



DACE ZAVADSKA

**A grupas β hemolītiskā streptokoka infekcija
bērniem Latvijā**

Kopsavilkums

PROMOCIJAS DARBS

medicīnas zinātņu doktora grāda iegūšanai bērnu infekcijas slimībās

Rīga, 2010

Darba zinātniskā vadītāja:

Dr. habil. med., profesore, LZA kor. loc. **Dace Gardovska**

Darba zinātniskie konsultanti:

- Dr.med., asociētā profesore **Valda Staņēviča**
- Dr.biol., asociētais profesors **Edvīns Miklaševičs**

Recenzenti:

- Dr. habil. med., profesore, LZA kor. loc. **Ludmila Vīksna** (RSU)
- Dr. habil. biol., profesors **Aleksandrs Rapoport** (LU)
- Dr. med. asociētais profesors **Enoks Biķis** (LU)

Promocijas darbs veikts Rīgas Stradiņa universitātes Pediatrijas katedrā.

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2010. gada 14.jūnijā plkst.15.00 Rīgas Stradiņa universitātes Internās medicīnas promocijas padomes atklātajā sēdē Hipokrāta auditorijā, Rīgā, Dzirciema ielā 16.

Ar promocijas darbu var iepazīties Rīgas Stradiņa universitātes bibliotēkā.

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. habil. med., profesore Maija Eglīte

Pētnieciskā darba finansējums un atbalsts



1. ESF Nacionālās programmas “Atbalsts doktorantūras programmu īstenošanai un pēcdoktorantūras pētījumiem” projekta “*Atbalsts doktorantūras un pēcdoktorantūras pētījumiem medicīnas zinātnēs*” līg.Nr. 2004/0005/VPD1/ESF/PIAA/ 04/NP/3.2.3.1./ 0001/0004/0066.
2. ESF projekts „Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei RSU, vienošanās Nr. 2009/0147/1DP/1.1.2.1.2./09/IPIA/VIAA/009.
3. PVO multicentriskais (Ēģipte, Latvija, Brazīlija, Horvātija) pētījums *The Grasp study*, 2001-2004.gads.
4. LZP grants (projekts Nr.04.1211), 2004.-2008.gads.
5. IZM Zinātniskās darbības attīstība 2007.gadā
Zinātnes nozarē : Medicīna;
Pētniecības virziena un apakšvirziena: Bērnu mirstību un invaliditāti izraisošo faktoru izpēte, bērnu slimības, bērnu infekcijas slimības, bērnu ķirurģija, bērnu reimatoloģija, imūnoģenētika, embrioloģija, zobārstniecība
Projekts: *Bērnu mirstību un invaliditāti izraisošo faktoru izpēte saistībā ar jaunu diagnostikas, ārstēšanas un prevencijas pasākumu izstrādi bērnu veselības uzlabošanai Latvijā.*
6. Valsts pētījumu programmas „Latvijas iedzīvotāju dzīvildzi un dzīves kvalitāti apdraudošo galveno patoloģiju zinātniska izpēte ar multidisciplināru pētnieciskā konsorcijs palīdzību” 7. apakšprojekts „*Bērnu mirstības samazināšana, uzlabojot dzīvībai bīstamu infekcijas slimību agrīnu diagnostiku, ārstēšanas rezultātus un profilaksi Latvijā, izmantojot modernās molekulārās bioloģijas, citometrijas un imūnģenētikas metodes*” projekta ietvaros 2008.- 2009.gadā.

Saturs

1. Izmantotie saīsinājumi	5
2. Problēmas aktualitāte.....	7
3. Darba mērķis.....	9
4. Darba uzdevumi.....	9
5. Pētījuma jautājumi.....	9
6. Darba zinātniskā novitāte.....	10
7. Pētījuma praktiskais pielietojums.....	10
8. Darba struktūra un apjoms.....	11
9. Darba aprobācija.....	11
10. Publikācijas par darba tēmu.....	11
11. Materiāli un metodes	11
11.1. Pētījuma uzbūve	11
11.2. Pētījuma sadaļu dizains un metodes.....	12
11.3. Pētījuma organizācija.....	15
11.4. Datu analīze un statistiskā apstrāde.....	17
12. Rezultāti.....	18
12.1. Sadaļa I – AGBHS izraisītās infekcijas bērniem klīnisko formu struktūra Bērnu klīniskā universitātes slimnīcā.....	18
12.2. Sadaļa II – AGBHS izraisīta akūta faringīta bērniem prevalence BKUS Neatliekamās palīdzības nodaļā un klīniski-laboratorās diagnostikas īpatnības.....	19
12.3. Sadaļa III - Pētījuma laikā izdalīto AGBHS izolātu molekulārbioloģiska analīze un antimikrobās rezistences gēnu noteikšana...25	
12.4. Sadaļa IV- Ģenētisko asociāciju izpēte ar HLA II klases allēlēm bērniem ar RD Latvijā.....	32
13. Secinājumi.....	36
14. Publikācijas par pētījuma tēmu.....	37
15. Konferenču tēzes par pētījuma tēmu.....	38
16. Ziņojumi kongresos un konferencēs par pētījuma tēmu.....	41

1. Izmantotie saīsinājumi

AGBHS - A grupas beta hemolītiskais streptokoks

RD – reimatiskais drudzis

RSK – reimatiskā sirds kaite

PANDAS (*pediatric autoimmune neuropsychiatric disorder associated with streptococci*) - ar streptokoku asociēti pediatriiski autoimūni neiropsihiatriski traucējumi

VSIA BKUS – Valsts sabiedrība ar ierobežotu atbildību Bērnu klīniskās universitātes slimnīca

ASLO - antistreptolizīns O

antiDNaseB - anti deoksiribonukleāze B

PSGN - poststreptokoku glomerulonefrīts

SIC - streptokoka komplementa inhibējošais proteīns

MAC – komplementa membrānas uzbrukuma komplekss (*membrane attack complex*)

PMN - polimorfonukleārās šūnas

FDP - fibrīna degradācijas produkti

SPE - pirogēnais eksotoksīns

SPEA - streptokoka pirogēnais eksotoksīns A

speA - streptokoka pirogēnā eksotoksīna A gēns

StrepTŠS - streptokoku toksiskā šoka sindroms

SPEB - streptokoka pirogēnais eksotoksīns B

speB - streptokoka pirogēnā eksotoksīna B gēns

SPEC - streptokoka pirogēnais eksotoksīns C

MF - mitogēnais faktors

SSA - streptokoku superantigēns

TNF α - tumora nekrozes faktors- α

IL-1 β - interleikīns-1 β

IL-6 - interleikīns-6

IL-8 – interleikīns-8

SpyCPE - *S.pyogenes* šūnas apvalka proteināze

ĀSET - ātrais streptokoku noteikšanas eksprestests

MLS_B - makrolīdu-linkozamīda-streptogramīna B antibiotikas

PĶR – polimerāzes ķēdes reakcija

DNS – dezoksiribonukleīnskābe

HLA - *human leukocyte antigen* system (cilvēka leikocītu antigēnu sistēma)

MVR – mitrālo viru regurgitācija

AoVR – aortālo viru regurgitācija

MVB – multivalvulārs bojājums (MVR+AoVR)

MIC - minimālās inhibīcijas koncentrācijas metode

SSK-10 - Starptautiskais slimību klasifikators (10. izdevums)

TI - ticamības intervāls

C - citozīns

G - guanīns

ZVA – Zāļu valsts aģentūra

CDC - Centers for Disease Control and Prevention

2. Problēmas aktualitāte

A grupas beta hemolītiskais streptokoks (AGBHS) ir būtisks un bieži sastopams cilvēka patogēns visā pasaulē. AGBHS izraisa plaša spektra saslimšanas – no nekomplīcēta faringīta un piodermijas līdz invazīvām, dzīvību apdraudošām infekcijām, kā arī tādām nopietnām nestrutainām komplikācijām kā reimatiskais drudzis (RD) un pēcstreptokoku glomerulonefrīts (PSGN).

Gan AGBHS izraisīta infekcijas procesa gaita, gan neārstēta akūta streptokoku faringīta saistība ar tādām ne-strutainām komplikācijām kā reimatiskais drudzis, pēcstreptokoku glomerulonefrīts un PANDAS (*pediatric autoimmune neuropsychiatric disorder associated with streptococci*) jeb ar streptokoku asociēti pediatriiski autoimūni neiropsihiatriski traucējumi ir būtisks stimuls izprast un kontrolēt šo infekciju. Ir pierādīts, ka precīza diagnoze, efektīva un adekvāta antibakteriālā terapija palīdz šo problēmu risināt izmaksu efektīvā un ne-dārgā veidā.

Lai gan A grupas beta hemolītiskā streptokoka ierosinātas slimības ir pazīstamas kopš 19.gadsimta, ir veikta to izpēte, joprojām pastāv neatrisinātas vairākas problēmas:

- neskatoties uz socioekonomisku, vides faktoru un sanitāro apstākļu uzlabošanos industrializētās valstīs, AGBHS etioloģijas faringīts ir joprojām sastopams tikpat bieži kā attīstošās valstīs. Latvijā AGBHS prevalence akūto faringītu etioloģijā bērniem līdz šim nav pētīta, nav zināms arī A grupas Streptokoku nēsātāju biežums. Nav atrisināta AGBHS akūta faringīta agrīna diagnostika, kas ir svarīga, lai to pareizi ārstētu un pasargātu bērnus no vēlīnām komplikācijām (RD, PSGN). Attīstošajās valstīs nav pieejama laboratorā diagnostika, savukārt industrializētās valstīs iespējama hiperdiagnostika, jo pozitīva AGBHS kultūra iespējama arī A grupas streptokoka nēsāšanas gadījumos, kad antibakteriālā terapija nav jānozīmē.

- RD fokālu incidences paaugstināšanos ASV novēroja 20.gadsimta 80.gados, bet Latvijā 20.gs. 90. gados. Arī invazīvas infekcijas biežuma pieaugšana norāda, ka ir arī citi faktori, tādi kā saimnieka un patogēna mijiedarbība, kam ir liela nozīme slimības cēloņsakarībā un patoģenēzē. Ir zināms, ka noteiktas HLA II klases allēles, genotipi un haplotipi ir saistīti ar risku vai aizsardzību izveidot reimatisko drudzi (RD), kā rezultātā pacientam attīstās reimatisks sirdskaite (RSK), un šīs asociācijas ir nepārprotamas, ja tiek analizētas klīniski homogēnās pacientu grupās. Šāda predispozīcija Latvijā iepriekš nav pētīta.

- 21.gadsimta sākumā AGBHS vēl joprojām ir unikāls aspektā, ka līdz pat šim brīdim nav izdalīts tāds AGBHS klīniskais izolāts, kas būtu uzrādījis *in vitro* rezistenci pret penicilīnu, iespējams pasaulē vislētāko un vispieejamāko antimikrobo līdzekli. Tomēr antimikrobās jutības noteikšana ir svarīga racionālas antibakteriālās terapijas uzsākšanai gadījumos, kad penicilīns nevar būt izvēles preparāts. Izolātu testēšana ir nepieciešama ne tikai atbilstošas terapijas izvēlei, bet arī lai uzraudzītu un iespējams kontrolētu pret antimikrobiem medikamentiem rezistentu mikroorganismu vai to rezistences gēnu izplatību sabiedrībā un stacionāros. Akūts faringīts ir viens no biežākiem neracionālas antibakteriālās terapijas iemesliem, jo ārsti labprāt nozīmē antimikrobos līdzekļus bērniem ar eksudatīvu faringītu, bet no tām atsakās katarāla iekaisuma gadījumos, kas norāda uz neatbilstošas diagnostikas un ārstēšanas stratēģiju pacientiem ar faringīta klīniku, kā rezultātā pēdējās desmitgades laikā arvien biežāk pētījumos parādās pārliecinoši dati par pieaugošu AGBHS antibakteriālo rezistenci pret makrolīdiem. Latvijā AGBHS antibakteriālā rezistence iepriekš nav pētīta. Šī nepieciešamība palielinās līdz ar pieaugošo mikroorganismu multizāļu-rezistenci.

