

ΕΘΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ
Τομέας Δημόσιας Υγείας

ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ

ΑΠΟΛΟΤΙΣΜΟΣ ΕΡΓΟΥ ΕΤΟΥΣ 2014

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ

Δρ. ΤΖΩΡΤΖΙΝΑ ΤΖΑΝΑΚΑΚΗ

Επιστημονικοί Συνεργάτες: Δρ Κων/νος Κεσανόπουλος,
Δρ Αθανασία Ξηρογιάννη

Διοικητική υποστήριξη: Γιούλη Καζάνη

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το Κέντρο Αναφοράς ιδρύθηκε το 1989 και λειτουργεί από το 1993 στην Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας (ΕΣΔΥ) . Είναι μέλος της Ευρωπαϊκής Ένωσης Κέντρων Αναφοράς Μηνιγγίτιδας (European Monitoring Group for Meningococci (EMGM) και ως εκπρόσωπος Νοτίου και Ανατολικής Ευρώπης συμμετέχει ενεργά στο 7μελές διοικητικό του συμβούλιο. Από το Ιανουάριο 2014 το Κέντρο Αναφοράς είναι διαπιστευμένο εργαστήριο κατά ΕΛΟΤ EN ISO 15189 (Αρ. Πιστοποιητικού 902) (<http://www.esyd.gr/portal/p/esyd/el/showOrgInfo.jsp?id=149781>).

Σκοπός του είναι η διερεύνηση των αιτιολογικών παραγόντων που προκαλούν μηνιγγίτιδα (βακτηριακή ή ιογενή) όπως:

- *Neisseria meningitidis*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae type b*
- *Listeria monocytogenes*
- *Streptococcus spp.*,
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Haemophilus influenzae* (non b)
- *Staphylococcus aureus*

Αναλυτικότερα μελετάται:

- Η διερεύνηση των στελεχών *N.meningitidis* στον Ελληνικό πληθυσμό, καθώς επίσης και στον πληθυσμό των Βαλκανικών χωρών (Αλβανία, Βουλγαρία, Ρουμανία).
- Η επιδημιολογία της *N.meningitidis* (στελέχη, βιολογικά υλικά), ο έγκαιρος εντοπισμός εμφάνισης ή εισαγωγής νέων οροτύπων στην Ελλάδα.
- Η επιδημιολογία της μηνιγγίτιδας στην Ελλάδα ανά αιτία. Η μελέτη γίνεται με συμβατικές (καλλιέργεια, οροτυπία) και μοριακές τεχνικές όπως:

1. **μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR)** συμβατική για αναγνώριση της *Neisseria meningitidis* και για τις ορομάδες A,B,C,W-135 και Y

2. **Μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Real-time PCR)**

3. Μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (**multiplex PCR**) για την ταυτόχρονη ανίχνευση των μικροοργανισμών *Neisseria meningitidis*,

Streptococcus pneumoniae *Haemophilus influenzae* type *b* και *Listeria monocytogenes*.

4. Μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (**multiplex PCR**) για την ταυτόχρονη ανίχνευση των μικροοργανισμών *Streptococcus spp.*, (group **A** και **Group B**), *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* (non *b*) *Staphylococcus aureus*.

5. Μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (**multiplex PCR**) για την ταυτόχρονη τυποποίηση του μικροοργανισμού *Streptococcus pneumoniae* ως προς τους **17 κύριους οροτύπους** του (1, 3, 4, 6,14, 18, 19A, 19F, 23F, 9N/L, 17 F, 7A/f, 23B, 5, 10A, 9A/v 7C/B), εκ των οποίων οι 13 περιλαμβάνονται στο νέο 13δύναμο συζευγμένο εμβόλιο.

6. Μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (**multiplex PCR**) για την ταυτόχρονη τυποποίηση του μικροοργανισμού *H. influenzae* (ως προς τους **5 κύριους οροτύπους** του (a, c, d, e, f)

7. Εφαρμογή μοριακών τεχνικών για την τυποποίηση *Neisseria meningitidis* μέσω των:

- i) Τεχνική του προσδιορισμού της αλληλουχίας των βάσεων (**Multilocus Sequence Typing MLST**) (σε στελέχη)
- ii) Προσδιορισμός της γενετικής συγγένειας της *Neisseria meningitidis* μέσω της αλληλούχησης των μεταβλητών περιοχών του γονιδίου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη PorA (στελέχη, βιολογικά υλικά)
- iii) Προσδιορισμός της αλληλουχίας βάσεων του γονιδίου *fetA* (στελέχη, βιολογικά υλικά)
- iv) Τεχνική τυποποίησης της *Neisseria meningitidis* βασισμένη στην ομοιομορφία διαδοχικών επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών του γονιδιώματος (**Variable Number Tandem Repeats -VNTR**) για την μοριακή τυποποίηση *Neisseria meningitidis* (στελέχη, βιολογικά δείγματα)
- v) Τεχνική της *Neisseria meningitidis* βασισμένη στον τυχαίο πολλαπλασιασμό του πολυμορφισμού του DNA (**Random Amplification of Polymorphic DNA-RAPD**)

- Η συλλογή επιδημιολογικών στοιχείων για τα νέα εμβόλια.
- Η καταγραφή τάσεων αντοχής στα αντιβιοτικά των στελεχών

N. meningitidis

- Η ενημέρωση του πληθυσμού για την μηνιγγίτιδα με την έκδοση ενημερωτικών εντύπων για τα συμπτώματα, την αντιμετώπιση και πρόληψη της νόσου.

Το Κέντρο συνεργάζεται αρμονικά με όλα τα νοσοκομεία της χώρας για την συλλογή των απαραίτητων στοιχείων. Σήμερα στο Κέντρο αποστέλλονται δείγματα για ταυτοποίησης/ τυποποίηση από το 80-90% των κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ή και σηψαιμίας αλλά και βιολογικά υλικά από άλλες βακτηριακές λοιμώξεις όπως πνευμονίες, αρθρίτιδες και ωτίτιδες.

Από την θέση αυτή θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ευχαριστίες μας αρχικά στην Ηγεσία του ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ για την αμέριστη ηθική και οικονομική συμπαράσταση, το τμήμα Επιδημιολογικής Επιτήρησης και Παρέμβασης του ΚΕΕΛΠΝΟ για την ανταλλαγή επιδημιολογικών στοιχείων και τους γιατρούς (εργαστηριακούς και κλινικούς) όλων των νοσοκομείων της χώρας για την συνεργασία τους στην αποστολή δειγμάτων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	
A. ΔΗΛΩΘΕΝΤΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ	
<ul style="list-style-type: none"> • Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά αιτία 	6
<i>Neisseria meningitidis</i>	7
<ul style="list-style-type: none"> • Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση ανά ηλικία 	
<ul style="list-style-type: none"> • Δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση ανά μήνα 	10
<ul style="list-style-type: none"> • Μηνιαία κατανομή επίπτωσης μηνιγγίτιδας ανά αιτία 	10
<ul style="list-style-type: none"> • Μηνιαία κατανομή επίπτωσης μηνιγγιτιδοκόκκου ανά έτος 	11
<ul style="list-style-type: none"> • Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου 	12
<ul style="list-style-type: none"> • Θνητότητα ανά αιτία και μικροοργανισμό 	13
<ul style="list-style-type: none"> • Διαχρονικός πίνακας κρουσμάτων μηνιγγίτιδας 1993-2014 	16
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Μηνιγγίτιδα από <i>Streptococcus pneumoniae</i> 	17
<ul style="list-style-type: none"> • Αριθμός κρουσμάτων και επίπτωση <i>S. pneumoniae</i> ανά ηλικία 	18
B. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΜΕΝΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗΣ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ	19
<ul style="list-style-type: none"> • Τυποποίηση βιολογικών δειγμάτων ανά μικροοργανισμό 	19
<i>N. meningitidis</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Τυποποίηση ανά οροομάδα 	20
<ul style="list-style-type: none"> • Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά από κρούσματα 1993-2014 	21
<ul style="list-style-type: none"> • Αριθμός θανάτων και θνητότητα ανά οροομάδα 	22
<ul style="list-style-type: none"> • Κατανομή οροομάδων και επίπτωση κατά ηλικιακή ομάδα 	22
<ul style="list-style-type: none"> • Γονοτυπικά χαρακτηριστικά στελεχών <i>N. meningitidis</i> 	23
<ul style="list-style-type: none"> • Μοριακή ταυτοποίηση (MLST, <i>porA</i>, VNTR) 	24
<ul style="list-style-type: none"> • Εφαρμογή μοριακών τεχνικών σε περιπτώσεις επιδημίας/έξαρσης κρουσμάτων 	25
<ul style="list-style-type: none"> • Ευαισθησία των στελεχών στα αντιβιοτικά 	25
<i>S. pneumoniae</i>	28
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Μηνιγγίτιδα από S. pneumoniae</i> 	30
<ul style="list-style-type: none"> • Κατανομή οροτύπων <i>S. pneumoniae</i> 2014 	32
<ul style="list-style-type: none"> • Ορότυποι ανά ηλικία (2006-2014) 	32
<ul style="list-style-type: none"> • Πνευμονία από <i>S. pneumoniae</i> 	
<i>Βακτηριακές μηνιγγίτιδες άλλης αιτιολογίας</i>	36
<ul style="list-style-type: none"> • Κατανομή βακτηριακών μηνιγγιτιδών ανά μικροοργανισμό και ηλικιακή ομάδα 	
<i>Ιογενείς και λοιπές μηνιγγίτιδες</i>	37
<i>Δημοσιεύσεις/Διακρίσεις</i>	38

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ορισμοί: σύμφωνα με τους ορισμούς κατάταξης (ΚΕΕΛΠΝΟ-2004) τα κρούσματα μηνιγγίτιδας κατατάσσονται στις παρακάτω 3 κατηγορίες:

1. **Ενδεχόμενο:** κατατάσσεται το κρούσμα με συμβατή εικόνα μηνιγγίτιδας
2. **Πιθανό:** κατατάσσεται το κρούσμα με συμβατή εικόνα μηνιγγίτιδας και θετικό με ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω ευρήματα:
 - Χαρακτηριστικά ευρήματα στην γενική εξέταση του ΕΝΥ
 - Ανίχνευση αντιγόνου του υπεύθυνου μικροοργανισμού σε φυσιολογικά άσηπτο κλινικό δείγμα
 - Επιδημιολογική σύνδεση με επιβεβαιωμένο κρούσμα
3. **Επιβεβαιωμένο:** κρούσμα με συμβατή κλινική εικόνα το οποίο έχει επιβεβαιωθεί εργαστηριακά:
 - Με συμβατικές τεχνικές (καλλιέργεια)
 - Με μοριακές τεχνικές (PCR)

Τα επιδημιολογικά στοιχεία που παρατίθενται στο πρώτο μέρος του απολογισμού, αφορούν τα δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγίτιδας και των 3 κατηγοριών: **πιθανά, ενδεχόμενα** (σύμφωνα με τις δηλώσεις που εστάλησαν από τα νοσοκομεία στο ΚΕΕΛΠΝΟ) ή **επιβεβαιωμένα** (όπως επιβεβαιώθηκαν από το Κέντρο Αναφοράς Μηνιγγίτιδας ή τα μικροβιολογικά εργαστήρια των νοσοκομείων).

Σημαντικό είναι το γεγονός ότι όσον αφορά την μηνιγγίτιδα από *N. meningitidis*, και *S. pneumoniae*, ένα πολύ μεγάλο ποσοστό (92% και 79% για την *N. meningitidis*, και *S. pneumoniae*, αντίστοιχα), επιβεβαιώθηκε αποκλειστικά από το Κέντρο Αναφοράς με την χρήση μοριακών τεχνικών (PCR, porA κλπ). Επιπλέον, με μοριακές τεχνικές επιβεβαιώνεται και ένα μεγάλο ποσοστό βακτηριακών μηνιγγιτίδων άλλης αιτιολογίας περίπου 50-60% ανά έτος που μέχρι την εφαρμογή των μοριακών τεχνικών δεν ήταν δυνατή η ταυτοποίηση τους ως προς τα βακτήρια που την προκαλούσαν.

Α. ΔΗΛΩΘΕΝΤΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ :
Επιδημιολογικά στοιχεία

Κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2014, δηλώθηκαν συνολικά **706** κρούσματα μηνιγγίτιδας, από τα οποία **66** κρούσματα αφορούσαν την μηνιγγιτιδοκοκκική νόσο που αντιστοιχούν σε επίπτωση **0,59** / 100.000 κατ. και 40 κρούσματα μηνιγγίτιδας/σηψαιμίας από στρεπτόκοκκο της πνευμονίας που αντιστοιχεί σε επίπτωση 0,36/100 000 κατ (**πίνακας 1**).

Πίνακας 1: Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά μικροοργανισμό (έτος 2014)

Μικροοργανισμοί	Ιανουάριος-Δεκέμβριος 2014		
	Νο Κρουσμάτων	%	Επίπτωση/100,000
Μηνιγγιτιδόκοκκος	66	9,2	0.59
Πνευμονιόκοκκος	40	5,67	0.36
Αιμόφιλος τύπου β	4	0,56	0,04
Κρούσματα Μικροβιακής (άλλο βακτήριο)	150	21,27	1.35
<i>Επιβεβαιωμένα</i>			
• <i>Streptococcus spp</i> (group A&B)	23		
• <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2		
• <i>Haemophilus influenzae</i>	2		
• <i>Listeria monocytogenes</i>	10		
• <i>Staph. aureus</i>	12		
• <i>Acinetobacter baumani</i>	3		
• <i>Klebsiella pneumoniae</i>	2		
• Άλλα επιβεβαιωμένα	6		
Ιός	386	54,8	3.48
Αγνώστου αιτιολογίας	60	8,5	0.54
Σύνολο	706	100	6.36

Κρούσματα από *Neisseria meningitidis*

Παρατηρήθηκε μειωμένη επίπτωση (0,59/ 100 000) σε σχέση με το προηγούμενο έτος (2013, 0.61/100 000). Τα περισσότερα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου εμφανίστηκαν σε βρέφη και παιδιά ηλικίας έως 4 ετών (4,41/100 000) με επόμενη ηλικιακή ομάδα την ομάδα 15-19 (1,32/100 000), ελαφρά μειωμένη σε σχέση με τα προηγούμενα έτη (1.66 /100 000 κατ 2012&2013 αντίστοιχα).

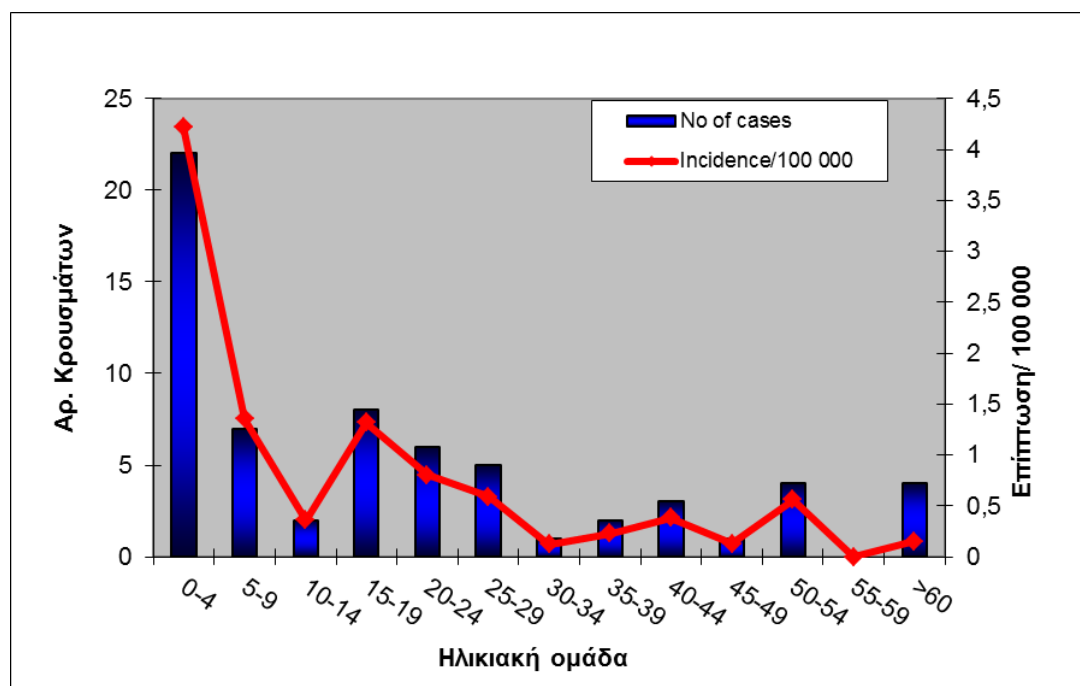
Ο αριθμός των δηλωθέντων κρουσμάτων και η επίπτωση κατά 5ετείς ομάδες ηλικίας φαίνονται στον **πίνακα 2** και στο **διάγραμμα 1**.

