

ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ

ΑΠΟΛΟΤΙΣΜΟΣ ΕΡΤΟΥΕΤΟΥΣ 2008

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 της *N.meningitidis* (στελέχη, βιολογικά υλικά), 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* *Haemophilus influenzae type b* και *Listeria monocytogenes*.

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, 6,14, 18, 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 *Neisseria meningitidis* (στελέχη, βιολογικά υλικά)

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

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 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 και τους γιατρούς (εργαστηριακούς και κλινικούς) όλων των νοσοκομείων της χώρας για την συνεργασία τους στην αποστολή δειγμάτων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	Σελίδα
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
A. ΔΗΛΩΘΕΝΤΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ	6
• Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά αιτία	7
<i>Neisseria meningitidis</i>	7
• Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση ανά ηλικία	7
• Δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση ανά μήνα	9
• Μηνιαία κατανομή επίπτωσης μηνιγγίτιδας ανά αιτία	10
• Μηνιαία κατανομή επίπτωσης μηνιγγιτιδοκόκκου ανά έτος	10
• Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου	10
• Θνητότητα ανά αιτία και μικροοργανισμό	11
• Διαχρονικός πίνακας κρουσμάτων μηνιγγίτιδας 1993-2008	13
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	14
• Μηνιγγίτιδα από <i>Streptococcus pneumoniae</i>	14
• Αριθμός κρουσμάτων <i>S. pneumoniae</i> ανά ηλικία	14
B. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΜΕΝΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗΣ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ	16
• Τυποποίηση βιολογικών δειγμάτων ανά μικροοργανισμό	16
	16
<i>N. meningitidis</i>	
• Τυποποίηση ανά ορομάδα	16
• Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά από κρούσματα 1993-2008	17
• Αριθμός θανάτων και θνητότητα ανά ορομάδα	18
• Κατανομή ορομάδων και επίπτωση κατά ηλικιακή ομάδα	18
• Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά στελεχών <i>N. meningitidis</i> (ορότυπος/ υπότυπος)	19
• Μοριακή ταυτοποίηση (MLST, <i>porA</i> , VNTR)	20
• Εφαρμογή μοριακών τεχνικών σε περιπτώσεις επιδημίας/έξαρσης κρουσμάτων	21
• Ευαισθησία των στελεχών στα αντιβιοτικά	21
<i>S. pneumoniae</i>	
• Κατανομή οροτύπων <i>S. pneumoniae</i> 2008	22
• Ορότυποι ανά ηλικία (2006-2008)	23
Βακτηριακές μηνιγγίτιδες άλλης αιτιολογίας	25
• Κατανομή βακτηριακών μηνιγγιτίδων ανά μικροοργανισμό και ηλικιακή ομάδα	25
Ιογενείς και λοιπές μηνιγγίτιδες	25
Δημοσιεύσεις/Διακρίσεις	26

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 (80% και 75% για την *N. meningitidis*, και *S. pneumoniae*, αντίστοιχα), επιβεβαιώθηκε αποκλειστικά από το Κέντρο Αναφοράς με την χρήση μοριακών τεχνικών (PCR, *porA* κλπ).

**Α. ΔΗΛΩΘΕΝΤΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ : Επιδημιολογικά
στοιχεία**

Κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2008, δηλώθηκαν συνολικά **715** κρούσματα μηνιγγίτιδας, από τα οποία **74** κρούσματα αφορούσαν την μηνιγγιτιδοκοκκική νόσο που αντιστοιχούν σε επίπτωση **0,67** / 100.000 κατοίκους και 62 κρούσματα μηνιγγίτιδας/σηψαιμίας από στρεπτόκοκκο της πνευμονίας που αντιστοιχεί σε επίπτωση 0,56/100 000 κατ (**πίνακας 1**).

Πίνακας 1: Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά μικροοργανισμό (έτος 2008)

Μικροοργανισμοί	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2008		
	Αριθ. Κρουσμάτων	%	Επίπτωση/100,000
Μηνιγγιτιδόκοκκος	74	10.34	0.67
Πνευμονιόκοκκος	62	8.6	0.56
Αιμόφιλος	1	0.13	0.01
Κρούσματα Μικροβιακής (άλλο βακτήριο)	166	23.2	1.49
<i>Επιβεβαιωμένα</i>			
• <i>Streptococcus spp</i> (group A&B)	43	(6.0)	0.39
• <i>Pseudomonas areogunosa</i>	6	(0.84)	0.05
• <i>Haemophilus spp</i>	4	(0.56)	0.04
• <i>Listeria monocytogenes</i>	1	(0.13)	0.01
• <i>Staph. aureus</i>	3	(0.41)	0.03
Ιός	356	49.8	3.21
Αγνώστου αιτιολογίας	56	7.8	0.5
Σύνολο	715	100	6.44

✚ Κρούσματα από *Neisseria meningitidis*

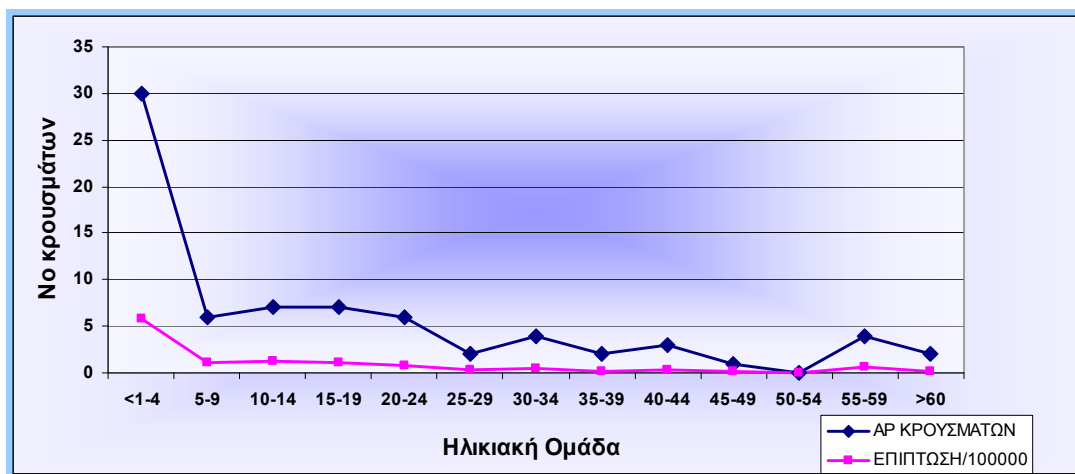
Τα περισσότερα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου εμφανίζονται σε βρέφη και παιδιά ηλικίας έως 4 ετών ενώ ακολουθούν οι ηλικιακές ομάδες 10-14 και 15-19 ετών. Ο αριθμός των δηλωθέντων κρουσμάτων και η επίπτωση κατά 5ετείς ομάδες ηλικίας φαίνονται στον **πίνακα 2** και στο **διάγραμμα 1**.

