



DACE ZAVADSKA

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

PROMOCIJAS DARBS

medicīnas zinātņu doktora grāda iegūšanai bērnu infekcijas slimībās

Darba zinātniskā vadītāja:

Habilitētā medicīnas doktore, LZA kor.loc. **Dace Gardovska,**

Rīgas Stradiņa universitātes profesore

Rīga, 2010

Darba zinātniskie konsultanti:

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

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)

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 multicentriskis (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	6
2. Ievads.....	8
3. Problēmas aktualitāte.....	10
4. Darba mērķis.....	11
5. Darba uzdevumi.....	11
6. Pētījuma jautājumi.....	12
7. Darba zinātniskā novitāte.....	13
8. Literatūras apraksts.....	14
8.1. Patogēns.....	14
8.2. Vēsturiskā perspektīve.....	14
8.3. Streptokoku dabīgā vide.....	15
8.4. Virulences faktori.....	15
8.4.1. Kapsula.....	15
8.4.2. Šūnas siena.....	15
8.4.3. M-proteīns.....	16
8.4.4. Imūnglobulīnu saistošais proteīns (M-līdzīgie proteīni).....	17
8.4.5. Fibronektīnu saistošais olbaltums (F proteīns).....	18
8.4.6. SIC (streptokoka komplementu inhibējošais proteīns).....	18
8.4.7. Opacitātes (necaurredzamības) faktors.....	18
8.4.8. Streptolizīns O.....	18
8.4.9. Streptolizīns S.....	19
8.4.10. Dezoksiribonukleāzes A,B,C un D.....	19
8.4.11. Hialuronidāze.....	19
8.4.12. Nikotīna-Adenīna-Dinukleotidāze (NADase).....	20
8.4.13. Streptokināze.....	20
8.4.14. Pirogēnais eksotoksīns.....	20
8.4.15. Vimentīns.....	21
8.4.16. Šūnas apvalka proteināze	21
8.5. Ar doto pētījumu saistītās AGBHS infekcijas izpētes aktualitātes	
8.5.1. AGBHS galvenie patogēnēzes mehānismi	22
8.5.1.1. Anti-fagocītiskās iezīmes.....	22
8.5.1.2. Faringīta patogēnēze.....	22

8.5.1.3.Reimatiskā drudža patogēnēzes mehānismi un imūnģenētika	24
8.5.1.3.1. Reimatiskā drudža incidence Latvijā un pasaulē.....	25
8.5.2. Akūta faringīta klīniskie simptomi un pazīmes bērniem.....	25
8.5.2.1.Tipiskās pazīmes un simptomi.....	25
8.5.2.2.Respiratorā trakta streptokoka infekcija jaunākiem bērniem.....	28
8.5.3. Streptokoku faringīta laboratorā diagnostika.....	29
8.5.4. AGBHS infekcijas terapija.....	30
8.5.5. AGBHS makrolīdu rezistences mehānismi un epidemioloģija.....	32
9. Materiāli un metodes	36
9.1. Pētījuma uzbūve	36
9.2. Pētījuma sadaļu dizains un metodes.....	38
9.2.1. Sadaļa I - <i>AGBHS izraisītās infekcijas bērniem klīnisko formu struktūra Bērnu klīniskā universitātes slimnīcā</i>	38
9.2.2. Sadaļa II - <i>AGBHS izraisīta akūta faringīta bērniem prevalence BKUS Neatliekamās palīdzības nodaļā un klīniski-laboratorās diagnostikas īpatnības</i>	38
9.2.3. Sadaļa III - <i>Pētījuma laikā izdalīto AGBHS izolātu molekulārbioloģiska analīze un antimikrobās rezistences gēnu noteikšana</i>	43
9.2.3.1.Antibiotiku rezistences gēnu noteikšana ar PĶR.....	43
9.2.3.2.AGBHS emm tipu noteikšana ar PĶR.....	44
9.2.4. Sadaļa IV - <i>Ģenētisko asociāciju izpēte ar HLA II klases allēlēm bērniem ar RD Latvijā</i>	47
9.2.4.1.DNS izdalīšana no asinīm.....	48
9.2.4.2.HLA-DRB1, DQA1, DQB1 noteikšana.....	49
9.3. Pētījuma organizācija.....	51
9.4. Datu analīze un statistiskā apstrāde.....	53
10. Rezultāti.....	55
10.1. Sadaļa I – <i>AGBHS izraisītās infekcijas bērniem klīnisko formu struktūra Bērnu klīniskā universitātes slimnīcā</i>	55
10.2. Sadaļa II – <i>AGBHS izraisīta akūta faringīta bērniem prevalence BKUS Neatliekamās palīdzības nodaļā un klīniski-laboratorās diagnostikas īpatnības</i>	58

10.3.	Sadaļa III - <i>Pētījuma laikā izdalīto AGBHS izolātu molekulārbioloģiska analīze un antimikrobās rezistences gēnu noteikšana</i>	68
10.4.	Sadaļa IV- <i>Ģenētisko asociāciju izpēte ar HLA II klases allēlēm bērniem ar RD Latvijā</i>	73
11.	Diskusija.....	86
12.	Secinājumi.....	103
13.	Literatūras saraksts.....	104
14.	Pielikums.....	125
14.1.	Publikācijas par pētījuma tēmu.....	125
14.2.	Konferenču tēzes par pētījuma tēmu.....	126
14.3.	Ziņojumi kongresos un konferencēs par pētījuma tēmu.....	129
14.4.	Pētījuma II sadaļas anketas	130
14.5.	Praktiskās vadlīnijas <i>Vadlīnijas A grupas β hemolītiskā Streptokoka infekcijas diagnostikai un terapijai</i>	138
14.6.	Pateicības.....	157

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 pediatriki autoimūni neiropsihiatriski traucējumi

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

ASLO - antistreptolizīns O

antiDNaseB - anti deoksiribonukleāze B

PSGN - pēcstreptokoku 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. Ievads

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) [1-6].

Cilvēki ir šī streptokoka vienīgais rezervuārs. Tā transmisija notiek gaisa-pilienu un kontaktu ceļā, saslimstot indivīdiem, kuriem nav tipu-specifiska imunitāte, cieši kontaktējot ar akūti slimu personu vai AGBHS nēsātājiem. Transmisija ģimenes locekļu starpā ir pamatā infekcijas vairākkārtīgumam un agrīnas terapijas neveiksmēs [7,8]. Transmisija ciešās vai daļēji ciešās sabiedrībās noved pie sporādiskiem vai epidēmiskiem AGBHS infekcijas uzliesmojumiem [9,10,11].

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 [1-4]. Ir pierādīts, ka precīza diagnoze, efektīva un adekvāta antibakteriālā terapija palīdz šo problēmu risināt izmaksu efektīvā un ne-dārgā veidā [1,2].

Neskatoties uz socioekonomisku, vides faktoru un sanitāro apstākļu uzlabošanos industrializētās valstīs, AGBHS etioloģijas faringīts ir joprojām sastopams tikpat bieži kā attīstošās valstīs [11]. Reimatiskā drudža fokālu incidences paaugstināšanos ASV novēroja 20.gadsimta 80.gados [6], bet Latvijā 20.gs. 90. gados [5]. 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 [5,6].

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 [1,2], tomēr antimikrobās jutības noteikšana ir svarīga racionālas antibakteriālās terapijas uzsākšanai gadījumos, kad penicilīns nevar būt izvēles

preparāts. Šī nepieciešamība palielinās līdz ar pieaugošo mikroorganismu multizāļu-rezistenci [4]. 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 [12-22].

3. Problēmas aktualitāte

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

1. 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 [1,2,12-14,16,18].
2. AGBHS infekcijas sekas var būt reimatiskais drudzis, taču ir zināms [1,5], 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 [5]. Šāda predispozīcija Latvijā iepriekš nav pētīta.
3. Akūts faringīts ir viens no biežākajiem 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 [1,2,4,20-22] parādās pārliecinoši dati par pieaugošu AGBHS antibakteriālo rezistenci pret makrolīdiem. Latvijā AGBHS antibakteriālā rezistence iepriekš nav pētīta.

4. Darba mērķis

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

5. 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.

6. 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?

7. 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.

Sekojoši, pamatojoties uz pētījuma rezultātiem, izveidotas vadlīnijas studentiem, rezidenti un ārstiem Latvijā AGBHS infekcijas ārstēšanai bērniem.

8. Literatūras apraksts

8.1. Patogēns

Streptokoki un streptokoku infekcijas medicīnā un sabiedrības veselībā ir pazīstamas jau vairākus simtus gadu.

Streptococcus ģints, šādi nosaukta tās tipiskās morfoloģijas dēļ (no grieķu valodas *streptos*, lokans; *coccus*, ogu graudiņš), ir dažādu Gram pozitīvu koku sakopojums, kas parasti novietoti pāros vai ķēdītēs. Tie ir nekustīgi, neveido sporas un ir katalāzes-negatīvi. Tiem ir kompleksas barošanās vajadzības. Visas sugas ir fakultatīvi anaerobas, lielākā daļa aug gaisa klātbūtnē, taču daži spēj augt tikai tādos atmosfēras apstākļos, kas variē no pilnīgi anaerobiem līdz pat kapnofīliem (t.i. augšana atkarīga no oglekļa dioksīda). Neviena no sugām nereducē nitrātu, tie fermentē glikozi, veidojot galvenokārt pienskābi, ne gāzi. Daudzas sugas ietilpst cilvēku un dzīvnieku gļotādas komensālajā mikroflorā, taču dažas ir izteikti patogēnas [1,23].

8.2. Vēsturiskā perspektīve

Jēdzienu *Streptococcus* pirmo reizi aprakstīja Billroth (1874)[24], inficētā brūcē redzot ķēdītēs novietotus kokkus. Pirmie nozīmīgākie izrādījās Pasteur (1879) un Rosenbach (1884)[25] apraksti, kuros tie aprakstīja *S.pyogenes* morfoloģiju, kultūras izskatu un virulenci pelēm un trušiem. Kopš tā laika ģintī ir iekļautas plaša spektra baktērijas, sākot no benigniem organismiem, ko lieto piensaimniecībā, līdz pat nopietniem cilvēku un vairāku dzīvnieku sugu patogēniem [26].

Vairāku nesenu taksonomisku pētījumu rezultātā, šī sarežģītā situācija tika atrisināta tādā pakāpē, ka piensaimniecībā izmantojamās sugas tika iedalītas jaunā ģintī *Lactococcus* un kustīgos *Vagococcus*, enteriskie streptokoki ģintī *Enterococcus*, anaerobie streptokoki *Peptostreptococcus* un vēl dažas sugas pieskaitītas ģintij *Gemella*. Tā sauktie “pēc barošanās atšķirīgie” streptokoki, kurus daudzus gadus uzskatīja par *Streptococcus* sugu variantiem, tika iekļauti jaunā ģintī *Abiotrophia* [27]. Dažas *Abiotrophia* sugas *Collins et al* [28] sekojoši atdalīja atsevišķās ģintīs, *Granulicatella*.

Filoģenētiskās attiecības starp *Streptococcus* ģinti un vairākām citiem katalāzes-negatīviem, gram pozitīviem kokiem rūpīgi pētīja Collins ar līdzstrādniekiem [28-33].

8.3. Streptokoku dabiskā vide

Visas *Streptococcus* sugas ir obligāti parazīti gļotādās, kā arī vairākas sugas sastopamas uz cilvēka un dažu dzīvnieku zobu virsmām. Daudzas no sugām dominējoši visa mūža garumā ir augšējo elpceļu gļotādu komensālās mikrofloras sastāvā, daļa no tām kolonizē cilvēka un vairāku dzīvnieku gremošanas un urīna traktus. Dažas no sugām ir atrodamas tikai uz zobu virsmām un parādās tur pēc zoba izšķīlšanās. Lielākā daļa šīs rezidējošās floras sastāvdaļu izraisa infekciju tikai nokļūstot normā sterilā organisma vidē vai imūnkompromitētiem pacientiem. Citas sugas ir īsti patogēni, kas izplatās no personas personai neimūniem indivīdiem [1], kur nosacīti tiek pieskaitīts arī *S.pyogenes*. Tā nēsāšana augšējos elpceļos ir sastopama nelielos procentos pieaugušiem indivīdiem un līdz 10% bērniem.

8.4. Virulences faktori

7.4.1. Kapsula

Dažiem *S.pyogenes* celmiem ir bieza hialuronskābes kapsula, kuras dēļ uz asins agara veidojas lielas gļotas izdalošas kolonijas. Bagātīgā M- proteīnu veidošana sniedz plašāku izpratni par gļotaino koloniju morfoloģiju, raksturīgu iezīmi, kas visvairāk tiek saistīta ar M-18 celmiem [34]. Izmantojot izogēnu M-18 celma mutantu, Wessel *et al* [35] parādīja, ka producējot hialuronskābes kapsulas, celmi bija rezistenti pret fagocitozi un virulenti pelēm, kur pretī celmi, kam vēroja hialuronskābes deficītu, nebija virulenti un viegli padevās fagocītiem. Taču kā interesants fakts tika atzīmēts, ka hialuronskābi neproducējošie celmi ar lielāku aviditāti piesaistījās makrofāgiem [35].

No tā varam secināt, ka hialuronskābes kapsula, tāpat kā M-proteīns, piešķir Streptokokam rezistenci pret fagocitozi, tomēr šāda kapsula vienlaicīgi arī traucē piesaistīties eikariotu šūnām. Streptokoki, kas satur hialuronskābes kapsulu, ar specifisku receptoru (CD44) palīdzību piesaistās keratocītiem [36,37].

8.4.2. Šūnas siena

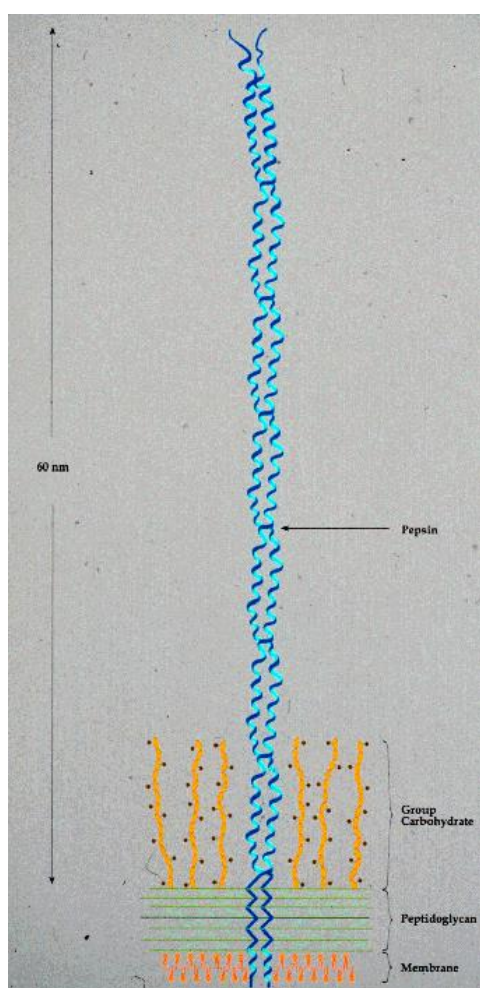
Šūnas sienas pamats ir veidots no peptidoglikāniem ar integrālu lipoteihnoskābes komponenti. Šo komponentu galvenā funkcija ir mikroba struktūras stabilitāte, lai gan tieša lipoteihnoskābes funkcija nav zināma. Lipoteihnoskābe var būt būtiska patogēnēzē, veicinot AGBHS adherenci pie rīkles epitēlija šūnām [38].

Peptidoglikāni, kā, piemēram, gram- baktēriju endotoksīns, ir spējīgi aktivizēt komplementa sistēmas alternatīvo ceļu [39-41].

8.4.3. *M*-proteīns

Būtiskākais AGBHS virulences faktors ir M proteīns (Attēls 1). Mūsdienās ir aprakstīti vairāk kā 100 dažādi M-proteīna tipi. Tas ir stabils dimērs, spirālveidīgs olbaltums, kas sastāv no četriem atkārtotu aminoskābju reģioniem (A-D), prolīnaglicīna piesātināta reģiona, kas nodrošina olbaltuma iespiešanos baktērijas šūnas sienā, un hidrofoba reģiona, kas darbojas kā enkurs membrānā [42]. Molekulas proksimālā daļa ir gandrīz nemainīga A grupas izolātu starpā, taču distālā daļa satur tipu-specifiskus epitopus, kas lokalizēti no šūnas virsmas izvirzīto fimbriju galos [43]. Attēls 1 .

M-proteīna shematiskais attēls [43]



The Laboratory of Bacterial Pathogenesis and Immunology, The Rockefeller University, New York, New York 10021 © 1995

A reģions blakus N-galam ir augsti variabls un izveidojušās pret šo reģionu antivielas nodrošina tipu specifisku aizsardzību. Nemainīgākajos B-D reģionos atrodama zona, kas saista vienu no komplementa regulējošiem olbaltumiem (faktoru H), inhibē antivielu piesaistīšanos un komplementa atvasināto opsonīnu depoziāciju, kā arī efektīvi maskē organismu humorālās imunitātes uzraudzībai [44].

AGBHS spēja ierosināt slimību ir būtiski atkarīga no M-proteīna. Izolāti, kur M proteīns iztrūkst, ir būtībā nepatogēni. Interesanti, ka streptokoki, izolēti no hroniskiem rīkles mugurējā sienā AGBHS nēsātājiem, satur ļoti maz vai nemaz M-proteīna un ir relatīvi avirulenti. *Rebecca Lancefield*, kura ir vienas no Streptokoku klasifikācijām pamatlicējām, ir izpētījusi, ka cilvēkiem inficējošā aģenta izstrādātais M proteīna daudzums progresīvi samazinās slimības rekonvalescences stadijā un ilgstošas nēsāšanas gadījumā [45].

Molekulārie mehānismi, ar kuru palīdzību M-proteīns mediē patogēnēzi, ir sarežģīti. Neimūnam saimniekam M proteīns mediē antifagocitozes efektu, inhibējot komplementa aktivācijas alternatīvo ceļu. Iegūtā pret streptokoka infekciju imunitāte ir veidota uz opsonizējošo antivielu pret M-proteīna antifagocitozes epitopu attīstību [43,46]. Taču šādas antivielas aizsargā tikai no homologa M-proteīna tipa, bet diemžēl nenodrošina aizsardzību pret citiem M-proteīna tipiem. Šis novērojums ir viens no galvenajiem, kas teorētiski neļauj izveidot AGBHS vakcīnu.

Sabiedrībā novērojamie AGBHS izsauktie noteikta saslimšanas veida uzliesmojumi tiek saistīti ar noteiktiem streptokoka M-proteīnu tipiem, tāpēc M tipu serotipēšana ir būtiska epidemioloģiskajos pētījumos.

8.4.4. Imūnglobulīnu saistošais proteīns (M-līdzīgie proteīni)

A grupas streptokoks izstrādā vairākus olbaltumus, kas pēc struktūras ir līdzīgi M-proteīnam, kā arī saista imunoglobulīnus, to skaitā IgG, IgM un IgA. Taču M-proteīnam neraksturīgi, šīs molekulas neinhibē fagocitozi neesot klāt tipu specifiskām antivielām. Tomēr šādas molekulas, kā M-līdzīgais proteīns, ir nozīmīgas patogēnēzē, spējas aktivizēt komplementa sistēmu dēļ. To 1995.gadā parādīja *Tern et al*, demonstrējot kā IgG saistošais olbaltums selektīvi saistīja C4b olbaltumu – olbaltumu, kas ir cieši iesaistīts komplementa sistēmas regulācijā [47]. Autori secināja, ka šis olbaltums var kavēt opsonizāciju, samazinot komplementa aktivāciju, taču apstiprināja, ka tas varētu kalpot arī kā ligands starp AGBHS un saimnieka šūnām, tādejādi veicinot neimūnu fagocitozi [47].

8.4.5. *Fibronektīnu saistošais olbaltums (F proteīns)*

AGBHS saistīšanās ar fibronektīnu uzlabo AGBHS piesaistīšanos epitēlija šūnām. *Hanski* un *Capron* 1992.gadā aprakstīja F proteīnu, kas ir 659 aminoskābes saturošs olbaltums ar 2 fibronektīnu saistošiem domēniem [48]. Tika secināts, ka F proteīns lielā daudzumā var būt sastopams izolātos, kas izdalīti no pacientiem ar invazīvu AGBHS saslimšanu [49]. Taču joprojām pētījumos, kur noteica F proteīna daudzumu dažādos M-tipu izolātos, norādot, ka M-tipi 1 un 3 ir biežāk izolētie pacientiem ar invazīvu AGBHS infekciju, secināja, ka tie neveido šo F proteīnu [49]. Šie autori demonstrēja, ka augsta CO₂ koncentrācija samazina F proteīna ekspresiju, tādejādi, F proteīns vai citi fibronektīnu saistošie olbaltumi ieņem svarīgu lomu AGBHS adhēzijas pie gļotādām vai ādas nodrošināšanā.

8.4.6. *SIC (streptokoka komplementu inhibējošais proteīns)*

Akesson et al 1985.gadā aprakstīja ekstracellulāru olbaltumu, kas inaktivē komplementa membrānas uzbrukuma kompleksu (*membrane attack complex*) (MAC) un sastāv no 305 aminoskābju atlikumiem [50]. SIC patreiz ir atrasts tikai 1. un 57.M-tipa celmos. Turklāt, *sic* gēns ir lokalizēts AGBHS M-tipa 1 mēģa regulonā, tieši blakus *emm* gēnam [50]. Nepārprotami ar šī mehānisma palīdzību organisms varētu izvairīties no destruktijas, ko ierosina MAC (C5-C9), izmantojot alternatīvo vai klasisko komplementa ceļu.

8.4.7. *Opacitātes (necaurredzamības) faktors*

Opacitātes faktors (OF) galvenokārt tiek atrasts A grupas streptokoku izolātos, taču nesen tas aprakstīts arī G un C grupas streptokokiem – *S.dysgalactiae* un *S.equisimilis* [51]. OF ir tipu specifiska lipoproteīna lipāze, kuras nozīme patogēnēzē vēl ir neskaidra. Pēdējie pētījumi norāda, ka pastāv saistība starp OF klātesamību un specifisku *emm* gēnu izkārtošanos. Jo īpaši, OF tiek asociēts ar M-tipiem, kas izdalīti no ādas izolātiem [52].

8.4.8. *Streptolizīns O*

Streptolizīns O pieder skābekļa-labīlu, tiola-aktivētu citolizīnu grupai un uz asins agara plates apkārt *S.pyogenes* kolonijām veido plašu hemolīzes zonu [53]. Tiola-aktivēts citolizīns saistās ar eikariotu šūnas membrānas holesterolu un veido toksīna-holesterola agregātus, kas sekmē šūnas sienas līzi ar koloīd-osmotiskā

mehānisma palīdzību. Holesterols inhibē gan izolētā miocīta toksicitāti, gan eritrocītu hemolīzi *in vitro*. Situācijās, kad seruma holesterols ir augsts (piemēram, nefrotiskais sindroms), falši paaugstinātais ASLO titrs var būt kā rezultāts gan holesterola, gan anti-ASLO antivielu "streptolizīna O neitralizēšanas" dēļ. Starp streptolizīnu O un citu gram+ baktēriju tiola-aktivētiem lizīniem pastāv pārsteidzoša aminoskābju homologija [54].

Streptolizīns O sekmē streptokoka infekcijas patoģenēzi vairākos veidos. Pirmkārt jau, augstā koncentrācijā tas ir toksisks. Zemākā koncentrācijā tas aktivizē vairākas šūnas, tādas kā polimorfonukleārās (PMN) un endotēlija šūnas, kā arī sinerģiski darbojas ar citiem streptokoka faktoriem (piemēram, pirogēno eksotoksīnu), lai inducētu citokīnu produkciju.

8.4.9. Streptolizīns S

Streptolizīns S ir ar šūnu asociēts hemolizīns, kas neizplūst agara vidū. Šī olbaltuma attīrīšana un raksturošana ir bijusi sarežģīta un tā nozīme patoģenēzē iespējama tikai caur tiešu kontakta atkarīgu citotoksicitāti [55].

8.4.10. Deoksiribonukleāzes A,B,C un D

Deoksiribonukleāžu (DNases) ekspresija *in vivo*, jo īpaši DNase B, izskaidro anti-DNase antivielu veidošanos pēc ādas vai rīkles streptokoku infekcijas. Tā tiek ražota un sekretēta streptokoka infekcijas laikā, taču par tās saistību ar slimības patoģenēzi ir zināms samērā maz. Starp 4 zināmām nukleāzēm no DNase A līdz DNase D, DNase B ir visbiežākā un antivielu līmeņa pret to noteikšana serumā, bieži tiek izmantota, lai apstiprinātu klīnisko diagnozi iepriekš esošai AGBHS infekcijai [56].

8.4.11. Hialuronidāze

Hialuronidāze ir ekstracelulārs enzīms, kas hidrolizē hialuronskābi dziļākos audos un var veicināt infekcijas izplatīšanos visā muskuļu fascijas garumā invazīvas streptokoku infekcijas gadījumā, ko apstiprina antihialuronidāzes titru pieaugums pēc *S.pyogenes* infekcijas. Antihialuronidāzes titru pieaugums vērojams arī neinvazīvas AGBHS infekcijas gadījumā, kā arī M-tipu nespecifiskas rīkles infekcijas gadījumā [1,57].

8.4.12. Nikotīna-Adenīna-Dinukleotidāze (NADase)

Šo ekstracelulāro enzīmu, sauktu arī par NAD glikohidrolāzi, izdala vairāki AGBHS celmi [58]. Joprojām nav precizēts, kāda ir šī enzīma loma jebkuras AGBHS infekcijas patoģenēzē, kā arī kāda ir tā funkcija organismā. Pētījumā, kas tika publicēts 2000.gadā, *Stevens et al* novēroja, ka NADase ekspresē M-1 un M-3 AGBHS, taču to nedara neinvazīvie celmi [59]. Tomēr vairāk kā 20 gadus atpakaļ veiktajos pētījumos M-1 celmos NADase vēl nebija atrasta [58]. Pētījumos par tās lomu patoģenēzē, šķiet, ka tā varētu tieši sekmēt dažu leukocītu funkciju pavājināšanos, piemēram, hemotakses un fagocitozes funkciju pavājināšanos [59].

8.4.13. Streptokināze

Streptokināzi veido visi AGBHS un tā ir novietota ekstracelulārās streptokoka miliās. Savukārt, plazminogēnu saistošās vietas ir novietotas uz AGBHS virsmas. Līdz ko plazminogēns ir sasaistīts, streptokināze to proteolītiski pārvērš aktīvā plazmīnā [60], kas tālāk sadala fibrīnu fragmentos, sauktos par fibrīna degradācijas produktiem (FDP). Saistītais plazmīns nevar tikt inhibēts ar endogēno anti-proteāžu, tādu kā α 1 antitripsīns, palīdzību [60]. Streptokināzes loma AGBHS infekcijas gadījumā pilnībā nav vēl noskaidrota, taču domājams, tā ir būtiska pēcstreptokoku glomerulonefrīta attīstībā.

8.4.14. Pirogēnais eksotoksīns

Streptokoka pirogēnie eksotoksīni (SPE) A, B un C, saukti arī par skarlatīnas vai eritrogēnajiem toksīniem, inducē limfocītu blastoģenēzi, potencē endotoksīna inducēto šoku, ierosina drudzi, nomāc antivielu sintēzi un darbojas kā superantigēni [61]. Atklājot šos 3 dažādos streptokoka pirogēno eksotoksīnu tipus, ir iespējams rasts skaidrojums, kāpēc dažiem indivīdiem ir atkārtotas skarlatīnas epizodes. Pirogēnā eksotoksīna A gēns (*speA*) tiek pārraidīts ar bakteriofāga palīdzību, un tā stabila veidošanās atkarīga no lizogēnās konversijas, līdzīgi kā tas notiek ar *Corynebacterium diphtheria* toksīna produkciju [62]. SPEA veidošanās kontrole vēl nav līdz galam izprasta, taču domājams, tā ir īpaši nozīmīga, jo ir vispārzināms, ka kvantitatīvi izdalītais SPEA dažādos AGBHS celmos gadu desmitu laikā ir būtiski mainījies. Turklāt, mutācijas *speA* gēnā nosaka milzīgas atšķirības toksīna spējā veikt savas funkcijas [63]. Vēsturiski streptokoki izdaloši pirogēno eksotoksīnu A un B, tika

saistīti ar smagas norises skarlatīnas gadījumiem un, jau nesenākā pagātnē, ar streptokoku toksiskā šoka sindroma (StrepTŠS) attīstību [64,65].

Lai gan visiem AGBHS ir streptokoka pirogēnā eksotoksīna B gēns (*speB*), tomēr ne visi AGBHS izdala SPEB, un pat to streptokoku vidū, kas izdala šo toksīnu, tā izdalītā kvantitāte būtiski atšķiras izolātu starpā [62,64,66,67].

Pirogēnais eksotoksīns C (SPEC), tāpat kā SPEA, ir bakteriofāga mediēts un tā izdalīšana ir augsti variabla. Pētījumā, kas veikts ASV un Apvienotā Karalistē, secināja, ka vieglas gaitas skarlatīnas gadījumi ir saistāmi ar SPEC-pozitīviem AGBHS [67]. Divi jauni superantigēni, mitogēnais faktors (MF) [68,69] un streptokoku superantigēns (SSA) [70] tika aprakstīti 90. gados, tomēr līdz pat šim brīdim precīzas to lomas streptokoku infekcijas patogēnēzē nav pilnībā noskaidrotas.

Cilvēkiem un dzīvniekiem pirogēnais eksotoksīns ierosina drudzi, kā arī piedalās šoka attīstībā, mazinot eksogēnā endotoksīna sliekšni [71]. SPEA un SPEB inducē mononukleārās šūnas sintezēt ne vien tumora nekrozes faktoru- α (TNF α) [72], bet arī interleikīnu-1 β (IL-1 β) [73] un interleikīnu-6 (IL-6) [73-75], rosinot domāt, ka TNF mediē drudzi, šoku un orgānu disfunkciju pacientiem ar StrepTŠS [65].

8.4.15. Vimentīns

2006.gada pētījumā vimentīns tika identificēts kā lielākais skeleta muskulatūras AGBHS saistošais olbaltums *in vitro* modeļos [76]. Tika konstatēts, ka *in vitro* modeļos iekaisuma skartajās skeleta muskulatūras šūnās notiek vimentīna ekspresijas regulācija, kā arī noteikts, ka pacientam ar AGBHS izraisītu mionekrozi, kurš mira no Streptokoka toksiskā šoka sindroma, muskuļšūnās tika izdalīts vimentīns. Šie novērojumi sniedz molekulāru skaidrojumu, kādēļ pacientiem bez redzamiem infekcijas ieejas vārtiem, bet ar nelielu muskuļu traumu, attīstās smagi noritoša mīksto audu infekcija [76].

8.4.16. Šūnas apvalka proteināze

Letāls AGBHS izraisīta nekrotizējošā fascīta iznākums ir saistāms ar neitrofilo leukocītu iztrūkumu infekcijas vietā. Interleikīns (IL)-8, kas ir būtisks neitrofilo transmigrācijā un aktivācijā, var tikt degradēts streptokoka darbības dēļ [77]. Klātesot *S.pyogenes* šūnas apvalka proteināzei (SpyCPE), IL-8 aktivitāte tiek sašķelta. IL-8

sašķelšana, novēršot neitrofīlo iesaistīšanos, ir nesen atklāts *S.pyogenes* mehānisms, lai izvairītos no saimnieka imūnas sistēmas ietekmes.

8.5. Ar doto pētījumu saistītās AGBHS infekcijas izpētes aktualitātes

8.5.1. Galvenie patoģenēzes mehānismi

AGBHS izraisītās saslimšanām jau izsenis ir bijusi pievērsta liela uzmanība, un mūsdienās tās ir labi definētas un detalizēti aprakstītas, ko nevarētu attiecināt uz AGBHS darbības patoģenēzes mehānismiem. Šo infekciju pamatā esošie patoģenēzes mehānismi joprojām irniecīgi izprasti, jo katrs ir kā sarežģītu kompleksu darbību mijiedarbības kulminācija, kas norit saimnieka aizsardzības mehānismu un patogēna virulences faktoru starpā.

8.5.1.1. Anti-fagocītiskās iezīmes

M-proteīns sekmē streptokoka invazivitāti, kavējot streptokoka fagocitozi, ko veic polimorfonukleārie leukocīti (PMNL) [45]. Pretēji tam, M-tipu specifiskās antivielas palielina šo fagocitozi [45]. Inficējoties ar noteikta M-tipa streptokoku, specifiskās antivielas nodrošina rezistenci izraisīt imunoloģisko atbildi šī konkrētā M-tipa dzīvotspējīgajā AGBHSā [45]. 90to gadu beigās Boyle *et al* parādīja, ka AGBHS proteāzes sašķel M-proteīna terminālo daļu, izveidojot organismu uzņēmīgāku fagocitozei, taču pasargājot to no tipu specifisko antivielu opsonizācijas [78]. Lai gan 1.un 3.M-tipu streptokoki visvairāk ir izdalīti no pacientiem ar StrepTŠS, daudz citi, ieskaitot tipu nespecifiskus streptokokus, arī ir izdalīti no pacientiem ar identisku klīnisko ainu. 1. un 3. M-tips bieži vien tiek izdalīts arī no asimptomātiskiem AGBHS nēsātājiem, kā arī vieglas gaitas skarlatīnas un faringīta pacientiem [66,79]. Organisma uzņēmībai opsonizēt M-tipu specifiskās antivielas ir iespējamās milzīgas variācijas katra konkrētā M-tipa infekcijas gadījumā, kas rosina pilnveidot potenciālo M-tipu specifisko vakcīnu izveidi nākotnē [80-85].

8.5.1.2. Faringīta patoģenēze

Akūta faringīta attīstībai ir nepieciešama AGBHS piesaistīšanās elpceļu epiteliālajām šūnām, ko veicina fibronektīnu saistošais olbaltums (proteīns F), lai gan to varētu sekmēt arī peptidoglikāni un M-proteīns [48]. F proteīns bagātīgi tiek atrasts celmos, kas izdalīti no ādas un rīkles, taču neatrod celmos, kas izolēti no asinīm [49].

