταν HBsAg+, ενώ οι υπόλοιποι 152 ήταν HBsAg-. Οι δύο αυτές ομάδες αιμοδοτών (HBsAg+ και HBsAg-) χαρακτηρίζονται και από διαφορετική διακύμανση του κύκλου ανίχνευσης του HBV-DNA (Threshold Cycle ή CT της Real Time PCR): η μεν πρώτη ομάδα εμφανίζει ένα εύρος που αγγίζει τους 38 κύκλους, με μέσο όρο τους 28, ενώ για τη δεύτερη ομάδα το εύρος κυμαίνεται από τους 30 έως τους 48 κύκλους, με μέσο όρο τους 37 κύκλους.



Εικόνα 1: Συχνότητα εμφάνισης τιμών CT για τις δύο ομάδες αιμοδοτών με HBsAg+ και HBsAg-

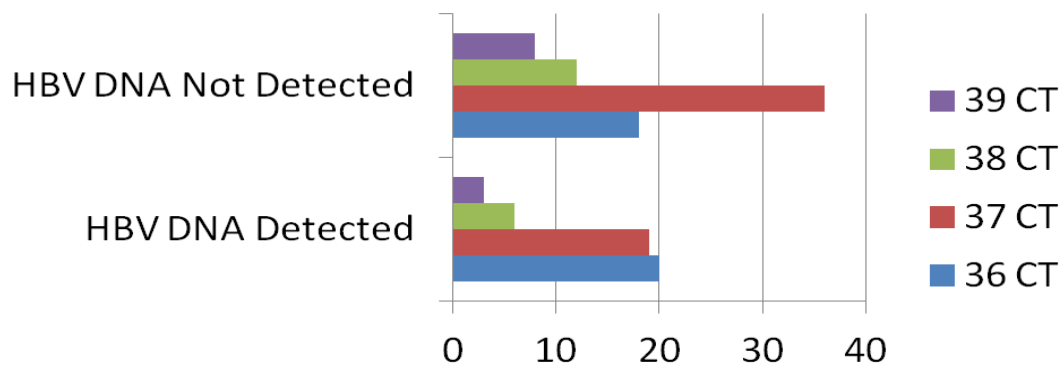
Ο ορολογικός έλεγχος των 152 αιμοδοτών (με HBsAg-) για δείκτες HBV, τους κατέταξε ως εξής: 1) 63/152 anti-HBcore+, 2) 84/152 anti-HBcore+/anti-HBs+, 3) 1/152 Δείκτες HBV(-), 4) 4/152 μη προσδιορισμός δεικτών.



Εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση της κατάταξης των 152 αιμοδοτών με HBsAg- βάσει των δεικτών HBV.

Οι 84 από τους 152 αιμοδοτές με anti-HBcore+ και anti-HBs +, χαρακτηρίζονται κατά κύριο λόγο από χαμηλό (διψήφιο) τίτλο anti-HBs. Μόλις 22 αιμοδοτές εμφανίζουν τίτλο anti-HBs >100 mIU/mL. Σε 61 δείγματα από τα 152 αρχικά θετικά για HBV DNA (anti-HBcore+) παρατηρήθηκε και 2^{ος} θετικός επανέλεγχος για HBV DNA. Σε 33 ανιχνεύονταν μόνο ο δείκτης anti-HBcore, ενώ σε 28 από αυτά παρατηρείται και anti-HBs.

Εστιάζοντας στην επαναληψιμότητα των θετικών για HBV DNA αποτελεσμάτων διαπιστώνουμε ότι, επανειλημμένη ανίχνευση HBV DNA παρατηρείται μέχρι τους 35 κύκλους της real time PCR (η περιοχή αυτή χαρακτηρίζεται συνήθως και από HBsAg+). Από τους 36 έως τους 39 κύκλους (περιοχή με HBsAg-) η έκβαση των επανελέγχων επηρεάζεται από τα επίπεδα του ιικού φορτίου. Πιο αναλυτικά, στους 36 κύκλους ανιχνεύεται και πάλι HBV DNA περίπου στο 50% των αρχικά θετικών δειγμάτων (20 HBV DNA+/18 HBV DNA-). Στους 37 κύκλους παρατηρείται περαιτέρω μείωση στην εκ νέου ανίχνευση HBV DNA στο 30% των δειγμάτων (19 HBV DNA+/36 HBV DNA-). Στους 38 και στους 39 κύκλους πιο συχνά παρατηρείται η μη επανεμφάνιση ενός θετικού αποτελέσματος (38 κύκλοι: 6 HBV DNA+/12 HBV DNA-, 39 κύκλοι: 3 HBV DNA+/8 HBV DNA). Πάνω από τους 40 κύκλους, ένα αρχικά θετικό αποτέλεσμα για HBV DNA δεν επανεμφανίζεται.



Εικόνα 3: Διαγράμματα συχνότητας ανίχνευσης/μη ανίχνευσης HBV DNA ανά κύκλο, κατά τους εκτελούμενους επανελέγχους των 152 αρχικά θετικών για HBV DNA δειγμάτων.

Συμπεράσματα:

Μέχρι τους 35 κύκλους η επαναληψιμότητα προσεγγίζει το 100%. Το γεγονός αυτό μας επιτρέπει να τοποθετήσουμε το LOD στους 35 κύκλους.

Αν και το εύρος διακύμανσης των κύκλων για την ομάδα των αιμοδοτών με αρνητικό ορολογικό έλεγχο (HBsAg-) εκτείνεται από τον 30 έως τον 48 κύκλο, ωστόσο σε μεγαλύτερη συχνότητα παρατηρείται η ανίχνευση μεταξύ των κύκλων 36-37. Αυτό έχει ως συνέπεια τα δεδομένα να μην είναι επαρκή για να διαπιστωθεί κατά πόσο μειώνεται η επαναληψιμότητα πάνω από τους 38 κύκλους.

Η συνήθης μη επανεμφάνιση ενός HBV DNA + αποτελέσματος πάνω από τους 40 κύκλους, καθιστά την παρουσία του anti-core, τη μόνη απόδειξη φυσικής επαφής με τον ιό HBV. Αντίθετα, η απουσία δεικτών Ηπατίτιδας Β, σε συνδυασμό με υψηλούς (>40) κύκλους, συνδέεται είτε με το 1ο παράθυρο της HBV λοίμωξης, είτε με ψευδώς θετικό αποτέλεσμα που επιβεβαιώνεται από μελλοντικό επανέλεγχο του αιμοδότη (1, 2 και 6 μήνες).

Εν κατακλείδι, θα μπορούσαμε να τονίσουμε ότι, η μη επαναληψιμότητα (όταν ανιχνεύεται ο δείκτης anti-core) θα πρέπει πρωταρχικά να αποδίδεται στο χαμηλό ιικό φορτίο του δείγματος (πιθανότατα κάτω από το 95% του ορίου ανίχνευσης της μεθόδου) καθώς και σε στοχαστικές μεταβολές των δειγμάτων πλάσματος και δεν θα πρέπει να θεωρείται ψευδώς θετικό (λόγω επιμόλυνσης) πριν την πλήρη ολοκλήρωση των διαδικασιών επανελέγχου (Follow up)^{2,3,7,9}. Ταυτόχρονα, σε κάθε περίπτωση, συστήνεται η απόρριψη όλων των παραγώγων με αρχικό θετικό αποτέλεσμα⁷.

Βιβλιογραφία

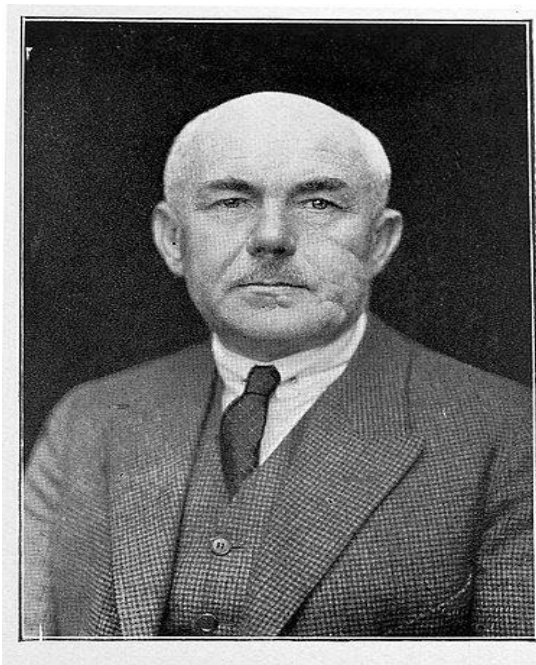
1. Seo D. H., Whang D. H., Song E. Y. and Han K. S. (2015). Occult hepatitis B virus infection and blood transfusion. *World J. Hepatol.* 7, 600–606.
 2. Kiely P., Margaritis A.R., Seed C.R. and Yang H. (2014). Hepatitis B virus nucleic acid amplification testing of Australian blood donors highlights the complexity of confirming occult hepatitis B virus infection. *Transfusion.* 54, 2084–2091.
 3. Charlewood R. and Flanagan P. (2013). Ultrio and Ultrio Plus non-discrimination reactives: false reactives or not? *Vox Sang.* 104, 7-11.
 4. Said Z.N.A. (2011). An overview of occult hepatitis B virus infection. *World J. Gastroenterol.* 17, 1927–1938.
 5. Burd E. M. (2010). Validation of Laboratory-Developed Molecular Assays for Infectious Diseases. *Clinical Microbiology Reviews.* 23, 550–576.
 6. Allain J.P. and Candotti D. (2009). Diagnostic algorithm for HBV safe transfusion. *Blood Transfus.* 7, 174–182.
 7. Katsoulidou A., Paraskevis D., Magiorkinis E., Moschidis Z., Haida C., Hatzitheodorou E., Varaklioti A., Karafoulidou A., Hatzitaki M., Kavallierou L., Mouzaki A., Andrioti E., Veneti C., Kaperoni A., Zervou E., Politis C., and Hatzakis A. (2009). Molecular characterization of occult hepatitis B cases in Greek blood donors. *J. Med. Virol.* 81, 815-25.
 8. Raptopoulou M., Papatheodoridis G., Antoniou A., Ketikoglou J., Tzourmakliotis D., Vasiliadis T., Manolaki N., Nikolopoulou G., Manesis E. and Pierroutsakos I. (2009). Epidemiology, course and disease burden of chronic hepatitis B virus infection. HEPNET study for chronic hepatitis B: a multicentre Greek study. *J. Viral. Hepat.* 16, 195-202.
 9. Lucey C. (2006). Brief report on the United States Food and Drug Administration Blood Products Advisory Committee recommendations for management of donors and units testing positive for hepatitis B virus DNA. *Vox Sang.* 91, 331-335.
 10. Allain J.P. (2004). Occult hepatitis B virus infection: implications in transfusion. *Vox Sang.* 86, 83-91.
-

1904-2016: ΤΑ 112Α ΓΕΝΕΘΛΙΑ ΤΗΣ ΧΡΩΣΤΙΚΗΣ GIEMSA

Η μέθοδος χρώσης Giemsa χρησιμοποιείται στην παρασιτολογία, στην αιματολογία και στην κυτταρολογία. Λόγω της απλότητάς της χρησιμοποιείται πολύ συχνά και στην ογκολογική κυτταρολογία. Επίσης, είναι η βασική μέθοδος για την ταξινόμηση λεμφωμάτων στην κατάταξη Kiel και θεωρείται διεθνώς ως η διαγνωστική τεχνική αναφοράς για το Plasmodium, παράσιτο που προκαλεί την ελονοσία.

