

ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ

ΑΠΟΛΟΤΙΣΜΟΣ ΕΡΤΟΥΕΤΟΥΣ

2007

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΙ ΥΠΕΥΘΥΝΟΙ

ΚΑΘ. ΤΖ. ΚΟΥΡΕΑ - ΚΡΕΜΑΣΤΙΝΟΥ

Δρ. ΤΖΩΡΤΖΙΝΑ ΤΖΑΝΑΚΑΚΗ

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. Μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (multiplex PCR) για την ταυτόχρονη τυποποίηση του μικροοργανισμού *Streptococcus pneumoniae* ως προς τους 9 κύριους οροτύπους του (1, 3,4,6B,14, 18C, 19A, 19F, 23F). Έξι (6) ορότυποι εξ αυτών περιλαμβάνονται στο νέο 7δύναμο συζευκτικό εμβόλιο.
 5. Τεχνική του προσδιορισμού της αλληλουχίας των βάσεων (Multilocus Sequence Typing MLST) για την μοριακή τυποποίηση των στελεχών *Neisseria meningitidis*
 6. Τεχνική τυποποίησης της *Neisseria meningitidis* βασισμένη στην ομοιομορφία διαδοχικών επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών του γονιδιώματος (Variable Tandem Repeats -VNTR) για την μοριακή τυποποίηση των στελεχών *Neisseria meningitidis* / βιολογικών δειγμάτων .
 7. 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 ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ 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 ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ 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 ανά ηλικία	6
• 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 1993-2007	11
• Μηνιγγίτιδα από <i>Streptococcus pneumoniae</i>	12
• Αριθμός κρουσμάτων <i>S. pneumoniae</i> ανά ηλικία	13
B. Εργαστηριακός έλεγχος	
• Τυποποίηση βιολογικών δειγμάτων ανά μικροοργανισμό	14
• Τυποποίηση των μηνιγγιτιδοκόκκων ανά οροομάδα	14
• Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά <i>N. meningitidis</i> από κρούσματα 1993-2007	15
• Αριθμός θανάτων και θνητότητα ανά οροομάδα	16
• Κατανομή οροομάδων και επίπτωση κατά ηλικιακή ομάδα	16
• Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά στελεχών <i>N. meningitidis</i> (ορότυπος/ υπότυπος)	17
• Μοριακή ταυτοποίηση (MLST, <i>porA</i> , VNTR)	18
• Εφαρμογή μοριακών τεχνικών σε περιπτώσεις επιδημίας/έξαρσης κρουσμάτων	19
• Ευαισθησία των στελεχών στα αντιβιοτικά	20
• Κατανομή οροτύπων <i>S. pneumoniae</i> για τα έτη 2006-2007	21
• Δημοσιεύσεις	23

Α. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ

Από τα επιδημιολογικά στοιχεία που διαθέτει το Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Μηνιγγίτιδας, κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2007, δηλώθηκαν συνολικά **1170** κρούσματα μηνιγγίτιδας, από τα οποία **106** κρούσματα αφορούσαν την μηνιγγιτιδοκοκκική νόσο (**πίνακας 1**), που αντιστοιχούν σε επίπτωση **0,95** / 100.000 κατοίκους.

Πίνακας 1: Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά μικροοργανισμό (έτος 2007)

Μικροοργανισμοί	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2007		
	Αριθ. Κρουσμάτων	%	Επίπτωση/100,000
Μηνιγγιτιδόκοκκος	106	9.6	0,95
Πνευμονιόκοκκος	59	5.3	0,53
Αιμόφιλος	6	0.5	0,05
Μικροβιακή (άλλο βακτήριο)	168	15.2	1,51
Ιός	799	68.3	7.60
Αγνώστου αιτιολογίας	32	2.9	0,29
Σύνολο	1170	100	10,54

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

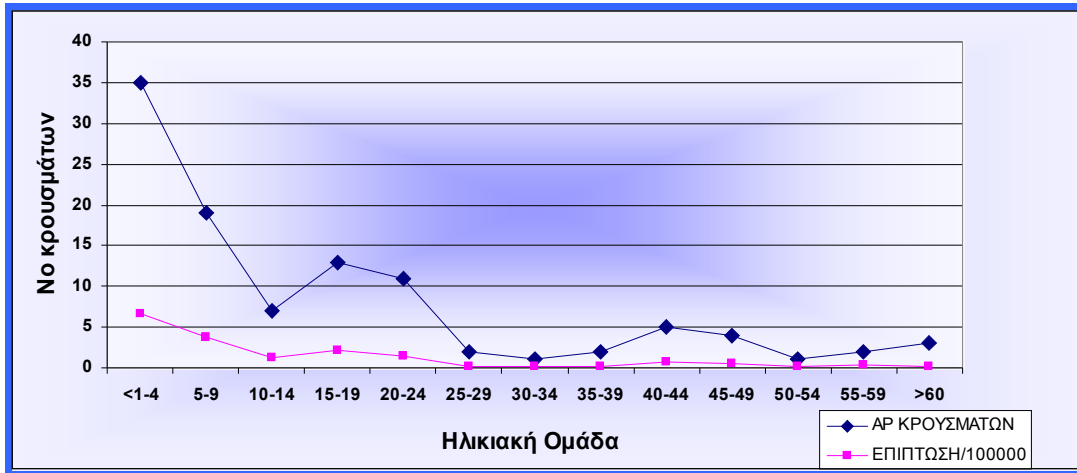
Πίνακας 2 : Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση κατά πενταετείς ομάδες ηλικίας / 100.000 κάτοικους κατά το έτος 2007

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ *	ΑΡ	
		ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ /100,000
0-4	521113	35	6,72
5-9	516872	19	3,68
10-14	557841	7	1,25
15-19	603948	13	2,15
20-24	749359	11	1,47
25-29	845178	2	0,24
30-34	865538	1	0,12
35-39	878355	2	0,23
40-44	797489	5	0,64
45-49	782173	4	0,51
50-54	715016	1	0,14
55-59	679735	2	0,29
>60	2591312	3	0,12
ΣΥΝΟΛΟ	11.103.929	106*	0,95

* Σε 1 κρούσματα η ηλικία δεν ήταν γνωστή

** Πληθυσμός 30^{ης} Ιουνίου 2005

Διάγραμμα 1. Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση / 100.000 κατ ανά 5ετείς ομάδες ηλικίας (έτος 2007)