AGBHS piesaistīšanās rīkles gļotādas virsmai un augšana iespējams ir pietiekoša, lai izraisītu streptokoku faringīta klīniskās izpausmes. Joprojām nav skaidrs, kāda nozīme, ja tāda ir, piemīt M proteīna antifagocitārajām īpašībām vienkārša faringīta attīstībā, kad turpretim, lokāla iesaistīšanās rīkles mandeļu, limfmezglu un peritonsilāro audu rajonos tiek veicināta virulences faktoru ietekmē, kas vājina fagocītu spēju opsonizēt, uzņemt un nogalināt AGBHSu. Lokālas invāzijas procesā vienlaicīgi ar M proteīnu iesaistās arī tādi virulences faktori kā M-līdzīgie olbaltumi, C5a peptidāze, hialuronskābes kapsula un streptokoka komplementu inhibējošais proteīns (SIC).

Pacientiem, kuriem veikta tonsilektomija hroniska tonsillīta dēļ, AGBHS ir atrasts arī intracellulāri mandeļu audos, un *in vitro* pētījumi ir skaidri norādījuši, ka AGBHS ne tikai pieķeras, bet arī invadē epitēja šūnas audu kultūrās. Daži pētījumi gan norāda, ka tikai noteikti AGBHS M-1 celmi efektīvi invadē šūnas [86], taču citi pētījumi šo apgalvojumu neapstiprina [87,88]. Tomēr, nav pietiekami pierādījumu, kas norādītu, ka akūta faringīta laikā notiktu epiteliālo šūnu invāzija.

Rodas jautājums, vai *in vitro* veikto pētījumu rezultāti par šūnu invāziju ar AGBHSu korelē ar hroniska tonsillīta pacientu audu intracellulāru invāziju ar patogēnu? Jāņem vērā, ka tonsilektomija netiek veikta pacientiem ar akūtu faringītu, tās veikšanas indikāciju standartam ir nepieciešamas vairākas atkārtotas tonsillīta epizodes. Tādējādi, tajos cilvēka tonsillārajos audos, kur tika intracellulāri atrasti streptokoki, infekcija bija noritējusi ilgu laiku. Turklāt, šiem pacientiem nav bijusi bakteriēmija vai lokāla infekcijas izplešanās uz kaklu, blakus dobumiem un citur, kas neapstiprina apgalvojumu, ka elpceļu epitēlija šūnu invāzija korelē ar akūtu infekciju, infekcijas izplešanos uz apkārtējiem audiem vai bakteriēmiju. Hroniska tonsillīta gadījumos, lai izveidotos antiM-proteīna antivielas, ir nepieciešams arī pietiekami ilgs laiks to attīstībai, tāpēc būtu jānotiek pastiprinātai makrofāgu veiktai AGBHS opsonizācijai farigēālajos, limfātiskajos un mandeļu audos.

Neatkarīgi no mehānismiem, intracellulārajai videi ir būtiska loma vairāku infekcijas iznākumu attīstībā. Pirmkārt, AGBHS virulences faktoru eksporta rezultātā tiek paildzināta antigēnā stimulācija, kas ir nepieciešama tādu pēc-infekcijas seku kā akūts reimatiskais drudzis, attīstībā. Otrkārt, virulences faktoru izstrāde ietekmē saimnieka šūnas, kas tieši sekmē akūta faringīta simptomu un pazīmju attīstību. Lai gan iespējams, tomēr ir skaidrs, ka AGBHS infekcijas rezultātā cilvēkam tiek iznīcināts tikai neliels daudzums šūnu, jo citādi, līdzīgi kā difterijas gadījumā,

klīniskajā ainā būtu raksturīga masīva audu čūlošanās un nekroze. Tāpēc jāsecina, ka rīkles epitēlija šūnu invāzija ar AGBHSu akūta faringīta gadījumā ir limitēta, ja vispār iespējama [1,2].

Neatkarīgi no tā, vai AGBHS intracelulāri akūta tonsillofaringīta gadījumā spēlē kādu lomu vai ne, šāda patogēna lokalizācija pasargātu to no antivielu, komplementa, leikocītu un dažu citu antivielu ietekmes [2].

Ir skaidrs, ka visi augstāk minētie faktori būtiski ietekmē AGBHS eradikāciju hronisku situāciju gadījumos [1].

8.5.1.3. Reimatiskā drudža patogēnēzes mehānismi un imūnģenētika

RD ir autoimūna slimība, kas attīstās pēc A grupas β hemolītiskā streptokoka infekcijas – g.k. akūta faringīta un skarlatīnas. Reimatiskā drudža patogēnēzē ir iesaistīta cieša streptokoka virulences faktoru un uzņēmīga saimnieka saspēle. Pēc dotā pētījuma datiem katram piektajam bērnam ar akūtu faringītu Latvijā žāvas kultūrā atrod A grupas beta hemolītisko streptokoku, tomēr ar reimatisko drudzi (RD) saslimst tikai 2 bērni gadā (incidence 0.1/100 000) [5].

Autoimūno procesu pamatā ir T-šūnu molekulārā mimikrija starp A streptokoku ar noteiktu M-proteīnu un slimnieka sirds proteīniem. *Guilherme* u.c. savos pētījumos norāda, ka M5 peptīds izraisa smagu RD pacientiem ar DRB1* 07 un kā sekas kombinētu valvulāru sirdskaiti [89-94]. Citos pētījumos ir skaidri norādīts, ka arī B-limfocītiem ir būtiska loma, demonstrējot, ka antivielas, kas izveidojušās pret noteiktiem M-proteīniem, krusteniski reaģē ar sirds audiem, ieskaitot miozīnu un endotēliju [95]. Turklāt anti-miozīna antivielas arī reaģē ar sirds endotēliju [96]. Un tā kā antivielas pret M-proteīnu izveidojas pacientam ar iepriekš esošu AGBHS infekciju, šīs antivielas var sasaistīt komplementu, tādējādi bojājot un aktivējot endotēlijam pakļautos citokīnus un hemokīnus, kas piesaista un aktivizē T-limfocītus.

Risku saslimt ar RD, kā arī slimības gaitu un iznākumu, saista ar konkrēta indivīda imūnās atbildes reakcijas ģenētisko kontroli. Pēc vairāku autoru datiem ģenētisko atbildi kontrolē HLA II klases DR un DQ lokusi un ģenētiskās asociācijas atšķirīgās klīniski homogēnās pacientu grupās [97-102]. Latvijā līdzīgi kā citās pasaules valstīs veikti pētījumi par HLA II klases DR un DQ allēļu riska un protektīvo nozīmi [5], taču būtiskāku informāciju par slimības gaitu un prognozi, sniedz genotipu un haplotipu sadalījums [103].

8.5.3.1.1. Reimatiskā drudža incidence Latvijā un pasaulē.

Nemot vērā 2008. gada Latvijas reimatoloģiski slimo bērnu reģistra datus, ar reimatiskām slimībām Latvijā slimo vairāk kā 1500 bērni, un reimatiskais drudzis (RD) ir trešā vietā pēc biežuma reimatoloģisko slimību vidū bērniem Latvijā [5, 103]. Īpaši augsta saslimstība bija 1998. gadā, kad slimības incidence sasniedza 7.5, bet patreiz ir 0.1/100 000 bērniem.

Attīstītajās valstīs RD un RSK attīstība ir krietni mazinājusies kopš 1950. gada, daļēji pateicoties streptokoku faringīta ārstēšanai ar antibiotikām un daļēji pateicoties arī tam, ka ievērojami paaugstinājies ir dzīves līmenis.

Lai gan pasaulē nav veikti sistemātiski prospektīvi pētījumi par reimatiskā drudža incidenci pasaulē, 2008.gadā veiktais no 10 dažādām valstīm apkopojošais pētījums par RD 1.epizodi dažādās populācijās visos kontinentos, izņemot Āfriku, ļauj ieskatīties aptuvenos RD incidences skaitļos, kas ir: vidējā incidence pasaulē 5–51/100 000 iedzīvotāju. Zema RD 1.epizodes incidence sastopama Amerikā un RietumEiropā, savukārt augstāka (>10/100 000) tā ir dokumentēta Austrumeiropā, VidusEiropā (visaugstākā), Āzijā un Austrālijā [104]. Diemžēl dati par Āfrikas kontinentu nav pieejami. Tomēr kopējā longitudinālā iezīme laikā norāda, ka RD incidencei pasaulē ir tendence samazināties, ko atspoguļo arī Latvijas dati [5, 80].

8.5.2. Akūta faringīta klīniskie simptomi un pazīmes bērniem.

AGBHS faringīta, kā arī citas etioloģijas faringītu pazīmes un simptomi ir bieži vien ļoti līdzīgi, tāpēc klīnicistam ir jābūt pārliecinātam, izslēdzot Streptokoka etioloģijas faringīta diagnozi - ne tikai epidemioloģiski un klīniski, bet arī laboratoriski.

Klasiskā AGBHS faringīta klīniskā triāde ir drudzis, faringeāls eksudāts un priekšējā kakla adenopātija, taču šāda klīniskā aina pie AGBHS faringīta pēc literatūras datiem ir tikai aptuveni 15% pacientu [105,106].

8.5.2.1. Tipiskās pazīmes un simptomi

Tipisks streptokoka etioloģijas faringīta pacients ir skolas vecuma bērns ar pēkšņu drudzi un iekaisušu kaklu ziemas vai agra pavasara sezonā (Tabula 1). Galvassāpes, savārgums, sāpes vēderā, slikta dūša un vemšana ir bieži sastopami simptomi streptokoku faringīta gadījumā. Savukārt izteikti reti vēro klepu, rinoreju, stridoru, aizsmakumu, konjunktivītu un diareju. Rīkles mugurējā siena ir eritematoza, uz mīkstajām aukslējām var būt redzamas petehijas. Mandeles ir palielinātas un

sarkanas, ar iespējams plankumveida aplikumu. Mēles kārpīņas ir sarkanas un pietūkušas, ko dēvē par „aveņu mēli”. Priekšējie kakla limfmezgli ir jūtīgi un palielināti. Katram konkrētajam pacientam šie „tipiskie” simptomi var būt vērojami un var iztrūkt: diagnozes apstiprināšanai ir, kā jau iepriekš minēts, nepieciešami ātrais streptokoku eksprestests un uzsējums no rīkles mugurējās sienas [1,12,19].

Tabula 1.

Svarīgākās AGBHS faringīta klīniskās un epidemioloģiskās pazīmes [1]:

Pēkšņs sākums
Iekaisis kakls
Drudzis
Galvassāpes
Slikta dūša, vemšana un sāpes vēderā
Rīkles un mandeļu iekaisums
Saliņveida eksudāts
Jūtīgi, palielināti priekšējie kakla limfmezgli
Pacienta vecums 5 – 11 (15) gadi
Vēro ziemas vai agra pavasara periodā
Anamnēzē saskare ar ierosinātāju

Savā pētījumā *Stillerman* un *Bernstein* novēroja, ka drudzis sastopams 90% streptokoku faringīta pacientu [107]. Drudzis var būt neliels – 37.8-38°C, gan arī augsts līdz pat 40°C. Samērā sen veiktā apjomīgā pētījumā ASV [108] 30% no pētījumā iekļautiem bērniem drudzis pārsniedza 38.3°C, jaunākiem bērniem drudzis šādus skaitļus var nesasniegt [109-114].

Apsārtusi rīkles mugurējā siena tiek uzskatīta par *sine qua non* (obligātu priekšnoteikumu) faringītam, kas pētījumos tiek novērots 74-79% pacientu [12,107-

110,113]. Lai gan 1961.gada pētījumā šis simptoms kā vadošais tika novērots 56% pacientu [107].

Streptokoka izraisītais rīkles apsārtums tiek raksturots kā „jēluma” izjūta, kas pastiprinās rijot šķidrumus. Disfāģija var būt spilgti izteikta, līdz pat tādai pakāpei, ka bērns atsakās no šķidruma perorālas uzņemšanas, ēšanas un siekalas labāk izspļauj kā norij. Kā pavadošs simptoms var tikt atzīmētas sāpes ausīs.

Akūta streptokoku faringīta epizodes laikā pacienti sūdzas par sāpēm vēderā, sliktu dūšu un vemšanu, taču diareja nebūtu saistāma ar faringīta epizodi. Šie simptomi nav tik izteikti, lai imitētu akūta vēdera ainu, taču arī negarantē akūta faringīta klīniku.

Kā bieži sastopams simptoms tiek atzīmētas galvassāpes slimības sākumā, ko pavada slikta dūša un vemšana. Pacienta mentālais statuss ir adekvāts, nebūtu jābūt sūdzībām par fotofobiju vai sāpēm kakla mugurējā daļā. Nogurums un ģeneralizēta sāpju sajūta ir simptomi, ko līdzās pārējiem varētu atzīmēt pacienti.

Fizikālās izmeklēšanas laikā vērojama eritematoza rīkles mugurējā siena, pietūkusi un sarkana uvula. Kā tipisks simptoms literatūrā [12,13,18,107-109,112,113] tiek atzīmēts eksudāts uz mandelēm, kas promocijas darba izstrādes laikā netika apstiprināts. Eksudāts tiek aprakstīts kā balts vai pelēcīgs, brīžiem viegli iedzeltens, lokalizēts gan uz vienas vai abām mandelēm, taču ne plēvjveidīgs, izstiepjoties uz apkārtējiem audiem. Vidēji 10% pacientu tiek novērotas petēhijas un mīkstām aukslējām, ko pavada mazi, sarkani folikulāri vai punktveida bojājumi ar iedzeltenu centru [111].

Kakla priekšējie limfmezgli ir palielināti, akūtas infekcijas laikā cieti un jūtīgi. Meningeālie simptomi netiek atzīmēti, vēdera dobuma izmeklēšana ir bez patoloģiskas atrades, neskatoties uz vemšanu un sāpēm vēderā. Ja fizikālās izmeklēšanas laikā tiek diagnosticēta hepatosplenomegālija, kā diferenciāldiagnoze akūtai epizodei noteikti jāapsver infekciozās mononukleozes iespēja. Uz ādas var būt redzamas sīkas petēhijas, pat iztrūkstot tipiskiem skarlatīnas elementiem [12,13,18 107-109,112,113].

Pacienta izmeklēšanas laikā, iztrūkstot gan iekaisušam kaklam, gan akūta faringīta pazīmēm, ir nopietni jāapšaubā AGBHS infekcija, jo īpaši, iztrūkstot drudzim.

8.5.2.2. Respiratorā trakta streptokoka infekcija jaunākiem bērniem

Bērniem, jaunākiem par 3 gadiem, klīniskajā ainā varētu vērot akūtas iesnas ar krevelēm zem deguna ejām, ģeneralizētu adenopātiju un hroniska rakstura slimības gaitu, ko literatūrā dēvē par streptokokozi (Tabula 2). Zīdaiņiem (jaunākiem par 6 mēnešiem) šis sindroms ir grūti atdiferencējams no augšējo elpceļu vīrusu etioloģijas infekcijas.

Tabula 2.

Raksturīgākās klīniskās pazīmes augšējo elpceļu streptokoku infekcijas gadījumos bērniem līdz 3 gadu vecumam [1]:

Neskaidrs sākums
Rinīts, bieži purulents
Zemu grādu drudzis
Difūza kakla adenopātija
Otitis media
Faringīts nav raksturīgs, bet var būt
Anamnēzē saskare ar ierosinātāju mājās vai bērnu aprūpes iestādēs
Nevēro skarlatīnai raksturīgu ainu

Bērniem vecumā no 6 mēnešiem līdz 3 gadiem ir raksturīgs zemu grādu (<38°C) drudzis, strutaini izdalījumi no deguna, cervikāls adenīts, vidusauss iekaisums, kā arī vecākiem bērniem – sinusīts.

Pagājušā gadsimta 40jos gados publicētajā literatūrā augstāk minētie simptomi tiek attiecināti jēdzienam „streptokoku slimības bērības tips” (šajās publikācijās tiek lietots jēdziens „streptokokoze”, lai apzīmētu streptokoku infekcijas pilnu spektru visās vecuma grupās), uzsverot tā nenoteikto slimības sākumu un kūtro gaitu, kas var persistēt vairākas nedēļas [115-117]. Nesenāk veiktajos pētījumos rinīta persistence tiek aprakstīta ievērojami retāk [110,118], iespējams tādēļ, ka mainījušies ir veselības aprūpes standarti un antimikrobo līdzekļu pieejamība. AGBHS kultūras iegūšanai

bērniem jaunākiem par 3 gadiem jutīgāks būtu uzsējums no deguna ejām, kā no rīkles mugurējās sienas [110].

Bērniem jaunākiem par 3 gadiem var attīstīties kultūras-pozitīvs streptokoku faringīts, ko veicina cieši sadzīves kontakti mājas apstākļos ar brāļiem vai māsām [110,118]. Akūtas iesnas, klepus un aizsmakums tika pierādīts biežāk tieši jaunāka vecuma bērniem [110,117]. Pētījumā, kas tika veikts pēc uzliesmojuma dienas aprūpes centrā, secināja, ka maziem bērniem ar streptokoku infekciju biežāk novēro drudzi un simptomus, kas raksturo iekaisušu kaklu [119].

Ir skaidri zināms, ka bērni jaunāki par 3 gadiem var nēsāt AGBHS savos elpceļos, taču skaitliski retāk kā gados vecāki bērni [119-121]. Pazīmes un simptomi streptokoku infekcijas gadījumā bērniem jaunākiem par 3 gadiem var atgādināt vīrusu infekcijas izraisītu klīnisko ainu vai līdzināties gados vecākiem bērniem sastopamajiem simptomiem, taču skarlatīna šai vecuma grupai nav raksturīga [110,114-117,122,123]. Reimatisks drudzis šajā vecumā grupā nav raksturīgs, tāpēc vadošais iemesls diagnosticēt streptokoka faringītu (vai „streptokokozi”) ir mazināt kontagiozitāti, kas raksturīga nazālam sekrētam un šīs vecuma grupas bērnu ieradumiem.

8.5.3. Streptokoku faringīta laboratorā diagnostika

Tā kā klīniskās pazīmes akūta faringīta gadījumā nav patognomas [106,124-126], ātrais streptokoku noteikšanas eksprestests (ĀSET) būtu veicams, lai apstiprinātu diagnozi. Eksprestests vairākos pētījumos sevi pierādījis kā ātrs vadošs norādījums antibakteriālās terapijas uzsākšanai akūta faringīta gadījumā. [12,15,124-126,127,128]. Taču, diagnozes apstiprināšanai negatīva eksprestesta gadījumā jāveic uzsējums no rīkles mugurējās sienas AGBHS izdalīšanai.

2002.gadā Amerikas Pediātru akadēmija savās vadlīnijās AGBHS faringīta gadījumā rekomendē, ka visu AGBHS eksprestestu rezultāti jāapstiprina ar uzsējumu no rīkles mugurējās sienas. Pat ja eksprestests ir negatīvs, ir jāveic sekojošs uzsējums no rīkles mugurējās sienas [12].

Laboratorie, AGBHS klātbūtni rīkles mugurējā sienā apstiprinošie testi ir uzsējums no rīkles mugurējās sienas un ātrais antigēna noteikšanas tests jeb eksprestests, kā arī seroloģiskā izmeklēšana, nosakot ASLO (antistreptolizīns O) un/vai antiDNaseB (anti deoksiribonukleāze B) titra pieaugumu 21-32 dienas pēc akūta faringīta epizodes [15].

Uzsējumam no rīkles mugurējās sienas ir jābūt pareizi un precīzi paņemtam, t.i. ar spēcīgu triepienu no abām mandelēm un rīkles mugurējās sienas [12]. AGBHS kultūru pierāda, uzsējot uz aitas asiņu agara. Lateksa aglutinācija, fluorescento antivielu, koaglutinācijas vai precipitācijas tehnikas palīdz diferencēt uz agara augošos citus hemolītiskos streptokokus. Viltus negatīvus, pareizi un adekvāti apmācīta personāla paņemtos paraugos, rīkles mugurējās sienas kultūru uzsējumus sastop aptuveni 10 % simptomātisku pacientu. Koloniju skaits uz asins agara plates nenorāda par patiesu akūta AGBHS infekciju vai AGBHS nēsāšanu.

Pasaulē ir pieejami vairāki ātrie diagnostiskie testi AGBHS noteikšanai, kuru specifitāte kopumā ir augsta, taču jutības rādītāji pētījumos būtiski variē. Tāpat kā uzsējumos arī eksprestestu jutība ir atkarīga no pareizas tehnikas, paraugu paņemot un testu izpildot. Tādēļ negatīvs ātrais streptokoka eksprestests ir jāapstiprina ar uzsējumu no rīkles mugurējās sienas.

Tādi laboratorie izmeklējumi kā leukocītu skaits, eritrocītu grimšanas ātrums, C reaktīvais olbaltums un prokalcitonīns, vērtēti kopainā ar citu klīnisko un laboratoro atradi, varētu būt noderīgi lēmuma par antimikrobās terapijas uzsākšanas nepieciešamību pieņemšanā.

8.5.4. AGBHS infekcijas terapija

Veiksmīga terapija AGBHS faringīta gadījumā ir lielā mērā atkarīga no:

- pareizas diagnozes,
- aģenta efektivitātes,
- līdzestības terapijai.

AGBHS faringīta klīniskā diagnoze ar daudzajiem līdzīgi nekomplīcētas augšējo elpceļu virālas infekcijas simptomiem ir izaicinoša un strīdīga [2,12,13,18].

Industrijas sponsorētos un pētnieku iniciētos pētījumos terapijas veiksmē ir atkarīga no klīniskiem/mikrobioloģiskiem kritērijiem. Jo sevišķi, klīniskās atbildes un eradikācijas rādītājiem. Šādos apstākļos pacients ir augsti motivēts, bieži vien kompensēts, un parasti rūpīgi tiek uzraudzīts, lai nodrošinātu stingru terapijas ievērošanu un kursa pabeigšanu [129-139].

Turpretī, mazāk kontrolētās ikdienas klīniskajās ārstniecības praksēs, stingra terapijas ievērošana būtiski ietekmē saslimšanas iznākumu [129,130,135,136]. Tādējādi klīniskās ārstniecības apstākļos antimikrobās terapijas izvēle būtu jābalsta uz

aģenta spēju nodrošināt patogēna eradikāciju un terapijas līdzestību, jo īpaši terapijas kursa pilnīgu pabeigšanu.

Daudzi antimikrobie aģenti tiek minēti kā efektīvi AGBHS faringīta ārstēšanā. To skaitā ir penicilīns un tā radnieciskie aģenti (piem., ampicilīns, amoksicilīns, pussintētiskie penicilīni), kā arī vairums cefalosporīnu, makrolīdi un klindamicīns [2,12-14,18,19,136].

Ārstēšana un izvēles antimikroba līdzeklis AGBHS infekcijas gadījumā ir atkarīgi no klīniskā sindroma, tomēr kopumā izvēles līdzeklis vairumā gadījumu ir penicilīns [2,12-14,18,19,136].

Penicilīns V (fenoksimetilpenicilīns) ir izvēles antimikroba līdzeklis akūta AGBHS faringīta ārstēšanā. Pasaulē vēl joprojām nav izdalīta tāda AGBHS kultūra, kas uzrādītu fenotipisku vai genotipisku rezistenci pret penicilīnu [1,12]. Bieži streptokoka faringīta ārstēšanā tiek lietoti arī ampicilīns un amoksicilīns, tomēr mikrobioloģiski tiem nav priekšrocību salīdzinājumā ar penicilīnu [12,132,136].

Penicilīna terapija pasargā no RD attīstības vēlāk, pat uzsākta 9 dienas pēc akūta streptokoka faringīta epizodes sākuma, tā saīsina arī klīnisko gaitu, samazina transmisijas risku, kā arī samazina risku attīstīties strutainām komplikācijām [1,12,139]. 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 rezultātus.

Šaura spektra cefalosporīni 10 dienu kursā ir pieņemama alternatīva penicilīna terapijai pacientiem, kuri ir penicilīna alerģiski. Taču 5% penicilīna-alerģiskie pacienti būs alerģiski arī pret cefalosporīnu grupu. Pacientiem ar I tipa hipersensitivitāti pret penicilīnu grupu cefalosporīnu grupas preparātus nozīmēt nedrīkst. Šaura spektra cefalosporīni perorālā veidā ir efektīvi streptokoku faringīta ārstēšanā [1,12,131-140].

Orāli nozīmēti makrolīdi varētu būt alternatīva iepriekš minēto penicilīna un cefalosporīnu - alerģisko pacientu grupā, taču, ordinējot makrolīdus, vienmēr jāņem vērā populācijā cirkulējošo streptokoku makrolīdu rezistences dati [1,12].

8.5.5. AGBHS makrolīdu rezistences mehānismi un epidemioloģija

Makrolīdu uzbūves pamatā ir makrociklisks laktona gredzens. Plašāk pazīstamais un lietotais ir dabīgais makrolīds eritromicīns, ko 1952. gadā izdalīja no starainās sēnes *Streptomyces erythreus*, tāpēc reizēm makrolīdu grupas antibiotikas sauc arī par eritromicīna grupas antibiotikām.

Makrolīdi, atgriezeniski piesaistoties pie ribosomas 50S subvienības, kavē mikroorganismu proteīnu sintēzi. Iedarbīgāki makrolīdi ir uz augošām baktērijām nekā uz baktērijām miera stāvoklī, jo kavē fermentu peptīdtranslokāzi, līdz ar to augošā peptīda translokācijas reakciju [141]. Tā kā makrolīdu ķīmiskā uzbūve atšķiras no β -laktāmu (penicilīns un tā atvasinājumi, cefalosporīni) ķīmiskās uzbūves, tad makrolīdus bieži lieto šo antibiotiku rezistences vai alerģijas gadījumā. Tā kā visām makrolīdu-linkozamīda-streptogramīna B (MLS_B) grupas antibiotikām ir viena piesaistes vieta ribosomas 50S subvienībā, tad veidojoties rezistencei pret vienu antibiotiku grupu, rodas rezistence arī pret pārējām MLS_B grupas antibiotikām.

Ir vairāki gēni, kas nosaka rezistenci pret makrolīdiem, un atšķiras arī šo gēnu izplatība dažādos mikroorganismos.

1. *mefA*. Šis gēns rada tā saucamo M tipa fenotipisko rezistenci, tas nozīmē, ka mikroorganisms ir rezistents tikai pret makrolīdu grupas antibiotikām. Gēni atrodas šūnas nukleotīdā un kodē eflukss pumpja sistēmu, kas izvada makrolīdu antibiotikas no šūnas, pirms piesaistīšanās pie ribosomas. Visbiežāk šie gēni sastopami *Streptococcus* ģints mikroorganismiem, taču atklāti arī *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Enterococcus* un citām ģintīm [142,143].

2. *erm* gēni. Pastāvīgā un inducētā rezistence rodas modificējoties antibiotiku piesaistes vietai baktēriju ribosomā [144].

Pastāvīgā rezistence fenotipiski izpaužas kā pilnīga rezistence pret visām MLS_B grupas antibiotikām. Savukārt inducētā MLS_B rezistence rodas vienai antibiotikai (eritromicīnam) inducējot citas antibiotikas (klindamicīna) rezistenci, veidojot D veida zonu uz agara, neatkarīgi no disku attāluma [142-144]. Par antibiotiku piesaistes vietas modifikāciju atbild *erm* klases gēni [142-144]. *ermB* gēns reti tiek novērots *S.aureus* izolātiem, taču ir biežākais makrolīdu rezistences determinants *Enterococcus* un *Streptococcus* ģintīm [142-144]. Šī gēna fenotipiskā izpausme ir cMLS rezistence, tas atrodams galvenokārt dažādās plazmīdās.

Patreiz ir zināmi trīs makrolīdu rezistences mehānismi: mērķa modifikācija, efļukss pumpja sistēma un inaktivācija [4].

Rezistence pret MLS_B antibiotikām ir aprakstīta daudziem mikroorganismiem, t.sk. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus* un *Escherichia coli*, un tā ir sastopama daudzviet pasaulē [4,20-22,145-155].

Kā jau iepriekš minēts, pasaulē nav izdalīta tāda AGBHS kultūra, kas uzrādītu fenotipisku vai genotipisku rezistenci pret penicilīnu, ko nevarētu attiecināt uz makrolīdu grupu. Arvien pieaugoša makrolīdu grupas antimikrobo līdzekļu pielietošana, jo īpaši pēc 2.un 3.paaudzes makrolīdu grupas preparātu ieviešanas, ir tieši saistīta ar augsto rezistences attīstību pret šiem aģentiem.

Streptococcus pyogenes rezistence pret eritromicīnu pirmo reizi tika ziņota un aprakstīta Anglijā pagājušā gadsimta 50os gados [145] – īsu brīdi pēc medikamenta ieviešanas klīniskajā praksē. Pēdējo 15 gadu laikā vispārējs *Streptococcus pyogenes* rezistences pret makrolīdiem pieaugums ir novērots daudzviet pasaulē [20-21,149,150]. Makrolīdu rezistences rādītāji Amerikas Savienotajās Valstīs variē no 5-10% dažādos ziņojumos [12,151,152].

Bandak *et al* [20] savā pētījumā ziņoja par klīniskiem *S.pyogenes* izolātiem *in vitro*, kas bija penicilīn-jūtīgi, rezistences noteikšanā pielietojot fenotipisko rezistences noteikšanas metodi – minimālo inhibējošo koncentrāciju (MIC). Tika testēti 1050 AGBHS izolāti, iegūti 11 pētījuma centros piecās Eiropas valstīs – Itālijā, Spānijā, Francijā, Zviedrijā un Turcijā. Visi iegūtie izolāti bija jutīgi pret penicilīnu un cefakloru. Makrolīdu, i.e. eritromicīna, klaritromicīna un azitromicīna, rezistences rādītāji visaugstākie tika noteikti pētījuma centros Itālijā (31.0%) un Spānijā (26.6%), viszemākos rezistences rādītājus vēroja centros Turcijā (4.8%), Francijā (3.8%) un Zviedrijā (3.7%).

Eiropā makrolīdu rezistences prevalences augstākie rādītāji vērojami Vidusjūras valstīs, zemākie – Skandināvijā. Kopējā incidence izsakāma 43%os, kas ir visaugstākais rādītājs pēc epidēmiskās situācijas Japānā 70.gados, kur *S.pyogenes* eritromicīna rezistences rādītāji sasniedza aptuveni 80% asociācijā ar jaunā serotipa izplatīšanos 1970s gados [153]. Izolātu rezistences rādītāju ievērojamu samazināšanos novēroja jau 1980s [154]. 1990to gadu beigās, uzraudzības dati Japānas Rietumu daļā demonstrēja, ka eritromicīna rezistences rādītāji ir starp 2.8 un 6.5% [155].

Somijā 1992.gadā *Seppälä et al* [21,22] ziņoja par augstiem eritromicīna rezistences rādītājiem - 44%. Kopš 1988.gada vairākos Somijas rajonos vēroja ātru un ievērojamu

AGBHS eritromicīna rezistences rādītāju pieaugumu, ko skaidroja ar eritromicīna patēriņa pieaugumu ambulatorajā praksē. Sekojoši tika mainītas un ieviestas ambulatoro pacientu antimikrobās terapijas politikas, kā arī izveidotas nacionālās vadlīnijas ambulatoro pacientu respiratoro un ādas infekciju ārstēšanā, kas noveda pie būtiskas rezistences rādītāju samazināšanās [22].

Rezumējot iepriekš ar doto pētījumu saistīto AGBHS infekcijas izpēti aktualitāšu citēto, var teikt, ka tā kā A grupas streptokoks var izraisīt tik plaša spektra slimības ar sekojošām nopietnām konsekvencēm, tā epidemioloģija ir atšķirīga gan laika, gan ģeogrāfijas ziņā, un ir būtiski izprast saimnieka un patogēna savstarpējo mijiedarbību. Aizvien labākai izpratnei pasaulē jau vismaz 20 gadu simtus tiek veikti pētījumi veltīti AGBHS infekcijai, tai sekojošajām komplikācijām un terapijai.

Carapetis et al 2005.gadā savā pētījumā [129] norāda, ka ir aprēķinājis, ka ik gadu pasaulē iet bojā 517 000 pacientu smagas AGBHS infekcijas dēļ (gk, reimatiskā drudzis, reimatiskās sirds kaites, pēcstreptokoku glomerulonefrīta un invazīvas infekcijas dēļ). Smagas AGBHS infekcijas prevalence ir vismaz 18.1 miljons gadījumu pasaulē, 1.78 miljoni no tiem ir jaunas infekcijas epizodes. AGBHS būtiskākā un nopietnākā problēma ir RD un RSK ar prevalenci 15 miljoni gadījumu, t.sk. 282 000 jaunu gadījumu un 233 000 nāves gadījumu ik gadu. Invazīvas AGBHS infekcijas draudi ir negaidīti augsti, vismaz 663 000 jaunu gadījumu un 163 000 nāves gadījumu gadā. Turklāt vairāk kā 111 miljoni AGBHS piodermijas gadījumu un vairāk kā 616 miljoni AGBHS faringīta epizožu ik gadu.

Dažos no pētījumiem ir izstrādātas vadlīnijas AGBHS faringīta un citu klīnisko A grupas streptokoka infekcijas formu noteikšanai pieaugušajiem. Šie pētījumi parāda, ka klīniskie simptomi streptokoku infekcijas gadījumā atkārtojas un ir ļoti vērtīgi diagnozes uzstādīšanai. Veids, kā slimību diagnosticē pieaugušajiem norāda, ka klīniskās prognozēšanas instruments ir pietiekami precīzs, lai paredzētu turpmākās ārstēšanas iespējas. Lai gan veikts ievērojami liels daudzums pētījumu par klīnisko atradi un laboratorām metodēm, tikai daži no tiem ir saistīti ar streptokoku infekcijas noteikšanu bērniem [1,18-24].

Epidemioloģiskie dati par AGBHS infekciju no attīstošām valstīm ir nepietiekoši, taču globāli vērtējot, AGBHS infekcija ir svarīgs saslimstības un mirstības cēlonis. Pētījumu rezultāti norāda, ka ir nepieciešamas jaunas infekcijas

kontroles stratēģijas, jāattīsta un jāizveido primāras infekcijas prevencijas vadlīnijas, kā arī ir nepieciešami ticami dati gan no industrializētām, gan attīstošām valstīm.

AGBHS infekcijas ārstēšanai ir vairāki mērķi, un svarīgākie no tiem ir reimatiskā drudža un akūta 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 [2,4,14,15,16].

Ar AGBHS infekcijas terapiju saistītā penicilīna rezistence pasaulē nav bijusi un joprojām netiek uzskatīta par nopietnu problēmu. Taču pieaugoša ir makrolīdu lietošana streptokoka infekcijas ārstēšanai, jo īpaši ieviešot nākamo paaudžu makrolīdu preparātus, kas ir tieši saistīta ar augsto makrolīdu rezistences pieaugumu pasaulē un pieaugošo mikroorganismu multizāļu rezistenci [4,22,133,135,147].