3. Darba mērķis

Dotā darba mērķis ir noteikt A grupas β hemolītiskā streptokoka infekcijas biežākās klīniskās izpausmes bērniem un predispozīciju smagām nestrutainām komplikācijām, kā arī izsaucēja molekulārbioloģisko raksturojumu Latvijā.

4. Darba uzdevumi

1. Sagatavot sistēmisku literatūras apskatu par pētījuma problēmām.
2. Veikt AGBHS izraisīta akūta faringīta izpēti bērniem, nosakot tā prevalenci BKUS Neatliekamās palīdzības nodaļā un klīniski-laboratorās diagnostikas īpatnības, kas varētu kalpot kā agrīnas diagnostikas prediktīvie faktori.
3. Pētīt bērniem izdalīto A grupas β hemolītisko streptokoku sākotnējo molekulāro raksturojumu, kā arī noteikt izolētajās AGBHS kultūrās bērniem antibiotiku rezistences gēnu (*ermA*, *ermB* un *mefA*) klātbūtni un to saistību ar noteiktiem *emm* tipiem.
4. Pētīt makroorganisma īpatnības reimatiskā drudža, tam sekojošas RSK attīstībai Latvijā, nosakot HLA II klases riska un protektīvās allēles, DR un DQ genotipu un haplotipu sadalījumu klīniski homogēnās RD pacientu grupās.

5. Pētījuma jautājumi

1. Kāda ir biežākā klīniskā AGBHS infekcijas forma bērniem stacionārā Latvijā, un vai tās prevalence atbilst citām Eiropas valstīm?
2. Vai pastāv prediktīvi klīniski simptomi, kas ļautu agrīni diagnosticēt akūtu AGBHS izraisītu faringītu ?
3. Vai AGBHS genotipiskās antibakteriālās rezistences rādītāji un to saistība ar noteiktiem *emm* tipiem ir līdzīga kā citās Eiropas valstīs (makrolīdu rezistence 30-40%, penicilīna rezistence 0%)?
4. Kādām HLA II klases DR un DQ allēlēm ir būtiska loma reimatiskā drudža (RD) un reimatiskās sirdsrites (RSK) attīstībā bērniem Latvijā ?

6. Darba zinātniskā novitāte

1. Noteikta biežākā AGBHS infekcijas izraisītā klīniskā forma bērniem stacionārā.
2. Noteikta AGBHS izraisīta akūta faringīta prevalence bērniem ar akūta faringīta klīniku Bērnu klīniskajā universitātes slimnīcā, kas iepriekš nebija veikta.
3. Nav pierādīti prediktīvi klīniski simptomi, kas ļautu iepriekš diagnosticēt streptokoka izraisītu faringītu bez laboratoras izmeklēšanas.
4. Raksturojot AGBHS genotipiskās antibakteriālās rezistences rādītājus Latvijā, konstatēta augsta antimikrobā rezistence pret makrolīdu grupas antibiotikām (78%), kas dominējoši saistīta ar *emm 89.0* tipu.
5. Pētījuma gaitā ir izdalīts AGBHS celms ar pirmo reizi atklātu jaunu AGBHS *emm 1.51* apakštipu, ko apstiprinājis CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*).
6. Pirmo reizi Latvijā klīniski homogēnās pacientu grupās pētīti un noteikti reimatiskā drudža un reimatiskās sirdskaites (RSK) riska un protektīvie haplotipi un genotipi, ko kontrolē HLA II klases DR un DQ allēles.

7. Pētījuma praktiskais pielietojums.

Pētījumā kopumā iegūtie dati par AGBHS infekcijas klīniskajām formām bērniem, akūta faringīta prevalenci, tā klīniskajiem simptomiem un pazīmēm, kā arī izolēto AGBHS kultūru genotipisko antimikrobo rezistenci tika izmantoti, lai izveidotu uz pierādījumiem balstītas praktiskas vadlīnijas studentiem, rezidentiem un ārstiem AGBHS izraisītu slimību precīzai diagnostikai un optimālai ārstēšanai bērniem Latvijā. To ieviešanas sagaidāmie rezultāti būs ne tikai AGBHS infekcijas klīnisko simptomu un pazīmju atpazīstamības uzlabošana, agrīno strutaino un vēlīno komplikāciju (RD, PSGN) prevencija, bet arī neracionālas antimikrobās terapijas un tās izraisīto blakusefektu samazināšana.

8. Darba struktūra un apjoms

Promocijas darbs sarakstīts latviešu valodā, sastāv no 13 nodaļām – ievads, problēmas aktualitāte, darba mērķis, darba uzdevumi, pētījuma jautājumi, darba zinātniskā novitāte, literatūras apraksts, materiāli un metodes, rezultāti, diskusija, secinājumi, literatūras saraksts un pielikums. Darba apjoms ir 155 lappuses, ieskaitot 26 tabulas, 11 attēlus un 3 figūras. Literatūras sarakstu veido 238 atsauces.

9. Darba aprobācija

Promocijas darba *A grupas β hemolītiskā streptokoka infekcija bērniem Latvijā* aprobācija notika paplašinātā RSU Pediatrijas katedras un Infektoloģijas katedras sēdē 2010.gada 15.martā.

10. Publikācijas par darba tēmu

Par promocijas darbu ir 28 publikācijas, t.sk. 3 starptautiski citētos medicīnas zinātniskajos izdevumos (visi reģistrēti PubMed datu bāzē), 2 Latvijā izdotos zinātniskajos izdevumos, publicētas 12 pētījuma tēzes starptautiska mēroga kongresos un 9 - Latvijas mēroga zinātniskajos kongresos un konferencēs.

11. Materiāli un metodes

11.1. Pētījuma uzbūve

Pētījums „A grupas beta hemolītiskā streptokoka infekcija bērniem Latvijā” uzsākts 2002.gadā un veidots no 4 sadaļām – I, II, III un IV.

Sadaļa I – AGBHS izraisītās infekcijas bērniem klīnisko formu struktūra Bērnu klīniskajā universitātes slimnīcā.

Sadaļa II – AGBHS izraisīta akūta faringīta bērniem prevalence BKUS Neatliekamās palīdzības nodaļā un klīniski-laboratorās diagnostikas īpatnības.

Sadaļa III - Pētījuma laikā izdalīto AGBHS izolātu molekulārbioloģiska analīze un antimikrobās rezistences gēnu noteikšana.

Sadaļa IV – Ģenētisko asociāciju izpēte ar HLA II klases allēlēm bērniem ar reimatisko drudzi (RD) Latvijā.

Pētījuma ietvaros tika veikts sistēmiskais literatūras apskats par pētījumā izvirzītajiem jautājumiem, ar mērķi noteikt, atlasīt un analizēt uz pierādījumiem balstītas medicīnas zinātnisko literatūru par A grupas beta hemolītisko streptokoku un tā infekcijas īpatnībām bērnu vecumā, lai noteiktu pētījuma uzbūves raksturojumu, analizējamo grupu atbilstību un mērījumu stratēģiju. Sistēmiskā literatūras apskata ietvaros tika izmantotas *The Cochrane Library* (www.cochrane.org), *The Centre for Evidence-Based Medicine* (www.cebm.net), *The NHS Centre for Reviews and Dissemination* (www.york.ac.uk/inst/crd) un *PubMed Clinical Queries: Find Systematic Reviews* (www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query/static/clinical.shtml) datu bāzes. Atlasīti tika visi kopsavilkumi un raksti (12593 par A grupas streptokoku no 1980.gada, 3955 par Streptokoka faringītu no 1932.gada, 11009 par makrolīdu rezistenci no 1953.gada, 160 par HLA un RD no 1975.gada) un atbilstošākie iekļauti detalizētā literatūras apskatā.

11.2. Pētījuma sadaļu dizains un apraksts

11.2.1. Sadaļa I - *AGBHS izraisītās infekcijas bērniem klīnisko formu struktūra Bērnu klīniskajā universitātes slimnīcā.*

Sadaļā I retrospektīvi, izmantojot 160 pacientu medicīniskās slimības vēstures, tika analizēta VSIA BKUS laika posmā no 2004.-2006.gadam ambulatori neatliekamās palīdzības nodaļā un stacionārā pēc BKUS Mikrobioloģijas laboratorijā iegūtajiem datiem izdalīto AGBHS izolātu saistība ar klīnisko infekcijas formu, ar mērķi noteikt biežāko AGBHS infekcijas klīnisko formu bērniem.

Paralēli analizēti VSIA BKUS Medicīniskās statistikas dati par pēdējiem 5 gadiem (2004.-2008.gads) saistībā ar Starptautiskā slimību klasifikatora 10. izdevuma (SSK-10) diagnožu kodiem, kas attiecināmi uz verificētu un varbūtēju AGBHS infekciju.

11.2.2. Sadaļa II - *AGBHS izraisīta akūta faringīta bērniem prevalence BKUS Neatliekamās palīdzības nodaļā un klīniski-laboratorās diagnostikas īpatnības.*

Laikā no 2002.-2006. gadam prospektīvā aprakstošā pētījumā tika iekļauti 340 bērni, kuri dzīvo Latvijā un pēc medicīniskās palīdzības griezās valsts mēroga stacionārā - Bērnu klīniskās universitātes slimnīcas (BKUS) uzņemšanas nodaļā.

Iekļaušanas kritēriji:

- kādas no minētām sūdzībām, kas saistīta ar elpošanas ceļiem: klepus, saaukstēšanās simptomi, sāpes kaklā vai faringeāla eritēma ar vai bez drudža;
- bērna vecums no 24 mēnešiem līdz 12 gadiem.

Izslēgšanas kritēriji:

- orāla antibakteriālu līdzekļu lietošana pēdējo 3 dienu laikā vai intramuskulāra/intravenoza antibakteriālo līdzekļu lietošana pēdējo 28 dienu laikā;
- cita saslimšana, kuras ārstēšanā nepieciešami antibakteriāli līdzekļi;
- apskates brīdī vēroja impetigo vai auss saslimšanas;
- anamnēzē RD vai reimatisks sirds kaite (RSK);
- kāda cita saslimšana, kuras dēļ apskates brīdī nepieciešama hospitalizācija, izņemot malnutrīciju vai tuberkulozi;
- alerģiska reakcija uz penicilīnu vai amoksicilīnu;
- jau iepriekšēja iekļaušana dotajā pētījumā;
- ārsts diagnosticē sēkšanu, bronhītu vai pneimoniju;
- pacientam nebūs iespēja ierasties uz nākošo vizīti un vecāki vai aizbildnis nepiekrīt iekļaušanai pētījumā.

Pēc iekļaušanas pētījumā, katram bērnam tika piešķirts identifikācijas numurs. Pielietojot anketēšanu, iegūti demogrāfiskie dati, slimības anamnēze, veikta fizikālā izmeklēšana, laboratorā diagnostika un nozīmēta nepieciešamā ārstēšana, kā arī nozīmēta atkārtota vizīte VSIA BKUS pēc 21 -32 dienām.

Iekļaujot pacientu pētījumā, lai noteiktu ABGHS klātbūtni, vispirms noteica AGBHS ar ekspresmetodi, izmantojot Biostar Strep A OIA MAX testu.

Iekļaušanas dienā, kā arī atkārtotā vizītē, tika veikta iztriepe no rīkles mugurējās sienas, lai izolētu AGBHS, un paņemts 5 ml asins seruma paraugs seroloģiskai diagnostikai, nosakot ASLO un antiDNaseB titrus.

Pētījuma datu analīzei tika formulētas definīcijas akūta AGBHS faringīta pacientu un AGBHS nēsātāju noteikšanai.

Definīcija akūta AGBHS faringīta diagnostikai

- Pozitīvs AGBHS exprestests un
- Uzsējumā no rīkles mugurējās sienas izdalīts AGBHS un
- 2 reizes pieaudzis ASLO un/vai antiDNaseB titrs II vizītē.