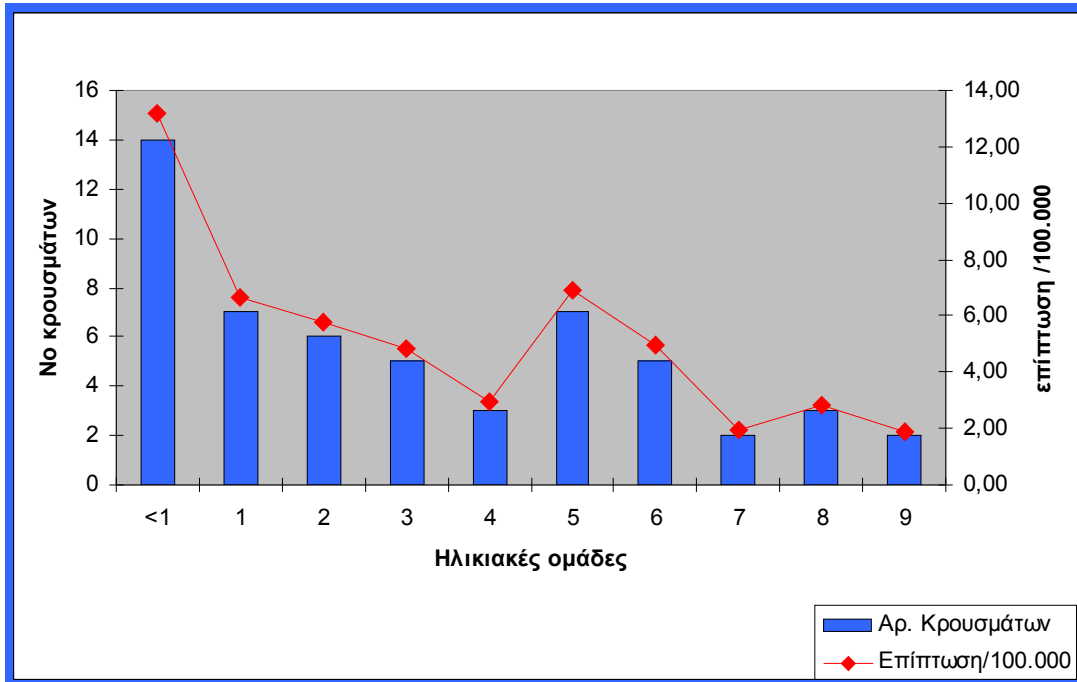
Η ανάλυση των κρουσμάτων στην ηλικιακή ομάδα από 0-9 χρόνων φαίνονται στον πίνακα 3 και στο διάγραμμα 2.

Πίνακας 3 : Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση / 100.000 κάτοικους στην ηλικιακή ομάδα 0-9 χρόνων κατά το έτος 2007

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ *	ΑΡ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ /100000
<1	106388	14	13.16
1	105118	7	6.66
2	104135	6	5.76
3	103111	5	4.85
4	102361	3	2.93
5	101347	7	6.91
6	100312	5	4.98
7	102339	2	1.95
8	105220	3	2.85
9	107654	2	1.86
Σύνολο	1.037.985	54	5.20

* 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 2007)

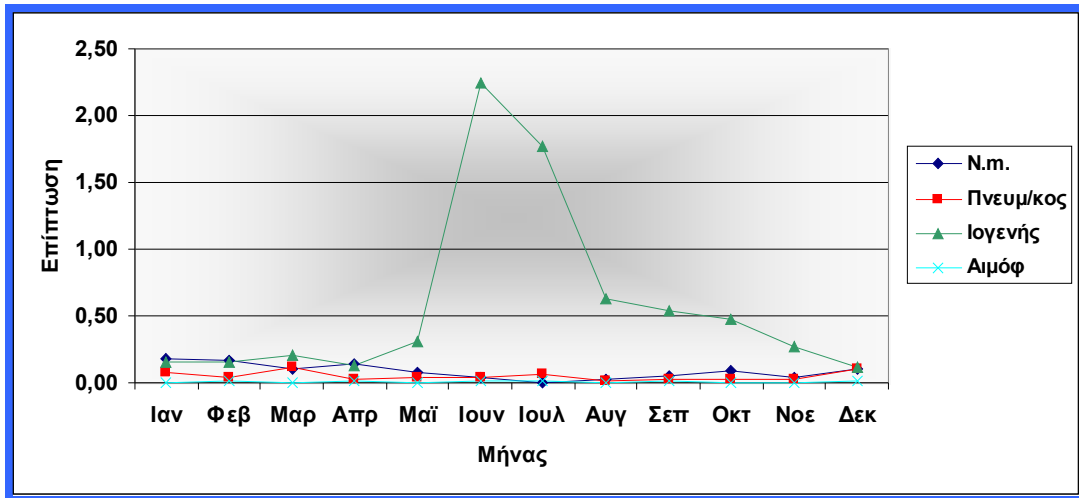


Τα περισσότερα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου σημειώθηκαν κατά τους χειμερινούς και τους πρώτους εαρινούς μήνες (πίνακας 4, διάγραμμα 3). Αντίθετα, τα κρούσματα ιογενούς μηνιγγίτιδας σημειώθηκαν ως επί το πλείστον κατά τους καλοκαιρινούς μήνες και ειδικότερα τους μήνες Ιούνιο και Ιούλιο στα οποία η επίπτωση κυμάνθηκε σε πολύ υψηλά επίπεδα λόγω επιδημίας (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 2007

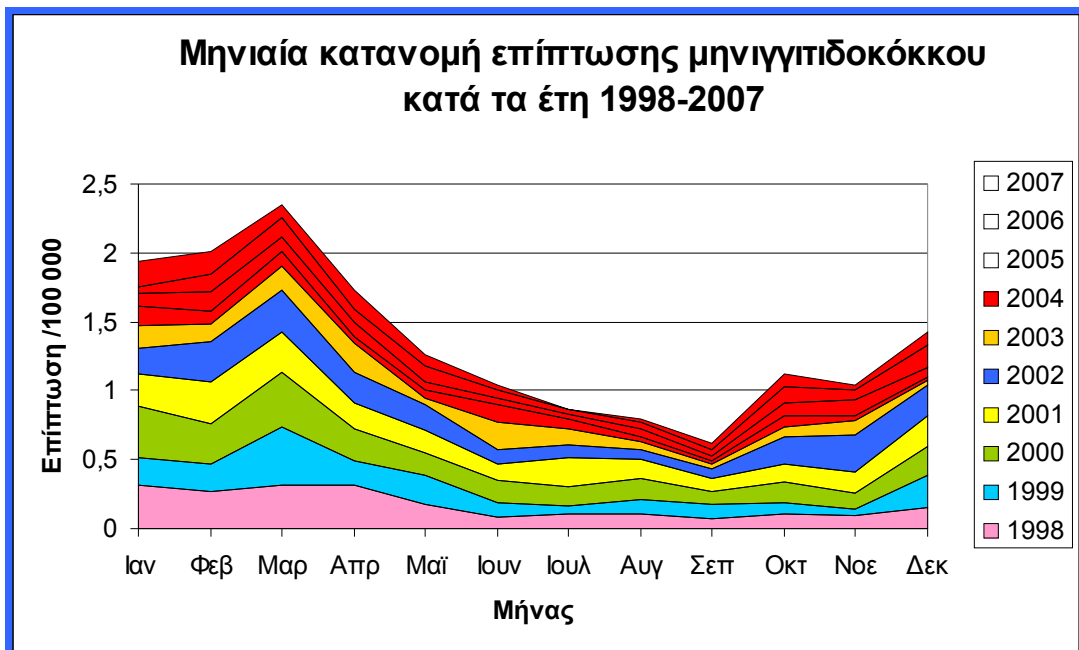
Μήνες	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ ΜΗΝ/ΚΟΚ ΝΟΣΟΥ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ
Ιανουάριος	19	0,18
Φεβρουάριος	18	0,17
Μάρτιος	10	0,10
Απρίλιος	15	0,14
Μάιος	8	0,08
Ιούνιος	4	0,04
Ιούλιος	0	0
Αύγουστος	3	0,03
Σεπτέμβριος	5	0,05
Οκτώβριος	9	0,09
Νοέμβριος	4	0,04
Δεκέμβριος	11	0,10
Σύνολο	106	1,01

