

ΕΘΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ
Τομέας Δημόσιας Υγείας
Καθ. Τζένη Κουρέα-Κρεμαστινού

ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ

ΑΠΟΛΟΤΙΣΜΟΣ ΕΡΓΟΥ ΕΤΟΥΣ 2011

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΙ ΥΠΕΥΘΥΝΟΙ

ΚΑΘ. ΤΖ. ΚΟΥΡΕΑ - ΚΡΕΜΑΣΤΙΝΟΥ
Δρ. ΤΖΩΡΤΖΙΝΑ ΤΖΑΝΑΚΑΚΗ

Επιστημονικοί Συνεργάτες

*Δρ Κων/νος Κεσανόπουλος
Δρ Αθανασία Ξηρογιάννη*

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.

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 spp* (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), η έγκαιρη εντόπιση 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 spp* (non b) *Staphylococcus aureus*.

5. Μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (**multiplex PCR**) για την ταυτόχρονη τυποποίηση του μικροοργανισμού *Streptococcus pneumoniae* ως προς τους 9 κύριους οροτύπους του (1, 3, 4, 6,14, 18, 19A, 19F, 23F). Έξι (6) ορότυποι εξ αυτών περιλαμβάνονται στο νέο 7δύναμο συζευκτικό 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. Μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (**multiplex PCR**) για την τυποποίηση των ιογενών μηνιγγιτιδίων για τους εντεροϊούς και ερπητοϊούς

8. Τεχνική του προσδιορισμού της αλληλουχίας των βάσεων (**Multilocus Sequence Typing MLST**) για την μοριακή τυποποίηση *Neisseria meningitidis* (στελέχη, βιολογικά υλικά)

9. Τεχνική τυποποίησης της *Neisseria meningitidis* βασισμένη στην ομοιομορφία διαδοχικών επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών του γονιδιώματος (**Variable Tantom Repeats -VNTR**) για την μοριακή τυποποίηση *Neisseria meningitidis* (στελέχη , βιολογικά δείγματα).

10. 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 τυποποίηση από το 80-90% των κρουσμάτων μηνιγγίτιδας αλλά και βιολογικά υλικά από πνευμονίες.

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	Σελίδα
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
A. ΔΗΛΩΘΕΝΤΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ	
<ul style="list-style-type: none"> • Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά αιτία 	7
<i>Neisseria meningitidis</i>	8
<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 	11
<ul style="list-style-type: none"> • Μηνιαία κατανομή επίπτωσης μηνιγγίτιδας ανά αιτία 	11
<ul style="list-style-type: none"> • Μηνιαία κατανομή επίπτωσης μηνιγγιτιδοκόκκου ανά έτος 	12
<ul style="list-style-type: none"> • Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου 	13
<ul style="list-style-type: none"> • Θνητότητα ανά αιτία και μικροοργανισμό 	14
<ul style="list-style-type: none"> • Διαχρονικός πίνακας κρουσμάτων μηνιγγίτιδας 1993-2011 	15
<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>	20
<ul style="list-style-type: none"> • Τυποποίηση ανά οροομάδα 	
<ul style="list-style-type: none"> • Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά από κρούσματα 1993-2011 	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"> • Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά στελεχών <i>N. meningitidis</i> (ορότυπος/ υπότυπος) 	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 	26
<i>S. pneumoniae</i>	27
<ul style="list-style-type: none"> • Κατανομή οροτύπων <i>S. pneumoniae</i> 2011 	
<ul style="list-style-type: none"> • Ορότυποι ανά ηλικία (2006-2011) 	30
Βακτηριακές μηνιγγίτιδες άλλης αιτιολογίας	32
<ul style="list-style-type: none"> • Κατανομή βακτηριακών μηνιγγιτίδων ανά μικροοργανισμό και ηλικιακή ομάδα 	
Ιογενείς και λοιπές μηνιγγίτιδες	34
Δημοσιεύσεις/Διακρίσεις	35

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ορισμοί: σύμφωνα 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 (89/134, 66.4%) που μέχρι την εφαρμογή των μοριακών τεχνικών δεν ήταν δυνατόν να τυποποιηθούν τα βακτήρια που την προκαλούσαν.

Α. ΔΗΛΩΘΕΝΤΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ :
Επιδημιολογικά στοιχεία

Κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2011, δηλώθηκαν συνολικά **477** κρούσματα μηνιγγίτιδας, από τα οποία **55** κρούσματα αφορούσαν την μηνιγγιτιδοκοκκική νόσο που αντιστοιχούν σε επίπτωση **0,50 / 100.000** κατ. και 46 κρούσματα μηνιγγίτιδας/σηψαιμίας από στρεπτόκοκκο της πνευμονίας που αντιστοιχεί σε επίπτωση 0,41/100 000 κατ (**πίνακας 1**).

Πίνακας 1: Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά μικροοργανισμό (έτος 2011)

Μικροοργανισμοί	Ιανουάριος-Δεκέμβριος 2010		
	Νο Κρουσμάτων	%	Επίπτωση/100,000
Μηνιγγιτιδόκοκκος	55	11,5	0,50
Πνευμονιόκοκκος	46	9,6	0,41
Αιμόφιλος τύπου β	1	0,2	0,01
Κρούσματα Μικροβιακής (άλλο βακτήριο)	156	32,7	1,40
<i>Επιβεβαιωμένα</i>			
• <i>Streptococcus spp</i> (group A&B)	27		
• <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0		
• <i>Haemophilus spp</i>	9		
• <i>Listeria monocytogenes</i>	13		
• <i>Staph. aureus</i>	25		
• <i>Κρυπτόκοκκος</i>	2		
• <i>Enterobacter</i>	0		
• <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1		
• <i>Enterococcus faecalis</i>	1		
Ιός	183	38,5	1,65
Αγνώστου αιτιολογίας	36	7,5	,032
Σύνολο	477	100	4,03

Κρούσματα από *Neisseria meningitidis*

Τα περισσότερα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου εμφανίστηκαν σε βρέφη και παιδιά ηλικίας έως 4 ετών. Παρόλα αυτά, παρατηρήθηκε μείωση της επίπτωσης σε σχέση με το προηγούμενο έτος (2010). Αντίθετα, σημειώθηκε αύξηση της επίπτωσης στις ηλικιακές ομάδες 5-9 (0,95 (2010) σε 1,93 ανά 100 000 κατ) και 10-14 (0,33 (2010) σε 0.54/100 00 κατ

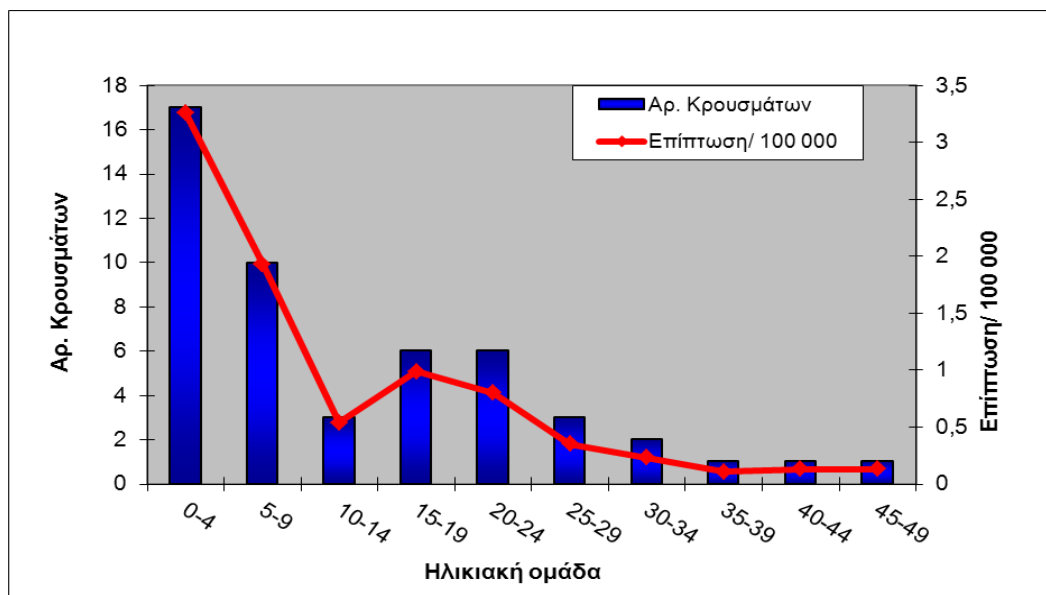
Ο αριθμός των δηλωθέντων κρουσμάτων και η επίπτωση κατά 5ετείς ομάδες ηλικίας φαίνονται στον **πίνακα 2** και στο **διάγραμμα 1**.