Gustav Giemsa (1867-1948)

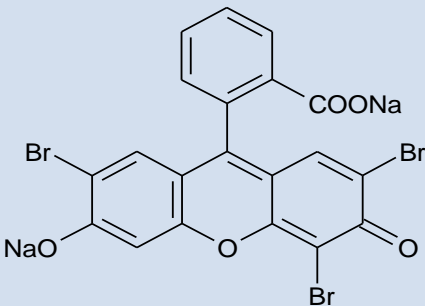
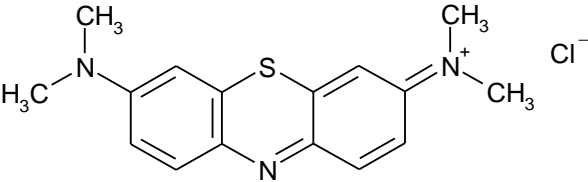
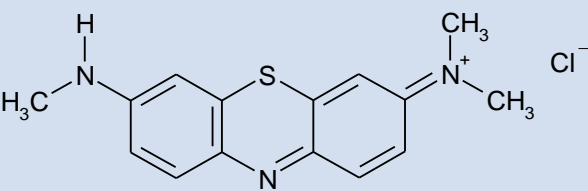
Χρύσα Λυμπέρη, Ανδριανή Γρηγοράτου.



Ο Gustav Giemsa (1867-1948) ήταν Γερμανός χημικός και μικροβιολόγος. Γεννήθηκε στις 20 Νοεμβρίου του 1867 στην Blachownia Slaska της Άνω Σιλεσίας, της σημερινής νότιας Πολωνίας και πέθανε στις 10 Ιουνίου του 1948 στο Biberwier, στο Tyrol της Αυστρίας. Αρχικά σπούδασε Φαρμακευτική και Ορυκτολογία στο Πανεπιστήμιο της Λειψίας, και μετέπειτα Μικροβιολογία και Χημεία στο Πανεπιστήμιο του Βερολίνου. Το διάστημα 1895-1898 εργάστηκε ως φαρμακοποιός στις γερμανικές αποικίες της νοτιοανατολικής Αφρικής. Από το 1900 έως το 1933 ήταν επικεφαλής του τμήματος Χημείας στο Ινστιτούτο Τροπικών Νοσημάτων (Institut für Tropenmedizin) στο Αμβούργο. Σήμερα το Ινστιτούτο έχει μετονομαστεί σε Ινστιτούτο Τροπικής Ιατρικής Bernhard-Nocht. Ο Giemsa μάλιστα βραβεύτηκε για τις ερευνητικές του δραστηριότητες με το τιμητικό βραβείο Bernhard-Nocht*. Για ένα διάστημα εργάστηκε στο Instituto Oswaldo Cruz

στο Ρίο ντε Τζανέιρο και το 1939 δημοσίευσε ένα βιβλίο στο οποίο περιέγραφε τις εμπειρίες του από την παραμονή του στην κεντρική Βραζιλία. Ο τίτλος του βιβλίου ήταν *“Ένα εκπαιδευτικό ταξίδι στο Espirito Santo: Μια βιολογική μελέτη του γερμανικού πληθυσμού, που έχει γεννηθεί στην κεντρική Βραζιλία, ως συνεισφορά για την επίλυση του προβλήματος προσαρμογής τους”* (*Eine Studienreise nach Espirito Santo: Volksbiologische Untersuchungen einer deutschstämmigen Bevölkerung Mittelbrasilien ALS Beitrag zum Akklimatisationsproblem*). Για την προσωπική ζωή του Giemsa δεν γνωρίζουμε πολλά. Το 1933 έγινε όπως και ο Bernhard-Nocht. μέλος του Ναζιστικού Κόμματος, αλλά λόγω της πολύπλοκης πολιτικής κατάστασης, είναι δύσκολο να πληροφορηθούμε περισσότερα με βεβαιότητα.

Ο Giemsa έγινε κυρίως γνωστός για τη μέθοδο χρώσης, που φέρει το όνομά του. Το 1904 δημοσίευσε μια εργασία για τη χρώση βακτηρίων και κυττάρων του αίματος, στην οποία παρουσίαζε μια βελτίωση της μεθόδου χρώσης Romanowsky*. Η νέα μέθοδος (Giemsa stain) χρησιμοποιεί τις ίδιες χρωστικές με την αρχική, δηλαδή κυανού του μεθυλενίου και ηωσίνη, αλλά περιέχει επιπλέον γλυκερόλη ($\text{HOCH}_2\text{-CHOH-CH}_2\text{OH}$), που σταθεροποιεί το διάλυμα των χρωστικών.

Δομή των χρωστικών της χρώσης Giemsa	Όνομα χρωστικών
	<p>Ηωσίνη Υ (Eosin Y, EY): (τετραβρωμοφλουορεσκεΐνη)</p>
	<p>Κυανούν του μεθυλενίου</p>
	<p>Azure B (AB) ή Azure II: (τριμεθυλοθειονίνη)</p>

Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό αυτής της μεθόδου, που την έκανε ιδανική για την αναζήτηση τροπικών ασθενειών στο αίμα, είναι ο διαφορετικός χρωματισμός των ανθρώπινων κυττάρων, από το χρώμα των παρασίτων που υπάρχουν στο αίμα. Συγκεκριμένα, οι πυρήνες των λευκοκυττάρων χρωματίζονται μωβ, ενώ οι πυρήνες των παρασίτων κόκκινοι. Η χρωματική αυτή διαφοροποίηση δεν επιτυγχάνεται, όταν χρησιμοποιούνται οι δύο χρωστικές ξεχωριστά. Ο Romanowsky, του οποίου η τεχνική χρησιμοποιείτο μέχρι τότε, στην εργασία του ανέφερε, ότι τα επιθυμητά χρώματα επιτυγχάνονται, μόνον όταν το διάλυμα του κυανού του μεθυλενίου είναι τόσο παλιό, ώστε να εμφανίζεται μούχλα στην επιφάνειά του. Οι βελτιωμένες χρωστικές ικανότητες του “ώριμου” διαλύματος μελετήθηκαν σε βάθος (σε μεγάλο βαθμό και από τον Giemsa), και βρέθηκε ότι η διαδικασία ωρίμανσης μπορεί να επιταχυνθεί σημαντικά ή σε αλκαλικό pH ή με τη θέρμανση του διαλύματος. Ο Giemsa σταθεροποίησε το διάλυμα χρησιμοποιώντας γλυκερόλη και αναγνώρισε τη σημασία του pH, καθώς και των μέσων που χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία των δειγμάτων, που παρατηρούνται εν συνεχεία στο μικροσκόπιο. Επίσης, έκανε πολλά πειράματα για να βρει μίγματα χρωστικών ενώσεων, ικανών να αντικαταστήσουν τη χρώση Romanowsky. Από αυτές τις απόπειρες προέκυψαν αρκετές δημοσιεύσεις (1902 – 1904), με την πιο επιτυχημένη εκδοχή να είναι αυτή ενός διαλύματος που περιέχει Azure B και ηωσίνη Υ (το Azure B σε περίσσεια). Το Azure B ήταν ένα μίγμα Azure I και κυανού του μεθυλενίου. Το Azure B, που ονομάζεται και Azure II, είναι προϊόν της οξειδωσης του κυανού του μεθυλενίου. Επίσης είναι γνωστό, ότι για να επιτευχθεί η ιδιαίτερη χρώση τύπου Romanowsky (Romanowsky-Giemsa effect), στη χρωστική πρέπει να περιέχεται ένα ανιοντικό και ένα κατιοντικό συστατικό. Το ανιοντικό όξινο συστατικό είναι σχεδόν πάντα η ηωσίνη Υ (Eosin Y, EY), ενώ το κατιοντικό αλκαλικό είναι το Azure B (AB).

Nachdruck verboten.

Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nochtschen Chromatinfärbung.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.
Leiter: Physikus Dr. Nocht.]

Von G. Giemsa, Assistenten am Institut.

Vor zwei Jahren hatte ich¹⁾ eine Färbemethode für die Chromatinfärbung²⁾ bei Malaria-Parasiten publiziert, bei welcher ich die Mischung einer Azur II-Lösung³⁾ mit einer Eosinlösung empfahl.

Die Gründe, aus denen ich das Arbeiten mit dem chemisch scharf charakterisierten reinen Azur und Methylenblau demjenigen mit alkalischer Methylenblaulösungen vorzog, habe ich seinerzeit so eingehend besprochen, daß ich heute der Kürze wegen von einer nochmaligen Erörterung derselben absehen kann.

Freilich war auch diese Methode, obwohl sie in vieler Hinsicht den anderen gegenüber eine Verbesserung bedeutete, mit mancherlei Mängeln behaftet. Der größte unter ihnen bestand darin, daß man, wie bei den meisten anderen Vorschriften, immer noch mit zwei verschiedenen Farblösungen arbeiten mußte. Aufnahme von Luftfeuchtigkeit seitens des ziemlich hygroskopischen trockenen Azurs, Ungenauigkeiten beim Abwägen der geringen Farbstoffmengen, die man zu den Lösungen benötigte, ferner die anfangs von mir nicht beobachtete leichte Zersetzbarkeit der dünnen Eosinlösungen boten eine Reihe von Fehlerquellen, die der Berücksichtigung bedurften, und die bei Forschern, welche sich unter Außerachtlassung derselben hart an meine, bezüglich des Mischungsverhältnisses gegebenen Vorschriften klammerten, die Brauchbarkeit der Methode in Frage stellen konnten.

Diesen Fehlerquellen ist es wohl auch zuzuschreiben, daß manche Autoren unter anderen, Laveran und Mesnil⁴⁾, welche meine Methode hauptsächlich für die Färbung der Trypanosomen empfahlen, die Stärke der Farblösungen etwas modifiziert haben.