Διάγραμμα 3. Μηνιαία κατανομή επίπτωσης δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά αιτία έτους 2007



Στο **διάγραμμα 4**, φαίνεται η μηνιαία κατανομή επίπτωσης της μηνιγγιτιδοκκικής νόσου κατά τα έτη 1998-2007.

Διάγραμμα 4.

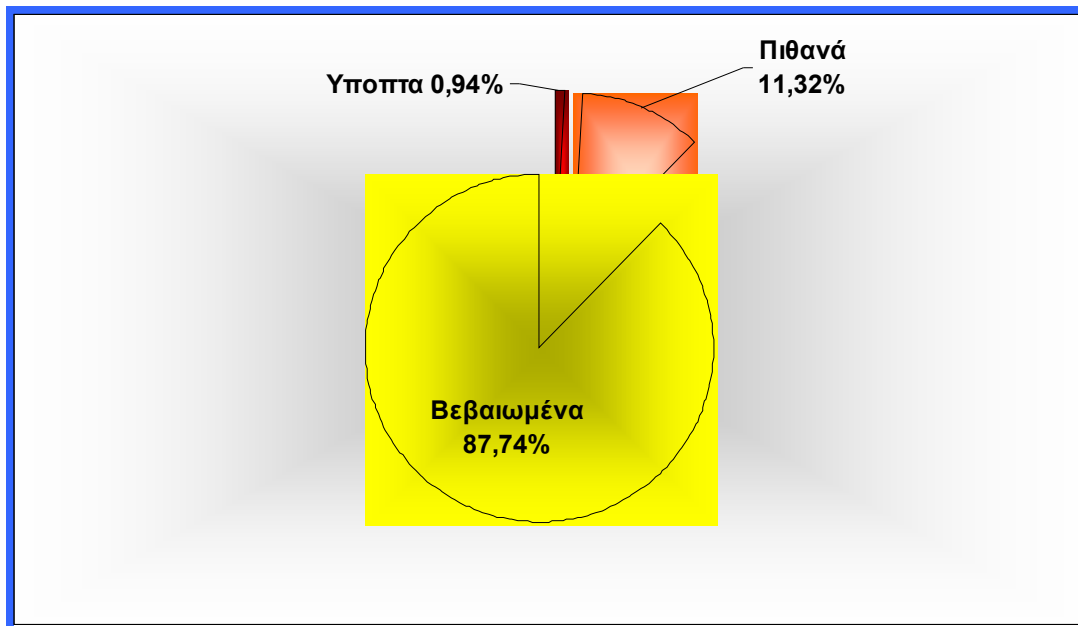


Τα δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου σύμφωνα με τους επιδημιολογικούς ορισμούς κατατάχθηκαν ως πιθανά σε ποσοστό **11,32 %** και επιβεβαιωμένα σε ποσοστό **87,8 %**, ενώ **0,94%** των παραπάνω κρουσμάτων κατάχθηκε στην κατηγορία των **ύποπτων κρουσμάτων (Πίνακας 5, Διάγραμμα 5)**.

Πίνακας 5: Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου

Διάγνωση	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2007	
	Αριθμός κρουσμάτων	%
Υποπτα	1	0,94
Πιθανά	12	11,32
Βεβαιωμένα	93	87,74
Σύνολο	106	100

Διάγραμμα 5. Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου



Όσον αφορά τα προηγούμενα έτη, παρατηρήθηκε περαιτέρω αύξηση του ποσοστού των βεβαιωμένων κρουσμάτων σε σχέση με τα πιθανά κρούσματα. Σε αυτό βοήθησε σε ένα σημαντικό 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 2007 στο **15,32% (17 θάνατοι)** (Πίνακας 6) σε αντίθεση με το 2006 όπου η θνητότητα ανήλθε σε 1,0 % (5 θάνατοι).

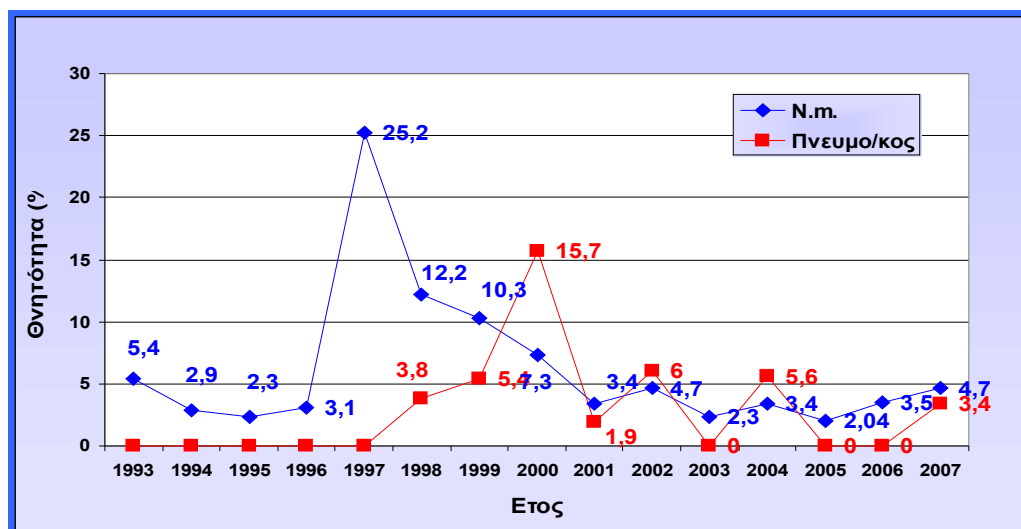
Πίνακας 6 : Αριθμός δηλωθέντων θανάτων μηνιγγίτιδας ανά μικροοργανισμό κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2007