Πίνακας 2 : Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση κατά πενταετείς ομάδες ηλικίας / 100.000 κάτοικους κατά το έτος 2014

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ *	ΑΡ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ /100,000
0-4	521113	23	4,41
5-9	516872	7	1,35
10-14	557841	2	0,36
15-19	603948	8	1,32
20-24	749359	6	0,8
25-29	845178	5	0,59
30-34	865538	1	0,12
35-39	878355	2	0,23
40-44	797489	3	0,38
45-49	782173	1	0,13
50-54	715016	4	0,56
55-59	679735	0	0
>60	2591312	4	0,15
ΣΥΝΟΛΟ	11.103.929	66	0,59

** Πληθυσμός 30^{ης} Ιουνίου 2005

Διάγραμμα 1. Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση / 100.000 κατ ανά 5ετείς ομάδες ηλικίας (έτος 2014)



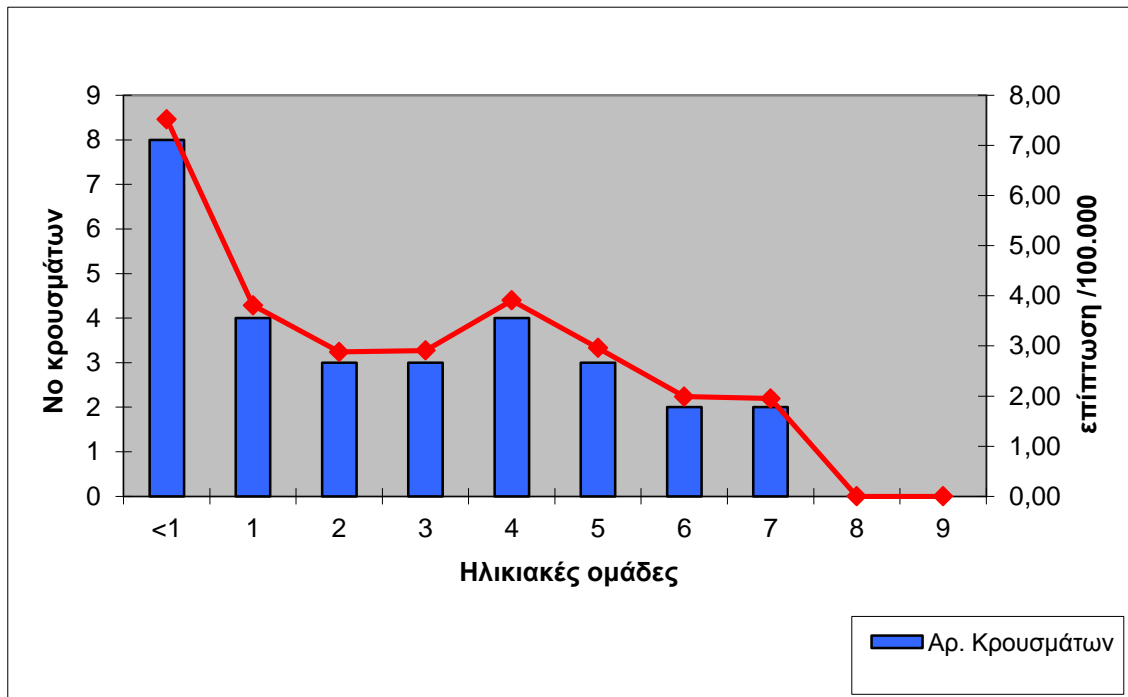
Από την ανάλυση των κρουσμάτων για την ηλικιακή ομάδα από 0-9 χρόνων φαίνεται ότι τα περισσότερα κρούσματα καταγράφηκαν στα βρέφη ηλικίας κάτω του 1 έτους (7.52/100 000) τα οποία παρέμειναν σταθερά (7,52/100 000 για το έτος 2013). (πίνακας 3, διάγραμμα 2).

Πίνακας 3 : Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση / 100.000 κάτοικους στην ηλικιακή ομάδα 0-9 χρόνων κατά το έτος 2014

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ *	ΑΡ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ /100000
<1	106388	8	7,52
1	105118	4	3,81
2	104135	3	2,88
3	103111	3	2,91
4	102361	5	4,88
5	101347	3	2,96
6	100312	2	1,99
7	102339	2	1,95
8	105220	0	0
9	107654	0	0
Σύνολο	1.037.985	30	2,88

* Πληθυσμός 30^{ης} Ιουνίου 2005

Διάγραμμα 2. Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση / 100.000 κατ. στην ηλικιακή ομάδα 0-9 χρόνων (έτος 2014)



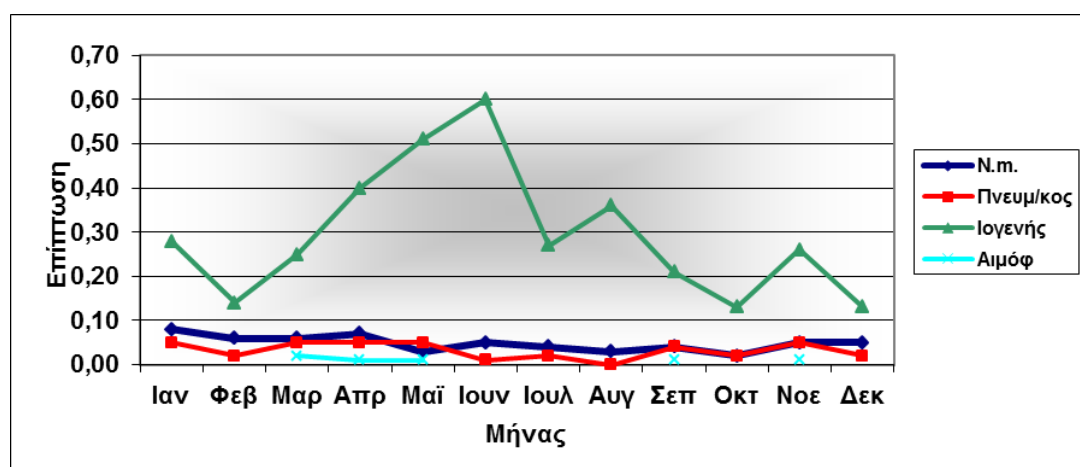
Εποχιακή κατανομή

Τα περισσότερα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου σημειώθηκαν κατά τους χειμερινούς και πρώτους εαρινούς μήνες με τα περισσότερα κρούσματα παρατηρούνται τον μήνα Ιανουάριο (πίνακας 4, διάγραμμα 3). Τα κρούσματα ιογενούς μηνιγγίτιδας σημειώθηκαν ως επί το πλείστον κατά τους εαρινούς και καλοκαιρινούς μήνες με τα περισσότερα κρούσματα να καταγράφονται τον μήνα Ιούνιο (Διάγραμμα 3).

Πίνακας 4: Δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση (ανά 100.000 κατ.) ανά μήνα κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2014.

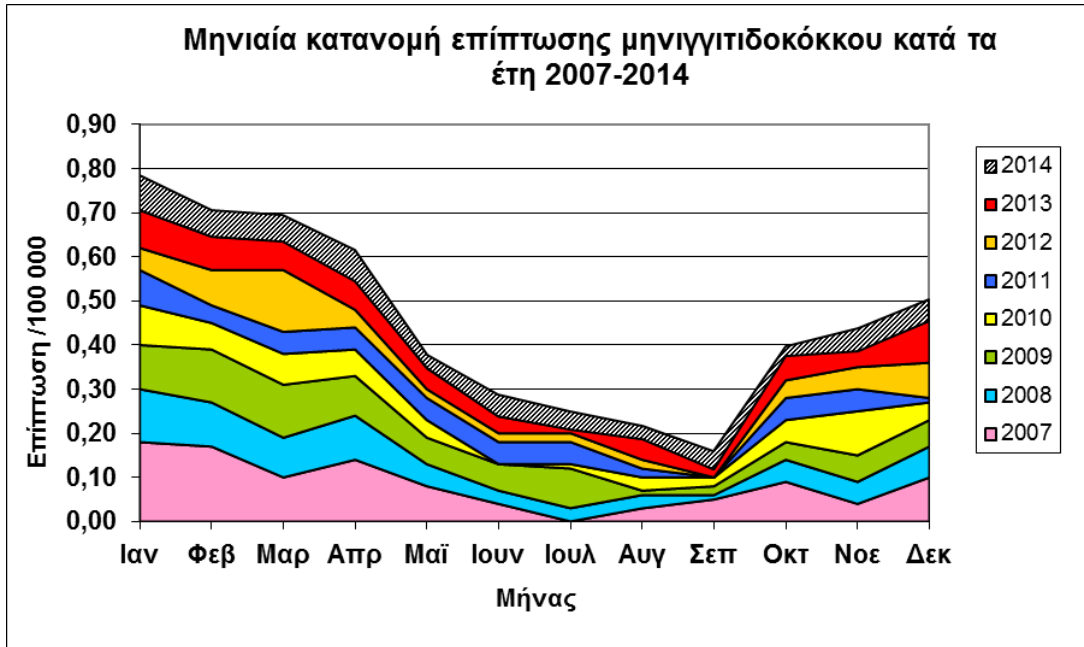
Μήνας	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ ΜΗΝ/ΚΟΚΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ
Ιανουάριος	10	0,08
Φεβρουάριος	7	0,06
Μάρτιος	7	0,06
Απρίλιος	8	0,07
Μάιος	3	0,03
Ιούνιος	6	0,05
Ιούλιος	4	0,04
Αύγουστος	3	0,03
Σεπτέμβριος	4	0,04
Οκτώβριος	2	0,02
Νοέμβριος	6	0,05
Δεκέμβριος	6	0,05
Σύνολο	66	0,59

Διάγραμμα 3. Μηνιαία κατανομή επίπτωσης δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτίδας ανά αιτία έτους 2014



Στο **διάγραμμα 4**, φαίνεται η μηνιαία κατανομή επίπτωσης της μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου κατά την τελευταία οκταετία (2007-2014).

Διάγραμμα 4.



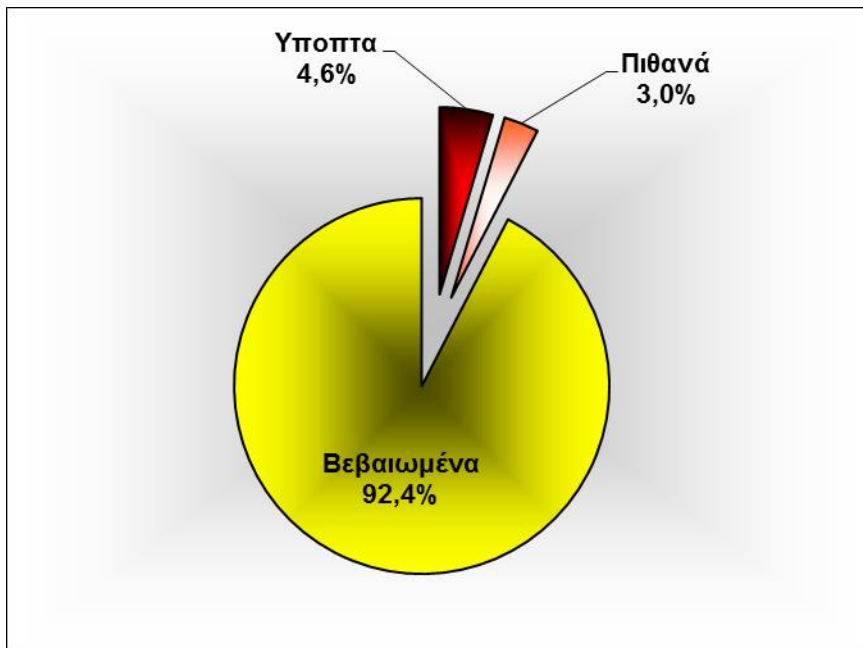
Κατάταξη των κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου

Τα δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου σύμφωνα με τους επιδημιολογικούς ορισμούς κατατάχθηκαν ως πιθανά ποσοστό **3.0%** και επιβεβαιωμένα ποσοστό **92,4%**, ενώ ποσοστό **4,6%** των παραπάνω κρουσμάτων κατάχθηκε στην κατηγορία των **ύποπτων κρουσμάτων** με βάση την κλινική εικόνα καθότι δεν εστάλησαν στο ΕΚΑΜ για περαιτέρω τυποποίηση/ταυτοποίηση (Πίνακας 5, Διάγραμμα 5).

Πίνακας 5: Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου

Διάγνωση	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2014	
	Αριθμός κρουσμάτων	%
Υποπτα	3	4,6
Πιθανά	2	3,0
Βεβαιωμένα	61	92,4
Σύνολο	66	100

Διάγραμμα 5. Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου



Στο υψηλό ποσοστό των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων βοήθησε σε ένα σημαντικά μεγάλο βαθμό η εφαρμογή της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR). Ιδιαίτερα βοήθησε η εφαρμογή μιας νέας τεχνολογίας της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης multiplex Fast PCR όπου μειώθηκε σημαντικά ο χρόνος επιβεβαίωσης των κρουσμάτων σε λιγότερο από 2 ώρες για 4 βακτήρια υπό διερεύνηση.

ΘΝΗΤΟΤΗΤΑ :

Η συνολική θνητότητα από μηνιγγίτιδα οιασδήποτε αιτιολογίας ανήλθε σε 1,41 (10 θάνατοι) η οποία ήταν μειωμένη συγκριτικά με το προηγούμενο έτος (2013) (2,21, 15 θάνατοι)

Σημαντική αύξηση της θνητότητας σε σχέση με το προηγούμενο έτος παρατηρήθηκε στα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου όπου ανήλθε 9,23 vs 7,35 (2013) (**Πίνακας 6**).

Επιπλέον παρατηρήθηκε αύξηση της θνητότητας από *S. pneumoniae* σε σχέση με το προηγούμενο έτος (**Πίνακας 6**)

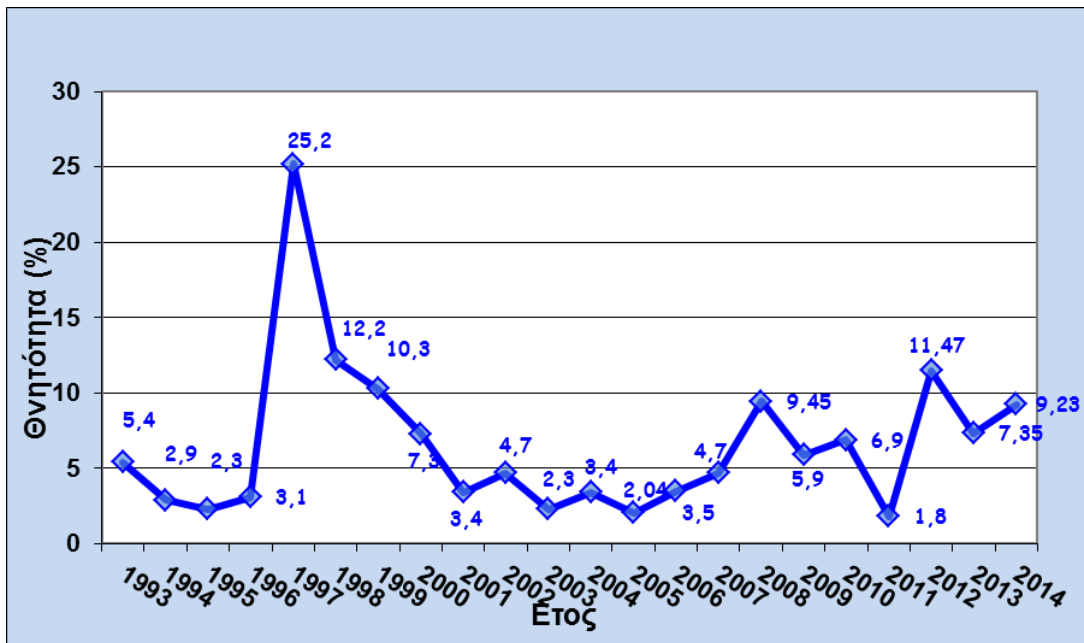
Πίνακας 6 : Αριθμός δηλωθέντων θανάτων μηνιγγίτιδας ανά μικροοργανισμό κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2014

Μικροοργανισμοί	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2014				
	Αριθμός κρουσμάτων	Αριθμός θανάτων	%	Θνητότητα 2014	Θνητότητα 2013
Μηνιγγιτιδόκοκκος	66	6	60,0	9,23	7,35
Πνευμονιόκοκκος	40	2	20,0	5,0	4,44
Αιμόφιλος b	4	0	0	0	0
Μικροβιακή (άλλο βακτήριο)	150	2	20,0	1,33	4,26
Ιός	386	0	0	0	0
Αγνώστου αιτιολογίας	60	0	0	0	2,12
Σύνολο	706	10	100	1,41	2,21