Definīcija AGBHS nēsāšanai

- Pozitīvs AGBHS exprestests un
- Uzsējumā no rīkles mugurējās sienas izdalīts AGBHS un
- **Nav** 2 reizes pieaudzis ASLO un/vai antiDNaseB titrs II vizītē **vai** paaugstināts (virs normas) ASLO un/vai antiDNaseB titrs jau I vizītē un nav 2 reizes pieaudzis II vizītē.

Pētījuma pacienti pēc laboratoro datu - AGBHS eksprestesta, uzsējuma no rīkles mugurējās sienas, ASLO un/vai antiDNaseB titra asins serumā abās vizītēs iegūšanas, tika sadalīti atbilstoši augstāk minētajām definīcijām akūta AGBHS faringīta pacientos un AGBHS nēsātājos.

Dati par pozitīvām kultūrām un simptomiem pētījuma turpinājumā tika analizēti ar atbilstošām analītiskām tehnoloģijām, lai nākotnē iespējams formulētu klīnisku prognostisku instrumentu klīnicistiem streptokoku faringīta diagnosticēšanai, gadījumos, ja iztrūkst rīkles mugurējās sienas uzsējums vai citi diagnostiskie testi.

11.2.3. Sadaļa III - *Pētījuma laikā izdalīto AGBHS izolātu molekulārbioloģiska analīze un antimikrobās rezistences gēnu noteikšana.*

Sadaļā III tika nejauši izvēlētas 96 no 200 AGBHS kultūrām, kas iepriekš tika izolētas no VSIA BKUS stacionāra un ambulatorā aprūpē ārstēto 200 pacientu nesterilām vidēm laika posmā no 2005. līdz 2006. gadam.

Antibiotiku rezistences (*erm*, *tet*) polimorfismu noteica, amplificējot streptokoku DNS ar atbilstošiem praimeriem un tālāko reakcijas produktu analīzi agarozes gēlā. Filoģenētisko analīzi veica pēc UPMGA metodes, izmantojot BioNumerics programmu. AGBHS *emm* tipu noteikšanai tika izmantota PĶR M proteīna kodējošās sekvences iegūšanai, ko tālāk analizēja ar ģenētisko analizatoru. PĶR maisījums un apstākļi tika veidoti balstoties uz CDC (http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocol_emm-type.htm) ieteikumiem.

AGBHS sekvenču analīze tika veikta ar Sequencing analysis (Applied Biosystems), bet tipu un subtipu noteikšana tika veikta ar CDC „Streptococci Group A Subtyping Request Form Blast 2.0 Server” palīdzību.

8.2.4. Sadaļa IV - Ģenētisko asociāciju izpēte ar HLA II klases allēlēm bērniem ar reimātisko drudzi (RD) Latvijā.

Sadaļā IV retrospektīvi tika apzināti līdz 2004.gadam visi ,t.i., 70 reimātiskā drudža (RD) pacienti Latvijā līdz 18 gadu vecumam un analizētas viņu slimības vēstures. RD diagnozi apstiprināja vadoties pēc Jones kritērijiem. RD iznākumā 47 pacientiem (67.1%) diagnosticēja iegūtu reimātisku sirdskaiti (RSK) un 8 pacientiem *Chorea minor*. RSK tika diagnosticēta balstoties uz ehokardioskopijas un/vai sirds kateterizācijas laikā iegūtiem datiem.

RSK pacienti, atkarīgi no sirds vārstuļu bojājuma, tālāk tika sadalīti klīniski homogēnās pacientu grupās: ar mitrālo viru regurgitāciju (MVR), aortālo viru regurgitāciju (AoVR) un kombinētu valvulāru sirdskaiti – MVR+AoVR vai multivalvulārs bojājums (MVB).

Kontroles grupai izmantoja veselo bērnu datus (n=100), izmantojot RSU Klīniskās imunoloģijas un imunoģenētikas starpkatedru laboratorijas (kādreiz - Latvijas Imunoloģijas institūta) datus. Veselo bērnu grupā ģimenes anamnēzē nebija datu par RD, kā arī bērniem nevēroja autoimūnas saslimšanas. Abās grupās HLA II klases allēles noteica izmantojot PĶR-SSP reakciju.

11.3. Pētījuma organizācija

Sadaļā I un III iegūtie AGBHS izolāti izdalīti un ar standartizētām metodēm pierādīti VSIA Bērnu klīniskās universitātes slimnīcas (VSIA BKUS) Mikrobioloģijas laboratorijā (laboratorijas vadītāja N.Pugačova). Rīkles mugurējās sienas uzņēmumi AGBHS izdalīšanai veikti prospektīvi, sadaļā II aprakstītajā kārtībā, un kā kārtējais izmeklējums pacientiem ar respiratorām sūdzībām VSIA BKUS neatliekamās palīdzības nodaļā vai stacionāra nodaļās.

Sadaļā III AGBHS, iepriekš VSIA BKUS Mikrobioloģijas laboratorijā izdalīto, izolātu antibiotiku rezistences (*erm*, *tet*) gēnu klātbūtni un proteīna M gēna (*emm*) polimorfismu noteica P.Stradiņa KUS CL Molekulārās bioloģijas un ģenētikas nodaļā (vadītājs Dr.biol.E.Miklaševičs).

Sadaļā II pacientu asins serumu seroloģiskā diagnostika veikta VSIA BKUS klīniski bioķīmiskajā laboratorijā (laboratorijas vadītāja D.Grāvele) un E.Gulbja laboratorijā (atbildīgais par doto pētījumu dr.Didzis Gavars).

Sadaļā IV imūnģenētiskie izmeklējumi tika veikti Rīgas Stradiņa universitātes klīniskās imunoģenētikas un imunoloģijas starpkatedru laboratorijā (vadītāja J.Eglīte). Kontroles grupai izmantoja veselo bērnu datus (n=100) no Klīniskās imunoloģijas un imunoģenētikas starpkatedru laboratorijas (kādreiz - Latvijas Imunoloģijas institūta (vadītājs profesors A.Sočņevs)) datu bāzes.

Datu statistiskā analīze veikta RSU Fizikas katedrā (vadītājs profesors U.Teibe), dotā pētījuma konsultants RSU lektors Oskars Rasnačs.

Pacientu atlase un anketēšana prospektīvai un retrospektīvai analīzei veikta VSIA Bērnu klīniskā universitātes slimnīcas Bērnu slimību klīnikā (klīnikas vadītāja profesore D. Gardovska) , sadaļā II un IV pēc vecāku vai aizbildņu piekrišanas, kā slimības vēstures (VSIA BKUS Medicīnas statistikas un informācijas tehnoloģiju daļas vadītāja N.Kaufmane) un PVO multicentriskā pētījuma *The GRASP (Group A Streptococcus pyogenes study)* anamnēzes sadaļa. II sadaļas pētījuma protokolu multicentriskā pētījuma ietvaros bija apstiprinājusi *Johns Hopkins University* Institucionālā Recenzēšanas Padome (*Institutional Review Board*). Tas tika pakļauts pārskatam un apstiprināšanai PVO Institucionālajai Recenzēšanas Padomei un visu dalības vietu, t.sk. Latvijas, Ētikas Komisijām.

Katrs pētījuma II sadaļā iesaistītais bērns tika ārstēts vadoties pēc pašreizējām vietējām vadlīnijām streptokoku faringīta ārstēšanā.

Pētījuma dokumentācija un informācija tika turēta konfidenciāli, likumā noteiktā kārtībā.

11.4. Datu analīze un statistiskā apstrāde

Pacientu datu un izdalīto AGBHS izolātu datu analīzei sadaļā I un III tika izmantotas aprakstošās statistikas metodes.

Sadaļā II datu ievadei, uzkrāšanai un apstrādei pēc bioloģisko pētījumu apstrādē pieņemtām standartmetodēm ar datora palīdzību tika izmantota speciāli pielāgota datu uzkrāšanas un analīzes sistēma EPI INFO 2000, statistiskai apstrādei izmantotas bioloģisko un medicīnisko pētījumu statistiskajā apstrādē pieņemtie Manna – Vitnija (*Mann-Whitney*), hī kvadrāta (*Chi-Square*) testi. Tika novērtēti centrālās tendences rādītāji – vidējais aritmētiskais, mediāna un moda, kā arī izkliedes rādītāji – standartnovirze, vidējā aritmētiskā standartkļūda un starpkvartīļu izkliede. Raksturlielumu atšķirības novērtētas ar ticamību $p < 0.05$. Simptomiem, ja tie statistiski ticami atšķirās ($p < 0,05$), tika novērtēta OR jeb izredžu attiecība.

Sadaļā IV tika salīdzināts HLA-DRB1, DQA1 un DQB1 allēļu biežums pacientu un kontroles grupu starpā. Visiem pacientiem un kontroles grupai tika tipēti visi trīs genoma lokusi. HLA II klases allēļu un haplotipu biežums tika noteikts ar gēnu skaitīšanas testu. Atšķirība RSK riska un protektīviem efektiem tika mērīta, pielietojot *odds ratio* metodi: $OR = ad/bc$ vai $OR = (2a+1)(2d+1)/(2b+1)(2c+1)$, kur b vai $c = 0$.

Statistiskā nozīmība RSK un RSK apakšgrupās tika noteikta, pielietojot *Fisher's* tiešo testu.

Allēļu biežums (AB) tika rēķināts, pielietojot formulu: $AB (\%) = \text{allēļu summa} / 2n \times 100$, kur n ir analizēto indivīdu totālo skaitļu summa.

Haplotipu biežums (HB) tika noteikts ar gēnu skaitīšanas metodi, lietojot formulu $HB (\%) = \text{doto haplotipu summa} / 2n \times 100$.

P-vērtība tika aprēķināta pielietojot sistēmu EPI INFO versija 06 ar 95 % ticamības intervālu, un *Mantel – Hanzszel* un *Fisher* tiešo korekciju maziem skaitļiem.

12. Rezultāti

12.1. Sadaļa I - *AGBHS izraisītās infekcijas bērniem klīnisko formu struktūra Bērnu klīniskajā universitātes slimnīcā.*

Sadaļā I par AGBHS infekcijas klīniskajām formām retrospektīvi, izmantojot 160 pacientu slimības vēstures, tika analizēta pēc BKUS Mikrobioloģijas laboratorijā iegūtajiem datiem, VSIA BKUS laika posmā no 2004.-2006.gadam ambulatori neatliekamās palīdzības nodaļā un stacionārā izdalīto AGBHS izolātu saistība ar infekcijas klīnisko formu.

2004.gadā tika izdalīti 55 izolāti, 2005.gadā – 32, bet 2006.gadā – 73 AGBHS izolāti no rīkles mugurējās sienas uzsējumu kultūrām, identisks sekojoši arī slimības vēsturu sadalījums. No citām sterilām un nesterilām ķermeņa vidēm AGBHS minētajā laika posmā izdalīts netika.

Analizējot izdalīto izolātu saistību ar klīniskajām diagnozēm:

- ar akūtu augšējo elpceļu slimībām – akūti rinofaringīti, faringīti, faringotonsillīti, paratonsillāri abscesi - saistītas bija 137 (85.6%) slimības vēstures un identiski izdalītās kultūras;
- skarlatīna – 13 (8.3%) kultūras un slimības vēstures;
- reimatoloģiskas saslimšanas – 6 (3.7%) kultūras un slimības vēstures, to skaitā 1 reimatiskā drudža gadījums;
- vulvīts – 1 (0.6%) izolāts un slimības vēsture;
- vējbakas – 1(0.6%) izolāts un slimības vēsture;
- glomerulonefrīts - 1(0.6%) izolāts un slimības vēsture un
- gastroenteroloģiska slimība (Celiakija)- 1(0.6%) izolāts un slimības vēsture.