Μικροοργανισμοί	Αριθμός κρουσμάτων	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2007		Θνητότητα (2006)	
		Αριθμός θανάτων	%		
Μηνιγγιτιδόκοκκος	106	5	29,4	4,71	(3,50)
Πνευμονιόκοκκος	59	2	11,8	3,38	(0)
Αιμόφιλος	6	1	5,86	16,66	(0)
Μικροβιακή (άλλο βακτήριο)	168	9	52,94	5,35	(1,41)
Ιός	799	0	0	0	
Αγνώστου αιτιολογίας	32	0	0	0	
Σύνολο	1.170	17	100	15,32	(1,0)

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, τα 5 θανατηφόρα κρούσματα προκλήθηκαν από μηνιγγιτιδόκοκκο, 2 από πνευμονιόκοκκο, 1 από αιμόφιλο ομάδας b ενώ τα άλλα 9 προκλήθηκαν από μηνιγγίτιδα άλλης βακτηριακής αιτιολογίας. Στο Κέντρο Αναφοράς εστάλησαν και τυποποιήθηκαν με μοριακές τεχνικές 6 κλινικά δείγματα από τα 9 θανατηφόρα αυτά κρούσματα εκ των οποίων: 3 προκλήθηκαν από *Streptococcus spp*, 1 από στεπτόκοκκο ομάδας A (GAS), 1 από *Listeria monocytogenes* και 1 από *Pseudomonas aeruginosa*.

Η θνητότητα από **μηνιγγιτιδόκοκκο** και **πνευμονιόκοκκο** της τελευταίας 13ετίας φαίνεται στο **διάγραμμα 6**.

Διάγραμμα 6.



Διαχρονική πορεία δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας

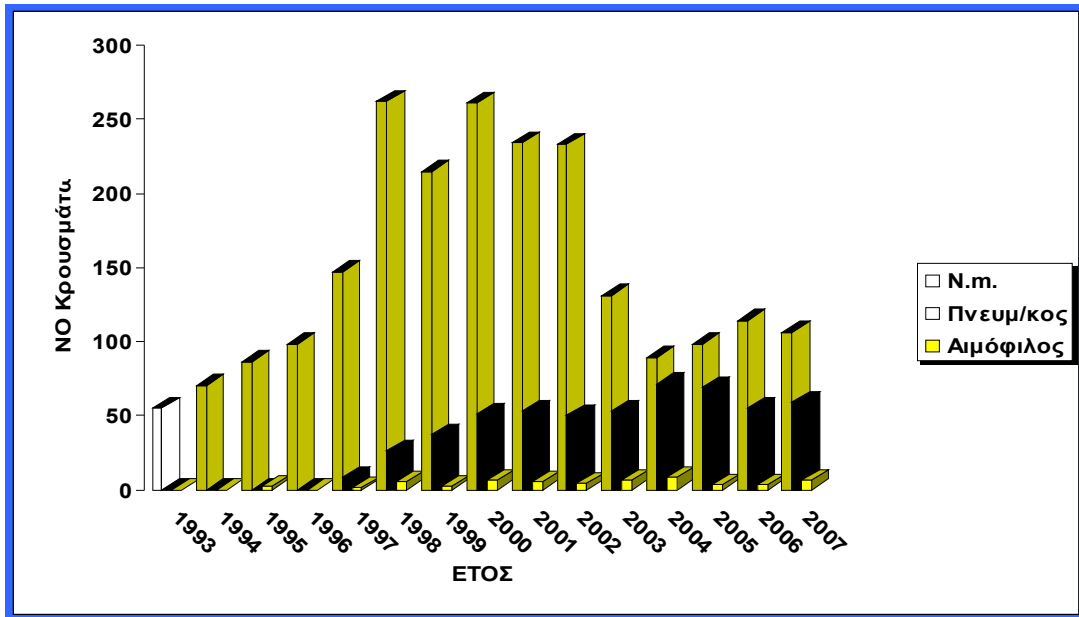
Από τα επιδημιολογικά δεδομένα, φαίνεται ότι ο αριθμός των κρουσμάτων – ιδιαίτερα αυτά που προκαλούνται από *Neisseria meningitidis* – ενώ παρέμεινε σταθερός κατά την διετία 2001-2002, παρουσίασε μείωση κατά τα έτη 2003-2004, ενώ παρατηρήθηκε μικρή αύξηση των κρουσμάτων από το 2005-2006. Παρατηρήθηκε δε, σημαντική αύξηση του αριθμού κρουσμάτων μηνιγγίτιδας από πνευμονιόκοκκο από το έτος 2000-2005, το έτος 2006 παρουσίασε μείωση ενώ το 2007 παρουσίασε μικρή αύξηση (πίνακας 7, διάγραμμα 7).

Η επίπτωση/100 000 του αιμοφίλου της ινφλουένζας ομάδας b παραμένει σταθερά χαμηλή ενώ παρατηρήθηκε μικρή αύξηση το 2007 σε σχέση με τα προηγούμενα χρόνια.

Πίνακας 7. Δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγίτιδας 1993- 2007

ΕΤΟΣ	Σύνολο κρουσμάτων (επίπτωση)	<i>N. meningitidis</i> (επίπτωση)	Πνευμ/κος (επίπτωση)	Αιμοφίλος (επίπτωση)	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 (1,03)	106 (0,95)	59 (0,53)	6 (0,05)	168	799

