

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

ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ

ΑΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΕΡΓΟΥ ΕΤΟΥΣ 2005

Επιστημονικοί υπεύθυνοι:

Καθ. Τζένη Κουρέα- Κρεμαστινού

Δρ Τζωρτζίνα Τζανακάκη

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 στελεχών *N.meningitidis* στον Ελληνικό πληθυσμό, καθώς επίσης και στον πληθυσμό των Βαλκανικών χωρών (Αλβανία, Βουλγαρία, Ρουμανία).
- Η μελέτη της επιδημιολογίας των στελεχών *N.meningitidis*, η έγκαιρη εντόπιση εμφάνισης ή εισαγωγής νέων οροτύπων στην Ελλάδα. 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 οροομάδες 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* και *Haemophilus influenzae type b*

4. Τεχνική του προσδιορισμού της αλληλουχίας των βάσεων (Multilocus Sequence Typing MLST) για την μοριακή τυποποίηση των στελεχών *Neisseria meningitidis*

5. Τεχνική τυποποίησης της *Neisseria meningitidis* βασισμένη στην ομοιομορφία διαδοχικών επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών του γονιδιώματος (Variable Tandem Repeats -VNTR) για την μοριακή τυποποίηση μοριακή τυποποίηση των στελεχών *Neisseria meningitidis* / βιολογικών δειγμάτων .

6. 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 και το ΚΕΕΛΠΝΟ για την συλλογή των απαραίτητων στοιχείων. Σήμερα στο Κέντρο αποστέλλονται δείγματα για τυποποίηση από το 80-90% των κρουσμάτων κυρίως μηνιγγιτιδοκοκκικής μηνιγγίτιδας.

Από την θέση αυτή θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ευχαριστίες μας αρχικά στην Ηγεσία του ΚΕΕΛΠΝΟ για την αμέριστη ηθική και οικονομική συμπαράσταση και τους γιατρούς (εργαστηριακούς και κλινικούς) όλων των νοσοκομείων της χώρας για την συνεργασία τους στην αποστολή δειγμάτων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
A. Επιδημιολογικά στοιχεία κρουσμάτων μηνιγγίτιδας	
• Αριθμός κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά μικροοργανισμό	5
• Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση	5
• Δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση ανά μήνα	7
• Μηνιαία κατανομή επίπτωσης μηνιγγίτιδας ανά αιτία	8
• Μηνιαία κατανομή επίπτωσης μηνιγγιτιδοκόκκου ανά έτος	8
• Κατηγορία περίπτωσης κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου	9
• Θνητότητα ανά αιτία και μικροοργανισμό	10
• Διαχρονικός πίνακας κρουσμάτων μηνιγγίτιδας 1993-2005	11
• Μηνιγγίτιδα από <i>Streptococcus pneumoniae</i>	12
B. Εργαστηριακός έλεγχος	13
• Τυποποίηση των μηνιγγιτιδοκόκκων ανά οροομάδα	13
• Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά <i>N. meningitidis</i> από κρούσματα 1993-2005	14
• Αριθμός θανάτων και θνητότητα ανά οροομάδα	14
• Κατανομή οροομάδων και επίπτωση κατά ηλικιακή ομάδα	15
• Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά στελεχών <i>N. meningitidis</i> (ορότυπος/υπότυπος)	16
• Ταυτοποίηση με τον προσδιορισμό της αλληλουχίας των βάσεων (Multilocus sequence typing MLST)	17
• Ευαισθησία των στελεχών στα αντιβιοτικά	17
• Εφαρμογή μοριακών τεχνικών για την τυποποίηση της <i>N. Meningitidis</i> σε περιπτώσεις εμφάνισης δύο ή περισσότερων κρουσμάτων στον ίδιο χώρο.	17
• Δημοσιεύσεις	19

Α. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ

Από τα επιδημιολογικά στοιχεία που διαθέτει το Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Μηνιγγιτίδας, κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2005, δηλώθηκαν **98** κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου (**πίνακας 1**), που αντιστοιχούν σε επίπτωση **0.93** / 100.000 κατοίκους.

Πίνακας 1: Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτίδας ανά μικροοργανισμό (έτος 2005)

Μικροοργανισμοί	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2005		
	Αριθ. Κρουσμάτων	%	Επίπτωση/100,000
Μηνιγγιτιδόκοκκος	98	15,3	0,93
Αιμόφιλος	3	0,4	0,03
Πνευμονόκοκκος	69	10,8	0,66
Μικροβιακή (άλλο βακτήριο)	185	28,9	1,76
Ιός	232	36,2	2,21
Αγνώστου αιτιολογίας	54	8,4	0,51
Σύνολο	641	100	

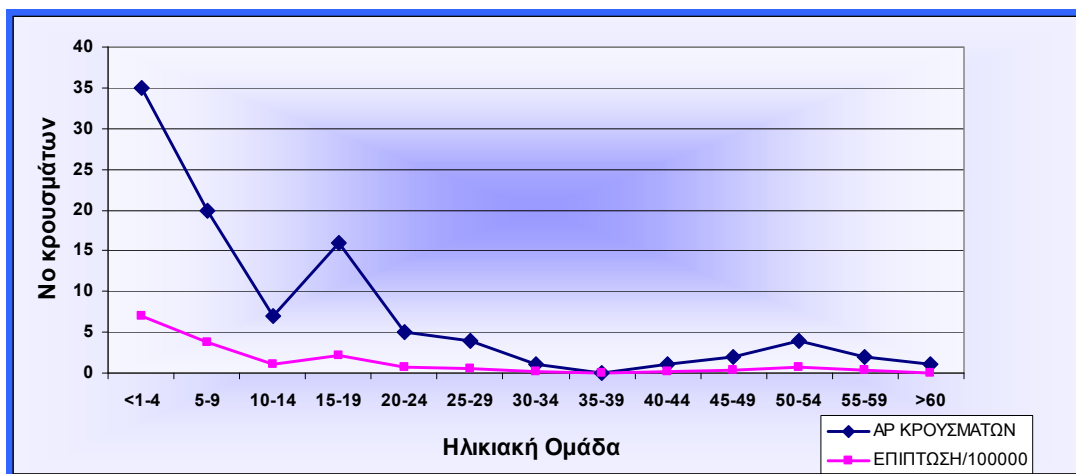
Ο αριθμός των δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και η επίπτωση κατά 5ετείς ομάδες ηλικίας φαίνονται στον **πίνακα 2** και στο **διάγραμμα 1**.