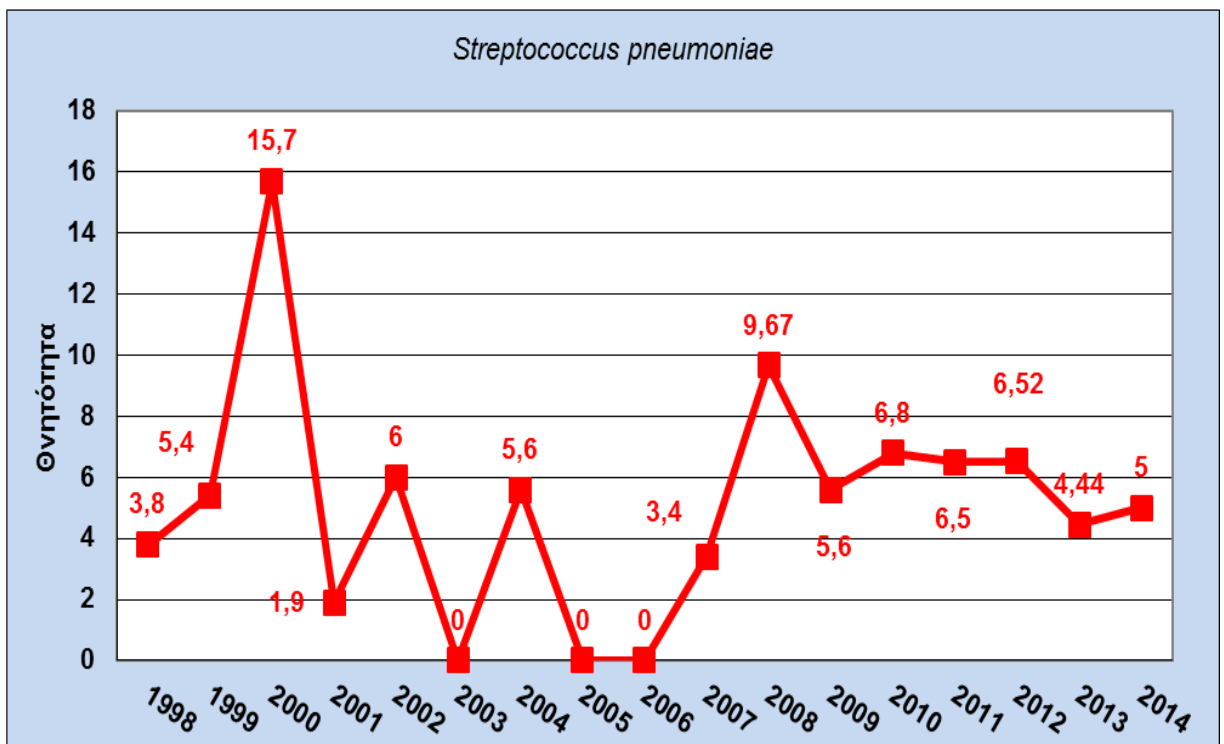
Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, 6 θανατηφόρα κρούσματα προκλήθηκαν από μηνιγγιτιδόκοκκο, 2 από πνευμονιόκοκκο, ενώ υπόλοιποι 2 θάνατοι προκλήθηκαν από μηνιγγίτιδα άλλης βακτηριακής αιτιολογίας (staph aureus 1 θάνατος) ενώ για το άλλο θανατηφόρο κρούσμα δεν απεστάλλησαν δείγματα το ΕΚΑΜ για περαιτέρω ταυτοποίηση/τυποποίηση του μικροοργανισμού.

Η θνητότητα από **μηνιγγιτιδόκοκκο** και **πνευμονιόκοκκο** των τελευταίων 20 ετών φαίνεται στα **διαγράμματα 6α και 6β**.

Διάγραμμα 6α. Θνητότητα μηνιγγοειδοκοκκικής νόσου (1993-2014)



Διάγραμμα 6β. Θνητότητα πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας (1998-2014)

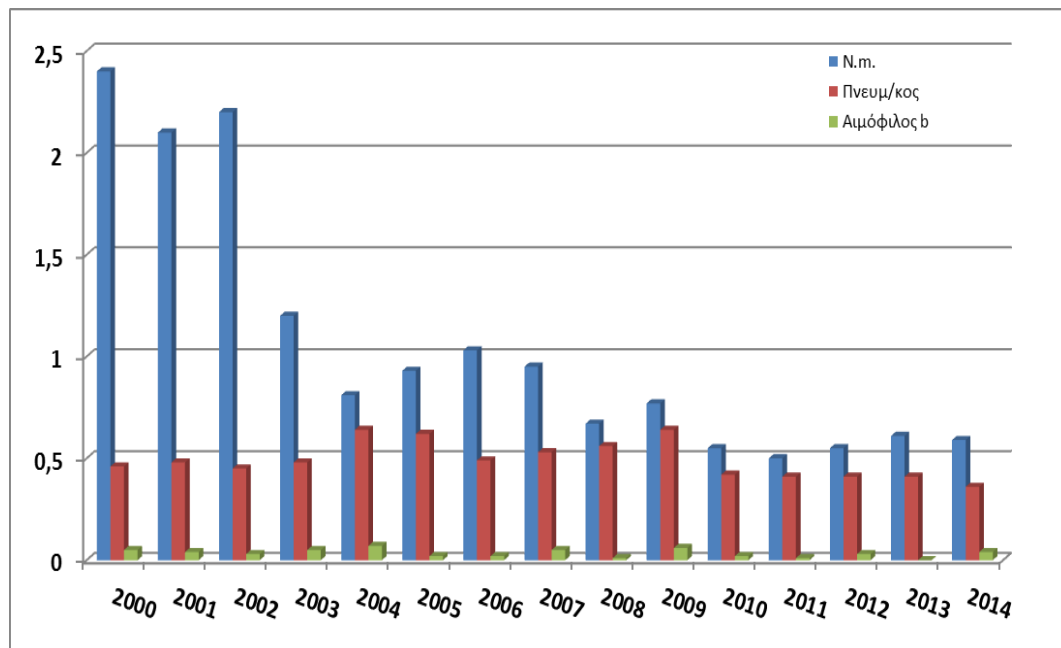


Διαχρονική πορεία δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας

Από τα επιδημιολογικά δεδομένα, φαίνεται ότι ο αριθμός των κρουσμάτων – ιδιαίτερα αυτά που προκαλούνται από *Neisseria meningitidis* – ενώ παρέμεινε σταθερός κατά την διετία 2001-2002, παρουσίασε μείωση κατά τα έτη 2003-2004, ενώ παρατηρήθηκε μικρή αύξηση των κρουσμάτων κατά την διετία 2005-2006. Κατά την διετία 2007-2009 παρατηρείται μείωση των κρουσμάτων αυτών με περαιτέρω μείωση κατά το χρονικό διάστημα 2010-2012. Μικρή αύξηση των κρουσμάτων παρατηρήθηκε το έτος 2013 ενώ μείωση παρατηρήθηκε το έτος 2014.

Όσον αφορά τα κρούσματα μηνιγγίτιδας από πνευμονιόκοκκο παρατηρήθηκε αύξηση κατά το χρονικό διάστημα 2000-2005 (51-69 κρούσματα), παρουσιάζοντας μικρή μείωση το έτος 2006 (55 κρούσματα) ενώ κατά την διετία 2007-2009 παρουσίασε μικρή αύξηση. Από το 2010, παρατηρείται μείωση των κρουσμάτων αριθμός ο οποίος παρέμεινε σταθερός μέχρι και το 2013 (45 ± 1 κρούσμα ετησίως) με περαιτέρω μείωση το έτος 2014 (**πίνακας 7, διάγραμμα 7**). Η επίπτωση/100 000 του αιμοφίλου της ινφλουένζας ομάδας b παραμένει σταθερά χαμηλή, με εξαίρεση το έτος 2009 όπου η επίπτωση ανήλθε σε 0,06 ανά 100 000.

Διάγραμμα 7. Δηλωθέντα κρούσματα βακτηριακής μηνιγγίτιδας ανά αιτία (2000-2014)



Πίνακας 7. Δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγίτιδας 1993- 2013

ΕΤΟΣ	Συνολο κρουσμάτων (επίπτωση)	N. meningitidis (επίπτωση)	Πνευμ/κος (επίπτωση)	Αιμοφίλος (επίπτωση)	Βακτηριακές μηνιγγίτιδες (άλλες)	Ιογενείς
1993	55 (0,5)	55 (0,5)	NA	NA	NA	NA
1994	70 (0,63)	70 (0,63)	NA	NA	NA	NA
1995	138 (1,25)	86 (0,78)	NA	2 (0,01)	34	16
1996	133 (1,21)	98 (0,89)	NA	0	20	15
1997	225 (2,0)	147 (1,34)	8 (0,07)	1 (0,009)	1	68
1998	393 (3,58)	262 (2,39)	26 (0,23)	5 (0,04)	38	62
1999	640 (5,8)	215 (1,9)	37 (0,33)	2 (0,01)	124	262
2000	855 (7,8)	261 (2,4)	51 (0,46)	6 (0,05)	131	406
2001	1429 (13,0)	234 (2,1)	53 (0,48)	5 (0,04)	125	984
2002	702 (6,4)	233 (2,2)	50 (0,45)	4 (0,03)	80	276
2003	518 (4,7)	131 (1,2)	53 (0,48)	6 (0,05)	102	188
2004	544 (4,9)	89 (0,81)	71 (0,64)	8 (0,07)	146	199
2005	641 (5,8)	98 (0,93)	69 (0,62)	3 (0,02)	185	232
2006	600 (5,4)	114 (1,03)	55 (0,49)	3 (0,02)	141	233
2007	1170 (10,54)	106 (0,95)	59 (0,53)	6 (0,05)	168	799
2008	715 (6,44)	74 (0,67)	62 (0,56)	1 (0,01)	166	356
2009	647 (5,83)	85 (0,77)	71 (0,64)	7 (0,06)	138	280
2010	531 (5,05)	58 (0,55)	44 (0,42)	2 (0,02)	134	216
2011	477 (4,03)	55 (0,50)	46 (0,41)	1 (0,01)	156	183
2012	618 (5,57)	61 (0,55)	46 (0,41)	3 (0,03)	168	294
2013	677 (6,1)	68 (0,61)	45 (0,41)	0	164	353
2014	706 (6,36)	66 (0,59)	40 (0,36)	4 (0,04)	150	386

Μηνιγγίτιδα από *Streptococcus pneumoniae*

Από τα 884 κρούσματα μηνιγγίτιδας από πνευμονιόκοκκο, που καταγράφησαν τα 12 τελευταία χρόνια, τα 433 (~50 %) αφορούσαν 2 ηλικιακές ομάδες: την ηλικιακή ομάδα <1-4 χρόνων σε ποσοστό 24,0% (212/884) και την ηλικιακή ομάδα άνω των 60 χρόνων (221/884, 25,0%). Τα υπόλοιπα 451 κρούσματα, κατανεμήθηκαν στις ηλικιακές ομάδες 5-59 (**Πίνακας 8**). Ο αριθμός των κρουσμάτων ανά έτος και η επίπτωση ανά ηλικιακή ομάδα φαίνονται στον **πίνακα 9** ενώ συνολικά τα κρούσματα και η επίπτωση στο **διάγραμμα 8**.

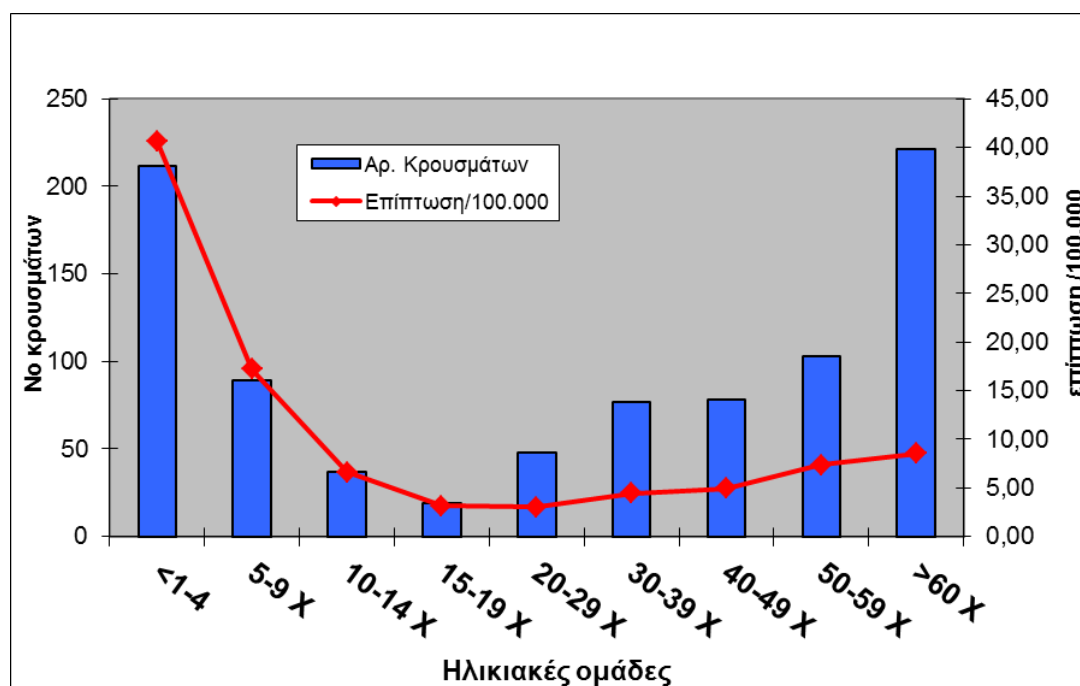
Πίνακας 8. Αριθμός κρουσμάτων πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας ανά ηλικία (2003-2014)

Ηλικιακή ομάδα	Νο κρουσμάτων	Ποσοστό (%)	Επίπτωση /100 000
<1-4	212	24,0	40.68
5-9	89	10,1	17.22
10-14	37	4,2	6.63
15-19	19	2,2	3.15
20-29	48	5,4	3.01
30-39	77	8,7	4.42
40-49	78	8,8	4.94
50-59	103	11,6	7.38
>60	221	25,0	8.53
ΣΥΝΟΛΟ	884	100	7,96

Πίνακας 9. Επίπτωση πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας σε σχέση με την ηλικία (2006-2014).

ΕΤΟΣ / Ηλικιακή ομάδα	No κρουσμάτων (επίπτωση ανά 100,000 κατ)									Σύνολο
	<1-4	5-9	10-14	15-19	20-29	30-39	40-49	50-59	>60	
2006	14 (2.69)	7 (1.16)	2 (0.27)	2 (0.24)	3 (0.17)	9 (0.66)	3 (0.21)	6 (0.045)	8 (0.33)	55 (0.5)
2007	16 (3.16)	12 (2.27)	5 (0.83)	2 (0.27)	4 (0.25)	2 (0.13)	2 (0.14)	7 (0.57)	9 (0.38)	59 (0.53)
2008	11 (2.11)	6 (1.16)	2 (0.36)	2 (0.33)	4 (0.25)	5 (0.29)	8 (0.51)	6 (0.43)	17 (0.66)	61 (0.55)
2009	8 1,54	9 1,74	4 0,72	2 0,33	3 0,37	7 0,80	5 0,64	10 1,43	23 0,89	71 (0,64)
2010	10 (1.98)	5 (0.95)	0	0	1 (0.12)	3 (0.38)	0	4 (0.63)	9 (0.38)	44 (0.42)
2011	9 (1,73)	3 (0,58)	4 (0,72)	1 (0,17)	2 (0,13)	7 (0,40)	4 (0,25)	6 (0,43)	10 (0,39)	46 (0,41)
2012	9 (1,73)	2 (0,39)	0 (0)	1 (0,17)	5 (0,31)	2 (0,11)	10 (0,63)	3 (0,22)	14 (0,54)	46 (0,41)
2013	11 (2,11)	2 (0,39)	1 (0,18)	0	2 (0,14)	2 (0,11)	5 (0,32)	7 (0,5)	15 (0,58)	45 (0,41)
2014	8 (1,54)	2 (0,39)	1 (0,18)	0	0	4 (0,23)	4 (0,25)	10 (0,72)	11 (0,42)	40 (0,36)

Διάγραμμα 8. Αριθμός κρουσμάτων και επίπτωση πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας ανά ηλικία (2003-2014)



Για το έτος 2014, από τα συνολικά 40 κρούσματα μηνιγγίτιδας από *S. pneumoniae*, τα περισσότερα (21/40, 52,5%) ανήκαν στην ηλικιακή ομάδα ασθενών >50 ετών. Ακολουθεί η ηλικιακή ομάδα <1-4 ετών (8/40, 20%), με επόμενη την ηλικιακή ομάδα ασθενών 30-49 ετών (8/40, 20%). Η επίπτωση και των τριών παραπάνω ομάδων είναι 0,57, 1,54 και 0,24 ανά 100 000 κατ αντίστοιχα.

B. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΜΕΝΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗΣ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ

Στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Μηνιγγίτιδας, εξετάστηκαν **συνολικά 891 δείγματα** κατά την διάρκεια του έτους 2014. Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν με συμβατικές και μοριακές τεχνικές 856 δείγματα βιολογικών υλικών (ΕΝΥ, αίμα πλευριτικά και αρθρικά υγρά κλπ). Επιπλέον, ταυτοποιήθηκαν 21 μηνιγγιτιδοκοκκικά στελέχη, 8 στελέχη *S. pneumoniae*, 1 στέλεχος *H. Influenzae*, 2 *Listeria monocytogenes*, και 3 στελέχη στρεπτοκόκκου (ομάδας B). Όλα τα παραπάνω προήλθαν από **716 ασθενείς (πίνακας 10)**.

Πίνακας 10. Εξετασθέντα δείγματα ανά μικροοργανισμό και προέλευση

Μικροοργανισμός	Νο Ασθενών	ΑΙΜΑ	ΕΝΥ	Άλλα βιολογικά υγρά	Στελέχη	ΣΥΝΟΛΟ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ
<i>N. meningitidis</i>	60	34	45	Αρθρικό=1	21	101
<i>S. pneumoniae</i>	49	20	17	Πλευριτικό υγρό=20 Άλλο =1	8	66
<i>H. Influenzae b</i>	2	0	2			2
Βακτηριακές μηνιγγ	126	37	104	πλευριτικό=13	3 strept 2 listeria 1 Hinf	160
Ιογενείς μηνιγγ	260	47	257			304
Αγνώστου αιτιολογίας	76	31	44	Πλευριτικό= 16		91
Εμπύρετα	143	78	82	πλευριτικό=6 άλλο =1		167
ΣΥΝΟΛΟ	716	247	551	58	35	891



Neisseria meningitidis

Από τα 891 δείγματα βιολογικών υλικών, επιβεβαιώθηκαν ως θετικά για *N. meningitidis* (με PCR) τα 101 δείγματα προερχόμενα από 60 ασθενείς με ύποπτη, πιθανή ή βεβαιωμένη κλινική εικόνα μηνιγγιτιδοκοκκικής μηνιγγίτιδας.

1. Φαινοτυπικά Χαρακτηριστικά-Οροομάδες

Από τα 21 μηνιγγιτιδοκοκκικά στελέχη τα οποία εστάλησαν, στα 17 υπήρξε η δυνατότητα αποστολής και βιολογικών υλικών -πριν την απομόνωση των στελεχών- και τα οποία επιβεβαίωσαν την διάγνωση της νόσου.

Ως προς την οροομάδα, ταυτοποιήθηκαν 57 κρούσματα. Στην οροομάδα B ανήκε ποσοστό 66.7 % (38/57), ενώ στις οροομάδες W-135 και Y τυποποιήθηκαν 2/57 (3,5%) από κάθε οροομάδα, αντίστοιχα. Επτά (7) κρούσματα τυποποιήθηκαν ως προς την οροομάδα C (12,3%) ενώ ένα μικρό ποσοστό 10,6% (6/57 ήταν μη τυποποιήσιμο ως προς τις οροομάδες (non-groupable, NG). Ένα στέλεχος ήταν οροομάδας A (1,7%) ενώ για πρώτη φορά τυποποιήθηκε 1 στέλεχος οροομάδας X (1.7%) (Πίνακας 11).

Πίνακας 11 : Ορολογική τυποποίηση μηνιγγιτιδοκόκκων κατά το έτος 2014 (με συμβατικές και μοριακές τεχνικές)

Οροομάδες	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2014	
	Αριθμός στελεχών/ βιολ. υλικών	%
A	1	1,7
B	38	66,7
C	7	12,3
W-135	2	3,5
Y	2	3,5
X	1	1,7
N.G.	6	10,6
Σύνολο	57	100

Παρατήρηση: 4 επιπλέον δείγματα επιβεβαιώθηκαν με καλλιέργεια σε περιφερειακά νοσοκομεία και δεν εστάλησαν στο ΕΚΑΜ για περαιτέρω τυποποίηση (οροομάδα, ορότυπος, υπότυπος).

Πίνακας 12. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά *N. meningitidis* που απομονώθηκαν στην Ελλάδα (1993 – 2014).

ΕΤΟΣ	Στελέχη /βιολ. (No)	Επικρατούντες φαινοτυπικοί χαρακτήρες- ΟΡΟΜΑΔΕΣ									
		B		C		A	W-135 και Y	NG			
		No	(%)	No	(%)	No	(%)	No	(%)		
1993	29	14	(48,3)	11	(37,3)	0	0	5	(17,2)		
1994	30	16	(53,3)	13	(43,4)	0	0	1	(3,4)		
1995	32	16	(50)	15	(46,9)	1	(3,1)	0	0		
1996	88	25	(28,4)	48	(54,5)	0	6	(6,8)	7	(7,9)	
1997	72	25	(34,7)	46	(63,9)	1	(1,4)	0	0		
1998	109	49	(44,9)	46	(42,2)	5	(4,6)	3	(2,8)	6	(5,5)
1999	127	70	(55,1)	29	(22,8)	6	(4,7)	3	(2,3)	19	(15,0)
2000	161	80	(49,6)	20	(12,4)	9	(5,6)	15	(9,3)	37	(23,0)
2001	158	69	(43,7)	14	(8,9)	31	(19,6)	11	(7,0)	33	(20,9)
2002	174	75	(43,1)	11	(6,3)	19	(10,9)	20	(11,5)	49	(28,1)
2003	101	53	(52,5)	2	(2,0)	17	(16,8)	6	(5,9)	23	(22,8)
2004	63	43	(68,2)	0	(0)	3	(4,8)	0	(0)	17	(27,0)
2005	80	54	(67,5)	3	(3,8)	4	(5,0)	2	(2,5)	17	(21,2)
2006	93	71	(76,34)	6	(6,45)	1	(1,07)	3	(3,22)	12	(12,9)
2007	86	66	(76,8)	7	(8,1)	0	1	(1,1)	12	(14,0)	
2008	64	54	(84,4)	5	(7,8)	3	(4,7)	0	2	(3,1)	
2009	71	46	(64,8)	2	(2,08)	0	2	(2,8)	21	(29,6)	
2010	46	40	(87,0)	1	(2,2)	0	0	5	(10,8)		
2011	39	35	(89,7)	2	(5,1)	1	(2,6)	0	1	(2,6)	
2012	53	46	(86,8)	0	1	(1,8)	4	(7,5)	2	(3,7)	
2013	50	43	(86,0)	2	(4,0)	0	3	(6,0)	2	(4,0)	
2014	57	38	(66,7)	7	(12,3)	1	(1,7)	4	(7,0)	6	(10,6)
							* 1 SG X(1,7%)				

Θνητότητα ανά οροομάδα

Η **θνητότητα** του μηνιγγιτιδοκόκκου ανήλθε στο 10,5 αυξημένη σε σχέση με το 2013 όπου η θνητότητα ανήλθε στο 7,35%. Από τα 6 συνολικά θανατηφόρα κρούσματα 5 εστάλησαν στο Κέντρο Αναφοράς για περαιτέρω τυποποίηση/ ταυτοποίηση ως προς την οροομάδα. **(πίνακας 13).**

Πίνακας 13. : Αριθμός θανάτων και θνητότητα ανά οροομάδα *N. meningitidis* (επί των βεβαιωμένων).

Οροομάδες	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2014			
	Αριθμός ασθενών	Αριθμός θανάτων	%	Θνητότητα
A	1	0		
B	38	3	7,9	5,3
C	7	2	28,6	3,5
W-135	2	0		
Y	2	0		
X	1			
N.GROUP	6	0		
Σύνολο	57	6		10,5

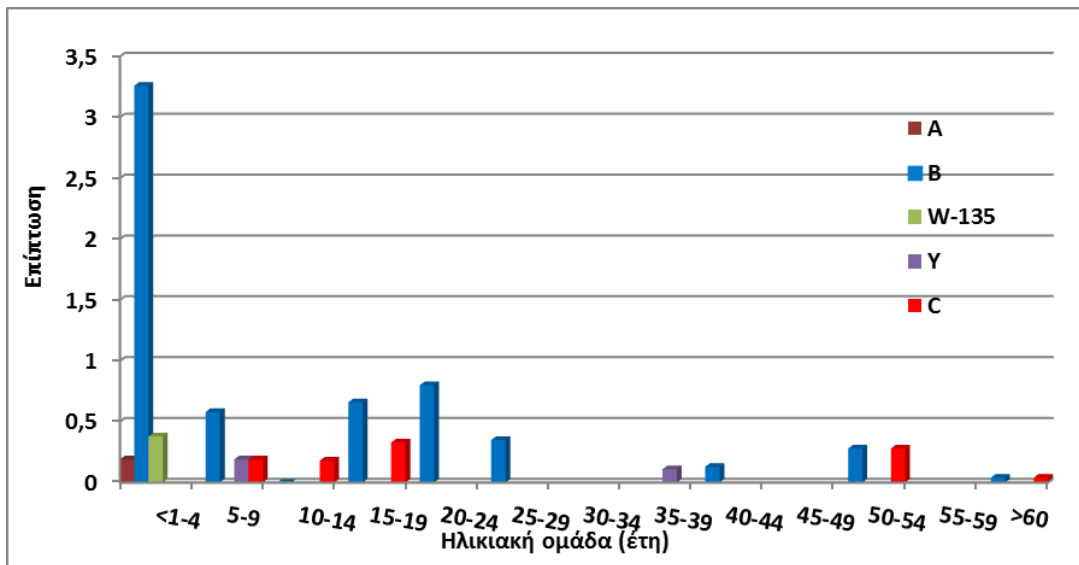
Στον **Πίνακα 14** και στο **διάγραμμα 9**, απεικονίζεται η επίπτωση / 100.000 κατοίκους των οροομάδων του μηνιγγιτιδοκόκκου ανά ηλικιακή ομάδα.

Πίνακας 14: Κατανομή σε οροομάδες (SG) του μηνιγγιτιδοκόκκου και επίπτωση (rate) ανά 100.000 κατοίκους κατά πενταετείς ηλικιακές ομάδες (Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2014)

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘ.	A	rate*	B	rate	C	rate	W	rate	Y	rate	NG	rate
0-4	521113	1	0,19	18	3,45			2	0,38			1	0,19
5-9	516872			3	0,58	1	0,19			1	0,19		
10-14	557841			0	0	1	0,18					1	0,18
15-19	603948			4	0,66	2	0,33					1	0,17
20-24	749359			6	0,8								
25-29	845178			3	0,35								
30-34	865538			0									
35-39	878355			0						1	0,11		
40-44	797489			1	0,13							1	0,13
45-49	782173			0								1	0,13
50-54	715016			2	0,28	2	0,28						
55-59	679735			0									
>60	2591312			1	0,04	1	0,04					1	0,04
ΣΥΝΟΛΟ	11103929	1	0,01	38	0,34	7	0,06	2	0,02	2	0,02	6	0,05

*rate: επίπτωση

Διάγραμμα 9. Επίπτωση ανά ηλικία και ορομάδα (ανά 100,000 κατ) της *N. meningitidis* κατά το έτος 2014.



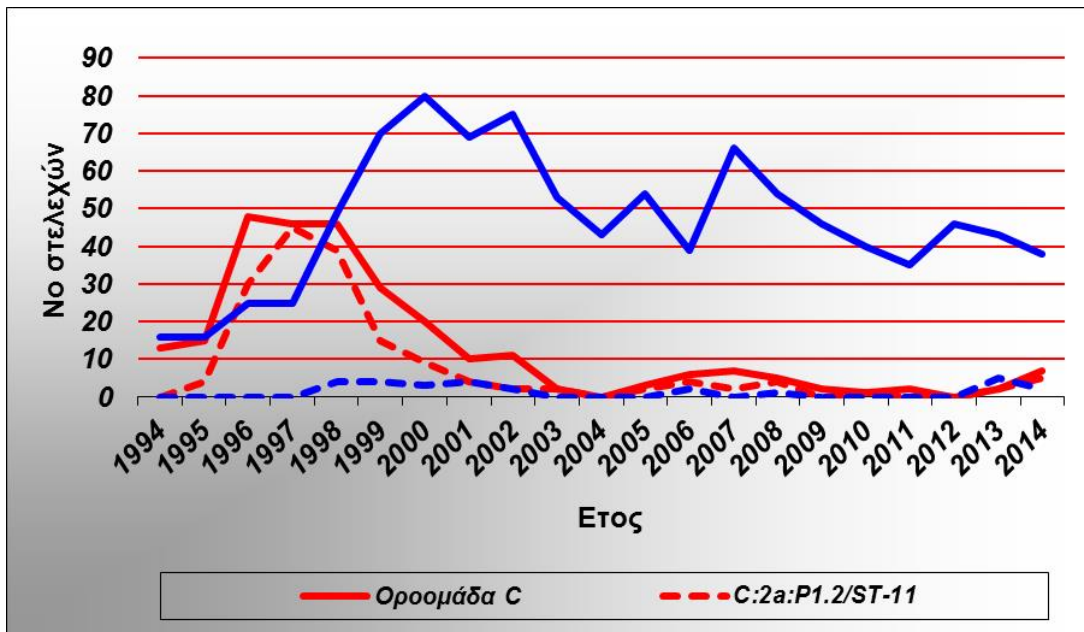
2. Γονοτυπικά χαρακτηριστικά

2.1. Προσδιορισμός της αλληλουχίας των βάσεων (Multilocus Sequence Typing – MLST).

Η γονιδιακή ανάλυση με την εφαρμογή της μοριακής τεχνικής του προσδιορισμού της αλληλουχίας των βάσεων (Multilocus Sequence Typing -MLST) η οποία εφαρμόζεται στο ΕΚΑΜ από το 1999 έδειξε ότι τα στελέχη με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά «επιδημικού κλώνου» (οροτύπου 2a και υποτύπου P1.2, ή P1.5) ανεξάρτητα από ορομάδα, ανήκουν στον ίδιο κλώνο (Sequence type 11).

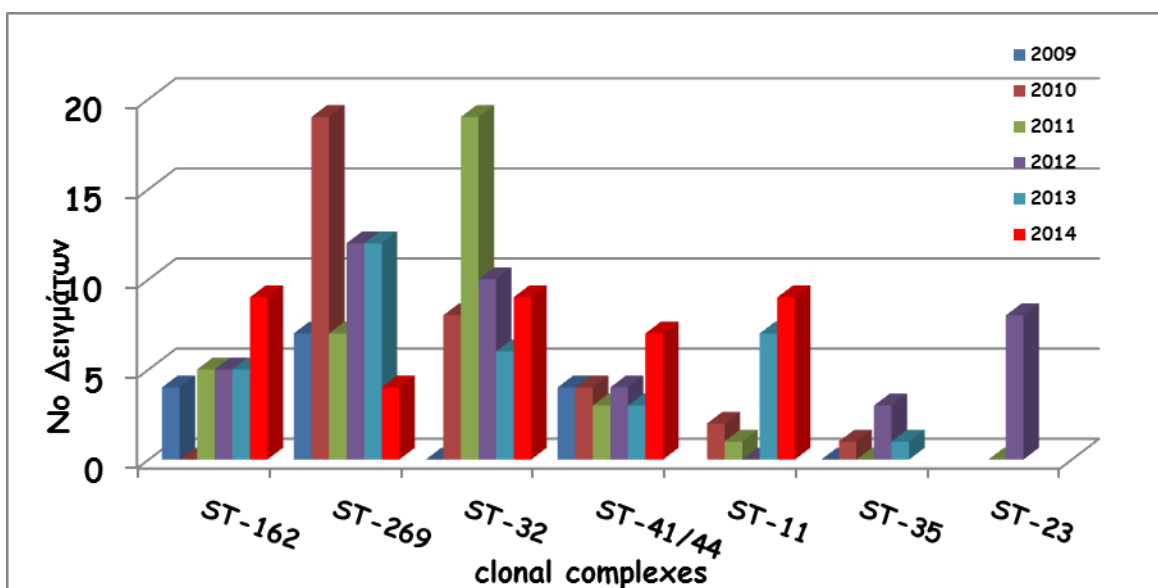
Τα τελευταία 2 έτη (2013/2014) εμφανίζεται ο συγκεκριμένος κλώνος ST-11 αυξημένος στην ορομάδα C (5/7, 71,4%). Αντίθετα, παρατηρήθηκε μείωση των κρουσμάτων από τον κλώνο -συγκριτικά με το έτος 2013- στην ορομάδα B (2/38, 5,3%) . (Διάγραμμα 10)

Διάγραμμα 10. Παρακολούθηση του επιδημικού κλώνου στην Ελλάδα (1993-2014).



Οι επικρατέστεροι κλώνοι ήταν οι : ST-162cc, ST-32cc και ST-11cc με επόμενο τον κλώνο ST-41/44 cc ενώ, παρόλο που ο κλώνος ST-269 cc ήταν ο επικρατέστερος τα 2 προηγούμενα έτη, παρουσίασε μείωση το τρέχον έτος (2014 φαίνεται ότι μειώθηκε). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι παρατηρείται περαιτέρω αύξηση του επιδημικού κλώνου ST-11 cc συνδεδεμένος περισσότερο με την οροομάδα C παρά με την οροομάδα B. (Διάγραμμα 11).