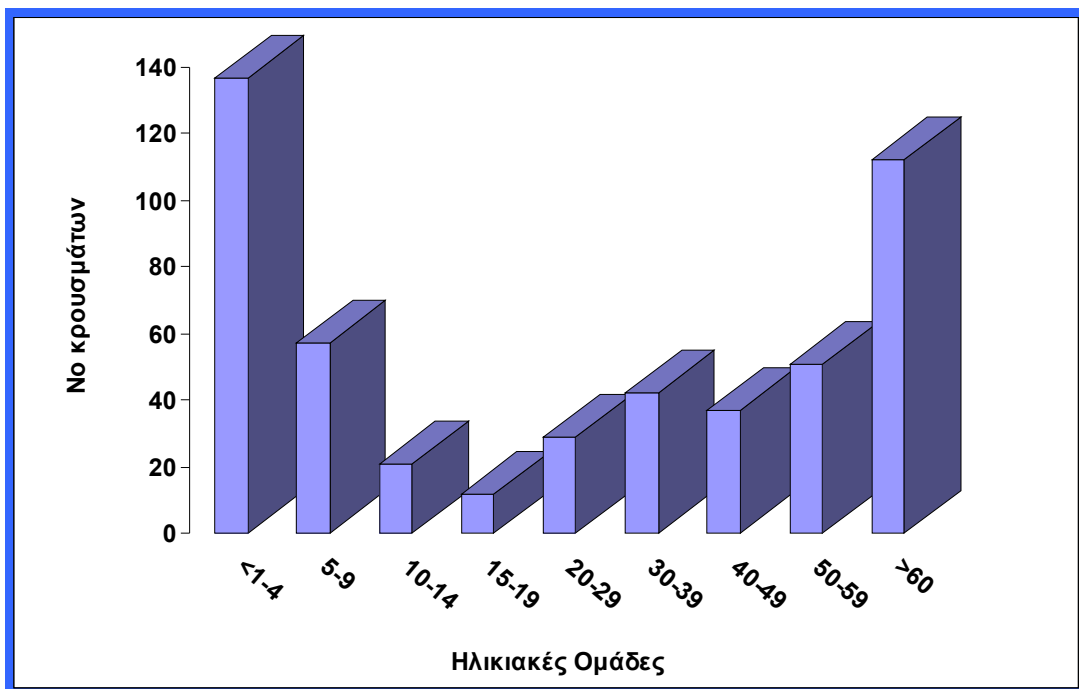
Διάγραμμα 7. Δηλωθέντα κρούσματα βακτηριακής μηνιγγίτιδας 1993-2007



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 (1999-2007)



Από τα 498 κρούσματα μηνιγγίτιδας από πνευμονιόκοκκο, που καταγράφησαν τα 6 τελευταία χρόνια, τα 249 (50 %) αφορούσαν 2 ηλικιακές ομάδες: την ηλικιακή ομάδα <1-4 χρόνων σε ποσοστό 27,5% (137/498) και την ηλικιακή ομάδα άνω των 60 χρόνων (112/498, 22,5%). Τα υπόλοιπα 249 κρούσματα, κατανεμήθηκαν στις ηλικιακές ομάδες 5-59 (**Πίνακας 8**). Η δε επίπτωση/100 000 ανά ηλικιακή ομάδα για το έτος 2007 φαίνεται στον **πίνακα 9**.

Πίνακας 8. Αριθμός κρουσμάτων πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας ανά ηλικία (2007)

Ηλικιακή ομάδα	Νο κρουσμάτων	Ποσοστό (%)
<1-4	137	27,5
5-9	57	11,5
10-14	21	4,2
15-19	12	2,4
20-29	29	5,8
30-39	42	8,4
40-49	37	7,4
50-59	51	10,3
>60	112	22,5
ΣΥΝΟΛΟ	498	100

Πίνακας 9. Επίπτωση πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας σε σχέση με την ηλικία (2007).

Ηλικιακή ομάδα	Νο κρουσμάτων	Επίπτωση /100 000
<1-4	16	3,16
5-9	12	2,27
10-14	5	0,83
15-19	2	0,27
20-29	4	0,25
30-39	2	0,13
40-49	2	0,14
50-59	7	0,57
>60	9	0,38
ΣΥΝΟΛΟ	59	0,53

B. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Μηνιγγίτιδας, εξετάστηκαν **συνολικά 815 δείγματα** κατά την διάρκεια του έτους 2007. Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν με συμβατικές και μοριακές τεχνικές 815 δείγματα βιολογικών υλικών (ΕΝΥ, αίμα και πλευριτικά υγρά) καθώς επίσης και αιμοκαλλιέργειες και 36 μηνιγγιτιδοκοκκικά στελέχη **από 575 ασθενείς**.

1. Κρούσματα από *N. meningitidis*

Από τα 815 δείγματα βιολογικών υλικών, επιβεβαιώθηκαν **ως θετικά για *N. meningitidis* (με PCR) τα 128 δείγματα** τα οποία προερχόταν από **81 ασθενείς** με ύποπτη, πιθανή ή βεβαιωμένη κλινική εικόνα μηνιγγιτιδοκοκκικής μηνιγγίτιδας.

2. Κρούσματα από *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* type *b*

Επιβεβαιώθηκαν **(με PCR) 48 δείγματα πνευμονιοκόκκου** από τα οποία τα 38 προκάλεσαν κρούσματα μηνιγγίτιδας ενώ τα 10 προήλθαν από πνευμονίες. Επιπλέον, επιβεβαιώθηκαν ως θετικά **5 δείγματα αιμοφίλου της ινφλουένζας τύπου β**. Όλα τα παραπάνω δείγματα προήλθαν συνολικά από 43 ασθενείς.

3. Βακτηριακές μηνιγγίτιδες

Από τα υπόλοιπα 150 κλινικά δείγματα προερχόμενα από 97 ασθενείς, υπήρξε δυνατότητα περαιτέρω τυποποίησης για τα βακτήρια *Streptococcus spp.*, *pseudomonas aeruginosa*, *haemophilus spp*, *Listeria monocytogenes* *staphylococcus aureus*. Από αυτά, θετικά ήταν 34 δείγματα, εκ των οποίων τα 21 ταυτοποιήθηκαν ως *Streptococcus spp*, (εκ των οποίων 1 τυποποιήθηκε ως ομάδα Β και 3 ως ομάδα Α), 4 *pseudomonas aeruginosa*, 1 *haemophilus spp*, 3 *E.coli*, 2 δείγματα ως *Listeria monocytogenes* και 3 δείγματα ως *staphylococcus aureus*.

Από τα υπόλοιπα 467 αρνητικά δείγματα, τα περισσότερα αφορούσαν ιογενή (n=317 προερχόμενα από 215 ασθενείς) ή μικροβιακή μηνιγγίτιδα άλλης αιτιολογίας.

Neisseria meningitidis

1. Φαινοτυπικά Χαρακτηριστικά-Οροομάδες

Από τα 36 μηνιγγιτιδοκοκκικά στελέχη τα οποία εστάλησαν, στα 25 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 **86 δείγματα**. Συγκεκριμένα, στην οροομάδα Β ανήκε ποσοστό **76.8 %** (66/86) των περιπτώσεων και ποσοστό 8,1% (7/86) των στελεχών/βιολογικών υλικών ανήκε στην οροομάδα C (Πίνακας 10).

Κανένα από τα παραπάνω δείγματα δεν ανήκε στην οροομάδα A σε σχέση με το ήδη μειωμένο ποσοστό που παρατηρήθηκε κατά το έτος 2006 (1.07%) (Πίνακας 11).

Πίνακας 10 : Ορολογική τυποποίηση μηνιγγιτιδοκόκκων κατά το έτος 2007 (με συμβατικές και μοριακές τεχνικές)

Οροομάδες	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2007	
	Αριθμός στελεχών/ βιολ. υλικών	%
A	0	0
B	66	76,8
C	7	8,1
W-135	1	1,1
Y	0	0
N.G.	12	14,0
Σύνολο	86	100

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

Πίνακας 11. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά *N. meningitidis* που απομονώθηκαν στην Ελλάδα (1993 – 2007).