Paralēli analizējot VSIA BKUS Medicīniskās statistikas datus par pēdējiem 5 gadiem (2004.-2008.gads) saistībā ar Starptautiskā slimību klasifikatora 10. izdevuma (SSK-10) diagnožu kodiem, kas attiecināmi uz verificētu un varbūtēju AGBHS infekciju, visbiežākā infekcijas forma bērniem ir bijusi akūts faringīts, akūts tonsillīts. Tāpēc pētījuma nākamā etapā tika izvēlēts detalizēti aplūkot AGBHS akūtu faringītu bērniem BKUS - faringīta sastopamības biežuma un tā iespējamo komplikāciju dēļ.

12.2. Sadaļa II - AGBHS izraisīta akūta faringīta bērniem prevalence BKUS Neatliekamās palīdzības nodaļā un klīniski-laboratorās diagnostikas īpatnības.

Laika posmā no 2002. līdz 2006. gadam pētījumā tika iekļauti 340 pacienti vecumā no 24 mēnešiem līdz 12 gadiem ar sūdzībām par klepu, saaukstēšanās simptomiem, sāpēm kaklā vai faringeālu eritēmu neatkarīgi no drudža pēc vecāku vai aizbildņu un/vai bērna rakstiskas piekrišanas.

No visiem pētījumā iekļautajiem pacientiem, pirmajā vizītē veiktais AGBHS eksprestests bija pozitīvs tikai 27,6% pacientu (n=94) (Tabula 1).

Uzsējumā no rīkles mugurējās sienas AGBHS tika izdalīts 22% pacientu (n=75) (Tabula 1).

Pozitīva seroloģiskā atrade, kas bija divkārtš ASLO un/vai antiDNaseB titra pieaugums otrajā vizītē salīdzinoši ar pirmo vizīti, tika konstatēts tikai 11.5% pacientu (n=39) (Tabula 1).

Pacienti, kuriem no visiem izmeklējumiem, ko veica, lai diagnosticētu AGBHS, pozitīvs bija tikai eksprestests sastādīja 1.8% (n=6), savukārt tādi, kuriem tika konstatēts pozitīvs eksprestests un arī uzsējumā no rīkles mugurējās sienas izdalīja AGBHS bija 5.9% (n=20) (Tabula 1).

Tabula 1.

Pētījuma pacientu (n=) sadalījums pēc laboratorās atrades

Laboratorā atrade	AGBHS nēsātāji (n=)	Akūts AGBHS faringīts (n=)
eksprestests (OIA) pozitīvs	6	-
eksprestests (OIA) pozitīvs + pozitīvas žāvas kultūras	20	-
eksprestests (OIA) pozitīvs + <u>pozitīva seroloģija</u> - 2×↑ ASLO un/vai antiDNaseB I vizītē	6	-
eksprestests (OIA) pozitīvs + <u>pozitīva seroloģija</u> - 2×↑ ASLO un/vai antiDNaseB II vizītē	-	3
eksprestests (OIA) pozitīvs + pozitīvas žāvas kultūras + pozitīva seroloģija I vizītē	2×↑ ASLO un antiDNaseB 2×↑ ASLO 2×↑ antiDNaseB	-
eksprestests (OIA) pozitīvs + pozitīvas žāvas kultūras + pozitīva seroloģija II vizītē	2×↑ ASLO un antiDNaseB 2×↑ ASLO 2×↑ antiDNaseB	- 22 9 5
KOPĀ	26 (49)	36 (39)

Rozīgā krāsā iekrāsots un melni cipari - definējot pēc pētījuma kritērijiem

Gaiši dzeltenā krāsā iekrāsots un pelēki cipari – definējot pēc pētījuma variācijām

Akūta AGBHS faringīta pacienti

Definējot pēc pētījuma kritērijiem, t.i. pacienti ar pozitīvu gan eksprestestu, gan uzsējumā no rīkles mugurējās sienas izdalītu AGBHS, gan divkāršu ASLO un/vai antiDNaseB titra pieaugumu, bija 6.5% (n=22) (Tabula 1).

Pacienti ar pozitīvu AGBHS eksprestestu, uzsējumā no rīkles mugurējās sienas izdalītu AGBHS un seroloģiskā atradē konstatētu divkāršu palielinātu tikai ASLO 2. vizītē, salīdzinoši ar 1. vizīti, bija 2.6% (n=9) (Tabula 1).

Savukārt, tie, kuriem bija gan pozitīvs AGBHS eksprestests, gan uzsējumā no rīkles mugurējās sienas tika izdalīts AGBHS, taču seroloģiskā atradē divkāršu palielināts tikai antiDNaseB titrs 2. vizītē salīdzinoši ar 1. vizīti, bija 1.5% (n=5) (Tabula 1).

Summējot augstāk minētās grupas, kā akūti AGBHS faringīta slimnieki pētījuma grupā tika uzskatīti 10.6% (n=36) pacientu un akūta AGBHS faringīta prevalences rādītājs ar ticamības intervālu ir $0,106 \pm 0,1$.

AGBHS nēsātāji

Kā AGBHS nēsātāji tika definēti pacienti, kuriem pozitīvs bija AGBHS eksprestests un uzsējumā no rīkles mugurējās sienas tika izdalīts AGBHS, taču nevēroja divkāršu ASLO un/vai antiDNaseB titra pieaugumu. Šādi pacienti pētījumā bija 5.9% (n=20). Pie AGBHS nēsātājiem pieskaitīti tika arī pacienti, kuriem no visiem izmeklējumiem pozitīvs bija tikai AGBHS eksprestests - 1.8% (n=6). Summējot augstāk minētās grupas, kā AGBHS nēsātāji pētījuma grupā tika uzskatīti 7.6% (n=26) pacientu un AGBHS nēsātāju prevalences rādītājs ar ticamības intervālu ir $0,07 \pm 0,098$.

Ne visiem pacientiem ar pozitīvu uzsējuma kultūru ir patiesa AGBHS infekcija. Pēc literatūras datiem 50% no šiem pacientiem ir AGBHS nēsātāji, kuriem risks attīstīties RD nav palielināts. Analizējot pacientus ar pozitīvām žāvas kultūrām no rīkles mugurējās sienas (n=75), 37 pacienti tika definēti kā AGBHS nēsātāji, kas procentuāli sastāda 49%. Tātad puse no visiem pacientiem ar pozitīvu uzsējumu no rīkles mugurējās sienas patiesībā bija tikai AGBHS nēsātāji ar citas etioloģijas akūta faringīta klīnisko ainu.

AGBHS nēsāšanas biežums salīdzinoši ar pacientiem ar akūta faringīta ainu liecina, ka aptuveni $\frac{1}{4}$ skolas vecuma bērnu ar kultūras pozitīvu faringītu patiesībā

nav īsti inficēti, bet ir tikai AGBHS nēsātāji ar dotajā brīdī esošu akūta ne-streptokoka etioloģijas faringīta klīniku.

Faringīts jeb “iekaisis kakls” ir bieži sastopama saslimšana pasaulē, jo īpaši bērnu vidū. Tiek lēsts, ka katram bērnam vismaz vienreiz gadā ir kāda akūta faringīta epizode. AGBHS faringīta riska grupa ir bērni vecumā no 5 līdz 15 gadiem, savukārt jaunākiem bērniem vairāk raksturīga streptokoka etioloģijas piodermija. Streptokoka etioloģijas faringīta incidence pasaulē tiek aprēķināta kā 3,000 līdz 6,000 uz 100 000 bērnu gadā, lai gan tā patieso incidenci ir grūti novērtēt, jo ne visās pasaules valstīs ir obligāta nepieciešamība streptokoka etioloģijas faringītu epidemioloģiski ziņot kā gadījumu. Aptuveni 10-30% akūta faringīta epizodēs izsaucējs ir AGBHS, pārējos gadījumos etioloģiskais aģents visbiežāk ir vīrusa infekcija. Šajā pētījumā AGBHS kā etioloģiskais faktors akūtam faringītam tika konstatēts 10.6% gadījumu, kas sakrīt ar starptautiskās literatūras datiem.

AGBHS faringīta klīniskie simptomi (Tabula 2)

Visiem pētījumā iekļautajiem bērniem veica objektīvo izmeklēšanu, pievēršot uzmanību klīniskajiem simptomiem ar mērķi atrast prediktīvos akūta AGBHS faringīta simptomus.

Pielietojot statistiskai apstrādei izmantotos bioloģisko un medicīnisko pētījumu statistiskā apstrādē pieņemtos Manna – Vitnija (*Mann-Whitney*), hī kvadrāta (*Chi-Square*) testus divu neatkarīgu izlašu – akūta AGBHS faringīta slimnieku un AGBHS nēsātāju salīdzināšanai, statistiski ticami starp akūta faringīta un AGBHS nēsātājiem atšķīrās tādi simptomi kā aizsmakums, aizlikts deguns, rīšanas grūtības, vēdersāpes un mandeļu palielinājums I un III pakāpē ($p<0,05$).

Tomēr jāatzīmē, ka šie simptomi no klīniskā viedokļa ir raksturīgi arī citām slimībām, kā arī citas etioloģijas akūtam faringītam, tādēļ apšaubāma ir to lietderība kā prediktīviem klīniskajiem simptomiem akūta AGBHS faringīta diagnostikā.

Kā vienu no biežāk lietotajiem diagnostiskajiem kritērijiem akūta Streptokoku faringīta gadījumā ārsti uzskata aplikumu uz mandelēm vai rīkles mugurējās sienas. Bieži vien tas kalpo kā kritērijs antimikrobās terapijas nozīmēšanā. Šajā pētījumā eksudatīvs faringīts bērniem ar akūtu Streptokoku infekciju tika novērots 54% ($n=21$). Tātad var teikt, ka šī pazīme nav drošs akūta Streptokoku faringīta diagnostisks kritērijs un nav izmantojama kā vienīgais antimikrobās terapijas nozīmēšanas indikators. Turklāt pie vīrusu izraisītiem akūtiem faringītiem arī var vērot aplikumu

uz mandelēm vai rīkles mugurējās sienas, taču šo faringītu terapijā absolūti nav indicēti antimikrobie līdzekļi.

Tabula 2.

Klīnisko simptomu biežums akūta Streptokoku faringīta slimniekiem un AGBHS nēsātājiem

Simptoms	p vērtība	Akūta faringīta slimnieki (n=) %		AGBHS nēsātāji (n=) %	
Aizsmakums	p<0.05	21	54%	14	28,5%
Drudzis	p>0,05	33	85%	34	69%
Drebuļi	p>0,05	28	72%	26	53%
Iesnas	p>0,05	12	31%	11	22%
Aizlikts deguns	p<0.05	24	61,5%	18	37%
Iekaisis kakls		32	82%	30	61%
Grūtības norīt	p<0.05	28	72%	20	41%
Vemšana	p>0,05	11	28%	8	16%
Sāpes ausī	p>0,05	4	10%	4	8%
Vēdera sāpes	p<0.05	16	41%	10	20%
↓ aktivitātes līmenis	p>0,05	32	82%	31	63%
Traucēts miegs	p>0,05	25	64%	21	43%
Klepus	p>0,05	10	26%	8	16%
Faringeāla eritēma	p>0,05	35	90%	37	75,5%
Tonsilāra eritēma	p>0,05	36	92%	34	69%
Erytema posterior	p>0,05	32	82%	31	63%
Fauciāla eritēma	p>0,05	29	74%		29
Mandeļu palielinājums I pak	p<0.05	2	5%	11	22%
Mandeļu palielinājums II pak	p>0,05	17	43,5%	16	33%
Mandeļu palielinājums III pak	p<0.05	16	41%	8	16%
Mandeļu palielinājums IV pak	p>0,05	2	5%	3	6%
Aplikums	p>0,05	21	54%	21	43%
Cervikālo limfmezglu jutīgums	p>0,05	29	74%	25	51%
Nāšu sakasījums	p>0,05	3	8%	4	8%
Faringeāls exudāts	p>0,05	1	2,5%	5	10%
Auksleju petehijas	p>0,05	13	33%	8	16%
Aveņu mēle	p>0,05	12	31%	12	24%

Aplūkojot klīnisko simptomu biežumu salīdzināmajās grupās, akūta AGBHS faringīta pacientiem visbiežāk tika novērota faringeāla (90%, n=35) un/vai tonsilāra eritēma (92%, n=36), kā arī drudzis (85%, n=33), samazināts aktivitātes līmenis,

iekaisis kakls un visas rīkles mugurējās sienas eritēma (82%, n=32). AGBHS nēsātājiem biežāk novērotie simptomi bija tieši tādi paši kā akūta AGBHS faringīta pacientiem – visbiežāk redzama bija faringeāla eritēma (75,5%, n=37), vienādi bieži konstatēja drudzi un tonsilāru eritēmu (69%, n=34), kā arī samazinātu aktivitātes līmeni un visas rīkles mugurējās sienas eritēmu (63%, n=31).