Διάγραμμα 11. Επικρατέστεροι Sequence Types (ST) στην Ελλάδα (2009-2014)



Προσδιορισμός γονοτυπικών χαρακτηριστικών με την μέθοδο της αλληλούχισης του γονιδίου *porA*.

Σκοπός της μοριακής τεχνικής είναι διερεύνηση της γενετικής συγγένειας ανάμεσα στα στελέχη ή βιολογικά υλικά θετικά για *N. meningitidis* η οποία βασίζεται στον προσδιορισμό των αλληλουχιών των 3 μεταβλητών περιοχών του γονιδίου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη *porA*. Βάση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν, το αλληλίο (allele) 22, 14 (n=12) το οποίο συνδέεται με το ST-162 cc και το 7 (7-2) 16 (n=12) επικρατεί στα στελέχη και τα βιολογικά υλικά θετικά για *N. meningitidis* ορομάδας B, ακολουθούμενο από το αλληλίο 5-1 10, 36 (n=11)(ST-11cc, ορομάδα C) για τις μεταβλητές περιοχές (VR) VR-1,VR- 2 αντίστοιχα.

Εφαρμογή των μοριακών τεχνικών για την τυποποίηση της *Neisseria meningitidis* σε περιπτώσεις εμφάνισης δύο ή περισσότερων κρουσμάτων στον ίδιο χώρο (σχολεία, παιδικοί σταθμοί κλπ)

Το Κέντρο Αναφοράς, με την εφαρμογή των παρακάτω μοριακών τεχνικών, μπορεί να αναγνωρίσει και να τυποποιήσει -σε στελέχη ή βιολογικά υλικά από ασθενείς κοινού περιβάλλοντος - τον κλώνο ο οποίος είναι υπεύθυνος για την επιδημία ή την έξαρση των κρουσμάτων σε σχολεία, παιδικούς σταθμούς κλπ.

1. Τεχνική του πολλαπλασιασμού μεταβλητού μεγέθους επαναλαμβανόμενων περιοχών του γονιδιώματος για τον φυλογενετικό συσχετισμό των στελεχών –βιολογικών υλικών (Variable Tandem Repeat Analysis- **VNTR**).
2. Τεχνική του τυχαίου πολλαπλασιασμού του πολυμορφισμού του DNA έτσι ώστε να καταδεικνύει την ομοιότητα μεταξύ των στελεχών (Random Amplification of Polymorphic DNA-**RAPD**).
3. Η τεχνική του προσδιορισμού των γονοτυπικών χαρακτηριστικών με την μέθοδο της αλληλούχισης του γονιδίου *porA* (***porA* sequencing typing**) και του γονιδίου *fetA* (***fetA* sequencing typing**)

4. Ευαισθησία στα αντιβιοτικά.

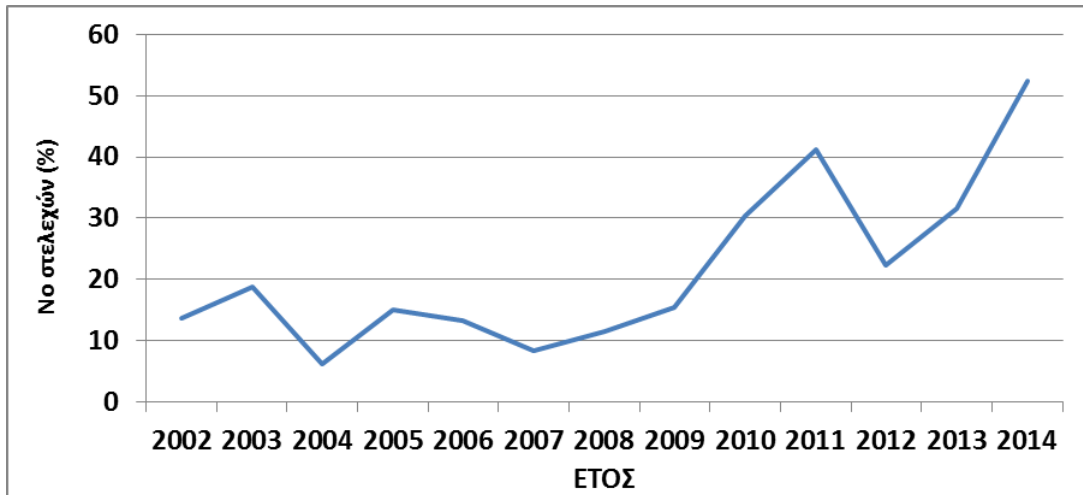
Η ευαισθησία των στελεχών στα αντιβιοτικά παρακολουθείται στενά μετά την εμφάνιση στελεχών ανθεκτικών στην πενικιλίνη και ριφαμπικίνη όπως έχουν ήδη εμφανιστεί στην Ισπανία τα τελευταία χρόνια.

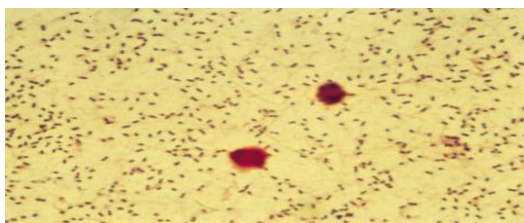
Σε όλα τα στελέχη εφαρμόζεται η μέθοδος της Ελάχιστης Ανασταλτικής Πυκνότητας (MIC) σε 8 αντιβιοτικά πρώτης επιλογής και χημειοπροφύλαξης. Ανθεκτικό στέλεχος στην πενικιλίνη ορίζεται κατά τους Vazquez και συν. όταν η τιμή της Ελάχιστης Ανασταλτικής Πυκνότητας είναι >1 mg/ml ενώ στελέχη με MIC ≥ 0.094 και < 1.0 mg/ml ορίζονται ως στελέχη μειωμένης ευαισθησίας στην πενικιλίνη.

Από τα αποτελέσματα προέκυψαν ότι 11 από τα 21 στελέχη (52,4%) είχαν μειωμένη ευαισθησία στην πενικιλίνη (MIC ≥ 0.094 mg/ml), ποσοστό αυξημένο σε σχέση με τα προηγούμενα έτος (31.6%) (Διάγραμμα 12).

Όλα τα στελέχη ήταν ευαίσθητα στα αντιβιοτικά : κεφακλόρη, κεφτριαξόνη, κiproφλοξακίνη, κεφοταξίμη, χλωραμφαινικόλη, τετρακυκλίνη, ριφαμπικίνη και ερυθρομυκίνη.

Διάγραμμα 12. Διαχρονική πορεία της μειωμένης ευαισθησίας στην πενικιλίνη των στελεχών *N. meningitidis* κατά το χρονικό διάστημα 2002-2014.





Streptococcus pneumoniae

Η αύξηση των κρούσμάτων μηνιγγίτιδας από *S. pneumoniae* οδήγησε το Κέντρο Αναφοράς αρχικά στην μοριακή ταυτοποίηση των κλινικών δειγμάτων με πιθανή εικόνα βακτηριακής μηνιγγίτιδας ως προς το βακτήριο αυτό. Από τα 61 κρούσματα **πνευμονιοκόκκου** (40 μηνιγγίτιδες και 21 πνευμονίες) αποστάλθηκαν στο Κέντρο Αναφοράς τα **28 κρούσματα μηνιγγίτιδας** και τα **21 κρούσματα πνευμονίας** τα οποία και επιβεβαιώθηκαν (με PCR).

Επιπλέον, έγινε η μοριακή τους τυποποίηση ως προς τους 17 συχνότερους ορότυπους, δεδομένου ότι οι 13 ορότυποι περιλαμβάνονται στο 13δύναμο συζευγμένο εμβόλιο και είναι σημαντική η επιδημιολογική διερεύνηση και παρακολούθηση της τάσης των οροτύπων που επικρατούν μετά τον εμβολιασμό. Στον **πίνακα 16** φαίνονται οι επικρατέστεροι ορότυποι του πνευμονιοκόκκου κατά το έτος 2014.

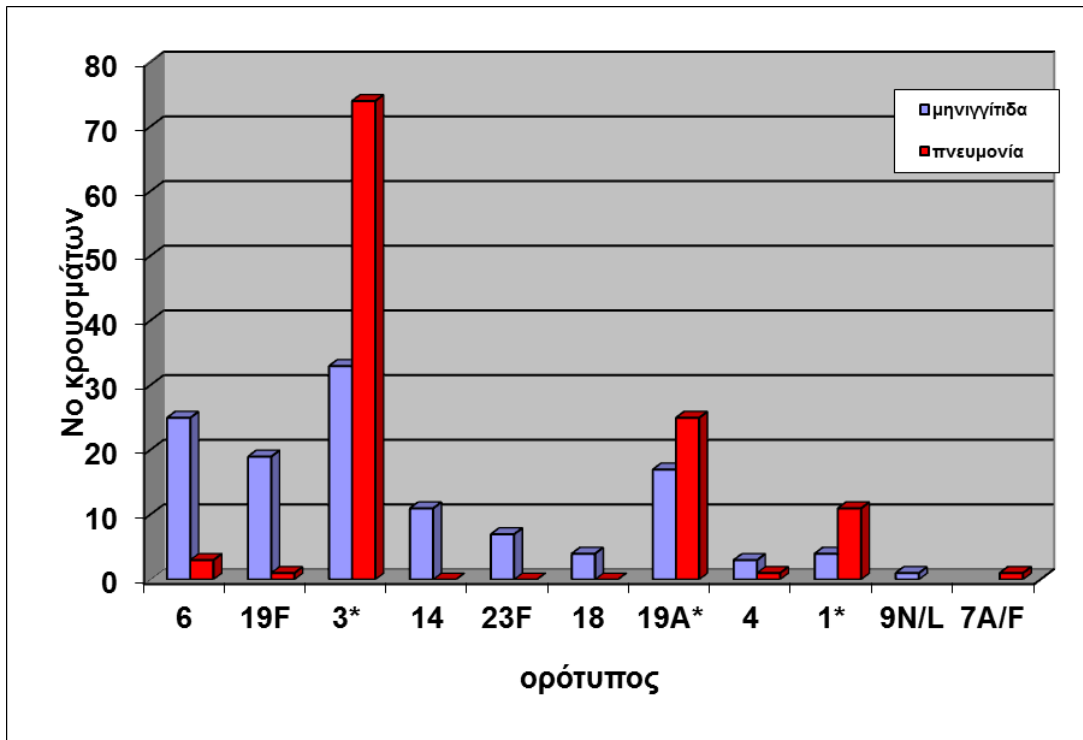
Πίνακας 16. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν Μηνιγγίτιδα/πνευμονία κατά το έτος 2014.

Ορότυπος	Μηνιγγίτιδες (%)	Πνευμονίες (%)	ΣΥΝΟΛΟ (%)
6			
19F			
3	4	14.3	15
14			
23 F			
18	1	3.6	1 (2.1)
19A	2	7.1	2 (4.0)
4			
1			
23A			
9N/L	1	3.6	1 (2.1)
7A/F			1 (2.1)
Άλλοι ορότυποι	20	71.4	25 (51.0)
ΣΥΝΟΛΟ	28	100	21
			100
			49 (100)

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι οι επικρατέστεροι ορότυποι που προκαλούν μηνιγγίτιδα και πνευμονία επί του συνόλου για το έτος 2014 είναι ο ορότυπος **3** (38.7%), σε μικρότερο ποσοστό ακολουθεί ο **19A (4.0%) (πίνακας 16)**. Όσον αφορά τα κρούσματα μηνιγγίτιδας από πνευμονιοκόκκο παρατηρείται αύξηση του οροτύπου 3 συγκριτικά το έτος 2013 (14.3 vs 9,1) .

Από τα συνολικά δεδομένα της 7ετίας (2006-2013) φαίνεται ότι μηνιγγίτιδα προκαλούν μία πληθώρα οροτύπων ενώ αντίθετα, στις πνευμονίες επικρατούν οι ορότυποι 3, 19Α (**Διάγραμμα 13**).

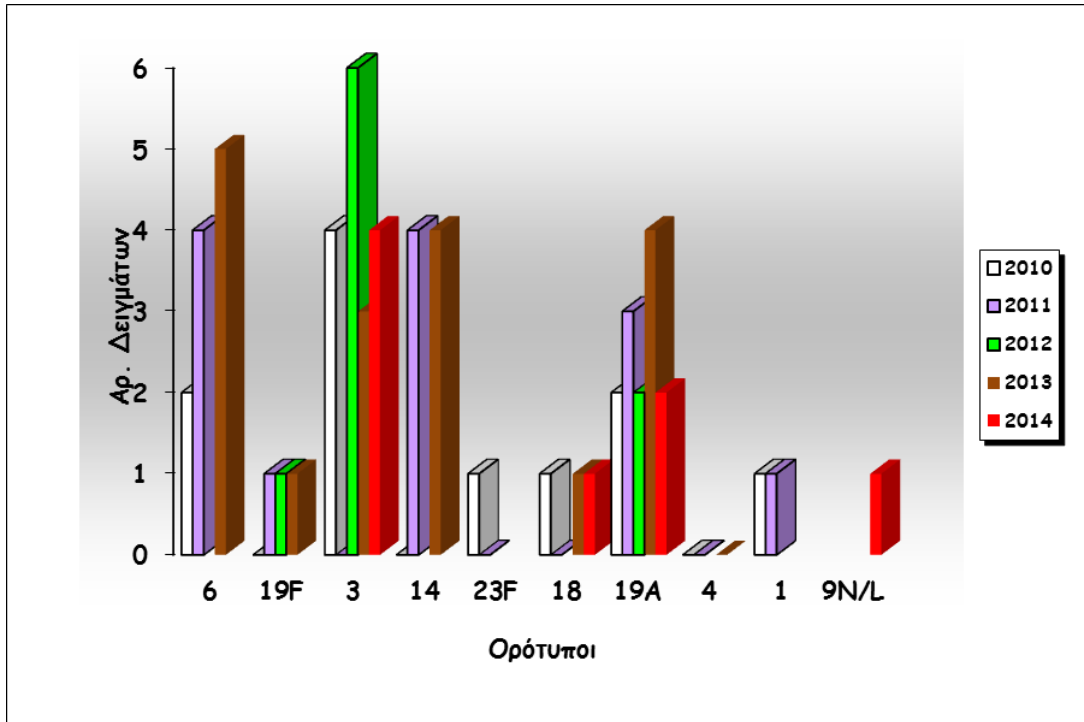
Διάγραμμα 13. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν μηνιγγίτιδα και πνευμονία (2006-2014).



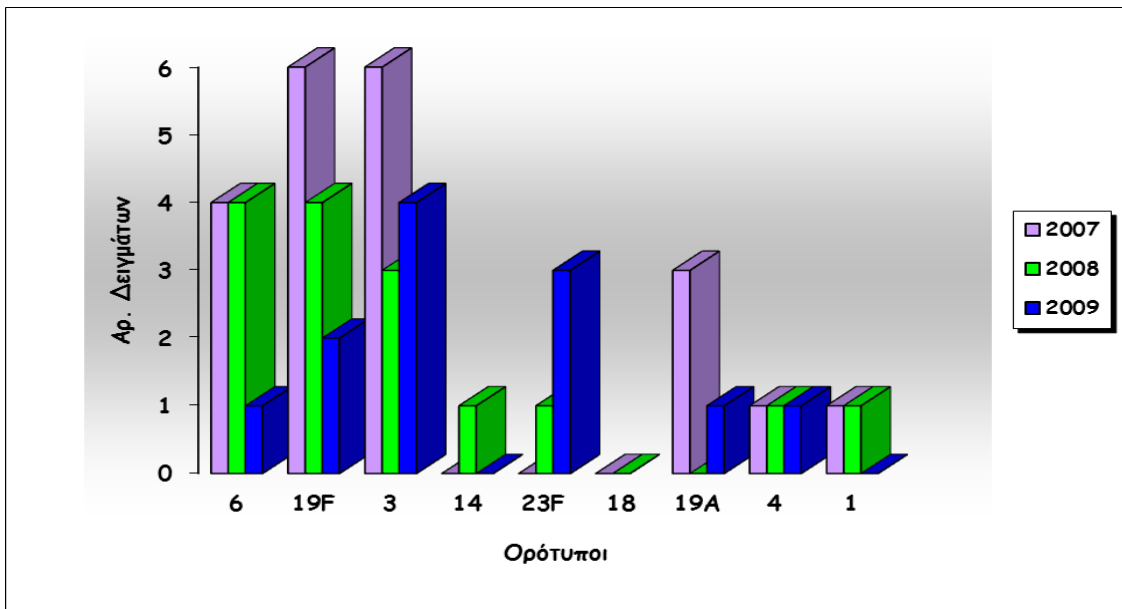
Μηνιγγίτιδα από *S. pneumoniae*

Αναλυτικότερα, για τις **μηνιγγίτιδες** που προκαλούνται από πνευμονιόκοκο, επί του συνόλου των 28 δειγμάτων, τυποποιήθηκαν ως προς τον ορότυπο ποσοστό 28,6% (8/28). Ο επικρατέστερος ορότυπος ήταν ο 3 σε ποσοστό **14,3%**. Οι τάσεις των οροτύπων του πνευμονιοκόκκου φαίνονται στα **διαγράμματα 14** και **15** για τα χρονικά διαστήματα 2010-2014 και 2007-2009 αντίστοιχα.