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

Η **θνητότητα** του μηνιγγιτιδοκόκκου ανά οροομάδα συνολικά ανήλθε στο 5,8%. Και τα 5 θανατηφόρα περιστατικά προκλήθηκαν από μηνιγγιτιδόκοκκο οροομάδας B, ενώ για τις άλλες οροομάδες η θνητότητα ήταν μηδενική (πίνακας 12).

Πίνακας 12. : Αριθμός θανάτων και θνητότητα ανά ορομάδα *N. meningitidis* (επί των βεβαιωμένων).

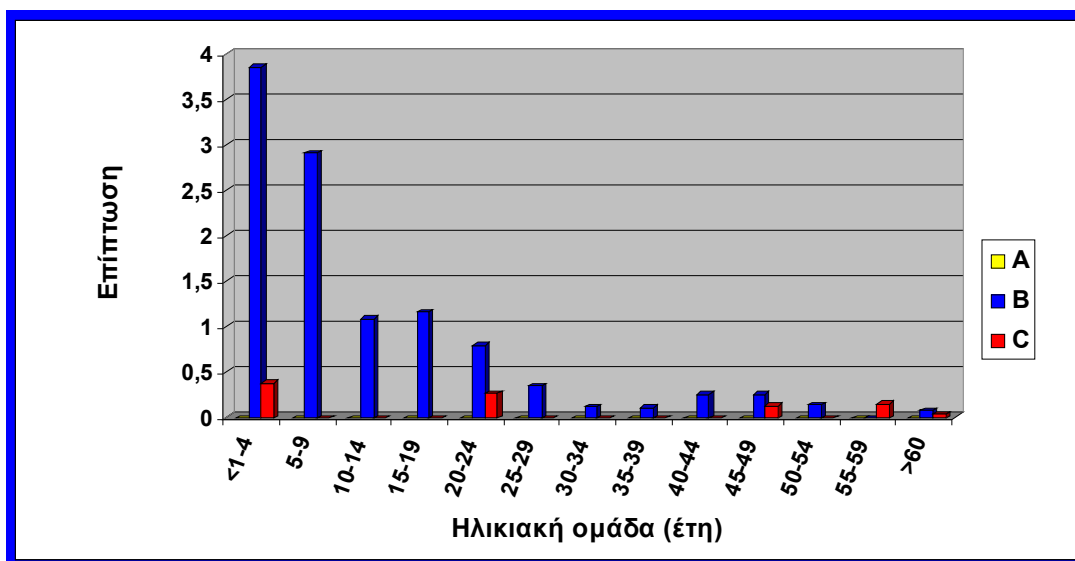
Ορομάδες	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2007			
	Αριθμός ασθενών	Αριθμός θανάτων	%	Θνητότητα
A	0			0
B	66	5	100	5,8
C	7			0
W-135	1			0
Y	0			0
N.GROUP	12			0
Σύνολο	86	5		5,8

Στον Πίνακα 13 και στο διάγραμμα 9, απεικονίζεται η επίπτωση / 100.000 κατοίκους των ορομάδων του μηνιγγιτιδόκοκκου καθώς και η συνολική επίπτωση κάθε ορομάδας του μηνιγγιτιδόκοκκου ανά ηλικιακή ομάδα.

Πίνακας 13: Κατανομή σε ορομάδες (SG) του μηνιγγιτιδοκόκκου και επίπτωση (rate) ανά 100.000 κατοίκους κατά πενταετείς ηλικιακές ομάδες για το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος του 2007

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘ.	A	rate	B	rate	C	rate	W	rate	Y	rate	N.G	rate
0-4	521113	0	0	20	3,84	2	0,38	1	0,19	0	0	7	1,34
5-9	516872	0	0	15	0,9	0	0	0	0	0	0	3	0,58
10-14	557841	0	0	6	1,08	0	0	0	0	0	0	0	0
15-19	603948	0	0	7	1,17	0	0	0	0	0	0	1	0,17
20-24	749359	0	0	6	0,8	2	0,27	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	1	0,12	0	0	0	0	0	0	0	0
35-39	878355	0	0	1	0,11	0	0	0	0	0	0	1	0,11
40-44	797489	0	0	2	0,25	0	0	0	0	0	0	0	0
45-49	782173	0	0	2	0,26	1	0,13	0	0	0	0	0	0
50-54	715016	0	0	1	0,14	0	0	0	0	0	0	0	0
55-59	679735	0	0	0	0	1	0,15	0	0	0	0	0	0
>60	2591312	0	0	2	0,08	1	0,04	0	0	0	0	0	0
ΣΥΝΟΛΟ	1110392	0	0	66	0,59	7	0,06	1	0,01	0	0	12	0,11

Διάγραμμα 9. Κατά ηλικία και οροομάδα επίπτωση (ανά 100,000 κατ) της *N. meningitidis* (σε κρούσματα) κατά το έτος 2007.



2. Φαινοτυπικά Χαρακτηριστικά-Ορότυποι/Υπότυποι

Στα 36 στελέχη τα οποία εστάλησαν στο ΕΚΑΜ κατά την διάρκεια του έτους 2007 έγινε φαινοτυπική διερεύνηση για την «παρουσία» επιδημικού κλώνου.

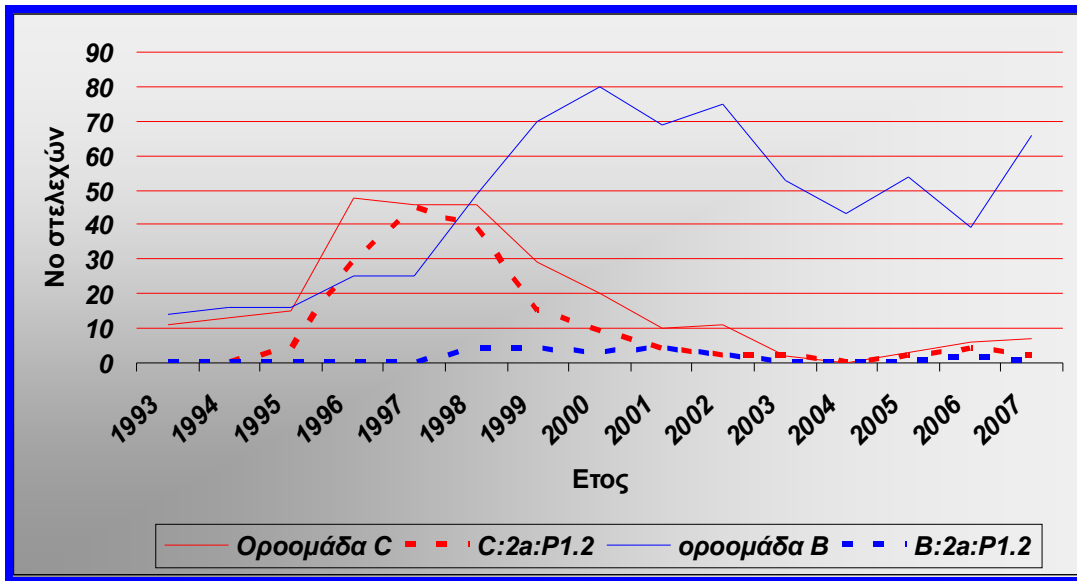
Η πλειοψηφία των στελεχών της οροομάδας Β ανήκε στον φαινότυπο Β:4:P1.4 (6/36 16,7%), και ακολουθούν τα στελέχη με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά Β:4:P1.6,7 (11,2%). Κανένα από τα στελέχη της οροομάδας Β με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά «επιδημικού κλώνου» δηλ Β:2a:P1.2 δεν απομονώθηκε κατά το έτος 2007 (πίνακας 14).