9. Materiāli un metodes

9.1. Pētījuma uzbūve

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

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

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

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

Sadala 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.

- Kā atslēgvārdi tika lietoti “**group A streptococcus**” ar vaicājumtulkojumu (“streptococcus pyogenes”[MeSH Terms] OR (“streptococcus”[All Fields] AND “pyogenes”[All Fields]) OR “streptococcus pyogenes”[All Fields] OR “group a streptococcus”[All Fields]); “**streptococcal pharyngitis**” ar vaicājumtulkojumu

("streptococcus"[MeSH Terms] OR "streptococcus"[All Fields] OR "streptococcal"[All Fields]) AND ("pharyngitis"[MeSH Terms] OR "pharyngitis"[All Fields])); „**macrolide resistance**” ar vaicājumtulkojumu ("macrolides"[MeSH Terms] OR "macrolides"[All Fields] OR "macrolide"[All Fields]) AND resistance[All Fields]); „**rheumatic fever and HLA**” ar vaicājumtulkojumu ("rheumatic fever"[MeSH Terms] OR ("rheumatic"[All Fields] AND "fever"[All Fields]) OR "rheumatic fever"[All Fields]) AND HLA[All Fields];

- Tika noteikti atlases ierobežojumi: **tikai vienības ar kopsavilkumiem, cilvēkiem** (publikācijas laiks netika ierobežots);
- 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 – pēc pētījuma veikšanas un publicēšanas gada, līdzības un aktualitātes dotajam pētījumam, iekļauti detalizētā literatūras apskatā. Tika izslēgta publikāciju atkārtotā vai pētījumi, ziņojoši par identiskiem datiem vienā un tajā pašā laika periodā.

9.2. Pētījuma sadaļu dizains un apraksts

9.2.1. 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.

9.2.2. 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 reimatiska 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. Anketas skatīt darba pielikumā.

Informācija par pacientu:

1. Pamata un demogrāfiskā informācija

Pamata un demogrāfiskā informācija tika savākta no visiem pētījumā iesaistītiem pacientiem jau pirms fizikālās izmeklēšanas. Šī informācija iekļāva: pacienta vēsturi un simptomus, kontakta informāciju un pacienta vecāku/aizbildņu izpratni un piekrišanu ārstēšanas shēmām.

Pacienta vēsture tika uzskatīta par ticamu, ja tā tika iegūta no vecākiem/aizbildņiem. Simptomu un pazīmju vēsture tika iegūta par pēdējām 5 dienām. Sīkākai informācijai skatīt Pacienta fizikālās izmeklēšanas formu pielikumā.

2. Vitālās pazīmes un antropometrija:

- Temperatūra
- Elpošanas ātrums
- Svars
- Augums

3. Klīniskās pazīmes

Pirmās izmeklēšanas laikā tika novērotas un pierakstītas visas klīniskās pazīmes (skatīt Pacienta fizikālās izmeklēšanas formu).

Fizikālās izmeklēšanas laikā katram pacientam izvērtēja sekojošus simptomus pēdējo piecu dienu laikā:

- drudzi,
- paaugstinātu temperatūru,
- iesnas,
- aizliktu degunu,
- sāpes kaklā,
- apgrūtinātu vai sāpīgu rīšanu,
- klepu,
- vemšanu,
- sāpes ausīs,
- vēdera sāpes,
- samazinātu aktivitāti,
- traucētu miegu,
- aizsmakumu.

Apskates brīdī uzmanību pievērta:

- klepum,
- aizsmakumam,
- faringeālai eritēmai,
- mandeļu eritēmai,
- fauciālai eritēmai,
- mandeļu palielinājumam 4 pakāpēs,
- tonsilāram eksudātam,
- kakla limfmezglu jūtīgumam,
- bojātai deguna ādai, faringeālam eksudātam,
- petehijām uz aukslējām,
- aveņu mēlei.

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

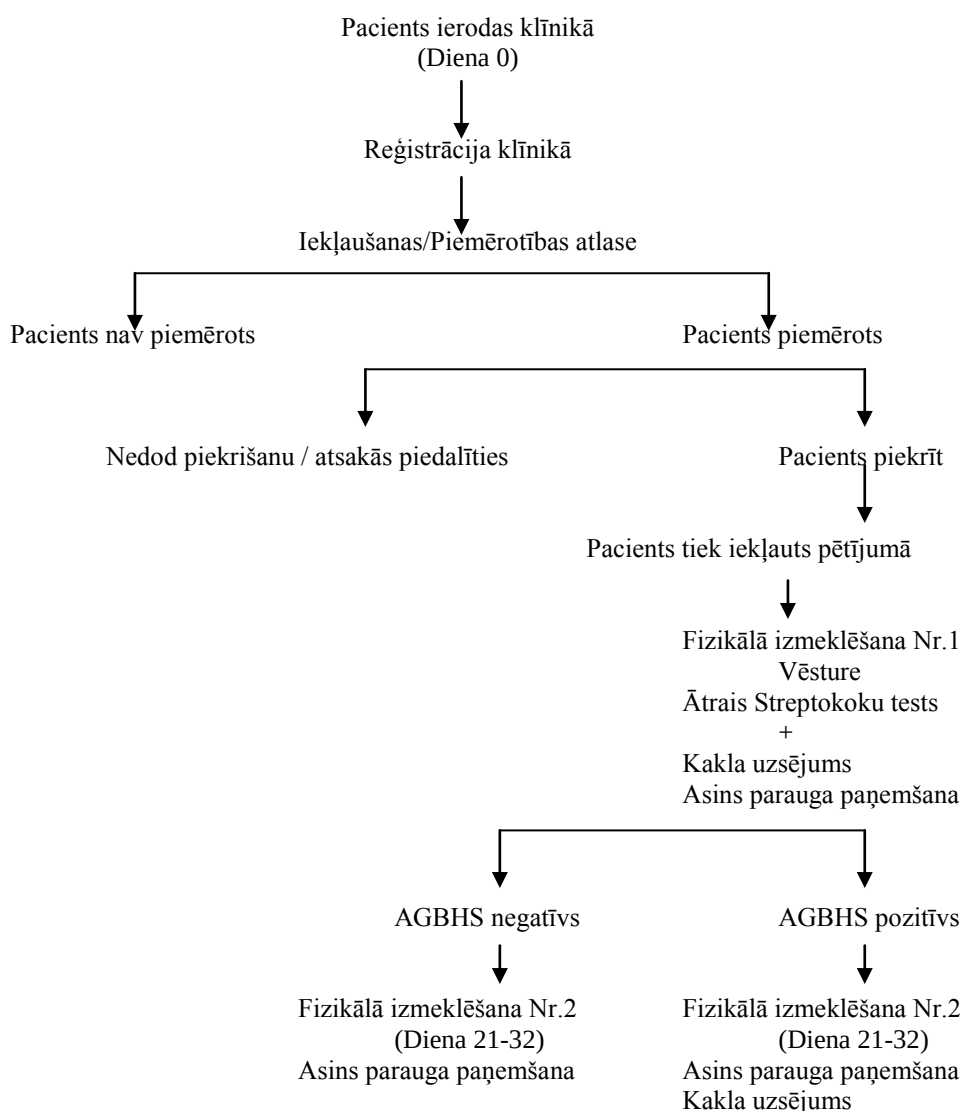
Iekļaušanas dienā, kā arī atkārtotā vizītē, tika veikta iztriepe no rīkles mugurējās sienas, lai izolētu AGBHS, un paņemts 5 ml asins seruma paraugs seroloģiskai diagnostikai, nosakot ASLO un antiDNaseB titrus (Attēls 2).

Iztriepe no rīkles mugurējās sienas tika paņemta ar sterilu vates iztriepes kociņu no abiem tonsillārajiem apvidiem un rīkles mugurējās sienas. Iztriepe tika ievietota sterilā traukā un nogādāta laboratorijā, kur to uzsēja uz 5% aitas asins agara. Uzsētās kultūras plates atradās inkubatorā visu nakti 5% CO₂. Tās tika pārbaudītas uz β hemolītisko koloniju klātbūtni. Koloniju skaits tika reģistrēts. Izolētās kolonijas tika pārbaudītas uz bacitracīna jutību un lateks aglutināciju, kā arī attiecīgi sagrupētas, izmantojot standarta tehnoloģiju. Kultūras tika saglabātas saldētavā turpmāko testu veikšanai.

Attēls 2.

Notikumu gaitas darbību secības shēma pētījuma Sadaļā II

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



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 (Attēls 4).

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.

9.2.3. 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 stacionārā 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.

9.2.3.1. Antibiotiku rezistences gēnu *ermA*, *ermB* un *mefA* noteikšana ar PĶR

PĶR veica 50 µl tilpumā un reakcijas maisījums saturēja 5 µl 10x reakcijas bufera, 5mM dNTP maisījuma, 1U Taq polimerāzes (Qiagen, Vācija), 20 pmol katra praimera, 2 µl streptokoku suspensijas un destilētu ūdeni līdz beigu tilpumam 50 µl. DNS amplifikāciju veica 35 ciklos (denaturācija pie 94°C 20 sek., hibridizācija pie 48°C 1 min., sintēze pie 72°C 1 min.).

Praimeru secība un amplifikācijas produktu izmērs norādīti Tabulā 3. Amplifikācijas produktus sadalīja 1% agarozes gēlā, vizualizēja ar etīdija bromīdu un digitāli dokumentēja. Koncentrācijas mērījumiem tika izmantots UV spektrometrs Nanodrop1000.

Tabula 3.

Praimeri rezistences gēnu noteikšanai.

Praimers	DNS secība	Paredzamais produkta izmērs (bp)
<i>ermB1</i>	AAA(C/T)TGATTTTT(A/T)GTAAA	530
<i>ermB2</i>	AGGTAAAGGGCATTT	
<i>ermA1</i>	AGGTTATAATGAAACAGA	208
<i>ermA2</i>	GCATGACATAAACCTTCA	
<i>mefA1</i>	CTATGACAGCCTCAATGCG	1400
<i>mefA2</i>	ACCGATTCTATCAGCAAAG	

9.2.3.2. AGBHS *emm* tipu noteikšana ar PĶR

PĶR (polimerāzes ķēdes reakcija) M proteīna kodējošās sekvences iegūšanai.

Polimerāzes ķēdes reakcija tika izmantota DNS fragmenta M proteīna kodējošās sekvences iegūšanai, ko tālāk analizēja ar ģenētisko analizatoru (Tabula 4).

Tabula 4.

Praimeri *emm* tipu noteikšanai.

em379 (forward)	ATAAGGAGCATAAAAATGGCT
em380 (reverse)	AGCTTAGTTTTCTTTCTTTTGCG
em381(forward)	TATTSGCTTAGAAAATTAA
em382 (reverse)	GCAAGTTCTTCAGCTTGTTT

PĶR tika izmantoti 30-50 ng izdalītās DNS. PĶR maisījums un apstākļi (Tabulas 5 un 6) tika veidoti balstoties uz *CDC (Centers for Disease control and Prevention)*(http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocol_emm-type.htm) ieteikumiem.

Tabula 5.

PĶR sastāvs *emm* tipu noteikšanai.

Sastāvdaļa	Daudzums
10x PCR buferis	5 µl
10 mM dNTP maisījums	1 µl
Praimeris 381 (forward)	1 µl
Praimeris 382 (reverse)	1 µl
DNS	50 ng
Taq polimerāze	1U
H ₂ O	Līdz 50 µl

Tabula 6.

PQR apstākļi *emm* tipu noteikšanai.

Cikla daļa	Temperatūra	Cikla ilgums
Uzkarsēšana	95 ⁰	5 minūtes
Denaturācija*	95 ⁰	15 sekundes
Hibridizācija*	46,5 ⁰ ***	30 sekundes
Polimerizācija*	72 ⁰	75 sekundes
Denaturācija**	95 ⁰	15 sekundes
Hibridizācija**	46,5 ⁰ ***	30 sekundes
Polimerizācija**	72 ⁰	75 sekundes (uz ciklu +10 sekundes)
Amplifikācijas nobeigums	72 ⁰	10 minūtes

*Kopējais ciklu skaits – 10.

**Kopējais ciklu skaits – 20.

*** Izmantotas 2 hibridizācijas temperatūras, atkarībā no praimeru T_m – 46,5⁰ un 51⁰.

Atsevišķos gadījumos, kad neizdevās iegūt PQR produktu ar standarta apstākļiem, tika izmantots papildus praimeru pāris (em379, em380) un samazināts dNTP daudzums, kā arī izmainīta hibridizācijas temperatūra.

Iegūtais PQR produkts tika attīrīts izmantojot Qiagen MinElute 96UF PCR Purification Kit. Attīrītajiem PQR fragmentiem tika mērīta koncentrācija ar Nanodrop1000.

Kapilāra elektroforēze.

Kapilāra elektroforēzes reakcijas sagatavošanai tika izmantoti 7,5ng attīrītā PQR produkta. Tika izmantots Applied Biosystems Big dye v3.1. fluorescences ķīmija (Tabulas 7 un 8).

Tabula 7.

PĶR reakcijas ar fluorescējošu krāsvielu maisījums.

Sastāvdaļa	Daudzums
Sekvenēšanas buferis*	4 µl
Big Dye v3.1.	2 (1:4)**
Praimeris	1 µl
PĶR produkts (koncentrācija 5 ng/ml)	1,5 µl
H ₂ O	11,5 µl

* Sekvenēšanas bufera sastāvdaļas – MgCl₂, Tris-HCl, H₂O.

** BigDye v3.1. 0,5 µl, sekvenēšanas buferis 1,5 µl

Tabula 8.

PĶR reakcijas ar fluorescējošu krāsvielu apstākļi.

Cikla daļa	Temperatūra	Cikla ilgums
Uzkarsēšana	95 ⁰	1 minūte
Denaturācija*	94 ⁰	10 sekundes
Hibridizācija*	46,5 ⁰ **	10 sekundes
Polimerizācija*	60 ⁰	4 minūtes
Amplifikācijas nobeigums	4 ⁰	5 minūtes

*Kopējais ciklu skaits – 25.

**Tika izmantotas 2 hibridizācijas temperatūras, atkarībā no praimeru T_m – 46,5⁰ un 51⁰.

PĶR reakcija ar fluorescējošu krāsvielu pirms ievietošanas AB3130 ģenētiskajā analizatorā tika apstrādāta ar Applied Biosystems BigDye X-terminator vai modificētu nātrija acetāta/etanola gulsnēšanas protokolu, kas izgulsnē reakcijā palikušos piemaisījumus un var ietekmēt sekvenēšanas rezultātu kvalitāti. Kapilāra elektroforēze tika veikta ar Applied Biosystems ģenētisko analizatoru 3130, izmantojot 36 cm kapilāru un polimēru POP7, tika izmantoti standarta apstākļi, kā ieteikts Applied Biosystems instrukcijās.

AGBHS sekvenču analīze

Sākotnējā 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.

9.2.4. Sadaļa IV

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

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.

RD diagnozi apstiprināja vadoties pēc *Jones* kritērijiem. RD iznākumā 47 pacientiem (67.1%) diagnosticēja iegūtu reimatisku sirdskaiti (RSK) un 8 pacientiem *Chorea minor* (Attēls 3). 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:

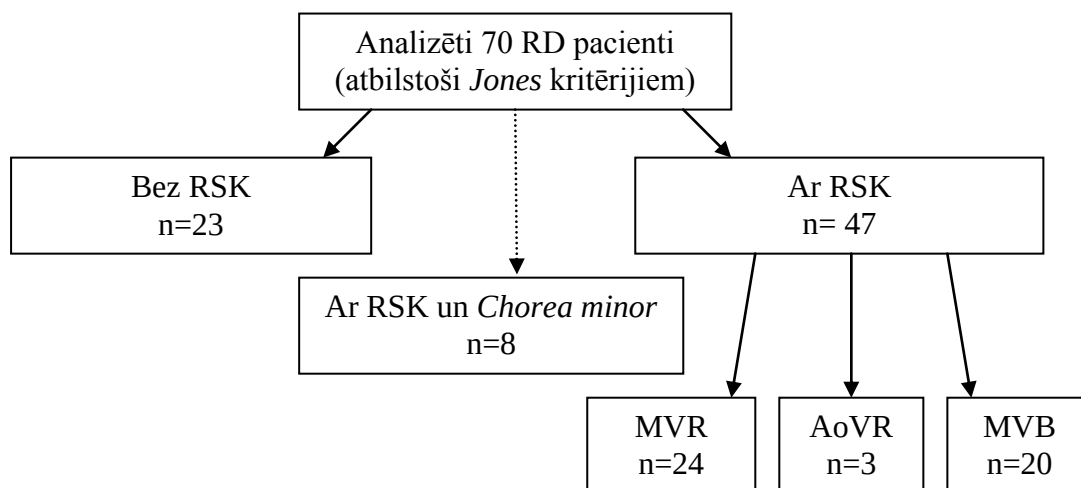
ar mitrālo viru regurgitāciju (MVR),

aortālo viru regurgitāciju (AoVR)

un kombinētu valvulāru sirdskaiti – MVR+AoVR vai multivalvulārs bojājums (MVB).

Attēls 3.

Pacientu sadalījuma shēma pētījuma Sadaļā IV
RD un RSK pacientu ģenētisko asociāciju noteikšana



Kontroles grupai izmantoja veselo bērnu datus (n=100), izmantojot 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.

9.2.4.1. DNS izdalīšana no asinīm

Imūnģenētiskie izmeklējumi tika veikti Rīgas Stradiņa universitātes klīniskās imunogēnikas un imunoloģijas starpkatedru laboratorijā.

Lai izdalītu DNS no perifērisko asiņu limfocītiem, tika ņemtas venozās asinis ar EDTA. Izdalīšanu veica ar standarta izsālīšanas metodi [156]. DNS paraugi 100 ng/ μ koncentrācijā tika glabāti pie +4°C.

Metodes apraksts:

- 10 ml EDTA saturošās asinis pārnesa 50 ml stobriņos un pievienoja 10 ml lizējošo buferi, labi sajaucot stobriņus.
- Centrifugēja 10 min pie 5900 apgr./min pie 4°C. Uzmanīgi augšējo slāni (supernatantu) pārnesa jaunos stobriņos, saglabājot nogulsnes, kas saturēja leukocītu kodolus. Piepildīja ar 200 μ l mazgājamo buferi un samaisīja, līdz nogulšņu suspendēšanai, tad pieliekot 9.5 ml mazgājamo buferi (kopējais tilpums-10 ml).
- Nākamā solī centrifugēja 10 min pie 4800 apgr./min. Nolēja supernatantu un pie izgulsnētiem kodoliem pievienoja 200 μ l mazgājamo buferi un samaisīja, nogulsnes resuspendēja, tad pieliekot 4.8 ml mazgājamo buferi (kopējais tilpums-5 ml).
- Tālāk atkal centrifugēja 10 min pie 4800 apgr./min. Nolēja supernatantu, pieliekot 50 μ l mazgājamo buferi (viens piliens). Šajā posmā leukocītu suspendētos kodolus varēja glabāt pie -20°C.
- Proteīnus denaturēja ar 10 ml guanidīn-izo-tiocianāta šķīdumu (GT šķīdums). Viegli sajauca un inkubēja 15 min pie 37°C.
- Neitralizēja 700 μ l 7.5 M Na acetāta šķīdumā, viegli sajaucot un atstājot inkubēties 2 stundas pie 37°C, pēc katras pusstundas samaisot.
- Tālāk DNS precipitēja, pārnesot DNS saturošo šķīdumu 10 ml 95 % etanolā, noliekot stobriņu līdz DNS precipitēšanai (izskatās kā kokvilna).
- Pārnesa DNS citā stobriņā un mazgāja 2 ml 70 % etanolā, noleja etanolu un žāvēja 10 min.

Turpmāk izšķīdināja 1 ml TE buferī 24 stundas pie 37°C. Lai noteiktu DNS koncentrāciju, nomērīja absorbciju pie 260 nm un 280 nm. Attīrītās DNS absorbcijas attiecība ($A_{260/280}$) bez proteīniem bija ~1.8-1.9. Izdalītā DNS tālāk tika izmantota DNS molekulāriem pētījumiem [156-162].

9.2.4.2. HLA-DRB1, DQA1, DQB1 noteikšana

HLA II klases DRB1*, DQA1* un DQB1* allēļu noteikšana tika veikta ar amplificēto DNS, allēlēm specifisko divpakāpju amplificēšanas metodi. Zemas izšķirtspējas HLA-DR genotipēšana allēlēm DRB1* 01 līdz 18 un DQB1 *0201-202, *0301-305, *0401-2, *0501-4, *0601-8 un DQA1 *0101, *0102, *0103 *0201 *0301, *0401, *0501, *0601 tika veikta PĶR amplifikācijā, izmantojot gēna sekvences-specifiskus praimerus. PĶR veikšanai tika izmantots praimeru maisījums, kas ražots АО „ДНК -Технология” (Krievija): ar gēnu DRB1* (10 alēļu), DQA1* (8 alēļu) un DQB1* (10 alēļu) variantiem. Amplificēšana tika veikta ar daudzkanālu amplifikatoru „MC-2” „ДНК - Технология” (Krievija).

15 mkl reakciju maisījuma tilpums saturēja:

1. mkl DNS parauga, PĶR bufers saturēja: 50mM NaCl, 1.5mM MgCl₂, 10mM Tris-HCl (pH 8,3) 1,5 mkl katra dNTP's(25mmol/l), 0.6 mkl specifisko praimeru (0,2 mmol/l), kā arī 1,0 mkl (0,5 U) termostabilas Tag-DNS-polimerāzes vienību 0.1 mg/ml želatīna, mM 2-merkaptotetanolā.

Amplificēšanu veica zem minerāleļļas ar daudzkanālu amplifikātoru "MC-2" ДНК- Технология" (Krievija). Ieprogrammētu apjomam 15 mkl aktīvajā regulēšanas režīmā “fast”:

HLA-DRB1* 01;*15;*16; *03(*17*18); *04; *05(*11; 12); *06(*13; *14); *07; *08; *09; *10 gēna tipēšanai - 2 etapi 35 cikli:

1. etaps - denaturācija 94 C⁰ (60 sek.) -

Praimeru atkvēlināšana 94 C⁰ (20 sek.); 67 C⁰ (2 sek.) – 7 reizes;

Ķēdes sintēze 93 C⁰ (2 sek.); 65 C⁰ (4 sek.) – 28 reizes;

2. etaps - 15 mkl tilpums, aktīvā precīzas regulēšanas režīmā (“Precise”). Ķēdes sintēze 93 C⁰ (5 sek.); 64 C⁰ (10 sek.) – 15 reizes;

HLA-DQA1 *0201, *0301; *0401; *0501; *0601; *0101; *0102; *0103; - gēna tipēšanai – 3 etapi:

1.etaps - denaturēšana 94 C⁰ (60 sek.) – 1 reize:

Praimeru atkvēlināšana 94 C⁰ (20 sek); 58 C⁰ (5 sek) - 7 reizes;

Ķēdes sintēze 92 C⁰ (5 sek); 56 C⁰ (10 sek) - 28 reizes;

2. etaps - 15 mkl tilpums aktīvā precīzas regulēšanas režīmā (“Precise”)

Ķēdes sintēze 93 C⁰ (5 sek); 62 C⁰ (10 sek) - 12 reizes;

3. etaps - 15 mkl tilpums aktīvā precīzas regulēšanas režīmā (“Precise”)

Ķēdes sintēze 93C⁰ (5 sek); 62C⁰ (10 sek) - 12 reizes;

HLA-DQB1 *0201, *0301; *0303; *0304; *0305, *0401-2, *0501; *0502-4;
*0503*0601; *0602-8 gēna tipēšanai – 3 etapi:

1.etaps - denaturēšana 94C⁰ (60 sek.) – 1 reize:

Praimeru atkvēlināšana 94 C⁰ (20 sek.); 67 C⁰ (5 sek.) – 7 reizes;

Ķēdes sintēze 93 C⁰ (1 sek.); 65 C⁰ (2 sek.) – 28 reizes;

2. etaps - 15 mkl tilpums aktīvā precīzas regulēšanas režīmā (“Precise”)

Ķēdes sintēze 93 C⁰ (1 sek.); 67 C⁰ (2 sek.) – 12 reizes;

3. etaps - 10 kml tilpums aktīvā precīzas regulēšanas režīmā (“Precise”)

Ķēdes sintēze 93 C⁰ (1 sek.); 67 C⁰ (2 sek.) – 12 reizes;

Produktu identificēšanu veica ar transiluminātoru caurejošā ultravioletā gaismā.

Elektroforēzi veica 15 minūtes ar 10V/cm spriegumu, izmanto: 0.5mM TBE- buferi;

ar etidija bromīdu krāsoto 3% agarozo gēlu (0.5 gēla μk/ml).

9.3. Pētījuma organizācija

Pētījums tika realizēts ar sekojošu programmu un projektu atbalstu:

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 multicentriskis (Ēģipte, Latvija, Brazīlija, Horvātija) pētījums *The GRASP (GroupA Streptococcus pyogenes) 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, imunoģenētika, 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 multidisciplināra 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.

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 Institucionālaj 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.

9.4. 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 izkļedes rādītāji – standartnovirze, vidējā aritmētiskā standartkļūda un starpkvartīļu izkļede. Raksturlielumu atšķirības novērtētas ar ticamību $p < 0.05$. Simptomiem, ja tie statistiski ticami atšķirās ($p < 0,05$), tika novērtēta OR jeb izredžu attiecība.

Pētījuma gaitā tika ieviesti kvalitātes kontroles mēri, lai nodrošinātu savākto datu precizitāti. Kvalitātes kontroles metodes bija atkārtota paraugu pārbaude, maskēti paraugu dublikāti, laboratorijas rezultātu neatkarīga lasīšana, periodiska datu salīdzināšana ar pacientu slimības vēsturēm.

Papildus, kā jau iepriekš minēts, datu ievadīšanas programmā bija ieprogrammēts pārbaudes process, kas prasīja dubultu datu ievadīšanu un pārbaudīja, vai pēc datu ievadīšanas ir aizpildīta visa forma. Tālāk šī programma pārbaudīja datu pareizību, piedāvājot iespējamo variantu amplitūdu. Ja tika atrasta kāda neatbilstība, programma pati uzskaitīja atšķirības, to novērtējumu un pētījuma numuru.

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: $AB (\%) = \text{allēļu summa} / 2n \cdot 100$, 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 [163].

10. Rezultāti

10.1. 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 uzņēmumu 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 (Tabula 9 un 10).

Tabula 9.

**AGBHS verificētas infekcijas klīniskās formas saistībā ar SSK-10
diagnožu kodiem VSIA BKUS 2004.-2008.gadam (gadījumu skaits/gadā).**

Diagnožu kodi / Gads	2004	2005	2006	2007	2008
A 38 Skarlatīna	34	47	25	23	13
A.40 Streptokoku septicēmija	0	1	3	1	2
A 40.0 A grupas streptokoku septicēmija	0	1	0	0	1
A 40.8 Cita streptokoku septicēmija	0	0	1	1	0
A 40.9 Neprecizēta Streptokoku septicēmija	0	0	0	0	1
A 46 Roze (Erisipelas)	8	8	10	11	13
A 49.1 Neprecizēta streptokoku infekcija	12	8	4	9	6
B 95.0 A grupas streptokoki kā citās nodaļās klasificētu slimību ierosinātāji	0	1	0	0	0
B 95.5 Neprecizētas sugas streptokoki kā citās nodaļās klasificētu slimību ierosinātāji	0	0	0	0	0
J 02.0 Streptokoku faringīts	5	6	11	9	12
J 03.0 Streptokoku tonsilīts	30	29	43	15	23

Tabula 10.

**AGBHS varbūtējas infekcijas klīniskās formas saistībā ar SSK-10
diagnožu kodiem VSIA BKUS 2004.-2008.gadam (gadījumu skaits/gadā).**

Diagnožu kodi / Gads	2004	2005	2006	2007	2008
I 00 Akūts reimatisms	1	0	0	0	0
I 01 AR ar sirds bojājumu	6	2	2	1	3
I 02 AR ar horeju	0	0	2	1	2
J 00 Akūts nazofaringīts	12	17	23	6	9
J 02 Akūts faringīts	745	681	900	1009	641
J 02.8 Akūts faringīts, ko ierosinājuši citi precizēti mikroorganismi	0	0	1	5	0
J 02.9 Neprecizēts akūts faringīts	740	675	888	995	629
J 03 Akūts tonsilīts	403	424	465	581	421
J 03.8 Akūts tonsilīts, ko ierosinājuši citi precizēti mikroorganismi	0	1	1	0	3
J 03.9 Neprecizēts akūts tonsilīts	373	394	421	566	395
T 80.2 Infekcija pēc infūzijas, transfūzijas un ārstnieciskas injekcijas	0	0	0	0	0
T 81.4 Citur neklasificēta infekcija pēc manipulācijas	0	24	28	17	19

Aplūkojot datus par verificētas AGBHS infekcijas klīniskām formām BKUS no 2004. līdz 2008.gadam redzams, ka biežākās klīniskās formas ir Skarlatīna un Streptokoku tonsillīts – no 13 līdz 47 apstiprinātiem gadījumiem gadā. Tomēr kopumā verificēta A grupas streptokoka infekcija ir bijusi nelielā skaitā.

Taču izvērtējot varbūtējas ar AGBHS infekciju saistītās klīniskās formas, vērojams, ka tās bijušas diagnosticētas daudz biežāk – līdz pat vairāk kā 1000 gadījumiem gadā, kas liek domāt, ka AGBHS infekcija ir nopietna problēma. Redzams, ka smagās invazīvās AGBHS infekcijas formas bērniem BKUS diagnosticētas reti, vairāk vērojot akūtus faringītus un tonsilītus. Tāpēc pētījuma nākamā etapā tika izvēlēts detalizēti aplūkot AGBHS akūtu faringītu bērniem BKUS - faringīta sastopamības biežuma un tā iespējamo komplikāciju dēļ.

10.2. 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) (Attēls 4, Tabula 11).

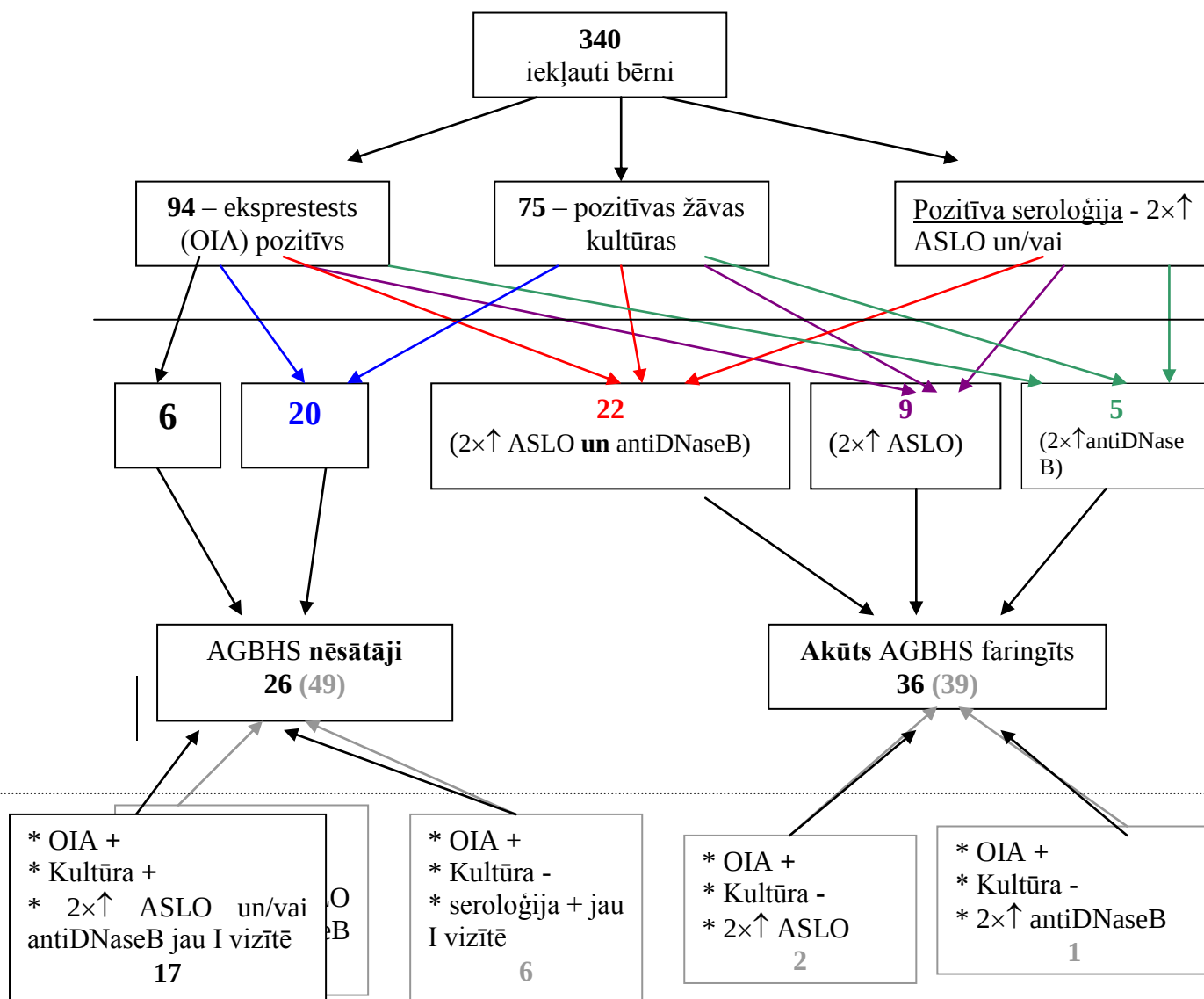
Uzsējumā no rīkles mugurējās sienas AGBHS tika izdalīts 22% pacientu (n=75) (Attēls 4, Tabula 11).

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) (Attēls 4, Tabula 11).

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) (Attēls 4, Tabula 11).

Attēls 4.

Pētījuma pacientu shematiskais sadalījums pēc laboratorās atrades



Tabula 11.

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) (Attēls 3, Tabula 11).

Pacienti ar pozitīvu AGBHS eksprestestu, uzsējumā no rīkles mugurējās sienas izdalītu AGBHS un seroloģiskā atradē konstatētu divkāršu palielinātu tikai ASLO 2. vizītē, salīdzinot ar 1. vizīti, bija 2.6% (n=9) (Attēls 3, Tabula 11).