Visretāk novērotie simptomi akūta AGBHS faringīta pacientiem bija faringeāls eksudāts (2,5%, n=1), mandeļu palielinājums I un IV (*pakāpe, par kādu mandeles ir paplašinājušās uz viduslīniju*) pakāpē (5%, n=2), nāšu sakasījums (8%, n=3) un sāpes ausīs (10%, n=4). AGBHS nēsātājiem visretāk novērotie simptomi bija mandeļu palielinājums IV pakāpē (6%, n=3), nāšu sakasījums un sāpes ausīs (8%, n=4) un faringeāls eksudāts (10%, n=5).

Tādi simptomi, kas ikdienā tiek izvērtēti, domājot par varbūtēju AGBHS etioloģijas akūtu faringītu, pētījuma akūta AGBHS faringīta pacientiem tika konstatēti sekojoši bieži: mandeļu aplikums (54%, n=21), grūtības norīt (72%, n=28), cervikālo limfmezglu jutīgums (74%, n=29), drudzis (85%, n=33) un „aveņu”mēle (31%, n=12).

Salīdzinoši nēsātāju grupā šie simptomi bija sastopami: mandeļu aplikums (43%, n=21), grūtības norīt (41%, n=20), cervikālo limfmezglu jutīgums (51%, n=25), drudzis (69%, n=34) un „aveņu”mēle (24%, n=12).

Vidējā ķermeņa temperatūra akūta faringīta pacientiem apskates brīdī bija 37.7 °C (minimālā 36°C , maximālā 39°C), nēsātājiem – 37.9°C (minimālā 36.5°C , maximālā 39.8°C). Ķermeņa temperatūras vidējie rādītāji pielietojot statistiskai apstrādei T-testu ($p<0.05$) akūta faringīta slimniekiem un AGBHS nēsātājiem būtiski neatšķiras.

2008.gadā publicētā ar vairāku valstu dalību pētījumā, kurā tika iekļauti arī Latvijā iegūtie dati, un vēl 3 valstu – Brazīlijas, Horvātijas un Ēģiptes rezultāti par AGBHS akūta faringīta klīnisko izpausmju dažādību, autori, veicot visu iegūto simptomu un pazīmju statistisku analīzi, secināja, ka klīniskās izpausmes būtiski atšķiras valstu starpā. Tika noteiktas tikai dažas pazīmes, kas varētu būt statistiski asociētas ar Streptokoku faringītu bērniem; vairākas bija noderīgas diagnozes noteikšanā 2-3 valstīs, taču kopumā faringīta klīniskās izpausmes bija atkarīgas no pasaules reģiona, tādēļ autori secina, ka klīniskā lēmuma pieņemšanas vadlīnijām ir jābūt izstrādātām nacionālā līmenī, ņemot vērā katra konkrētā reģiona īpatnības.

12.3. Sadaļa III - Pētījuma laikā izdalīto AGBHS izolātu molekulārbioloģiska analīze un antimikrobās rezistences gēnu noteikšana.

Lai noteiktu AGBHS antimikrobo rezistenci un tās saistību ar noteiktiem *emm* tipiem, no 200 AGBHS kultūrām, kas iepriekš tika izolētas no BKUS stacionāra un ambulatorā aprūpē (pētījuma sadaļā I) ārstēto 200 pacientu nesterilām vidēm laikā no 2005. līdz 2006. gadam, tika nejauši izvēlētas 96.

Antimikrobā rezistence

Genotipiskās antimikrobās jutības iegūtie dati uzrādīja, ka visas testētās kultūras bija penicilīn-jūtīgas. Turklāt visas kultūras bija jutīgas arī pret vankomicīnu, linezolidu un ceftriaksonu.

Vienlaicīgi tika konstatēta augsta antimikrobā rezistence (R-resistant un I – intermedius) pret makrolīdu grupas antibiotikām - 75 no 96 izolātiem (78%) bija rezistenti pret eritromicīnu un klindamicīnu.

Salīdzinot stacionāra (n=64) un ambulatoro (n=32) pacientu izolētās kultūras (Tabula 3), gan fenotipiskā eritromicīna (E) un klindamicīna (CC), gan genotipiskā antimikrobā rezistence bija līdzīga adekvāti pacientu skaita sadalījumam grupās.

Tabula 3.

Fenotipiskā un genotipiskā antimikrobā rezistence izolētajās kultūrās.

	Pacienti (n)	CC	E	<i>ermA</i>	<i>ermB</i>	<i>mefA</i>
Ambulatori	32	26	8	17	13	1
Stacionāra	64	52	14	39	35	0
Kopā	96	78	22	56	48	1

Statistiski ticama atšķirība rezistences incidencē, analizējot pēc kalendārā gada un sezonas, atrasta netika.

Rezistences molekulārā izpēte norādīja, ka vairums izolātu saturēja vai *ermA* (n=27), vai *ermB* (n=23), vai abus (n=24) gēnus. *mefA* gēns tika atrasts tikai 1 AGBHS izolātam. Rezistentos gēnus noteica, izmantojot PĶR.

AGBHS infekcijas ārstēšanai ir vairāki mērķi, un svarīgākie no tiem ir reimatiskā drudža un pēcstreptokoku glomerulonefrīta prevencija, akūtas slimības simptomu un pazīmju ātrāka mazināšana, strutainu komplikāciju novēršana un patogēna eradikācija, lai novērstu tālāku ģimenes locekļu vai tuvu kontaktu inficēšanu.

Izvēles preparāts streptokoka faringīta ārstēšanā ir penicilīns, pateicoties tā pierādītai efektivitātei, drošībai un zemajām izmaksām. Pacientiem ar alerģiskām reakcijām uz penicilīna grupas preparātiem, kā izvēles antimikrobie līdzekļi tiek rekomendēti makrolīdu grupas preparāti. Pēdējās desmitgades laikā arvien biežāk pētījumos parādās pārliecinoši dati par pieaugošu antibakteriālo rezistenci pret makrolīdiem. Pētot un analizējot Latvijai raksturīgos antimikrobās rezistences datus, jau iepriekš iespējams tiktu nodrošināta iepriekš minēto mērķu sasniegšana.

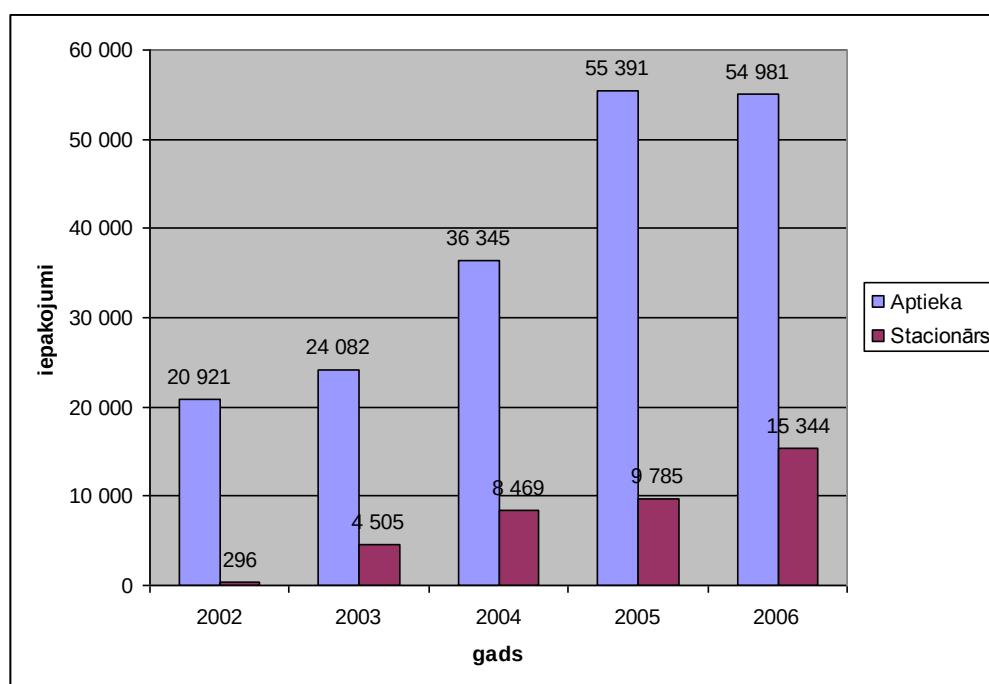
2004.gadā *Pechere* un *Kaplan* izdotajā monogrāfijā *Streptococcal Pharyngitis* sadaļā par eritromicīna rezistences epidemioloģiju ir iekļauti, atsaucoties uz [Aventis, data on file], dati par eritromicīna rezistenci Latvijā 1999.-2000.gadā, kur norādīts, ka rezistences rādītāji Latvijā ir robežās starp 5-10% (konkrēti Latvijā no 100 testētajām kultūrām 9 ir bijušas rezistentas; tātad rezistences % ir 9), 100% prevalējot *ermA* rezistences gēnam. Minētie dati iespējams būtu jāuzskata par pārlieku optimistiskiem, jo 2004.-2006.gada rezistences rādītāji dotajā pētījumā liecina, ka eritromicīna rezistences rādītājs ir 78%. Analizējot rezistences gēnu dažādību Latvijā augstāk minētajā literatūras avotā un dotā pētījumā, jāsecina, ka ir mainījušies streptokoku rezistences gēnu izplatība un dažādība izolētajās kultūrās. Pieļaujams būtu fakts, ka augstais rezistences rādītājs tomēr ir saistāms ar dramatiski pieaugošu makrolīdu rezistenci vēlākajos gados, jauno paaudžu makrolīdu preparātu patēriņa dēļ.

AGBHS antimikrobā rezistence pret makrolīdiem ir saistāma ar biežu makrolīdu grupas preparātu lietošanu ambulatorajā praksē. Latvijā pēc ZVA datiem, makrolīdu preparāti pēdējo 5 gadu laikā ir bijuši plaši ģimenes ārstu nozīmēti augšējo elpceļu infekciju ārstēšanā gan bērnu vecuma, gan pieaugušo pacientu ārstēšanā.

Pēc Latvijas Zāļu valsts aģentūras (ZVA) sniegtajiem datiem, 2000o gadu vidū, laikā, kad tika veikts pētījums un iegūtas AGBHS kultūras, makrolīdu grupas preparātu patēriņš bija dubultojies jaunāko makrolīdu grupas paaudžu medikamentu, tādu kā klaritromicīns (Figūra 1) un azitromicīns (Figūra 2) dēļ, kas galvenokārt patērēti ambulatorajā praksē, iegādājoties tos aptiekās.