Από τα 7 στελέχη που ανήκαν στην οροομάδα C, τα 2 στελέχη ανήκαν στον επιδημικό κλώνο C:2a:P1.2,5, ο οποίος τα τελευταία χρόνια παρουσιάζει σημαντική μείωση (Πίνακας 14, Διάγραμμα 10).

Πίνακας 14. Επικρατέστερα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των μηνιγγιτιδοκοκκικών στελεχών τα οποία απομονώθηκαν το έτος 2007

ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ (ΟΡΟΟΜΑΔΑ, ΟΡΟΤΥΠΟΣ/ΥΠΟΤΥΠΟΣ)	ΑΡ. ΣΤΕΛΕΧΩΝ	ΠΟΣΟΣΤΟ (%)
B:4 :P1.4	6	16,7
B:4:P1.6,7	4	11,2
B:15:P1.7,16	3	8,4
Άλλοι φαινότυποι σχετιζόμενοι με την οροομάδα Β	23	63,7
Σύνολο στελεχών οροομάδας Β	29	80,5
C:2a:P1.2,5	2	5,5
Άλλοι φαινότυποι σχετιζόμενοι με την οροομάδα C	5	13,9
Σύνολο στελεχών οροομάδας C	7	19,5
ΣΥΝΟΛΟ	36	100

Διάγραμμα 10. Παρακολούθηση του επιδημικού κλώνου στην Ελλάδα από το 1993-2007.

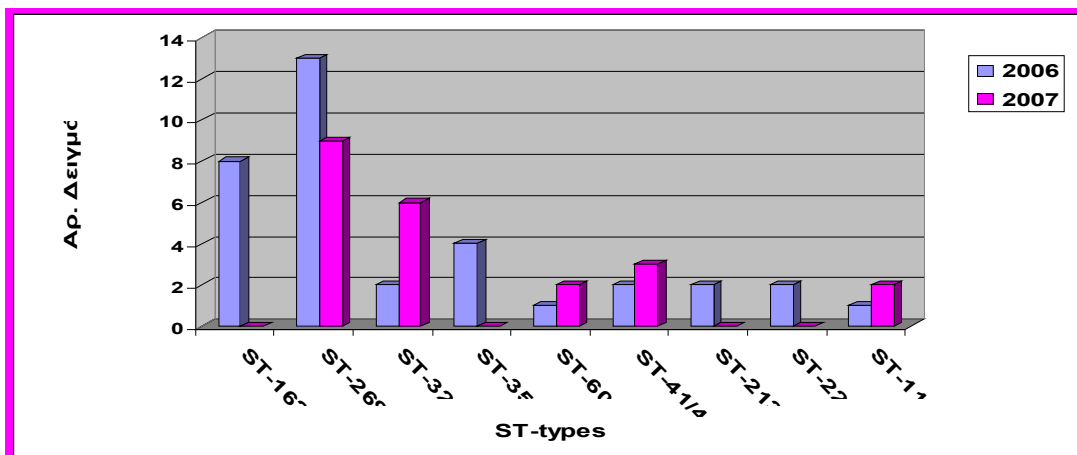


3. Γονοτυπικά χαρακτηριστικά

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). Οι κυριότεροι τύποι που επικρατούν στην χώρα μας είναι οι ST-269, ST-32 και ST-41/44 με σημαντική αύξηση των δύο τελευταίων σε σχέση με το προηγούμενο έτος όπου ο κυρίαρχος τύπος ήταν ο ST-162 (Διάγραμμα 11).

Διάγραμμα 11. Επικρατέστεροι Sequence Types (ST) στην Ελλάδα (2006-2007)



3.2. 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 και 36 για τις μεταβλητές περιοχές 1, 2 και 3 αντίστοιχα, επικρατεί στα στελέχη και τα βιολογικά υλικά θετικά για *N. meningitidis* οροομάδας B, ενώ για τα δείγματα οροομάδας C ο επικρατέστερος κλώνος είναι ο 5-1, 10, 36-2.

3.3. 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, 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 –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**)

Επιδημία Μεγάρων

Κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος -Απρίλιος 2007 σημειώθηκαν συνολικά 7 κρούσματα μηνιγγίτιδας από *N. meningitidis* στην ευρύτερη περιοχή των Μεγάρων, εξ'αυτών ένα ήταν θανατηφόρο. Τα δείγματα που εστάλησαν στο Κέντρο Αναφοράς, διερευνήθηκαν με μοριακές –κυρίως τεχνικές αφού σε κάποιες περιπτώσεις δεν ήταν δυνατή η απομόνωση του αντίστοιχου στελέχους. Στον **πίνακα 15**, φαίνονται τα κρούσματα καθώς και τα φαινοτυπικά και γονοτυπικά χαρακτηριστικά τους.

Πίνακας 15: Αποτελέσματα της μοριακής διερεύνησης στα κρούσματα μηνιγγίτιδας της ευρύτερης περιοχής των Μεγάρων (Ιανουάριος –Απρίλιος 2007)

Κρούσμα	Ημ/νια	Δείγμα	PCR	Στέλεχος	Οροομάδα	Τυποποίηση με μοριακές τεχνικές		
						VNTR	porA	MLST
1	31/1/07	AIMA	APN	N.m.	B	ΙΔΙΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	19-1,15-11,36	ST-269
2	31/1/07	AIMA /ENY	ΘΕΤ (ENY)	N.m.	B	ΙΔΙΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	19-1,15-11,36	ST-269
3	2/2/07	AIMA /ENY	ΘΕΤ (ENY)	OXI	B	ΙΔΙΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	19-1,15-11,36	ST-269
4	6/2/07	AIMA /ENY	ΘΕΤ (A+E)	N.m.	B	ΙΔΙΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	19-1,15-11,36	ST-269
5	8/2/07	ENY	ΘΕΤ	N.m.	B	ΙΔΙΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	19-1,15-11,36	ST-269
6	13/4/07	AIMA /ENY	ΘΕΤ (ENY)	N.m	B	ΙΔΙΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	19-1,15-11,36	ST-269
7	21/4/07	AIMA /ENY	ΘΕΤ (ENY)	N.m	B	ΙΔΙΟΣ ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	19-1,15-11,36	ST-269

Από τα αποτελέσματα συμπεραίνεται ότι η επιδημία που έλαβε μέρος στην συγκεκριμένη περιοχή εξ' αιτίας της *N. meningitidis* ήταν ίδιου κλώνου διότι τα δείγματα τα οποία εξετάστηκαν ήταν φυλογενετικά συνδεδεμένα μεταξύ τους.