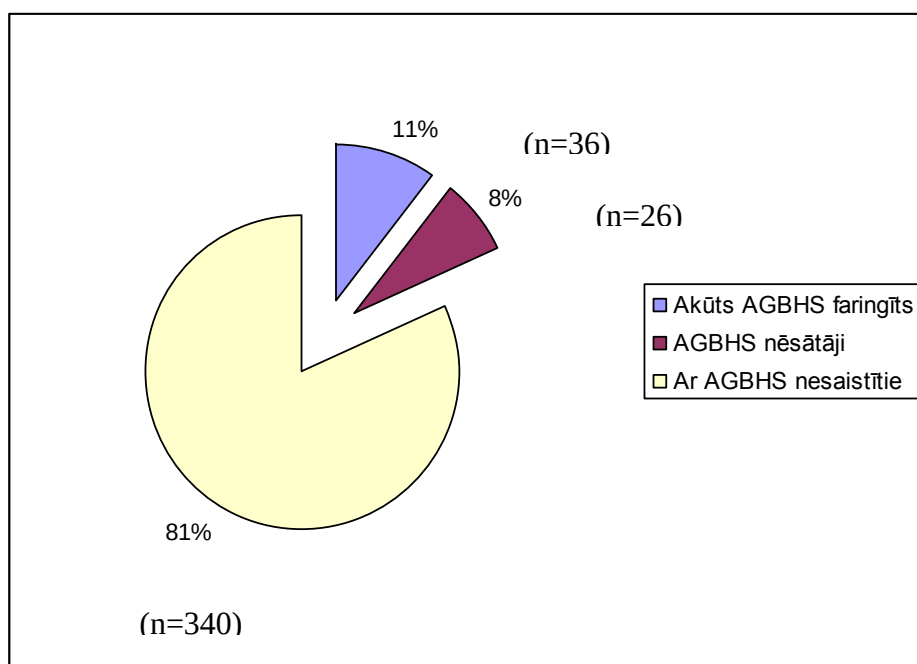
Savukārt, tie, kuriem bija gan pozitīvs AGBHS eksprestests, gan uzsējumā no rīkles mugurējās sienas tika izdalīts AGBHS, taču seroloģiskā atradē divkāršu palielināts tikai antiDNaseB titrs 2. vizītē salīdzinot ar 1. vizīti, bija 1.5% (n=5) (Attēls 3, Tabula 11).

Summējot augstāk minētās grupas, kā akūti AGBHS faringīta slimnieki (definējot pēc pētījuma kritērijiem) pētījuma grupā tika uzskatīti 10.6% (n=36) pacientu (Attēls 5) un akūta AGBHS faringīta prevalences rādītājs ar ticamības intervālu ir $0,106 \pm 0,1$.

Analizējot pētījuma pacientus, pie akūta AGBHS faringīta pacientiem tika pieskaitīti vēl 3 pacienti, kuriem bija gan pozitīvs AGBHS eksprestests, gan seroloģiskā atradē konstatēja divkāršu palielinātu un/vai antiDNaseB titra pieaugumu II vizītē, taču uzsējumā no rīkles mugurējās sienas netika izdalīts AGBHS. Tādējādi akūta AGBHS faringīta prevalences rādītājs ar ticamības intervālu pēc pētījuma variācijām ir $0,114 \pm 0,099$.

Attēls 5.

**AGBHS akūta faringīta un nēsātāju % sadalījums pētījuma grupā
pētījuma kritēriju ietvaros**



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 (Attēls 5) un AGBHS nēsātāju prevalences rādītājs ar ticamības intervālu ir $0,07 \pm 0,098$.

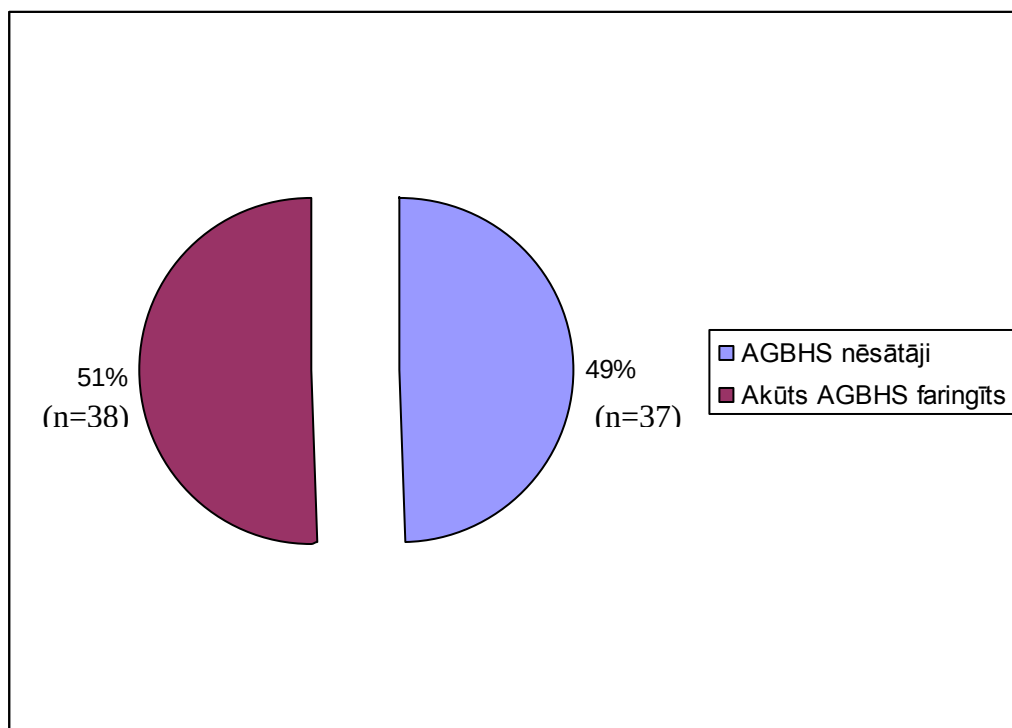
Pie AGBHS nēsātājiem tika pieskaitīti vēl tie pacienti, kuriem pozitīvs bija AGBHS eksprestests un uzsējumā no rīkles mugurējās sienas izdalīja AGBHS, taču divkāršs ASLO un/vai antiDNaseB titra pieaugums bija vērojams jau 1. vizītē un 2. vizītē, salīdzinot ar 1. vizīti, tas nebija divkāršojies - 5% (n=17) un kā nēsātājus uzskatīja arī tos, kuriem jau 1. vizītē bija divkāršots seroloģiskā titra pieaugums un tika noteikts pozitīvs AGBHS eksprestests, taču uzsējumā no rīkles mugurējās sienas kāda iemesla dēļ AGBHS netika izdalīts - šie pacienti pētījuma grupā sastādīja 1.8%

(n=6) (Attēls 3, Tabula 11). Tādejādi AGBHS nēsātāju prevalences rādītājs ar ticamības intervālu pēc pētījuma variācijām ir $0,144 \pm 0,098$.

Atsevišķi 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 (Attēls 6).

Attēls 6.

Pozitīvo AGBHS kultūru (n=75) sadalījums starp AGBHS akūta faringīta slimniekiem un nēsātājiem



AGBHS faringīta klīniskie simptomi (Tabula 12)

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 ($p < 0,05$).

Aplūkojot atsevišķi augstāk minētos statistiski atšķirīgos simptomus un aprēķinot to OR jeb izredžu attiecību starp abām grupām, ieguva sekojošus rezultātus:

- izredzes, ka aizsmakums akūtajiem AGBHS faringīta slimniekiem kā nēsātājiem ir 2,76 reizes lielākas ar ticamības intervālu (TI) [1,15;6,64];

- izredzes, ka aizlikts deguns akūtajiem AGBHS faringīta slimniekiem kā nēsātājiem ir 2,58 reizes lielākas ar TI [1,009;5,691];

- izredzes, ka grūtības norīt akūtajiem AGBHS faringīta slimniekiem kā nēsātājiem ir 3,69 reizes lielākas ar TI [1,50;9,08];

- izredzes, ka vēdera sāpes akūtajiem AGBHS faringīta slimniekiem kā nēsātājiem ir 2,6 reizes lielākas ar TI [1,02;6,65];

- izredzes, ka mandeļu palielinājums I pakāpē (*pakāpe, par kādu mandeles ir paplašinājušās uz viduslīniju: noteikts, ja mandeles ir $\leq 25\%$ no viduslīnijas*) akūtajiem AGBHS faringīta slimniekiem kā nēsātājiem ir 0,18 reizes **mazākas** ar TI [0,04;0,88];

- izredzes, ka mandeļu palielinājums III pakāpē (*pakāpe, par kādu mandeles ir paplašinājušās uz viduslīniju: noteikts, ja mandeles ir $>50\%$ un $\leq 75\%$ no viduslīnijas*) akūtajiem AGBHS faringīta slimniekiem kā nēsātājiem ir 3,42 reizes lielākas ar TI [1,27;9,17];

Tabula 12.

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: noteikts, ja mandeles saskaras*) 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 jūtīgums (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 jūtīgums (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.

AGBHS infekcijas pacientu seroloģisko rādītāju korelācija

Visiem pētījumā iekļautajiem bērniem veica objektīvo diagnostisko izmeklēšanu, tai skaitā, nosakot seroloģisko atbildi uz AGBHS infekciju organismā, kas ļāva pacientiem noteikt akūta AGBHS faringīta vai AGBHS nēsātāja statusu.

Analizējot statistiskā datu apstrādē korelācijas starp abiem pacientiem noteiktajiem rādītājiem, t.i. ASLO titru un antiDNase B titru abās vizītēs, rezultātus, savstarpējo sakarību ciešumu, tika iegūts:

- ja pacients bija nēsātājs un viņam ASLO I vizītē bija 300 vienības, tad var prognozēt, ka ASLO titrs II vizītē viņam būs 297 vienības ar TI [243;351]. Tātad pacientam ASLO titrs nepieaug kā organisma atbildes reakcija uz AGBHS infekciju, un izdalītā AGBHS kultūra liecina par nēsātāja statusu;

- ja pacientam bija akūts streptokoka etioloģijas faringīts un viņam ASLO I vizītē bija 300 vienības, tad var prognozēt, ka ASLO titrs II vizītē viņam būs 496 vienības ar TI [233;760], kas norāda, ka pacientam ir organisma atbildes reakcija uz AGBHS infekciju, un pacientam ir akūts AGBHS etioloģijas faringīts;
- analizējot atbilstību normālajam sadalījumam, tālāk rādītāju vērtību intervālu prognozējamību, izpildījot Kolmogorova –Smirnova testu, rezultātā ieguva, ka ja pacienta ASLO titrs II vizītē bija virs 838, pacienta statusu atbilda akūta AGBHS faringīta pacientam;
- ja pacients bija nēsātājs un viņam antiDNase B I vizītē bija 200 vienības, tad var prognozēt, ka antiDNase B titrs II vizītē viņam būs ≤ 200 vienībām ar TI [82;366]. Tātad pacientam antiDNase B titrs nepieaug kā organisma atbildes reakcija uz AGBHS infekciju, un izdalītā AGBHS kultūra liecina par nēsātāja statusu;
- ja pacientam bija akūts streptokoka etioloģijas faringīts un viņam antiDNase I vizītē bija 200 vienības, tad var prognozēt, ka antiDNase titrs II vizītē viņam būs >366 vienības ar TI [181;646], kas norāda, ka pacientam ir organisma atbildes reakcija uz AGBHS infekciju, un pacientam ir akūts AGBHS etioloģijas faringīts.

10.3. 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 13), gan fenotipiskā eritromicīna (E) un klindamicīna (CC), gan genotipiskā antimikrobā rezistence bija līdzīga adekvāti pacientu skaita sadalījumam grupās.

Tabula 13.

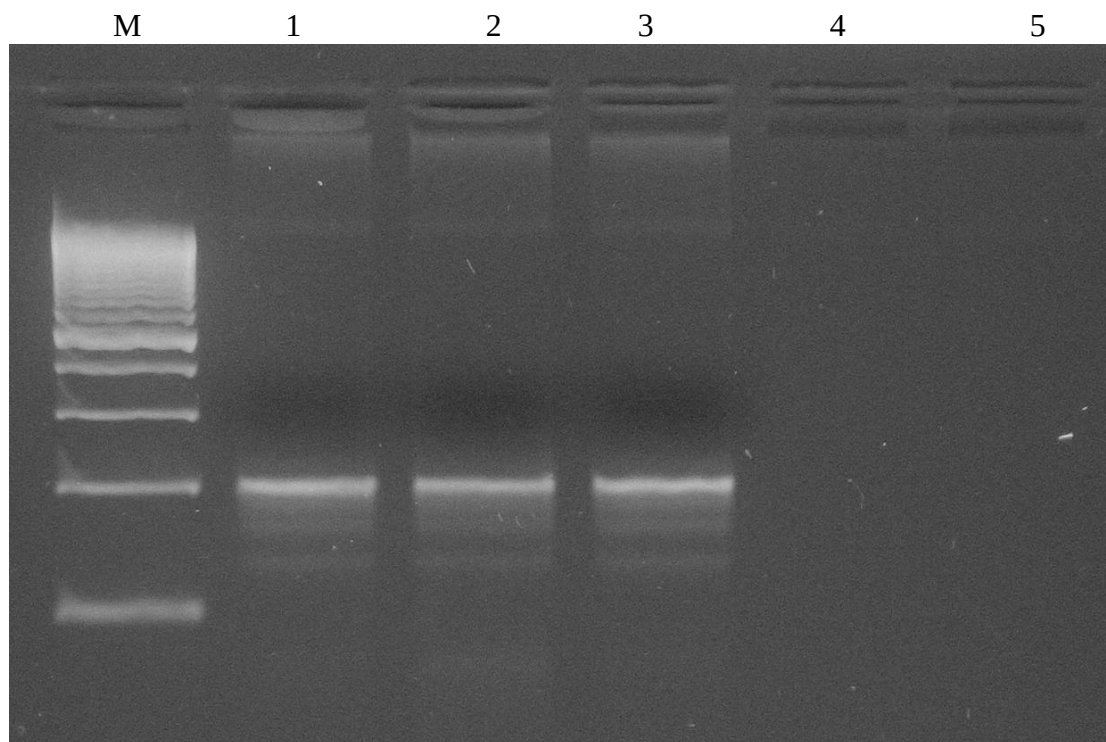
Fenotipiskā un genotipiskā antimikrobā rezistence izolētajās kultūrās.

	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.

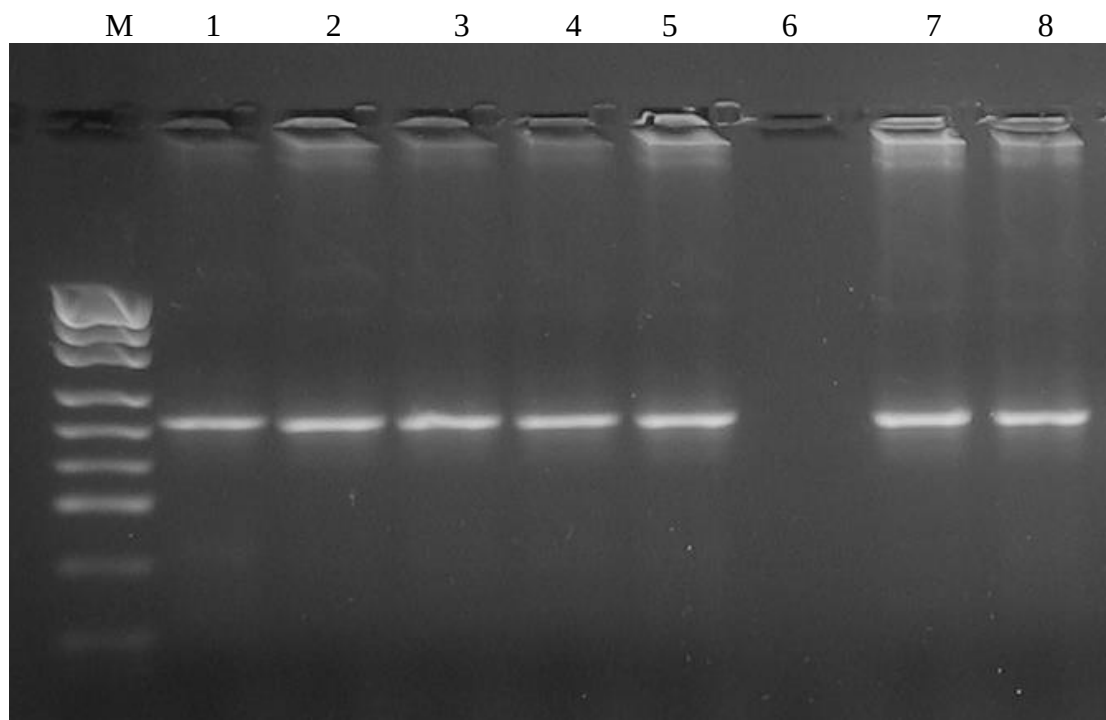
Rezistences molekulārā izpēte norādīja, ka vairums izolātu saturēja vai *ermA* (n=27), vai *ermB* (n=23), vai abus (n=24) gēnus. *mefA* gēns tika atrasts tikai 1 AGBHS izolātam. Rezistentos gēnus noteica, izmantojot PĶR, tipiski analīzes paraugi ir parādīti attēlā 7. un 8.

Attēls 7. Gēna *ermA* noteikšana *S. pyogenes* izolātos.



M – DNS izmēra marķieris; 1-3 streptokoku izolāti, kuri satur *ermA* gēnu; 4,5 – *ermA*⁻ izolāti.

Attēls 8. Gēna *ermB* noteikšana *S. pyogenes* izolātos.



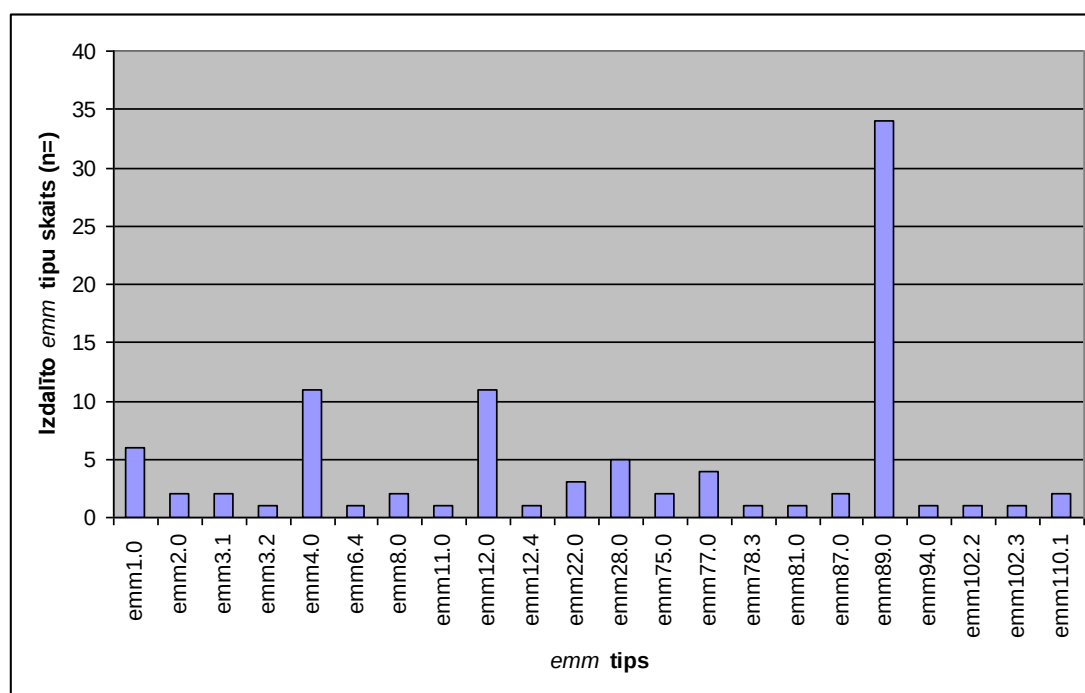
M – DNS izmēra marķieris; 1-5, 7,8 - streptokoku izolāti, kuri satur *ermB* gēnu; 6 – *ermB*⁻ izolāts.

AGBHS *emm* tipu sadalījums

Veicot 96 AGBHS izolātu molekulārbioloģisko analīzi, tika izdalīti 22 A grupas streptokoka *emm* tipi (Attēls 9; Tabula 14). 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 9.

Attēls 9.

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 *emm*4.0 (n=11) uzrādīja rezistenci pret abām testētajām MLS_B (makrolīdu-linkozamīda-streptogramīna B antibiotikas) antibiotikām. Pārējo izdalīto AGBHS *emm* tipu antimikrobā rezistence parādīta Tabulā 14.

Tabula 14.

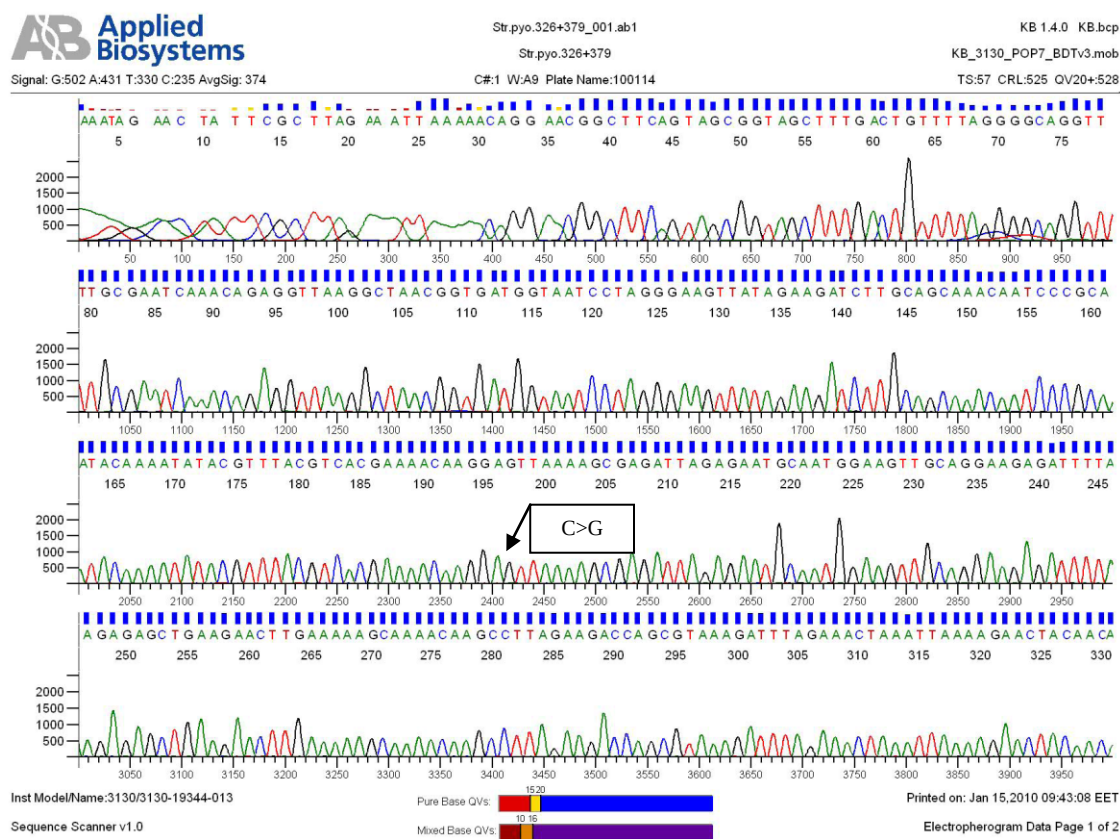
AGBHS izolātu emm tipu sadalījums saistībā ar antimikrobo rezistenci

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

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 apakštips, kur izmaiņa ir redzama 197. pozīcijā - jābūt aminoskābes nukleotīdam citozīnam (C), bet šiem paraugiem ir guanīns (G) (Attēls 10).

Attēls 10.

AGBHS pamattipa *emm 1.0* atšķirīgā subtipa sekvences -326 attēls.



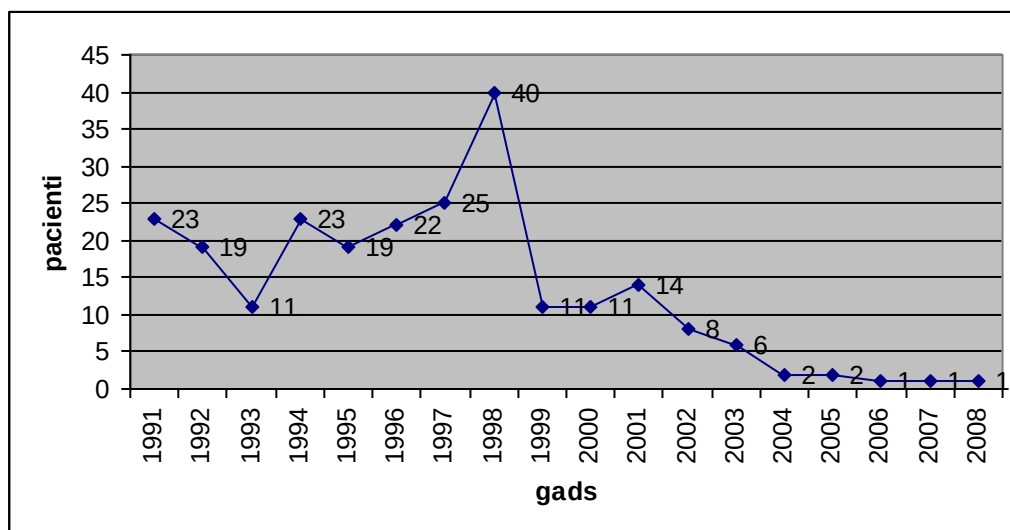
10.4. Sadaļa IV

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 [5] (Attēls 11).

Attēls 11.

Akūta reimatiskā drudža primārie gadījumi bērniem no 1991-2008.gadam (absolūtos skaitļos)



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 iznākumā 47 pacientiem (67.1%) diagnosticēja iegūtu reimatisku sirdskaiti (RSK) un 8 pacientiem- *Chorea minor* (Attēls 4). 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.

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 (Tabula 15 un 16).

Tabula 15.

DRB1* allēļu biežums RD un kontroles grupas pacientiem

Allēles DRB1*	RD (n=140)	%	Kontrole (n=200)	%	Odds Ratio	P - vērtība
*01	24	17	26	13	0,17	< 0,643
*15	27	19	44	22	0,88	< 0,3603
*03(*17;*18)	18	13	22	11	1,17	< 0,184
*04	18	13	24	12	0,017	< 0,305
*05(*11;*12)	30	21	33	16.5	1,3	< 0,1288
*06(*13;*14)	4	3	28	14	0,18	< 0,0023
*07	11	8	4	2	4,18	< 0,01
*08	3	2	12	6	0,6**	< 0,403
*09	4	3	2	1	1,81**	< 0,495
*10	1	0.7	5	2.5	0,28**	< 0,252

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 (Tabula 16): pacientu grupai ar iegūtu reimatisku sirdskaiti pēc RD kardīta 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, $p<0.002$).

Tabula 16.

DQB1* allēļu biežums RD un kontroles grupas pacientiem

Allēles	RD		Kontrole		Odds	
DQB1*	(n=140)	%	(n=200)	%	Ratio	P – vērtība
*0201-2	17	12	32	16	0,76	< 0,306
*0301	31	22	39	19.5	1,14	< 0,29
*0302	25	18	13	6.5	3,13	< 0,0002
*0303	7	5	13	6.5	0,77	< 0,624
*0304	1	0.7	2	1	nedefinēts	
*0305	1	0.7	-	-	nedefinēts	
*0401-2	19	14	7	3.5	4,33	< 0,0001
*0501	4	3	22	11	0,26**	< 0,0027
*0502-4	2	1	12	6	0.23**	< 0.03
*0601	11	8	11	5.5	1,43	< 0,053
*0602-8	22	16	49	24.5	0,4	< 0,0127

Tabula 17.

DRB1 un DQB1 allēļu biežums RD un RSK pacientiem salīdzinoši ar kontroles grupas pacientiem

Grupa (n=140)		DRB1*06	DRB1*07	DQB1*0302	DQB1*0401-2
Visi RD n=140	gf(P)&OR/x2	(0,0023) 0,18/11,96	(0,01) 4,18/6,68	(0,001) 3,13/10,67	(0,015) 4,33/11,79
MVR n= 48	gf(P)&OR/x2	0,15	(0,03) 4,45/4,95	1,09	(0,001) 8,20/21,59
MVB n=40	gf(P)&OR/x2	0,18	(0,01) 5,44/6,59	(0,001) 4,18/10,21	1,25
Chorea minor n= 16	gf(P)&OR/x2	0	(0,002)11,31/13,19	1,79	(0,005) 6,36/7,17
bez RSK n= 46	gf(P)&OR/x2	0,31	(0,001) 7,35/11,65	(0,005) 3,50/7,81	(0,01) 4,14/6,78
Kontroles grupa n=200	gf	0,14	0,02	0,07	0,04

Iezīmētie lielumi norāda statistiskai ticamībai asociācijā: pacienti vs kontroles grupa.

gf (gēnu biežums), P (varbūtība), OR (odds ratio $\times 2$) un Mantel – Hanszel vērtības norādītas tikai nozīmīgām asociācijām ($p < 0.05$).

n= haplotipu skaits (t.i., 70 indivīdu 140 haplotipi).

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 (Tabula 17). *Chorea minor* pacientiem bieži tika atrasta DQB1*0401-2 (OR=6.36, $p<0.005$) allēle.

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 (Tabula 18). 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, $p<0.01$) (Tabula 19). 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, $p<0.01$).

Tabula 18.

Nozīmīga HLA-DRB1 genotipu asociācija ar predispozīciju/risku visiem RD pacientiem

DRB1	RD (n=70)	%	Kontrole (n=100)	%	Odds Ratio	P-vērtība (Fisher)
*01/*07	6	8.6	1	1	8.57	<0,05
*15/*03	6	8.6	2	2	4.29	<0,05
*15/*07	2	2.9	1	1	2,86	<0,02
*03/*06	1	1.4	3	3	0,48	<0,01
*04/*05	5	7.1	2	2	3,57	<0,04
*05/*07	2	2.9	1	1	2,86	<0,02

Iezīmētie lielumi norāda statistiskai ticamībai asociācijā: pacienti vs kontroles grupa.

Tabula 19.

Nozīmīga HLA-DQB1 genotipu asociācija ar predispozīciju/risku visiem RD pacientiem

DQB1	RD (n=70)	%	Kontrole (n=100)	%	Odds Ratio	P-vērtība (Fisher)
*0201-2/*0201-2	1	1.4	3	3	0,28	<0,001
*0201-2/*0602-8	4	5.7	8	8	0,71	<0,34
*0301/*0302	7	10	2	2	5,44	<0,05
*0302/*0303	3	4.3	1	1	4,43	<0,02
*0302/*0601	2	2.9	1	1	2,91	<0,01
*0302/*0602-8	3	4.3	2	2	2,19	<0,01
*0303/*0602-8	1	1.4	6	6	0,22	<0,01

Iezīmētie lielumi norāda statistiskai ticamībai asociācijā: pacienti vs kontroles grupa

Tabula 20.

HLA allēļu / genotipu asociētu ar RSK kopsavilkums

Risks	Protekcija
DRB1* 07 DQB1* 0401-2 DQB1* 0302 DRB1* 07-DQB1* 0401-2 DRB1* 07-DQB1*0302	DRB1* 06 DQB1* 0602-8 DRB1* 06-DQB1* 0602-8
DRB1*01/DQB1*0301 DRB1*07/DQB1*0302 DRB1*15/DQB1*0302 DRB1*07/DQB1*0303	

* pie allēles norāda allēles molekulāro apzīmējumu (tipējot DNS līmeni).

Iezīmētie lielumi norāda, ka asociācijas pētījumā ir krusteniski apstiprinātas

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 (Tabula 21).

Tabula 21.

DQA1* allēļu biežums RD un kontroles grupas pacientiem

Allēles DQA1*	RD (n=140)	%	Kontrole (n=200)	%	Odds Ratio	p < vērtība
*0101	18	13	29	14	0,87	< 0,66
*0102	12	9	43	21	0.34	< 0,001
*0103	15	11	16	8	1.38	< 0,39
*0201	17	12	24	12	1.01	< 0,97
*0301	22	16	27	13	1.19	< 0,57
*0401	15	11	7	3	3.31	< 0,01
*0501	41	29	48	24	1.31	< 0,27
*0601	0	-	6	3	ND	-

Homogēnās RD pacientu grupās DQA1*0401 allēlei bija visaugstākais OR, tāpat kā MVB grupā (Tabula 22). 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.

Tabula 22. **DQA1** allēļu sadalījums RSK pacientiem salīdzinoši ar kontroles grupu

Grupa	DQA1*0102	DQA1*0201	DQA1*0401	DQA1*0501	DQA1*0301
Visi RF n=140 gf&OR(P)	0,13/0,34(0,001)	0,12	0,11/3.31(0,01)	0,29	0,16
MVR n= 48 gf&OR(P)	0,08	0,08	0,08	0,29	0,23
MVB n=40 gf&OR(P)	0,23	0,10	0,07/4.87(0,05)	0,37/3,25(0,03)	0,17/3.45(0,02)
Chorea minor n= 16 gf&OR(P)	0,13	0,31/3.33(0,05)	0,00	0,19	0,31/2.91(0,05)
bez RSK n= 46 gf&OR(P)	0,13	0,17	0,06	0,24	0,13
Kontroles grupa n=200 gf	0,21	0,12	0,03	0,24	0,13

af (alēlles biežums), P (varbūtība), OR (odds ratio) norādīts tikai nozīmīgām asociācijām ($p < 0.05$).

n = allēļu skaits (t.i., 70 indivīdu 140 allēles un 100 indivīdu 200 allēles)

Tabula 23. **Nozīmīga HLA-DQA1** genotipu asociācija ar predispozīciju/aizsardzību visiem
RD pacientiem

DQA1	RD (n=70)	%	Kontrole (n=100)	%	Odds Ratio	P-vērtība (Fisher)
*0101-*0501	13	18	8	8	2.62	<0,039
*0102/*0201	1	1.5	4	4	0.35	<0,330
*0102/*0501	8	11	13	13	0,86	<0,759
*0103/*0201	5	7	1	1	7.62	<0,03
*0103/*0501	4	6	2	2	2.97	<0,197
*0201/*0301	3	4	5	5	0.85**	<0,829
*0301/*0501	10	14	6	6	2,61	<0,009

Nozīmīgi HLA DQA1 protektīvie genotipi netika atrasti (Tabula 23), 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, $p < 0.005$) (Tabula 24), 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, $p < 0.004$).

Tabula 24.