Bei der ungeahnten Bedeutung, welche die Chromatinfärbung in den letzten Jahren außer für die Diagnose und Erforschung der Malaria, für die gesamte Protozoenforschung, sowie für die Bluthistologie überhaupt gewonnen hat, schien es mir wünschenswert, die Färbemethoden, wenn möglich, noch stabiler zu gestalten.

Die in meiner letzten Abhandlung beschriebenen, von mir seinerzeit ausgeführten theoretischen und praktischen Untersuchungen über die Eigenschaften der hier in Frage kommenden Farbstoffe gaben mir hierzu manch' wertvollen Fingerzeig und verhalfen mir schließlich zur Verwirklichung des schon längst gehegten Gedankens, den kombinierten

1) Giemsa, Färbemethoden für Malaria-Parasiten. (D. Z. Bd. XXXII, p. 307.)

2) Romanowsky, Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria. Deutsch von F. Werner. Petersburg 1891.

3) Nocht, Zur Färbung der Malaria-Parasiten. (D. Z. Bd. XXIV, p. 888) und Nachtrag hierzu. (D. Z. Bd. XXV, p. 17.)

4) Azur II = reines Methylenazurchlorhydrat + Methylenblanchlorhydrat zu gleichen Teilen.

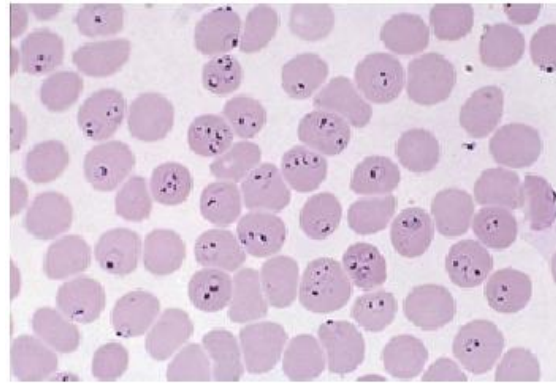
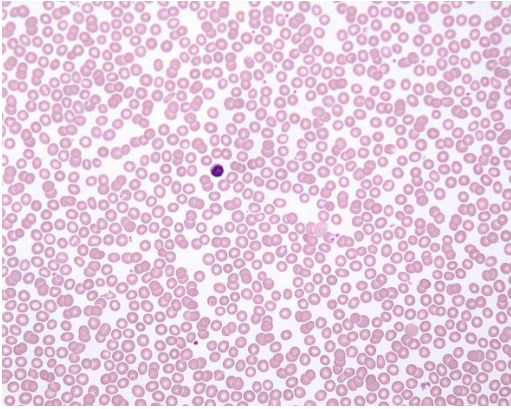
5) A. Laveran und F. Mesnil, Trypanosomes et Trypanosomiasis. Paris (Masson et Cie.) 1904.

Η πρώτη σελίδα από τη δημοσίευση του Gustav Giemsa (1904) με τίτλο "Απλούστευση και βελτίωση της δικής μου μεθόδου χρώσης (αζίδιο του μεθυλενίου, κυανού του μεθυλενίου και ηωσίνη) για την επίτευξη της χρώσης Romanowsky".

Το αποτέλεσμα της χρώσης Romanowsky-Giemsa, δηλαδή το μωβ χρώμα των πυρήνων των λευκοκυττάρων, ήταν απροσδόκητο, αφού καμία από τις δύο χρωστικές δεν έχει τέτοιο χρώμα. Μετά από πολλές μελέτες, βρέθηκε ότι αυτό το χρώμα οφείλεται στο σύμπλοκο, που σχηματίζεται μεταξύ του DNA και των χρωστικών (DNA-EY-AB). Στο φάσμα απορρόφησης του συμπλόκου βρέθηκε μια έντονη και στενή κορυφή στα 522nm, η οποία ονομάζεται ταινία Romanowsky (Romanowsky Band). Οι αρνητικά φορτισμένες φωσφορικές ομάδες του DNA έλκουν τα κατιόντα του διαλύματος, δηλαδή το Azure B. Εκτός από μονομερή και διμερή μόρια AB, έχει βρεθεί ότι και μεγαλύτερα συμπλέγματα AB συνδέονται με το DNA με υδρόφοβους και ηλεκτροστατικούς δεσμούς. Τα σύμπλοκα DNA-AB είναι αδιάλυτα στο νερό. Όταν προστίθεται το υδατικό διάλυμα ηωσίνης Y (EY), τα ανιόντα της EY συνδέονται μέσω υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων με το σύμπλοκο DNA-AB και αλλάζουν το χρώμα του DNA από μπλε σε μωβ. Η ηωσίνη επίσης έλκεται από τις πρωτεΐνες, που περιέχουν τα αμινοξέα γλουταμικό, ασπαρτικό, καθώς και λυσίνη ή αργινίνη. Το κόκκινο χρώμα των πυρήνων των παρασίτων της

ελονοσίας πιθανόν οφείλεται σε υπερχή των βασικών πρωτεϊνών (ιστονών) επί του DNA στον πυρήνα πρωτοζών.

Αρχικά η μέθοδος Giemsa χρησιμοποιήθηκε σε επιχρίσματα περιφερικού αίματος και μυελού των οστών, αλλά πλέον χρησιμοποιείται με πολύ καλά αποτελέσματα σε επιχρίσματα κυττάρων, λεπτές τομές ιστών καθώς και σε προϊόντα κυτταροφυγοκέντρησης.



Στην πρώτη εικόνα φαίνονται φυσιολογικά ανθρώπινα ερυθροκύτταρα, ενώ στη δεύτερη φαίνονται ερυθροκύτταρα ανθρώπου, που πάσχει από ελονοσία (διακρίνεται ο μικροοργανισμός Plasmodium falciparum). Και στις δύο περιπτώσεις η χρώση έχει γίνει με τη μέθοδο Giemsa.

Η χρώση των χρωμοσωμάτων είναι η συνηθέστερη γενετική εξέταση για τον εντοπισμό χρωμοσωμικών ανωμαλιών που σχετίζονται με γενετικές ανωμαλίες ή για διάγνωση κυρίως αιματολογικών κακοηθειών. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι το σύνδρομο Down ή τρισωμία του χρωμοσώματος 21 και το χρωμόσωμα της Φιλαδέλφειας, που προέρχεται από ανταλλαγή γενετικού υλικού ανάμεσα στα χρωμοσώματα 9 και 22 και εντοπίζεται σε ασθενείς με χρόνια μυελογενή λευχαιμία. Η χρώση Giemsa είναι η μέθοδος, που χρησιμοποιείται περισσότερο για τη δημιουργία των γνωστών εγκάρσιων λωρίδων στα μεταφασικά χρωμοσώματα (G-banding). Στη Βόρεια Αμερική υπολογίζεται ότι γίνονται περί τις 500.000 G-banding ετησίως. Η εφαρμογή της κυτταρογενετικής στον έλεγχο του γονιδιώματος του ασθενούς, έχει οδηγήσει στη σύνδεση συγκεκριμένων χρωμοσωμικών ανωμαλιών με συγκεκριμένες ασθένειες. Ο μηχανισμός δημιουργίας των ζωνών είναι σχετικά απλός. Τα κατιόντα που περιέχονται στη χρώση, έλκονται από τις φωσφορικές ομάδες του DNA. Οι πλούσιες σε δεσμούς αδενίνης-θυμίνης A-T περιοχές του γονιδιώματος, συνδέονται με τα κατιόντα με δεσμούς van der Waals και χρωματίζονται μπλε. Αντίθετα, περιοχές πλούσιες σε δεσμούς κυτοσίνης-γουανίνης C-G, δε δεσμεύουν τα κατιόντα. Η προετοιμασία καθορίζει το μοτίβο της χρώσης. Με ειδική επεξεργασία επιτυγχάνεται το R-banding (Reverse –banding), στο οποίο φαίνονται οι περιοχές που είναι συμπληρωματικές της G-banding, αφού οι σκοτεινές και οι φωτεινές περιοχές των χρωμοσωμάτων αναστρέφονται.



1^ο Διεθνές Συνέδριο Τροπικής Ιατρικής και Υγιεινής (1928) στο Κάιρο. Ο Gustav Giemsa (στον τρίτο κύκλο από αριστερά), μαζί με συναδέλφους του από το Ινστιτούτο Τροπικών Ασθενειών (στον πρώτο κύκλο διακρίνεται ο Bernhard Nocht). Οι συμμετέχοντες παρέλαβαν και το σχετικό Δίπλωμα «Friedrich Fülleborn» από το Πανεπιστήμιο του Καΐρου.*

Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν αναπτυχθεί πολλές μέθοδοι, που βασίζονται στην χρώση Romanowsky-Giemsa και δίνουν καλύτερα αποτελέσματα σε λεπτά και σε μεγαλύτερου πάχους επιχρίσματα. Οι πιο χαρακτηριστικές από αυτές είναι η May-Grüwald-Giemsa (MGG), η Jenner-Giemsa και η Wright-Giemsa. Η MGG αποτελεί μέθοδο αναφοράς στην αιματολογία και χρησιμοποιείται πολύ συχνά στη διαγνωστική κυτταροπαθολογία για τη μελέτη “air-dried” παρασκευασμάτων, που προέρχονται από φυγοκεντρούμενα σωματικά υγρά και παρακεντήσεις. Η Wright-Giemsa διευκολύνει τη διάκριση των κυττάρων του αίματος. Τελευταία δημοσιεύτηκε μια εργασία, που συνδυάζει τη χρώση Giemsa με τη χρώση Leishman (LG). Συγκρίθηκε η αποτελεσματικότητα, η αξιοπιστία, οι δυνατότητες, ο χρόνος και το κόστος της συνδυαστικής μεθόδου με τις συμβατικές. Η χρώση LG δίνει καλύτερη διαφορά στη χρώση πυρήνα-κυτοπλάσματος.

Σημειώσεις

Dimitri Leonidovich Romanowsky (1861–1921). Ρώσος γιατρός που μελετούσε τα παράσιτα και ειδικότερα το πλασμάδιο της ελονοσίας. Το 1891 χρησιμοποιώντας ηωσίνη Υ και κυανό του μεθυλενίου, ανέπτυξε την ομώνυμη χρωστική.