Πίνακας 2 : Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση κατά πενταετείς ομάδες ηλικίας / 100.000 κάτοικους κατά το έτος 2008

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ *	ΑΡ	
		ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ /100,000
0-4	521113	30	5.76
5-9	516872	6	1.16
10-14	557841	7	1.25
15-19	603948	7	1.16
20-24	749359	6	0.8
25-29	845178	2	0.24
30-34	865538	4	0.46
35-39	878355	2	0.23
40-44	797489	3	0.38
45-49	782173	1	0.13
50-54	715016	0	0
55-59	679735	4	0.59
>60	2591312	2	0.08
ΣΥΝΟΛΟ	11.103.929	74	0.67

** Πληθυσμός 30^{ης} Ιουνίου 2005

Διάγραμμα 1. Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγ/κής νόσου και επίπτωση / 100.000 κατ ανά 5ετείς ομάδες ηλικίας (έτος 2008)



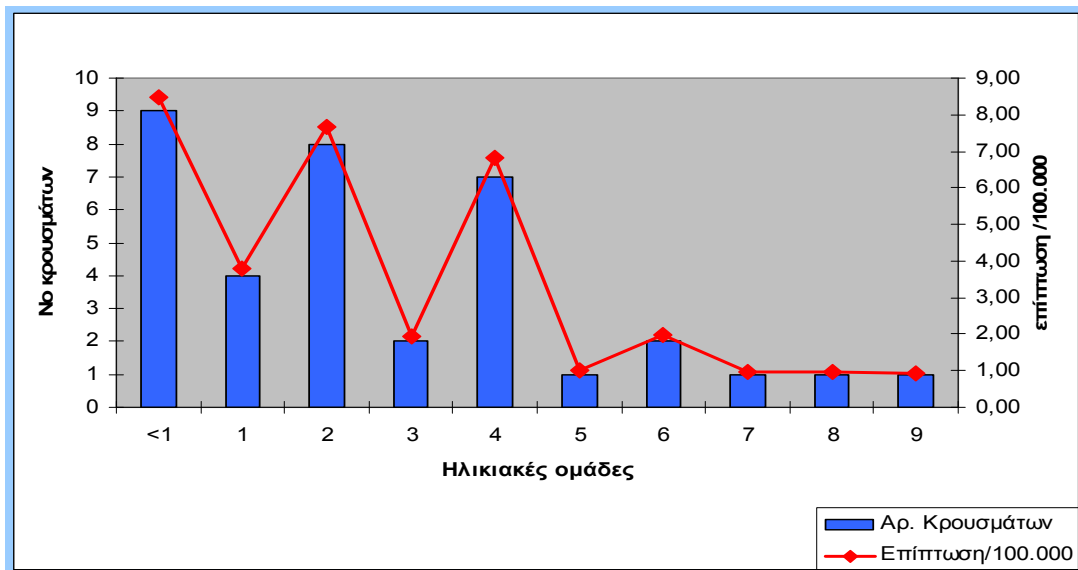
Από την ανάλυση των κρουσμάτων για την ηλικιακή ομάδα από 0-9 χρόνων φαίνεται ότι τα περισσότερα κρούσματα καταγράφηκαν στα βρέφη ηλικίας < 1 έτους καθώς επίσης και στις ηλικίες 2 και 4 ετών (πίνακας 3, διάγραμμα 2).

Πίνακας 3 : Αριθμός δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση / 100.000 κάτοικους στην ηλικιακή ομάδα 0-9 χρόνων κατά το έτος 2008

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ *	ΑΡ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ /100000
<1	106388	9	8.46
1	105118	4	3.81
2	104135	8	7.68
3	103111	2	1.94
4	102361	7	6.84
5	101347	1	0.99
6	100312	2	1.99
7	102339	1	0.98
8	105220	1	0.95
9	107654	1	0.93
Σύνολο	1.037.985	36	3.47

* 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 2008)



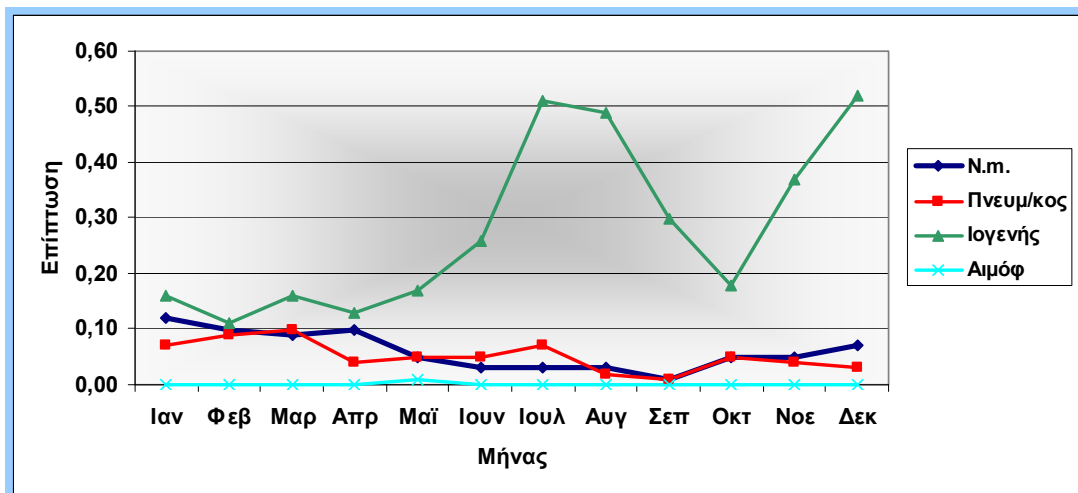
Εποχιακή κατανομή

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 Ιούλιο και Αύγουστο στα οποία η επίπτωση κυμάνθηκε σε υψηλά επίπεδα (διάγραμμα 3). Επιπλέον, αυξημένα κρούσματα και επίπτωση ιογενούς μηνιγγίτιδας καταγράφηκαν για πρώτη φορά για τους μήνες Νοέμβριο και Δεκέμβριο. Συγκριτικά με το έτος 2007, η επίπτωση μειώθηκε, η οποία κατά τους θερινούς μήνες είχε κυμανθεί μεταξύ 2-2,3/ 100 000 κατ. (διάγραμμα 3).

Πίνακας 4: Δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου και επίπτωση (ανά 100.000 κατ.) ανά μήνα κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2008

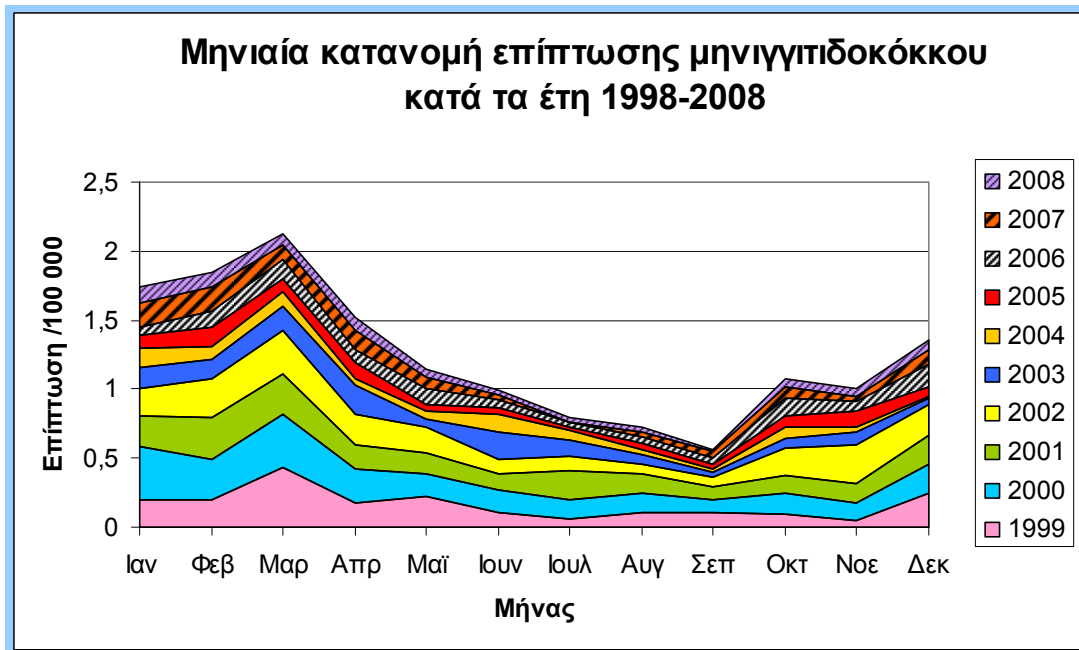
Μήνες	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ ΜΗΝ/ΚΟΚ ΝΟΣΟΥ	ΕΠΙΠΤΩΣΗ
Ιανουάριος	13	0.12
Φεβρουάριος	11	0.1
Μάρτιος	9	0.09
Απρίλιος	10	0.1
Μάιος	5	0.05
Ιούνιος	3	0.03
Ιούλιος	3	0.03
Αύγουστος	3	0.03
Σεπτέμβριος	1	0.01
Οκτώβριος	5	0.05
Νοέμβριος	4	0.05
Δεκέμβριος	7	0.07
Σύνολο	74	0.70