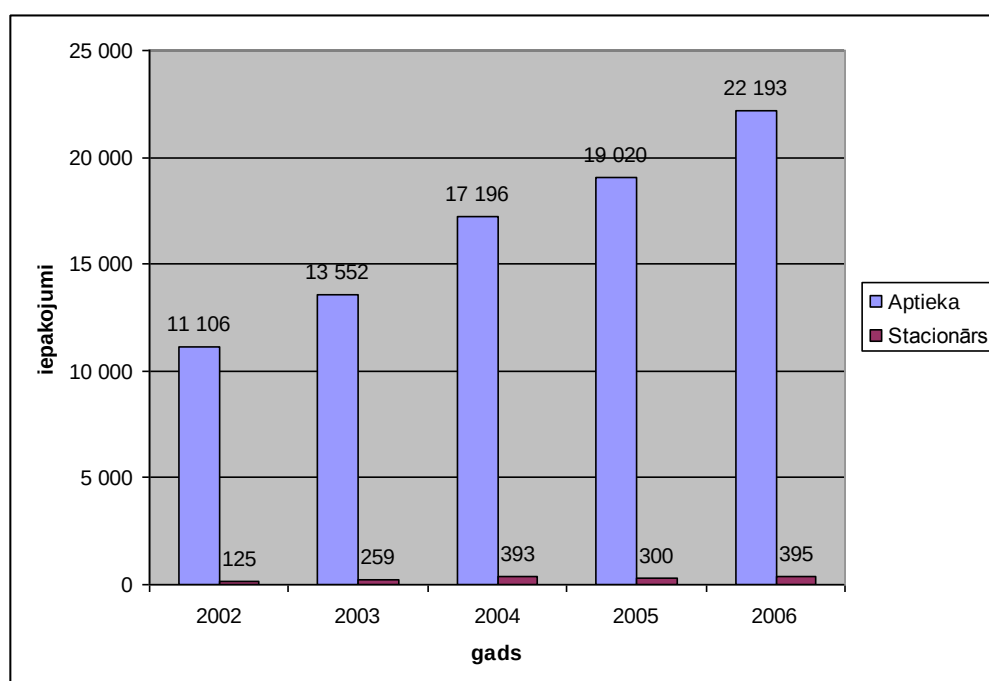
Figūra 1.

**Klaritromicīna patēriņš aptiekās un stacionāros Latvijā
no 2002.-2006.gadam (ZVA dati)**



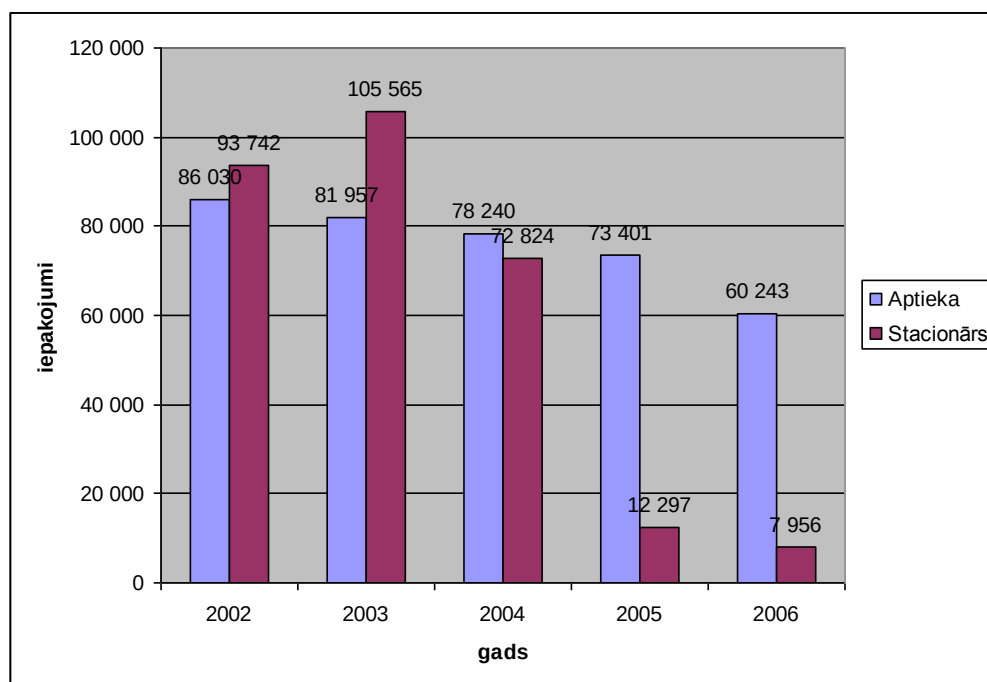
Figūra 2.

**Azitromicīna patēriņš aptiekās un stacionāros Latvijā
no 2002.-2006.gadam (ZVA dati)**



Figūra 3.

**Eritromicīna patēriņš aptiekās un stacionāros Latvijā
no 2002.-2006.gadam (ZVA dati)**



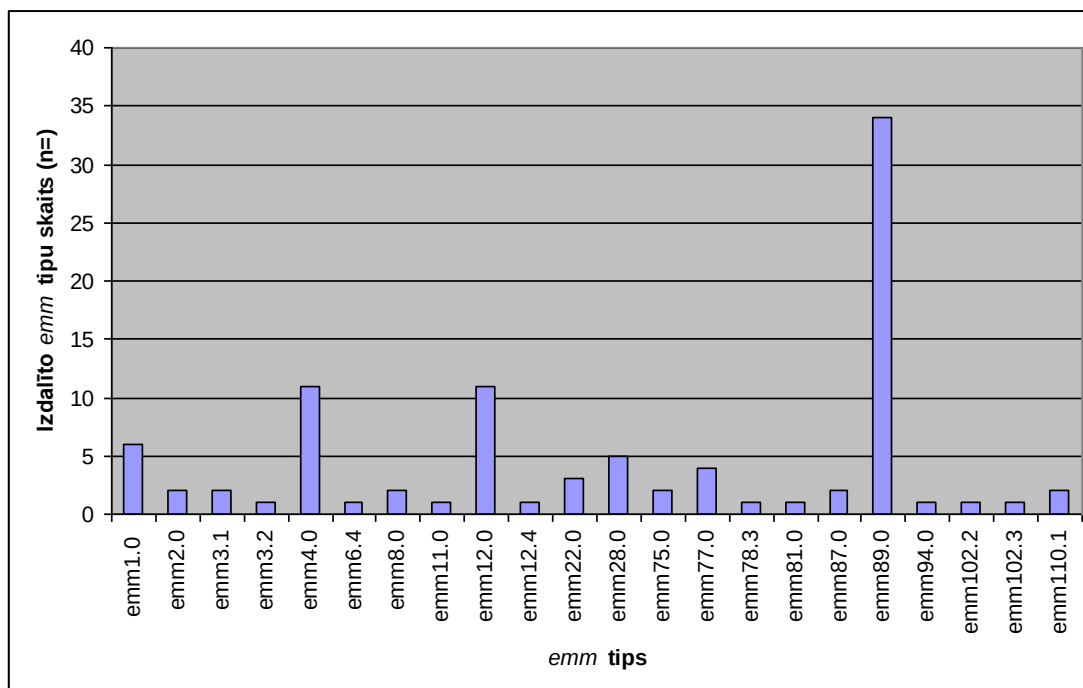
Tika novērots neliels makrolīdu patēriņš stacionāros apstākļos, izņemot klaritromicīna patēriņu stacionāros 2006.gadā, salīdzinoši ar ambulatorā praksē patērēto. 2002.gadā aptiekās tika pārdoti 20,921 klaritromicīna oriģināli, taču 2006.gadā pārdoto iepakojumu skaits bija gandrīz trīskāršojies – 54,981 oriģinālu. Līdzīgas tendences dati tika iegūti analizējot patērēto azitromicīnu – 2002.gadā 11,106 ambulatori pārdotu oriģinālu, bet 2006.gadā – jau 22,193 oriģinālu. Eritromicīna patēriņš minētajos gados ir samazinājies tā sliktās tolerances dēļ, gan ambulatorā, gan stacionāra praksē (Figūra 3).

AGBHS *emm* tipu sadalījums

Veicot 96 AGBHS izolātu molekulārbioloģisko analīzi, tika izdalīti 22 A grupas streptokoka *emm* tipi (Attēls 1; Tabula 4). Visbiežāk sastopamais *emm* tips bija 89.0 (34/96; 35%), sekojoši 4.0 un 12.0 (11/96; 11%), kam sekoja 1.0 (6/96; 6%) un 28.0 (5/96; 5%). Pārējo izdalīto *emm* tipu shematisks daudzums attēlots Attēlā 1.

Attēls 1.

Izdalīto AGBHS *emm* tipu sadalījums (n=).



emm tips 89.0 bija biežākais saistībā ar antimikrobo rezistenci pret eritromicīnu (n=25) un pret klindamicīnu (n=31), savukārt visi *emm4.0* (n=11) uzrādīja rezistenci pret abām testētajām MLS_B (makrolīdu-linkozamīda-streptogramīna B antibiotikas) antibiotikām. Pārējo izdalīto AGBHS *emm* tipu antimikrobā rezistence parādīta Tabulā 4.

Nosakot minētajos izolātos *emm* tipus, tika konstatēti divi atšķirīgi paraugi, kurus analizējot, parādās atšķirība no pamattipa *emm 1.0*. Taču līdz šim tāds apakštips *CDC (Centers for Disease control and Prevention)* datu bāzē nav bijis definēts. Nosūtot minētā apakštīpa mikrobioloģisko informāciju uz *CDC*, tika apstiprināts, ka ir atklāts pirmo reizi jauns - *emm 1.51* - AGBHS apakštīps, kur izmaiņa ir redzama 197. pozīcijā - jābūt aminoskābes nukleotīdam citozīnam (C), bet šiem paraugiem ir guanīns (G).

Tabula 4.

AGBHS izolātu emm tipu sadalījums saistībā ar antimikrobo rezistenci

emm tips (izolātu skaits)	Rezistentu izolātu skaits pret		
	eritromicīnu un klindamicīnu	eritromicīnu	klindamicīnu
<i>emm1.0</i> (n=6)	n=3	n=3	n=3
<i>emm2.0</i> (n=2)	n=0	n=2	n=0
<i>emm3.1</i> (n=2)	n=2	n=2	n=2
<i>emm3.2</i> (n=1)	n=0	n=0	n=0
<i>emm4.0</i> (n=11)	n=11	n=11	n=11
<i>emm6.4</i> (n=1)	n=0	n=1	n=0
<i>emm8.0</i> (n=2)	n=1	n=1	n=2
<i>emm11.0</i> (n=1)	n=0	n=0	n=0
<i>emm12.0</i> (n=11)	n=5	n=9	n=6
<i>emm12.4</i> (n=1)	n=1	n=1	n=1
<i>emm22.0</i> (n=3)	n=0	n=1	n=1
<i>emm28.0</i> (n=5)	n=2	n=2	n=2
<i>emm75.0</i> (n=2)	n=2	n=2	n=2
<i>emm77.0</i> (n=4)	n=3	n=3	n=3
<i>emm78.3</i> (n=1)	n=0	n=0	n=1
<i>emm81.0</i> (n=1)	n=0	n=0	n=0
<i>emm87.0</i> (n=2)	n=2	n=2	n=2
<i>emm89.0</i> (n=34)	n=25	n=25	n=31
<i>emm94.0</i> (n=1)	n=1	n=1	n=1
<i>emm102.2</i> (n=1)	n=1	n=1	n=1
<i>emm102.3</i> (n=1)	n=1	n=1	n=1
<i>emm110.1</i> (n=2)	n=1	n=2	n=1

Analizējot pētījumā iegūtos datus par noteiktu AGBHS izolātu no rīkles mugurējās sienas, tātad ne invazīvu izolātu, *emm* tipu epidemioloģiju un to saistību ar rezistences rādītājiem, jāsecina, ka Latvijas dati daļēji atbilst iepriekš dažādās Eiropas valstīs konstatētajam. Tā piemēram, *CDC (Centers for Disease Control and Prevention)* 2009.gadā publicētajos datos par 25 izplatītākajiem AGBHS infekcijas

visu formu *emm* tipiem attīstītajās valstīs, pētījuma izolātos konstatēti 14 no tiem: *emm1*, *emm2*, *emm3*, *emm4*, *emm6*, *emm11*, *emm12*, *emm22*, *emm28*, *emm75*, *emm77*, *emm81*, *emm87* un *emm89*. Mūsu pētījumā prevalējošais tips *emm89.0* ierindots 6.vietā pēc izplatības. Aplūkojot detalizētāk ar AGBHS faringītu saistītos izplatītākos tipus augstāk minētajā literatūras avotā, *emm 89.0* ierindojas tikai 10.vietā.

emm 89.0 tips starptautiskajā literatūrā publicētajos datos galvenokārt minēts saistībā ar AGBHS infekcijas invazīvām formām un izteikto makrolīdu antimikrobiālo rezistenci, kas saistīta ar *erm(B)* gēnu.