Διάγραμμα 14. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν μηνιγγίτιδα στην Ελλάδα την τελευταία 4ετία (2010-2014).



Διάγραμμα 15. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούσαν μηνιγγίτιδα στην Ελλάδα κατά την τριετία 2007-2009.

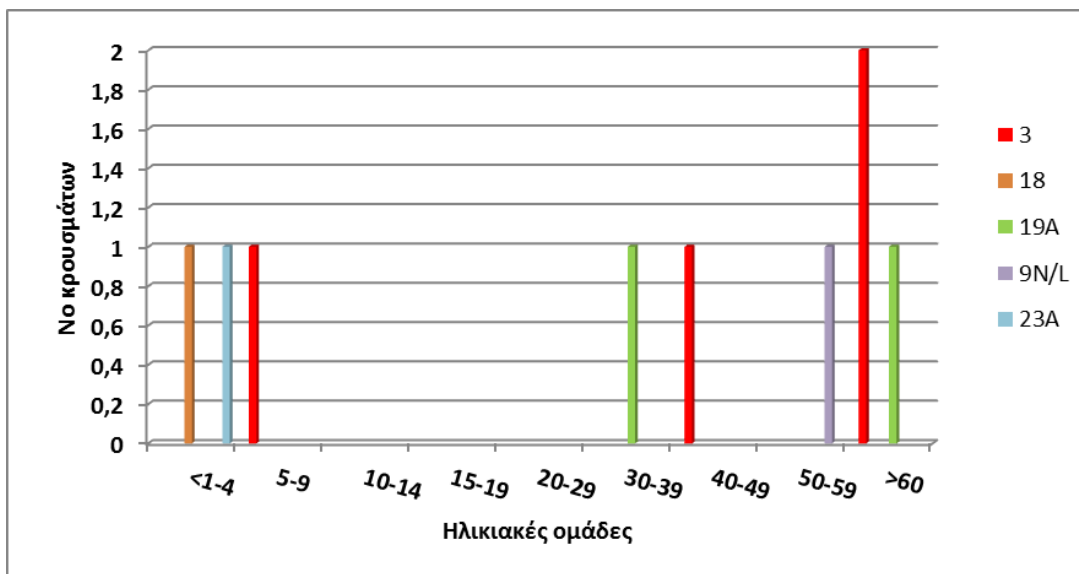


Ανάλυση των οροτύπων σε σχέση με την ηλικία για το έτος 2014 προκύπτει ότι ο **ορότυπος 3** επικρατεί πλέον στις ηλικιακές ομάδες >40 ετών (πίνακας 17, διάγραμμα 16).

Πίνακας 17. Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν μηνιγγίτιδα ανά ηλικία μηνιγγίτιδα (Ιανουάριος-Δεκέμβριος 2014).

ΟΜΑΔΑ (έτη) /Ορότυπος	1*	3*	18	19A*	9N/L	23A	NT
<1-4			1			1	5
5-9		1					1
10-14							1
15-19							
20-29							
30-39				1			1
40-49		1					1
50-59					1		5
>60		2		1			5
ΣΥΝΟΛΟ		4	1	2	1	1	19

Διάγραμμα 16: Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν μηνιγγίτιδα (επί των θετικών για ορότυπο δειγμάτων) ανά ηλικία (Ιανουάριος- Δεκέμβριος 2014).

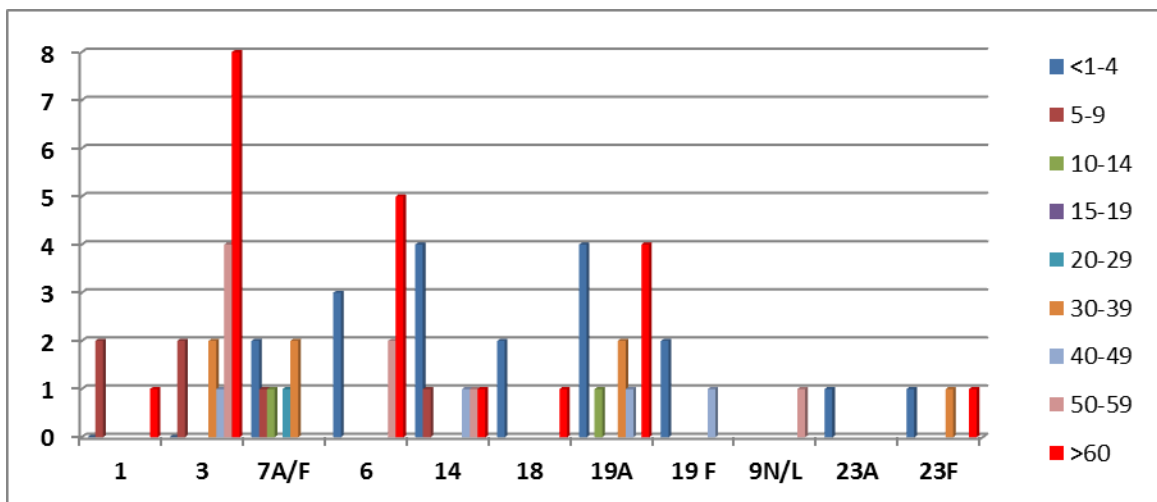


Ανάλυση των οροτύπων σε σχέση με την ηλικία κατά την πενταετία 2010-2014, προκύπτει ότι οι **ορότυποι: 6** (περισσότερο στους ενήλικες >30 ετών), **19A** (ηλικίες <1-9 και >20 ετών) και **3** (ως επί το πλείστον στους ενήλικες >30 ετών) είναι οι επικρατέστεροι (πίνακας 18, διάγραμμα 17).

Πίνακας 18: Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν μηνιγγίτιδα ανά ηλικία (2010-2014).

ΟΜΑΔΑ (έτη) /Ορότυπος	1*	3*	7A/F	6	14	18	19A*	19 F	23F	NT
<1-4			2	3	4	2	4	2	1	22
5-9	2	2	1		1					4
10-14			1				1			2
15-19										1
20-29			1							6
30-39		2	2				2		1	2
40-49		1			1		1	1		10
50-59		4		2	1					10
>60	1	8		5	1	1	4		1	21
ΣΥΝΟΛΟ	3	17	7	10	8	3	12	3	3	78

Διάγραμμα 17: Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν μηνιγγίτιδα ανά ηλικία (2010-2014).



Πνευμονία από *S. pneumoniae*

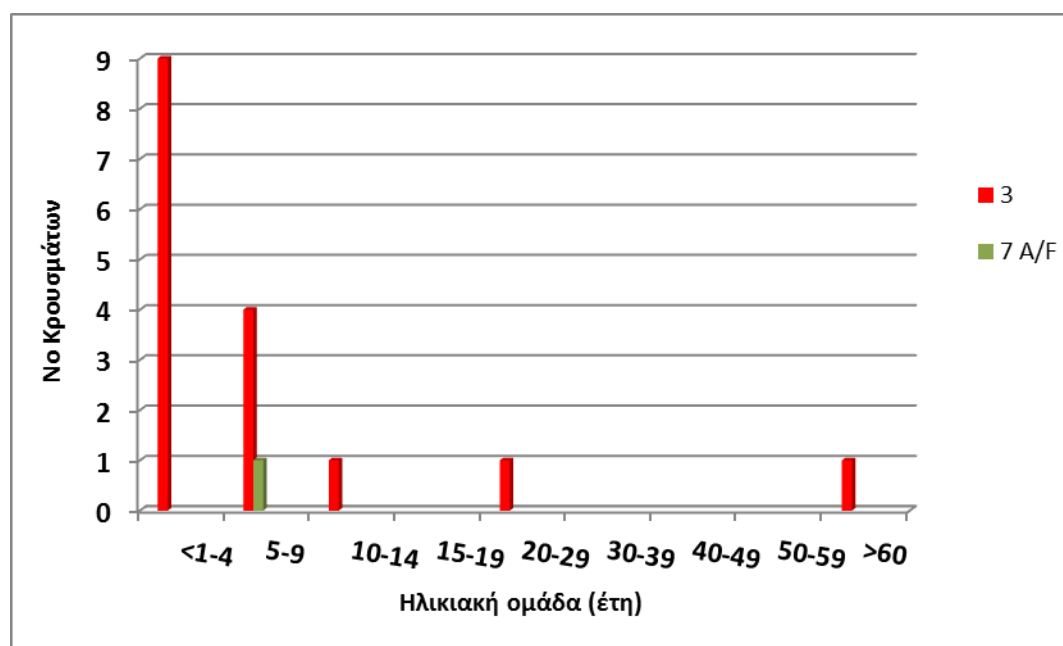
Όσον αφορά τις *πνευμονίες* επί του συνόλου των 21 δειγμάτων, ποσοστό 80,1% τυποποιήθηκε ως προς τον ορότυπο (17/21). Από αυτά, ποσοστό 76,2% (16/21) ανήκε στον ορότυπο 3. (Πίνακας 19).

Ανάλυση των κρουσμάτων ανά ηλικία, παρατηρείται ότι τα περισσότερα περιστατικά σημειώθηκαν στις ηλικίες <1-4 και 5-9 ετών, όπου ο ορότυπος 3 ήταν ο επικρατέστερος στις ηλικίες αυτές (πίνακας 19, διάγραμμα 18)

Πίνακας 19: Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν πνευμονία ανά ηλικία (Ιανουάριος-Δεκέμβριος 2014)

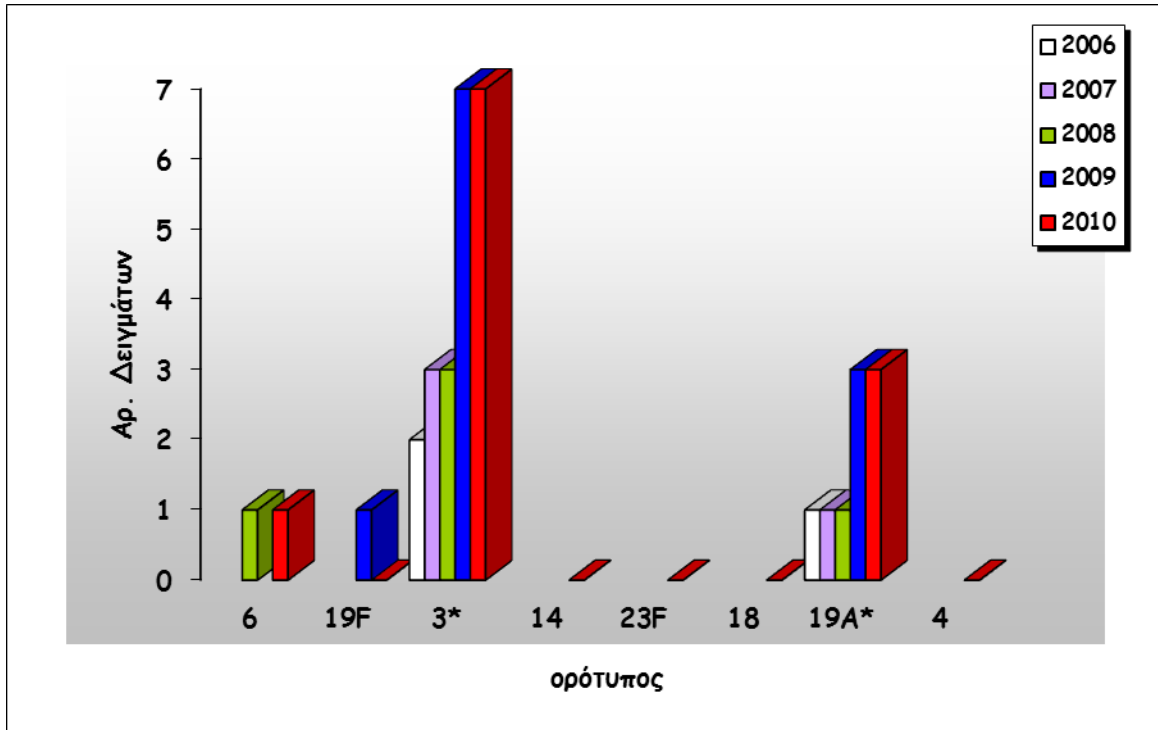
ΟΜΑΔΑ (έτη) /Ορότυπος	1	3	7 A/F	NT	ΣΥΝΟΛΟ
<1-4		9		1	10
5-9		4	1	1	6
10-14		1		1	2
15-19				1	1
20-29		1			1
30-39					
40-49					
50-59					
>60		1			1
ΣΥΝΟΛΟ		16	1	4	21

Διάγραμμα 18. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν πνευμονία στην Ελλάδα (Ιανουάριος- Δεκέμβριος 2014)

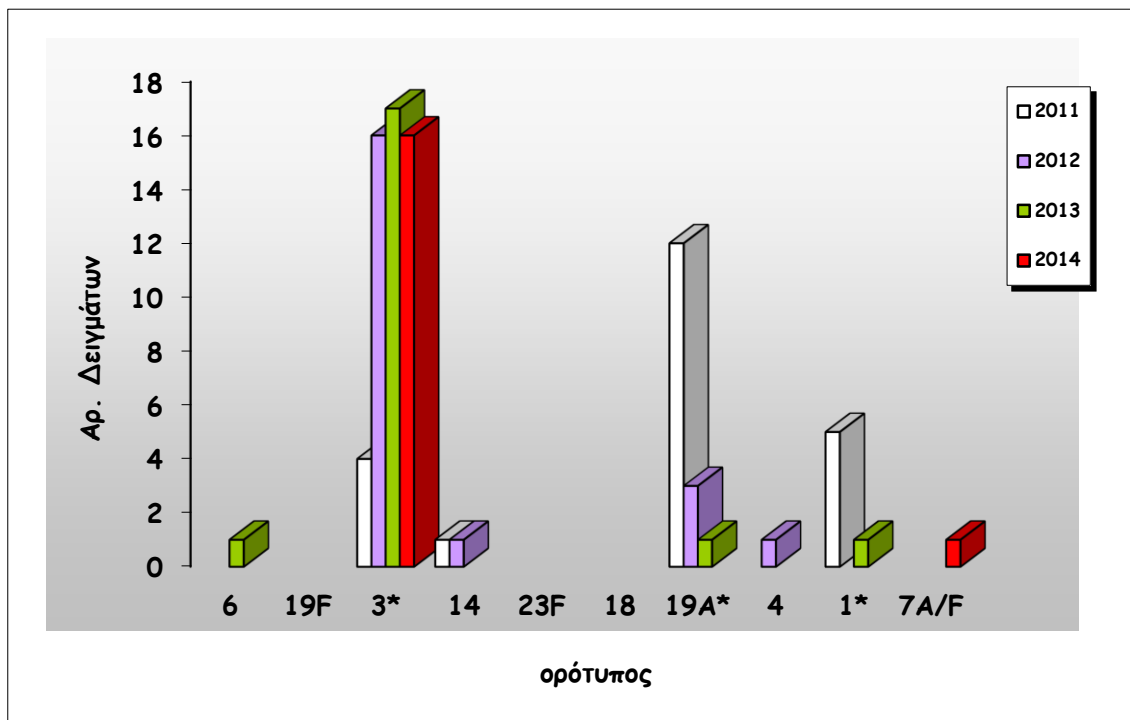


Στα διαγράμματα **19α και 19β** φαίνεται η διαχρονική πορεία των κρουσμάτων πνευμονίας από το 2006 έως 2013 σε σχέση με τους ορότυπους

Διάγραμμα 19α. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν πνευμονία στην Ελλάδα (2006-2010)



Διάγραμμα 19β. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν πνευμονία στην Ελλάδα (2011-2014)

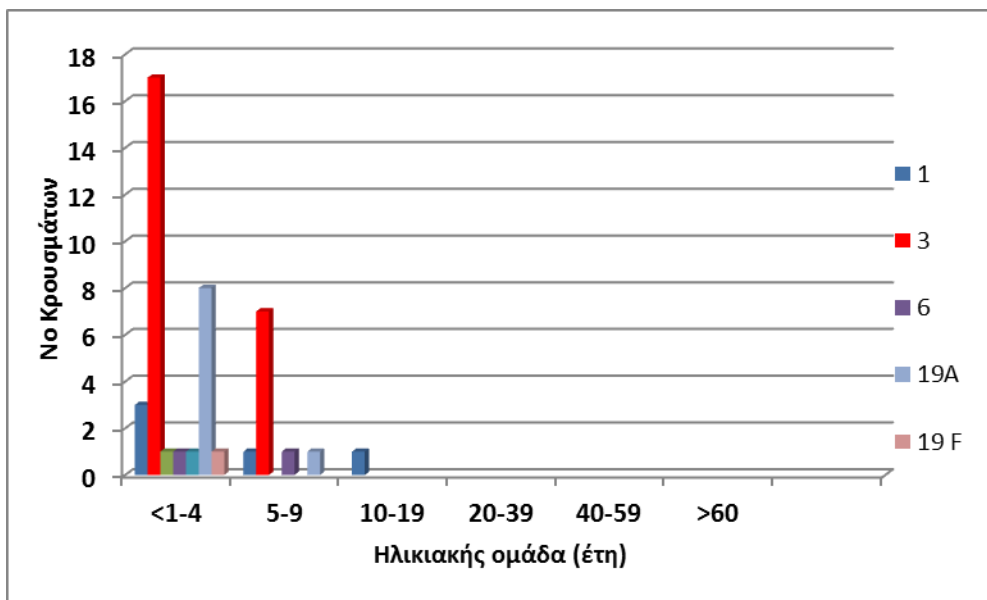


Στους Πίνακες 20 και 21 και στα διαγράμματα 20 και 21 αναλύονται οι ορότυποι ανά ηλικία κατά τα χρονικά διαστήματα 2006-2010 και 2011-2014