Bernhard Nocht (1857-1945). Γερμανός γιατρός στην υπηρεσία του αυτοκρατορικού ναυτικού, συνεργάτης του Robert Koch. Το 1919 διορίστηκε καθηγητής της Τροπικής Ιατρικής στη νεοσύστατη Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου του Αμβούργου. Από το 1927-1934 διετέλεσε αντιπρόεδρος της Επιτροπής Υγιεινής της Κοινωνίας των Εθνών. Το 1932 εξελέγη μέλος της Γερμανικής Ακαδημίας Επιστημών Leopoldina. Τον Ιούνιο του 1945 αυτοκτόνησε μαζί με τη σύζυγό του στο Wiesbaden.

Βιβλιογραφία

1. Giemsa G. *Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nochtschen Chromatinfärbung*. *Centralbl f Bakt.* 37, 308–311, 1904.
2. Giemsa G. *Das Wasen der Giemsa-Färbung*, *Zentralbl f Bakt*, 89, 99-106, 1922-23.
3. Giemsa G. “*Eine studienreise nach Espirito Santo; volksbiologische untersuchung einer deutschstämmigen bevölkerung in Mittelbrasilien als beitrag zum akklimatisationsproblem*”. *University of Toronto Libraries, Library Catalogue*.
4. *Bernbard-Nocht Ινστιτούτο Τροπικής Ιατρικής (Αμβούργο)*. http://www15.bni-hamburg.de/bni/bni2/neu2/inc/publikationen/publikationen_pdf/01Geschichte.pdf
5. Vogel H. *Gustav Giemsa (1867-1948)*. *Z. Tropenmed Parasitol.* 8, 386, 1967.
6. Ried T. *Cytogenetics — In Color and Digitized*, *NEJM* 350, 16, 1597, 2004.
7. Friedrich K, Seiffert W, Zimmermann HW, *Romanowsky dyes and Romanowsky-Giemsa effect. Structural investigations of the purple DNA-AB-EY dye complexes of Romanowsky-Giemsa staining*, *Histochem.* 93, 247-56, 1990.
8. Jonesko A. *Gustav Giemsa: his universal method of microscopic dying and his contribution for tropical medicine and chemotherapy*. *Arch. Hist. Filoz. Med.* 59, 31-40, 1996.
9. *Woronzoff-Dashkoff KK. The wright-giemsa stain. Secrets revealed. Clin. Lab. Med.* 22, 15-23, 2002.
10. *Fleischer B. Editorial: 100 years ago: Giemsa's solution for staining of plasmodia. Trop. Med. Int. Health.* 9, 755-6, 2004.
11. *Teerasaksilp S, Wiwanitkit V, Lekngam P. Comparative study of blood cell staining with wright-giemsa stain, field stain, and a new modified stain. Lab Hematol.* 11, 76-8, 2005.
12. *Barcia JJ. The Giemsa stain: its history and applications. Int. J. Surg. Pathol.* 15, 292-6, 2007.
13. *Kiernan J A. On Chemical Reactions and Staining Mechanisms. How Do Dyes Impart Color to Different Components of the Tissues? http://www.dako.com/08066_12may10_webchapter19.pdf*
14. *Fasakin KA, Okogun GRA, Omisakin CT, Adeyemi AA, Esan AJ, Modified Leishman Stain: The Mystery Unfolds, Br. J. Med. & Med. Res.* 4(27), 4591-4606, 2014.
15. *Piaton E, Fabre M, Goubin-Versini I, Bretz-Grenier MF, Courtade-Saïdi M, Vincent S, Belleannée G, Thivolet F, Boutonnat J, Debaque H, Fleury-Feith J, Vielh P, Cochand-Priollet B; pour la Société française de cytologie clinique (SFCC), Egelé C, Bellocq JP, Michiels JF; pour l'Association française d'assurance qualité en anatomie et cytologie pathologiques (AFAQAP). Technical recommendations and best practice guidelines for May-Grünwald-Giemsa staining: literature review and insights from the quality assurance. Ann Pathol. Aug;35(4), 294-305, 2015.*
16. *Gajendra S, Jha B, Goel S, Sahni T, Sharma R, Shariq M, Jaiswal S, Sachdev R. Leishman and Giemsa stain: a new reliable staining technique for blood/bone marrow smears. Int J Lab Hematol.* 2015 Jul 30. doi: 10.1111/ijlh.12408.
17. http://www15.bnihamburg.de/bni/bni2/neu2/inc/publikationen/publikationen_pdf/01Geschichte.pdf
18. https://en.wikipedia.org/wiki/Gustav_Giemsa

ΝΕΑ ΑΠΟ ΤΟ EUROMEDLAB ΑΘΗΝΑ 2017



Αγαπητοί συνάδελφοι,

Εκ μέρους της Επιτροπής επιστημονικού Προγράμματος του EuroMedLab2017 που θα γίνει στην Αθήνα ανακοινώθηκε από τον Ελευθέριο Διαμαντή, ότι ολοκληρώθηκε και δημοσιεύεται το Προκαταρκτικό Πρόγραμμα του Συνεδρίου.

Η εναρκτήρια ομιλία υποδοχής (Opening Plenary Lecture) θα γίνει την Κυριακή 11 Ιουνίου από τον Dr. David Erstein (ΗΠΑ) με θέμα «Το αρχέτυπο Ολυμπιακό πνεύμα: Η εξέλιξη των αθλητών και οι πολύ μικρές διαφορές μεταξύ του καλού και του εξαιρετικού».

Η δεύτερη ομιλία θα δοθεί από τον Dr. Γεώργιο Παυλάκη (Ελλάδα-ΗΠΑ) τη Δευτέρα 12 Ιουνίου με θέμα «Νέα εμβόλια και ανοσοθεραπείες για το AIDS και τον καρκίνο».

Η τρίτη ομιλία θα δοθεί από την Dr. Françoise Baylis (Καναδάς) την Τρίτη 13 Ιουνίου με τίτλο «Η αυγή, η αποκορύφωση και το σούρουπο της επεξεργασίας των ανθρώπινων γονιδίων».

Την Τρίτη 13 Ιουνίου επίσης ο προσκεκλημένος ομιλητής Dr. Γεώργιος Μαλλιάρης θα αναφερθεί στην προσφορά της Βιοηλεκτρονικής στη διάγνωση.

Η τέταρτη διάλεξη θα δοθεί την Τετάρτη 14 Ιουνίου από τον Dr. Γεώργιο Χρούσσο (Ελλάδα) και θα φορά την «Επίδραση του άγχους στον κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών».

Στην τελευταία διάλεξη την Πέμπτη 15 Ιουνίου ο Dr. Νικόλαος Κατσάνης (Ελλάδα-ΗΠΑ) θα μιλήσει για την «Αλληλούχηση ολόκληρου του γονιδιώματος σε υγιείς και σε ασθενείς».

Από το EuroMedLab 2017 της Αθήνας εγκαινιάζεται μια καινούργια ιδέα, οι δημόσιες επιστημονικές αντιπαραθέσεις (debates) για φλέγοντα επιστημονικά θέματα στις οποίες συμμετέχουν δύο ομιλητές με αντιτιθέμενες απόψεις, πάνω στις οποίες και επιχειρηματολογούν. Σημειωτέον ότι οι συνεδρίες αυτές είναι ανοιχτές στο κοινό και τον τύπο.

Η πρώτη δημόσια αντιπαραθέση τη **Δευτέρα 12 Ιουνίου** με θέμα «Προσυμπτωματικός έλεγχος για τον καρκίνο» θα γίνει μεταξύ της Dr. Ann McTiernan (ΗΠΑ) και της Dr. Laura Esserman (ΗΠΑ).

Την **Τρίτη 13 Ιουνίου** η δεύτερη δημόσια αντιπαράθεση έχει θέμα την «Επεξεργασία των γονιδίων ανθρώπων, ζώων και φυτών» μεταξύ των Dr. Νικολάου Κατσάνη (Ελλάδα-ΗΠΑ) και Dr. Françoise Baylis (Καναδάς).

Την **Τετάρτη 14 Ιουνίου** η τρίτη δημόσια αντιπαράθεση με τους Dr. Rodger Seccombe (Καναδάς) και Dr. Daniel Holmes (Καναδάς) αφορά «Εξετάσεις βιολογικού υλικού, που διατίθενται στο εμπόριο απ'ευθείας στους καταναλωτές».

Την **Πέμπτη 15 Ιουνίου** στην τέταρτη δημόσια αντιπαράθεση ο Dr. David Epstein (ΗΠΑ) και ο Dr. Geoffrey S. Baird (ΗΠΑ) διασταυρώνουν τα ξίφη τους με θέμα «Ο έλεγχος της φαρμακοδιέγερσης (doping) των αθλητών».

Εκ μέρους της Επιτροπής αξιολόγησης των υποβληθεισών προς κρίση εργασιών (Abstracts Evaluation Committee, AEC) για το **EuroMedLab 2017** της Αθήνας ο Χρήστος Κρούπης ανέφερε τα εξής:

Οι εργασίες αυτές είναι ζωτικής σημασίας για την πρόοδο της επιστήμης και την επικοινωνία των λειτουργιών της. Οι 995 εργασίες που υποβλήθηκαν προς κρίση μέχρι την 1η Νοεμβρίου 2016 αναφέρονται σε 30 διαφορετικά θέματα της Κλινικής Χημείας και της Εργαστηριακής Ιατρικής. Οι συγγραφείς είχαν την ευχέρεια να επιλέξουν αν επιθυμούσαν η ανακοίνωσή τους να παρουσιαστεί προφορικά ή σε μορφή poster (αναρτημένη ανακοίνωση).

Τα μέλη της Διεθνούς Επιστημονικής Συμβουλευτικής Επιτροπής του EuroMedLab 2017 της Αθήνας πρότειναν 116 ειδήμονες από τα μέλη των 24 Εθνικών Εταιρειών που συμμετέχουν στην EFLM (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) και από αυτούς επελέγησαν οι 55 από 18 χώρες. Το κάθε θέμα είχε ανατεθεί σε δύο κριτές, οι οποίοι μελετώντας τις εργασίες που προτάθηκαν τις βαθμολόγησαν 1-5. Ο αριθμός των εργασιών ανά θέμα ήταν διαφορετικός, γιατί κάποια πεδία (όπως πχ οι αναλυτικές μέθοδοι με 104 εργασίες, οι καρκινικοί δείκτες με 98 εργασίες, η διαπίστευση των εργαστηρίων με 62 εργασίες, οι λοιμώξεις με 58 εργασίες, η ενδοκρινολογία με 57 εργασίες, οι καρδιαγγειακοί δείκτες με 56 εργασίες) είναι «δημοφιλέστερα». Κάθε κριτής αξιολόγησε κατά μέσο όρο 36 εργασίες, από 6-104 περιλήψεις έκαστος.