Πίνακας 2 : Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση κατά πενταετείς ομάδες ηλικίας / 100.000 κάτοικους κατά το έτος 2011

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘΥΣΜΟ Σ *	ΑΡ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ /100,000
0-4	521113	17	3,26
5-9	516872	10	1,93
10-14	557841	3	0,54
15-19	603948	6	0,99
20-24	749359	6	0,80
25-29	845178	3	0,35
30-34	865538	2	0,23
35-39	878355	1	0,11
40-44	797489	1	0,13
45-49	782173	1	0,13
50-54	715016	1	0,14
55-59	679735	1	0,15
>60	2591312	3	0,12
ΣΥΝΟΛΟ	11.103.929	55	0,50

** Πληθυσμός 30^{ης} Ιουνίου 2005

Διάγραμμα 1. Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση / 100.000 κατ'ανά 5ετείς ομάδες ηλικίας (έτος 2011)



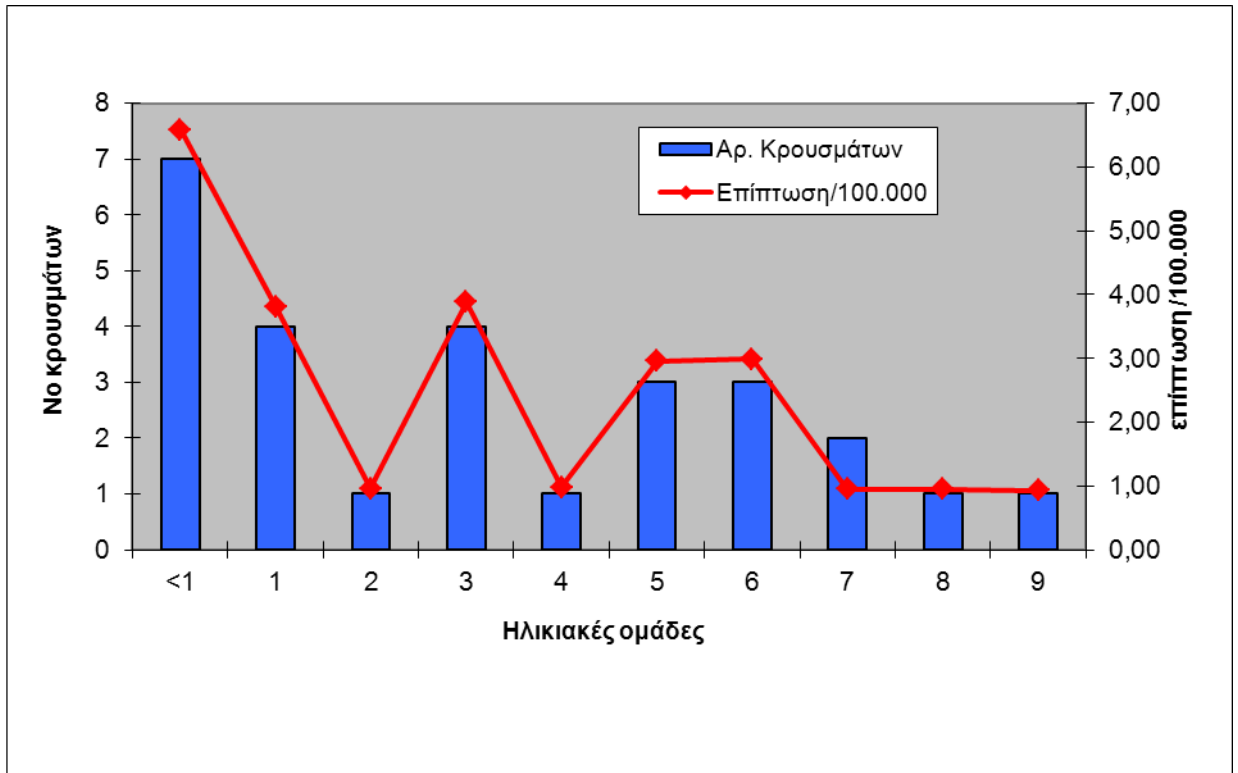
Από την ανάλυση των κρουσμάτων για την ηλικιακή ομάδα από 0-9 χρόνων φαίνεται ότι τα περισσότερα κρούσματα καταγράφηκαν στα βρέφη ηλικίας <1 και στα παιδιά ηλικίας 1 και 3 ετών (πίνακας 3, διάγραμμα 2).

Πίνακας 3 : Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση / 100.000 κάτοικους στην ηλικιακή ομάδα 0-9 χρόνων κατά το έτος 2011

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ *	ΑΡ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ /100000
<1	106388	7	6,58
1	105118	4	3,81
2	104135	1	0,96
3	103111	4	3,88
4	102361	1	0,98
5	101347	3	2,96
6	100312	3	2,99
7	102339	2	0,95
8	105220	1	0,95
9	107654	1	0,93
Σύνολο	1.037.985	27	2,60

* Πληθυσμός 30^{ης} Ιουνίου 2005

Διάγραμμα 2. Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγικής νόσου και επίπτωση / 100.000 κατ στην ηλικιακή ομάδα 0-9 χρόνων (έτος 2011)



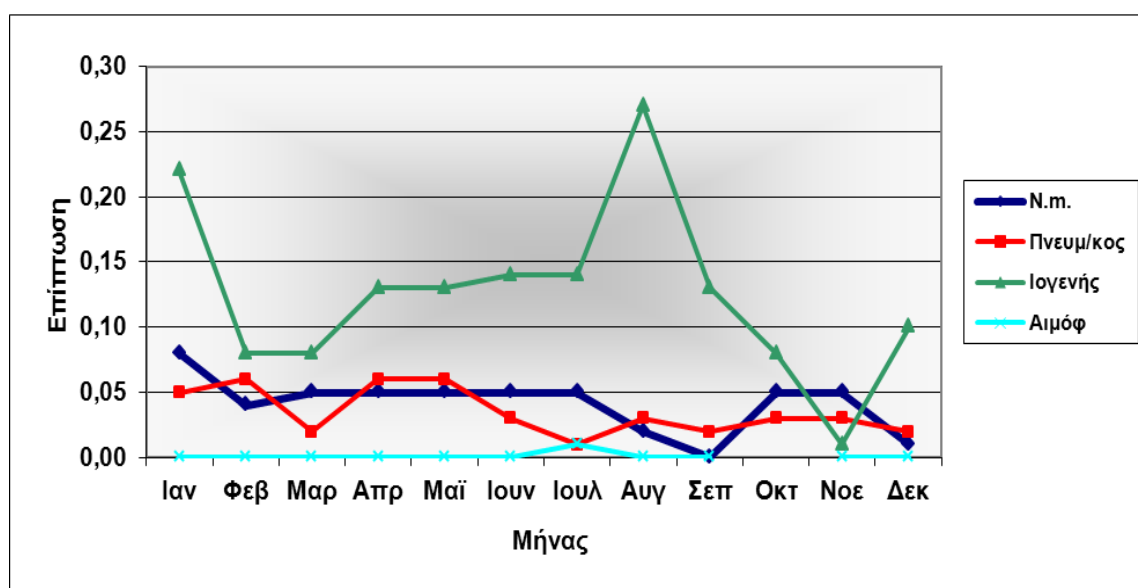
Εποχιακή κατανομή

Τα περισσότερα κρούσματα μηνιγγοκοκκικής νόσου σημειώθηκαν κατά τους χειμερινούς τους εαρινούς μήνες καθώς επίσης και τους πρώτους θερινούς μήνες (**πίνακας 4, διάγραμμα 3**). Τα κρούσματα ιογενούς μηνιγγίτιδας σημειώθηκαν ως επί το πλείστον κατά τους καλοκαιρινούς μήνες και ειδικότερα τους μήνες Ιούνιο-Αύγουστο αλλά παρατηρήθηκε αύξηση των ιογενών μηνιγγιτίδων και κατά την διάρκεια των χειμερινών μηνών (**διάγραμμα 3**).

Πίνακας 4: Δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση (ανά 100.000 κατ.) ανά μήνα κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2011.

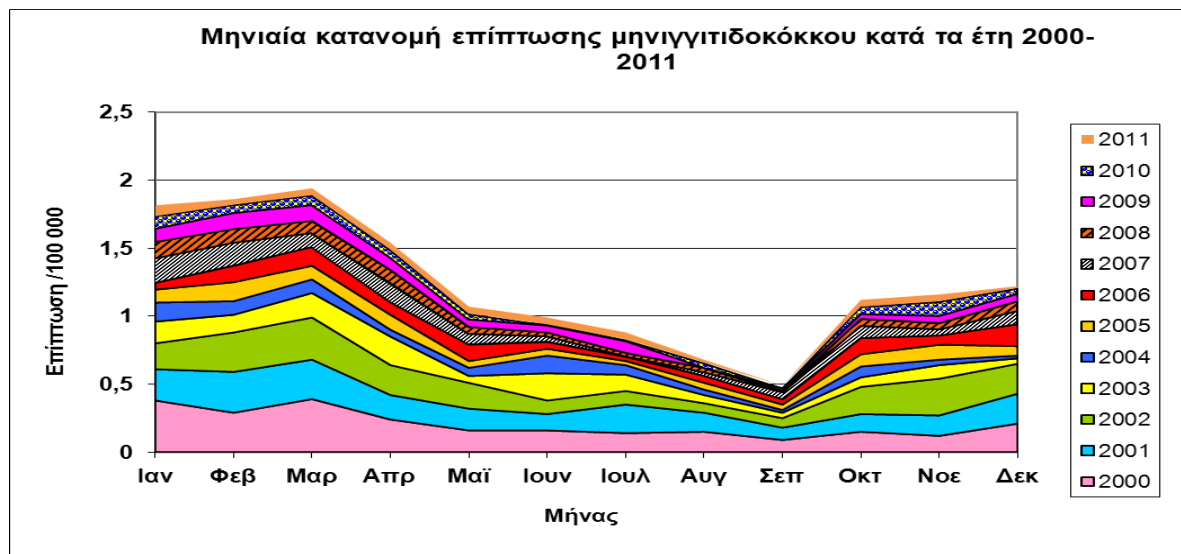
Μήνας	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ ΜΗΝ/ΚΟΚΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ
Ιανουάριος	9	0,08
Φεβρουάριος	4	0,04
Μάρτιος	6	0,05
Απρίλιος	6	0,05
Μάιος	5	0,05
Ιούνιος	5	0,05
Ιούλιος	6	0,05
Αύγουστος	2	0,02
Σεπτέμβριος	0	0
Οκτώβριος	5	0,05
Νοέμβριος	6	0,05
Δεκέμβριος	1	0,01
Σύνολο	55	0,50

Διάγραμμα 3. Μηνιαία κατανομή επίπτωσης δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά αιτία έτους 2011



Στο **διάγραμμα 4**, φαίνεται η μηνιαία κατανομή επίπτωσης της μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου κατά την τελευταία δεκαετία (2000-2011).

Διάγραμμα 4.