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 στέλεχη με MIC ≥ 0.094 και < 1.0 mg/ml ορίζονται ως στέλεχη μειωμένης ευαισθησίας στην πενικιλίνη.

Από τα αποτελέσματα προέκυψαν ότι 5 από τα 36 στέλεχη (8.33%) είχαν μειωμένη ευαισθησία στην πενικιλίνη (MIC ≥ 0.094 mg/ml), ποσοστό μειωμένο σε σχέση με το προηγούμενο έτος (13.2%) αλλά αυξημένο σε σχέση με τα στέλεχη που απομονώθηκαν το έτος 2004 (2/32 6,25%). Για την ριφαμπικίνη, αντοχή παρατηρήθηκε σε 1 στέλεχος >32 mg/ml (1/36, 2,8%) ενώ όλα τα στέλεχη ήταν ευαίσθητα στα αντιβιοτικά : κεφακλόρη, κεφτριαξόνη, κiproφλοξακίνη, κεφοταξίμη, χλωραμφαινικόλη, τετρακυκλίνη και ερυθρομυκίνη,

Streptococcus pneumoniae

Η αύξηση των κρουσμάτων μηνιγγίτιδας από *S. pneumoniae* οδήγησε το Κέντρο Αναφοράς στην κατ'αρχήν μοριακή ταυτοποίηση των κλινικών δειγμάτων με πιθανή εικόνα βακτηριακής μηνιγγίτιδας ως προς το βακτήριο αυτό και κατά δεύτερο λόγο στην περαιτέρω τυποποίηση του ως προς τους 9 συχότερους ορότυπους. Δεδομένου δε ότι 6 ορότυποι περιλαμβάνονται στο νέο 7δύναμο συζευκτικό εμβόλιο, είναι σημαντική η επιδημιολογική διερεύνηση και παρακολούθηση της τάσης των οροτύπων που επικρατούν μετά τον εμβολιασμό. Στον **πίνακα 16** και στο **διάγραμμα 12** φαίνονται οι επικρατέστεροι ορότυποι για τα έτη 2006-2007.

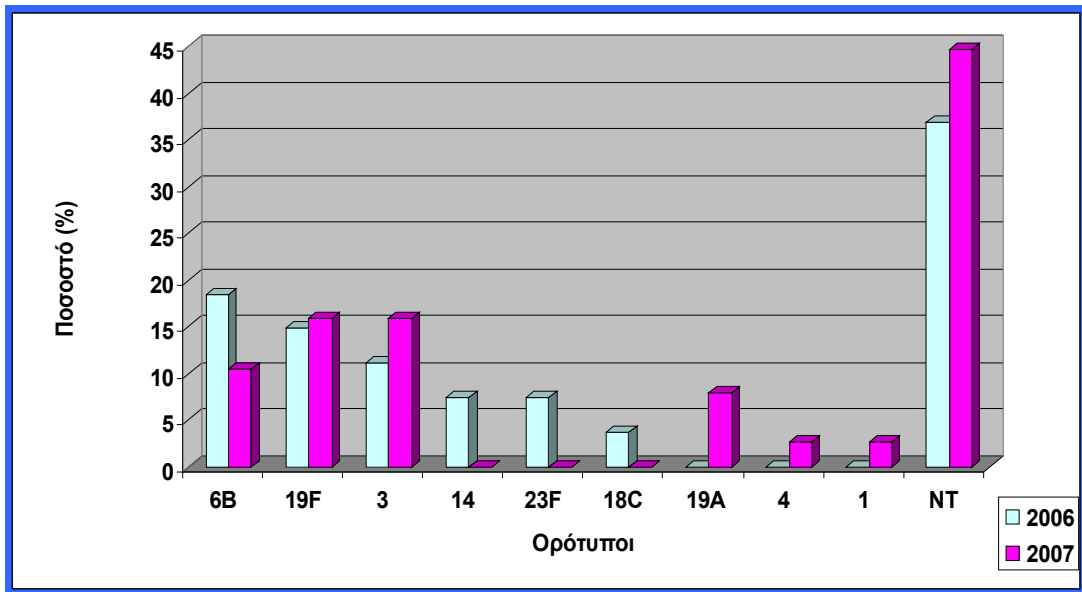
Πίνακας 16. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν μηνιγγίτιδα στην Ελλάδα

Ορότυπος	2006	(%)	2007	(%)
6B	5	(18,5)	4	(10,5)
19F	4	(14,8)	6	(15,8)
3*	3	(11,1)	6	(15,8)
14	2	(7,4)	0	
23 F	2	(7,4)	0	
18C	1	(3,7)	0	
19A*	0	0	3	(7,9)
4	0	0	1	(2,6)
1*	0	0	1	(2,6)
NT	10	(37,0)	17	(44,7)
ΣΥΝΟΛΟ	27	100	38	100

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

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι οι επικρατέστεροι ορότυποι για το έτος 2007 είναι οι 19F και ο 3. Παρατηρείται δε αύξηση του οροτύπου 3 σε σχέση με το προηγούμενο έτος (2006) καθώς επίσης και του οροτύπου 19A, ορότυποι οι οποίοι δεν συμπεριλαμβάνονται στο νέο 7δύναμο συζευγμένο εμβόλιο.

Διάγραμμα 12. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν μηνιγγίτιδα στην Ελλάδα



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. Μ. Tsolia, Μ. 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. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006 Jul; 25 (7) : 449-56.
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. Clin Microbiol Infect 2006; 12(10):1024-6 .
34. 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.
35. 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.
36. 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.

37. 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 (υπό δημοσίευση)
38. 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
39. 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
40. 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 and Med Microbiol* 2007 (in press)

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

1996. Ειδικό Βραβείο 17^{ου} Εθνικού Συνεδρίου Μικροβιολογίας

Τζανακάκη Τ, Πάγκαλη Α, Αλεξάνδρου 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 .