Διάγραμμα 3. Μηνιαία κατανομή επίπτωσης δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας ανά αιτία έτους 2008



Στο **διάγραμμα 4**, φαίνεται η μηνιαία κατανομή επίπτωσης της μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου κατά την τελευταία δεκαετία (1998-2008).

Διάγραμμα 4.



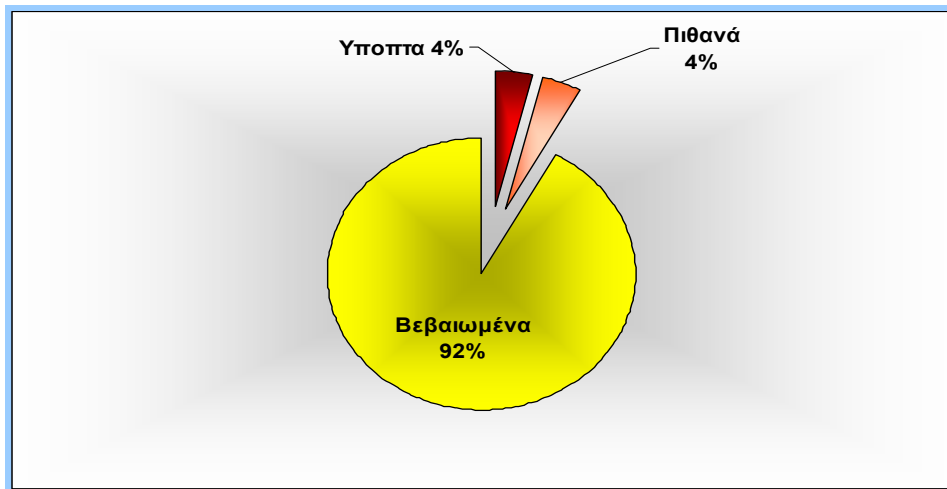
Κατάταξη των κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου

Τα δηλωθέντα κρούσματα μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου σύμφωνα με τους επιδημιολογικούς ορισμούς κατατάχθηκαν ως πιθανά σε ποσοστό **4%** και επιβεβαιωμένα σε ποσοστό **92%**, ενώ ποσοστό **4%** των παραπάνω κρουσμάτων κατάχθηκε στην κατηγορία των **ύποπτων κρουσμάτων** (Πίνακας 5, Διάγραμμα 5).

Πίνακας 5: Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου

Διάγνωση	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2008	
	Αριθμός κρουσμάτων	%
Υποπτα	3	4.0
Πιθανά	3	4.0
Βεβαιωμένα	68	92.0
Σύνολο	74	100

Διάγραμμα 5. Κατηγορία κατάταξης κρουσμάτων μηνιγγίτιδας νόσου



Όσον αφορά τα προηγούμενα έτη, παρατηρήθηκε περαιτέρω αύξηση του ποσοστού των βεβαιωμένων κρουσμάτων (92%) (87.8 και 87.7% για τα έτη 2006 και 2007 αντίστοιχα) 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 2008 στο **2.37% (17 θάνατοι)** (Πίνακας 6) σε αντίθεση με το 2007 όπου η θνητότητα ανήλθε στο 1,45.

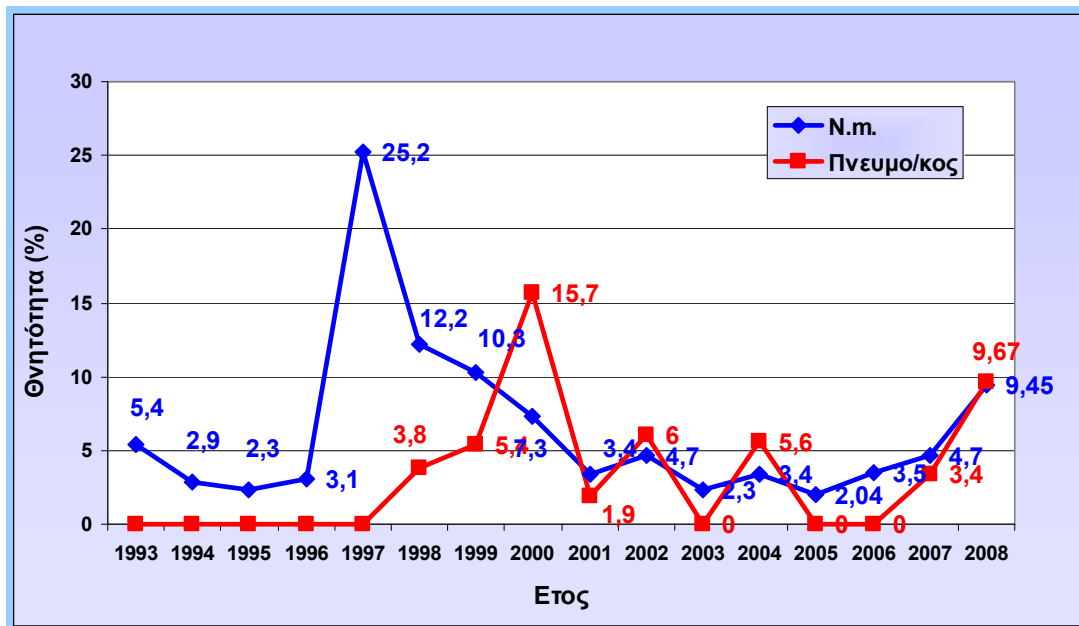
Πίνακας 6 : Αριθμός δηλωθέντων θανάτων μηνιγγίτιδας ανά μικροοργανισμό κατά το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2008

Μικροοργανισμοί	Αριθμός κρουσμάτων	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2008		Θνητότητα	
		Αριθμός θανάτων	%	2008	(2007)
Μηνιγγιτιδόκοκκος	74	7	41,2	9,45	(4,71)
Πνευμονιόκοκκος	62	6	35,3	9,67	(3,38)
Αιμόφιλος	1	0	0	0	(16,66)
Μικροβιακή (άλλο βακτήριο)	166	4	23,5	2,4	(5,35)
Ίος	356	0	0	0	
Αγνώστου αιτιολογίας	56	0	0	0	
Σύνολο	715	17	100	2,37	(1,45)

Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα, τα 7 θανατηφόρα κρούσματα προκλήθηκαν από μηνιγγιτιδόκοκκο, 6 από πνευμονιόκοκκο, ενώ τα άλλα 4 προκλήθηκαν από μηνιγγίτιδα άλλης βακτηριακής αιτιολογίας. Από την τυποποίηση των 3 από τα 4 θανατηφόρα κρούσματα φάνηκε ότι 2 προκλήθηκαν από *Streptococcus spp*, (ένα από στρεπτόκοκκο ομάδας A (GAS) και 1 από *H.influenzae*.