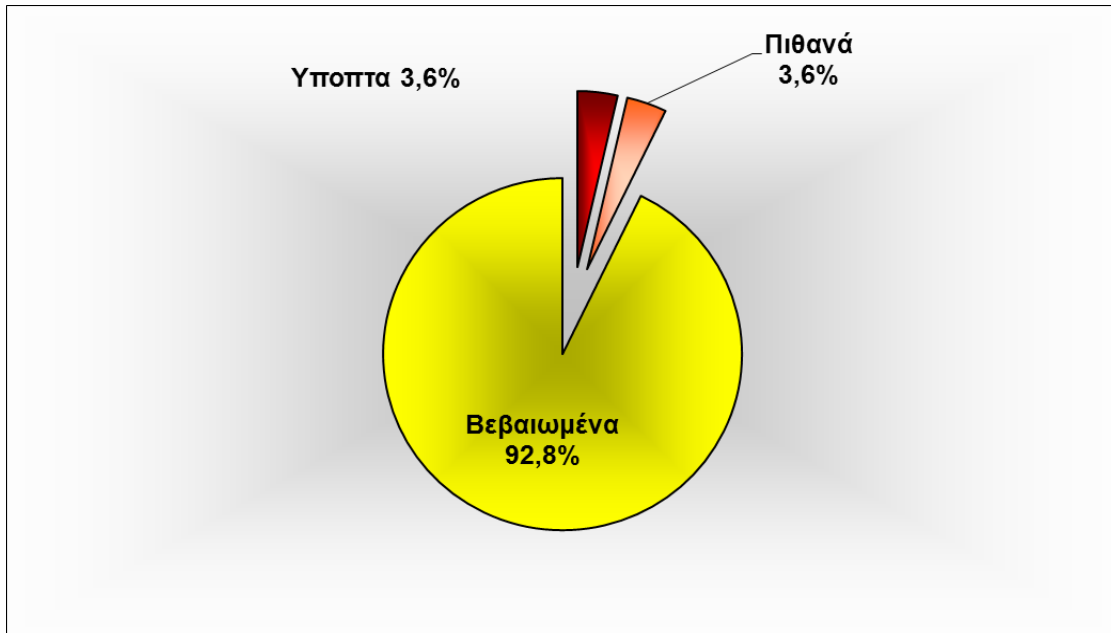
Κατάταξη των κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου

Τα δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου σύμφωνα με τους επιδημιολογικούς ορισμούς κατατάχθηκαν ως πιθανά σε ποσοστό **3,6%** και επιβεβαιωμένα σε ποσοστό **92,8%**, ενώ ποσοστό **3,6%** των παραπάνω κρουσμάτων κατάχρησε στην κατηγορία των **ύποπτων κρουσμάτων (Πίνακας 5, Διάγραμμα 5)**.

Πίνακας 5: Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου

Διάγνωση	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2011	
	Αριθμός κρουσμάτων	%
Ύποπτα	2	3,6
Πιθανά	2	3,6
Βεβαιωμένα	51	92,8
Σύνολο	55	100

Διάγραμμα 5. Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου



Όσον αφορά τα προηγούμενα έτη, παρατηρήθηκε περαιτέρω αύξηση του ποσοστού των βεβαιωμένων κρουσμάτων (από 91,4% σε 92,8% για τα έτη 2010 και 2011 αντίστοιχα) σε σχέση με τα πιθανά κρούσματα. Σε αυτό βοήθησε σε ένα σημαντικό 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 :

Παρατηρήθηκε μείωση της συνολικής θνητότητας από μηνιγγίτιδα (οιασδήποτε αιτιολογίας) κατά το τρέχον έτος μειώθηκε (1.25, 6 θάνατοι) σε σχέση με το προηγούμενο έτος 2,5% (13 θάνατοι).

Σημαντική μείωση της θνητότητας παρατηρήθηκε στα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου κατά το έτος 2011 (**Πίνακας 6**)

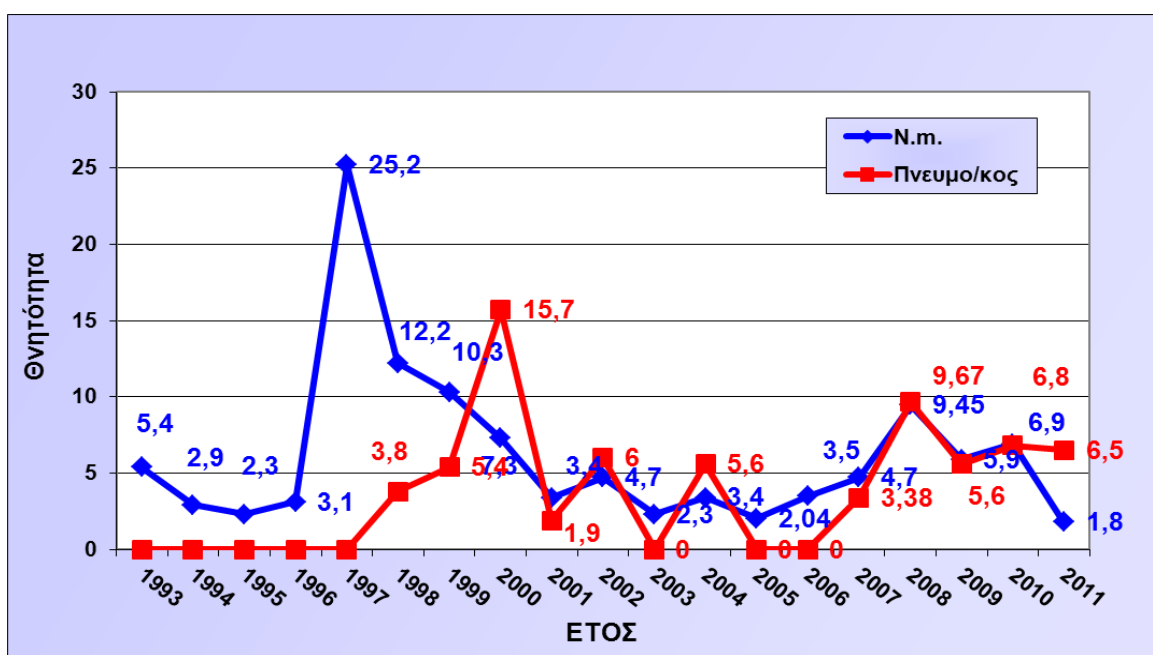
Πίνακας 6 : Αριθμός δηλωθέντων θανάτων μηνιγγίτιδας ανά μικροοργανισμό κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2011

Μικροοργανισμοί	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2011			Θνητότητα	
	Αριθμός κρουσμάτων	Αριθμός θανάτων	%	2011	2010
Μηνιγγιτιδόκοκκος	55	1	16,6	1,8	(6,9)
Πνευμονιόκοκκος	46	3	50,0	6,5	(6,8)
Αιμόφιλος b	1	0	0	0	0
Μικροβιακή (άλλο βακτήριο)	156	1	16,6	0,64	(2,2)
Ιός	183	0	0	0	(0,46)
Αγνώστου αιτιολογίας	36	1	16,6	2,8	(2,6)
Σύνολο	477	6	100	1,25	(2,5)

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, 1 θανατηφόρο κρούσμα προκλήθηκε από μηνιγγιτιδόκοκκο, 3 από πνευμονιόκοκκο, ενώ τα άλλα 2 προκλήθηκαν από μηνιγγίτιδα άλλης βακτηριακής αιτιολογίας (1 θάνατος) και 1 θάνατος από μηνιγγίτιδα αγνώστου αιτιολογίας (δεν κατέστη δυνατή η αποστολή βιολογικού δείγματος για περαιτέρω ταυτοποίηση του μικροοργανισμού).

Η θνητότητα από **μηνιγγιτιδόκοκκο** και **πνευμονιόκοκκο** των τελευταίων 18 ετών φαίνεται στο **διάγραμμα 6**.

Διάγραμμα 6. Θνητότητα μηνιγγιτιδοκοκκικής και πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας (1993-2011)



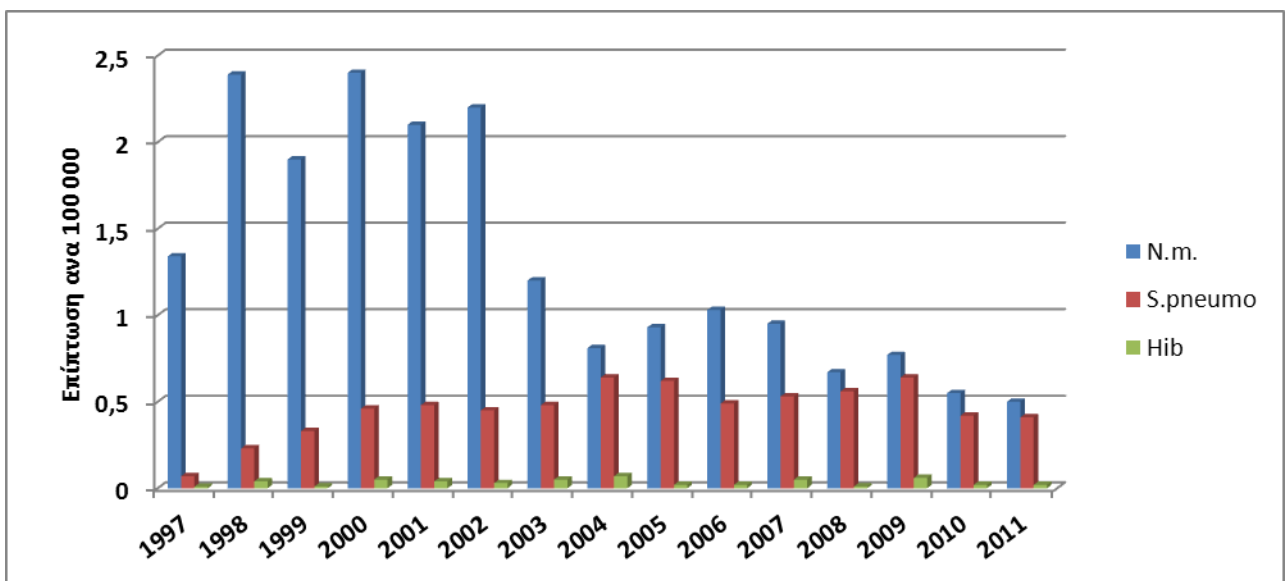
Διαχρονική πορεία δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας

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 2010-2011.