Πίνακας 2 : Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση κατά πενταετείς ομάδες ηλικίας / 100.000 κάτοικους κατά το έτος 2005

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ *	ΑΡ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ /100,000
0-4	531636	35	6,91
5-9	547241	20	3,78
10-14	588011	7	1,16
15-19	728440	16	2,2
20-24	834026	5	0,64
25-29	843609	4	0,49
30-34	871496	1	0,13
35-39	784426	0	0
40-44	781319	1	0,14
45-49	711697	2	0,30
50-54	684288	4	0,63
55-59	553901	2	0,34
>60	2503930	1	0,04
ΣΥΝΟΛΟ	10.964.020	98	0,93

* Πληθυσμός 30^{ης} Ιουνίου 1998

Διάγραμμα 1. Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση /100.000 κατ κατά 5ετείς ομάδες ηλικίας (έτος 2005)



Η ανάλυση των κρουσμάτων στην ηλικιακή ομάδα από 0-9 χρόνων φαίνονται στον πίνακα 3 και στο διάγραμμα 2.

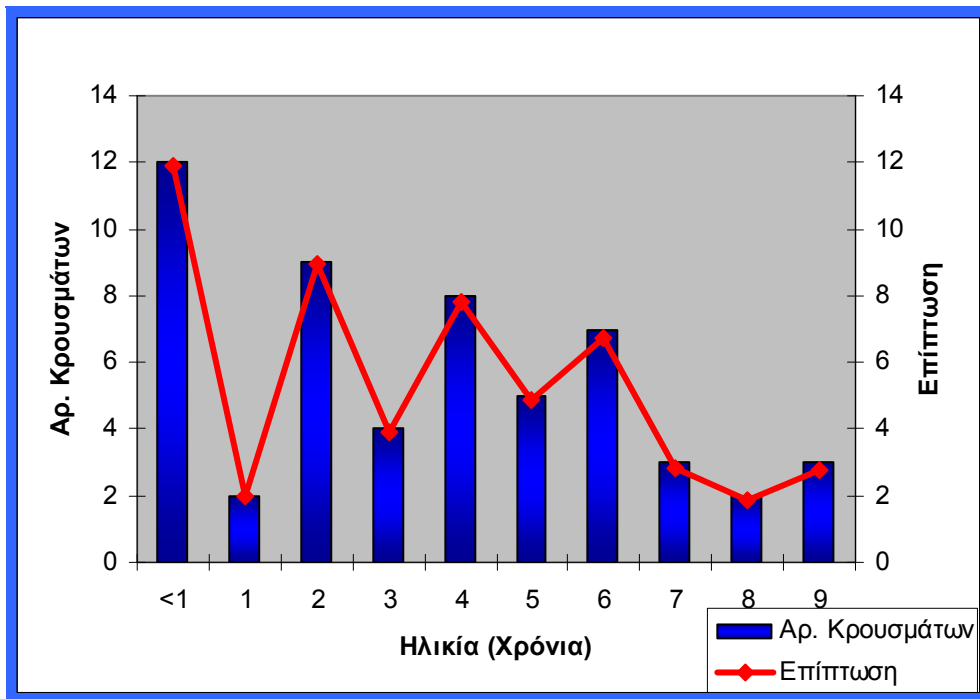
Πίνακας 3 : Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση / 100.000 κάτοικους στην ηλικιακή ομάδα 0-9 χρόνων κατά το έτος 2005

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ *	ΑΡ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ /100000
<1	100841	12	11,90
1	100732	2	1,99
2	100380	9	8,97
3	101733	4	3,93
4	102525	8	7,80
5	102843	5	4,86
6	103850	7	6,74
7	105491	3	2,84
8	107513	2	1,86
9	109371	3	2,74
Σύνολο	1.035.279	55	5,31

* Πληθυσμός 30ης Ιουνίου 1998

Διάγραμμα 2. Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση

/ 100.000 κατ στην ηλικιακή ομάδα 0-9 χρόνων (έτος 2005)