Η θνητότητα από **μηνιγγιτιδόκοκκο** και **πνευμονιόκοκκο** των τελευταίων 16 ετών φαίνεται στο **διάγραμμα 6**.

Διάγραμμα 6.



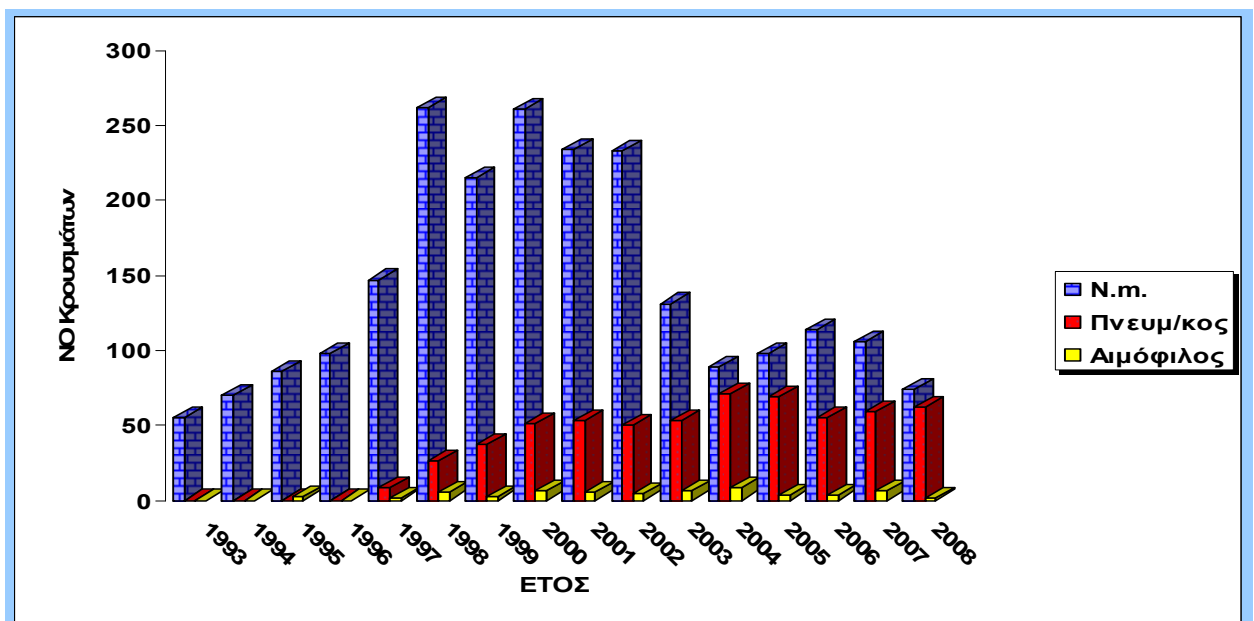
Διαχρονική πορεία δηλωθέντων κρουσμάτων μηνιγγίτιδας

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 κατά την διετία 2005-2006. Κατά την διετία 2007-2008 παρατηρείται μείωση των κρουσμάτων αυτών. Αντίθετα, σημαντική αύξηση του αριθμού κρουσμάτων μηνιγγίτιδας από πνευμονιόκοκκο καταγράφηκε κατά το χρονικό διάστημα 2000-2005 (51-69 κρούσματα), παρουσιάζοντας μικρή μείωση το έτος 2006 (55 κρούσματα) ενώ κατά την διετία 2007-2008 παρουσιάζει 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- 2008

ΕΤΟΣ	Σύνολο κρουσμάτων (επίπτωση)	<i>N. meningitidis</i> (επίπτωση)	Πνευμ/κος (επίπτωση)	Αιμόφιλος (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

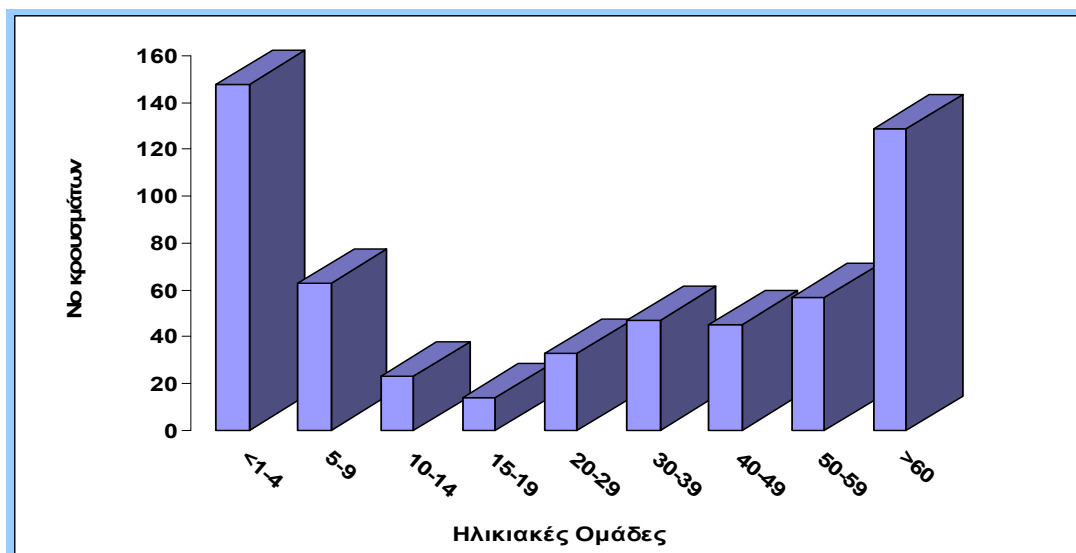
Διάγραμμα 7. Δηλωθέντα κρούσματα βακτηριακής μηνιγγίτιδας ανά αιτία (1993-2008)



🚩 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 (2003-2008)



Από τα 559 κρούσματα μηνιγγίτιδας από πνευμονιόκοκκο, που καταγράφησαν τα 6 τελευταία χρόνια, τα 277 (50 %) αφορούσαν 2 ηλικιακές ομάδες: την ηλικιακή ομάδα <1-4 χρόνων σε ποσοστό 26.4% (148/559) και την ηλικιακή ομάδα άνω των 60 χρόνων (129/559, 23,6%). Τα υπόλοιπα 282 κρούσματα, κατανεμήθηκαν στις ηλικιακές ομάδες 5-59 (Πίνακας 8). Η δε επίπτωση/100 000 ανά ηλικιακή ομάδα για το έτος 2008 φαίνεται στον πίνακα 9.