Πίνακας 20: Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν πνευμονία ανά ηλικία (2006-2010)

ΟΜΑΔΑ (έτη) /Ορότυπος	1	3	4	6	14	18	19A	19 F	23F	NT
<1-4	3	17		1			8	1		12
5-9	1	7		1			1			11
10-14	1									
15-19										
20-29										
30-39										
40-49										
50-59										
>60										
ΣΥΝΟΛΟ	5	24		2			9	1		23

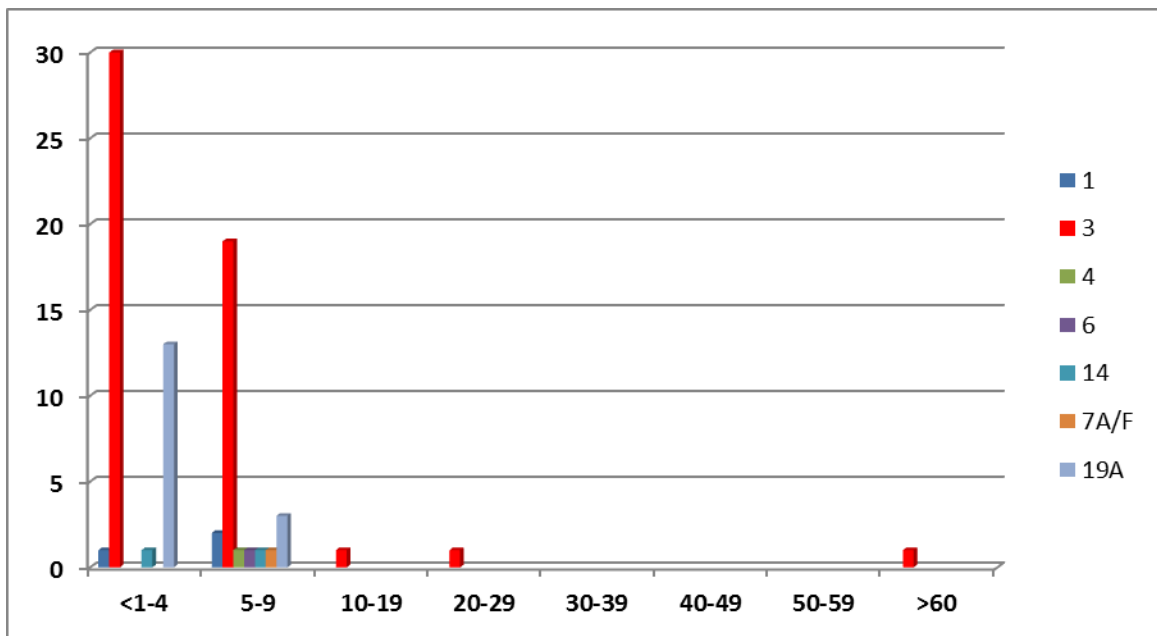
Διάγραμμα 20. Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν πνευμονία ανά ηλικία (2006-2010)



Πίνακας 21: Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν πνευμονία ανά ηλικία (2011-2014)

ΟΜΑΔΑ (έτη) /Ορότυπος	1	3	4	6	14	7A/F	19A	Άλλοι ορότυποι
<1-4	1	30			1		13	9
5-9	2	19	1	1	1	1	3	4
10-19		1						3
20-29		1						
30-39								
40-49								
50-59								
>60		1						
ΣΥΝΟΛΟ	3	52	1	1	2	1	16	16

Διάγραμμα 21. Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν πνευμονία (επί των θετικών για ορότυπο δειγμάτων) ανά ηλικία (2011-2014).



Βακτηριακές μηνιγγίτιδες άλλης αιτιολογίας

Το Κέντρο Αναφοράς στην προσπάθειά του να ταυτοποιήσει ένα μεγάλο αριθμό βακτηριακών μηνιγγιτίδων που προκαλούνται από άλλους μικροοργανισμούς, ανέπτυξε μία πολυπλεκτική PCR (multiplex PCR) για την ταυτόχρονη ανίχνευση των μικροοργανισμών *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes* *Staphylococcus aureus*. απευθείας σε βιολογικά υλικά (Xirogianni και συν. 2009).

Από τα 150 δηλωμένα κρούσματα βακτηριακής μηνιγγίτιδας άλλης αιτιολογίας, τα 113 (75,4%) εστάλησαν στο ΕΚΑΜ για περαιτέρω διερεύνηση. Με την εφαρμογή της παραπάνω τεχνικής τυποποιήθηκαν ως θετικά τα 50 (44,2%).

Από αυτά, τα 23 ταυτοποιήθηκαν ως *Streptococcus spp.* (εκ των οποίων 7 τυποποιήθηκαν ως *S. agalactiae* και 4 ως *S. pyogenes*), 2 *Haemophilus influenzae* (*non b*), 10 ως *Listeria monocytogenes* και 12 δείγματα ως *Staphylococcus aureus* (Πίνακας 22).

Τα περισσότερα κρούσματα που ταυτοποιήθηκαν ως *Streptococcus spp* σημειώθηκαν στην ηλικιακή ομάδα <1-4 (12 κρούσματα) με επίπτωση 2,3 ανά 100 000 αντίστοιχα.

Η επίπτωση των κρουσμάτων μηνιγγίτιδας από *Haemophilus influenzae* παραμένει σταθερή και τα 2 δείγματα ήταν μη τυποποιήσιμα ως προς τον ορότυπο, (NT) (Πίνακας 22)

Πίνακας 22. Κατανομή των βακτηριακών μηνιγγιτίδων και επίπτωση ανά μικροοργανισμό και ηλικιακή ομάδα (Ιαν-Δεκ 2014)

Ηλικία	streptococcus spp		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Listeria monocytogenes</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Haemophilus spp</i>	
	NO Κρουσμ	Rate*	NO Κρουσμ	rate	NO Κρουσμ	rate	NO Κρουσμ	rate	NO Κρουσμ	rate
<1-4	12	2,3			2	0,38			1	0,19
5-9	1	0,19			1	0,19	2	0,39		
10-14										
15-19							1	0,17		
20-29							1	0,06		
30-39	1	0,06					2	0,11		
40-49	2	0,13	1	0,06			1	0,06		
50-59	2	0,14			2	0,14	2	0,14		
>60	5	0,19	1	0,04	5	0,19	3	0,12	1	0,04
ΣΥΝ	23	0,21	2	0,02	10	0,09	12	0,11	2	0,02

 Rate: επίπτωση ανά 100 000 κατ

Από τα 32 δείγματα πλευριτικού υγρού, οι υπεύθυνοι μικροοργανισμοί ήταν κατά κύριο λόγο οι:

- *Streptococcus spp* (n=6) εκ των οποίων ο 1 ήταν *streptococcus pyogenes* : στις ηλικιακές ομάδες <1-4 χρόνων (n=4) και 5-9 ετών (n=2).
- *Staphylococcus aureus* (n=5): ηλικιακή ομάδα <1-4 (n=4) & 10-14 (n=1)

Ιογενείς μηνιγγίτιδες

Από τα 386 δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγίτιδας ιογενούς αιτιολογίας, επιβεβαιώθηκαν τα 29 και αφορούσαν ως επί το πλείστον εντεροϊούς (n=26) και ερπητοϊούς (n=3).

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Οι παρακάτω δημοσιεύσεις έγιναν στα πλαίσια των επιδημιολογικών δεδομένων που διαθέτει και συλλέγει το Κέντρο Αναφοράς. Επιπλέον, νέες μοριακές τεχνικές αναπτύχθηκαν στα πλαίσια της εφαρμογής και βελτιστοποίησης για την ταχύτερη διάγνωση των βακτηριακών μηνιγγιτίδων καθώς επίσης και για την επιδημιολογική διερεύνηση τοπικών επιδημιών.

1. Μαρμαράς Ν, Ξηρογιάννη Α, Κεσανόπουλος Κ, Τζανακάκη Τζ. Ταυτόχρονη ανίχνευση οκτώ ορότυπων *Streptococcus pneumoniae* απευθείας σε βιολογικά υλικά με τη μέθοδο της stepdown multiplex PCR. Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και εργαστηριακή Διαγνωστική Μάρτιος 2015 (υπό δημοσίευση)
2. Bröker M, Bukovski S, Culic D, Jacobsson S, Koliou M, Kuusi M, Simões MJ, Skoczynska A, Toropainen M, Taha MK, Tzanakaki G. Meningococcal serogroup Y emergence in Europe: High importance in some European regions in 2012. *Hum Vaccin Immunother.* 2014 Mar 7;10(6).
3. Brehony C, Trotter CL, Ramsay ME, Chandra M, Jolley KA, van der Ende A, Carion F, Berthelsen L, Hoffmann S, Harðardóttir H, Vazquez J, Murphy K, Toropainen M, Caniça M, Ferreira E, Diggle M, Edwards G, Taha MK, Stefanelli P, Kriz P, Gray S, Fox A, Jacobsson S, Claus H, Vogel U, Tzanakaki G, Heuberger S, Caugant DA, Frosch M, Maiden MC. Differential age distribution of disease-associated meningococcal lineages-Implications for vaccine development. *Clin Vaccine Immunol.* 2014 Apr 2. [Epub ahead of print]
4. Tzanakaki G, Hong E, Kesanopoulos K, Xirogianni A, Bambini S, Orlandi L, Comanducci M, Muzzi A, Taha MK. Diversity of greek meningococcal serogroup B isolates and estimated coverage of the 4CMenB meningococcal vaccine. *BMC Microbiology* 2014, 14:111.
5. Antachopoulos C, Tsolia MN, Tzanakaki G, Xirogianni A, Dedousi O, Markou G, Zografou SM, Eliades A, Kirvassilis F, Kesanopoulos K, Roilides E. Parapneumonic pleural effusions caused by *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 in children immunized with 13-valent conjugated pneumococcal vaccine *Pediatr Infect Dis J.* 2014 Jan;33(1):81-3
6. Giannakopoulos P, Chrysovergis A, Xirogianni A, Nikolopoulos TP, Radiotis A, Lebessi E, Tsakanikos M, Tzanakaki G, Tsolia MN. Microbiology of acute mastoiditis and complicated or refractory acute otitis media among hospitalized children in the postvaccination era. *Pediatr Infect Dis J.* 2014 Jan;33(1):111-3.
7. Titmarsh CJ, Moscovis SM, Hall S, Tzanakaki G, Kesanopoulos K, Xirogianni A, Scott RJ, Blackwell CC Comparison of cytokine gene polymorphisms among Greek patients with invasive meningococcal disease or viral meningitis. *J Med Microbiol.* 2013 May;62(Pt 5):694-700.
8. Xirogianni A, Tsolia M, Voyiatzi A, Sioumala M, Makri A, Argyropoulou A, Paniara O, Markoulatos P, Kourea-Kremastinou J and Tzanakaki G. Diagnosis of Upper and Lower Respiratory Tract Bacterial Infections with the Use of Multiplex PCR Assays. *J Diagnostics*, 2013 April [Epub ahead of print]

9. Priftis KN, Litt D, Manglani S, Anthracopoulos MB, Thickett K, Tzanakaki G, Fenton P, Syroggianopoulos GA, Voyiatzi A, Douros K, Slack M, Everard ML. Streptococcus pneumoniae and non-typable Haemophilus Influenzae causing bacterial bronchitis in children and the impact of vaccination. Chest 2013; Jan;143(1):152-7.
10. Tzanakaki G, Paparoupa M, Kyprianou M, Barbouni A, Eugen-Olsen J, Kourea-Kremastinou J. Elevated soluble urokinase receptor values in CSF, age and bacterial meningitis infection are independent and additive risk factors of fatal outcome. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012; 31(6):1157-62
11. Karpathios T, Moustaki M, Yialouros P, Sarifi F, Tzanakaki G, Fretzayas A. HSV-2 meningitis disseminated from a herperic whitlow. Paediatr Int Child health 2012; 32(2):121-2
12. Broker M, Jacobsson S, Kuusi M, Pace D, Simones MJ, Skoczynska A, Taha MK, Toropainen M, Tzanakaki G. Meningococcal serogroup Y emergence in Europe: update 2011 . Hum Vaccin Immunother 2012; 8 (12) (ahead of print)
13. Tzanakaki G, Paparoupa M, Kyprianou M, Barbouni A, Eugen-Olsen J, Kourea-Kremastinou J. Elevated soluble urokinase receptor values in CSF, age and bacterial meningitis infection are independent and additive risk factors of fatal outcome. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012; 31(6):1157-62
14. Spoulou V, Tzanakaki G, Lekka S, Chouliaras G, Ladis V, Theodoridou M. Natural and vaccine-induced immunity to Neisseria meningitidis serogroup C in asplenic patients with β -thalassemia Vaccine. 2011 Jun 15;29(27):4435-8.
15. Iliá S, Spanaki AM, Raissaki M, Spoulou VI, Fitrolaki MD, Kanariou M, Tzanakaki G, Briassoulis G. Complicated Pneumococcal Meningitis in a Fully Vaccinated Child: Value of Magnetic Resonance Imaging Monitoring. Neuropediatrics. 2011; 42(6):240-4
16. Papavasileiou K, Papavasileiou E, Tzanakaki G, Voyiatzi A, Kremastinou J, Chatzipanagiotou S. Acute bacterial meningitis cases diagnosed by culture and PCR in a children's hospital throughout a 9-year period (2000-2008) in Athens, Greece. Mol Diagn Ther 2011; 15(2):109-13
17. Ladhani S, Slack MP, Heath PT, von Gottberg A, Chandra M, Ramsay ME; European Union Invasive Bacterial Infection Surveillance participants. Invasive Haemophilus influenzae Disease, Europe, 1996-2006. Emerg Infect Dis. 2010 Mar;16(3):455-63
18. Taha MK, Hedberg ST, Szatanik M, Hong E, Ruckly C, Abad R, Bertrand S, Carion F, Claus H, Corso A, Enríquez R, Heuberger S, Hryniewicz W, Jolley KA, Kriz P, Mollerach M, Musilek M, Neri A, Olcén P, Pana M, Skoczynska A, Sorhouet Pereira C, Stefanelli P, Tzanakaki G, Unemo M, Vázquez JA, Vogel U, Wasko I. Multicenter study for defining the breakpoint for rifampin resistance in Neisseria meningitidis by rpoB sequencing Antimicrob Agents Chemother. 2010 Sep;54(9):3651-8
19. Xirogianni A, Tzanakaki G, Karagianni E, Markoulatos P, Kourea-Kremastinou J. Development of a single-tube polymerase chain reaction assay for the simultaneous detection of Haemophilus influenzae, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus,

- and *Streptococcus* spp. directly in clinical samples. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009 Feb;63(2):121-6.
20. Irine- Ikbale Sakou, Georgina Tzanakaki, Maria N. Tsolia, Maria Sioumala, Anastasia Barbouni, Miltiades Kyprianou, Vana Papaevangelou , Artemis Tsitsika, Caroline C. Blackwell, Dimitris Kafetzis, Jenny Kremastinou. Investigation of serum bactericidal activity in childhood and adolescence 3-6 years after vaccination with a single dose of serogroup C meningococcal conjugate vaccine. *Vaccine*, 2009, 27 4408-4411.
 21. Kesanopoulos K, Tzanakaki G, Sioumala M, Kourea-Kremastinou J Direct application of variable number tandem repeats polymerase chain reaction in clinical samples obtained from patients with meningococcal disease. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008 Jul 18.
 22. Drakopoulou Z, Kesanopoulos K, Sioumala M, Tambaki A, Kremastinou J, Tzanakaki G. Simultaneous single tube assay for the identification of 5 most common meningococcal serogroups directly in clinical samples. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2008 Jul;53(2):178-82
 23. Papapetropoulou M, Tzanakaki G, Papapetropoulos S, Guevara-Salcedo A, Leontsini F, Kremastinou J, Karpathios Th. Bacterial meningitis caused by penicillin –resistant *Neisseria lactamica* *J of Pediatric Infectious Dis* 2008, 3: 137-139
 24. Spoulou VI, Moschou CK, Tzanakaki G, Theodoridou MC .Conjugate vaccine-induced immunological priming is not protective against acute meningococcal C infection. *Vaccine*. 2007 Oct 10;25(41):7012-3.
 25. Kafetzis DA, Staboulidis KN, Tzanakaki G, Kremastinou J, Sklevaki CL, Konstantopoulos A, Tsolia M. Meningococcal group C disease in Greece during 1993-2006: the impact of an unofficial single dose vaccination scheme adopted by most paediatricians. *Clin Microbiol and Infect* 2007; 13:539-552.
 26. Taha MK, Vazquez JA, Hong E, Bennet D, Bertrand S, Bukovski S, Cafferkey T, Carion F, Christiancen J, Diggle M, Edwards G, Enriquez R, Fazio C, Frosch M, Heuberger S, Hoffmann S, Jolley K, Tzanakaki G, Vogel U, Zarantonelli M. Target gene sequencing to characterize the penicillin G susceptibility of *N. meningitidis*. *AAC* 2007; 51:2784-92.
 27. Σιουμάλα Μ, Τζανακάκη Τ, Κεσανόπουλος Κ, Λεβειδιώτου Σ, Κρεμαστινού Τ. Ταυτόχρονη ανίχνευση εννέα κύριων οροτύπων *Streptococcus pneumoniae* σε βιολογικά υλικά με την μέθοδο της stepdown multiplex PCR. *Δελτίο Μικροβιολογικής Εταιρίας* 2007, 52(3): 173-179
 28. Spoulou V, Moschou CK, Tzanakaki G, Theodoridou MC. Conjugate vaccine-induced immunological priming is not protective against acute meningococcal C infection. *Vaccine*, 2007, 25: 7012-13
 29. Tzanakaki G, Kesanopoulos K, Tsolia M, Levidiotou S, Pangalis A, Liakou V , Voyiatzi A, Papavasiliou E, Kansouzidou A, Foustoukou M, Blackwell CC, Kremastinou J. Phenotypic assessment of *N. meningitidis* isolates obtained from patients with invasive meningococcal disease in Greece, 1993-2003: implications for serogroup B vaccines based on PorA serosubtype antigens. *Vaccine*, 2006; 24:819-825.
 30. Tsolia M, M. Theodoridou , G. Tzanakaki , V. Vlachou, G. Mostrou, M. Foustoukou, A. Pangalis P. Kalabalikis, Kremastinou J and A. Constantopoulos. Serogroup A

invasive meningococcal disease in children in Greece. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006 Jul; 25 (7) : 449-56.