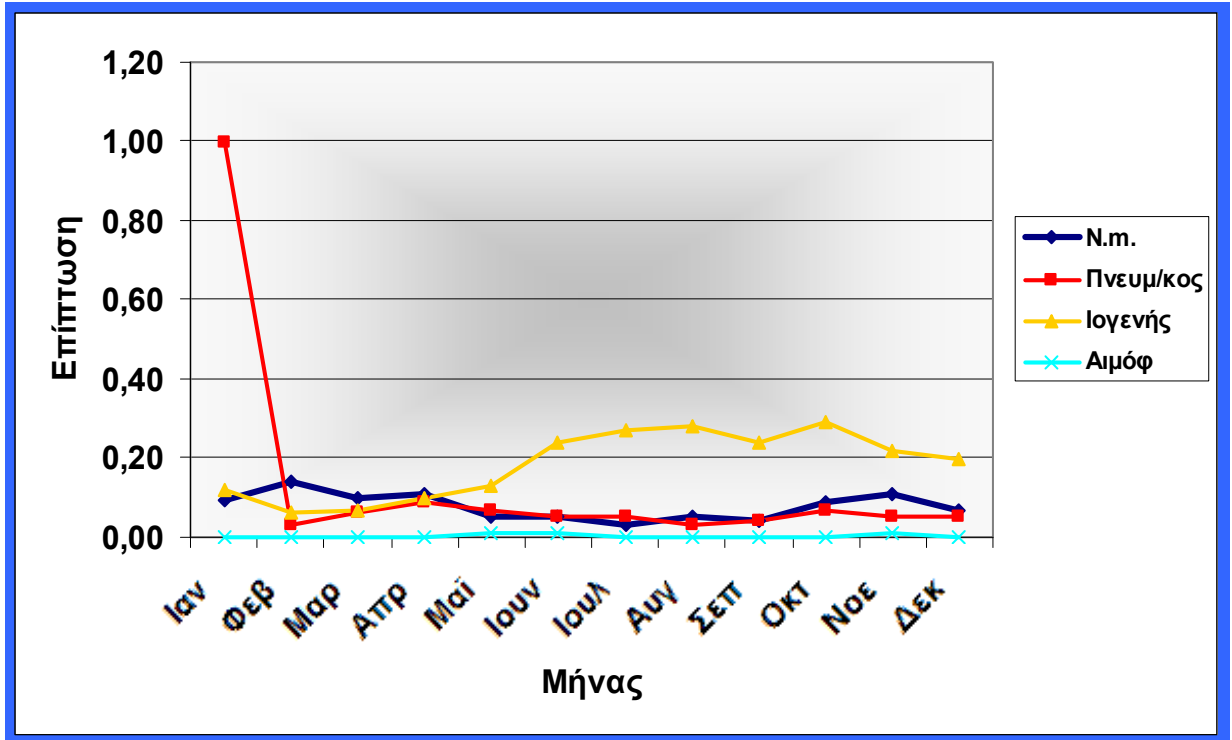


Τα περισσότερα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου σημειώθηκαν κατά τους χειμερινούς και τους πρώτους εαρινούς μήνες (πίνακας 4, διάγραμμα 3). Αντίθετα, τα κρούσματα ιογενούς μηνιγγίτιδας σημειώθηκαν ως επί το πλείστον κατά τους καλοκαιρινούς μήνες (Ιούνιο, Ιούλιο και Αύγουστο) και στα οποία η επίπτωση κυμάνθηκε σε κανονικά επίπεδα (διάγραμμα 3), σε σχέση με τα προηγούμενα έτη.

Πίνακας 4: Δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση (ανά 100.000 κατ.) ανά μήνα κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2005

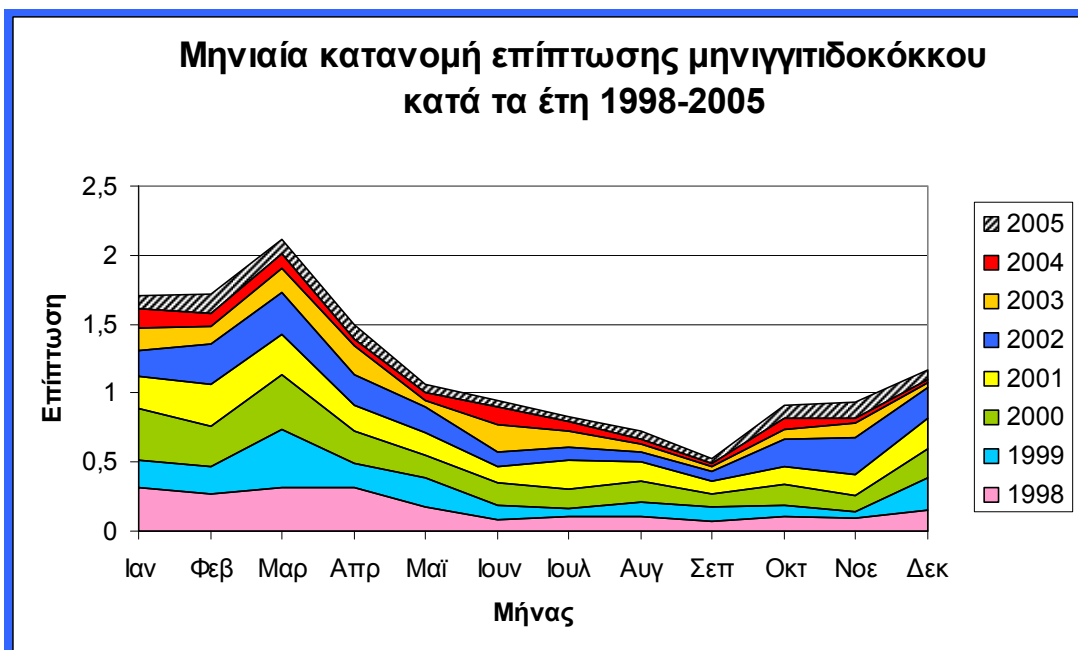
Μήνες	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ ΜΗΝ/ΚΟΚ ΝΟΣΟΥ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ
Ιανουάριος	10	0,095
Φεβρουάριος	15	0,14
Μάρτιος	11	0,10
Απρίλιος	12	0,11
Μάιος	5	0,05
Ιούνιος	5	0,05
Ιούλιος	3	0,03
Αύγουστος	5	0,05
Σεπτέμβριος	4	0,04
Οκτώβριος	9	0,09
Νοέμβριος	12	0,11
Δεκέμβριος	7	0,07
Σύνολο	98	0,93

Διάγραμμα 3. Μηνιαία κατανομή επίπτωσης δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά αιτία έτους 2005



Στο **διάγραμμα 4**, φαίνεται η μηνιαία κατανομή επίπτωσης της μηνιγγιτιδοκικκικής νόσου κατά τα έτη 1998-2005.

Διάγραμμα 4.