Πίνακας 8. Αριθμός κρουσμάτων πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας ανά ηλικία (2003-2008)

Ηλικιακή ομάδα	No κρουσμάτων	Ποσοστό (%)
<1-4	148	26,4
5-9	63	11,2
10-14	23	4,1
15-19	14	2,4
20-29	33	5,8
30-39	47	8,4
40-49	45	8,0
50-59	57	10,1
>60	129	23,6
ΣΥΝΟΛΟ	559	100

Πίνακας 9. Επίπτωση πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας σε σχέση με την ηλικία (2008).

Ηλικιακή ομάδα	Νο κρουσμάτων	Επίπτωση /100 000
<1-4	11	2,11
5-9	6	1,16
10-14	2	0,36
15-19	2	0,33
20-29	4	0,25
30-39	5	0,29
40-49	8	0,51
50-59	6	0,43
>60	17	0,66
ΣΥΝΟΛΟ	61*	0,55

* σε ένα κρούσμα ηλικία δεν ήταν γνωστή

Β. ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΜΕΝΑ ΚΡΟΥΣΜΑΤΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗΣ ΜΗΝΙΓΓΙΤΙΔΑΣ

Στο Εθνικό Κέντρο Αναφοράς Μηνιγγίτιδας, εξετάστηκαν **συνολικά 791 δείγματα** κατά την διάρκεια του έτους 2008. Συγκεκριμένα, εξετάσθηκαν με συμβατικές και μοριακές τεχνικές 791 δείγματα βιολογικών υλικών (ΕΝΥ, αίμα και πλευριτικά υγρά) καθώς επίσης και αιμοκαλλιέργειες και 26 μηνιγγιτιδοκοκκικά στελέχη **από 765 ασθενείς (πίνακας 10)**

Πίνακας 10. Εξετασθέντα δείγματα ανά μικροοργανισμό και προέλευση

Μικροοργανισμός	Νο Ασθενών	ΑΙΜΑ	ΕΝΥ	Πλευριτικό υγρό	Αρθρικό υγρό	Στελέχη	ΣΥΝΟΛΟ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ
<i>N. meningitidis</i>	74	45	41	0	0	26	112
<i>S. pneumoniae</i>	54	30	32	12		8	81
<i>H. Influenzae b</i>	1	1	1				2
Βακτηριακές μηνιγγ	118	60	87		1		147
Ιογενείς μηνιγγ	356	91	157				249
Αγνώστου αιτιολογίας	66	52	37	4			93
Εμπύρετα	96	78	24	5			107
ΣΥΝΟΛΟ	765	357	379	21	1	34	791



Neisseria meningitidis

Από τα 791 δείγματα βιολογικών υλικών, επιβεβαιώθηκαν **ως θετικά για *N. meningitidis* (με PCR) τα 108 δείγματα** τα οποία προερχόταν από **59 ασθενείς** με ύποπτη, πιθανή ή βεβαιωμένη κλινική εικόνα μηνιγγιτιδοκοκκικής μηνιγγίτιδας.

1. Φαινοτυπικά Χαρακτηριστικά-Οροομάδες

Από τα 26 μηνιγγιτιδοκοκκικά στελέχη τα οποία εστάλησαν, στα 14 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 **64 δείγματα**. Συγκεκριμένα, στην **οροομάδα Β** ανήκε ποσοστό 84,4 % (54/64) των περιπτώσεων στην **οροομάδα C** το 7,8% (5/64) των στελεχών/βιολογικών υλικών ενώ στην οροομάδα Α το ποσοστό ανήλθε στο 4,7% (3/64), αυξημένο σε σχέση με τα 2 προηγούμενα έτη (1,07% και 0% για τα έτη 2006 και 2007 αντίστοιχα) **(Πίνακας 11)**.

Πίνακας 11 : Ορολογική τυποποίηση μηνιγγιτιδοκόκκων κατά το έτος 2008
(με συμβατικές και μοριακές τεχνικές)

Οροομάδες	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2008	
	Αριθμός στελεχών/ βιολ. υλικών	%
A	3	4,7
B	54	84,4
C	5	7,8
W-135	0	0
Y	0	0
N.G.	2	3,1
Σύνολο	64	100

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

Πίνακας 12. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά *N. meningitidis* που απομονώθηκαν στην Ελλάδα (1993 – 2008).

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)
2008	64	54	(84,4)	5	(7,8)	3	(4,7)	0		2	(3,1)

Θνητότητα ανά οροομάδα

Η **θνητότητα** του μηνιγγιτιδοκόκκου ανά οροομάδα συνολικά ανήλθε στο 5,4%. Από τα 7 θανατηφόρα περιστατικά που προκλήθηκαν από μηνιγγιτιδοκόκκο, βιολογικά υλικά 4 κρουσμάτων εστάλησαν στο Κέντρο Αναφοράς, τα οποία

ανήκαν στην οροομάδα B, ενώ για τις άλλες οροομάδες η θνητότητα ήταν μηδενική (πίνακας 13).

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

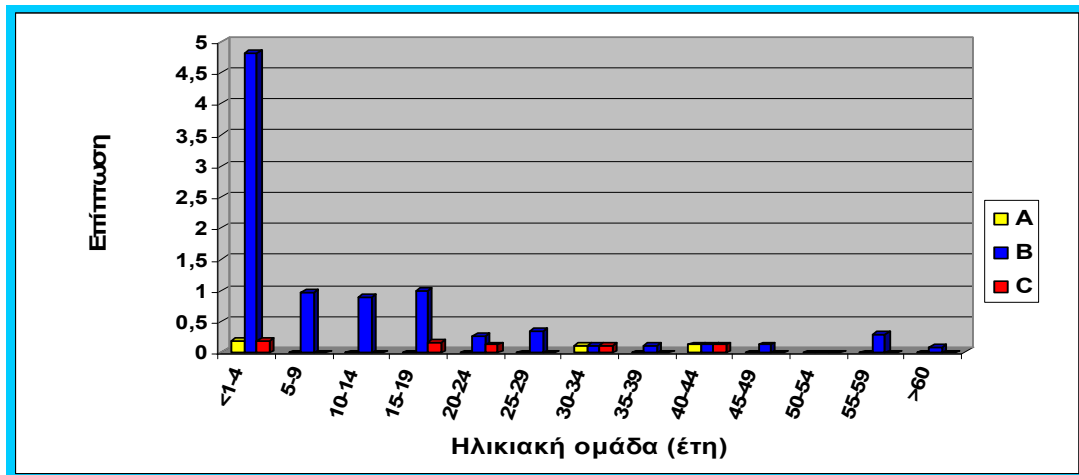
Οροομάδες	Ιανουάριος – Δεκέμβριος 2008			
	Αριθμός ασθενών	Αριθμός θανάτων	%	Θνητότητα
A	3			0
B	54	4	100	5,4
C	5			0
W-135	0			0
Y	0			0
N.GROUP	2			0
Σύνολο	64	4		5,4

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

Πίνακας 14: Κατανομή σε οροομάδες (SG) του μηνιγγιτιδόκοκκου και επίπτωση (rate) ανά 100.000 κατοίκους κατά πενταετείς ηλικιακές ομάδες για το χρονικό διάστημα Ιανουάριος – Δεκέμβριος του 2008