DRB1/DQA1 genotipu sadalījums RD un RSK pacientiem salīdzinājumā ar kontroles grupu

Genotipi Grupa	*07/*0201	*01/ *0501	*04/ *0401
Visi RD n=70 gf&OR(P)	0.09/2.01(0.06)	0.08/3.18 (0.005)	0.01/(0.23)
MVR n= 24 gf&OR(P)	0.06	0.06	ND
MVB n=20 gf&OR(P)	0.1	0.01/5.69 (0.001)	ND
<i>Sydenham's chorea</i> n= 8 gf&OR(P)	0.18/3.72(0.04)	0.05	ND
Bez RSK n= 23 gf&OR(P)	0.13/2.79(0.02)	0.06	0.001/11.10 (0.004)
Kontroles grupa n=100 Gf	0.05	1.44/0.23	0.19/0.65

af (alēles biežums), P (varbūtība), OR (odds ratio) norādīts tikai nozīmīgām asociācijām ($p < 0.05$).

n = allēļu skaits (t.i., 70 indivīdu 140 allēles un 100 indivīdu 200 allēles)

HLA DQA1/DQB1 genotipu sadalījums

Gan RD pacientiem, gan homogēnās pacientu grupās retāk sastopamie genotipi bija *0102/*0602-8 un *0501/*0201-2 (Tabula 25). 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, $p<0.03$). Genotips *0301/*0402 nozīmīgi bieži tika atrasts RD un *Sydenham's chorea* pacientu grupās, taču iztrūka ticamība RSK pacientu grupās.

Tabula 25.

DQA1/DQB1 genotipu sadalījums RD un RSK pacientiem salīdzinājumā ar kontroles grupu

Genotipi Grupa	*0102/*0602-8	*0501/*0301	*0501/*0201-2	*0301/*0402
Visi RD n=70 gf&OR(P)	0.09	0.19/2.10/0.01	0.01/0.26 (0.05)	0.03/7.06/0.03
MVR n= 24 gf&OR(P)	0.06	0.15	0.02	ND
MVB n=20 gf&OR(P)	0.12	0.25/3.35/0.01	ND	0.02
<i>Sydenham's chorea</i> n= 8 gf&OR(P)	0.12	0.12	ND	0.12/38.83/0.005
Bez RSK n= 23 gf&OR(P)	0.12	0.22/2.58/0.03	0.02	0.07/17.48/0.0005
Kontroles grupa n=100 gf	0.12/198.63/0.00	0.11	0.05	0.004

af (alēlles biežums), P (varbūtība), OR (odds ratio) norādīts tikai nozīmīgām asociācijām ($p<0.05$).

n = allēļu skaits (t.i., 70 indivīdu 140 allēles un 100 indivīdu 200 allēles)

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, $p<0.002$) (Tabula 26).

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.

Tabula 26.

DRB1-DQA1-DQB1 haplotipu sadalījums RD un RSK pacientiem salīdzinājumā ar kontroles grupu

Haplotipi Grupa	*04-*0401*-0301	*04-*0301-*0401-2	*07-*0201-*0302	*15-*0102-*0602-8
Visi RD n=70 gf&OR(P)	0.01	0.02	0.04/21.94 (0.001)	0.08/0.88/ 0.67
MVR n= 48 gf&OR(P)	0.02	0.02/5.07/ 0.25	0.04/2.27/ 0.27	0.06/0.66
MVB n=40 gf&OR(P)	ND	0.02	0.05/26.0 (0.001)	0.10/1.1/ 0.5
<i>Sydenham's chorea</i> n= 16 gf&OR(P)	0.04/16.6 (0.003)	0.13/78.0 (0.0001)	ND	0.12/1.5/0.44
Bez RSK n= 46 gf(P)&OR/x2	0.04	0.04	0.06/35.1 (0.002)	0.08/1.0/ 0.61
Kontroles grupa n=100 gf	0.004	0.002	0.002	0.09

Iezīmētie lielumi norāda statistiskai ticamībai asociācijā: pacienti vs kontroles grupa.

af (alēles biežums), P (varbūtība), OR (odds ratio) norādīts tikai nozīmīgām asociācijām ($p<0.05$).

n= allēļu skaits (t.i., 70 indivīdu 140 allēles un 100 indivīdu 200 allēles)

11. Diskusija

A grupas streptokoks ir nopietns izraisītājs daudzām strutainām slimībām – tādām kā faringīts, skarlatīna, piodermija, *erysipelas* vai „roze”, celulīts, perianāls celulīts, vaginīts, pneimonija, endokardīts, perikardīts, septisks artrīts, osteomielīts, miozīts, puerperāla sepse, nekrotizējošs fascīts, streptokoka toksiskā šoka sindroms, bakteriēmija, kā arī nestrutainām AGBHS infekcijas komplikācijām - reimatiskajam drudzim un pēcstreptokoku glomerulonefrītam [1,2,3,5].

Lai gan streptokoks ir biežākais bakteriālas etioloģijas akūta faringīta izraisītājs, pēdējās desmitgadēs tas kļuvis bēdīgi slavens savas spējas izraisīt dramatiskas, dzīvībai bīstamas saslimšanas dēļ, kam veltītas simtos un tūkstošos skaitāmas zinātniskās publikācijas [1,2, 164-175].

Tomēr Latvijā bērniem biežākā A grupas streptokoka infekcija ir akūts tonsilofaringīts. AGBHS infekcijas klīniskā forma - starp daudzām infekcijām, kas šodien vēl joprojām konfrontē praktizējošus ārstus un medicīnas studiju akadēmisko personālu, iespējams, nav otras tik bieži sastopamas un joprojām strīdīgas slimības kā *Streptococcus pyogenes* akūtais faringīts. Šī slimība klīnicistos rada bažas ne tikai kā akūta situācija, kur katrs pacients ir individuāls, bet arī kā potenciāla situācija virulentā organisma izplatībai, kas tālākā nākotnē būtiski var ietekmēt sabiedrības veselību [1,2].

A grupas β hemolītiskā streptokoka izraisītais faringīts ir īpaši nozīmīgs, jo inficējoties paaugstinās risks iegūt tam sekojošu reimatisko drudzi (RD) un hronisku reimatisko sirds kaiti (RSK). Latvijā 1980- 90s gados saslimstība ar RD paaugstinājās ļoti ātri, sasniedzot incidences pīķi 11 pacienti uz 100 000 bērniem. Pašreiz incidences rādītājs ir 0.02 uz 100 000 bērniem [5,103,176].

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 [18].

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 [1,11].

Aptuveni 10-30% akūta faringīta epizodēs izsaucējs ir AGBHS, pārējos gadījumos etioloģiskais aģents visbiežāk ir vīrusa infekcija [1,12,15,18,19,177].

Šajā pētījumā AGBHS kā etioloģiskais faktors akūtam faringītam tika konstatēts 10.6% gadījumu, kas sakrīt ar starptautiskās literatūras datiem. Tā piemēram, akūts AGBHS faringīts Horvātijā pētītiem pacientiem ar akūta faringīta klīniku bija 44.7% [17], savukārt Apvienotā Karalistē – 23.7% [106]. Pētījumā, ko veicis Basco 2006.gadā kā vidējais skaitlis AGBHS faringītam minēti 30% no visiem akūta faringīta gadījumiem[18].

AGBHS faringīta incidence Argentīnā, vietās, kur līdzīgi kā Latvijā ilgi ir zemas gaisa temperatūras, kā rezultātā bērni ilgstoši uzturas iekštelpās, faringīta incidence bija 24% - katru mēnesi no Aprīļa līdz Decembrim, tās maksimumu sasniedzot Novembrī – 33%, bet minimumu Februārī – 13%. Mūsu pētījumā iegūtie dati dod iespēju nākotnē analizēt epidemioloģisko AGBHS faringīta struktūru saistībā gan ar laika apstākļiem, gan gadalaiku.

Tradicionāli attīstītajās valstīs AGBHS faringītu diagnosticē, pamatojoties uz rīkles mugurējās sienas uzsējuma rezultātiem, kuri 90-97% gadījumu ir pozitīvi [1,2,12,177]. Pozitīva kultūra šī pētījuma grupā bija tikai 22%, kas absolūtos skaitļos bija 75 pacienti, taču pacienti, kurus uzskatījām par klasiskiem akūta Streptokoku faringīta pacientiem, bija tikai 11.5% (n=39). Līdzīgi dati par pozitīvu kultūru biežumu pacientiem ar akūtu faringītu tika iegūti Portugālē, kur pētījuma grupā pozitīvs uzsējums uz AGBHS no rīkles mugurējās sienas bija 24.4%, kas sakrīt ar mūsu pētījumā iegūtajiem rezultātiem [126].

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 [5,12,13]. Šāda līdzīga atrade vērojama arī dotajā pētījumā. AGBHS nēsātāju skaits pētījumā minams kā 7.6 - 14.4%, atkarīgi no definētajiem AGBHS nēsāšanas kritērijiem, kas vadoties pēc literatūras datiem, bija samērā zems nēsāšanas procents. Pētījumos no dažādām pasaules valstīm nēsātāju skaists variē no 6% [122] līdz pat 28% Jaunzēlandē [178], kas, protams, ir augsts AGBHS nēsātāju procents salīdzinoši ar citām pasaules valstīm.

Atsevišķi apskatot pacientus ar pozitīvām žāvas kultūrām, no 75 pozitīviem uzsējumiem no rīkles mugurējās sienas, 37 bija AGBHS nēsātāji, kas procentuāli

sastādīja 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 [12,15,17,177]. Kā prediktīvas klīniskās pazīmes Apvienotās Karalistes 2006.gada pētījumā, kas veikts Edinburgā, tiek minētas: iekaisis kakls, izsitumi un ķermeņa temperatūras paaugstināšanās, kas viņuprāt sekmē streptokoku faringīta noteikšanas diagnozi [106].

Petehijas, purulentu eksudātu un sāpīgas mandeles kā klīniskos Streptokoku faringīta simptomus ir minējuši pētnieki Portugālē [126], taču paši autori atzīmē, ka tiem ir maza diagnostiskā precizitāte. Minētajā pētījumā ārsta subjektīvais novērtējums 21% nesakrita identificējot pozitīvo AGBHS infekcijas gadījumu. 47% pacientu nepamatoti tika nozīmēta antibakteriāla terapija [126].

Mūsu pētījumā statistiski ticama atšķirība akūtiem AGBHS faringīta pacientiem salīdzinoši ar Streptokoka nēsātājiem klīnisko simptomu atradē bija vēdersāpēm, mandeļu palielinājumam (I un II pakāpē), rīšanas grūtībām, aizsmakumam un aizliktam degunam. 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.

Analizējot klīnisko simptomu atradi akūta faringīta pacientiem un AGBHS nēsātājiem, kā arī to biežumu katrā pacientu grupā rodas jautājums – ar ko slimo AGBHS nēsātāji sūdzību un apskates brīdī? Kā iepriekš jau minēts, aptuveni 10-30% akūta faringīta gadījumos izsaucējs ir AGBHS, pārējos gadījumos etioloģiskais aģents visbiežāk ir vīrusa etioloģijas, kam raksturīgs vispārējs nogurums, faringīts, konjunktivīts, galvassāpes, drudzis, iesnas, samazināta apetīte. Tātad visi uzskaitītie simptomi nav specifiski kādas noteiktas etioloģijas infekcijai un nav vērtējami kā prediktīvi faktori diagnozes noteikšanai, kas apstiprinās arī šajā pētījumā.

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.

Pirmos pētījumus par klīniskiem simptomiem pie AGBHS akūta faringīta veica *Breese & Disney* (1954)[179] un *Stillerman & Bernstein* (1962)[180], kuri uzsvēra klīnisko simptomu un uzsējumu kultūru rezultātu savstarpējo saistību. Šajos abos starptautiski citētos pētījumos tika iekļauts ievērojams skaits bērnu, kuriem diagnosticēja akūtu faringītu. Tomēr viņi pētījumam izvēlējās tos akūta faringīta gadījumus, kuru klīniskās pazīmes norādīja uz AGBHS faringītu, kas veicināja uzskata, kas piešķir pārāk lielu nozīmi prevalencei, rašanos, kā arī piešķir pārspīlētu nozīmi klīniskās atrades jutībai un specifiskumam.

Kaplan et al (1971) [181] pētīja 624 bērnus ar nekomplīcētu faringītu vecumā līdz 15 gadiem, savstarpēji saistot klīniskās pazīmes ar rīkles mugurējās sienas uzsējuma kultūru un antivielu titra pieaugumu. Rezultātā autors konstatēja, ka 35% gadījumu bija pozitīvas rīkles mugurējās sienas kultūras, bet tikai 43% no šiem gadījumiem vēroja arī antivielu titra pieaugumu, kas norāda uz akūtu AGBHS infekciju. Akūts rinīts, mugurējais faringeālais/tonsillārais eksudāts un priekšējais cervikālais limfadenīts bija saistīti ar pozitīvām kultūrām, taču cervikālais limfadenīts (mīkstie audi) bija vienīgā atrade, kas saistāma ar antivielu titra pieaugumu, ar jutību 0.52 un specifitāti 0.68.

Steinhoff et al (1997) [182] pilsētas pediatriiskajā klīnikā Ēģiptē apskatīja 451 bērnu vecumā no 2-13 gadiem ar iekaisuša kakla un faringeālas eritēmas simptomiem. AGBHS faringīta prevalence bija 24%. Klīniskie simptomi, kas visvairāk bija saistīti ar pozitīvu kultūru, bija faringeāls eksudāts un palielināti priekšējie kakla limfmezgli. Viena vai abu simptomu esamība bija ar jutību 0.84 un specifitāti 0.40. Šie pētnieki savā darbā antivielu titra pieaugumu neapskatīja. Turklāt viņi nemēģināja izmantot statistiskas datus, ko devuši citi neatkarīgi klīniskie izmeklējumi.

2008.gadā publicētā ar vairāku valstu dalību pētījumā [183], 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 [183].

Tajos nedaudzajos publicētajos pētījumos [184-188] kas veikti bērniem, nav prognozēšanas modeļa, kas dotu priekšstatu par katras pazīmes neatkarīgu efektu. Arī mūsu pētījumā klīniskie simptomi nav specifiski AGBHS izraisītam faringītam.

Lai kā akūta faringīta iemeslu minētu AGBHS, visticamākais infekcijas pierādījums ir antivielu pret streptokoku titra pieaugums. Īsta akūta AGBHS infekcija ierosina specifisku imunoloģisko atbildi, ievērojami paaugstinoties antivielu titriem pret vismaz vienu ekstra cellulāro antigēnu – ASLO vai anti DNase B. Antivielu titra pieauguma pīķis pret šiem antigēniem raksturīgs 3. līdz 8. nedēļā pēc akūtas infekcijas [23,189]. AGBHS antivielu titra pieaugums pāra serumos ir ticams infekcijas rādītājs, taču tas ir retrospektīvās diagnozes līdzeklis, kas diemžēl nav pielietojams akūtās situācijās.

Iespējami drīzai diagnostikai ievērojami nozīmīgs tests ir ātrais streptokoku aglutinācijas tests, kas veicams stundas laikā, un ir augsti specifisks, lai gan reizēm iztrūkst tā jūtība.

Mikrobioloģiskās metodes nepieciešamas, lai korekti noteiktu AGBHS infekciju un apstiprinātu antibakteriālo terapiju bērniem ar streptokoku faringītu.

Tā kā ne visus faringītus vēlams ārstēt ar antibakteriāliem līdzekļiem, kā arī laboratorī visur nav iespējams veikt baktēriju kultūras uzsējumus vai izdarīt seroloģiskos izmeklējumus, būtu vēlams izstrādāt vadlīnijas AGBHS faringīta noteikšanai.

Dažos no pētījumiem ir izstrādātas vadlīnijas AGBHS faringīta noteikšanai pieaugušajiem [12,13,190]. Šie pētījumi parāda, ka klīniskie simptomi streptokoku faringīta gadījumā atkārtojas un ir ļoti vērtīgi diagnozes uzstādīšanai. Veids, kā slimību diagnosticē pieaugušajiem norāda, ka klīniskās prognozēšanas instruments ir pietiekami precīzs, lai paredzētu turpmākās ārstēšanas iespējas. Lai gan veikts ievērojami liels daudzums pētījumu par klīnisko atradi un laboratorām metodēm, tikai daži no tiem ir saistīti ar streptokoku faringīta noteikšanu bērniem [12,18,19,123-126,178].

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 [1,5,12, 103, 191, 192].

A grupas streptokoka infekcijas ārstēšanā efektīvi tiek pielietotas vairākas gan orāli, gan intravenozi ievadāmas antibiotikas. Orālais penicilīns, aminopenicilīni, ieskaitot kombinācijas ar beta-laktamāzes inhibitoriem, vairāki cefalosporīni un makrolīdi tiek nozīmēti dažādās pasaules valstīs [1,2,12-14,18,193-195].

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 [1,140,148,149,196]. Pētot un analizējot Latvijai raksturīgos antimikrobās rezistences datus, jau iepriekš iespējams tiktu nodrošināta iepriekš minēto mērķu sasniegšana.

Penicilīna rezistence pasaulē nav bijusi un joprojām netiek uzskatīta par nopietnu problēmu, jo līdz šim nevienā valstī nav dokumentēts penicilīnrezistentā AGBHS izolāta gadījums. Taču, pieaugoša makrolīdu lietošana streptokoka infekcijas ārstēšanai, jo īpaši ieviešot nākamo paaudžu makrolīdu preparātus, ir tieši saistīta ar augsto makrolīdu rezistences pieaugumu pasaulē.

Streptococcus pyogenes rezistence pret eritromicīnu pirmo reizi tika aprakstīta Anglijā 1950o gadu beigās [140] – jau neilgi pēc tā ieviešanas klīniskajā praksē. Pēdējo 15 gadu laikā *S. pyogenes* makrolīdu rezistences pieauguma iezīmes ir novērotas daudzās pasaules daļās [20-22,148,149]. *Bandak et al* [20] ziņoja par 1050 klīniskajiem *S.pyogenes* izolātiem, kas tika iegūti 11 pētījuma centros 5 Eiropas valstīs – Itālijā, Spānijā, Francijā, Zviedrijā un Turcijā. Visi izolāti, pielietojot minimālās inhibīcijas koncentrācijas metodi (MIC), fenotipiski *in vitro* bija penicilīna un cefaklora jūtīgi. Makrolīdu, t.i. eritromicīna, klaritromicīna un azitromicīna, rezistences rādītāji visaugstākie minētajos izolātos bija vērojami pētījuma centros Itālijā (31.0%) un Spānijā (26.6%), zemākie rezistences dati tika identificēti pētījuma centros Turcijā (4.8%), Francijā (3.8%) un Zviedrijā (3.7%). ASV makrolīdu rezistences rādītāji variē no 5-10% dažādos ziņojumos [12,150,151]. Savukārt, Eiropā

makrolīdu rezistences augstākā prevalence ir sastopama Vidusjūras valstīs, bet zemākā Skandināvijā.

2004.gadā *Pechere* un *Kaplan* izdotajā monogrāfijā *Streptococcal Pharyngitis*[1] 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%. Pieļaujams būtu fakts, ka augstais rezistences rādītājs tomēr ir saistāms ar dramatiski pieaugošu makrolīdu rezistenci vēlākajos gados, jauno paaudžu makrolīdu preparātu patēriņa dēļ. Analizējot rezistences gēnu dažādību Latvijā augstāk minētajā literatūras avotā un dotā pētījumā, jāsecina, ka ir mainījušies streptokoku rezistences gēnu izplatība un dažādība izolētajās kultūrās.

Makrolīdu rezistences augstākie rādītāji pasaulē pēc rekorda, kāds tika novērots Japānas epidēmijas laikā 1970tajos gados, ir vidēji 43%. Japānā 70os gados eritromicīna rezistences biežums *S.pyogenes* kultūrās sasniedza aptuveni 80%, kas tika saistīts ar jauna serotipa izplatību [152]. 1980tajos gados tā samazinājās [153] un jau 90to gadu beigās veiktajos pētījumos Japānas rietumu daļā eritromicīna rezistences rādītāji bija starp 2.8 un 6.5% [154].

Somijā 1992.gadā *Seppälä et al* [21,22] ziņoja par augstu makrolīdu rezistences rādītāju - 44%. Kopš 1988.gada tika novērota ātra un ievērojama A grupas streptokoku makrolīdu rezistences paaugstināšanās dažādās Somijas daļās, ko saistīja ar ambulatorā praksē pieaugošu makrolīdu patēriņu. Sekojoši tika mainīta politika ambulatoro pacientu antibakteriālās terapijas nozīmēšanā, tika mainītas nacionālās vadlīnijas ar mērķi mazināt makrolīdu patēriņu respiratorā trakta un ādas infekciju ārstēšanā ambulatorā praksē, kā rezultātā tika panākta rezistences rādītāju samazināšanās līdz pat 8.6% 1996.gadā [22].

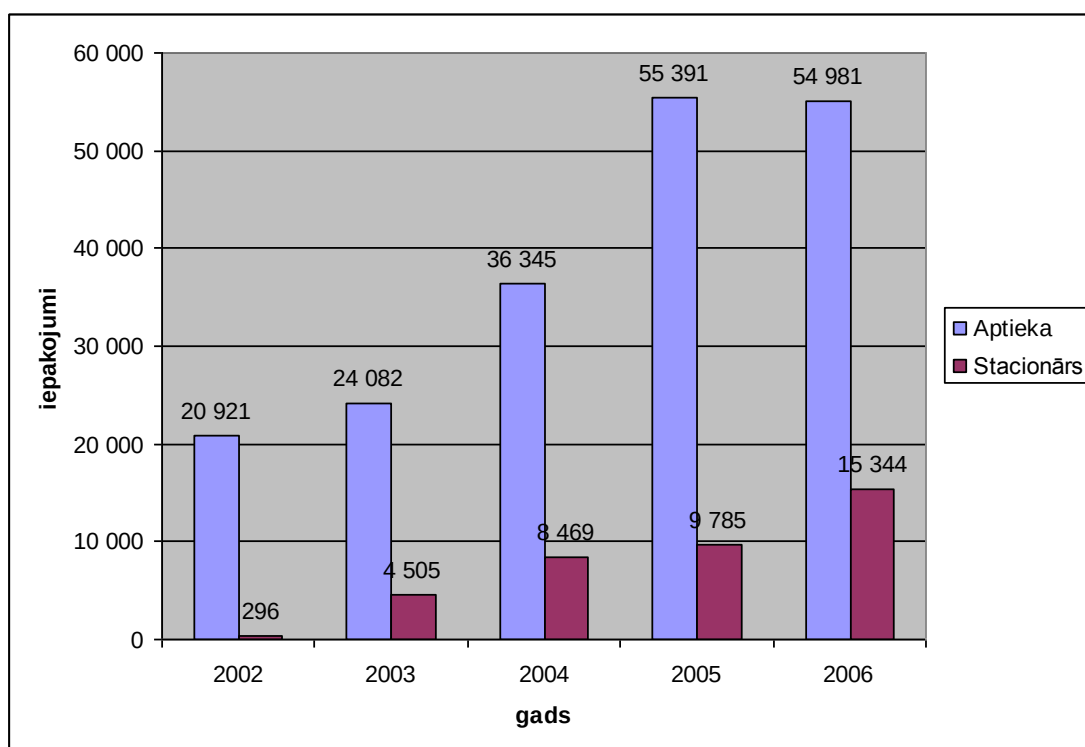
Somijas piemērs ir līdzīgi vērtējams situācijai Latvijā un dotajā pētījumā iegūtajiem datiem, kur tika konstatēta izteikti augsta (78%) AGBHS antimikrobā rezistence pret makrolīdiem, kas identiski Somijas pētījumā izvirzītajai hipotēzei, ir saistāma ar biežu makrolīdu grupas preparātu lietošanu ambulatorajā 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.

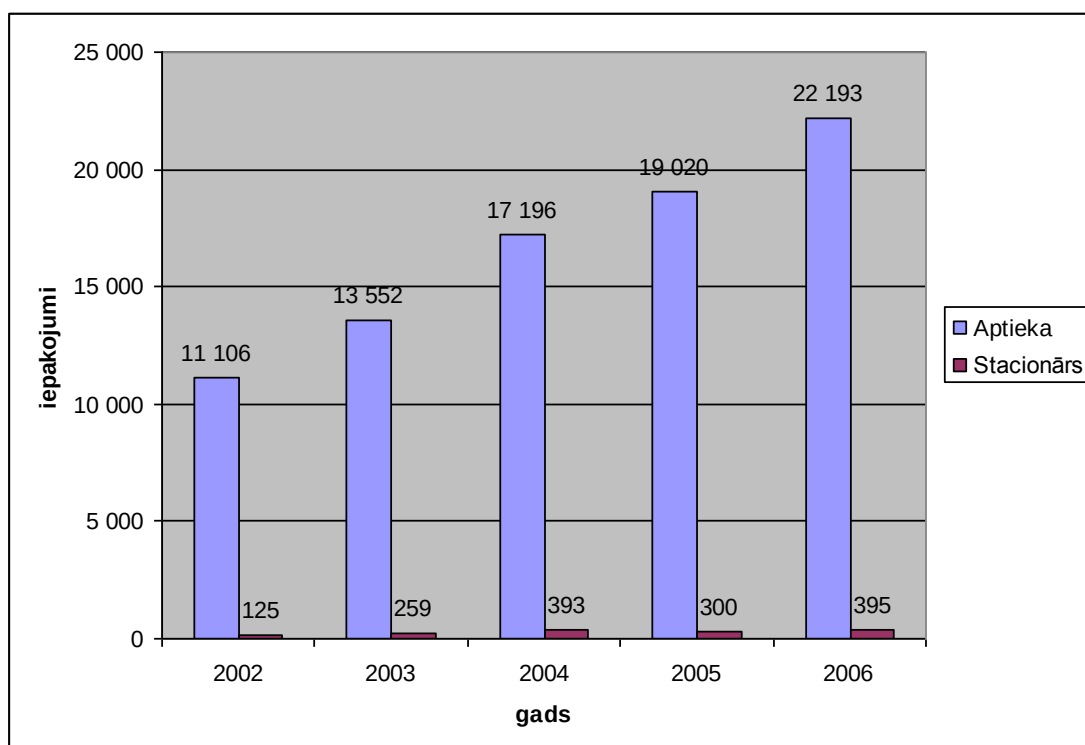
Figūra 1.

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



Figūra 2.

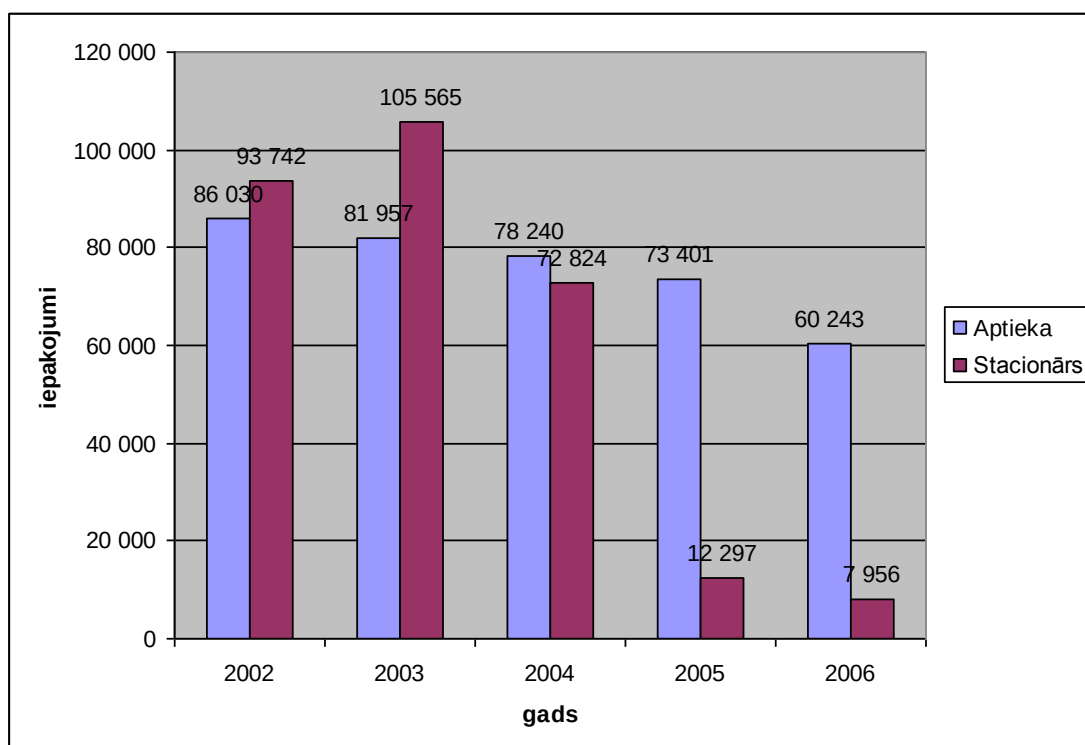
**Azitromicīna patēriņš aptiekās un stacionāros Latvijā
no 2002.-2006.gadam (ZVA dati)**



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).

Figūra 3.

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



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 [197-201]. 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 [201]. Aplūkojot detalizētāk ar AGBHS faringītu saistītos izplatītākos tipus augstāk minētajā literatūras avotā, *emm 89.0* ierindojas tikai 10.vietā [201].

emm 89.0 tips publicētajos datos galvenokārt minēts saistībā ar AGBHS infekcijas invazīvām formām un izteikto makrolīdu antimikrobiālo rezistenci, kas saistīta ar *erm(B)* gēnu [200,201]. Strep EURO veiktajos pētījumos no 1994.-1996.gadam tieši šis *emm 89.0* tips bija atbildīgs par 25% invazīvo A streptokoka

infekcijas formu gadījumiem. Taču nākamajos pārskatos no 2003.-2005.gadam tā izplatība bija būtiski samazinājusies [199]. Pateicoties šim izplatības samazinājumam, mazinājusies bija arī makrolīdu rezistences izplatība, ko uzskatāmi demonstrē vienas no Strep EURO dalībvalstīm – Itālijas publicētie dati par 11 gadu periodu, kur makrolīdu rezistence saruka no 26.5% (1994.-1996.gads) līdz 18.9% (2003.-2005.gads). Tāpat arī *emm89.0* izplatība mazinājās no prevalējošā *emm* tipa laika periodā no 1994.-1996. un 1997.-2000.gadam līdz 14ajam biežākajam 2003.-2005.gadā [199]. Savukārt, 2006.gadā publicētajos datos par AGBHS *emm* tipu epidemioloģiju Spānijā, Barselonā, ne-invazīvos izolātos *emm89.0* starp biežākajiem netiek minēts vispār [197]. Līdzīgā dotajam pētījumam populācijā (izolāti no AGBHS akūta faringīta un nēsātāju pacientiem bērnu vecumā) Itālijā biežāko *emm* tipu epidemioloģijā *emm89.0*, kā arī *emm22.0* tomēr tika minēti salīdzinoši nesen - 2005.gadā [200].

Ņemot vērā faktu, ka Latvijā līdz šim AGBHS *emm* tipu epidemioloģiskie pētījumi netika veikti, jebkuras spekulācijas, kāpēc tieši *emm89.0* dotā pētījuma ietvaros ir bijis visbiežākais un tieši laika periodā, kad citās Eiropas valstīs tā izplatība mazinājās, būtu nekorektas.

Tipējot pētījuma AGBHS izolātus atklājas, ka ir divi paraugi, kurus analizējot parādās to atšķirība no pamattipa *emm1.0* - izmaiņa ir redzama 197. pozīcijā, kur jābūt aminoskābes nukleotīdam citozīnam (C), bet šiem paraugiem ir guanīns (G). Taču tāds subtips CDC datu bāzē līdz šim nav bijis atrodams. Tāpēc nosūtot šī jaunā apakštipa mikrobioloģisko informāciju uz CDC, tika saņemts apstiprinājums, ka Latvijā ir atklāts jauns AGBHS apakštips - *emm1.51*, kas Latvijā līdz šim nav noticis un ir pieminams kā nozīmīgs notikums. Starptautiski citētā literatūrā dati par šāda apakštipa izdalīšanu citā pētījumā nav pieejami.

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.

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 vērstajai imūnajai atbildei [90,92,95,202-204] 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 [89,99,205,206]. Viens iemesls šai nesaskaņai varētu būt pētījumos pielietotās novecojušās HLA genotipēšanas metodes [98]. Blakus tehniskajām problēmām, tiek norādīts, ka ir nepieciešams RD un RSK pacientus analizēt klīniski homogēnās pacientu grupās, piemēram, pacientus grupās ar un bez reimatisma kardiāta, ar pierādītu RSK vai *chorea minor* [98,99]. Kad pētījumos pacienti tika sadalīti klīniski homogēnās pacientu grupās, etniskas atšķirības sākotnēji netika atrastas, DRB1*0701, DRB1*0301 un DQB1*0201 allēles tika atrastas vienādi bieži dažādās populācijās [205,207-210]. Tomēr arī šie rezultāti varētu būt saistīti ar tehniskām problēmām, jo pētījumos tika pielietotas dažādas HLA allēļu tipēšanas metodes.

Dotajā pētījumā iegūtie dati, analizējot RD un RSK pacientus un sadalot tos klīniski homogēnās pacientu grupās, norāda, ka HLA II klases DRB1*07, DQB1*0401-2 un DQB1*0302 allēles var tikt saistītas ar risku iegūt RD un RSK. DRB1*07 bija bieži sastopama genotipos un uzrādīja salīdzinoši augstu incidenci RD pacientu vidū. Tas norāda, ka DRB1*07 varētu būt uzskatāma kā riska allēle RD un RSK attīstībai indivīdam Latvijā. Pētījumā iegūtais rezultāts DRB1*07 biežumā balto pacientu vidū atšķiras no rezultātiem iegūtiem Brazīlijas pacientu vidū, kur HLA – DR7 bija sastopama mulatu pacientu vidū [89,211]. Dotajā pētījumā HLA II DRB1*07 allēle bija ticami bieži sastopama baltādaino RD, ar vai bez iegūtas RSK, pacientu vidū.

HLA II klases allēle DQB1*0401-2 ticami bieži tika atrasta MVR pacientu vidū, savukārt DQB1*0302 - MVB pacientu vidū. Tātad, var pieņemt, ka HLA-DQ gēni kontrolē risku RSK attīstībai – gan MVB, gan MVR gadījumā. Latvijas novērojums apstiprina arī iegūtos rezultātus Japānā RSK pacientiem [205]. Turklāt pēc Latvijas pētījumā iegūtajiem datiem, pielietojot PQR – SSP metodi, jāsecina, ka risks attīstīties RSK eksistē DQ allēles nesējiem gan Brazīlijā, gan Japānā.

Lai kā, abas DQB1*0401-2 un *0302 allēles bija būtiski bieži sastopamas gan RD pacientiem, gan pacientiem, kuriem neizveidojās paliekoša iegūta sirdskaite.