Ņemot vērā literatūrā atrodamos AGBHS rezistences datus pasaulē un datus Latvijā veiktajā pētījumā, ir būtiski atcerēties, ka joprojām kā izvēles preparāts streptokoku etioloģijas akūta faringīta ārstēšanā būtu ordinējams penicilīns.

Adekvāta penicilīna terapija pasargā no reimatiskā drudža attīstības vēlāk, pat, ja uzsākta 9 dienas pēc akūta streptokoka faringīta epizodes sākuma, tā saīsina arī klīnisko gaitu, samazina transmisijas risku, kā arī mazina risku attīstīties strutainām komplikācijām. Šo iemeslu dēļ antimikrobās terapijas ordinēšana akūta faringīta gadījumā nav steidzama, un lēmumu par terapijas uzsākšanu ārsts var pieņemt, sagaidot un saņemot visus sev interesējošos laboratoros rezultātus.

12.4. Sadaļa IV - *Ģenētisko asociāciju izpēte ar HLA II klases allēlēm bērniem ar reimatisko drudzi (RD) Latvijā.*

Pēc Latvijas Reimatisko slimību pacientu reģistra datiem > kā 1500 bērni (dzimuši no 1990.-2008.gadam) slimo ar reimatiskā sasilšanām, no kurām RD ir 3.biežākā. RD incidence bērniem Latvijā pīķi sasniedza 1998.gadā – 7.5/100,000. 2008.gadā samazinoties līdz 0.03/100,000.

Sadaļā IV retrospektīvi tika apzināti līdz 2004.gadam visi ,t.i., 70 reimatiskā drudža (RD) pacienti Latvijā līdz 18 gadu vecumam un analizētas viņu slimības vēstures – 48 zēnu (68.5%) un 22 meiteņu (31.4%), no kuriem līdz 7 gadu vecumam bija 23 (32.8%) un vecāki par 7 gadiem 47 (67.1%).

RD diagnozi apstiprināja vadoties pēc *Jones* kritērijiem. RD iznākamā 47 pacientiem (67.1%) diagnosticēja iegūtu reimatisku sirdskaiti (RSK) un 8 pacientiem *Chorea minor*. RSK tika diagnosticēta balstoties uz ehokardioskopijas un/vai sirds kateterizācijas laikā iegūtiem datiem.

RSK pacienti, atkarīgi no sirds vārstuļu bojājuma, tālāk tika sadalīti klīniski homogēnās pacientu grupās:

ar mitrālo viru regurgitāciju (MVR, n=24; 34.3%),

aortālo viru regurgitāciju (AoVR, n=3; 4.3%)

un kombinētu valvulāru sirdskaiti – MVR+AoVR vai multivalvulārs bojājums (MVB, n=20; 28.6%).

Pilnīga izveseļošanās līdz 18 gadu vecumam tika novērota tikai 23 pacientiem (32.8%). RD atkārtotas epizodes tika konstatētas 15% pacientu, jo netika saņemta prolongētā penicilīna terapija.

Reimatiskais drudzis (RD) un reimatiskā sirds kaite (RSK) kā sekas AGBHS infekcijai attīstās tikai 2- 3% pacientu, kuri jādāmā ir ģenētiski predisponēti slimot ar RD. Ir pierādīts, ka tieši M-proteīns ir galvenais mērķis saimnieka pret streptokoku vērstaļai imūnāļai atbildei un RD attīstībai.

HLA ģenētiskā saistība ar RD un RSK tiek bieži meklēta pētījumos, taču vienprātīga uzskata par specifisku allēļu asociāciju ar šīm slimībām nav. Viens iemesls šai nesaskaņai varētu būt pētījumos pielietotās novecojušās HLA genotipēšanas metodes. Blakus tehniskajām problēmām, tiek norādīts, ka ir nepieciešams RD un RSK pacientus analizēt klīniski homogēnās pacientu grupās,

piemēram, pacientus grupās ar un bez reimatiska kardiāta, ar pierādītu RSK vai *chorea minor*.

Pacientu un kontroles grupā tālāk tika analizētas HLA II klases RD un RSK riska un protektīvās allēles, genotipi un haplotipi klīniski homogēnās pacientu grupās.

DRB1*un DQB1* allēļu biežums RD un kontroles pacientu grupās

HLA II klases DRB1*07 (OR=4.18, $p<0.01$), DQB1*0302 (OR=3.13, $p<0.0002$), un DQB1* 0401-2 (OR=4.33, $p<0.0001$) allēles RD pacientiem tika atrastas biežāk salīdzinoši ar kontroles grupas pacientiem, savukārt retāk bija sastopamas DRB1*06 (OR=0.18, $p<0.0023$), DQB1*0602-8 (OR=0.4, $p<0.0127$), un DQB1*0501 (OR=0.26, $p<0.0027$) allēles.

DRB1 un DQB1 allēļu biežums RD, RSK un *chorea minor* pacientiem salīdzinoši ar kontroles grupu

Homogēnās pacientu grupās DRB1*07 allēlei bija visaugstākais odds ratio visās RD grupās: pacientu grupai ar iegūtu reimatisku sirdskaiti pēc RD kardiāta attīstības (OR=7.35, $p<0.001$), MVR pacientiem (OR=4.45, $p<0.03$), MVB pacientiem (OR=5.44, $p<0.01$) un *chorea minor* pacientiem (OR= 11.31, $p<0.002$).

Visretāk sastopamā allēle bija DRB1*06 (OR=0.18, $p<0.0023$). DQB1 allēles biežums variē RSK pacientu ar MVR un MVB starpā: DQB1*0401-2 (OR=8.20, $p<0.001$) bija biežāk sastopama MVR pacientiem, bet DQB1*0302 (OR= 4.18, $p<0.001$) MVB pacientiem. *Chorea minor* pacientiem bieži tika atrasta DQB1*0401-2 (OR=6.36, $p<0.005$) allēle.

Protektīvās HLA II klases allēles ir tik pat svarīgas kā riska allēles, pacientiem, kuriem ir attīstījusies AGBHS infekcija. Allēles, kas tiek norādītas kā protektīvas varētu būt DRB1*03/*06, DQB1*0201-2/*0201-2 un DQB1*0303/*0602-8. Nozīmīgāka aizsardzība būtu RD un RSK pacientiem ar allēļu genotipu DRB1*06 – DQB1*0602-8.

DRB1* un DQB1* genotipu asociācija ar RD pacientiem

Visciešākā asociācija starp DRB1* allēlēm un RD pacientiem bija DRB1*01/07 (OR= 8.57, $p<0.05$), DRB1*15/07 (OR= 2.86, $p<0.02$), DRB1*04/05 (OR=3.57, $p<0.04$), un DRB1*05/07 (OR=2.86, $p<0.02$) allēlēm. Savukārt,

DRB1*03/06 allēlei (OR= 0.48, $p < 0.01$) bija viszemākais OR. Biežāk asociētās ar RD allēles bija: DQB1*0301/0302 (OR=5.44, $p < 0.05$), DQB1*0302/0303 (OR=4.43, $p < 0.02$), DQB1*0302/0601 (OR=2.91, $p < 0.01$) un DQB1*0302/0602-8 (OR=2.19, $p < 0.01$). Visretāk novērotās allēles RD pacientiem bija DQB1*0201-2/0201-2 (OR=0.28, $p < 0.001$) un DQB1*0303-0602-8 (OR=0.22, $p < 0.01$).

HLA DQA1 allēļu un genotipu sadalījums RD pacientiem

HLA II klases DQA1* 0401 (OR=3.31, $p < 0.01$) RD pacientiem bija sastopams biežāk kā kontroles grupā, savukārt DQA1*0102 (OR=0.34, $p < 0.001$) – retāk. Homogēnās RD pacientu grupās DQA1*0401 allēlei bija visaugstākais OR, tāpat kā MVB grupā. DQA1*0501 (OR=3.25, $p < 0.03$) un DQA1*0301 (OR=3.45, $p < 0.02$) sastopamas MVB grupas pacientiem. *Sydenham's chorea* pacientiem ticami bieži sastopama DQA1*0201 (OR=3.33, $p < 0.05$). DQA1*0102 allēli neatrada nevienam RD pacientam, savukārt, tās biežums kontroles grupā bija 9% ($p < 0.001$), tomēr homogēnās pacientu grupās tā neuzrādīja nozīmīgu protektīvu efektu.

Nozīmīgi HLA DQA1 protektīvie genotipi netika atrasti, tomēr DQA1 genotips *0103/*0201 (OR=7.62, $p < 0.03$) un *0301/*0501 (OR=2.61, $p < 0.009$) tika atrasts visbiežāk.

HLA DRB1/DQA1 genotipu sadalījums

Biežāk atrastie genotipi RD pacientiem bija *07/*0201 (OR=2.01, $p < 0.06$) un *01/*0501 (OR=3.18, $p < 0.005$), kurus būtiski bieži noteica arī MVB grupā (OR=5.69, $p < 0.001$). Genotips *07/*0201 bieži tika atrasts *Sydenham's chorea* pacientu grupā (OR=3.72, $p < 0.04$), bet DRB1*04/DQA1*0401 RD pacientiem bez RSK (OR=11.1, $p < 0.004$).

HLA DQA1/DQB1 genotipu sadalījums

Gan RD pacientiem, gan homogēnās pacientu grupās retāk sastopamie genotipi bija *0102/*0602-8 un *0501/*0201-2. Genotips DQA1*0501 ar DQB1 riska allēli *0301 bieži tika novērots RD pacientiem (OR=2.10, $p < 0.01$), MVB grupas pacientiem – (OR=3.35, $p < 0.001$), kā arī pacientiem bez RSK (OR=2.58, $p < 0.03$). Tomēr to nevarētu uzskatīt kā apgalvojumu, jo pētāmās grupas būtu palielināmas pacientu skaita ziņā, lai šo pieņēmumu uzskatītu par apgalvojumu.

DRB1-DQA1-DQB1 haplotipu sadalījums

Haplotips *07-*0201-*0302 (OR=21.94, $p < 0.001$) būtiski bieži tika atrasts RD, kā arī homogēnās pacientu grupās – MVB (OR=26.0, $p < 0.001$) un pacientiem bez RSK

(OR=35.1, $p<0.002$). Savukārt, haplotipi *04-*0401-*0301 (OR=16.6, $p<0.003$) un *04-*0301-*0401-2 (OR=78.0, $p<0.0001$) tika bieži novēroti *Sydenham's chorea* pacientu grupā.

Protektīvās allēles DQA1*0102 un DQB1*0602-8 haplotipā DRB1*15 neuzrādīja nozīmīgu protektīvu efektu RD pacientiem.

Šī pētījuma rezultāti apstiprina hipotēzi un norāda, ka noteiktas HLA II klases allēles, genotipi un haplotipi ir saistīti ar risku vai aizsardzību izveidot RD rezultātā RSK, un šīs asociācijas ir nepārprotamas, ja tiek analizētas klīniski homogēnās pacientu grupās. Neskatoties uz dalījumu homogēnās pacientu grupās, analizējot ģenētisko asociāciju, būtu jāņem vērā etniskās atšķirības dažādās populācijās. Tāpat arī pieņemot, ka pēdējo 5 gadu laikā pasaulē veiktie līdzīgie pētījumi ir veikti, izmantojot PCR-SSP metodi, kas atšķiras no pielietotajām metodēm vecākos pētījumos.

Veiktais pētījums nodrošina jaunu informāciju hipotēzei par RD ģenētisko predispozīciju un imūnās sistēmas iespējamo aizsardzību RSK attīstībai. Ir nepieciešams turpināt slimības gaitas molekulāros pētījumus, lai nākotnē būtu iespējams prognozēt un paredzēt tās iznākus, kas nozīmētu, ka tiek piedāvāti jauni līdzekļi un pieejas ārstēšanā, kā arī profilakses iespējas, tai skaitā potenciālās streptokoku vakcīnas izveidē.