Αντίθετα, παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού κρουσμάτων μηνιγγίτιδας από πνευμονιόκοκκο 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. Κατά το 2010, παρατηρήθηκε μείωση των κρουσμάτων (44 κρούσματα) με ελαφριά αύξηση το έτος 2011 (46 κρούσματα) **(πίνακας 7, διάγραμμα 7).**

Η επίπτωση/100 000 του αιμοφίλου της ινφλουένζας ομάδας b παραμένει σταθερά χαμηλή και για το 2011, με εξαίρεση το έτος 2009 όπου η επίπτωση ανήλθε σε 0,06 ανά 100 000.

Διάγραμμα 7. Δηλωθέντα κρούσματα βακτηριακής μηνιγγίτιδας ανά αιτία (1997-2011)



Πίνακας 7. Δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγίτιδας 1993- 2011

ΕΤΟΣ	Συνολο κρουσμάτων (επίπτωση)	N. meningitidis (επίπτωση)	Πνευμ/κος (επίπτωση)	Αιμοφιλος (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

Μηνιγγίτιδα από *Streptococcus pneumoniae*

Η αύξηση των κρουσμάτων μηνιγγίτιδας από *Streptococcus pneumoniae* τα τελευταία χρόνια, οδήγησε στην ανάγκη της ανάλυσης των κρουσμάτων ανά ηλικία. Από τα 753 κρούσματα μηνιγγίτιδας από πνευμονιόκοκκο, που καταγράφησαν τα 9 τελευταία χρόνια, τα 365 (~50 %) αφορούσαν 2 ηλικιακές ομάδες: την ηλικιακή ομάδα <1-4 χρόνων σε ποσοστό 24,4% (184/753) και την ηλικιακή ομάδα άνω των 60 χρόνων (181/753, 24,0%). Τα υπόλοιπα 388 κρούσματα, κατανεμήθηκαν στις ηλικιακές ομάδες 5-59 (Πίνακας 8). Ο δε 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.

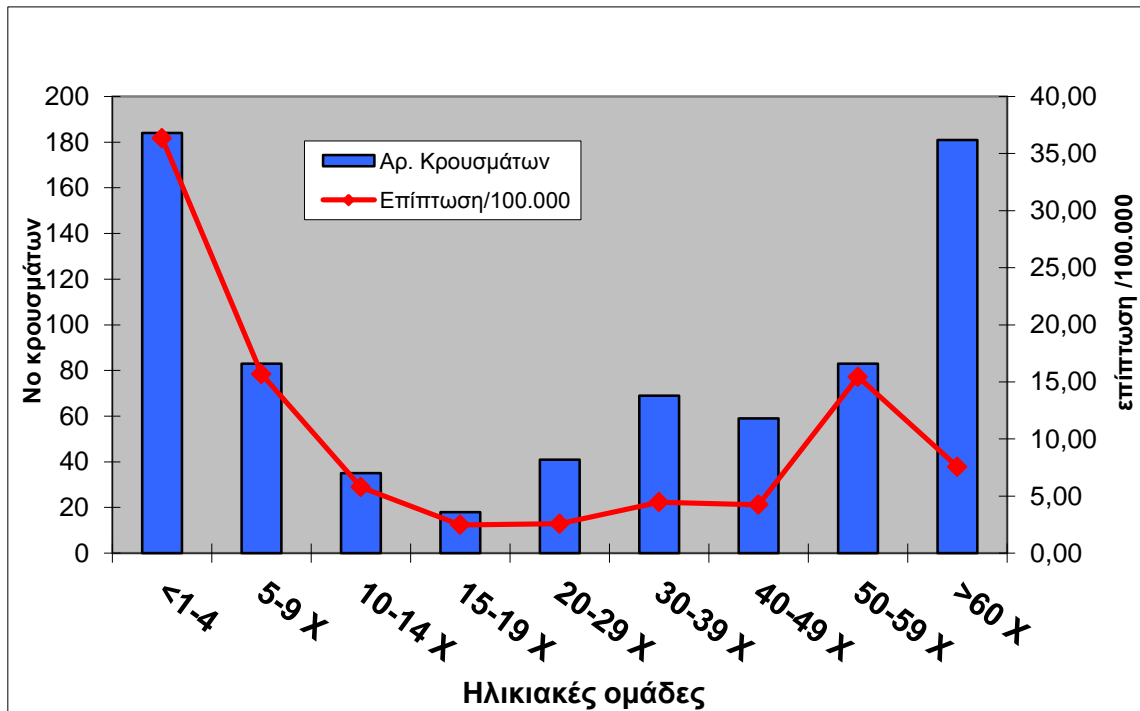
Πίνακας 8. Αριθμός κρουσμάτων πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας ανά ηλικία (2003-2011)

Ηλικιακή ομάδα	Νο κρουσμάτων	Ποσοστό (%)	Επίπτωση /100 000
<1-4	184	24,4	36,35
5-9	83	11,1	15,69
10-14	35	4,6	5,79
15-19	18	2,4	2,47
20-29	41	5,5	2,57
30-39	69	9,1	4,46
40-49	59	7,8	4,24
50-59	83	11,1	15,44
>60	181	24,0	7,57
ΣΥΝΟΛΟ	753	100	

Πίνακας 9. Επίπτωση πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας σε σχέση με την ηλικία (2006-2011).

ΕΤΟΣ / Ηλικιακή ομάδα	Νο 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)

Διάγραμμα 8. Αριθμός κρουσμάτων και επίπτωση πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας ανά ηλικία (2003-2011)



Για το έτος 2011, από τα συνολικά 46 κρούσματα μηνιγγίτιδας από *S. pneumoniae*, τα περισσότερα (10/46, 21,7%) ανήκαν στις ηλικιακές ομάδες ασθενών >60 ετών και <1-4 ετών (9/46, 19,6%) με επίπτωση 0,39 και 1,73 ανά 100 000 αντίστοιχα

Β. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΜΕΝΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗΣ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ

Στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Μηνιγγίτιδας, εξετάστηκαν **συνολικά 696 δείγματα** κατά την διάρκεια του έτους 2011. Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν με συμβατικές και μοριακές τεχνικές 696 δείγματα βιολογικών υλικών (ΕΝΥ, αίμα και πλευριτικά υγρά κλπ). Επιπλέον, ταυτοποιήθηκαν 17 μηνιγγιτιδοκοκκικά στελέχη, 7 στελέχη *S. pneumoniae*, 1 στέλεχος *H. Influenzae* και ένα στέλεχος *staphylococcus epidermidis*. Όλα τα παραπάνω προήλθαν από **618 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>	55	24	41		17	82
<i>S. pneumoniae</i>	46	22	25	Πλευριτικό υγρό=28	7	82
<i>H. Influenzae b</i>	1	0	1			1
Βακτηριακές μηνιγγ	156	53	97	πλευριτικό=8	1 Hinf 1 staph epiderm	160
Ιογενείς μηνιγγ	183	29	114			143
Αγνώστου αιτιολογίας	36	21	22	Πλευριτικό= 15, αρθρικό= 1, περκαρδικό=1		60
Εμπύρετα	141	82	84	πλευριτικό=2		168
ΣΥΝΟΛΟ	618	231	384	55	26	696



Neisseria meningitidis

Από τα 696 δείγματα βιολογικών υλικών, επιβεβαιώθηκαν ως **θετικά για *N. meningitidis* (με PCR) τα 65 δείγματα** προερχόμενα από **55 ασθενείς** με ύποπτη, πιθανή ή βεβαιωμένη κλινική εικόνα μηνιγγιτιδοκοκκικής μηνιγγίτιδας.

1. Φαινοτυπικά Χαρακτηριστικά-Οροομάδες

Από τα 17 μηνιγγιτιδοκοκκικά στελέχη τα οποία εστάλησαν, στα 9 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 **39 κρούσματα**. Στην **οροομάδα Β** ανήκε ποσοστό 89,7 % (35/39) των περιπτώσεων στην **οροομάδα C** το 5,1 (2/39) των στελεχών/βιολογικών υλικών και στην οροομάδα Α ανήκε 1 (1/39, 2,6%).

Κανένα από τα στελέχη/ βιολογικά υλικά δεν τυποποιήθηκε για τις οροομάδες W-135 και Y, ενώ ένα μικρό ποσοστό 2,6% (1/39) ήταν μη τυποποιήσιμο ως προς τις οροομάδες (non-groupable, NG) **(Πίνακας 11)**.

Πίνακας 11 : Ορολογική τυποποίηση μηνιγγιτιδοκόκκων κατά το έτος 2011
(με συμβατικές και μοριακές τεχνικές)

Οροομάδες	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2011	
	Αριθμός στελεχών/ βιολ. υλικών	%
A	1	2,6
B	35	89,7
C	2	5,1
W-135	0	0
Y	0	0
N.G.	1	2,6
Σύνολο	39	100

Παρατήρηση: 1 επιπλέον δείγμα επιβεβαιώθηκε με καλλιέργεια σε περιφερειακό νοσοκομείο και δεν εστάλη στο ΕΚΑΜ για περαιτέρω τυποποίηση (οροομάδα, ορότυπος, υπότυπος).

Πίνακας 12. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά *N. meningitidis* που απομονώθηκαν στην Ελλάδα (1993 – 2011).