Veicot HLA genotipēšanu, RD un RSK pacientiem kā riska genotipi tika uzrādīti DRB1*01/ DQB1*0301- DRB1*07 / DQB1*0302 un DRB1*15/ DQB1*0302- DRB1*07 /DQB1*0303. Tomēr to nevarētu uzskatīt kā apgalvojumu, jo pētāmās grupas būtu palielināmas pacientu skaita ziņā, lai šo pieņēmumu uzskatītu par apgalvojumu.

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.

Starp pētījumā iegūtajām protektīvajām allēlēm, DQB1*0602-8 ir biežāk minētā starptautiski citētā literatūrā [89,98,212,213]. Tomēr vairākas literatūrā minētās HLA II klases suballēles varētu kļūdaini tikt uzskatītas par riska/protektīvām suballēlēm, nesaistītām ar RD un RSK slimībām, kā dēļ būtu svarīgi šādos pētījumos noteikt konkrētus genotipus [214-216].

HLA allēles regulē imūnās sistēmas atbildi infekcijas gadījumā [217,218], satverot un prezentējot dažādas afinitātes autoantigēnus, regulējot T-šūnu selekciju un vienlaicīgi arī kalpojot kā mērķa autoantigēni [5,219,220]. Jau iepriekš ir tikuši pētīti dažādi ģenētiskie marķieri, taču apstiprinošas asociācijas joprojām nav atrastas [102,201,221-225], tomēr vairākās populācijās saistība ar HLA II klases antigēniem tiek novērota [89,205,226-230].

Kopš laika, kad tika pierādīts, ka HLA II klases antigēniem piemīt nozīme antigēna prezentācijā T šūnu receptoriem (TCR), dažādu valstu pētījumos ir izpētīts, ka pastāv cieša saistība starp variabliem HLA antigēniem asociācijā ar dažādiem A grupas streptokoka serotipiem RD un RSK slimības attīstībā.

Tāpat, analizējot HLA II klases allēļu/haplotipu nozīmi dažādu slimību attīstībā, kā jau minēts, ir vienādi būtiski, ja ne pat svarīgāk, noteikt tieši protektīvo salīdzinoši ar predisponējošo ģenētisko asociāciju. Dažādu autoimūno peptīdu prezentācija, ko veic protektīvās vai riska allēles, ir nozīmīga autoimunitātes patoģenēzes attīstībā un izpētē.

Autoimūnā procesa, kā rezultātā attīstās RSK, pamatā ir T-šūnu molekulārā mimikrija starp streptokoka, sirds un smadzeņu olbaltumvielām pacientiem ar noteiktu ģenētisku predispozīciju [231,232]. RSK attīstību iniciē noteikta M-proteīna

serotipi. *Guilherme et al* savos pētījumos norāda, ka tieši M5 peptīds varētu būt saistīts ar smagi noritošas RSK attīstību pacientiem ar HLA DRB1*07 [90]. Mūsu pētījumā iegūtie dati apstiprina, ka smagi noritošs RD, kā rezultātā izveidojas RSK – gan MVR, gan MVB, attīstās pacientiem ar DRB1*07 allēli.

Sirds tiek uzskatīta par imūnkompetentu orgānu, ko nepārtraukti uzrauga imūnās sistēmas limfocīti un makrofāgi. Ir aprakstīts, ka arī dendrītiskās šūnas uz savas virsmas ekspresē HLA I un II klases molekulas, tādējādi prezentējot antigēnus T limfocītiem. RD gadījumā, sirdī ir atrasti Ašofa (Aschoff) ķermenīši (monocītu/makrofāgu un neitrofīlo konglomerāti), kam ir svarīga loma iekaisuma procesa palaišanā, darbojoties kā antigēnu prezentējošām šūnām.

Mikrobiālas infekcijas izraisīta autoreaktivitāte pret sirds antigēniem tiek aprakstīta vairāku sirds slimību gadījumā [91,94,230,231,233-236]. Streptokoka M5 reģionā ietilpst imūndominants peptīds M5, ko atpazīst perifērie T limfocīti, un galvenokārt HLA – DR7/DR53 smagas RSK pacientu gadījumā [93,204,231], kas norāda, ka šī peptīda prezentācija TCR HLA DR7/DR53 molekulas kontekstā, un kombinācijā ar DQ molekulām, var kalpot kā priekšnoteikums smagai vārstuļu bojājuma attīstībai [91-94].

Tāpat *Guilherme* ar kolēģiem secina, ka arī M1 proteīns ir būtisks RD attīstībā, kopā ar molekulāro mimikriju starp M1, M5 un sirds miozīnu un M6, M24 un smadzeņu olbaltumiem [204].

Molekulārā mimikrija starp streptokoku un sirds komponentiem literatūrā tiek minēti kā slimības palaidējfaktors, un pārsvarā RSK pacientu sirds bojātajās vietās tiek atrastas CD4+ T šūnas.

Neraugoties uz plašiem nozīmīga skaita pētījumiem pasaulē par RD un RSK, to patogēnēzes mehānismi joprojām paliek līdz galam neizprasti, tomēr ir pierādīts, ka šajos gadījumos darbojas anormāla humorālā un cellulārā imūnā atbilde.

Iepriekš norādītā asociācija starp HLA-DRB1*07, DQB1*0302, DQB1*0401-allēlēm un RD/RSK attīstību, lika izvērtēt iespējamību, ka pastāv RSK-asociēti gan riska, gan protektīvie genotipi, kas tālāk tad arī tika pētīti.

Nesen veiktajos pētījumos Taizemē, Turcijā un ASV tika atzīmēts, ka DRB1*0701 un DQA1*0201 ir asociētas pacientiem minētajās valstīs ar mitrālās vārstuļes bojājumu [98,101,209]. Dotajā pētījumā šāds allēļu haplotips DRB1*07/DQA1*0201 bija sastopams RD pacientiem ar *Sydenham's chorea* un

pacientiem bez RSK. RD riska allēle DRB1*01 kombinācijā ar DQA1*0501 veidoja riska genotipu MVB sirdskaite attīstībai, bet DRB1*04 ar DQA1*0401 – veidoja riska genotipu, kur RSK RD pacientiem neattīstas. Latvijā kā riska allēles parādās DRB1*01, 04, kas sakrīt ar rezultātiem, ko savā pētījumā apraksta *Kudat et al* un *Wani et al* [100,228].

Visiem RD bērnu vecuma pacientiem Latvijā ir sastopama riska allēle DQA1*0401 un protektīvā allēle *0102, savukārt aplūkojot genotipus, riska allēles bija *0103/*0201 un *0301/*0501.

Statistiski ticami bieži Latvijā diemžēl netika atrasts protektīvs DQA1* genotips. Homogēnās pacientu grupās DQA1*0201, *0301 (*Sydenhamn's chorea* pacientu grupā), *0401, *0501, *0301 (MVB pacientu grupā) bija biežāk atrastās riska allēles, kas arī citur veiktajos pētījumos ir atrastas kā riska DQA1*0201 allēles homogēnās pacientu grupās [98,209].

Analizējot genotipus, DQB1 riska allēles *0301-2 un *0401-2 ar DQA1 allēli *0501 relatīvi bieži tika atrastas MVB pacientiem un ar *0301 *Sydenhamn's chorea* pacientiem. Pētot RSK pacientu grupas, varēja pamanīt, ka ticami bieži sastopama ir DQA1 *0501 allēle MVB pacientu grupā un genotipos ar DRB1*01, DQB1*0301-2. Genotipam DRB1/DQA1 *07/*0201 haplotipā ar DQB1*0302 allēli piemita risks veidot kombinētu RSK – multivalvulāru sirds bojājumu.

DRB1*04/DQA1*0301/DQB1*0402-2 un DRB1*04/DQA1*0301/DQB1*0301 haplotipam bija izteikta asociācija *Sydenhamn's chorea* grupā (OR=78.0, $p<0.0001$ un OR=16.6, $p<0.003$). Interessants šķita fakts, ka haplotips DRB1*15/DQA1*0102/DQB1*0602-8 pilnībā iztrūka visās pacientu grupās, lai gan tā sastopamība kontroles grupā bija 9% ($p<0.61$). Neviena no minētajiem efektiem tomēr nebija statistiski būtisks.

Lai gan DQA1*0102/DQB1*0602-8 genotips bija bieži sastopams protektīvajā haplotipā, kontroles grupā tas saistījās tikai ar individuālu protektīvo nozīmi grupas pacientiem ($p<0.00001$). Šī haplotipa protektīvais efekts varētu būt salīdzināms ar DQA1*0102 (OR=0.34, $p<0.001$) un/vai DQB1*0602-8 allēli.

Tāpat interesantas šķiet tendences un asociācijas, kas saistītas ar DRB1*06 – asociētiem haplotipiem. DR6 antigēnam piemīt 2 fenotipiskie dalījumi, ko kodē DRB1*13 vai DRB1*14 allēles, un katras no tām subtipi. Pētījuma sākotnējie rezultāti uzrādīja, ka DRB1*06(13; 14) allēlei piemīt nozīmīgs protektīvs efekts RD RSK pacientiem. DRB1*06(13; 14)/DQA1*0102 genotips iztrūka visās pacientu

grupās, kas norādīja uz šī haplotipa protektīvo ietekmi. Negatīva asociācija starp RSK un DR6 tika norādīta arī ASV Jūtas štatā veiktajā pētījumā [206]. Tāpēc, atkarīgi no DR6 dalījuma (DR13 vai DR14) vai DRB1*13/DRB1*14 suballēlēm un tā paša haplotipa papildus elementu dabu (t.i., DQA un DQB allēles), DR6 haplotips var nodrošināt aizsardzību vai norādīt uz risku RSK attīstībai.

Ir jāpiemin, ka *Guedez* savā pētījumā ir atklājis, ka DRB1*0701-, DR6-, un DQB1*0201- saistītie haplotipi piešķir uzņēmību MVB attīstībai, kas sakrīt ar ziņojumiem no ASV, Turcijas, Meksikas, DienvidĀfrikas un Japānas populācijām, kur RSK pacientiem vairākumā izveidojās MVB pacientiem [98,205,206,210,222,225,229,237].

Ievērojot augstāk minēto, varētu izteikt hipotēzi, ka DQA1 allēles ir atbildīgas par smagi noritošas kombinētas RSK attīstību: – MVB ar DRB1*07 un *Sydenham's chorea* ar DRB1*04. DRB1*07 haplotipā ar DQA1 riska allēlēm *0201 un DQB1*0302.

DQB1 *04, haplotipā ar DQA1*0401, 0301 un DQB1* riska allēlēm *0301, *0401-2, bieži tika novērots pacientiem ar *Sydenham's chorea*. Protams, astoņi *Sydenham's chorea* pacienti dotajā pētījumā ir pārāk maza grupa statistiskās ticamības aprēķināšanai, tomēr autoriem šķita būtiski parādīt visus RD rezultātus, un 8 *Sydenham's chorea* pacienti Latvijas populācijā bērnu vecumā ir viss, kas šajā valstī bija sastopams.

Atsaucoties uz publicētiem datiem jaunākajos pētījumos, tomēr pastāv etniskās atšķirības genoma analīzē pacientiem. *Guilherme* Expert Reviews in Molecular Medicine publikācijās [94,202,238] norāda uz etnisko atšķirību kopsavilkumu: DR 7;4;1;2;3;5; (11); 6; (13) un 9 predispozīciju RD attīstībai, ko apliecina viņa citētie autori.

Pētījumos par DR07 un haplotipiem Latvijā, tiek atrastas DR01, DR04 allēles. Rezultāti par DQ ir atšķirīgi vairākās valstīs – piemēram Japānā [200], pacientiem ar DQA1*0104 un DQB1*0503-1 attīstījās smagi noritoša RSK, kas atšķiras no Latvijā iegūtajiem rezultātiem. Savukārt ASV – *Guedez Y* [98] ir ieguvis Latvijai līdzīgus rezultātus, kur – RSK pacientiem sastop DQA1*0201 allēle un DRB1*0701-DQA1*0201.

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 iznākumus, kas nozīmētu, ka tiek piedāvāti jauni līdzekļi un pieejas ārstēšanā, kā arī profilakses iespējas, tai skaitā potenciālās streptokoku vakcīnas izveidē.

Pētījumā kopumā iegūtie dati par AGHBS 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, rezidenti 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.

12. 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.

13. Literatūras saraksts

1. Pechere JC, Kaplan EL (eds): Streptococcal Pharyngitis. Issues Infect Dis. Basel, Karger, 2004, vol 3, pp1-2.
2. Pichichero ME: Clinical Managment of Streptococcal Pharyngitis. Professional Communications, USA, 2007, pp11-12.
3. Kaplan E et al. Are Group A Streptococcal Infections Associated with Clinical Exacerbations of the „PANDAS” Syndrome? Results from a large intensive 25 month prospective study. XVII Lancefield international symposium on streptococci & streptococcal diseases, Abstract book, O 2.3, p24.
4. Fluit Ad C, Visser M R, Schmitz FJ. Molecular Detection of Antimicrobial Resistance. *Clin Microbiol Rev* 2001 October; 14(4):836-871.
5. 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.
6. Bessen DE, Lizano S: Tissue tropisms in group A streptococcal infections. *Future Microbiol* 2010; Apr;5:623-38.
7. Mazon A, Gil-Setas A, Sota De La Grandara LJ, Vindel A, Saez-Nieto JA: Transmission of streptococcus pyogenes causing successive infection in a family. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9:554-559.
8. Falc G, Holm SE, Kjellander J, Norgren M, Schwan A: The role of household contacts in transmission of group A streptococci. *Scand J Infect Dis* 1997; 28:239-244.
9. Morais S, Teles A, Ramalheira E, Roseta J: Streptococcal pharyngitis: clinical suspicion versus diagnosis. *Acta Med Port* 2009 Nov-Dec;22(6):773-8.
10. Farley TA, Wilson SA, Mahoney F, Kelso KY, Johnson DR, Kaplan EL: Direct inoculation of food as the cause of an outbreak of group A streptococcal pharyngitis. *JID* 1993; 167:1223-1225.

11. Murray CJL, Lopez AD: Global health statistics, World Health Organization, Harvard School of Public Health, World Bank. Geneva, WHO, 1996.
12. Bisno AL, GerberMA, Gwaltney JrJM., Kaplan EL, Schwartz RH: Practice Guidelines for the Diagnosis and Managment of Group A Streptococcal Pharyngitis. *Clinical Infectious Diseases* 2002;35:113-125
13. Ruiz-Aragón J, Rodríguez López R, Molina Linde JM. Evaluation of rapid methods for detecting *Streptococcus pyogenes*. systematic review and meta-analysis. *An Pediatr (Barc)*. 2010 Mar 24. [Epub ahead of print]
14. Dajani AS: Current therapy of group A streptococcal pharyngitis. *Pediatr Ann* 1998 May; 27(5): 277-80.
15. Wong MC, Chung CH: Group A Streptococcal infection in patients presenting with a sore throat at an accident and emergency department: prospective observational study. *Hong Kong Med J*. 2002 Apr;8(2):92-8.
16. Lee GM, Salomon JA, Gay C, Hammitt JK: Preferences for health outcomes associated with Group A Streptococcal disease and vaccination. *Health Qual Life Outcomes* 2010 Mar 12;8(1):28. [Epub ahead of print]
17. Begovac J, Bobinac E, Benic B, Desnica B, Maretic T, Basnec A, Kuzmanovic N: Asymptomatic pharyngeal carriage of beta-heamolytic streptococci and streptococcal pharyngitis among patients at an urban hospital in Croatia. *Eur J Epidemiol*. 1993 Jul; 9(4):405-10.
18. Basco WT Jr: Viewpoint: Acute Pharyngitis in Children: Properly Managed? *Pediatrics*. 2006; 117:1871-1878.
19. McIsaac WJ, Kellner JD, Aufricht P, Vanjaka A, Low DE: Empirical validation of guidelines for the management of pharyngitis in children and adults. *JAMA*. 2004 Apr 7;291(13):1587-95.
20. Bandak SI, Turnak MR, Allen BS, et al: Oral antimicrobial susceptibilities of *Streptococcus pyogenes* recently isolated in five countries. *Int J Clin Pract* 2000; 54:585-588.
21. Seppälä H, Nissinen A, Jarvinen H, et al: Resistance to erythromycin in group A streptococci. *N Engl J Med* 1992; 326:292-297.
22. Seppälä H, Klaukka T, Voupio-Varikila J, et al: The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. *N Engl J Med* 1997; 337:441-446.

23. 2006 Red Book: Report of the Committee in Infectious Diseases. 25th ed. IL: American Academy of Pediatrics; 2006, p610-620.
24. Billroth AW. Untersuchungen uber die Vegetations formen von Coccobacteria septica. 1874. Berlin: Georg Reimer.
25. Rosenbach FJ. Mukro-organismen bei den Wund-infection-krankheiten des Menschen. 1884. Wiesbaden: JF Bergmann.
26. Kilian Mogens. Microbiology and Microbial infections. 10th Ed, 2006. Topley & Wilson's.
27. Kawamura Y, Hou XG, Sultana F, Liu S: Transfer of *Streptococcus adiacens* and *Streptococcus defectivus* to *Abiotrophia* gen. nov. as *Abiotrophia adiacens* comb. nov. and *Abiotrophia defectiva* comb. nov., Respectively. *Int J Syst Bacteriol* 1995; 45 (4): 798-803.
28. Collins MD, Lawson PA: The genus *Abiotrophia* (Kawamura et al.) is not monophyletic: proposal of *Granulicatella* gen. nov., *Granulicatella adiacens* comb. nov., *Granulicatella elegans* comb. nov. and *Granulicatella balaenopterae* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000;Vol 50, 365-369.
29. Aguirre M, Morrison D, Cookson BD, Gay FW, Collins MD: Phenotypic and phylogenetic characterization of some *Gemella*-like organisms from human infections: description of *Dolosigranulum pigrum* gen. nov., sp. nov. *Journal of Applied Bacteriology* 1993; 75:608-612.
30. Facklam R R, Collins M D: Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J Clin Microbiol* 1989 April; 27(4): 731-734.
31. Williams AM, Farrow AE, Collins MD: Reverse transcriptase sequencing of 16s ribosomal RNA from *Streptococcus cecorum*. *Letters in Applied Microbiology* 1989, 8, 185-189.
32. Stackebrandt E, Teuber M: Molecular taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria. *Biochimie* 1988 Mar;70(3):317-24.
33. Ludwig W, Seewaldt E, Kilpper-Balz R, Schleifer KH, Maorum L, Woese CR, Fox.E., Stackebrandt E: The phylogenetic position of *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Journal of General Microbiology* 1985;131, 543–551.
34. Stevens DL: *Streptococcus pyogenes* infections; in Stein JH (ed): Internal Medicine, ed 4. St.Louis, Mosby-Year Book, 1994, pp 2078-2086.

35. Wessels MR, Moses AE, Goldberg JB, DiCesare TJ: Hyaluronic acid capsule is a virulence factor for mucoid group A Streptococci. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:8317-8321.
36. Schrager HM, Albertis S, Cywes C, Dougherty GJ, Wessels MR: Hyaluronic acid capsule modulates M protein-mediated adherence and acts as a ligand for attachment of group A streptococcus to CD44 on human keratinocytes. *J Clin Invest* 1998; 101:1708-1716.
37. Cywes, C, Wessels, MR. Group A streptococcus tissue invasion by CD44-mediated cell signalling. *Nature* 2001; 414:648.
38. Hasty DL, Itzhak O, Courtney HS, Doyle RJ: Minireview: Multiple adhesions of streptococci. *Infect Immun* 1992;60:2147-2152.
39. Greenblatt J, Boackle RJ, Schwab JH: Activation of the alternative complement pathway by peptidoglycan from streptococcal cell wall. *Infect Immun* 1978;19:296-303.
40. Verhoef J, Kalter E: Bacterial Endotoxins: Structure, Biomedical Significance and Detection with the Limulus Amebocyte Lysate Test. Liss, New York, 1985.
41. Bisno AL: Alternate complement pathway activation by group A streptococci: role of M-protein. *Infect Immun* 1979;26:1172-1176.
42. Fischetti VA: Streptococcal M protein. *Sci Am* 1991; 264:58-65.
43. Schleiss MR: Streptococcal Infection, Group A. 2008 <http://emedicine.medscape.com/article/971097-overview>
44. Fischetti VA, Horstmann RD, Pancholi V: Location of the complement factor H binding site on the streptococcal M6 protein. *Infect Immun* 1995;63:149-153.
45. Lancefield RC: Current knowledge of type specific M antigens of group A streptococci. *J Immunol* 1962;89:307-313.
46. Peterson PK, Schmeling D, Cleary PP, Wilkinson BJ, Kim Y, Quie PG: Inhibition of alternative complement pathway opsonization by group A streptococcal M protein. *J Infect Dis* 1979;139:575-585.
47. Thern A, Stenberg L, Dahlback B, Lindahl G: Ig-binding surface proteins of *Streptococcus pyogenes* also bind human C4b-binding protein (C\$BP), a regulatory component of the complement system. *J Immunol* 1995;154:375-386.

48. Hanski E, Caparon M: Protein F, a fibronectin-binding protein, is an adhesin of the group A streptococcus *Streptococcus pyogenes*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:6172-6176.
49. Natanson S, Sela S, Moses A, Musser J, Caparon M, Hanski E: Distribution of fibronectin-binding proteins among group A streptococci of different M types. *J Infect Dis* 1995;171:871-878.
50. Toumanen E, Liu H, Hengstler B, Zak O, Tomasz A: The induction of meningeal inflammation by components of the pneumococcal cell wall. *J Infect Dis* 1985;171:871-878.
51. Katerof V, Lindgren P, Totolain A, Schalen C: Serum opacity factor activity among Group C and Group G streptococci. Program and Abstracts of the ASM Conference on Streptococcal Genetics, 1998.
52. Bessen DE, Sotir CM, Readdy T, Hollingshead SK: Genetic correlates of throat and skin isolates of group A streptococci. *J Infect Dis* 1996;173:896-900.
53. Alouf JE, Geoffroy C: Structure activity relationships in sulfhydryl-activated toxins; in Freer JH, Jeljaszewicz J (eds): Bacterial Protein Toxins. London, Academic Press, 1984, pp165-171.
54. Tweten RK: Nucleotide sequence of the gene for perfringolysin O (theta-toxin) from *Clostridium perfringens*: Significant homology with genes for streptolysin O and pneumolysin. *Infect Immun* 1988;56:3235-3240.
55. Nizet V, Beall B, Bast DJ, Datta V, Kilburn L, Low DE, DeAzavedo JCS: Genetic locus for streptolysin S production by group A streptococcus. *Infect Immun* 2000;68:4245-4254.
56. Podbielski A, Zarges I, Flosdorff A, Weber-Heynemann J: Molecular characterization of a major serotype M49 group A streptococcal DNase gene (*sdaD*). *Infect. Immun* 1996;64:5349-5356.
57. Benchetrit LC, Avelino CC, Barrucand L, Sa Figueiredo AM, de Oliveira CM: Hyaluronidase production by groups A, B, C, and G streptococci: a statistical analysis. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]* 1984 May;257(1):27-37. 
58. Lutticken R, Lutticken D, Johnson DR, Wannamaker LW: Application of a new method for detecting streptococcal nicotinamide adenine dinucleotide

- glycohydrolase to various M types of *Streptococcus pyogenes*. *J Clin Microbiol* 1976; 3:533-536.
59. Stevens DL, Salmi DB, McIndoo ER, Bryant AE: Molecular epidemiology of *nga* and NAD glycohydrolase/ADP-ribosyltransferase activity among *Streptococcus pyogenes* causing streptococcal toxic shock syndrome. *J Infect Dis* 2000;182:1117-1128.
 60. Lottenberg R, Broder CC, Boyle MDP: Identification of a specific receptor for plasmin on a group A streptococcus. *Infect Immun* 1987;55:1914-1928.
 61. Barsumian EL, Schlievert PM, Watson DW: Non-specific and specific immunological mitogenicity by group A streptococcal pyrogenic exotoxins. *Infect Immun* 1978;22:681-688.
 62. Nida SK, Ferretti JJ: Phage influence on the synthesis of extracellular toxins in group A streptococci. *Infect Immun* 1982;36:745-750.
 63. Kline JB, Collins CM: Analysis of the superantigen activity of mutant and allelic forms of streptococcal pyrogenic exotoxin A. *Infect Immun* 1996;64:861-869.
 64. Hauser AR, Stevens DL, Kaplan EL, Schlievert PM: Molecular analysis of pyrogenic exotoxins from *Streptococcus pyogenes* isolates associated with toxic shock-like syndrome. *J Clin Microbiol* 1991;29:1562-1567.
 65. Stevens DL, Tanner MH, Winship J, Swarts R, Reis KM, Schlievert PM, Kaplan E: Reappearance of scarlet fever toxin A among streptococci in the Rocky Mountain West: Severe group A streptococcal infections associated with a toxic shock-like syndrome. *N Engl J Med* 1989;321:1-7.
 66. Kohler W, Gerlach D, Knoll H: Streptococcal outbreaks and erythrogenic toxin type A. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg* 1987;266:104-115.
 67. Hallas G: The production of pyrogenic exotoxins by group A streptococci. *J Hyg (Camb)* 1985;95:47-57.
 68. Iwasaki M, Igarashi H, Hinuma Y, Yutsudo T: Cloning, characterization and overexpression of a *Streptococcus pyogenes* gene encoding a new type of mitogenic factor. *FEBS Lett* 1993;331:187-192.
 69. Norrby-Teglund A, Newton D, Kotb M, Holm SE, Norgren M: Superantigenic properties of the group A streptococcal exotoxin SpeF (MF). *Infect Immun* 1994;62:5227-5233.

70. Mollic JA, Miller GG, Musser JM, Cook RG, Grossman D, Rich RR: A novel superantigen isolated from pathogenic strains of *Streptococcus pyogenes* with aminoterminal homology to staphylococcal enterotoxins B and C. *J Clin Invest* 1993;92:710-719.
71. Stevens DL: Invasive group A streptococcus infections. *Clin Infect Dis* 1992;14:2-13.
72. Fast DJ, Schlievert PM, Nelson RD: Toxic shock syndrome-associated staphylococcal and streptococcal pyrogenic toxins are potent inducers of tumor necrosis factor production. *Infect Immun* 1989;57:291-294.
73. Hackett SP, Schlievert PM, Stevens DL: Cytokine production by human mononuclear cells in response to streptococcal exotoxins. *Clin Res* 1991;39.
74. Norrby-Teglund A, Norgren M, Holm SE, Andersson U, Andersson J: Similar cytokine induction profiles of a novel streptococcal exotoxin, MF, and pyrogenic exotoxins A and B. *Infect Immun* 1994;62:3731-3738.
75. Muller-Alouf H, Alouf JE, Gerlach D, Fitting C, Cavaillon JM: Cytokine production by murine cells activated by erythrogenic toxin type A superantigen of *Streptococcus pyogenes*. *Immunobiology* 1992;186:435-448.
76. Bryant, AE, Bayer, CR, Huntington, JD, Stevens, DL. Group A Streptococcal Myonecrosis: Increased Vimentin Expression after Skeletal-Muscle Injury Mediates the Binding of *Streptococcus pyogenes*. *J Infect Dis* 2006; 193:1685.
77. Edwards, RJ, Taylor, GW, Ferguson, M, et al. Specific C-Terminal Cleavage and Inactivation of Interleukin-8 by Invasive Disease Isolates of *Streptococcus pyogenes*. *J Infect Dis* 2005; 192:783.
78. Raeder RH, Woischnik M, Podbielski A, Boyle MD: A secreted streptococcal cysteine protease can cleave a surface expressed M1 protein and alters its immunoglobulin-binding properties. *Res Microbiol* 1998;149:539-548.
79. Johnson DR, Stevens DL, Kaplan EL: Epidemiological analysis of group A streptococcal serotypes associated with severe systemic infections, rheumatic fever, or uncomplicated pharyngitis. *J Infect Dis* 1992;166:374-382.
80. Villasenor-Sierra A, McShan WM, Salmi D, Kaplan EL, Johnson DR, Stevens DL: Variable susceptibility to opsonophagocytosis of group A

- streptococcus M-1 strains by human immune sera. *J Infect Dis* 1999;180:1921-1928.
81. de Malmanche SA, Martin DR: Protective immunity to the group A streptococcus may be only strain specific. *Med Microbiol Immunol* 1994;183:299-306.
 82. O'Loughlin, RE, Roberson, A, Cieslak, PR, et al. The epidemiology of invasive group A streptococcal infection and potential vaccine implications: United States, 2000-2004. *Clin Infect Dis* 2007; 45:853.
 83. McNeil, SA, Halperin, SA, Langley, JM, et al. Safety and immunogenicity of 26-valent group a streptococcus vaccine in healthy adult volunteers. *Clin Infect Dis* 2005; 41:1114.
 84. Hu, MC, Walls, MA, Stroop, SD, et al. Immunogenicity of a 26-valent group A streptococcal vaccine. *Infect Immun* 2002; 70:2171.
 85. Cohen-Poradosu, R, Kasper, DL. Group A streptococcus epidemiology and vaccine implications. *Clin Infect Dis* 2007; 45:863.
 86. Dombek PE, Cue D, Sedgewick J, Lam H, Ruschkowski S, Finlay BB, Cleary PP: High-frequency intracellular invasion of epithelial cells by serotype M1 group A streptococci: M1 protein-mediated invasion and cytoskeletal rearrangements. *Mol Microbiol* 1999;31:859-870.
 87. Hagman MM, Stevens DL: Comparison of adherence to and penetration of a human laryngeal epithelial cell line by group A streptococci of various M protein types. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999;23:195-204.
 88. Molinari G, Chhatwal GS: Invasion and survival of *Streptococcus pyogenes* in eukaryotic cells correlates with the source of clinical isolates. *J Infect Dis* 1998;177:1600-1607.
 89. Guilherme L, Weidebach W, Kiss MH, Snitcowsky R, Khalil J: Association of human leukocyte class II antigens with rheumatic heart disease in Brazilian population. *Circulation* 1991, 83:1995-1998.
 90. Guilherme L, Fae K, Oshiro S.E, Kalil J: Molecular pathogenesis of rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Expert Rev Mol Med* 2005, 7:1-15
 91. Guilherme L, Oshiro S.E, Fae K.C, Cunha-Neto E, Renesto G, Goldberg A.C, Tanaka A.C, Pomerantzeff P, Kiss M.H, Silva C, Guzman F, Patarroyo M, Southwood S, Sette A, Kalil J: T-cell reactivity against Streptococcal

- antigens in the periphery mirrors reactivity of heart-infiltrating T lymphocytes in rheumatic heart disease patients. *Infect Immun* 2001, 69 (9):5345
92. Guilherme L, Kalil J: Rheumatic Fever: from sore throat to autoimmune heart lesions. *International Archives of Allergy and Immunology* 2004; 134:56-64.
 93. Guilherme L, Fae K.C, Oshiro S.E, Tanaka A.C, Pomerantzeff P, Kalil J: Rheumatic Fever: How *S.pyogenes*- primed peripheral T cells trigger Heart valve lesions. *Ann N Y Acad Sci* 2005, 1051: 132-140.
 94. Guilherme L, Fae K, Oshiro SE, Kalil J: Major events triggering rheumatic heart disease lesions. *Expert Reviews in Molecular Medicine* 2005 December Vol. 7; Issue 28; 9
 95. Quinn A, Kent W, Fischetti VA, Hemric M, Cunningham MW: Immunological relationship between the class I epitope of streptococcal M protein and myosin. *Infect Immun* 1998;66:4418-4424.
 96. Gulizia JM, Cunningham MW, McManus BA: Immunoreactivity of anti-streptococcal monoclonal antibodies to human heart valves: Evidence for multiple cross-reactive epitopes. *Am J Pathol* 1991;138:285-301.
 97. Khanna AK, Buskirk DR, Williams RC Jr, Gibofsky A, Crow MK, Menon A, Fotino M, Reid HM, Poon-King T, Rubinstein P, *et al.*: Presence of a non-HLA B cell antigen in rheumatic fever patients and their families as defined by a monoclonal antibody. *J Clin Invest* 1989, 83:1710-1716.
 98. Guedez Y, Kotby A, El-Demellawy M, Galal A, Thomson G, Zaher S, Kassem S, Kotb M: HLA class II associations with rheumatic heart disease are more evident and consistent among clinically homogeneous patients. *Circulation* 1999, 99:2784-2790.
 99. Donadi EA, Smith AG, Louzada - Junior P, Voltarelli JC, Nepom GT: HLA class I and class II profiles of patients presenting with Sydenham's chorea. *J Neurol* 2000 Feb; 247 (2): 122 – 8
 100. Kudat H, Telci G, Sozen AB, Oguz F, Akkaya V, Ozcan M, Atilgan D, Carin M, Guven O: The role of HLA molecules in susceptibility to chronic rheumatic heart disease. *Int J Immunogenet* 2006 Feb; 33(1):41-4.
 101. Haydardedeoglu FE, Tutkak H, Kose K, Duzgun N: Genetic susceptibility to rheumatic heart disease and streptococcal pharyngitis: association with HLA-DR alleles. *Tissue Antigens* 2006 Oct; 68(4):293-6.

102. Ueki A, Isozaki Y, Tomokuni A, Ueki H, Kusaka M, Tanaka S, Otsuki T, Sakaguchi H, Hyodoh F: Different distribution of HLA class II alleles in anti-topoisomerase I autoantibody responders between silicosis and systemic sclerosis patients, with a common distinct amino acid sequence in the HLA-DQB1 domain. *Immunobiology* 2001 Dec; 204(4):458-65
103. 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 Res Ther* 2007, 9:R58
104. Tibazarwa et al. Incidence of acute rheumatic fever in the world: a systematic review of population-based studies. *Heart*. 2008; 94: 1534-1540.
105. Gerber MA, Randolph MF, Mayo DR: The group A Streptococcal carrier state. A reexamination. *Am J Dis Child*. 1988 May;142(5):562-5.
106. Van Limbergen J, Kalima P, Taheri S, Beattie TF: Streptococcus A in paediatric accident and emergency: are rapid streptococcal tests and clinical examination of any help? *EmergMed J*. 2006 Jan; 23(1):32-4.
107. Stillerman M, Bernstein SH: Streptococcal pharyngitis: Evaluation of clinical syndromes in diagnosis. *Am J Dis Child* 1961;101:476-489.
108. Siegel AC, Johnson EI, StollermanGH: Controlled studies of streptococcal pharyngitis in a pediatric population. 1. Factors related to the attack rate of rheumatic fever. *N Engl J Med* 1961;265:559-566.
109. Breese BB, Hall CB: Beta Hemolytic Streptococcal Diseases. Boston Houghton Mifflin, 1978.
110. Levin RM, Grossman M, Jordan C, Ticknor W, Barnett P, Pascoe D: Group A streptococcal infection in children younger than three years of age. *Pediatr Dis J* 1988;7:581-587.
111. Bruschi JL: Streptococcal Pharyngitis. In: Rakel RE, Bope ET, eds. Conn's Current Therapy 2001. 1st ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders; 2001: 246-9.
112. 2006 Red Book: Report of the Committee in Infectious Diseases. 25th ed. IL: American Academy of Pediatrics; 2006, p610-620.
113. Woods WA, Carter CT, Schlager TA: Detection of group A streptococci in children under 3 years of age with pharyngitis. *Pediatr Emerg Care*. 1999 Oct;15(5) :338-40.