Ο μέσος όρος των βαθμολογιών ήταν ικανοποιητικός: 3,41. Οι βαθμολογίες 136 εργασιών κυμαίνονταν μεταξύ 8-10 και από αυτές με τη βοήθεια των προέδρων των επί μέρους συμποσίων θα επιλεγούν οι προφορικές ανακοινώσεις. Χαμηλή βαθμολογία ≤ 2 συγκέντρωσαν μόλις 46 εργασίες (4,6%) και απερρίφθησαν. Άλλες 52 εργασίες χρειάστηκαν διορθώσεις ή διευκρινίσεις για να γίνουν αποδεκτές.

Οι αναρτημένες ανακοινώσεις θα παρουσιαστούν ανά θεματική ενότητα στις 12, 13 και 14 Ιουνίου και παρακαλούνται οι συγγραφείς να βρίσκονται στο χώρο των ανακοινώσεων από τις 13:00 έως 14:30, ώστε να διευκολυνθούν οι επικοινωνητικές συζητήσεις μεταξύ των παρισταμένων.

http://www.athens2017.org/documenti/scientific_programme20161013.pdf



ΕΚΔΗΛΩΣΗ

«Εμπλουτισμός του Ιστορικού Αρχείου του Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ (ΕΙΠ):
Αρχείο Γεωργίου Ιωαννίδη και Ζωής Μελά - Ιωαννίδη»

Παρασκευή 9 Δεκεμβρίου 2016 – Αμφιθέατρο Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ



Το Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ συμπληρώνει σχεδόν έναν αιώνα λειτουργίας και προσφοράς στην Έρευνα, τη Δημόσια Υγεία και την Εκπαίδευση.

Η προσπάθεια για την συγκρότηση του Ιστορικού Αρχείου του Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ, ξεκίνησε με την χορηγία του Κοινωνικού Ιδρύματος Ιωάννη Σ. Λάτση την περίοδο 2009-2012. Το υλικό αυτό αποτελεί πλέον μια αξιόλογη ερευνητική υποδομή για τη μελέτη όχι μόνον της ιστορίας του Ινστιτούτου αλλά και της ιστορίας της Ιατρικής, της Δημόσιας Υγείας, της Πολιτικής της Υγείας, της Κοινωνιολογίας, της ιστορίας των Ελληνικών Ερευνητικών Ιδρυμάτων, των Ελληνο-Γαλλικών Σχέσεων, κλπ

Το 2016, με τη δωρεά του Αρχείου Γεωργίου Ιωαννίδη & Ζωής Μελά -Ιωαννίδη, έγινε ένα δεύτερο σημαντικό βήμα και συνειδητοποιήσαμε ότι πολλά πρέπει ακόμη να γίνουν για την πληρέστερη συγκρότηση και λειτουργία του Ιστορικού Αρχείου μας. Στόχος μας είναι, η συνέχιση της προσπάθειας για τη διάσωση, την ψηφιοποίηση και την ηλεκτρονική διαχείριση του αρχαιικού υλικού, ώστε να καταστεί άμεσα προσβάσιμο στους ερευνητές και το κοινό, και να αναδειχθεί σε πόλο έρευνας, ιστορικού και κοινωνιολογικού χαρακτήρα.

Η σημερινή μας εκδήλωση, αποσκοπεί στην προβολή μέρους της ιστορίας του ΕΙΠ, μέσα από το έργο ερευνητών που υπηρέτησαν το Ίδρυμα.

Τιμάμε και εκφράζουμε τις ευχαριστίες μας προς την διαθέτιδα του αρχείου, ελπίζοντας ότι θα ακολουθήσουν το παράδειγμά της και άλλοι που έχουν στην κατοχή τους υλικό αλλά και αναμνήσεις από το ΕΙΠ, ώστε να αναδειχθεί ο ρόλος του στην Ελληνική κοινωνία.

Ομιλητές

Δρ Σύλβα Χαραλάμπους, Κύρια Ερευνήτρια, Βιολόγος, ΕΙΠ

Δρ Ανδριανή Γρηγοράτου, Βιοχημικό Εργαστήριο, ΠΓΝΑ ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ, Μέλος της ΕΕΚΧ-ΚΒ

Δρ Χριστίνα Οικονομοπούλου, Προϊσταμένη Τμήμα Διοίκησης ΕΙΠ

Ανδρέας Βούρτσας, Μεταπτυχιακός φοιτητής, Ιστορικός της Επιστήμης, ΕΚΠΑ

Δήμητρα Κουτρούμπα, Κατερίνα Σταμούλου, Φοιτήτριες Τμήμα Κοινωνικής και Εκπαιδευτικής Πολιτικής, Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου

Δέσποινα Καρακατσάνη, Καθηγήτρια, Πρόεδρος Τμήματος Κοινωνικής και Εκπαιδευτικής Πολιτικής, Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου

Μανώλης Πατηνιώτης, Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήμα Μεθοδολογίας, Ιστορίας και Θεωρίας της Επιστήμης, ΕΚΠΑ

Κυριάκος Σουλιάτης, Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήμα Κοινωνικής και Εκπαιδευτικής Πολιτικής, Πανεπιστημίου Πελοποννήσου

Οργανωτική Επιτροπή

Δρ Χριστίνα Οικονομοπούλου, Δρ Σύλβα Χαραλάμπους, Δήμητρα Καζάνα

Ευχαριστούμε το Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου και την Ελληνική Εταιρεία Κλινικής Χημείας, Κλινικής Βιοχημείας για την υποστήριξη στην διοργάνωση της Εκδήλωσης



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ



Στις 9 Δεκεμβρίου 2016 στο Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ έγινε εκδήλωση για τον εμπλουτισμό του Ιστορικού Αρχείου του Παστέρ (ΕΙΠ) με το Αρχείο Γεωργίου Ιωαννίδη και Ζωής Μελά-Ιωαννίδη, την οποία υποστήριξαν το Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου και η Εταιρεία μας. Η Ζωή Μελά – Ιωαννίδη (1898-1996), Ερευνήτρια στο Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, υπήρξε πρωτοπόρος Ελληνίδα Επιστήμονας http://www.eekx-kb.gr/pdf/ENIMEROTIKO_16.pdf, από τα ιδρυτικά μέλη του Συνδέσμου Ελληνίδων Επιστημόνων και της Ένωσης Ελλήνων Χημικών. Ο Γεώργιος Ιωαννίδης (1893-1953), Ιατρός Μικροβιολόγος, Διευθυντής του Μικροβιολογικού Τμήματος και Υποδιευθυντής του Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ, υπήρξε ένας πρωτοπόρος Ερευνητής και Εργαστηριακός γιατρός, με ήθος και ευρύτητα σκέψης.

Η Εκδήλωση μεταδόθηκε ζωντανά μέσω του ΔΙΑΥΛΟΥ, στην διεύθυνση <https://diavlos.gnet.gr/event/e783>

Η Ζωή Μελά-Ιωαννίδη στο Σύνδεσμο Ελληνίδων Επιστημόνων στη διάρκεια της Κατοχής.

Ανδρ. Γρηγοράτου, Αγγ. Μελπίδου



Εργαστήριο Δημοσίας Υγιεινής 1924-1925. Η Ζωή Μελά είναι όρθια στην άκρη δεξιά. Ο Γεώργιος Ιωαννίδης είναι καθιστός δεξιά, με σταυρωμένα τα πόδια, όπως συνήθιζε.



Εργαστήριο Δημοσίας Υγιεινής 1924-1925. Η Ζωή Μελά είναι η δεύτερη από αριστερά.



Εργαστήριο Δημοσίας Υγιεινής 1924-1925. Η Ζωή Μελά είναι η δεύτερη από αριστερά.

Η Μαρία Φλαμπουριάρη, ιδρύτρια του Συνδέσμου Ελληνίδων Επιστημόνων (ΣΕΕ), γεννήθηκε στην Κέρκυρα το 1905. Πήρε πτυχίο της από τη Νομική Αθηνών* το 1924. Ήταν η δεύτερη γυναίκα δικηγόρος στην Ελλάδα, μετά την Ελένη Καρύδη. Έγινε μέλος του Δικηγορικού Συλλόγου Αθηνών το 1925.

* Παρθενών. Έτσι ονομαζόταν το μεμονωμένο έδρανο που βρισκόταν δεξιά της έδρας της Νομικής Σχολής Αθηνών και «προφύλασσε» τις ευάριθμες φοιτήτριες από τη συναναστροφή με τους άρρενες συναδέλφους τους.

Το 1926, όταν για πρώτη φορά μια γυναίκα δικηγόρος, η Μαρία Φλαμπουριάρη, εμφανίστηκε σε δικαστήριο, και δη στρατοδικείο, τα σχόλια στον Τύπο ήταν δεικτικά. «Δεν αρκεί να είναι κανείς φλύαρος για να γίνει καλός δικανικός ρήτωρ». «Καλούμεν το λάλον δεσποινίδιον να επανέλθη, ως τάχιστα, εκεί όπου φύσει ανήκει. Ή εις το σπίτι του ή εις το "Καπρίς". Αι γυναίκες είνε προωρισμένα, κατ' εκλογήν των και προ παντός καθ' ικανότητα, ή να γίνουν μητέρες ή να μείνουν γυναίκες». Ή σπίτι ή "Καπρίς". Μέσος όρος δεν υπάρχει.