ΕΤΟΣ	Στελέχη /βιολ. (No)	Επικρατούντες φαινοτυπικοί χαρακτήρες- ΟΡΟΜΑΔΕΣ				
		B	C	A	W-135 και Y	NG
		No (%)	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)

Θνητότητα ανά οροομάδα

Η **θνητότητα** του μηνιγγιτιδοκόκκου ανά οροομάδα ήταν μηδενική. Το μοναδικό θανατηφόρο κρούσμα δεν εστάλη 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 2011			
	Αριθμός ασθενών	Αριθμός θανάτων	%	Θνητότητα
A	1	0		
B	35	0	0	0
C	2	0		
W-135	0	0		
Y	0	0		
N.GROUP	1	0		
Σύνολο	39	1		2,56

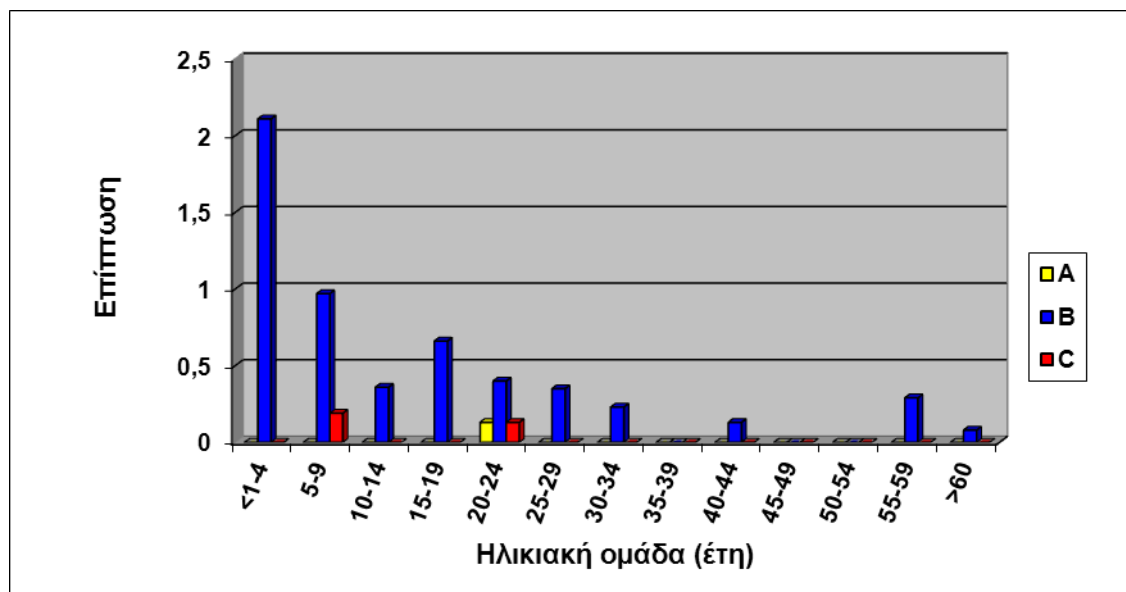
Στον **Πίνακα 14** και στο **διάγραμμα 9**, απεικονίζεται η επίπτωση / 100.000 κατοίκους των οροομάδων του μηνιγγιτιδοκόκκου ανά ηλικιακή ομάδα.

Πίνακας 14: Κατανομή σε οροομάδες (SG) του μηνιγγιτιδοκόκκου και επίπτωση (rate) ανά 100.000 κατοίκους κατά πενταετείς ηλικιακές ομάδες (Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2011)

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘ.	A	rate*	B	rate	C	rate	W	rate	Y	rate	NG	rate
0-4	521113	0	0	11	2,11	0	0	0	0	0	0	0	0
5-9	516872	0	0	5	0,97	1	0,19	0	0	0	0	1	0,19
10-14	557841	0	0	2	0,36	0	0	0	0	0	0	0	0
15-19	603948	0	0	4	0,66	0	0	0	0	0	0	0	0
20-24	749359	1	0,13	3	0,40	1	0,13	0	0	0	0	0	0
25-29	845178	0	0	3	0,35	0	0	0	0	0	0	0	0
30-34	865538	0	0	2	0,23	0	0	0	0	0	0	0	0
35-39	878355	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40-44	797489	0	0	1	0,14	0	0	0	0	0	0	0	0
45-49	782173	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50-54	715016	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
55-59	679735	0	0	2	0,29	0	0	0	0	0	0	0	0
>60	2591312	0	0	2	0,08	0	0	0	0	0	0	0	0
ΣΥΝΟΛΟ	11103929	1	0,01	35	0,32	2	0,02	0	0	0	0	1	0,01

*rate: επίπτωση

Διάγραμμα 9. Επίπτωση ανά ηλικία και ορομάδα (ανά 100,000 κατ) της *N. meningitidis* κατά το έτος 2011.



2. Φαινοτυπικά Χαρακτηριστικά-Ορότυποι/Υπότυποι

Από τα 17 στελέχη τα οποία εστάλησαν στο ΕΚΑΜ το έτος 2011, έγινε φαινοτυπική διερεύνηση για την «παρουσία» επιδημικού κλώνου.

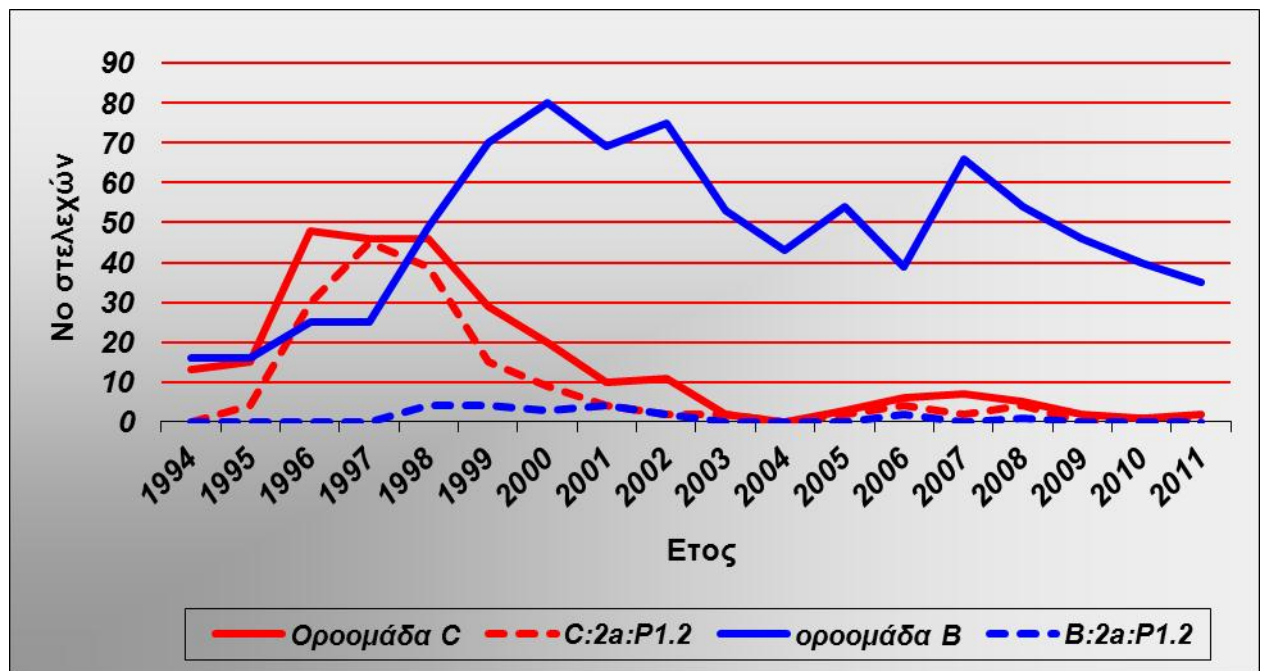
Η πλειοψηφία των στελεχών της ορομάδας B ανήκε στους φαινότυπους B:4:P1.4/NT και B:15:P1.7(7/17, 41.1%; έκαστος) ενώ κανένα από τα στελέχη της ορομάδας B με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά «επιδημικού κλώνου» δηλ B:2a:P1.2 δεν απομονώθηκε κατά το έτος 2011 (πίνακας 15).

Από τα 2 στελέχη ορομάδας C ένα στέλεχος ανήκε στον επιδημικό κλώνο C:2a:P1.5 (Πίνακας 15, Διάγραμμα 10).

Πίνακας 15. Επικρατέστερα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των μηνιγγιτιδοκοκκικών στελεχών τα οποία απομονώθηκαν το έτος 2011

ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ (ΟΡΟΜΑΔΑ, ΟΡΟΤΥΠΟΣ/ΥΠΟΤΥΠΟΣ)	ΑΡ. ΣΤΕΛΕΧΩΝ	ΠΟΣΟΣΤΟ (%)
B:4	7	41,1
B:15	7	41,1
Άλλοι ορότυποι	3	17,8
ΣΥΝΟΛΟ	17	100

Διάγραμμα 10. Παρακολούθηση του επιδημικού κλώνου στην Ελλάδα (1993-2011).