114. Powers GF, Boisvert PL: Age as a factor in streptococcosis. *J Pediatr* 1944;25:481-504.
115. Boisvert PL, Darrow DC, Powers GF, Trask JD: Streptococcosis in children: Anosographic and statistical study. *Am J Dis Child* 1942;64:516-534.
116. Bearg PA, Boisvert PL, Darrow DC, Powers GF, Trask JD: „Streptococcosis” and „streptococcic fever”. *Am J Dis Child* 1941;62:431-436.
117. Gerber MA, Kaplan EL, Gastanuduy AS, McKay C, Wannamaker LW: The immunologic response to group A streptococcal upper respiratory infections in very young children. *J Pediatr* 1980;96:374-379.
118. Schwartz RH, Hayden GF, Wientzen R: Children less than three-years old with pharyngitis: are group A streptococci really that uncommon? *Clin Pediatr* 1986;25:185-188.
119. Smith TD, Wilkinson V, Kaplan EL: Group a streptococcus-associated upper respiratory tract infections in a day-care center. *Pediatrics* 1989;83:380-384.
120. Alpert JJ, Pickering MR, Warren RJ: Failure to isolate streptococci from children under the age of 3 years with exudative tonsillitis. *Pediatrics* 1966;38:663-666.
121. Nandi S, Kumar R, Ray P, Vohra H, Ganguly NK: Group A streptococcal sore throat in a periurban population of northern India: a one-year prospective study. *Bull World Health Organ.* 2001; 79(6):528-33.
122. Begovac J, Bobinac E, Benic B, Desnica B, Maretic T, Basnec A, Kuzmanovic N: Asymptomatic pharyngeal carriage of beta-hemolytic streptococci and streptococcal pharyngitis among patients at an urban hospital in Croatia. *Eur J Epidemiol.* 1993 Jul; 9(4):405-10.
123. Tsevat J, Kotagal UR: Management of sore throats in children: a cost-effectiveness analysis. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1999 Jul;153(7):681-8.
124. Giesecke KE, Roe MH, MacKenzie T, Todd JK: Evaluating the American Academy of Pediatrics diagnostic standard for *Streptococcus pyogenes* pharyngitis: backup culture versus repeated rapid antigen testing. *Pediatrics.* 2003 Jun;111(6 Pt 1):e666-70.
125. Van Limbergen J, Kalima P, Taheri S, Beattie TF: Streptococcus A in paediatric accident and emergency: are rapid streptococcal tests and clinical examination of any help? *EmergMed J.* 2006 Jan; 23(1):32-4.

126. dos Santos AG, Berezin EN: Comparative analysis of clinical and laboratory methods for diagnosing streptococcal sore throat. *J Pediatr (Rio J)*. 2005 Jan-Feb;81(1):1-2.
127. Gerber MA: Diagnosis of group A streptococcal pharyngitis. *Pediatr Ann* 1998 May; 27(5): 269-73.
128. Palmer DA, Bauchner H. Parents' and physicians' views on antibiotics. *Pediatrics* 1997;99:E6.
129. Steele RW, Thomas MP, Begue RE. Compliance issues related to the selection of antibiotic suspensions for children. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:1-5.
130. Demers DM, Chan DS, Bass JW. Antimicrobial drug suspensions: a blinded comparison of taste of twelve common pediatric drugs including cefixime, cefpodoxime, cefprozil and loracarbef. *Pediatr Infect Dis J* 1994;13:87-89.
131. El-Chaar GM, Mardy G, Wehlou K, Rubin LG. Randomized, double blind comparison of brand and generic antibiotic suspensions: II. A study of taste and compliance in children. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:18-22.
132. Pichichero ME. A review of evidence supporting the American Academy of Pediatrics recommendation for prescribing cephalosporin antibiotics for penicillin-allergic patients. *Pediatrics* 2005;115:1048-1057.
133. Fogarthy CM, Cyganowski M, Palo WA, Hom RC, Craig WA. A comparison of cefditoren pivoxil and amoxicillin/clavulanate in the treatment of community acquired pneumonia: a multicenter, prospective, randomized, investigator-blinded, parallel-group study. *Clin Ther* 2002;24:1854-1870.
134. Gruchalla RS, Pirmohamed M. Clinical practice. Antibiotic allergy. *N Engl J Med* 2006;354:601-609.
135. Pichichero ME. Evaluating the need, timing and best choice of antibiotic therapy for acute otitis media and tonsillopharyngitis infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19(12 suppl):S131-S140.
136. Kelkar PS, Li JT. Cephalosporin allergy. *N Engl J Med* 2001;345:804-809.
137. Mayorga C, Torres MJ, Blanca M. Cephalosporin allergy. *N Engl J Med* 2002;346:380-381.
138. Pichichero ME. Cephalosporins can be prescribed safely for penicillin-allergic patients. *J Fam Pract* 2006;55:106-112.
139. <http://emedicine.medscape.com/article/971097-treatment>

140. Lowbury EJJ, Hurst L. The sensitivity of staphylococci and other woundbacteria to erythromycin, oleandomycin and spiramycin. *J Clin Pathol.*1959;12:163–9.
141. Reese RE, Betts RFF, Gumustop B. “Handbook of Antibiotics” Third edition, Lippincott Williams & Wilkins 2000.
142. Fluit A.C., Visser M.R., and Schmitz F.J. "Molecular Detection of Antimicrobial Resistance" *Clinical microbiology reviews*, 2001, p. 836–871.
143. Littauer P, Caugant DA, Sangvik M et al. Macrolide-Resistant *Streptococcus pyogenes* in Norway: Population Structure and Resistance Determinants *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2006;1896–1899.
144. Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P et al. Nomenclature for Macrolide and Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B Resistance Determinants *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1999; 2823–2830.
145. Arvand M, Hoeck M, Hahn H, et al. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pyogenes* isolates in Berlin. *J Antimicrob Chemother.* 2000; 46:621-623.
146. Stratton C. Surprising increase in macrolide resistance in GAS. December 17, 2001. Available at: <http://cme.medscape.com/viewarticle/419928>. Accessed January 27, 2009.
147. Martin J, Wald E, Barbadora K, et al. Very high frequency of erythromycin resistance (ER) in pharyngeal isolates of group A streptococcus (GAS) in elementary school children. *Program and abstracts of the 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; December 16-19, 2001; Chicago, Illinois. [Abstract LB-4](#).
148. Cornaglia G, Ligozzi M, Mazzariol A, et al. Resistance of *Streptococcus pyogenes* to erythromycin and related antibiotics in Italy. *Clin Infect Dis.* 1998; 27(Suppl 1): S87-92.
149. Varaldo PE, Debbia EA, Nicoletti G, et al. Nationwide Survey in Italy of Treatment of *Streptococcus pyogenes* Pharyngitis in Children: Influence of Macrolide Resistance on Clinical and Microbiological Outcomes. *Clin Infect Dis.* 1999; 29:869–873.
150. Kaplan EL, Johnson DR, Del Rosario MC, et al. Susceptibility of group A beta-hemolytic streptococci to thirteen antibiotics: examination of 301 strains

- isolated in the United States between 1994-1997. *Pediatr Infect Dis J*. 1999; 18:1069-72.
151. Martin JM, Green M, Barbadora KA, et al. Erythromycin-resistant group A streptococci in schoolchildren in Pittsburg. *N Engl J Med*. 2002; 346:1200-06.
 152. Van Leer Buter CC, Mouton JW, Klaassen CH, Handgraaf CM, Sunnen S, Melchers WJ, Sturm PD. Prevalence and molecular mechanism of macrolide resistance in beta-haemolytic streptococci in The Netherlands. *Int J Antimicrob Agents*. 2010 Mar 28. [Epub ahead of print]
 153. Fujita K, Murono K, Yoshikawa M, et al. Decline of erythromycin resistance of group A beta-streptococci in Japan. *Pediatr Infect Dis J*. 1994; 13: 1075-1078.
 154. Kano S, Kimura T. Prevalence of haemolytic streptococcal infection in Kitakyushu: Incidence and characteristics of isolates (1994-1997). *Kansenshougaku-Zasshi* 2000; 74:511-517.
 155. Carapetis JR, Steer AC, Mulholland EK, Weber M. The global burden of group A streptococcal diseases. *Lancet*. 2005, vol. 5, n°11:685-694.
 156. Walsh PS, Metzger D, Higuchi R: Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR based typing from Forensic material. *BioTechniques* 1991; 10:506-513.
 157. Alexseyev LP, Boldyreva MN, Trofimov D: Use of new variant HLA-DNA typing -mSSP at perspective selection of the donor of a nephros. *Proceedings of 2nd All-Russia scientific practical conference/ Polymerase chain reaction (PCR) at diagnostics and the control of treatment contagious disease*. Moscow. 1998, 133-134.
 158. Weidebach W, Goldberg AC, Chiarella J, Guilherme L, Snitcowsky R, Pileggi F, Kalil J. HLA class II antigens in rheumatic fever: analysis of DR locus by restriction fragment length polymorphism and oligotyping. *Hum Immunol* 1994; 40:253-258.
 159. Anastasiou - Nana MI, Anderson JL, Carquist JF, Nanas JN: HLA - DR typing and lymphocyte subset evaluation in rheumatic heart disease: a search for immune response factors. *Am Heart J* 1986, 112: 992-997.
 160. Walsh PS, Erlich H, Higuchi R: Preferential PCR amplification of alleles: mechanisms and solutions. *PCR Methods Appl* 1992; 1:241-250.

161. Erlich H, Bugawan T, Begovich A, Scharf S, Griffith R, Saiki R, Higuchi R, Walsh PS: HLA-DR, DQ and DT typing using PCR amplification and immobilized probes. *Eu J of Immunogenet* 1991, 18:33-35.
162. Krylov M, Erdesz S, Alexeeva L, Benevolenskaya L, Arnett FC, Reveille JD: HLA class II and HLA-B27 oligotyping in two Siberian native population groups. *Tissue Antigens* 1995 Nov; 46(5): 382-6.
163. Mehta CR, Patel NR and Gay RJ: Pascal program by ELF Franco & N Compos-Filho Ludwig Cancer Institute: Mathematics Software StatCalc. Sao Paulo, Brazil: *Am. Stat. Assoc*; 1985, 78:969-973.
164. Stevens DL. Streptococcal toxic-shock syndrome: spectrum of disease, pathogenesis, and new concepts in treatment. *Emerg Infect Dis*. Jul-Sep 1995; 1(3):69-78.
165. Musser JM, Hauser AR, Kim MH, Schlievert PM, Nelson K, Sclander RK. Streptococcus pyogenes causing toxic-shock-like syndrome and other invasive diseases: clonal diversity and pyrogenic exotoxin expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Apr 1 1991;88(7):2668-72.
166. Stevens DL. The toxins of group A streptococcus, the flesh eating bacteria. *Immunol Invest*. Jan-Feb 1997;26(1-2):129-50.
167. Snider LA, Swedo SE. Post-streptococcal autoimmune disorders of the central nervous system. *Curr Opin Neurol*. Jun 2003;16(3):359-65.
168. National Center for Immunization and Respiratory Diseases: Division of Bacterial Diseases. *Group A Streptococcal (GAS) Disease*. April 3, 2008.
169. Rodriguez-Iturbe B, Musser JM. The current state of poststreptococcal glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*. Oct 2008;19(10):1855-64.
170. Lamagni T, Efstratiou A, Vuopio-Varkila J. The epidemiology of severe Streptococcus pyogenes associated disease in Europe. *Euro Surveill*. Sep 1 2005; 10(9): 179-84.
171. Wajima T, Murayama SY, Sunaoshi K, Nakayama E, Sunakawa K, Ubukata K. Distribution of emm type and antibiotic susceptibility of group A streptococci causing invasive and noninvasive disease. *J Med Microbiol*. Nov 2008;57:1383-8
172. Mani R, Mahadevan A, Pradhan S, Nagarathna S, Srikanth NS, Dias M, et al. Fatal Group A Streptococcal meningitis in an adult. *Indian J Med Microbiol*. Apr 2007;25(2):169-70.

173. Lurie S, Vaknine H, Izakson A, Levy T, Sadan O, Golan A. Group A Streptococcus causing a life-threatening postpartum necrotizing myometritis: a case report. *J Obstet Gynaecol Res.* Aug 2008; 34(4 Pt 2):645-8.
174. Stevens DL. Invasive group A streptococcus infections. *Clin Infect Dis.* Jan 1992; 14(1):2-11.
175. Stevens DL, Tanner MH, Winship J, et al. Severe group A streptococcal infections associated with a toxic shock- like syndrome and scarlet fever toxin A. *N Engl J Med.* Jul 6 1989;321(1):1-7.
176. 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- 15.
177. Schroeder BM. Diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis. *Am Fam Physician.* Feb 15 2003;67(4):880, 883-4.
178. Dierksen KP, Inglis M, Tagg JR: High pharyngeal carriage rates of Streptococcus pyogenes in Dunedin school children with a low incidence of rheumatic fever. *N Z Med J.* 2000; 113(1122):496-9.
179. Breese BB, Disney FA. The accuracy of diagnosis of beta streptococcal infections on clinical grounds. *J Pediatr.* 1954 Jun;44(6):670–673.
180. Stillerman M, Bernstein SH, Smith M, Gorvoy JD. Erythromycin propionate and potassium penicillin V in the treatment of group A streptococcal pharyngitis. *Pediatrics.* 1963 Jan;31(1) Pt 1:22-8
181. Kaplan EL, Top FH, Dudding BA, Wannamaker LW. Diagnosis of Streptococcal Pharyngitis: Differentiation of Active Infection from the Carrier State in the Symptomatic Child. *J Infect Dis.* 1971;123:5, pp. 490-501.
182. Steinhoff MC, Rimoin AW. Epidemiology, Clinical Presentations, and Diagnosis of Streptococcal Pharyngitis in Developing Countries of the World. *Lancet* 1997;350:918–21
183. Rimoin AW, Walker CL, Chitale RA, Hamza HS, Vince A, Gardovska D, da Cunha AL, Qazi S, Steinhoff MC. Variation in clinical presentation of childhood group A streptococcal pharyngitis in four countries. *J Trop Pediatr* 2008; Oct;54(5): 308-12.

184. Rimoin AW, Hamza HS, Vince A, Kumar ,Walker CL, Chitale RA, da Cunha AL, Qazi S, Steinhoff MC. Evaluation of the WHO clinical decision rule for streptococcal pharyngitis. *Arch Dis Child*. 2005 Oct;90(10):1066-70.
185. Steinhoff MC, Walker CL, Rimoin AW, Hamza HS. A clinical decision rule for management of streptococcal pharyngitis in low-resource settings. *Acta Paediatr*. 2005 Aug;94(8):1038-42.
186. Leung AK, Kellner JD. Group A beta-hemolytic streptococcal pharyngitis in children. *Adv Ther*. 2004 Sep-Oct;21(5):277-87.
187. Choby BA. Diagnosis and treatment of streptococcal pharyngitis. *Am Fam Physician*. 2009 Mar 1;79(5):383-90.
188. Shulman ST. Acute streptococcal pharyngitis in pediatric medicine: current issues in diagnosis and management. *Pediatr Drugs*. 2003;5 Suppl 1:13-23.
189. Long S, Pickering L, Prober C. Principles and practice of Pediatric Infectious Diseases. 3rd Ed, Churchill Livingstone, 2008, pp.700 – 711.
190. Choby BA. Diagnosis and treatment of streptococcal pharyngitis. *Am Fam Physician*. 2009; 79(5): 383-90.
191. Dajani A, Taubert K, Ferrieri P, et al. Treatment of acute streptococcal pharyngitis and prevention of rheumatic fever. A statement for health professionals. *Pediatrics*. 1995; 96:758-764.
192. Smith A, Lamagni TL, Oliver I. Invasive group A streptococcal disease: should close contacts routinely receive antibiotic prophylaxis?. *Lancet Infect Dis*. Aug 2005;5(8):494-500.
193. Casey JR, Pichichero ME. Metaanalysis of short course antibiotic treatment for group a streptococcal tonsillopharyngitis. *Pediatr Infect Dis J*. Oct 2005;24(10):909-17.
194. Altamimi S, Khalil A, Khalaiwi KA, Milner R, Pusic MV, Al Othman MA. Short versus standard duration antibiotic therapy for acute streptococcal pharyngitis in children. *Cochrane Database Syst Rev*. Jan 21 2009;CD004872.
195. Falagas ME, Vouloumanou EK, Matthaiou DK, Kapaskelis AM, Karageorgopoulos DE. Effectiveness and safety of short-course vs long-course antibiotic therapy for group a beta hemolytic streptococcal tonsillopharyngitis: a meta-analysis of randomized trials. *Mayo Clin Proc*. Aug 2008;83(8):880-9.

196. Jasir A, Tanna A, Efstratiou A, Schalen C. Unusual Occurrence of M Type 77, Antibiotic-Resistant Group A Streptococci in Southern Sweden. *J. Clin. Microbiol.*,2001, 39, 586-590.
197. Rivera A, Rebollo M, Miro E et al. Superantigen gene profile, emm type and antibiotic resistance genes among group A streptococcal isolates from Barcelona, Spain. *J Med Microbiol* (2006), 55, 1115–1123.
198. Zampaloni C, Cappelletti P, Prenna E et al. *emm* Gene Distribution among Erythromycin-Resistant and Susceptible Italian Isolates of *Streptococcus pyogenes*. *J Clin Microbiol* (March 2003), Vol. 41, No. 3, 1307–1310.
199. Creti R, Imperi M, Baldassarri M et al. *emm* Types, Virulence Factors, and Antibiotic Resistance of Invasive *Streptococcus pyogenes* Isolates from Italy: What Has Changed in 11 Years? *J Clin Microbiol* (July 2007), Vol. 45, No. 7, 2249–2256.
200. Creti R, Gherardi G, Imperi M et al. Association of group A streptococcal *emm* types with virulence traits and macrolide-resistance genes is independent of the source of isolation. *J Med Microbiol* (2005), 54, 913-917.
201. Steer A, Law I, Matatolu L et al. Global *emm* type distribution of group A streptococci: systematic review and implications for vaccine development. *The Lancet Infectious Diseases* (October 2009), Vol 9, Issue 10, 611 – 616.
202. Guilherme L, Fae K, Oshiro S, Kalil J. Features of Streptococcus pyogenes. *Expert Reviews in Molecular Medicine* 2005 December Vol. 7; Issue 28; 9
203. Kotb M, Norrby-Teglund A, Mcgeer A, El-Sherbini H, Dorak M.T, Khurshid A, Green K, Peeples J, Wade J, Thomson G, Schwartz B, Low DE. Immunogenetic and molecular bases for differences in outcomes of invasive group A Streptococcal infections. *Nat Med* 2002, 8(12):1398-1404.
204. Guilherme L, Fae K, Oshiro S, Kalil J. Crossreactivity of M-protein-reactive antibodies with human proteins. *Expert Reviews in Molecular Medicine* 2005 December Vol. 7; Issue 28; 9
205. Koyanagi T, Koga Y, Nishi H, Toshima H, Sasazuki T, Imaizumi T, Kimura A. DNA typing of HLA class II genes in Japanese patients with rheumatic heart disease. *J Mol Cell Cardiol* 1996 Jun; 28 (6): 1349 - 53.
206. Carlquist JF, Ward RH, Meyer KJ, Husebye D, Feolo M, Anderson JL. Immune response factors in Rheumatic heart disease: meta – analysis of HLA-

- DR associations and evaluation of additional class II alleles. *J Am Coll Cardiol*; 1995 Aug; 26 (2):452-7.
207. Maharaj B, Hammond MG, Appadoo B, Leary WP, Phil D, Pudifin DJ. HLA - A, B, DR and DQ antigens in black patients with severe chronic rheumatic heart disease. *Circulation*; 1987; 76: 259-261.
 208. Ozkan M, Carin M, Sonmez G, Senocak M, Ozdemir M, Yakut C. HLA antigens in Turkish race with rheumatic heart disease. *Circulation*; 1993; 87: 1974-1978.
 209. Sirithunyanont Ch, Sura Th, Thamneum S, Busabarat M, Yamwong S, Sritara P, Vejbaesya S, Tanomsup S, Boonbaichaipruk S, Likitthanasombat K, Chandnanamatha P. Association of Human Leukocyte Antigens in Thais with Rheumatic Heart Disease. *Intern Med J Thai* 2001; 17: 326-334.
 210. Debaz H, Olivo A, Perez-Luque E, Vasquez-Garcia MN, Burguete A, Chavez-Negrete A, Velasco C, Arguero R, Gorodeszky C. DNA Analysis of class II alleles in rheumatic disease in Mexicans. 22nd Annual ASHI Meeting Abstracts. *Human Immunology*. 1996; 49 (suppl): 63.
 211. HLA Antigens in Brazilian Patients with Rheumatic Heart Disease. [www.brazilpednews.org.br/].
 212. Visentainer JE, Pereira FC, Dalalio MM, Tsuneto LT, Donadio PR, Moliterno RA: Association of HLA - DR7 with rheumatic fever in the Brazilian population. *J Rheumatol* 2000 Jun; 27 (6): 1518 - 20.
 213. Bhat MS, Wani BA, Koul PA, Bisati SD, Khan MA, Shah SU: HLA antigen pattern of Kashmiri patients with rheumatic heart disease. *Indian J Med Res* 1997 Jun; 105: 271 - 4.
 214. Thorsby E. HLA associated diseases. A summary of the 12th International Histocompatibility workshop component. In: Charron D, ed. HLA: Genetic Diversity of HLA: Functional and Medical Implications. Paris, France: EDK; 1996; 91-96.
 215. Kotb M. Infection and autoimmunity: a story of the host, the pathogen, and the copathogen. *Clin Immunol Immunopathol*. 1995; 74: 10-22.
 216. Schmidt D, Verdager J, Nuzhat A, Santamaria P. A mechanism for the major histocompatibility complex-linked resistance to autoimmunity. *J Exp Med*. 1997; 186: 1059-1075.
 217. Hill AVS. HLA and infection. *J R Coll Physicians Lond*. 1992; 26: 11-16.

218. Ayoub EM, Kotb M, Cunningham MW. Rheumatic fever pathogenesis. In: Stevens DL, Kaplan EL, eds. *Streptococcal Infections*. New York, NY: Oxford University Press.
219. Nepom GT. Class II antigens and disease susceptibility. *Annu Rev Med*. 1995; 46: 17-25.
220. Sinha AA, Lopez MT, McDevit HO. Autoimmune diseases: the failure of self tolerance. *Science*. 1990; 248: 1380-1388.
221. Arnett FC: Histocompatibility typing in the rheumatic diseases. Diagnostic and prognostic implications. *Rheum Dis Clin North Am*. 1994 May; 20(2):371-90.
222. Graham RR, Ortmann WA, Langefeld CD, Jawaheer D, Selby SA, Rodine PR, Baechler EC, Rohlf KE, Shark KB, Espe KJ, Green LE, Nair RP, Stuart PE, Elder JT, King RA, Moser KL, Gaffney PM, Bugawan TL, Erlich HA, Rich SS, Gregersen PK, Behrens TW: Visualizing human leukocyte antigen class II risk haplotypes in human systemic lupus erythematosus. *Am J Hum Genet* 2002 Sep; 71(3):543-53.
223. Cid MC, Ercilla G, Vilaseca J, Sanmarti R, Villalta J, Ingelmo M, Urbano-Marquez A. Polymyalgia rheumatica: a syndrome associated with HLA-DR4 antigen. *Arthritis Rheum* 1988 May;31(5): 678-82.
224. Jginghan B, Mehra NK, Reddy KS, Taneja V, Vaidya MC, Bhatia ML. HLA, blood groups and secretor status in patients with established rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Tissue Antigens* 1986 Mar; 27(3): 172-8.
225. Reveille JD, Ball EJ, Khan MA. HLA-B27 and genetic predisposing factors in spondyloarthropathies. *Curr Opin Rheumatol* 2001 Jul; 13(4): 265-72.
226. Gerbase-DeLima M, Scala LC, Temin J, Santos DV, Otto PA. Rheumatic fever and the HLA complex. A cosegregation study. *Circulation* 1994;89;138-141.
227. Gu J,Yu B,Zhou J. HLA -DQA1 genes involved in genetic susceptibility to rheumatic fever and rheumatic heart disease in southern Hans. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 1997 May; 36 (5): 308 - 11.
228. Wani BA: Study of HLA-A, B, C, DR, DQ profile of patients with established rheumatic heart disease in Kashmir. *Indian Heart J* 1997 Mar-Apr; 49(2): 152-4.

229. Olmez U, Turgay M, Ozenirler S, Tutkak H, Duzgun N, Duman M, Tokgoz G. Association of HLA class I and class II antigens with rheumatic fever in a Turkish population. *Scand J Rheumatol* 1993; 22 (2): 49 - 52.
230. Maharaj B, Khedun SM, Hammond MG, van der Byl K. HLA - A, B, DR, and DQ antigens in Indian patients with severe chronic rheumatic heart disease. *JPN Heart J* 1997 Sep; 38 (5): 663 - 8.
231. Fae KC, Diefenbach da Silva D, Oshiro SE, Tanaka AC, Pomerantzeff PMA, Douay C, Charron D, Toubert A, Cunningham MW, Kalil J, Guilherme L. Mimicry in recognition of cardiac myosin peptides by heart-intralesional T cell clones from rheumatic heart disease. *J Immunol* 2006, 176: 5662-5670.
232. Ellis NMJ, Li Y, Hildebrand W, Fischetti VA, Cunningham MW. T cell mimicry and epitope specificity of cross-reactive T cell clones from rheumatic heart disease. *J Immunol* 2005, 175: 5448-5456.
233. Guilherme L, Dulphy N, Douay C, Coelho V, Cunha-Neto E, , Oshiro SE, Assis RV, Tanaka AC, Pomerantzeff PMA, Charron D, Toubert A, Kalil J. Molecular evidence for antigen-driven immune responses in cardiac lesions of rheumatic heart disease patients. *International Immunology* 2000, Vol 12, Num 7: 1063-1074.
234. Roberts S, Kosanke S, Terrence Dunn S, Jankelow D, Duran CM, Cunningham MW. Pathogenic mechanisms in rheumatic carditis: focus on valvular endothelium. *J Infect Dis* 2001 Feb 1; 183(3):507-11.
235. Denbow CE, Barton EN, Smikle MF. The prophylaxis of acute rheumatic fever in pair of monozygotic twins. *West Indian Med J* 1999 Dec;48(4):242-3.
236. Guilherme L, Fae KC, Oshiro SE, Tanaka AC, Pomerantzeff PM, Kalil J. T cell response in rheumatic fever: crossreactivity between streptococcal M protein peptides and heart tissue proteins. *Curr Protein Pept Sci* 2007 Feb;8(1):39-44.
237. Hernandez-Pacheco G, Aguilar-Garcia J, Flores-Dominguez C, Rodriguez-Perez JM, Perez-Hernandez N, Alvarez-Leon E, Reyes PA, Vargas-Alarcon G. MHC class II alleles in Mexican patients with rheumatic heart disease. *Int J Cardiol* 2003 Nov; 92(1):49-54.
238. Guilherme L, Fae K, Oshiro SE, Kalil J. HLA class II alleles associated with rheumatic fever and rheumatic heart disease. *Expert Reviews in Molecular Medicine* 2005 December Vol. 7; Issue 28; 9.

14. PIELIKUMS

14.1. 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.

14.2. 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 Hugendmedizin*. 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. Zavadska 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 Ņ, 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 Ņ, 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.

14.3. 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.

14.4. Pētījuma II sadaļas anketas

Datums: __/__/__
DD MM GG

Pacients ID#: ____ - ____

PACIENTA ATLASĒS FORMA (VIZĪTE 1)

Aizpildiet šo anketu bērniem, kuri vecāki par 24 mēnešiem un jaunāki par pilniem 12 gadiem, ar klepu vai drudzi vai iekaisušu kaklu, vai faringeālu eritēmu.

Identifikācija

1. Bērna vārds, uzvārds: _____
2. Vecāku vai aizbildņu vārdi, uzvārdi _____
3. Telefons _____
4. Adrese _____
5. Mājvietas attālums no slimnīcas _____ (kilometros)
- 5a. Nepieciešamais laiks ceļā no mājām līdz slimnīcai ____ stundas ____ minūtes
6. Dzimšanas datums: __/__/__
DD MM GG
- 6a. Vecums ____
- 6b. Ja mazāk kā 1 gads, mēneši: ____
7. Dzimums: (Apvelciet vienu)
 1. vīrietis
 2. sieviete

Tiesības būt izraudzītam pētījumam

8. Bērni drīkst būt izraudzīti pētījumam, ja atbilst sekojošiem kritērijiem

vecums: > kā pilni 24 mēneši un < kā pilni 12 gadi

0. jā
1. nē

un

ārsts novēro vai vecāki/bērns atzīmē > kā vienu no sekojošiem simptomiem:

- | | | |
|--------------------|-------|-------|
| klepus | 0. nē | 1. jā |
| drudzis | 0. nē | 1. jā |
| iekaisis kakls | 0. nē | 1. jā |
| faringeāla eritēma | 0. nē | 1. jā |

Izslēgšanas kritēriji

Bērns netiek iekļauts pētījumā, ja atbilst kādam no sekojošiem kritērijiem:

(Lūdzu, apvelciet jā vai nē katram kritērijam)

- | | | |
|--|-------|-------|
| Dokumentēta antibiotiku lietošana pēdējās 3 dienās | 0. nē | 1. jā |
| Dokumentēts Penicilīns G i/m pēdējās 28 dienās | 0. nē | 1. jā |
| Apskates brīdī vēro impetigo vai izdalījumus no auss | 0. nē | 1. jā |
| Anamnēzē reimatisks drudzis vai reimatisks sirds kaite | 0. nē | 1. jā |
| Anamnēzē alerģija uz Amoksicilīnu vai Penicilīnu | 0. nē | 1. jā |

Datums: _ _ / _ _ / _ _
DD MM GG

Pacients ID#: _ _ _ _ - _ _ _

Citas infekcijas , kas prasa antibiotiku lietošanu	0. Nē	1. Jā
Citas vadošo orgānu smagas slimības, kas prasa hospitalizāciju		
<u>IZNEMOT</u> : Malnutrīcija vai Tuberkuloze	0. Nē	1. Jā
Iepriekš iesaistīšanās pētījumā	0. Nē	1. Jā
Ārsta noteikta sēkšana, bronhīts vai pneimonija	0. Nē	1. Jā
Vecāki nav spējīgi atgriezties nākamai vizītei	0. Nē	1. Jā
Vecāki vai aizbildņi nav spējīgi dot piekrišanu	0. Nē	1. Jā

Datums: _/_/_/____
DD MM GG

Pacients ID#: _____ - _____

PACIENTA FIZIKĀLĀS IZMEKLĒŠANAS FORMA (VIZĪTE 1)

SIMPTOMU	ANAMNĒZE PĒDĒJO 5 DIENU LAIKĀ		
Vecākiem/Aizbildņiem un bērniem pajautāt vai bērnam pēdējo 5 dienu laikā ir bijuši sekojoši simptomi	Lūdzu atzīmēt atbilstošā ailītē		Ja NOVĒRO, lūdzu, atzīmēt cik dn to novēro
SIMPTOMS	NOVĒRO	IZTRŪKST	ILGUMS Dn skaits, simptoms novērots
Drudzis (Vecāki/Aizbildņi atzīmē drudzi vai T pacēlumu virs 38.1°C rektāli vai 38.5°C orāli)			
Drebuļi (aukstuma sajūta)			
Iesnas (izdalījumi no deguna)			
Aizlikts deguns (pieaugošas grūtības elpot)			
Iekaisis kakls (sāpes kaklā)			
Grūtības vai sāpes rīkot			
Klepus			
Vemšana			
Sāpes ausīs			
Vēdera sāpes			
Samazināta aktivitāte (samazināta salīdzinoši ar normālo ikdienas)			
Traucēts miegs (izmainīts normālais miega modelis)			
Aizsmakums (novēro aizsmakušu balsi, kas atšķiras no normālās)			
Citas piebildes(uzskaitiet)			

Vēsture	Jā	Nē	Epizožu skaits
Vai šim bērnam ir Streptokoku faringītu vēsture (apstiprina veselības darbinieks) pēdējā gada laikā?			
Vai kādam citam ģimenes loceklim pēdējo 5 dienu laikā ir bijis iekaisis kakls?			

VITĀLĀS PAZĪMES

Sirds ritms: _ _ _ *sitieni minūtē*

Temperatūra: _ _ . _ C° (Lūdzu, ierakstiet temperatūru un apvelciet metodi)

1. Aksillārā
2. Orālā
3. Ausī

Garums: _ _ _ centimetros (garums centimetra robežās, stāvot kājās)

Svars: _ _ . _ kilogramos (svars 0.1 kg robežās)

Datums: _/_/_/____
DD MM GG

Pacients ID#: _____-____

NOVĒROTĀS PAZĪMES			
Lūdzu, izmeklējiet bērnu un atzīmējiet vai pazīmes novēro vai tās iztrūkst	Atzīmējiet	atbilstošā ailītē	
PAZĪME	NOVĒRO	IZTRŪKST	PIEZĪMES
Klepus (konsultācijas laikā vēro klepu)			
Aizsmakums (vēro balss aizsmakumu)			
Faringeāla Eritēma (Pharynx gļotādas apsārtums, kas ir sārtāks kā vaigu gļotāda)			
Tonsillāra Eritēma (mandeļu apsārtums)			
Mugurējā Eritēma (riekles mugurējās sienas apsārtums)			
Fauciāla Eritēma (apsārtums, kas pāriet no mutes uz pharynx)			
1+ Mandeļu palielināšanās (pakāpe, par kādu mandeles ir paplašinājušās uz viduslīniju: noteikts, ja mandeles ir $\leq 25\%$ no viduslīnijas)			
2+ Mandeļu palielināšanās (pakāpe, par kādu mandeles ir paplašinājušās uz viduslīniju: noteikts, ja mandeles ir $>25\%$ un $\leq 50\%$ no viduslīnijas)			
3+ Mandeļu palielināšanās (pakāpe, par kādu mandeles ir paplašinājušās uz viduslīniju: noteikts, ja mandeles ir $>50\%$ un $\leq 75\%$ no viduslīnijas)			
4+ Mandeļu palielināšanās (pakāpe, par kādu mandeles ir paplašinājušās uz viduslīniju: noteikts, ja mandeles saskaras)			

Tonsillārs eksudāts (balts vai dzeltens saturs mandelēs)			
Kakla limfmezglu jūtīgums (Jūtīgums pie maigas palpācijas, apstiprināms pie apgalvojuma vai vērojot sejas izteiksmi)			
Nāss ekskoriācijas (plaisas vai bojājumi ap nāsīm)			
Faringeāls eksudāts(balts vai dzeltens saturs rīklē)			
Aukslēju petehijas(novēro bojājumus aukslējas)			
“Aveņu “mēle (mēle ar palielinātām papillām)			

Lielākā kakla limfmezgla diametrs (jebkurš diametrs >1): _ . _ (centimetri)

Datums: _/_/_/____
DD MM GG

pacients ID#: _____ - ____

PACIENTA FIZIKĀLĀS IZMEKLĒŠANAS FORMA (VIZĪTE 2)

Vai bērns ir slims patreiz? (Lūdzu, apvelciet vienu)

0. Nē

1. Jā

Ja Jā, lūdzu, veiciet fizikālo izmeklēšanu.