ΗΛΙΚΙΑ	ΠΛΗΘ.	A	rate	B	rate	C	rate	W	rate	Y	rate	N.G	rate
0-4	521113	1	0,19	25	4,80	1	0,19	0	0,00	0	0,00	0	0,00
5-9	516872	0	0,00	5	0,97	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,19
10-14	557841	0	0,00	5	0,90	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
15-19	603948	0	0,00	6	0,99	1	0,17	0	0,00	0	0,00	0	0,00
20-24	749359	0	0,00	2	0,27	1	0,13	0	0,00	0	0,00	0	0,00
25-29	845178	0	0,00	3	0,35	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
30-34	865538	1	0,12	1	0,12	1	0,12	0	0,00	0	0,00	0	0,00
35-39	878355	0	0,00	1	0,11	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
40-44	797489	1	0,13	1	0,13	1	0,13	0	0,00	0	0,00	0	0,00
45-49	782173	0	0,00	1	0,13	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
50-54	715016	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
55-59	679735	0	0,00	2	0,29	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,15
>60	2591312	0	0,00	2	0,08	0	0,00	1	0,04	0	0,00	0	0,00
ΣΥΝΟΛΟ	11103929	3	0,03	54	0,49	5	0,05	0	0,00	0	0,00	2	0,02

Διάγραμμα 9. Κατά ηλικία και ορομάδα επίπτωση (ανά 100,000 κατ) της *N. meningitidis* (σε κρούσματα) κατά το έτος 2008.



2. Φαινοτυπικά Χαρακτηριστικά-Ορότυποι/Υπότυποι

Στα 26 στελέχη τα οποία εστάλησαν στο ΕΚΑΜ κατά την διάρκεια του έτους 2008 έγινε φαινοτυπική διερεύνηση για την «παρουσία» επιδημικού κλώνου.

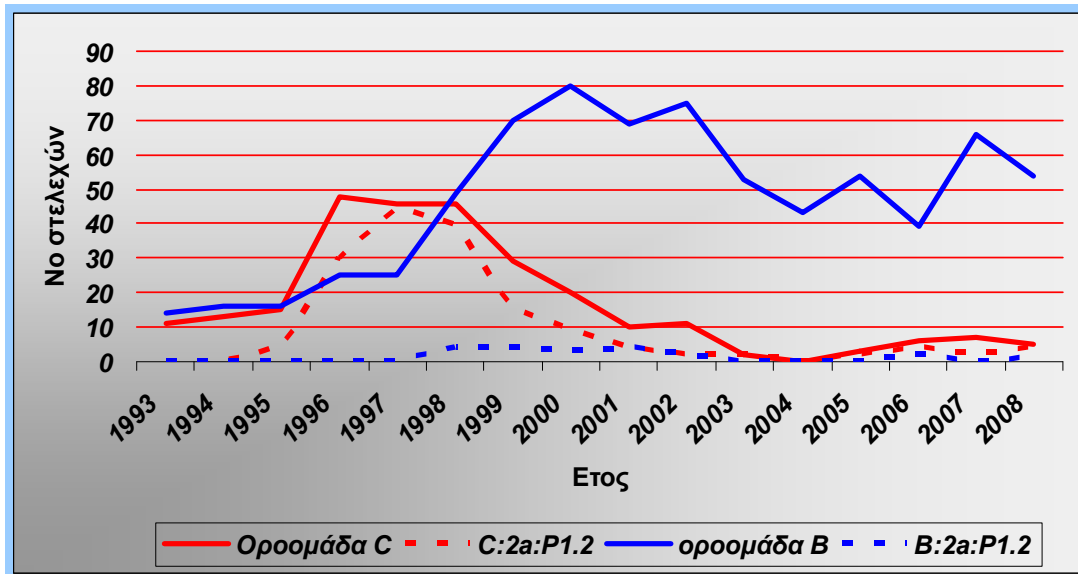
Η πλειοψηφία των στελεχών της ορομάδας Β ανήκε στον φαινότυπο Β:4:P1.6 (4/26 15.4%), και ακολουθούν τα στελέχη με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά Β:4:P4 και Β:4:P1.14 (7.7%). Κανένα από τα στελέχη της ορομάδας Β με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά «επιδημικού κλώνου» δηλ Β:2a:P1.2 δεν απομονώθηκε κατά το έτος 2008 (πίνακας 15).

Από τα 2 στελέχη που ανήκαν στην ορομάδα C, το ένα ανήκε στον επιδημικό κλώνο C:2a:P1.2,5, ο οποίος τα τελευταία χρόνια παρουσιάζει σημαντική μείωση (Πίνακας 15, Διάγραμμα 10).

Πίνακας 15. Επικρατέστερα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των μηνιγγιτιδοκοκκικών στελεχών τα οποία απομονώθηκαν το έτος 2008

ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ (ΟΡΟΟΜΑΔΑ, ΟΡΟΤΥΠΟΣ/ΥΠΟΤΥΠΟΣ)	ΑΡ. ΣΤΕΛΕΧΩΝ	ΠΟΣΟΣΤΟ (%)
B:4:P1.6	4	15.4
B:4:P1.4	2	7.7
B:4:P1.14	2	7.7
Άλλοι φαινότυποι σχετιζόμενοι με την ορομάδα Β	16	61.5
Σύνολο στελεχών ορομάδας Β	24	
C:2a:P1.2,5	1	3.8
Άλλοι φαινότυποι σχετιζόμενοι με την ορομάδα C	1	3.8
Σύνολο στελεχών ορομάδας C	2	
ΣΥΝΟΛΟ	26	100

Διάγραμμα 10. Παρακολούθηση του επιδημικού κλώνου στην Ελλάδα από το 1993-2008.

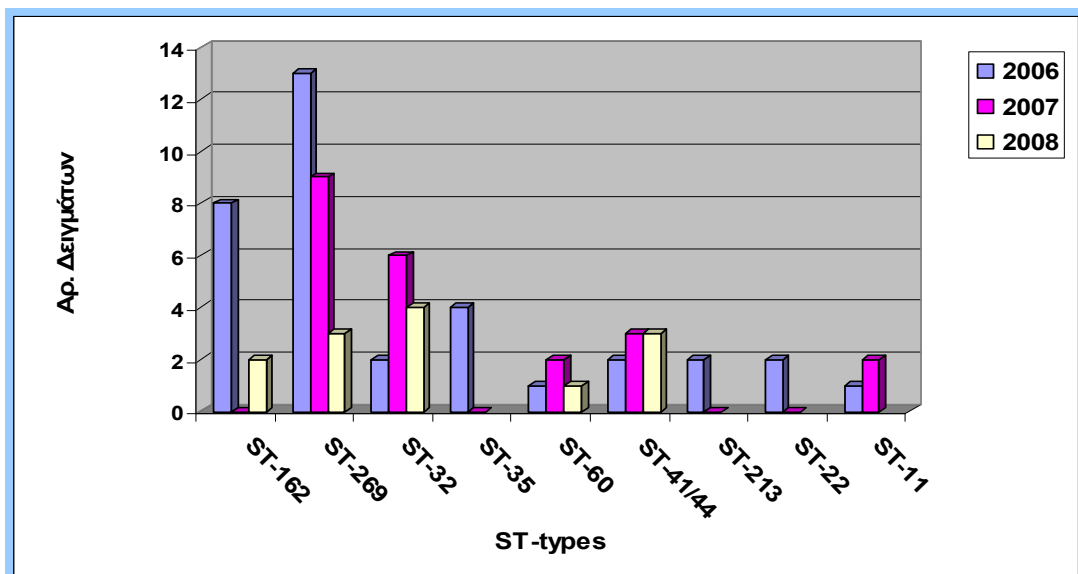


3. Γονοτυπικά χαρακτηριστικά

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 (Διάγραμμα 11).