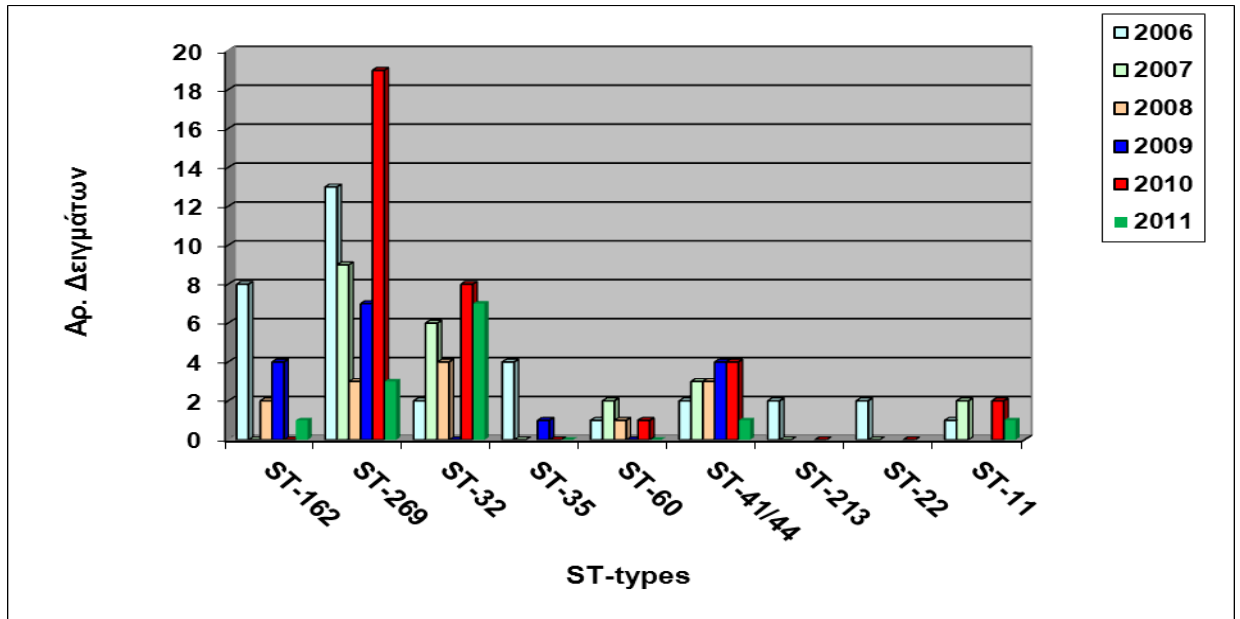


3. Γονοτυπικά χαρακτηριστικά

3.1. 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 οροομάδα, ανήκουν στον ίδιο κλώνο (Sequence type 11). Παρατηρήθηκε μείωση των κρουσμάτων από ST-269 cc (επικρατέστερος το 2010) και αύξηση του ST-32 cc (δεύτερος επικρατέστερος το 2010). (Διάγραμμα 11).

Διάγραμμα 11. Επικρατέστεροι Sequence Types (ST) στην Ελλάδα (2006-2011)



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

Σκοπός της μοριακής τεχνικής είναι ανεύρεση της γενετικής συγγένειας ανάμεσα στα στελέχη ή βιολογικά υλικά θετικά για *N. meningitidis* η οποία βασίζεται στην μεταβολή των αλληλουχιών των μεταβλητών περιοχών που κωδικοποιούν την πρωτεΐνη *porA*. Βάση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν, ο κλώνος 19-1, 15-11 36, επικρατεί στα στελέχη και τα βιολογικά υλικά θετικά για *N. meningitidis* ορομάδας B, ακολουθούμενος από τον κλώνο 19-1, 15-11, 35 για τις μεταβλητές περιοχές 1, 2 και 3 αντίστοιχα ενώ για τα 2 δείγματα ορομάδας C δεν υπήρξε επικρατέστερος κλώνος.

3.3. Εφαρμογή των μοριακών τεχνικών για την τυποποίηση της *Neisseria meningitidis* σε περιπτώσεις εμφάνισης δύο ή περισσότερων κρουσμάτων στον ίδιο χώρο (σχολεία, παιδικό 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 αλληλούχησης του γονιδίου *porA* (*porA* sequencing typing)

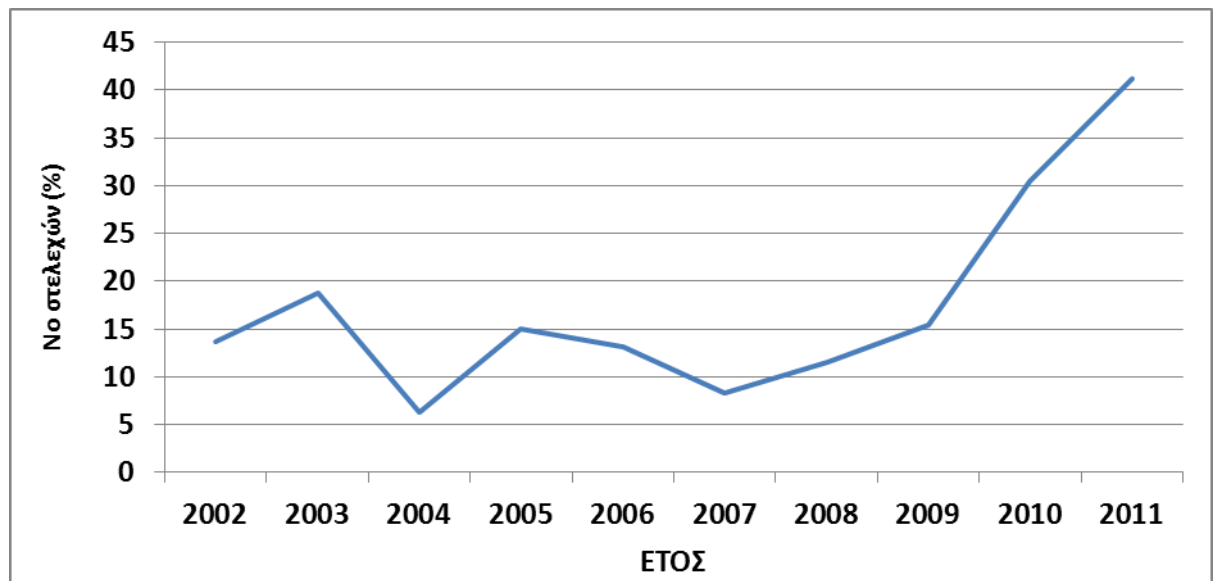
4. Ευαισθησία στα αντιβιοτικά.

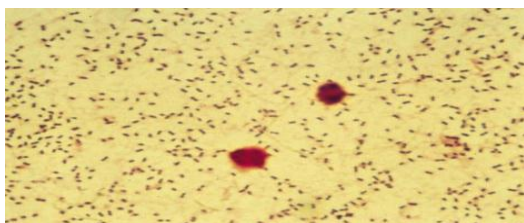
Η ευαισθησία των στελεχών στα αντιβιοτικά παρακολουθείται στενά μετά την εμφάνιση στελεχών ανθεκτικών στην πενικιλίνη και ριφαμπικίνη όπως έχουν ήδη εμφανιστεί στην Ισπανία τα τελευταία χρόνια.

Σε όλα τα στελέχη εφαρμόζεται η μέθοδος της Ελάχιστης Ανασταλτικής Πυκνότητας (MIC) σε 10 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 7 από τα 17 στελέχη (41,2) είχαν μειωμένη ευαισθησία στην πενικιλίνη (MIC ≥ 0.094 mg/ml), ποσοστό αυξημένο σε σχέση με τα προηγούμενα έτη (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 2002-2011.





Streptococcus pneumoniae

Η αύξηση των κρουσμάτων 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. Έτσι, **για πνευμονιόκοκκο** από τα 75 κρούσματα (46 μηνιγγίτιδες και 29 πνευμονίες) επιβεβαιώθηκαν **(με PCR) τα 33 (71,73%) κρούσματα μηνιγγίτιδας** και 29 κρούσματα πνευμονίας.

Περαιτέρω, έγινε η μοριακή τους τυποποίηση ως προς τους 9 συχνότερους ορότυπους, δεδομένου ότι 6 ορότυποι περιλαμβάνονται στο 7δύναμο συζευκτικό εμβόλιο και είναι σημαντική η επιδημιολογική διερεύνηση και παρακολούθηση της τάσης των ορότυπων που επικρατούν μετά τον εμβολιασμό.

Στον **πίνακα 16** φαίνονται οι επικρατέστεροι ορότυποι του πνευμονιοκόκκου κατά το έτος 2011.

Πίνακας 16. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν Μηνιγγίτιδα/πνευμονία κατά το έτος 2011.

Ορότυπος	Μηνιγγίτιδες (%)		Πνευμονίες (%)		ΣΥΝΟΛΟ (%)
6	4	12,1	0		4 (6,4)
19F	1	3,0	0		1 (1,6)
3*	0		4	13,8	4 (6,4)
14	4	12,1	1	3,4	5 (8,1)
23 F	0		0		0
18	0		0		0
19A*	3	9,1	12	41,4	15 (24,2)
4	0		0		0
1*	1	3,0	5	17,2	6 (9,7)
7 F	1	3,0	0		1 (1,6)
Άλλοι ορότυποι	19	57,6	7	24,1	26 (41,9)
ΣΥΝΟΛΟ	33	100	29	100	62 (100)

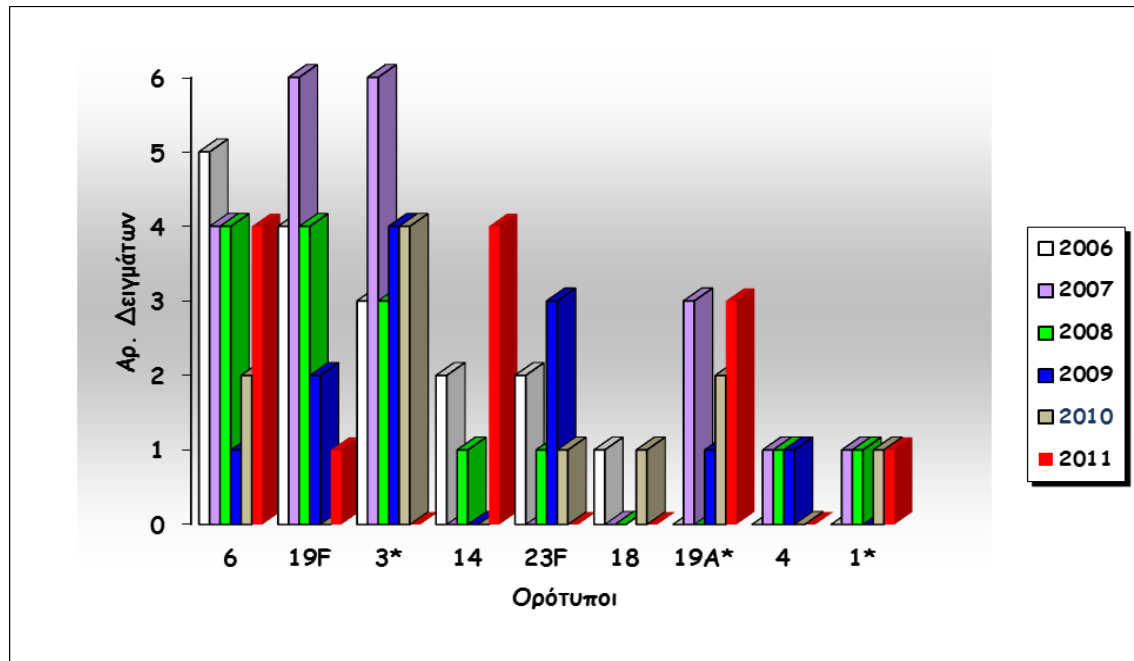
*Ορότυποι οι οποίοι δεν συμπεριλαμβάνονται στο 7δύναμο πνευμονιοκοκκικό συζευγμένο Εμβόλιο αλλά συμπεριλαμβάνονται στο συζευγμένο 13δύναμο εμβόλιο