Ἀγαπητὴ Θεσπρινίς

Παρακαλοῦμεν ὅπως τὴν προσεχῆ Κυριακὴν 24 Ἰουλίου
μῆνου καὶ ὥραν 10 π.μ. προσέλθητε εἰς τὸ Λύκειον Ἑλληνίδων
Ἀραβίας περιάνδρου ἵνα συσκεφθῶμεν πρὸς σύστασιν
Συνδέσμου Ἑλληνίδων Ἐπιστημόνων πρὸς φρούρησιν τῶν Ἐπιστη-
μονικῶν καὶ ἑπαγγελματικῶν ἡμῶν συμφερόντων .-

Ἀθήνησι τῆ 18 Αὐγούστου 1924

Ἐκ μέρους τῆς

Προσωπικῆς Ἐπιτροπῆς

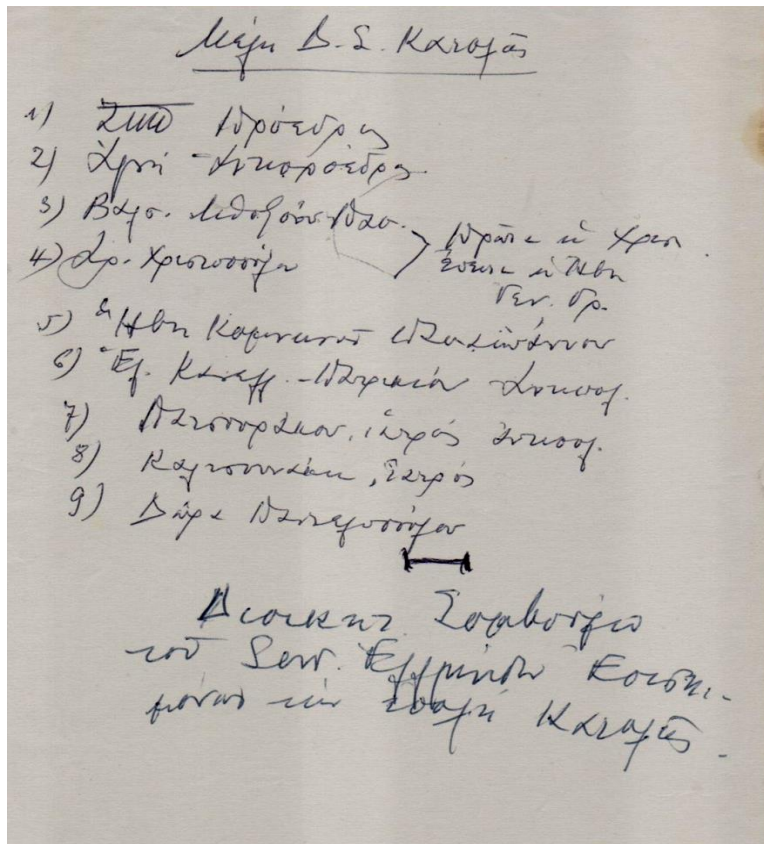
Μαρία Φλαμπουριάδου
Προφύρα Βασιλείου

*Ἀπὸ τῆς ἡμετέρας
Μαρίας Φλαμπουριάδου
καὶ Νταλίας Μελά
μα' ἡ' ὅτι ἡμεῖς
ἐν ἔξοχῳ ἐγγύμνῳ καὶ
ἐν ἡμετέρῳ ἀνταγρῶν.*

«Ἀθήνησι τῆ 18 Αὐγούστου 1924».

Πρόσκληση με τὴν ἰδὸχειρῃ υπογραφή τῆς Μαρίας Φλαμπουριάδου, διπλωματούχου Νομικῆς, πρὸς τὴν Ζωὴ Μελά νὰ προσέλθῃ τὴν Κυριακὴν 24 Αὐγούστου «εἰς τὸ Λύκειον Ἑλληνίδων ἵνα συσκεφθῶμεν πρὸς σύστασιν Συνδέσμου Ἑλληνίδων Ἐπιστημόνων πρὸς φρούρησιν τῶν ἐπιστημονικῶν καὶ ἐπαγγελματικῶν ἡμῶν συμφερόντων».

Ἡ Ζωὴ Μελά-Ιωαννίδου λείπει μαζί με τὸ σύζυγό της Γεώργιο Ιωαννίδου στὴ Μεσσηνία, ὅπου ἔχει ξεσπάσει ἐπιδημία πανώλης καὶ τὸν καλεῖ τὸ καθήκον. Ἡ Ναταλία Μελά παραλαμβάνει τὴν πρόσκληση καὶ σημειώνει κάτω ἀριστερὰ στὴν κόρη της: «Ἀπῆντησα ὅτι λείπεις καὶ ἔδωσα τὴν διεύθυνσή σου γιὰ νὰ σε κρατήσουν ἀν θέλουν ἐνήμερη τῶν ληφθεισῶν αποφάσεων».



Χειρόγραφο σημείωμα της Ζωής Μελά με τα μέλη Διοικητικού Συμβουλίου του Συνδέσμου Ελληνίδων Επιστημόνων στην Κατοχή.

1. Ζωή Μελά-Ιωαννίδη Πρόεδρος
2. Αγνή (Ρουσοπούλου) Αντιπρόεδρος
3. Βαλσ(αμίνη) Λιθοξόου- Παπ(αδοπούλου)
4. Αρ(ιάδνη) Χριστοπούλου
5. Ήβη Κομνηνού-Παπαϊωάννου
6. Ελ. Κανελλ.-Πατρικίου, Αντιπολ(ίτευση)
7. Πατσουράκου, ιατρός, Αντιπολ(ίτευση)
8. Καλτσουνάκη, ιατρός
9. Δώρα Παντελοπούλου

Πρώτα η Χριστ(οπούλου) έπειτα η Ηβη Γεν.Γρ.

Ας αναφέρουμε επιγραμματικά τα μέλη του ΔΣ του ΣΕΕ:

1. Αγνή Ρουσοπούλου (1901-1977): μία εκ των πέντε φοιτητριών του ακαδημαϊκού έτους 1918 στη Νομική Αθηνών. Κόρη του Όθωνα Ρουσόπουλου (1856-1922), χημικού και ιδρυτή της Βιομηχανικής και Εμπορικής Ακαδημίας και της Ελένης Ναούμ , από οικογένεια Καστοριανών γουναράδων, που ήταν συνεργάτης της Καλιρρόης Παρρέν και ιδρυτικό μέλος του Λυκείου Ελληνίδων. Αδελφή της Πολυξένης Ρουσοπούλου- Ματέϋ (μουσικοκινητική αγωγή). Η Αγνή έκανε μεταπτυχιακές σπουδές στη Λειψία και στο Ρότσεστερ πάνω στο εργατικό δίκαιο, επέστρεψε στην Αθήνα όπου και ανέπτυξε πολύμορφη δράση στο γυναικείο κίνημα.

Υπόθεση Αγνής Ρουσοπούλου. Το 1929 ο Αλέξανδρος Σβώλος ανέλαβε την υπεράσπισή της στην εν λόγω δίκη—μια από τις πρώτες του Συμβουλίου της Επικρατείας. Το θέμα συζητήθηκε με αυξημένη Ολομέλεια και, όπως προσφυώς είπε η ίδια «Σε πανηγυρική συνεδρίαση το Συμβούλιο απέρριψε πανηγυρικά την αίτησή μου»! Αντιπρόεδρος του ΣΕ και εισηγητής ήταν ο Στάμος Παπαφράγκος κατά του διορισμού γυναικών σε δημόσιες θέσεις, ιδίως σε θέσεις δικαστών.

Το 1955 η Αγνή Ρουσοπούλου ήταν η πρώτη γυναίκα σύμβουλος που μετείχε σε Διοικητικό Συμβούλιο του ΔΣΑ. Η πολιτική της δράση εκτείνεται από το Μεσοπόλεμο, στα χρόνια της αντίστασης, τη δικτατορία, τη μεταπολίτευση, έως και το 1976 που ήταν υποψήφια βουλευτής.

2. Βαλαμίνη Λιθοξόου-Παπαδοπούλου του Κωνσταντίνου και της Δουκαϊνής. Πρόσφυγας από τις Σαράντα Εκκλησιές της Ανατολικής Θράκης γεννημένη το 1905, τελείωσε τη Φιλοσοφική Σχολή ΑΠΘ. Συμμετείχε στην Εθνική Αντίσταση (ΦΕΚ 1986).

3. Αριάδνη Χριστοπούλου, δικηγόρος. Φυλακίστηκε στις φυλακές Αβέρωφ. Ακόμη κι εκεί μελετούσε για να βρει στοιχεία για την αναίρεση της ποινής των μελλοθανάτων.

4. Ήβη Κομνηνού-Παπαϊωάννου, δικηγόρος. Σύζυγος του δικηγόρου και βουλευτή Αιτωλοακαρνανίας Νικ. Ι. Παπαϊωάννου (1913-1986).

5. Ελένη Κανελλοπούλου-Πατρικίου (Αίγιο 1901-1980) αρχιτέκτων μηχανικός. Ορφάνεψε μικρή και η οικογένεια μετακόμισε στην Αθήνα. Ήταν η πρώτη γυναίκα, που το 1923 αποφοίτησε από την αρχιτεκτονική σχολή του ΕΜΠ, που είχε ιδρυθεί το 1917. Ακολούθησε τη λιτότητα του μοντέρνου κινήματος και την εφάρμοσε σε κατασκευές στην Ασκληπιού, την Καρνεάδου και το επτάώροφο στη γωνία Πατησίων και Ηπείρου, αλλά κυρίως στην πολυκατοικία δίπλα στο Μουσείο, που θεωρείται το καλύτερο έργο της.

6. Πατσουράκου, ιατρός (χωρίς λοιπά στοιχεία).

7. Καλιτσουνάκη, ιατρός (χωρίς λοιπά στοιχεία).

8. Δώρα Παντελοπούλου, πολιτικός μηχανικός.

Η Αριάδνη Χριστοπούλου, Γενική Γραμματέας του Σ Ε Ε στην Κατοχή σε σημείωμά της (Αθήνα 3-4-1978) αναφέρει:

«Την άνοιξη του 1942 ειδοποιηθήκαμε πως θα γινόταν συνέλευση των Ελληνίδων Επιστημόνων για να ξαναζωντανέψουν τον Σύνδεσμο. Θυμάμαι πως πήγαμε σ' ένα γραφείο. Θα είμασταν εν όλω ως 60 και μάλιστα οι περισσότερες ήταν όρθιες... Μετά τις εκλογές το Συμβούλιο συνεκροτήθη σε σώμα και εξέλεξε πρόεδρο τη Ζωή Μελά-Ιωαννίδου και γραμματέα την Αριάδνη Χριστοπούλου, η οποία κρατούσε και τα πρακτικά. Η πρώτη συνεδρίαση έβαλε θέμα τη μαζικοποίηση του Συνδέσμου».

«Με απόλυτη σύμπνοια και για να ανεβάσει το ηθικό της Ελληνίδας Επιστήμονος και δι' αυτής να βοηθήσει τις Ελληνίδες» δημιουργήθηκαν επιτροπές κατά κλάδους για τα επί μέρους ζητήματα, με απώτερον σκοπό να αγωνισθούν γι' αυτά.

«Εν τω μεταξύ η ίδια η ζωή και η Κ α τ ο χ ή γεννούσε λογής-λογής άμεσα καθήκοντα που έπρεπε ως Ελληνίδες να εκτελέσουμε, βοήθεια στον αγώνα της επιβίωσης (συσσίτια)».