Διάγραμμα 11. Επικρατέστεροι Sequence Types (ST) στην Ελλάδα (2006-2008)



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 18-1, 3 και 38 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, 10-8, 36.

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.

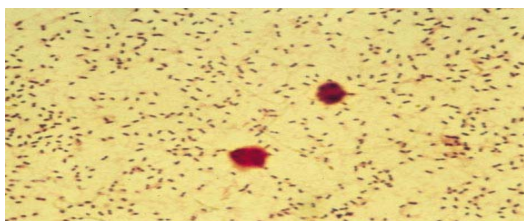
1. Τεχνική του πολλαπλασιασμού μεταβλητού μεγέθους επαναλαμβανόμενων περιοχών του γονιδιώματος για τον φυλογενετικό συσχετισμό των στελεχών –βιολογικών υλικών (Variable Tandem Repeat Analysis- **VNTR**).
2. Τεχνική του τυχαίου πολλαπλασιασμού του πολυμορφισμού του DNA έτσι ώστε να καταδεικνύει την ομοιότητα 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**)

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 3 από τα 26 στελέχη (11,5%) είχαν μειωμένη ευαισθησία στην πενικιλίνη (MIC ≥ 0.094 mg/ml), ποσοστό αυξημένο σε σχέση με το προηγούμενο έτος (8,33%). Όλα τα στελέχη ήταν ευαίσθητα στα αντιβιοτικά : κεφακλόρη, κεφτριαξόνη, κiproφλοξακίνη, κεφοταξίμη, χλωραμφαινικόλη, τετρακυκλίνη, ριφαμπικίνη και ερυθρομυκίνη,



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** επιβεβαιώθηκαν (με PCR) συνολικά 55 δείγματα προερχόμενα από 55 ασθενείς και αφορούσαν: 42 ασθενείς με μηνιγγίτιδα και 12 ασθενείς με πνευμονία.

Περαιτέρω, έγινε η μοριακή τους τυποποίηση ως προς τους 9 συχνότερους ορότυπους, δεδομένου ότι 6 ορότυποι περιλαμβάνονται στο νέο 7δύναμο συζευκτικό εμβόλιο και είναι σημαντική η επιδημιολογική διερεύνηση και παρακολούθηση της τάσης των οροτύπων που επικρατούν μετά τον εμβολιασμό. Στον **πίνακα 16** φαίνονται οι επικρατέστεροι ορότυποι του πνευμονιοκόκκου κατά το έτος 2008.

Πίνακας 16. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν Μηνιγγίτιδα/πνευμονία κατά το έτος 2008

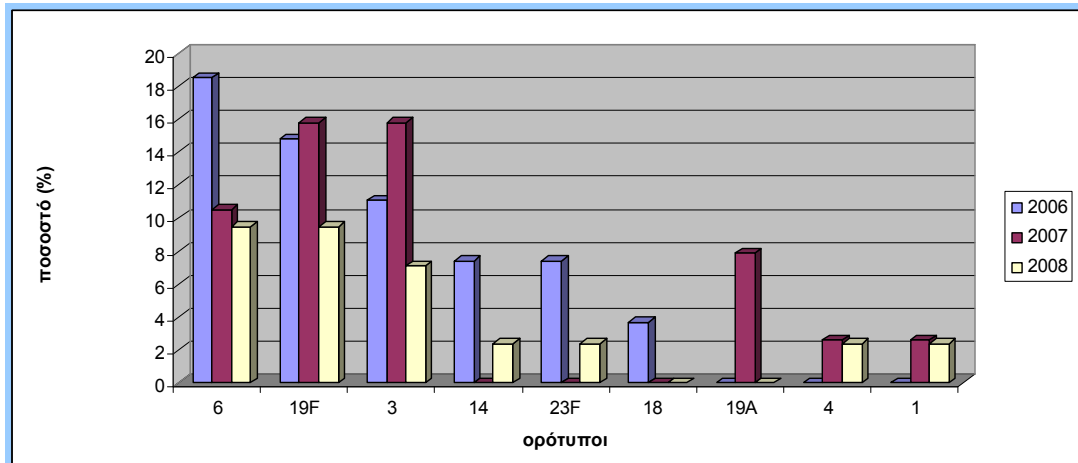
Ορότυπος	Μηνιγγίτιδες (%)		Πνευμονίες (%)	
	Αριθμός	Ποσοστό	Αριθμός	Ποσοστό
6	4	9,5	1	8,4
19F	4	9,5		
3*	3	7,1	3	25,0
14	1	2,4		
23 F	1	2,1		
18	0	0		
19A*	0	0	1	8,4
4	1	2,4		
1*	1	2,4		
NT	27	64,3	5	
ΣΥΝΟΛΟ	42	100	12	100

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

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι οι επικρατέστεροι ορότυποι για το έτος 2008 είναι οι 19F και ο 6. Παρατηρείται δε αύξηση του οροτύπου 3 στις πνευμονίες όπου είναι ο κυρίαρχος ορότυπος σε σχέση με το προηγούμενο έτος (2007) ορότυπος ο οποίος δεν συμπεριλαμβάνεται στο νέο 7δύναμο συζευγμένο εμβόλιο.

Στο **διάγραμμα 12** φαίνονται οι επικρατέστεροι ορότυποι για τα έτη 2006-2008.

Διάγραμμα 12. Επικρατέστεροι ορότυποι *S. pneumoniae* οι οποίοι προκαλούν μηνιγγίτιδα στην Ελλάδα την τελευταία 3ετία (2006-2008)

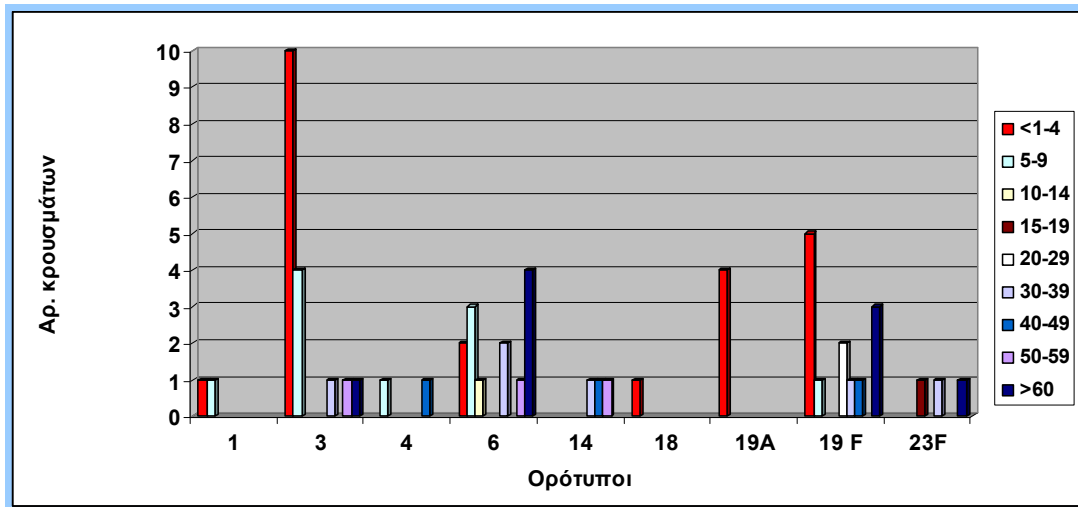


Κατά την ανάλυση των οροτύπων σε σχέση με την ηλικία κατά την τελευταία 3ετία (2006-2008) φαίνεται ότι ο ορότυπος 3 επικρατεί στις ηλικιακές ομάδες <1-4 και 5-9 ετών (πίνακας 17, διάγραμμα 13) με επόμενους οροτύπους τους 19F και 19A. Σημαντικό είναι το γεγονός ότι οι ορότυποι 3 και 19A δεν συμπεριλαμβάνονται στο 7δύναμο συζευγμένο εμβόλιο. Όσον αφορά τις μεγαλύτερες ηλικίες, οι ορότυποι 6 και 19F είναι οι επικρατέστεροι (πίνακας 17, διάγραμμα 13).