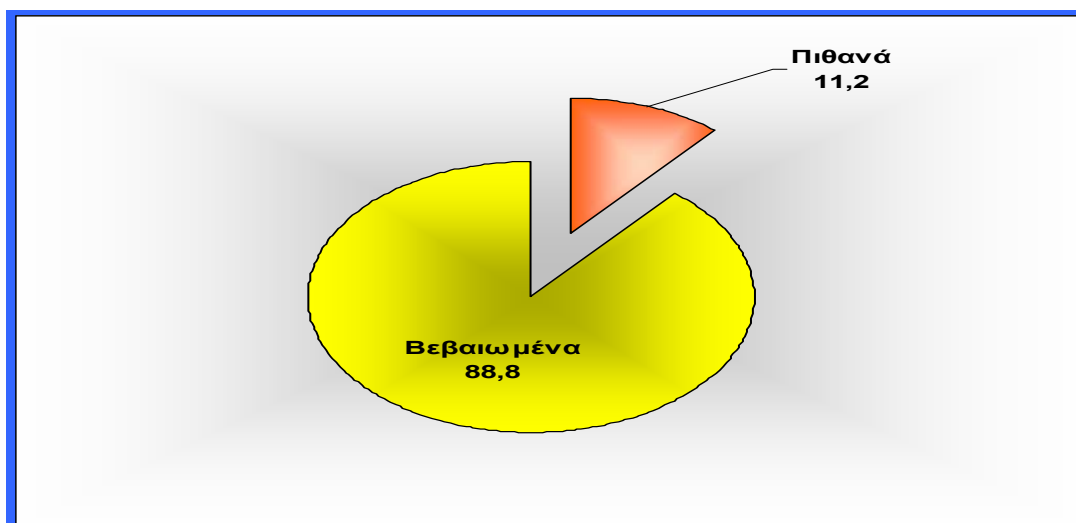


Τα δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου σύμφωνα με τους επιδημιολογικούς ορισμούς κατατάχθηκαν ως πιθανά σε ποσοστό **11,2 %** και επιβεβαιωμένα σε ποσοστό **88,8 %**, ενώ κανένα από τα παραπάνω κρούσματα δεν κατάχθηκαν στην κατηγορία των **ύποπτων κρουσμάτων**.(**Πίνακας 5, Διάγραμμα 5**).

Πίνακας 5: Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου

Διάγνωση	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2005	
	Αριθμός κρουσμάτων	%
Υποπτα	0	0
Πιθανά	11	11,2
Βεβαιωμένα	87	88,8
Σύνολο	98	100

Διάγραμμα 5. Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου



Σε σχέση με τα προηγούμενα έτη, παρατηρήθηκε περαιτέρω αύξηση του ποσοστού των βεβαιωμένων κρουσμάτων σε σχέση με τα πιθανά κρούσματα. Σε αυτό βοήθησε σε ένα σημαντικά μεγάλο βαθμό η εφαρμογή της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) στο Κέντρο Αναφοράς. Επίσης με την εφαρμογή της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Real-time PCR), μειώθηκε σημαντικά ο χρόνος επιβεβαίωσης των κρουσμάτων σε λιγότερο από 2 ώρες.

ΘΝΗΤΟΤΗΤΑ :

Η συνολική θνητότητα από μηνιγγίτιδα (οιασδήποτε αιτιολογίας) κυμάνθηκε κατά το 2005 στο **0,31 %** (Πίνακας 6).

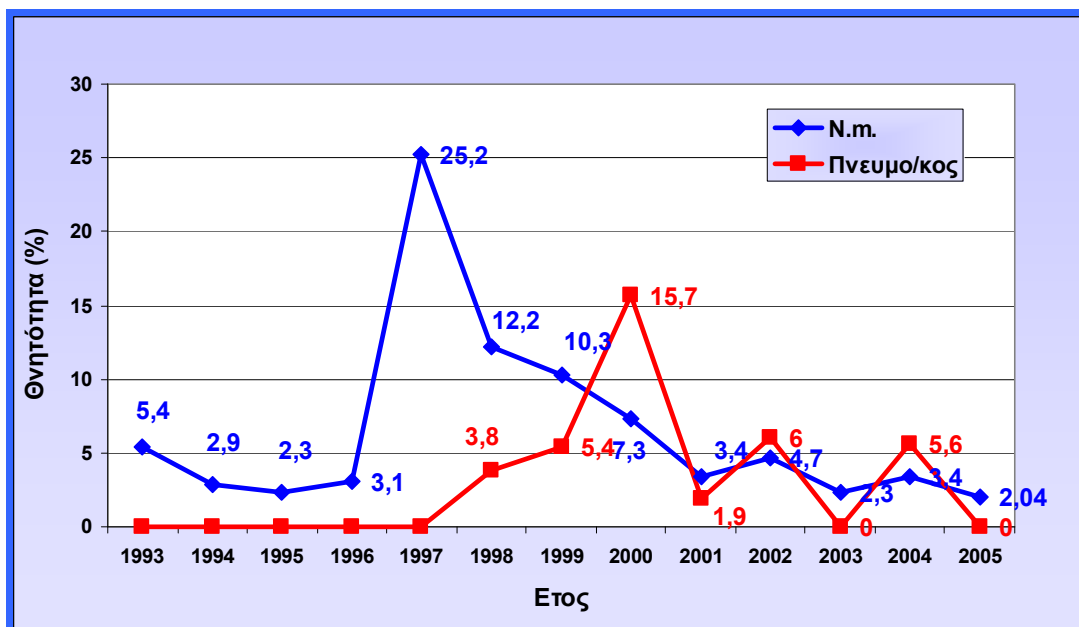
Πίνακας 6 : Αριθμός δηλωθέντων θανάτων μηνιγγίτιδας ανά μικροοργανισμό κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2005

Μικροοργανισμοί	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2005			Θνητότητα
	Αριθμός κρούσμάτων	Αριθμός θανάτων	%	
Μηνιγγιτιδόκοκκος	98	2	100	2,04
Αιμόφιλος	3	0	0	0
Πνευμονιόκοκκος	69	0	0	0
Μικροβιακή (άλλο βακτήριο)	185	0	0	0
Ίος	232	0	0	0
Αγνώστου αιτιολογίας	54	0	0	0
Σύνολο	641	2	0	0,31

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, τα 2 θανατηφόρα κρούσματα προκλήθηκαν από μηνιγγιτιδόκοκκο-

Η θνητότητα από μηνιγγιτιδόκοκκο και πνευμονιόκοκκο της τελευταίας 12ετίας φαίνεται στο **διάγραμμα 6**.