«Απόφαση του Συμβουλίου, πρώτον καθήκον να γραφούμε μέλη απ' όλους τους κλάδους. Πράγματι σε λίγο χρονικό διάστημα οι Επιστήμονες άκουσαν το κάλεσμα και γράφτηκαν σχεδόν στο σύνολό τους. απ' όλους τους κλάδους ελεύθερες επαγγελματίες, υπάλληλοι Δημοσίου, Υπουργείων, Τραπεζών, Νομικών Προσώπων, Ιδιωτικού Δικαίου γράφονται με προθυμία. Το Συμβούλιο συνεδρίαζε τακτικά κάθε εβδομάδα και ο απολογισμός ήταν πλούσιος. Επειδή ήταν πολλές αποφασίσαμε να τις καλούμε σε συνελεύσεις κατά κλάδους. Έτσι δημιουργήθηκαν διάφορα τμήματα» όπως το

1) Τμήμα Νομικών, που συνεδρίαζε συχνότατα και μελετούσε άρθρα του Αστικού Κώδικος που αδικούσαν τη γυναίκα γενικά και το

2) Τμήμα Παιδείας, που συγκέντρωνε όλες τις καθηγήτριες και γενικά τις εκπαιδευτικούς. Εκεί μελετούσαν τον τρόπο που η παιδεία γα γινόταν πιο αποτελεσματική και πως θα καταπολεμούσαν τον αναλφαβητισμό.

«Ο Σύνδεσμος δεν υστέρησε στην αντιτρομοκρατική πάλη. Η πρόεδρός μας πάντα μπροστά με επιτροπή, υπόμνημα και διαβήματα στην Αρχιεπισκοπή, ακόμη και στους Γερμανούς ιθύνοντες όταν επρόκειτο να σώσουν από εκτελέσεις. Ακόμη και στις ενέργειες των Γερμανών που συλλαμβάνουν ομήρους οι αναφορές της Ζωής Μελά-Ιωαννίδου, γνωστού ήθους και απογόνου ιστορικής οικογενείας ενέπνεαν το σεβασμό και ήταν παντού δεκτές. Πήγαινε πάντα αυτή συνοδευόμενη από μία ή περισσότερες από τον Σύνδεσμο. Η Αγνή ήταν σε όλες τις δραστηριότητες του Συνδέσμου, πήγαινε στους φυλακισμένους και όπου χρειαζόταν η νομική και συμπαράσταση, καθώς και η Μαρία Φλαμπουριάρη, η οποία υπερασπιζόταν Έλληνες ατα Ιταλικά στρατοδικεία. Ο Σύνδεσμος εναρμονιζόταν με την αντίσταση όλου του λαού κατά των κατακτητών». ... «Ο Σύνδεσμος είχε γίνει η πηγή όλων των ενεργειών που βοηθούσαν την Ελληνίδα».

Στις 2 Μαρτίου 1944 ο Σύνδεσμος Ελληνίδων Επιστημόνων απευθύνει επιστολή «Προς τον εξοχώτατον Υπουργόν Θρησκευμάτων και Εθνικής Παιδείας» στην οποία εκφράζει την ανησυχία του για το

παρατεινόμενο από την αρχή του πολέμου κλείσιμο των σχολείων, πράγμα που όπως επισημαίνει δεν έγινε σε καμιά άλλη εμπόλεμη χώρα και ζητά:

- Να μην λειτουργήσουν αντί των σχολείων τα προτεινόμενα από το Υπουργείο φροντιστήρια, των οποίων την ευθύνη έχουν μερικοί καθηγητές, χωρίς τη συνεργασία του διδακτικού προσωπικού κάθε Γυμνασίου, γιατί δεν μπορούν να αναπληρώσουν τη συστηματική εργασία του σχολείου, τίθεται θέμα της αξιοπιστίας των προαγωγικών εξετάσεων και γιατί αρνούνται να δεχθούν άπορους μαθητές
- Να λειτουργήσουν συστηματικά τα σχολεία και γι' αυτό να μεταφερθούν οι βομβόπληκτοι σε καταλληλότερους χώρους
- Να στεγασθούν δύο ή περισσότερα σχολεία στο ίδιο κτίριο ή να γίνεται μάθημα σε εκκλησίες
- Να λειτουργήσουν την άνοιξη τα σχολεία στο ύπαιθρο, δεδομένων των ευνοϊκών καιρικών συνθηκών

Βιβλιογραφία

- Σύνδεσμος Ελληνίδων Επιστημόνων (ΣΕΕ) <https://el.wikipedia.org/>
- Ελένη Τροβά, Μαρία Φλαμπουριάρη: δικηγόρος Πειραιά στη δεκαετία του 20. Νομικά Νέα, Law Blog 11/2/2013. <http://justar-lawblog.blogspot.gr/2013/02/20.html>
- Άννα Ίασμη Βαλλιανάτου, Όμιλος «Αριστόβουλος Μάνεσης», «Υπόθεση Αγνής Ρουσοπούλου»: έμφυλες ιεραρχίες στην Ελλάδα του Μεσοπολέμου <http://www.constitutionalism.gr>
- Η Θέση της Γυναίκας στην Ελλάδα του Μεσοπολέμου. Ανιστόρητον, Τόμ. 10 (2013), αρ. 38. www.anistor.gr/greek/grback/ist2013_38_Anistoriton.pdf
- Άννα Ίασμη Βαλλιανάτου, Βήμα ιδεών, Υπόθεση Αγνής Ρουσοπούλου, 6/11/2010. http://www.vimaideon.gr/MS_58.html
- Οδός, Εβδομαδιαία εφημερίδα της Καστοριάς. http://odos-kastoria.blogspot.gr/2011/10/blog-post_02.html
- Ελληνικός Σύλλογος Μουσικοκινητικής Αγωγής Carl Orf. <http://www.orffesma.gr/index.php/el/articles-gr/biographies/12-matey>
- Βουλή των Ελλήνων. <http://www.hellenicparliament.gr/>
- Το ρετιρέ μιας πρωτοπόρου, Ινστιτούτο εκπαίδευσης και επιμόρφωσης μελών Τεχνικού Επιμελητηρίου Ελλάδος ΑΕ. 10/3/ 2014 <http://iekemtee.gr/el/>
- [Α. Γρηγοράτου, Α. Μελπίδου Η μαχητική και αποφασιστική Ζωή Μελά. 16^ο Ενημερωτικό Δελτίο ΕΕΚΧ-ΚΒ, Σεπτ. 2015.](#)

Το έργο της Ζωής Μελά-Ιωαννίδη παρουσιάστηκε στο Σύνδεσμο Ελληνίδων Επιστημόνων την Κυριακή 15/1/2017.

Η φωτεινότερη πανσέληνος

Στις 14 του περασμένου Νοέμβρη ήταν η μεγαλύτερη και φωτεινότερη πανσέληνος των τελευταίων 70 χρόνων. Η Σελήνη ακολουθώντας την ελλειπτική τροχιά της ήρθε πιο κοντά στη Γη και η πανσέληνος συνέπεσε με την περίγειο συζυγία.

<https://www.nasa.gov/feature/goddard/2016/novembers-spectacular-supermoon>

<http://www.space.com/34704-rare-supermoon-in-nov-2016-nasa-s-advice-on-how-to-watch-it-video.html>

Μετά από αυτό το μαγευτικό φεγγάρι που μας χάρισε ο νυχτερινός ουρανός, διαβάστε ή ακούστε τη σονάτα του σεληνόφωτος.

Δώρο για τον καινούργιο χρόνο που έρχεται, παραμυθια για το χρόνο που κυλά και την καρδιά που δεν γερνάει.

Η σονάτα του σεληνόφωτος

Γιάννης Ρίτσος (Μονεμβασιά 1909 - Αθήνα 1990)

Άνοιξιάτικο βράδι. Μεγάλο δωμάτιο παλιοῦ σπιτιοῦ. Μιά ηλικιωμένη γυναίκα ντυμένη στα μαῦρα μιλάει σ' ἕναν νέο. Δὲν ἔχουν ἀνάψει φῶς. Ἀπ' τὰ δυὸ παράθυρα μπαίνει ἕνα ἀμείλικτο φεγγαρόφωτο. Ξέχασα νὰ πῶ ὅτι ἡ γυναίκα μὲ τὰ μαῦρα ἔχει ἐκδώσει δυὸ-τρεῖς ἐνδιαφέρουσες ποιητικές συλλογές θρησκευτικῆς πνοῆς. Λοιπόν, ἡ Γυναίκα μὲ τὰ μαῦρα μιλάει στὸν νέο.

Ἄφησέ με νάρθῳ μαζί σου. Τί φεγγάρι ἀπόψε! Εἶναι καλὸ τὸ φεγγάρι, - δὲ θὰ φαίνεται ποὺ ἄσπρισαν τὰ μαλλιά μου. Τὸ φεγγάρι θὰ κάνει πάλι χρυσὰ τὰ μαλλιά μου. Δὲ θὰ καταλάβεις. Ἄφησέ με νάρθῳ μαζί σου.

Ὅταν ἔχει φεγγάρι, μεγαλώνουν οἱ σκιές μὲς στὸ σπίτι, ἀόρατα χέρια τραβοῦν τὶς κουρτίνες, ἕνα δάχτυλο ἀχνὸ γράφει στὴ σκόνη τοῦ πιάνου λησμονημένα λόγια - δὲ θέλω νὰ τ' ἀκούσω. Σώπα.

Ἄφησέ με νάρθῳ μαζί σου λίγο πιὸ κάτω, ὡς τὴ μάντρα τοῦ τουβλάδικου, ὡς ἐκεῖ ποὺ στρίβει ὁ δρόμος καὶ φαίνεται ἡ πολιτεία τιμμεντένια κι ἀέρινη, ἀσβεστωμένη μὲ φεγγαρόφωτο τόσο ἀδιάφορη κι ἄϋλη, τόσο θετική σὰν μεταφυσική ποὺ μπορεῖς ἐπιτέλους νὰ πιστέψεις πὼς ὑπάρχεις καὶ δὲν ὑπάρχεις πὼς ποτὲ δὲν ὑπῆρξες, δὲν ὑπῆρξε ὁ χρόνος κ' ἡ φθορά του. Ἄφησέ με νάρθῳ μαζί σου.

Θὰ καθίσουμε λίγο στο πεζούλι, πάνω στο ὕψωμα, κι ὅπως θὰ μᾶς φυσάει ὁ ἀνοιξιάτικος ἀέρας μπορεῖ νὰ φαντάζουμε κιόλας πὼς θὰ πετάξουμε, γιατί, πολλές φορές, καὶ τώρα ἀκόμη, ἀκούω τὸ θόρυβο τοῦ φουστάνιου μου, σὰν τὸ θόρυβο δυὸ δυνατῶν φτερῶν ποὺ ἀνοίγοκλείνουν, κι ὅταν κλείνεσαι μέσα σ' αὐτὸν τὸν ἦχο τοῦ πετάγματος νιώθεις κρουστό τὸ λαιμό σου, τὰ πλευρά σου, τὴ σάρκα σου, κι ἔτσι σφιγμένος μὲς στοὺς μυῶνες τοῦ γαλάζιου ἀγέρα, μέσα στὰ ρωμαλέα νεῦρα τοῦ ὕψους, δὲν ἔχει σημασία ἂν φεύγεις ἢ ἂν γυρίζεις οὔτε ἔχει σημασία ποὺ ἄσπρισαν τὰ μαλλιά μου, δὲν εἶναι τοῦτο ἡ λύπη μου - ἡ λύπη μου εἶναι ποὺ δὲν ἀσπρίζει κ' ἡ καρδιά μου. Ἄφησέ με νᾶρθω μαζί σου.