31. Tzanakaki G, Kesanopoulos K, Yazdankhah S, Levidiotou S, Kremastinou J, Caugant DA. Conventional and molecular investigation of meningococcal isolates in relation to two outbreaks in the area of Athens. Clin Microbiol Infect 2006; 12(10):1024-6 .
32. Levidiotou S, Vrioni G, Tzanakaki G, Papa C, Gesouli H, Gartzonika C, Papamichail D, Kremastinou J. Serotype distribution of *Streptococcus. Pneumoniae* in north-western Greece and implications for vaccination programme. FEMS Immunol Med Microbiol 2006; 48(2) :179-82.
33. Taha MK, Alonso JM, Caffrekey M, Caugant DA, Clarke S, Diggle M, Fox A, Frosch M, Gray S, Guiver M, Heuberger S, Kalmusova J, Kesanopoulos K, Klem AM, Kriz P, Marsh J, Molling P, Murphy K, Olcen P, Sanou O, Tzanakaki G, Vogel U. Interlaboratory comparison of PCR-based identification and genogrouping of *Neisseria meningitidis*. J Clin Microbiol 2005; 43: 144-149.
34. K Kesanopoulos, G Tzanakaki, S Levidiotou, C Blackwell and J Kremastinou. Evaluation of touch-down real-time PCR based on SYBR green I fluorescent dye for the detection of *N. meningitidis* in clinical samples FEMS Immun Med Microbiol 2005; 43:419-424.
35. K Kesanopoulos, G Tzanakaki, A Velegraki, N Tegos, DA. Caugant, P Menounos, J Kourea-Kremastinou and S Levidiotou-Stefanou. Rapid molecular identification of *Neisseria meningitidis* isolates by polymerase chain reaction- single strand conformation polymorphism analysis (PCR-SSCP) and its comparison with other molecular and conventional methods. FEMS Immun Med Microbiol 2005; 45(2):143-9.
36. Tzanakaki G, Tsopanomichalou M, Kesanopoulos K, Matzourani R, Sioumala M, Tabaki A, Kremastinou J . Simultaneous single-tube PCR assay for the detection of *N. meningitidis*, *H. influenzae* type b and *streptococcus pneumoniae*. J Clin Microb Infect 2005, 11(5):386-90.
37. S. Yazdankhah, K Kesanopoulos, G. Tzanakaki, J Kremastinou and DA. Caugant. Variable-Number Tandem Repeats Analysis of Meningococcal Isolates Belong to the Sequence Type-162 Complex. J. Clin Microbiol 2005; 43 (9):4865-7.
38. J. Braun, J. Beuth, CC Blackwell, S. Giersen, P Higgins, G. Tzanakaki, H. Unverhau, DM Weir. *Neisseria meningitidis*, *N. lactamica* and *Moraxella catarrhalis* share cross-reactive carbohydrate antigens. Vaccine 2004; 22:898-908.
39. S. Yazdankhah, P Kriz, G Tzanakaki, J Kremastinou, J Kalmoulova, M Musilek, T Alvestad, K Jolley, D Wilson, N McCarthy, D Caugant and M Maiden. Distribution of serogroups and genotypes among disease-associated and carried isolates of *Neisseria meningitidis* from Czech Republic, Greece and Norway. J. Clin Microbiol 2004; 42 (11): 5146-53.
40. M Tsolia, A. Fretzayas, H Georgouli, G Tzanakaki, S Fessatou, G Liapi-Adamidou, A Konstantopoulos. Invasive Meningococcal Disease presenting as Henoch Schonlein purpura. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2004; 23: 776-779
41. J. Braun, J. Beuth, CC Blackwell, S. Giersen, P Higgins, G. Tzanakaki, H. Unverhau, DM Weir. *Neisseria meningitidis*, *N. lactamica* and *Moraxella catarrhalis* share cross-reactive carbohydrate antigens. Vaccine 2004; 22:898-908.

42. S. Yazdankhah, P Kriz, G Tzanakaki, J Kremastinou, J Kalmoulova, M Musilek, T Alvestad, K Jolley, D Wilson, N McCarthy, D Caugant and M Maiden. Distribution of serogroups and genotypes among disease-associated and carried isolates of *Neisseria meningitidis* from Czech Republic, Greece and Norway. *J. Clin Microbiol* 2004; 42 (11): 5146-53.
43. M Tsolia, A. Fretzayas, H Georgouli, G Tzanakaki, S Fessatou, G Liapi-Adamidou, A Konstantopoulos. Invasive Meningococcal Disease presenting as Henoch Schonlein purpura. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 776-779
44. M. Tsolia, M. Theodoridou, G. Tzanakaki, P Kalabalikis, E. Urani, G. Mostrou, A. Pangalis, A. Zaphiropoulou, C. Kassiou, D. Kafetzis, CC Blackwell, J Kremastinou and Th Karpathios. The evolving epidemiology of invasive meningococcal disease: a two year prospective, population –based study in children in the area of Athens. *FEMS Immun Med Microbiol* 2003; 36:87-94
45. N. Siafakas, P. Markoulatos, C. Vlachos, G. Stanway, G. Tzanakaki, and J Kremastinou. Molecular sub-grouping of enterovirus reference and wild type strains into distinct genetic clusters using a simple RFLP assay. *Mol and Cell Probes* 2003;17:2113-123
46. J Kremastinou, G. Tzanakaki, S. Levidiotou, F. Markou, E. Themeli, A. Voyiatzi, E. Psoma, M. Theodoridou, CC Blackwell. Carriage of *Neisseria meningitidis* and *N. lactamica* in Northern Greece. *FEMS Immun Med Microbiol* 2003; 39:23-29
47. G. Tzanakaki, M. Tsolia, V. Vlachou, M. Theodoridou,, A. Pangalis, M. Foustoukou, Th Karpathios, CC Blackwell, J Kremastinou. Evaluation of non-culture diagnosis of invasive meningococcal disease by polymerase chain reaction (PCR). *FEMS Immun Med Microbiol* 2003; 39:31-36
48. Μ. Κανελλοπούλου, Τ. Τζανακάκη, Ν. Σκαρμούτσου, Μ. Μαρτσούκου, Α. Χαραλαμποπούλου, Μ. Αγγελίδου, Τ. Κουρέα-Κρεμαστινού, Ε. Παπαφράγκας. Απομόνωση *Neisseria meningitidis* σε εκκρίσεις κατώτερου αναπνευστικού συστήματος. *Δελτίον Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρίας*, 2003, 48 (6): 352-356.
49. J. Vazquez, L. Arreaza, C. Block, I. Erhard, S. Gray, S. Heuberger, S. Hoffman, P. Krizova, P. Nicolas, P. Olcen, A. Skoczynska, L. Spanjaard, P. Stefanelli, M-K Taha, and **G. Tzanakaki**. Interlaboratory comparison of agar dilution and E-test methods for determining the MICs of antibiotics used in management of *Neisseria meningitidis* Infections . *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3430-3434.
50. N. Siafakas, P. Markoulatos, G. Stanway, G. Tzanakaki, and J Kremastinou. A reliable RT-PCR/RFLP assay for the molecular classification of enterovirus reference and wild type strains to either of the two genetic clusters on the basis of 5’-UTR. *Mol and Cell Probes* 2002;16:209-216
51. Τ. Τζανακάκη, Μ. Τσολιά, Α. Πάγκαλη, Μ. Θεοδωρίδου, Μ. Φουστούκου, Ε. Αλεξάνδρου, Α. Ζαφειροπούλου, Β. Βλάχου, Θ. Καρπάθιος και Τ. Κρεμαστινού. Ευαισθησία και ειδικότητα της μεθόδου αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) για την ταχεία διάγνωση της μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου. *Εφαρμοσμένη Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διαγνωστική*. 2002; Περίοδος Β’, Τόμος 7, Τεύχος 1:27-32.

52. Antignac A, Kriz P., G. Tzanakaki, J-M Alonso and M-K Taha. Polymorphism of *Neisseria meningitidis* penA gene associated with reduced susceptibility to penicillin. J Antimicrob Chemother 2001; 47:285-296
53. G. Tzanakaki, R. Urwin, M. Musilek, P. Kriz, J Kremastinou, A. Pangalis, CC Blackwell and MC Maiden. Phenotypic and genotypic approaches to characterization of isolates of *Neisseria meningitidis* from patients and their close family contacts. J. Clin Microbiol 2001;39:1235-1240
54. P. Markoulatos, A. Georgopoulou, N. Siafakas, E. Plakokefalos, G. Tzanakaki and J Kremastinou. Laboratory diagnosis of common Herpes virus infections of the central nervous system by Multiplex PCR assay. J. Clin Microbiol 2001; 39:4426-4432
55. Α. Βογιατζή, Γ Τζανακάκη, Μ Βελονάκης, Α. Παπανικολάου-Παπαναγιώτου, Ν. Βακάλης και Τζ Κουρέα-Κρεμαστινού. Επιδημιολογική μελέτη μετακινούμενων πληθυσμών για φορεία του μικροοργανισμού *Neisseria meningitidis*. Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας 2000, 45 (1): 22-28.
56. Kremastinou J. G. Tzanakaki, Velonakis E, Voyiatzi A, Nikolaou A, Elton RA, Weir DM, Blackwell CC. Carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* among ethnic Greek school children from Russian immigrant families in Athens. FEMS Immunology and Medical Microbiology 1999; 23 (1): 13-20
57. Kremastinou J., G. Tzanakaki, Kansouzidou A, Pangalis A, Danielides V, Kouppari G, Lada E, Kriz P, Musilek M, Weir DM, Blackwell CC. Recent emergence of serogroup C meningococcal disease in Greece. FEMS Immunology and Medical Microbiology 1999; 23 (1): 49-55
58. Kremastinou J., G. Tzanakaki, A. Pangalis, M. Theodoridou, DM. Weir and CC Blackwell. Detection of IgG and IgM outer membrane proteins in relation to carriage of *Neisseria meningitidis* or *Neisseria lactamica*. FEMS Immunology and Medical Microbiology 1999; 24 (1): 73-78
59. M. Connolly N. Noah and the European Meningitis surveillance Group* (G. Tzanakaki and J. Kremastinou). Is group C meningococcal disease increasing in Europe? A report of surveillance of meningococcal infection in Europe 1993-96. Epidemiol Infect 1999, 122:41-49
60. Κρεμαστινού Τ. και Τ. Τζανακάκη. Επιδημιολογικά στοιχεία της μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου στην Ελλάδα 1993-1998. Επιδημιολογικό Δελτίο Λοιμωδών Νοσημάτων Ελλάδος. 1999;13:81-82.
61. G. Tzanakaki, P. Kriz, J. Kremastinou, M. Musilek, L. Smart, C.C. Blackwell. Reactivity of the new monoclonal antibody '22' with meningococcal strains isolated from patients and carriers in Greece. FEMS Immunology and Medical Microbiology 1997; 19: 1-5
62. Κρεμαστινού Τζένη, Τζωρτζίνα Τζανακάκη, Αριστέα Βελεγράκη. Η Μηνιγγιτιδοκοκκική Νόσος (βιβλίο) Αθήνα 1996
63. J. Kremastinou, G. Tzanakaki, P.H. Karafoti, RA Elton, DM Weir, CC Blackwell. Distribution of ABO and Lewis blood groups in Greece. Gene Geography, 1996; 10: 201-205

64. Kremastinou J, Tzanakaki G, Blackwell CC, Kallergi C, Chronas C, and Weir DM. Parental smoking and carriage of *Neisseria meningitidis* among Greek school children. Scand. J of Infectious Dis 1994; 26: 719-723
65. Καλλέργη Κ., Τζανακάκη Γ., Βακάλης Ν., Blackwell C.C., D.M. Weir Φατούρος Ν., και Τ. Κρεμαστινού. Γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη φορεία της *Neisseria meningitidis* σε πληθυσμό νεοσύλλεκτων. Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρίας, 1994, 39 465-474

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

- 1996. Ειδικό Βραβείο 17^{ου} Εθνικού Συνεδρίου Μικροβιολογίας**
Τζανακάκη Τ, Πάγκαλη Α, Αλεξάνδου Ε, Μπονιάτση Λ, Σκανδάμη Ε, Διανηλίδης Β, Κανσουζίδου Α, και Κρεμαστινού Τ. Ορολογική τυποποίηση και ευαισθησία στα αντιβιοτικά στελεχών *N. meningitidis* από ασθενείς.
- 1998. Πρώτο Βραβείο Αμφιαράειου Ιδρύματος Χημειοθεραπευτικών Μελετών**
Τζανακάκη Τ, Καραγκούνη Ε, Ηλιάδης Π, και Κρεμαστινού Τ.: Παραγωγή νεύου μονοκλωνικού αντισώματος έναντι των πρωτεϊνών της εξωτερικής μεμβράνης στελεχών *N. meningitidis* που απομονώνονται στην Ελλάδα.
- 2000. 1^ο βραβείο 19^{ου} Εθνικού Συνεδρίου Μικροβιολογίας**
Θεμελή Ε, Τζανακάκη Τ, Λεβειδιώτου Σ, Βογιατζή Α, Κρεμαστινού Τ. PCR: μία πολύτιμη μέθοδος για την τυποποίηση των μη-τυποποιήσιμων μηνιγγιτιδοκοκκικών στελεχών (NG) που απομονώθηκαν από φορείς.
- 2005. Βραβείο «Αντιγόνης Αρσένη»**
(στα πλαίσια των εργασιών του 2^{ου} Εθνικού συνεδρίου Κλινικής Μικροβιολογίας)
Κεσανόπουλος Κ, Τζανακάκη Τ, Τσοπανομίχαλου Μ, Σιουμάλα Μ, Ματζουράνη Ρ, Ταμπάκη Α και Κρεμαστινού Τ. Ταυτόχρονη ανίχνευση των μικροοργανισμών *N. meningitidis*, *Str. pneumoniae* και *H. influenzae type b* με την μέθοδο της multiplex PCR .
- 2008. Πρώτο Βραβείο 5^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Ιατρικής Βιοπαθολογίας**
Ξηρογιάννη Α. Τζανακάκη Τζ, Μακρή Α, Αρφυροπούλου Α, Βογιατζή Α, Καραγιάννη Ε, Μάρκου Φ, Καλημερατζή Κ, Πανιάρα Ο, Κρεμαστινού Τζ. Ανάπτυξη τετραπλής PCRγια την ταυτόχρονη ανίχνευση των μικροοργανισμών *H. influenzae*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus*, *streptococcus spp* σε βιολογικά υλικά