13. Secinājumi

1. Biežākā AGBHS infekcijas klīniskā forma bērniem stacionārā Latvijā ir akūts faringīts, kas apstiprina pētījumā izvirzīto jautājumu, un tās prevalence pētījuma subjektiem ir $10.6 \pm 0,1$ % ($n=36$), kas atbilst citām Eiropas valstīm.
2. 49% ($n=37$) pētījuma populācijas bērnu, kuriem uzsējumā no rīkles mugurējās sienas izdalīts AGBHS, un 52% ($n=49$) pētījuma populācijas bērnu, kuriem bija pozitīvs AGBHS eksprestests, novēro AGBHS nēsāšanu ar citas neprecizētas etioloģijas akūta faringīta klīnisko ainu.
3. Pārliecinošus prediktīvus klīniskus kritērijus, kas ļautu agrīni diagnosticēt Streptokoka etioloģijas akūtu faringītu pētījumā neatrod.
4. Pētījumā izmantotajiem AGBHS celmiem ir ļoti augsta makrolīdu rezistence - 78%, kas pārsniedz pētījumā izvirzītajā jautājumā minētos skaitļus, un turpmāk būtu jāievēro pārdomāta antibiotiku lietošanas stratēģija. Antimikrobās rezistences saistība ar noteiktiem AGBHS *emm* tipiem ir līdzīga kā citās Eiropas valstīs. Pētījuma gaitā atklāts jauns AGBHS *emm* 1.51 apakštips, ko apstiprinājis CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*).
5. Pētījuma rezultāti par RD un RSK norāda, ka noteiktas HLA II klases allēles, genotipi un haplotipi ir saistīti ar risku/protekciju izveidot RD rezultātā RSK. Šīs asociācijas ir nepārprotamas, ja analizētas klīniski homogēnās pacientu grupās. HLA pētījumi ir nozīmīgi jaunas terapijas iespēju, līdzekļu un streptokoku vakcīnas izstrādē.

14. Publikācijas par pētījuma tēmu

1. Stanevicha V, Eglite J, Sochnevs A, Gardovska D, Zavadska D, Shantere R. HLA class II associations with rheumatic heart disease among clinically homogeneous patients in children in Latvia. *Arthritis Res Ther* 2003; 5:R340-R346.
2. Stanevicha V, Eglite J, Sochnevs A, Gardovska D, Zavadska D, Shantere R. HLA class II DR and DQ genotypes and haplotypes associated with rheumatic heart disease among clinically homogeneous patients in children in Latvia. *Arthritis Research & Therapy* 2007, 9:R58.
3. Stanevicha V, Zavadska D, Eglite J, Sochnevs A, Gardovska D. HLA class II DR and DQ genotypes and haplotypes associated with homogeneous rheumatic heart disease in children in Latvia. *RSU Zinātniskie raksti* 2007: 2007: 6- 14.
4. Zavadska D, Grope I, Pugačova N, Drukaļska L, Gardovska D. A grupas β hemolītiskā Streptokoka etioloģijas akūta faringīta prevalence, klīnika un diagnostika bērniem Bērnu klīniskajā universitātes slimnīcā. *RSU Zinātniskie raksti* 2007.2007;21-28.
5. Zavadska D, Drukaļska L, Pugačova N, Bērziņa D, Gardovska D, Miklaševičs E. Macrolide resistance of group A beta haemolytic Streptococcus isolated from outpatient children in Latvia. *APMIS* 118: 366–370.

15. Konferenču tēzes par pētījuma tēmu

1. Staņēviča V, Eglīte J, Zavadskā D, Sočņevs A, Šantere R, Gardovska D. HLA class II associations with rheumatic heart disease among clinically homogeneous patients in children in Latvia. *J Annals of Rheumatic diseases*, 2002, Vol 61, suppl.1, p.83.
2. Staņēviča V, Eglīte J, Zavadskā D, Sočņevs A, Šantere R, Gardovska D. HLA II klases allēles bērniem ar reimatisko drudzi homogēnās pacientu grupās. RSU 2004. gada Zinātniskās konferences tēzes, 17. lpp.
3. Staņēviča V, Eglīte J, Zavadskā D, Sočņevs A, Šantere R, Gardovska D. HLA class II DQA1 alleles in rheumatic fever children patients in Latvia. Annual European Congress of Rheumatology - EULAR 2004, p.21.
4. Staņēviča V, Eglīte J, Zavadskā D, Sočņevs A, Šantere R, Kokina A, Ščegoļevs A, Gardovska D. Ģenētiskā predispozīcija bērniem ar reimatisko drudzi Latvijā. Latvijas Ārstu Biedrības konference 2005, Tēzes, 40.lpp.
5. Zavadskā D, Stanevicha V, Eglite J, Sochnevs A, Gardovska D. HLA class II associations with rheumatic heart disease among clinically homogeneous patients in children in Latvia. MYRACE 2005, Abstract book, AB09.
6. Staņēviča V, Eglīte J, Zavadskā D, Sočņevs A, Šantere R, Gardovska D. HLA class II DR and DQ genotypes and haplotypes in rheumatic fever children patients in Latvia. *J Clinical and Experimental Rheumatology*, 2005; vol.23, suppl.37:11.
7. Staņēviča V, Gardovska D, Zavadskā D, Eglīte J, Šantere R, Kokina A, Ščegoļevs A, Bērziņa D. Vai iespējams prognozēt reimatisko drudzi bērniem Latvijā? RSU 2006.gada Zinātniskās konferences tēzes, 71 lpp.
8. Staņēviča V, Gardovska D, Zavadskā D, Eglīte J, Šantere R. HLA class II DR and DQ genotypes and haplotypes in Sydenhams chorea patients in Latvia. *Kinder und Jugendmedizin*. 2006;6:A38 Godalgota vieta.
9. Staņēviča V, Gardovska D, Zavadskā D, Eglīte J, Šantere R, Kokina A, Ščegoļevs A, Bērziņa D. Vai iespējams prognozēt reimatisko drudzi bērniem Latvijā? RSU 2006.gada Zinātniskā konferences tēzes 134.lpp
10. Zavadskā D, Grope I, Pugačova Ņ, Drukaļska L, Gardovska D. A grupas β hemolītiskā streptokoka etioloģijas faringīta prevalence bērniem ar akūta faringīta klīniku. RSU 2007.gada Zinātniskās konferences tēzes,155. lpp.

11. Zavadska D, Grope I, Miklaševičs E, Gardovska D. A grupas β -hemolītisko streptokoku filoģenētiskā analīze *emm* gēna polimorfisma ietvaros. RSU 2007.gada Zinātniskās konferences tēzes, 149. lpp.
12. Stanevicha V, Zavadska D, Eglite J, Sochnevs A, Gardovska D. HLA class II DR and DQ genotypes and haplotypes associated with rheumatic fever among clinically homogeneous patients in children in Latvia. EULAR 2007, Abstracts; AB0025.
13. Zavadska D, Eglite J, Sochnevs A, Gardovska D, Shantere R, Stanevicha V: HLA class II DR and DQ genotypes and haplotypes associated with rheumatic heart disease. MYRACE 2007, p.16.
14. Zavadska D et al. Macrolide resistance of group A beta haemolytic Streptococcus isolated from outpatient children in Latvia. *26th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Disease*, 2008 <http://www.kenes.com/esp/program/session1.asp>
15. Zavadska D, Grope I, Drukalska L, Pugachova N, Gardovska D. Prevalence of group a beta haemolytic streptococcal pharyngitis in children in university hospital in Latvia. *XVII Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal diseases*, Abstract book, P 16, 2008
16. Zavadska D, Drukaļska L, Pugačova N, Bērziņa D, Gardovska D, Miklaševičs E. Macrolide resistance of group A beta haemolytic Streptococcus isolated from outpatient children in Latvia. RSU 2008.gada Zinātniskās konferences tēzes, 126.lpp
17. Zavadska D, Stanevicha V, Miklasevics E, Gardovska D. Antimicrobial therapy resistance in group A beta haemolytic Streptococcus infection and rheumatic fever. MYRACE 2008, www.myrace.info.
18. Zavadska D, Drukaļska L, Pugačova N, Bērziņa D, Gardovska D, Miklaševičs E. Macrolide resistance of group A beta haemolytic streptococcus isolated from outpatient children in Latvia. RSU 2008.gada Zinātniskās konferences tēzes, 126.lpp.
19. Zavadska D, Grope I, Gardovska D. "Serological response in children with group A streptococcal pharyngitis in the university hospital in Latvia" at the *27th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases*, 2009. abstract A-132-0002-00320.

20. Zavadska D, Bērziņa D, Pugačova N, Selga I, Miklaševičs E, Gardovska D. A grupas β -hemolītisko Streptokoku *emm* tipu un antimikrobās rezistences analīze. RSU 2010.gada Zinātniskās konferences tēzes, 163.lpp.
21. Zavadska D, Bērziņa D, Drukaļska L, Pugačova N, Miklaševičs E, Gardovska D. Macrolide resistance association with group A Streptococcus *emm* types in Latvia. *28th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Disease*, 2010; Abstract A-229-0001-00604.

16. Ziņojumi kongresos un konferencēs par pētījuma tēmu

1. Staņēviča V, Eglīte J, Zavadska D, Sočņevs A, Šantere R, Gardovska D. HLA II klases allēles bērniem ar reimatisko drudzi homogēnās pacientu grupās. RSU 2004.gada Zinātniskā konference.
2. Stanevicha V, Eglite J, Zavadska D, Sochnevs A, Gardovska D. HLA class II associations with rheumatic heart disease among clinically homogeneous patients in children in Latvia. MYRACE 2005, Reichenau an der Rax, Austria.
3. Zavadska D. Streptokoku izraisītā infekcija bērniem. Latvijas bērnu infektologu biedrības konference 2006.gada 21.aprīlī.
4. Zavadska D, Eglite J, Sochnevs A, Gardovska D, Shantere R, Stanevicha V: HLA class II DR and DQ genotypes and haplotypes associated with rheumatic heart disease. MYRACE 2007, Reichenau an der Rax, Austria.
5. Zavadska D, Grope I, Gardovska D. A grupas β hemolītiskā streptokoka etioloģijas faringīta prevalence bērniem ar akūta faringīta klīniku. RSU 2007.gada Zinātniskā konference.
6. Zavadska D, Stanevicha V, Miklasevics E, Gardovska D. Antimicrobial therapy resistance in group A beta haemolytic Streptococcus infection and rheumatic fever. MYRACE 2008, Reichenau an der Rax, Austria.
7. Zavadska D, Drukaļska L, Pugačova Ņ, Bērziņa D, Gardovska D, Miklašēvičs E. Macrolide resistance of group A beta haemolytic Streptococcus isolated from outpatient children in Latvia. RSU 2008.gada Zinātniskā konference.
8. Zavadska D. AGBHS faringīts bērniem Latvijā. VAS BKUS un RSU lekciju ciklā „Uz pierādījumiem balstīta bērnu slimību diagnostika, ārstēšana un prevencija”, 2007/2008. akadēmiskā gadā, 2008.gada 7.oktobris.
9. Zavadska D. GAS infekcija bērniem. RSU TIF , 2009.gada 3.aprīlī.
10. Zavadska D, Bērziņa D, Pugačova Ņ, Selga I, Miklašēvičs E, Gardovska D. A grupas β -hemolītisko Streptokoku *emm* tipu un antimikrobās rezistences analīze. RSU 2010.gada Zinātniskā konference.
11. Zavadska D. Streptokoku infekcija un tās noteikšanas ekspresmetode. Rīgas Stradiņa universitātes (RSU) un V/A „Latvijas Infektoloģijas centrs” (LIC) Akadēmiskajā seminārā „Vakcinoloģija: fakti, perspektīva, problēmas, risinājumi”, 2010.gada 16.aprīlī.