Τὸ ξέρω πὼς καθέννας μοναχὸς πορεύεται στὸν ἔρωτα, μοναχὸς στὴ δόξα καὶ στὸ θάνατο. Τὸ ξέρω. Τὸ δοκίμασα. Δὲν ὠφελεῖ. Ἄφησέ με νᾶρθω μαζί σου.

Φορὲς-φορὲς, τὴν ὥρα ποὺ βραδιάζει, ἔχω τὴν αἴσθηση πὼς ἔξω ἀπ' τὰ παράθυρα περνάει ὁ ἀρκουδιάρης μὲ τὴν γριά βαριά του ἀρκούδα μὲ τὸ μαλλί της ὅλο ἀγκάθια καὶ τριβόλια σηκώνοντας σκόνη στοὺς συνοικιακὸ δρόμο ἕνα ἔρημικὸ σύννεφο σκόνη ποὺ θυμιάζει τὸ σούρουπο καὶ τὰ παιδιά ἔχουν γυρίσει σπίτια τους γιὰ τὸ δεῖπνο καὶ δὲν τ' ἀφήνουν πιά νὰ βγοῦν ἔξω μ' ὅλο ποὺ πίσω ἀπ' τοὺς τοίχους μαντεύουν τὸ περπάτημα τῆς γριάς ἀρκούδας -κ' ἡ ἀρκούδα κουρασμένη πορεύεται μὲς στὴ σοφία τῆς μοναξιάς της, μὴν ξέροντας γιὰ ποῦ καὶ γιατί -ἔχει βαρύνει, δὲν μπορεῖ πιά νὰ χορεύει στὰ πισινά της πόδια δὲν μπορεῖ νὰ φοράει τὴ δαντελένια σκουφίτσα της νὰ διασκεδάζει τὰ παιδιά, τοὺς ἀργόσχολους τοὺς ἀπαιτητικὸς καὶ τὸ μόνο ποὺ θέλει εἶναι νὰ πλαγιάσει στὸ χῶμα ἀφήνοντας νὰ τὴν πατᾶνε στὴν κοιλιά, παίζοντας ἔτσι τὸ τελευταῖο παιχνίδι της, δείχνοντας τὴν τρομερὴ της δύναμη γιὰ παραίτηση, τὴν ἀνυπακοή της στὰ συμφέροντα τῶν ἄλλων, στοὺς κρίκους τῶν χειλιῶν της, στὴν ἀνάγκη τῶν δοντιῶν της, τὴν ἀνυπακοή της στὸν πόνο καὶ στὴ ζωὴ μὲ τὴ σίγουρη συμμαχία τοῦ θανάτου -ἔστω κ' ἑνὸς ἀργοῦ θανάτου- τὴν τελικὴ της ἀνυπακοή στὸ θάνατο μὲ τὴ συνέχεια καὶ τὴ γνώση τῆς ζωῆς ποὺ ἀνηφοραεῖ μὲ γνώση καὶ μὲ πράξη πάνω ἀπ' τὴ σκλαβιά της.

Μὰ ποιὸς μπορεῖ νὰ παίξει ὡς τὸ τέλος αὐτὸ τὸ παιχνίδι; Κ' ἡ ἀρκούδα σηκώνεται πάλι καὶ πορεύεται ὑπακούοντας στὸ λουρί της, στοὺς κρίκους της, στὰ δόντια της, χαμογελώντας μὲ τὰ σκισμένα χεῖλια της στὶς πενταροδεκάρες ποὺ τὶς ρίχνουνε τὰ ὠραῖα καὶ ἀνυποψίαστα παιδιά ὠραῖα ἀκριβῶς γιατί εἶναι ἀνυποψίαστα καὶ λέγοντας εὐχαριστῶ. Γιατί οἱ ἀρκοῦδες ποὺ γεράσανε τὸ μόνο ποὺ ἔμαθαν νὰ λένε εἶναι: εὐχαριστῶ, εὐχαριστῶ. Ἄφησέ με νᾶρθω μαζί σου.

Συχνὰ πετάγομαι στὸ φαρμακεῖο ἀπέναντι γιὰ καμιὰν ἀσπιρίνη ἄλλοτε πάλι βαριέμαι καὶ μένω μὲ τὸν πονοκέφαλό μου ν' ἀκούω μὲς στοὺς τοίχους τὸν κούφιο θόρυβο ποὺ κάνουν οἱ σωλῆνες τοῦ νεροῦ, ἢ ψὴνω ἕναν καφέ, καί, πάντα ἀφηρημένη, ξεχνιέμαι κ' ἐτοιμάζω δυὸ - ποιὸς νὰ τὸν πιεῖ τὸν ἄλλον;- ἀστεῖο ἀλήθεια, τὸν ἀφήνω στὸ περβάζι νὰ κρυώνει ἢ κάποτε πίνω καὶ τὸν δεύτερο, κοιτάζοντας ἀπ' τὸ παράθυρο τὸν πράσινο γλόμπο τοῦ φαρμακείου σὰν τὸ πράσινο φῶς ἑνὸς ἀθόρυβου τραίνου ποὺ ἔρχεται νὰ μὲ πάρει μὲ τὰ μαντίλια μου, τὰ σταβοπατημένα μου παπούτσια, τὴ μαύρη τσάντα μου, τὰ ποιήματά μου, χωρὶς καθόλου βαλίτσες - τί νὰ τὶς κάνεις; - Ἄφησέ με νᾶρθω μαζί σου.

«Α, φεύγεις; Καληνύχτα.» Ὅχι, δὲ θᾶρθω. Καληνύχτα. Ἐγὼ θὰ βγῶ σὲ λίγο. Εὐχαριστῶ. Γιατί ἐπιτέλους, πρέπει νὰ βγῶ ἀπ' αὐτὸ τὸ τσακισμένο σπίτι. Πρέπει νὰ δῶ λιγάκι πολιτεία, -ὄχι, ὄχι τὸ φεγγάρι - τὴν πολιτεία μὲ τὰ ροζιασμένα χέρια της,

τήν πολιτεία τοῦ μεροκάματου, τήν πολιτεία πού ὀρκίζεται στό ψωμί καί στή γροθιά της τήν πολιτεία πού ὄλους μας ἀντέχει στήν ράχη της μέ τις μικρότητές μας, τις κακίες, τις ἔχτρες μας, μέ τις φιλοδοξίες, τήν ἀγνοιά μας καί τὰ γερατειά μας,-ν' ἀκούσω τὰ μεγάλα βήματα τῆς πολιτείας, νὰ μὴν ἀκούω πιά τὰ βήματά σου μήτε τὰ βήματα τοῦ Θεοῦ, μήτε καί τὰ δικά μου βήματα. Καληνύχτα.

Τὸ δωμάτιο σκοτεινιάζει. Φαίνεται πὼς κάποιος σύννεφο θ'ἀκρῦβε τὸ φεγγάρι. Μονομιᾶς, σὰν κάποιος χέρι νὰ δυνάμωσε τὸ ραδιόφωνο τοῦ γειτονικοῦ μπάρ, ἀκούστηκε μία πολὺ γνώστη μουσικὴ φράση. Καί τότε κατάλαβα πὼς ὅλη τούτη τὴ σκηνὴ τὴ συνόδευε χαμηλόφωνα ἢ «Σονάτα τοῦ Σεληνόφωτος», μόνο τὸ πρῶτο μέρος. Ὁ νέος θὰ κατηφορίζει τώρα μ' ἓνα εἰρωνικὸ κ' ἴσως συμποντικὸ χαμόγελο στὰ καλογραμμένα χεῖλη του καί μ' ἓνα συναίσθημα ἀπελευθέρωσης. Ὅταν θὰ φτάσει ἀκριβῶς στὸν Ἄη-Νικόλα, πρὶν κατεβεῖ τὴ μαρμαρίνη σκάλα, θὰ γελάσει, -ἓνα γέλιο δυνατὸ, ἀσυγκράτητο. Τὸ γέλιο του δὲ θ' ἀκουστῆι καθόλου ἀνάρμοστα κάτω ἀπ' τὸ φεγγάρι. Ἴσως τὸ μόνο ἀνάρμοστο νᾶναι τὸ ὅτι δὲν εἶναι καθόλου ἀνάρμοστο. Σὲ λίγο, ὁ Νέος θὰ σωπάσει, θὰ σοβαρευτεῖ καί θὰ πεῖ «Ἡ παρακμὴ μιᾶς ἐποχῆς». Ἔτσι, ὀλότελα ἤσυχος πιά, θὰ ξεκουμπώσει πάλι τὸ πουκάμισό του καί θὰ τραβήξει τὸ δρόμο του. Ὅσο γιὰ τὴ γυναίκα μὲ τὰ μαῦρα, δὲν ξέρω ἂν βγῆκε τελικὰ ἀπ' τὸ σπίτι. Τὸ φεγγαρόφωτο λάμπει ξανά. Καί στὶς γωνιές τοῦ δωματίου οἱ σκιές σφίγγονται ἀπὸ μίαν ἀβάσταχτη μετάνοια, σχεδὸν ὀργή, ὄχι τόσο γιὰ τὴ ζωὴ ὅσο γιὰ τὴν ἄχρηστη ἐξομολόγηση. Ἀκοῦτε; τὸ ραδιόφωνο συνεχίζει.

Ἀθήνα, Ιούνιος 1956.

http://users.uoa.gr/~nektar/arts/tributes/giannhs_ritsos/h_sonata_toy_selhnofwtos.htm

<https://www.youtube.com/watch?v=V6d-G6ugBA>

Ἀπαγγέλλει ὁ ἴδιος ὁ ποιητὴς καὶ ἡ Μαρία Χαιρογιώργου - Σιγάρα (1921-2005) ἐρμηνεύει στὸ πιάνο τὸ Α' Μέρος (Adagio Sostenuto) τῆς Σονάτας τοῦ Σεληνόφωτος, ἔργο 27, αρ. 2, τοῦ Ludwig van Beethoven (1771-1827).

<https://www.youtube.com/watch?v=0l-7xJi4veQ>