** Τα 13 δείγματα ήταν θετικά ως προς την καλλιέργεια αλλά δεν εστάλησαν στο ΕΚΑΜ για περαιτέρω τυποποίηση ως προς τον ορότυπο

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι οι επικρατέστεροι ορότυποι επί του συνόλου για το έτος 2011 είναι οι **19A (24,2%) και 1 (9,7%)**. Αναλυτικότερα, για τις **μηνιγγίτιδες** που προκαλούνται από πνευμονιόκοκο, επί του συνόλου των 33 δειγμάτων, τυποποιήθηκαν ως προς τον ορότυπο ποσοστό 42,4% (14/33). Οι

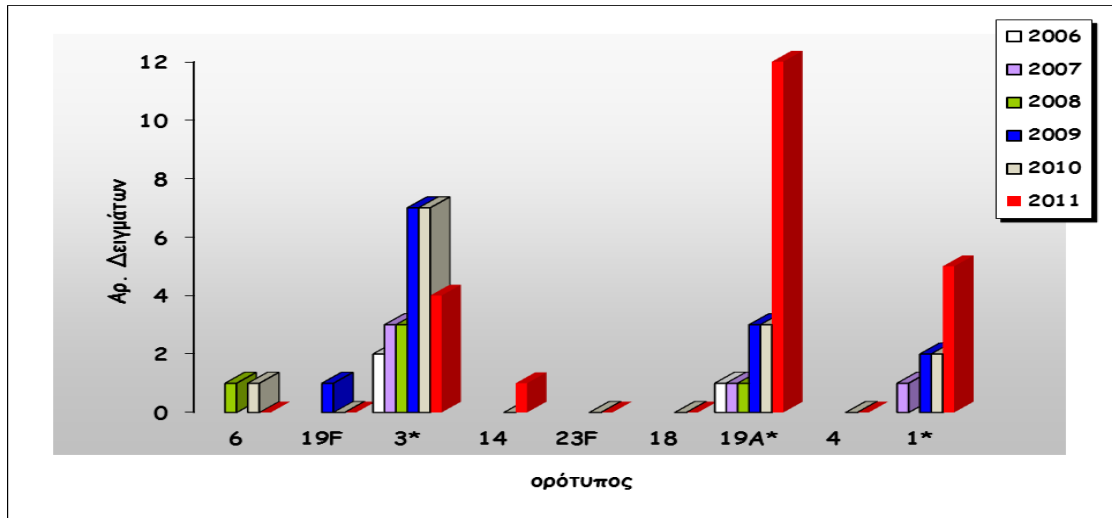
κυριότεροι ορότυποι ήταν: ο **6**, ο **14** (12,1%, 4/33) και ο **19A** 3/33, 9,1%). (Διάγραμμα 13).

Διάγραμμα 13. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν μηνιγγίτιδα στην Ελλάδα την τελευταία 5ετία (2006-2011).



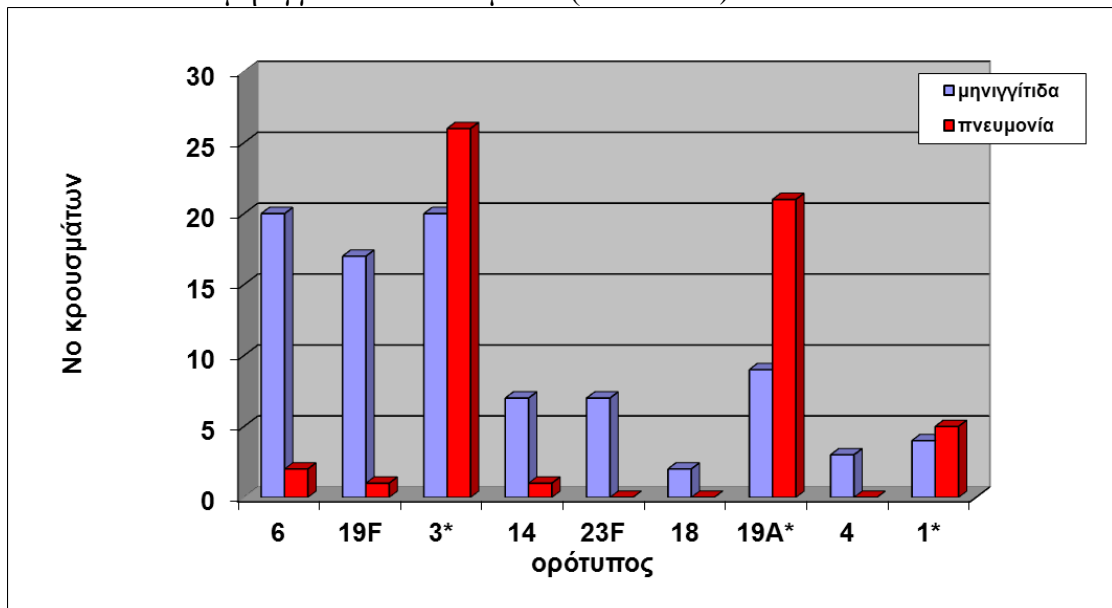
Όσον αφορά τις *πνευμονίες* που προκαλούνται από πνευμονιόκοκο, επί του συνόλου των 29 δειγμάτων, τυποποιήθηκε ως προς τον ορότυπο ποσοστό 75,9% (22/29). Από αυτά, το 72,4% ανήκε στους οροτύπους **19A** (12/29, 41,4%), **1** (5/29, 17,2%) και **3** (4/29, 13,8%) οι οποίοι δεν συμπεριλαμβάνονται στο 7δύναμο συζευγμένο εμβόλιο, περιλαμβάνονται όμως στο νέο 13δύναμο συζευγμένο εμβόλιο (διάγραμμα 14).

Διάγραμμα 14. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν πνευμονία στην Ελλάδα την τελευταία 5ετία (2006-2011)



Από τα συνολικά δεδομένα μιας δετίας (2005-2011) φαίνεται ότι μηνιγγίτιδα προκαλούν μία πληθώρα οροτύπων ενώ αντίθετα, στις πνευμονίες επικρατούν οι ορότυποι 3, 19A και 1 (**Διάγραμμα 15**).

Διάγραμμα 15. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν μηνιγγίτιδα και πνευμονία (2006-2011).

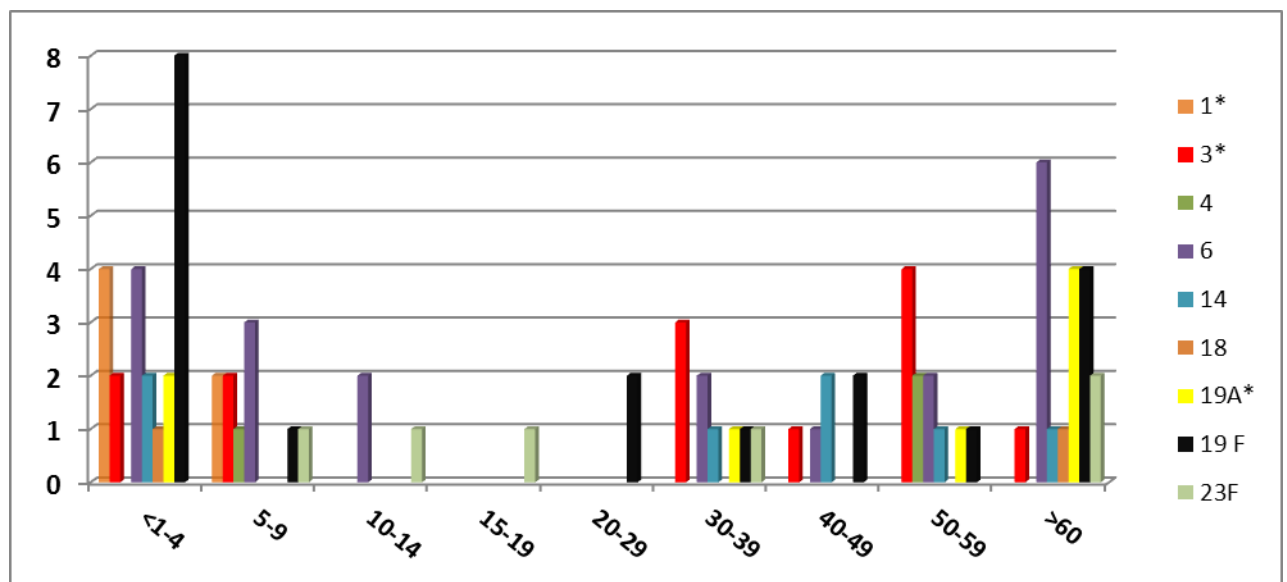


Ανάλυση των οροτύπων σε σχέση με την ηλικία για την πενταετία 2006-2011, προκύπτει ότι ο **ορότυπος 3** επικρατεί στις ηλικιακές ομάδες <1-4 και 5-9 ετών (**πίνακας 17, διάγραμμα 15**) με επόμενους οροτύπους τους **6, 19F και 19A**. Σημαντικό είναι το γεγονός ότι οι ορότυποι 3 και 19A δεν συμπεριλαμβάνονται στο 7δύναμο συζευγμένο εμβόλιο. Όσον αφορά τις μεγαλύτερες ηλικίες, οι ορότυποι 6 και 19F είναι οι επικρατέστεροι (**πίνακας 17, διάγραμμα 16**).