Διάγραμμα 6.



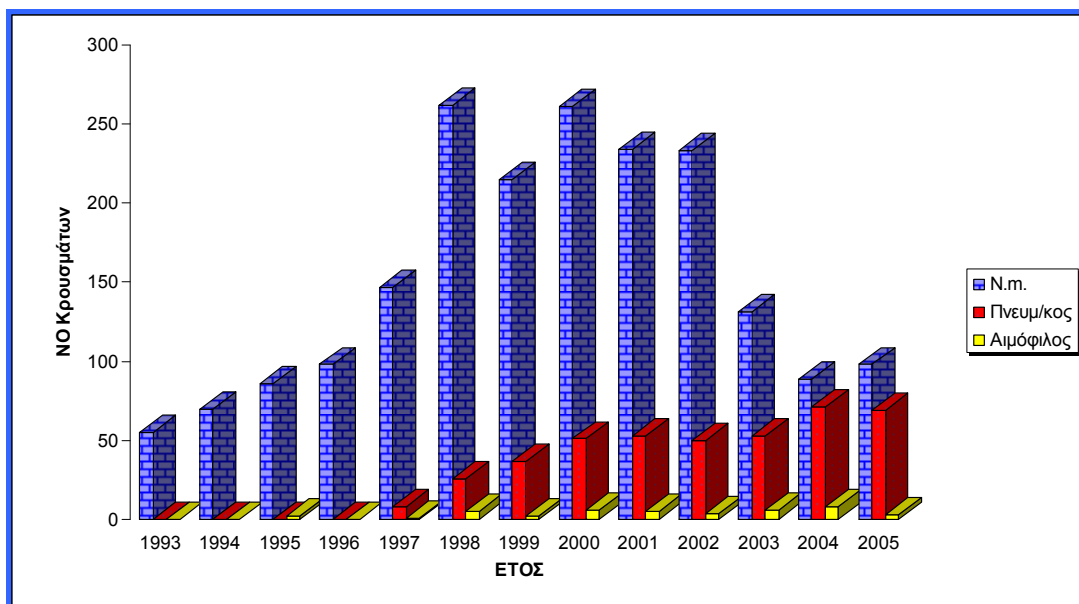
Διαχρονική πορεία δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας

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 παρατηρείται αύξηση των κρουσμάτων το 2005. Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του αριθμού κρουσμάτων μηνιγγίτιδας από πνευμονιόκοκκο από το έτος 2000 και μετά ενώ ο αριθμός των δηλωθέντων κρουσμάτων για το έτος 2005 παρέμεινε σταθερός σε σχέση με τα κρούσματα που δηλώθηκαν το 2004 (πίνακας 7, διάγραμμα 7).

Πίνακας 7. Δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγίτιδας 1993- 2005

ΕΤΟΣ	Σύνολο κρουσμάτων	<i>N. meningitidis</i>	Πνευμ/κος	Αιμόφιλος	Άλλες	Ιογενείς
1993	55	55	NA	NA	NA	NA
1994	70	70	NA	NA	NA	NA
1995	138	86	NA	2	34	16
1996	133	98	NA	0	20	15
1997	225	147	8	1	1	68
1998	393	262	26	5	38	62
1999	640	215	37	2	124	262
2000	855	261	51	6	131	406
2001	1429	234	53	5	125	984
2002	702	233	50	4	80	276
2003	518	131	53	6	102	188
2004	544	89	71	8	146	199
2005	641	98	69	3	185	232

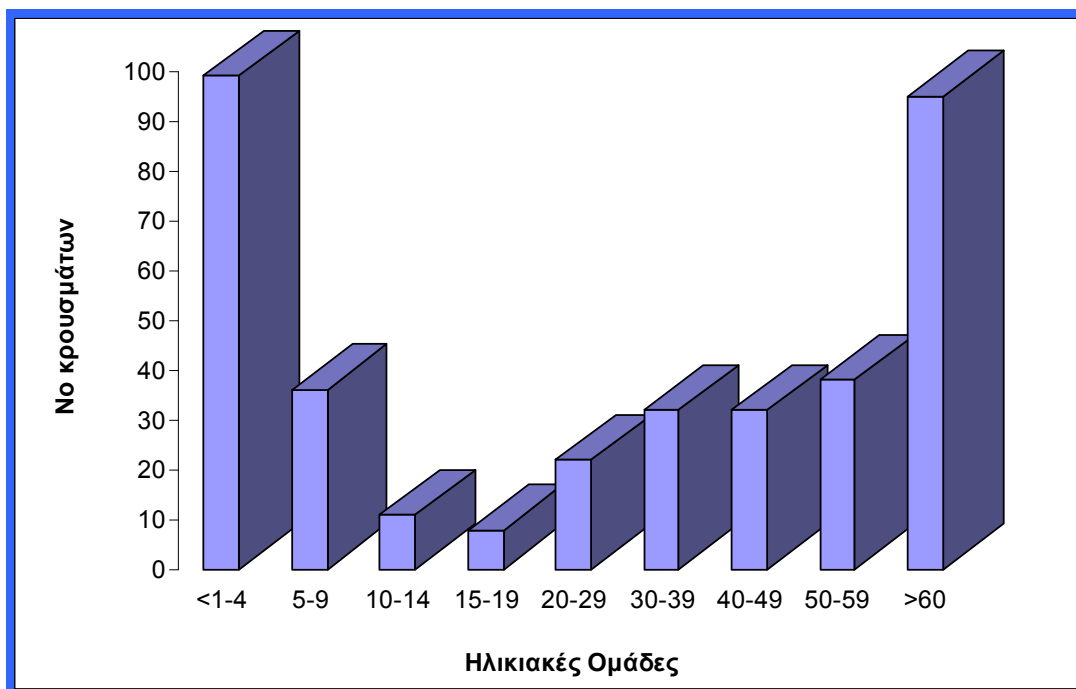
Διάγραμμα 7. Δηλωθέντα κρούσματα βακτηριακής μηνιγγίτιδας 1993-2005



Μηνιγγίτιδα από *Streptococcus pneumoniae*

Η αύξηση των κρουσμάτων των τελευταίων ετών από *Streptococcus pneumoniae*, οδήγησε στην ανάγκη για την ανάλυση των κρουσμάτων ανά ηλικία (Διάγραμμα 8).