Πίνακας 17: Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου ανά ηλικία (2006-2008)

ΟΜΑΔΑ (έτη) /Ορότυπος	1	3	4	6	14	18	19A	19 F	23F	NT
<1-4	1	10		2		1	4	5		13
5-9	1	4	1	3				1		15
10-14				1						6
15-19									1	3
20-29								2		3
30-39		1		2	1			1	1	1
40-49			1		1			1		4
50-59		1		1	1					2
>60		1		4				3	1	6
ΣΥΝΟΛΟ	2	17	2	13	3	1	4	13	3	53

Διάγραμμα 13: Ανάλυση των οροτύπων πνευμονιοκόκκου ανά ηλικία (2006-2008)



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 (Χιρογιάννη και συν. 2009).

Με την εφαρμογή αυτή, τυποποιήθηκαν ως θετικά 57 από τα 147 κλινικά δείγματα (49,1%), προερχόμενα από 118 ασθενείς,. Από αυτά, τα 43 ταυτοποιήθηκαν ως *Streptococcus spp.*, (εκ των οποίων 4 τυποποιήθηκαν ως ομάδα Β και 3 ως ομάδα Α), 6 *Pseudomonas aeruginosa*, 4 *Haemophilus spp.*, 1 δείγμα ως *Listeria monocytogenes* και 3 δείγματα ως *Staphylococcus aureus* (Πίνακας 18).

Τα περισσότερα κρούσματα που ταυτοποιήθηκαν ως *Streptococcus spp* σημειώθηκαν στις ηλικιακές ομάδες <1-4 (14 κρούσματα) και 5-9 (11 κρούσματα) ετών με επίπτωση 2,69 και 2,13 ανά 100 000 αντίστοιχα. (Πίνακας 18)

Πίνακας 18. Κατανομή των βακτηριακών μηνιγγιτίδων ανά μικροοργανισμό και ηλικιακή ομάδα

Ηλικία	streptococcus spp		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Listeria monocytogenes</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Haemophilus spp</i>	
	NO Κρούσμ	Rate*	NO Κρούσμ	rate	NO Κρούσμ	rate	NO Κρούσμ	rate	NO Κρούσμ	rate
<1-4	14	2,69	3	0,58	1	0,94	0	0,00	1	0,19
5-9	11	2,13							3	0,58
10-14	5	0,90								
15-19	2	0,33								
20-29	0	0								
30-39	2	0,23								
40-49	2	0,25	3	0,12	0	0,00	3	0,15		
50-59	2	0,29								
>60	5	0,15								
ΣΥΝ	43	0,39	6	0,05	1	0,01	3	0,03	4	0,04

* Rate: επίπτωση ανά 100 000 κατ

Ιογενείς και λοιπές μηνιγγίτιδες

Από τα υπόλοιπα 347 αρνητικά δείγματα, προερχόμενα από 280 ασθενείς, τα περισσότερα αφορούσαν ιογενή (n= 249, 356 ασθενείς) ή μικροβιακή μηνιγγίτιδα άλλης ή αγνώστου αιτιολογίας (n=200, 162 ασθενείς).

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. 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.
2. 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 (in press)
3. 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.
4. 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
5. 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
6. 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.
7. 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.
8. 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.

9. 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
10. 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
11. 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.
12. 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.
13. 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 .
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.

18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. 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
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. 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
27. N. Sifakas, 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

28. 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
29. 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
30. 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.
31. 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.
32. N. Sifakas, 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
33. 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.
34. 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
35. 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
36. P. Markoulatos, A. Georgopoulou, N. Sifakas, 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

37. 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 Εταιρίας 2000, 45 (1): 22-28.
38. 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
39. 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
40. 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
41. 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
42. Κρεμαστινού Τ. και Τ. Τζανακάκη. Επιδημιολογικά στοιχεία της μηνιγγιτιδοκοκκικής νόσου στην Ελλάδα 1993-1998. Επιδημιολογικό Δελτίο Λοιμωδών Νοσημάτων Ελλάδος. 1999;13:81-82.
43. 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
44. Κρεμαστινού Τζένη, Τζωρτζίνα Τζανακάκη, Αριστέα Βελεγράκη. Η Μηνιγγιτιδοκοκκική Νόσος (βιβλίο) Αθήνα 1996
45. 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
46. 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
47. 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

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 Αμφιράειου Ιδρύματος Χημειοθεραπευτικών Μελετών

Τζανακάκη Τ, Καραγκούνη Ε, Ηλιάδης Π, και Κρεμαστινού Τ.: Παραγωγή νεύου μονοκλωνικού αντισώματος έναντι των πρωτεϊνών της εξωτερικής μεμβράνης στελεχών *N. meningitidis* που απομονώνονται στην Ελλάδα.

2000. 1^ο βραβείο 19^{ου} Εθνικού Συνεδρίου Μικροβιολογίας

Θεμελή Ε, Τζανακάκη Τ, Λεβειδιώτου Σ, Βογιατζή Α, Κρεμαστινού Τ. PCR: μία πολύτιμη μέθοδος για την τυποποίηση των μη-τυποποιήσιμων μηνιγγιτιδοκοκκικών στελεχών (NG) που απομονώθηκαν από φορείς.

2005. Βραβείο «Αντιγόνης Αρσένη»

(στα πλαίσια των εργασιών του 2^{ου} Εθνικού συνεδρίου Κλινικής Μικροβιολογίας)
Κεσανόπουλος Κ, Τζανακάκη Τ, Τσοπανομίχαλου Μ, Σιουμάλα Μ, Ματζουράνη Ρ, Ταμπάκη Α και Κρεμαστινού Τ. Ταυτόχρονη ανίχνευση των μικροοργανισμών *N. meningitidis*, *Str. pneumoniae* και *H. influenzae type b* με την μέθοδο της multiplex PCR .

2008. Πρώτο Βραβείο 5^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Ιατρικής Βιοπαθολογίας

Ξηρογιάννη Α, Τζανακάκη Τζ, Μακρή Α, Αρφυροπούλου Α, Βογιατζή Α, Καραγιάννη Ε, Μάρκου Φ, Καλημερατζή Κ, Πανιάρα Ο, Κρεμαστινού Τζ. Ανάπτυξη τετραπλής PCRγια την ταυτόχρονη ανίχνευση των μικροοργανισμών *H. influenzae*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus*, *streptococcus spp* σε βιολογικά υλικά