Πίνακας 17: Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν μηνιγγίτιδα ανά ηλικία μηνιγγίτιδα (2006-2011).

ΟΜΑΔΑ (έτη) /Ορότυπος	1*	3*	4	6	14	18	19A*	19 F	23F	NT
<1-4	4	2		4	2	1	2	8		18
5-9	2	2	1	3				1	1	20
10-14				2					1	13
15-19									1	5
20-29								2		7
30-39		3		2	1		1	1	1	5
40-49		1		1	2			2		7
50-59		4	2	2	1		1	1		11
>60		1		6	1	1	4	4	2	21
ΣΥΝΟΛΟ	6	13	3	20	7	2	8	19	6	107

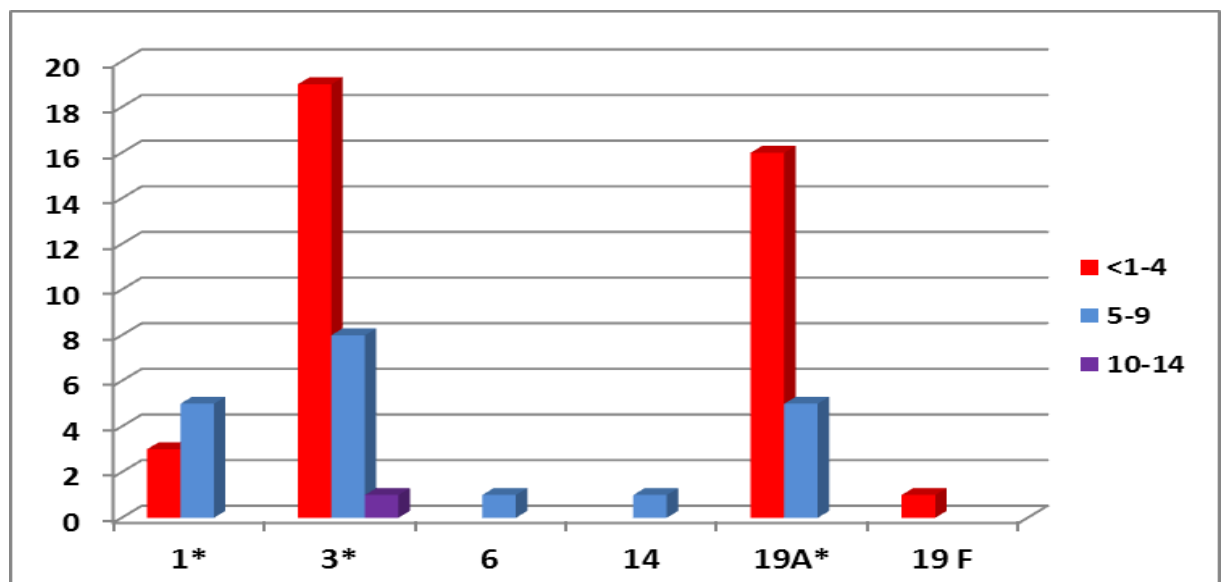
Διάγραμμα 16: Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν μηνιγγίτιδα (επί των 84 θετικών για ορότυπο δειγμάτων) ανά ηλικία (2006-2011).



Πίνακας 18: Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν πνευμονία ανά ηλικία (2006-2011)

ΟΜΑΔΑ (έτη) /Ορότυπος	1*	3*	4	6	14	18	19A*	19 F	23F	NT
<1-4	3	19					16	1		17
5-9	5	8		1	1		5			12
10-14		1								
15-19										
20-29										
30-39										
40-49										
50-59										
>60										
ΣΥΝΟΛΟ	8	28	0	1	1	0	21	1	0	29

Διάγραμμα 17. Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου που προκαλούν πνευμονία (επί των 60 θετικών για ορότυπο δειγμάτων) ανά ηλικία (2006-2011).



✚ Βακτηριακές μηνιγγίτιδες άλλης αιτιολογίας

Το Κέντρο Αναφοράς στην προσπάθειά του να τυποποιήσει 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 spp.*, *Listeria monocytogenes* *Staphylococcus aureus*. απευθείας σε βιολογικά υλικά (Xirogianni και συν. 2009).

Από τα 155 δηλωμένα κρούσματα βακτηριακής μηνιγγίτιδας άλλης αιτιολογίας, τα 109 (70,4%) εστάλησαν στο ΕΚΑΜ για περαιτέρω διερεύνηση. Με την εφαρμογή της παραπάνω τεχνικής τυποποιήθηκαν ως θετικά 61 από αυτά (56%), προερχόμενα από 61 ασθενείς. Από αυτά, τα 19 ταυτοποιήθηκαν ως *Streptococcus spp.*, (εκ των οποίων 1 τυποποιήθηκε ως ομάδα Β και 1 ως ομάδα Α), 8 *Haemophilus spp.*, 9 ως *Listeria monocytogenes* και 25 δείγματα ως *Staphylococcus aureus* (Πίνακας 18).

Τα περισσότερα κρούσματα που ταυτοποιήθηκαν ως *Streptococcus spp* σημειώθηκαν στην ηλικιακή ομάδα <1-4 (7 κρούσματα) με επίπτωση 1.38 ανά 100 000 αντίστοιχα.

Παρατηρήθηκε αύξηση των κρουσμάτων μηνιγγίτιδας από *Haemophilus spp* τα οποία ήταν μη τροποποιήσιμα ως προς τον ορότυπο, NT), (Πίνακας 18)

Πίνακας 18. Κατανομή των βακτηριακών μηνιγγιτίδων και επίπτωση ανά μικροοργανισμό και ηλικιακή ομάδα (2011)

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	7	1,38			4	0,79	11	2,17	2	0,4
5-9	4	0,76			1	0,19			2	0,38
10-14							5	0,83		
15-19										
20-29	1	0,06			1	0,06	2	0,13		
30-39	2	0,13								
40-49					1	0,07	1	0,07		
50-59	1	0,08							3	0,24
>60	4	0,17			2	0,08	6	0,25	1	0,04
ΣΥΝ	19	0,18	0		9	0,09	25	0,24	8	0,08

✚ Rate: επίπτωση ανά 100 000 κατ

Από τα 5 δείγματα πλευριτικού υγρού, οι *streptococcus spp* (n=3) και *staphylococcus aureus* (n=2) ήταν κατά κύριο λόγο οι υπεύθυνοι μικροοργανισμοί για τις παραπάνω πνευμονίες. Η ηλικιακή ομάδα η οποία επηρεάστηκε ήταν τα βρέφη και νήπια ηλικίας <1-4 χρόνων.

Ιογενείς και λοιπές μηνιγγίτιδες

Ιογενείς μηνιγγίτιδες

Από τα 183 δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγίτιδας ιογενούς αιτιολογίας, επιβεβαιώθηκαν τα 10 και αφορούσαν ως επί το πλείστον εντεροϊούς.

Λοιπές μηνιγγίτιδες

Από τα 228 δείγματα προερχόμενα από 176 ασθενείς αρνητικά στην PCR, 60 δείγματα καταγράφηκαν ως αγνώστου αιτιολογίας (προερχόμενα από 36 ασθενείς) ενώ 168 δείγματα προερχόμενα από 140 ασθενείς ήταν με εμπύρετο.

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. 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.
2. Pila 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 Nov 14. [Epub ahead of print]
3. 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*. 2011 Oct 5. [Epub ahead of print]
4. 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
5. 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
6. 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.
7. 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.

8. 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.
9. 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
10. 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
11. 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.
12. Kafetzis DA, Staboulidis KN, Tzanakaki G, Kremastinou J, Sklevaki CL, Konstantopoulos A, Tsofia 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.
13. 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. meningitides*. *AAC* 2007; 51:2784-92.

14. 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
15. 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
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. 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.

23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. 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
28. 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.
29. 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.
30. 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
31. 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
32. 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

33. 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
34. 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
35. 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.
36. 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.
37. 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
38. 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.
39. 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
40. 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
41. 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
42. 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.

43. 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
44. 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
45. 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
46. 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
47. Κρεμαστινού Τ. και Τ. Τζανακάκη. Επιδημιολογικά στοιχεία της μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου στην Ελλάδα 1993-1998. Επιδημιολογικό Δελτίο Λοιμωδών Νοσημάτων Ελλάδος. 1999;13:81-82.
48. 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
49. Κρεμαστινού Τζένη, Τζωρτζίνα Τζανακάκη, Αριστέα Βελεγράκη. Η Μηνιγγιτιδοκοκκική Νόσος (βιβλίο) Αθήνα 1996
50. 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
51. 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
52. Καλλέργη Κ., Τζανακάκη Τ., 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 Εταιρείας, 1994, 39 465-474

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

- 1996. Ειδικό Βραβείο 17^{ου} Εθνικού Συνεδρίου Μικροβιολογίας**
Τζανακάκη Τ, Πάγκαλη Α, Αλεξάνδου Ε, Μπониάτση 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, Πανιάρια Ο, Κρεμαστινού Τζ. Ανάπτυξη τετραπλής PCRγια την ταυτόχρονη ανίχνευση των μικροοργανισμών *H. influenzae*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus*, *streptococcus spp* σε βιολογικά υλικά