Διάγραμμα 8. Κρούσματα πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας ανά ηλικία (1999-2005)



Από τα 373 στελέχη πνευμονιοκόκκου που απομονώθηκαν τα 6 τελευταία χρόνια, τα 194 (52%) αφορούσαν 2 ηλικιακές ομάδες: την ηλικιακή ομάδα <1-4 χρόνων σε ποσοστό 26,5% (99/373) και την ηλικιακή ομάδα άνω των 60 χρόνων (95/373, 25,5%). Τα υπόλοιπα 179 στελέχη, κατανεμήθηκαν στις υπόλοιπες ηλικιακές ομάδες (Πίνακας 8).

Πίνακας 8.

Ηλικιακή ομάδα	Νο κρουσμάτων	Ποσοστό (%)
<1-4	99	26,5
5-9	36	9,7
10-14	11	0,26
15-19	8	2,14
20-29	22	5,9
30-39	32	8,6
40-49	32	8,6
50-59	38	10,2
>60	95	25,5
ΣΥΝΟΛΟ	373	100

Β. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Μηνιγγίτιδας, εξετάστηκαν **συνολικά 532 δείγματα** κατά την διάρκεια του έτους 2005. Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν με συμβατικές και μοριακές τεχνικές, 485 δείγματα βιολογικών υλικών (ΕΝΥ, αίμα και πλευριτικό υγρό) καθώς επίσης και αιμοκαλλιέργειες και 47 μηνιγγιτιδοκοκκικά στελέχη **από 370 ασθενείς**.

Από τα 485 δείγματα βιολογικών υλικών, επιβεβαιώθηκαν **ως θετικά για *N. meningitidis* (με PCR) τα 110 δείγματα** τα οποία προερχόταν από **82 ασθενείς** με ύποπτη, πιθανή ή βεβαιωμένη κλινική εικόνα μηνιγγιτιδοκοκκικής μηνιγγίτιδας. Επιπλέον, επιβεβαιώθηκαν **(με PCR) 44 δείγματα πνευμονιοκόκκου και 2 δείγματα αιμοφίλου της ινφλουένζας τύπου β** τα οποία προήλθαν από 31 ασθενείς.

Από τα υπόλοιπα 329 αρνητικά δείγματα, τα περισσότερα αφορούσαν ιογενή ή άλλη μικροβιακή μηνιγγίτιδα.

Από τα 40 μηνιγγιτιδοκοκκικά στελέχη τα οποία εστάλησαν, στα 23 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 **80 δείγματα**. Συγκεκριμένα, στην **οροομάδα Β** ανήκε ποσοστό **67,5 %** των περιπτώσεων, και ποσοστό 3,8% (3/80) των στελεχών/βιολογικών υλικών ανήκε στην **οροομάδα C (Πίνακας 9)**.

Το ποσοστό των στελεχών **οροομάδας Α** (5%) κυμάνθηκε στα ίδια επίπεδα σε σχέση με τον προηγούμενο χρόνο (4,8 %) (**Πίνακας 10**).

Πίνακας 9 : Ορολογική τυποποίηση μηνιγγιτιδοκόκκων κατά το έτος 2005
(με συμβατικές και μοριακές τεχνικές)

Οροομάδες	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2004	
	Αριθμός στελεχών/ βιολ. υλικών	%
A	4	5,0
B	54	67,5
C	3	3,8
W-135	2	2,5
Y	0	0
N.G.	17	21,2
Σύνολο	80	100

Παρατήρηση: 7 επιπλέον δείγματα επιβεβαιώθηκαν με καλλιέργεια σε περιφερειακά νοσοκομεία και δεν εστάλησαν στο ΕΚΑΜ για περαιτέρω τυποποίηση (οροομάδα, ορότυπος, υπότυπος).

Πίνακας 10. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά *N. meningitidis* που απομονώθηκαν στην Ελλάδα την τελευταία δεκαετία (1993 – 2005).

ΕΤΟΣ	Στελέχη /βιολ.(No)	Επικρατούντες φαινοτυπικοί χαρακτήρες- ΟΡΟΟΜΑΔΕΣ									
		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)

Η **θνητότητα** του μηνιγγιτιδοκόκκου ανά οροομάδα συνολικά ανήλθε στο 2,5. Για την οροομάδα B η θνητότητα ήταν 1,25 καθώς επίσης και για την οροομάδα C ενώ για τις άλλες οροομάδες η θνητότητα ήταν μηδενική (**πίνακας 11**).

Πίνακας 11. : Αριθμός θανάτων και θνητότητα ανά οροομάδα *N. meningitidis* (επί των βεβαιωμένων).

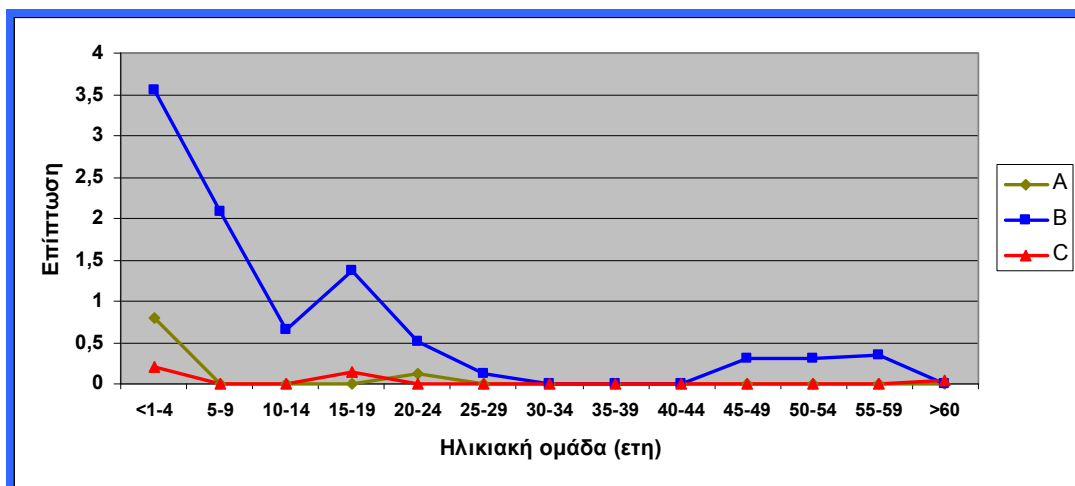
Οροομάδες	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2005			
	Αριθμός ασθενών	Αριθμός θανάτων	%	Θνητότητα
A	4	0		0
B	54	1	50	1,25
C	3	1	50	1,25
W-135	2	0		0
Y	0	0		0
N.GROUP	17	0		0
Σύνολο	80	2	100	2,5

Στον **Πίνακα 12** και στο **διάγραμμα 9**, απεικονίζεται η επίπτωση / 100.000 κατοίκους των οροομάδων του μηνιγγιτιδοκόκκου καθώς και η συνολική επίπτωση κάθε οροομάδας του μηνιγγιτιδοκόκκου ανά ηλικιακή ομάδα.

Πίνακας 12: Κατανομή σε οροομάδες (SG) του μηνιγγιτιδοκόκκου και επίπτωση (rate) ανά 100.000 κατοίκους κατά πενταετείς ηλικιακές ομάδες για το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος του 2005

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘ.	A	rate	B	rate	C	rate	W	rate	Y	rate	N.G.	rate
0-4	506211	4	0,79	18	3,56	1	0,20	0	0,00	0	0,00	7	1,38
5-9	529098	0	0,00	11	2,08	0	0,00	0	0,00	0	0,00	4	0,76
10-14	604465	0	0,00	4	0,66	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,33
15-19	728568	0	0,00	10	1,37	1	0,14	0	0,00	0	0,00	2	0,27
20-24	784483	1	0,13	4	0,51	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
25-29	808127	0	0,00	1	0,12	0	0,00	1	0,12	0	0,00	0	0,00
30-34	795833	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,13
35-39	750348	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
40-44	716783	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,14	0	0,00	0	0,00
45-49	676343	0	0,00	2	0,30	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
50-54	638436	0	0,00	2	0,31	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,16
55-59	588076	0	0,00	2	0,34	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
>60	2389595	0	0,00	0	0,00	1	0,04	0	0,00	0	0,00	0	0,00
ΣΥΝΟΛΟ	10516366	4	0,04	54	0,51	3	0,03	2	0,02	0	0,00	17	0,16

Διάγραμμα 9. Κατά ηλικία και οροομάδα επίπτωση (ανά 100,000 κατ) της *N. meningitidis* (σε κρούσματα) κατά το έτος 2005.



Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά (Ορότυποι/Υπότυποι) των μηνιγγιτιδοκοκκικών στελεχών.

Στα 40 στελέχη τα οποία εστάλησαν στο ΕΚΑΜ κατά την διάρκεια του έτους 2005 έγινε φαινοτυπική διερεύνηση για την «παρουσία» επιδημικού κλώνου στα στελέχη που απομονώνονται στην χώρα μας .

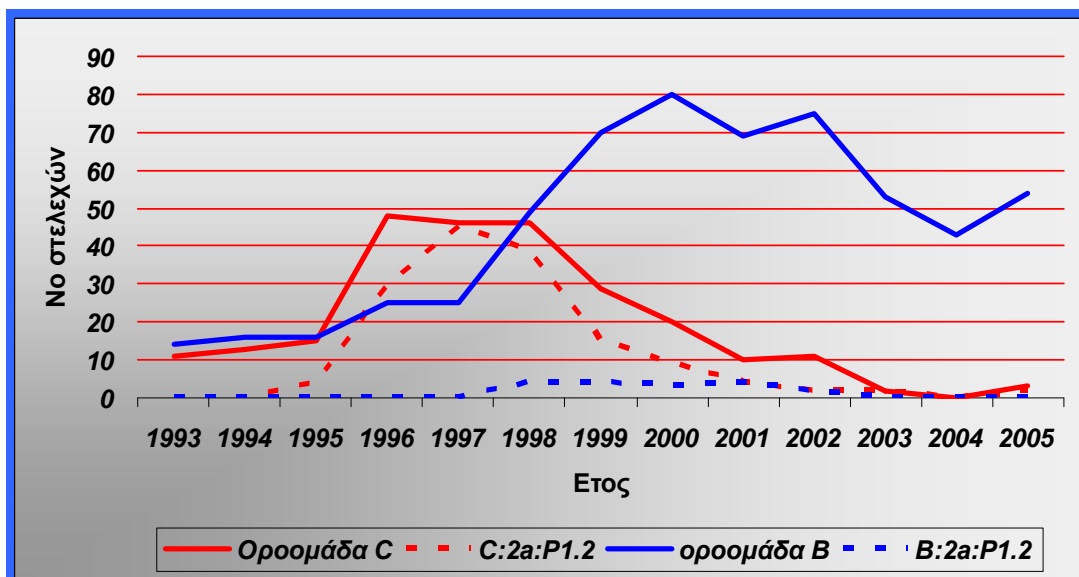
Η πλειοψηφία των στελεχών της οροομάδας Β ανήκε στον φαινότυπο Β:4:P1.4 (8/37, 21,6%), και ακολουθούν τα στελέχη με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά Β:15:P1.7 και Β:4:P1.2,5 (ποσοστό 18,9% και 10,8% αντίστοιχα). Κανένα από τα στελέχη της οροομάδας Β με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά «επιδημικού κλώνου» δηλ Β:2α:P1.2 δεν απομονώθηκε κατά το έτος 2005. (πίνακας 13).

Από τα 3 στελέχη που ανήκαν στην οροομάδα C, τα 2 στελέχη ανήκαν στον επιδημικό κλώνο C:2α:P1.5, ο οποίος τα τελευταία χρόνια παρουσιάζει σημαντική μείωση (Πίνακας 13, Διάγραμμα 10).

Πίνακας 13. Επικρατέστερα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των μηνιγγιτιδοκοκκικών στελεχών τα οποία απομονώθηκαν το έτος 2005

ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ (ΟΡΟΟΜΑΔΑ, ΟΡΟΤΥΠΟΣ/ΥΠΟΤΥΠΟΣ)	ΑΡ. ΣΤΕΛΕΧΩΝ	ΠΟΣΟΣΤΟ (%)
B:4:P1.2,5	4	10,8
B:4 :P1.4	8	21,6
B:15:P1.7	7	18,9
B:2α:P1.2	0	0
Άλλοι φαινότυποι σχετιζόμενοι με την οροομάδα Β	18	48,6
Σύνολο στελεχών οροομάδας Β	37	
C:2α:P1.2,5	2	
Άλλοι φαινότυποι σχετιζόμενοι με την οροομάδα C	1	
Σύνολο στελεχών οροομάδας C	3	
ΣΥΝΟΛΟ	40	

Διάγραμμα 10. Παρακολούθηση του επιδημικού κλώνου στην Ελλάδα από το 1993-2005.



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 και μετά, 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 δε στελέχη με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά B:4: P1.14 ανήκουν στον κλώνο ST-162. Ο κλώνος ο οποίος κυριαρχεί στην χώρα μας είναι ο ST -162.

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 6 από τα 40 στελέχη (15%) είχαν μειωμένη ευαισθησία στην πενικιλίνη (MIC ≥ 0.094 mg/ml), ποσοστό σημαντικά αυξημένο σε σχέση με τα στελέχη που απομονώθηκαν το έτος 2004 (2/32 6,25%) ενώ όλα τα στελέχη ήταν ευαίσθητα στα αντιβιοτικά : ριφαμπικίνη, κεφακλόρη, κεφτριαξόνη, κιπροφλοξακίνη, κεφοταξίμη, χλωραμφαινικόλη, τετρακυκλίνη και ερυθρομυκίνη.

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

Το ΕΚΑΜ, στην προσπάθεια να μπορέσει αναγνωρίσει και να τυποποιήσει τα στελέχη ή βιολογικά υλικά από ασθενείς του ίδιου περιβάλλοντος δηλ. κρούσματα σε σχολεία κλπ, εφαρμόζει τις παρακάτω μοριακές τεχνικές για την αναγνώριση ίδιου ή διαφορετικού κλώνου στην κοινότητα υπό εξέταση.

1. Τεχνική του πολλαπλασιασμού μεταβλητού μεγέθους επαναλαμβανόμενων περιοχών του γονιδιώματος για τον φυλογενετικό συσχετισμό των στελεχών (Variable Tandem Repeat Analysis- **VNTR**).
Εφαρμογή: Η παραπάνω τεχνική βοήθησε σημαντικά στον εντοπισμό και την αναγνώριση ενός του κλώνου ο οποίος προκάλεσε 3 κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής μηνιγγίτιδας σε παιδικό σταθμό της περιοχής της Αθήνας το Δεκέμβριο του 2003.
2. Η τεχνική του τυχαίου πολλαπλασιασμού του πολυμορφισμού του DNA έτσι ώστε να καταδεικνύει την ομοιότητα μεταξύ των στελεχών (Random Amplification of Polymorphic DNA-**RAPD**).

Εφαρμογή: Η τεχνική βοήθησε σημαντικά στην επιβεβαίωση της τεχνικής του VNTR στην περίπτωση του παιδικού σταθμού καθώς επίσης στην αναγνώριση του κλώνου ανάμεσα στους φορείς που εξετάστηκαν στην παραπάνω περίπτωση.

3. Η μέθοδος της ανάλυσης πολυμορφικής διαμόρφωσης μονόκλωνου DNA (Single Strand Conformation Polymorphism (**SSCP-PCR**)) βοήθησε σημαντικά στην αναγνώριση κλώνου ο οποίος είχε προκαλέσει το Δεκέμβριο του 2002 4 κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής μηνιγγίτιδας σε δημοτικό σχολείο σε περιοχή της Αττικής, δεδομένου ότι ήταν αδύνατη η απομόνωση μικροοργανισμού από καλλιέργεια.

Δημοσιεύσεις

Οι παρακάτω δημοσιεύσεις έγιναν στα πλαίσια των δεδομένων που διαθέτει και συλλέγει το Κέντρο Αναφοράς καθώς επίσης στα πλαίσια εφαρμογής και βελτιστοποίησης των συμβατικών ή μοριακών τεχνικών ή της εφαρμογής μοριακών νέων τεχνικών για την ταχύτερη διάγνωση των βακτηριακών μηνιγγιτίδων.

1. 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
2. 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 Εταιρίας, 1994, 39 465-474
3. Κρεμαστινού Τζένη, Τζωρτζίνα Τζανακάκη, Αριστέα Βελεγράκη. Η Μηνιγγιτιδοκοκκική Νόσος (βιβλίο) Αθήνα 1996
4. 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
5. 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
6. 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
7. 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
8. 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
9. 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

10. Κρεμαστινού Τ. και Τ. Τζανακάκη. Επιδημιολογικά στοιχεία της μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου στην Ελλάδα 1993-1998. Επιδημιολογικό Δελτίο Λοιμωδών Νοσημάτων Ελλάδος. 1999;13:81-82.
11. 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.
12. 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
13. 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
14. 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
15. 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
16. 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.
17. 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
18. 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

19. 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
20. 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
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. 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
26. 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.
27. 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.

28. K Kessanopoulos, 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.
29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. 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. *J of Clinical Microbiology and Infection* (in press).
33. 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. . *J of Clinical Microbiology and Infection* (in press).

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 νέου 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 .