SIMPTOMU	ANAMNĒZE PĒDĒJO 5		DIENU LAIKĀ
Vecākiem/Aizbildņiem un bērniem pajautāt vai bērnam pēdējo 5 dienu laikā ir bijuši sekojoši simptomi	Lūdzu atzīmēt	atbilstošā ailītē	Ja NOVĒRO, lūdzu atzīmēt cik dienas to novēro
SIMPTOMS	NOVĒRO	IZTRŪKST	ILGUMS Dn skaits
Drudzis (Vecāki/Aizbildņi atzīmē drudzi vai Temperatūras pacēlumu virs 38.1°C rektāli vai 38.5°C orāli)			
Drebuļi (aukstuma sajūta)			
Iesnas (izdalījumi no deguna)			
Aizlikts deguns (Pieaugošas grūtības elpot)			
Iekaisis kakls (sāpes kaklā)			
Grūtības vai sāpes rijot			
Klepus			
Vemšana			
Sāpes ausīs			
Vēdera sāpes			
Samazināta aktivitāte (samazināta salīdzinoši ar normālo ikdienas)			
Traucēts miegs (izmainīts normālais miega modelis)			
Aizsmakums (novēro aizsmakušu balsi, kas atšķiras no normālās)			
Citas piebildes(uzskaitiet)			

VITĀLĀS PAZĪMES

Sirds ritms: _ _ _ *sitieni minūtē*

Temperatūra: _ _ . _ C° (Lūdzu, ierakstiet temperatūru un apvelciet metodi)

1. Aksillārā
2. Orālā
3. Ausī

CITI		PATREIZĒJIE STĀVOKĻI	
Lūdzu, izmeklējiet bērnu un atzīmējiet, ja citus stāvokļus novēro		Lūdzu atzīmēt atbilstošā ailītē	
CITI STĀVOKĻI	NOVĒRO	IZTRŪKST	PIEZĪMES
Smaga malnutricija (Marasms, Kvašiorkors, Olbaltumu enerģētiska trūkums)			
Vitamīna A deficīts (ārsts novēro Bitota plankumus vai atzīmē nakts aklumu)			
Diareja (Vairāk kā 3 patoloģiskas vēdera izejas pēdējo 24 h laikā)			
Tuberkuloze (diagnozi uzstādījis profesionālis)			
Citi (uzskaitiet)			

PIELIETOTĀ ĀRSTĒŠANA

Lūdzu, izvēlieties atbilstošo ailīti un norādiet devu!

MEDIKAMENTS	DIENAS DEVA (mg)	ILGUMS (# dienas)
Penicilīns p/o		
Penicilīns i/m (BenzethineG)		
Ampicilīns p/o		
Eritromicīns p/o		
Azitromicīns p/o		
Amoksicilīns p/o		
Citi (uzskaitiet)		

14.5. Praktiskās vadlīnijas

Vadlīnijas A grupas β hemolītiskā Streptokoka infekcijas diagnostikai un terapijai

Dace Zavadska^{1,2}, Ilze Grope^{1,2}, Ģirts Breicis², Dace Gardovska^{1,2}

¹Rīgas Stradiņa universitāte, Pediatrijas katedra

²Bērnu klīniskā universitātes slimnīca, Bērnu slimību klīnika

2009

Ievads

Jēdzienu *Streptococcus* pirmo reizi aprakstīja Billroth (1874)[1], inficētā brūcē redzot ķēdītēs novietotus kokkus. Pirmie nozīmīgākie izrādījās Pasteur (1879) un Rosenbach (1884)[2] apraksti, kuros tie aprakstīja *S.pyogenes* morfoloģiju, kultūras izskatu un virulenci pelēm un trušiem. Kopš tā laika ģintī ir iekļautas plaša spektra baktērijas, sākot no benigniem organismiem, ko lieto piensaimniecībā līdz pat nopietniem cilvēku un vairāku dzīvnieku sugu patogēniem [3].

Streptococcus ģints, šādi nosaukta tās tipiskās morfoloģijas dēļ (no grieķu valodas *streptos*, lokans; *coccus*, ogu graudiņš), ir dažādu Gram pozitīvu kokku sakopojums, kas parasti novietoti pāros vai ķēdītēs, tie ir nekustīgi, neveido sporas un ir katalāzes-negatīvi [3].

Visas *Streptococcus* sugas ir obligāti parazīti gļotādās, kā arī vairākas sugas sastopamas uz cilvēka un dažu dzīvnieku zobu virsmām. Daudzas no sugām dominējoši visa mūža garumā ir augšējo elpceļu gļotādu komensiālās mikrofloras sastāvā, daļa no tām kolonizē cilvēka un vairāku dzīvnieku gremošanas un urīna traktus. Dažas no sugām ir atrodamas tikai uz zobu virsmām un parādās tur tikai pēc zoba izšķīlšanās. Lielākā daļa no šīs rezidējošās floras sastāvdaļām izraisa infekciju tikai nokļūstot normā sterilā organisma vidē vai imūnkompromitētiem pacientiem. Savukārt citas sugas ir īsti patogēni, kas izplatās no personas personai neimūniem indivīdiem [3,4,5], kur nosacīti tiek pieskaitīts arī A grupas streptokoks. Tā nēsāšana augšējos elpceļos ir sastopama nelielos procentos pieaugušiem indivīdiem un līdz 10% bērniem [6,7,8].

A grupas streptokoks, saukts arī par *S.pyogenes*, ir nopietns izraisītājs tādām strutainām saslimšanām kā faringīts, skarlatīna, piodermija, *erysipelas* vai „roze”, celulīts, perianāls celulīts, vaginīts, pneimonija, endokardīts, perikardīts, septisks artrīts, osteomielīts, miozīts, puerperāla sepse, nekrotizējošs fascīts, streptokoka toksiskā šoka sindroms, bakteriēmija, kā arī nestrutainām AGBHS infekcijas komplikācijām - reimatiskajam drudzis un poststreptokoku glomerulonefrītam. Lai gan streptokoks ir biežākais bakteriālas etioloģijas akūta faringīta izraisītājs, pēdējās desmitgadēs tas kļuvis bēdīgi slavens savas spējas izraisīt dramatiskas, dzīvībai bīstamas saslimšanas dēļ, kam veltītas simtos un tūkstošos skaitāmas zinātniskās publikācijas [4,5,9-12].

Biežākā A grupas streptokoka infekcija ir akūts tonsilofaringīts. Strutainas komplikācijas, ieskaitot vidusauss iekaisumu, sinusītu, peritonsillāru vai

retrofaringeālu abscesu, un strutainu kakla limfmezglu iekaisumu novēro tikai dažiem pacientiem, gk. neārstētiem indivīdiem.

Skarlatīna attīstās kopā ar akūtu faringītu, reti kopā ar piodermiju vai inficētu brūci.

Maziem bērniem (vecumā no 1-3 gadiem) AGBHS respiratora infekcija sākotnēji norit kā purulents rinīts, attīstās ieilgusi saslimšana ar vidējas smaguma pakāpes drudzi, uzbudināmību un anoreksiju (streptokoku drudzis). Tāda klasiska AGBHS infekcijas izpausme augšējos elpceļos kā akūts faringīts, bērniem jaunākiem par 3 gadu vecumu nav raksturīga [4].

Otrā biežākā AGBHS infekcijas vieta ir āda. Streptokoku ādas infekcijas (t.i., piodermija vai impetigo) var komplikēties ar akūtu glomerulonefrītu, kas periodiski parādās epidēmiju veidā. Akūts reimatiskais drudzis nav pierādīta komplikācija streptokoku ādas infekcijai. [4]

Nekrotizējošais fascīts un citas invazīvas AGBHS infekcijas biežāk vēro bērniem ar vējbakām. Invazīvās AGBHS infekcijas var noritēt smagi, ar vai bez fokālā infekcijas perēkļa lokalizēšanu, un var būt asociētas ar streptokoku toksiskā šoka sindroma attīstību [13-17].

Pastāv hipotēze par asociāciju starp AGBHS infekciju un pēkšņiem obsesīvi – kompulsīviem traucējumiem un/vai tikiem, ko dēvē par ar streptokoku asociētiem pediatrikiem autoimūniem neiropsihiatriskiem traucējumiem jeb PANDAS (*pediatric autoimmune neuropsychiatric disorder associated with streptococci*). Šī hipotēze pašreizējā pierādījumu līmeni pasaulē tomēr vēl nav pilnībā pierādīta [11,18].

AGBHS terapija

Veiksmīga terapija AGBHS infekcijas gadījumā ir lielā mērā atkarīga no:

- pareizas diagnozes,
- aģenta efektivitātes,
- līdzestības terapijai.

Industrijas sponsorētos un pētnieku iniciētos pētījumos, terapijas veiksmē ir atkarīga no klīniskiem/mikrobioloģiskiem kritērijiem, un, jo sevišķi, klīniskās atbildes un eradikācijas rādītājiem. Šādos apstākļos pacients ir augsti motivēts, bieži vien kompensēts, un parasti rūpīgi tiek uzraudzīts, lai nodrošinātu stingru terapijas ievērošanu un kursa pabeigšanu.

Turpretī, mazāk kontrolētās ikdienas klīniskajās ārstniecības praksēs, stingra terapijas ievērošana būtiski ietekmē saslimšanas iznākumu. Tādējādi, klīniskās ārstniecības apstākļos, antimikrobās terapijas izvēle būtu jābalsta uz aģenta spēju nodrošināt patogēna eradikāciju un terapijas līdzestību, jo īpaši terapijas kursa pilnīgu pabeigšanu [9,10].

Daudzi antimikrobie aģenti tiek minēti kā efektīvi AGBHS faringīta ārstēšanā. To skaitā ir penicilīns un tā radnieciskie aģenti (piem., ampicilīns, amoksicilīns, pussintētiskie penicilīni), kā arī vairums cefalosporīnu, makrolīdi un klindamicīns [19-23].

Ārstēšana un izvēles antimikroba līdzeklis AGBHS infekcijas gadījumā ir atkarīgi no klīniskā sindroma, tomēr kopumā izvēles līdzeklis vairumā gadījumu ir penicilīns.

Penicilīns V (phenoxymetilpenicilīns) ir izvēles antimikroba līdzeklis akūta AGBHS faringīta ārstēšanā. Pasaulē vēl joprojām nav izdalīta tāda AGBHS kultūra, kas uzrādītu fenotipisku vai genotipisku rezistenci pret penicilīnu. Bieži streptokoka faringīta ārstēšanā tiek lietoti arī ampicilīns un amoksicilīns, tomēr mikrobioloģiski tiem nav priekšrocību salīdzinājumā ar penicilīnu. Streptokoku faringīta terapijā izvēles līdzeklis ir penicilīns V, un salīdzinoši ar penicilīnu G, ir skābes izturīgs un nav būtiskas atšķirības tā uzņemšanā saistībā ar ēdienu. Biežākais penicilīna terapijas neizdošanās iemesls ir pacienta nelīdzestība, kad terapija tiek pārtraukta pēc 3-4 dienām pacienta pašsajūtas uzlabošanās dēļ.

Penicilīna terapija pasargā no ARD attīstības vēlāk, pat uzsākta 9 dienas pēc akūta streptokoka faringīta epizodes sākuma, saīsina arī klīnisko gaitu, samazina transmisijas risku, kā arī samazina 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 rezultātus.

Penicilīns G (benzatīnpenicilīns) tiek rekomendēts gadījumos, kad pacienta līdzestība ir apšaubāma. Intramuskulārā šī preparāta injekcija var būt sāpīga, tāpēc bieži tas tiek kombinēts ar Penicilīnu G (prokaīnpenicilīnu), lai mazinātu diskomfortu injekcijas vietā. Gadījumos, ja tiek lietota šī kombinācija, ir būtiski pārliecināties, lai tiktu nozīmēta adekvāta benzatīnpenicilīna deva. Ieteicamā kombinācija ir 900 000 DV benzatīnpenicilīna G un 300 000 DV prokaīnpenicilīna G.

Šaura spektra cefalosporīni 10 dienu kursā ir pieņemama alternatīva penicilīna terapijai pacientiem, kuri ir penicilīna alerģiski. Taču 5% penicilīna-alerģiskie pacienti būs alerģiski arī pret cefalosporīnu grupu. Pacientiem ar I tipa hipersensitivitāti pret penicilīnu grupu cefalosporīnu grupas preparātus nozīmēt nedrīkst. Šaura spektra cefalosporīni perorālā veidā ir efektīvi streptokoku faringīta ārstēšanā.

Orāli nozīmēti makrolīdi varētu būt alternatīva iepriekš minēto penicilīna un cefalosporīnu - alerģisko pacientu grupā, taču ordinējot makrolīdus vienmēr jāņem vērā populācijā cirkulējošo streptokoku makrolīdu rezistences dati. Latvijā rezistence pret makrolīdiem ir 78% [24]. Tāpēc Latvijas apstākļos makrolīdu grupu AGBHS infekcijas ārstēšanā izvēlēties nevajadzētu.

Klindamicīns – pacientiem ar invazīvu AGBHS infekciju terapijā ieteicams lietot kombināciju i/v penicilīns kombinācijā ar klindamicīnu. Tā kā invazīvas streptokoku infekcijas patogēnēzē liela loma ir toksīnu medītājam bojājumam, proteīnu sintēzes inhibitori, tādi kā klindamicīns, ir iesakāmi pievienošanai terapijā.

Klindamicīna efektivitāte pētījumos ir pierādīta AGBHS nēsātāju eradikācijas terapijā.

Šo praktisko vadlīniju mērķis ir piedāvāt rekomendācijas AGBHS izraisītu saslimšanu precīzai diagnostikai un optimālai ārstēšanai. To vēlamie rezultāti ir akūta reimatiskā drudža profilakse, strutaino komplikāciju prevencija, klīnisko simptomu un pazīmju atpazīstamības uzlabošana, AGBHS transmisijas kontakta ceļā samazināšana un neracionālas antimikrobās terapijas izraisīto potenciālo blakusefektu minimizācija.

AGBHS akūts faringīts

A grupas beta hemolītiskā streptokoka (AGBHS) izraisīts faringīts ir bieža bērnu akūta slimība, kura neatkarīgi no klīniskās gaitas, var radīt nopietnas sekas, tai skaitā reimatisko drudzi (RD), strutainas komplikācijas un sepsi. Ambulatorā praksē ir grūti noteikt faringīta etioloģiju bez laboratorās izmeklēšanas. Diemžēl, bakterioloģiskā izmeklēšana vai plaši piedāvātās ātrās streptokoku noteikšanas metodes nedod iespējas atšķirt akūtu streptokoku faringītu no citas etioloģijas faringītiem bērniem ar streptokoku nēsāšanu. Faringīta gadījumā iespējama neracionāla antimikrobā terapija, jo ārsti labprāt nozīmē antibiotikas bērniem ar eksudatīvu faringītu, bet no tām atsakās katarāla iekaisuma gadījumos.

AGBHS faringīta diagnoze

Lai gan bieži akūta bakteriālas etioloģijas faringīta iemesls ir AGBHS, tomēr tikai neliela daļa pacientu katrā akūta faringīta klīnikas epizodē ir inficēti ar A grupas streptokoku. Turklāt, A grupas streptokoka etioloģijas faringīts ir vienīgā biežāk sastopamā akūta faringīta forma, kuras ārstēšanā antimikrobā terapija ir indicēta. Tādējādi, redzot pacientu ar akūtu faringītu, ir jāpieņem klīniskais lēmums, vai faringīts ir saistīts ar A grupas streptokoku [4,6,7,19].

Streptokoka faringīta un citu faringītu (visbiežāk vīrusu etioloģijas) pazīmes un simptomi ir līdzīgi. Inkubācijas periods streptokoku faringīta gadījumā ir 2-5 dienas. Klasiskā AGBHS faringīta klīniskā triāde ir drudzis, faringeāls eksudāts un priekšējā kakla limfadenopātija, taču šāda klīniskā aina pie AGBHS faringīta pēc literatūras datiem ir tikai aptuveni 15% pacientu [9,10].

Tabula 1.

Klīniskā un epidemioloģiskā atrade saistīta ar AGBHS faringītu:

Pēkšņs sākums
Iekaisis kakls
Drudzis
Galvassāpes
Slikta dūša, vemšana un sāpes vēderā

Rīkles un mandeļu iekaisums
Saliņveida eksudāts
Jūtīgi, palielināti priekšējie kakla limfmezgli
Pacienta vecums 5 – 15 gadi
Vēro ziemas vai agra pavasara periodā
Anamnēzē saskare ar ierosinātāju

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. Pētījumā [8], kas tika veikts BKUS laika posmā no 2002.-2006.gadam eksudatīvs faringīts bērniem ar akūtu Streptokoku infekciju tika novērots tikai 32% (n=12), kā rezultātā 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.

Tā kā klīniskās pazīmes akūta faringīta gadījumā nav patognomas, ātrais streptokoku noteikšanas eksprestests (ĀSET) būtu veicams, lai apstiprinātu diagnozi. Eksprestests vairākos pētījumos sevi pierādījis kā ātrs vadošs norādījums antibakteriālās terapijas uzsākšanai akūta faringīta gadījumā. [6,7,9,10,19,20,25-27]. Taču, diagnozes apstiprināšanai negatīva eksprestesta gadījumā jāveic uzsējums no rīkles mugurējās sienas AGBHS izdalīšanai.

2002.gadā Amerikas Pediātru Akadēmija savās vadlīnijās AGBHS faringīta gadījumā rekomendēja, ka visu AGBHS ekstretestu rezultāti jāapstiprina ar uzsējumu no rīkles mugurējās sienas. Pat ja eksprestests ir negatīvs ir jāveic sekojošs uzsējums no rīkles mugurējās sienas [6].

Laboratorie, AGBHS klātbūtni rīkles mugurējā sienā apstiprinošie testi ir uzsējums no rīkles mugurējās sienas un ātrais antigēna noteikšanas tests jeb eksprestests, kā arī seroloģiskā izmeklēšana, nosakot (antistreptolizīns O) ASLO un/vai antiDNaseB (anti deoksiribonukleāze B) titra pieaugumu 21-32 dienas pēc akūta faringīta epizodes [4,5].

Uzsējumam no rīkles mugurējās sienas ir jābūt pareizi un precīzi paņemtam, t.i. ar spēcīgu triepienu no abām mandelēm un rīkles mugurējās sienas. AGBHS kultūru pierāda uzsējot uz aitas asiņu agara. Lateksa aglutinācija, fluorescento antivielu, koaglutinācijas vai precipitācijas tehnikas palīdz diferencēt uz agara augošos citus hemolītiskos streptokokus. Viltus negatīvus, pareizi un adekvāti apmācīta personāla paņemtos paraugos, rīkles mugurējās sienas kultūru uzsējumus sastop aptuveni 10 % simptomātisku pacientu. Koloniju skaits uz asins agara plates nenorāda par patiesu akūta AGBHS infekciju vai AGBHS nēsāšanu.

Pasaulē ir pieejami vairāki ātrie diagnostiskie testi AGBHS noteikšanai, kuru specifitāte kopumā ir augsta, taču jutības rādītāji pētījumos būtiski variē. Tāpat kā uzsējumos, arī eksprestestu jutība ir atkarīga no pareizas tehnikas, paraugu paņemot un testu izpildot. Tādēļ negatīvs ātrais streptokoka eksprestests ir jāapstiprina ar uzsējumu no rīkles mugurējās sienas.

Tādi laboratorie izmeklējumi kā leukocītu skaits, eritrocītu grimšanas ātrums, C reaktīvais olbaltums un prokalcitonīns, vērtēti kopainā ar citu klīnisko un laboratoro atradi, varētu būt noderīgi lēmuma par antimikrobās terapijas uzsākšanas nepieciešamību pieņemšanā.

Kritēriji akūta AGBHS faringīta diagnostikai

- Pozitīvs AGBHS exprestests
- Uzsējumā no rīkles mugurējās sienas izdalīts AGBHS
- 2× pieaudzis ASLO un/vai antiDNaseB titrs pēc 3-4 nedēļām pēc akūta faringīta epizodes.

Kritēriji AGBHS nēsāšanai

- Pozitīvs AGBHS exprestests
- Uzsējumā no rīkles mugurējās sienas izdalīts AGBHS
- Nav 2× pieaudzis ASLO un/vai antiDNaseB titrs pēc 3-4 nedēļām pēc akūta faringīta epizodes vai paaugstināts (virs normas) ASLO un/vai antiDNaseB titrs jau akūta faringīta epizodes laikā un nav 2× pieaudzis pēc 3-4 nedēļām.

Indikācijas AGBHS infekcijas testēšanai

Faktori, kas jāņem vērā, lai uzsāktu pacienta testēšanu AGBHS infekcijai ir:

Pacienta vecums

AGBHS akūts faringīts bērniem jaunākiem par 3 gadiem nav raksturīgs, tomēr ir bijuši ziņojumi par uzliesmojumiem pirmsskolas izglītības iestādēs. Streptokoku faringīts ir sastopams visos vecumos, taču visbiežāk skolas vecuma bērniem un pieaugušajiem.

Klīniskās pazīmes un simptomi

Bērniem ar tādiem simptomiem, kas ar vislielāko varbūtību norāda par vīrusu infekciju, piem. akūtas iesnas, konjunktivīts, aizsmakums, klepus, stomatīts vai diareja, AGBHS infekcija ir maz iespējama, tāpēc izmeklēšana AGBHS infekcijai nebūtu nepieciešama.

Bērniem ar akūtu iekaisuša kakla epizodi un tādiem simptomiem kā fāringeāls eksudāts, sāpes rīšanas laikā, palielināti un jūtīgi priekšējie kakla limfmezgli, vai ciešs kontakts ar personu, kurai ir akūts streptokoka etioloģijas faringīts, AGBHS kā faringīta iemesls ir ticams, tāpēc ātrais streptokoka noteikšanas tests un uzsējums no rīkles mugurējās sienas būtu veicams.

Gadalaiks un sezona

Streptokoka faringīts biežāk sastopams vēlā rudenī, ziemā un pavasarī, iespējams ciešo kontaktu bērnu kolektīvos dēļ.

Ģimenes un sabiedrības epidemioloģija

Cieši kontakti ar streptokoka faringīta slimnieku ģimenē vai skolā, kā arī ģimenes locekļiem anamnēzē akūts reimatiskais drudzis vai poststreptokoku glomerulonefrīts (PSGN).

Indikācijas izmeklēšanai AGBHS infekcijas kontaktpersonām variē atkarībā no apstākļiem. Asimptomātisku ģimenes vai cieša kolektīva locekļus izmeklēt AGBHS infekcijai nav nepieciešams, ja vien personai nav paaugstināts risks AGBHS komplikāciju attīstībai.

Uzsējums no rīkles mugurējās sienas būtu veicams brāļiem vai māsām vai citiem ģimenes locekļiem, ja bērnam ir attīstījies ARD vai PSGN, un, ja uzsējumā ir izdalīts AGBHS, personai būtu jāsaņem antimikrobā terapija streptokoka eradikācijai, neskatoties uz to vai pacientam pašreiz vai nesenā anamnēzē ir bijuši faringīta simptomi.

Pēc akūtas streptokoka infekcijas atkārtoti uzstājumi nepieciešami tikai tad, ja pacientam ir augsts risks ARD attīstībai vai pacientam saglabājas akūta faringīta simptomātika.

Atkārtoti antimikrobās terapijas kursi pacientiem, kuri ir asimptomātiski un ir saņēmuši adekvātu antimikrobo terapiju, bet turpina būt AGBHS pozitīvi, nav indicēti. Izņēmums ir pacienti, kuriem anamnēzē ir ARD vai kuru radniekiem anamnēzē ir ARD.

Pacienti, kuriem īsā laika intervālā atkārtojas akūta AGBHS etioloģijas faringīta epizodes, kas pierādītas ar uzstājumu un/vai ātro streptokoku eksprestestu, visbiežāk ir hroniski AGBHS nēsātāji, kuriem ir biežas atkārtotas vīrusu etioloģijas akūtas augšējo elpceļu saslimšanas. Izvērtējot šādus pacientus ir būtiski ņemt vērā paša izdalītā streptokoka antimikrobo jutību. Biežāk sastopamā streptokoku antimikrobā rezistence ir vērojama tieši pret makrolīdu grupas preparātiem, kas Latvijā veiktajos pētījumos ir īpaši augsta – 78% [24].

Antimikrobā terapija AGBHS nēsātājiem nav indicēta. Izņēmumi ir:

1. ARD vai PSGN uzliesmojums
2. AGBHS akūta faringīta uzliesmojums slēgtā kolektīvā
3. ģimenes anamnēzē ARD
4. multiplas dokumentētas simptomātiska AGBHS faringīta atkārtotas epizodes īsā laika periodā (vairākas nedēļas) ģimenē, neskatoties uz racionālu un adekvātu antimikrobo terapiju
5. paredzēta tonsilektomija rekurentu AGBHS faringītu (7 ar uzstājumu pierādītas epizodes iepriekšējā gadā) dēļ.

AGBHS nēsātāju terapija ar konvencionāliem antimikrobiem aģentiem varētu būt apgrūtināta. Vairāki antimikrobie aģenti, to skaitā klindamicīns, amoksicilīna-klavulanāts, azitromicīns, kā arī kombinācija ar rifampīnu pēdējās 4ās dienās kopā ar penicilīnu V vai benzatīnpenicilīnu G, varētu būt efektīvi salīdzinot ar penicilīna monoterapiju.

Pasaulē veiktajos pētījumos no augstāk uzskaitītajiem aģentiem kā efektīvs norādīts orālais klindamicīns 20 mg/kg/dn, sadalot 3 devās (max 1.8 g/dn) 10 dienu kursā. Taču Latvijā, ņemot vērā iepriekš jau minēto antimikrobo aģentu rezistences pētījumu, izdalīto streptokoku genotipiskā rezistence pret makrolīdiem ir identiska arī pret klindamicīnu.

Skarlatīna

Skarlatīna visbiežāk attīstās kopā ar akūtu faringītu un tai ir raksturīgi saplūstoši eritematozi smilšpapīram līdzīgi izsitumi, ko nosaka viens vai vairāki no daudzajiem AGBHS producētajiem eritrogēnajiem (pirogēnajiem) eksotoksīniem (tie ir SPE A,B,C un F). Tipiskie izsitumi izteikti atkarīgi no toksīnu ekspresijas; iepriekš esoša humorālā imunitāte pret specifiskajiem SPE toksīniem pasargā no skarlatīnas attīstības.

Skarlatinozie izsitumi tipiskā situācijā parādās 24-48 stundas pēc slimības sākuma, taču var parādīties arī vienlaicīgi ar pirmajiem simptomiem. To parādīšanās secība sākas ar seju, kaklu, tad krūšu kurvja augšējo daļu, parādoties kā difūzi, sīki papulāri, eritematozi izsitumi, radot ādai koši sarkanu nokrāsu, kas uzspiežot pazūd. Ieloku virsmas, jo īpaši antekubitālā bedrīte, izvirzītas, tipisks bālais nazolabiālais trijstūris. Smagākos gadījumos eritematozie izsitumi var kļūt par sīkām vezīkulām uz vēdera, plaukstām un pēdām. Pirmās nedēļas beigās izsitumi ir izzuduši, un tam seko skarlatīnai tipiskā ādas lobīšanās, sākot no ķermeņa, tālāk pārejot uz plaukstām un pēdām.

Tipiskas gaitas skarlatīnu klīniski ir viegli diagnosticēt, tomēr diferenciāldiagnozē svarīgi neaizmirst par Kawasaki sindromu, medikamentu izraisītiem izsitumiem un toksigēnā *S.aureus* infekciju.

Izņemot tipiskos izsitumus, epidemioloģiskās iezīmes, simptomi, pazīmes, komplikācijas un terapija ir identiskas AGBHS etioloģijas akūtam faringītam. *S.pyogenes* izdalīšana uzsējumā no rīkles mugurējās sienas, kā arī seroloģiska ASLO un antiDNaseB titru palielināšanās palīdz retrospektīvi apstiprināt skarlatīnas diagnozi.

AGBHS ādas infekcijas

Superficiāla piodermija ir biežākā no AGBHS izraisītām ādas infekcijām. Saukta arī par streptokoka impetigo vai *impetigo contagiosa*, tā biežāk sastopama tropu klimata zonās, vērojama arī ziemeļu klimata valstīs siltajos mēnešos. Kolonizējot nebojātu ādu, aptuveni 10 dienas vēlāk sāk attīstīties streptokoka izraisīta virspusēja pioderija.

Šī streptokoka infekcijas forma parasti ir nesāpīga un pacients visbiežāk ir afebrils. Biežāk to novēro bērniem vecumā no 2-5 gadiem.

Klīnika:

streptokoka impetigo tipiski sākas ar diskrētiem papulovesikulāriem bojājumiem, kam apkārt vērojams apsārtums. Vezīkulas ātri kļūst strutainas, klātas ar biezu, saplūstošu medus krāsas krevēli. Bojājumu lokalizācija biežāk ir sejas un ekstremitāšu daļās. Neārstēts, streptokoku impetigo norit viegli, taču hroniski, bieži vien pārejot arī uz citām ķermeņa daļām. Vienlaikus var attīstīties reģionāls limfadenīts.

Tie Streptokoka M tipi, kas raksturīgi streptokoku faringītam (1, 3, 5, 6, 12, 18, 19 un 24), reti, kad ir atrodami streptokoku impetigo gadījumos. Viens no M tipiem, kas biežāk saistāms ar streptokoku impetigo, ir M49. Tam ir cieša asociācija ar poststreptokoku glomerulonefrītu.

Streptokoku celulīts ir akūta, ātras izplatības ādas un zemādas audu infekcija, kas nereti pievienojas brūcēm, apdegumiem, ķirurģiskām incīzijām, vējbaku bojājumiem un vieglas traumas gadījumos. Sāpes, jutīgums, pietūkums un eritēma, nereti arī sistēmiska toksicitāte, raksturīga šai streptokoku ādas infekcijas formai. Šīs infekcijas formas gadījumā ir nepieciešama rūpīga bojāto vietu atkārtota uzraudzība, jo celulīts var progresēt par nekrotizējošu fascītu.

Perianāls celulīts un vaginīts raksturīgs bērniem, kuri sūdzas par perineālu diskomfortu vai vagināliem izdalījumiem.

Mūsdienās retāk sastopama streptokoku ādas infekcija ir roze jeb erysipelas. Tā skar ādas dziļākos slāņus un zemādas audus. Āda bojātās vietas apvidū ir pietūkusi, sarkana un izteikti jutīga salīdzinoši ar streptokoku impetigo, kas parasti ir nesāpīga. Vērojamas var būt arī virspusējas pūtītes. Visraksturīgākā iezīme rozēs gadījumā – bojātās vietas robeža ir skaidri izteikta un pacelta, kas ļauj to diferencēt no celulīta, kura gadījumā robeža ir izplūdusi.

Gan streptokoku celulīta, gan rozes gadījumā būtu nepieciešams no bojāto vietu robežām ar adatas aspirāta veidā paņemts uzsējums *S.pyogenes* izdalīšanai.

Invazīvas AGBHS infekcijas formas

Nekrotizējošs fasciīts

S.pyogenes etioloģijas nekrotizējošais fasciīts (saukts arī par streptokoku gangrēnu) ir akūta, ātri progresējoša, smaga, dziļi lokalizēta zemādas audu infekcija ar plašu virspusējo un dziļo fasciju destruktiju.

Kā pirmais simptoms parādās difūzs eritematozs pietūkums ar izteiktām, asām sāpēm bojātajā vietā. Izteiktas mokošas sāpes, kas šķiet neatbilstošas vērojamai klīniskai atradnei, būtiski norāda par nekrotizējošā fasciīta diagnozi.

Bojājums progresē vidēji 48-72 h laikā, āda kļūst zilgana un melnīgsnēja, parādās ar dzeltenu vai hemorāģisku saturu pildītas bullas. Saslimšanas 4-.5.dienā parādās gangrēna un plašas ādas nekrozes. Slimības vadīšanā šajā posmā visbūtiskākā ir nekrotisko audu ķirurģiska evakuācija, kas var būt arī dzīvību glābjoša.

Nekrotizējošais fasciīts var skart jebkuru ķermeņa daļu, taču biežāk tas ir lokalizēts ekstremitātēs. Tā sākums var būt triviāla vai nenožīmīga trauma, pētījumos ir pierādīta tā ciešā asociācija ar *varicella-zoster* infekciju.

Streptokoku toksiskā šoka sindroms

Streptokoku toksiskā šoka sindroms (streptokoku TŠS) raksturīga hipotensija un multipls orgānu disfunkcijas sindroms jeb MODS.

Streptokoku TŠS var būt vienlaicīgi asociācijā ar citu streptokoka fokālu infekciju, t.sk. faringītu. Streptokoku TŠS attīstībā būtiska nozīme ir noteiktiem SPE tipiem (A, C, F), kas darbojas kā superantigēni.

Diagnostiskie kritēriji

Smagas Streptokoku infekcijas darba grupa jau 1993.gadā izstrādāja diagnostiskos kritērijus Streptokoku TŠS diagnozes noteikšanai:

- Izdalīta AGBHS kultūra
 - No sterilas vides
 - No nesterilas vides
- Smaguma klīniskās pazīmes (nepieciešamas 2 vai > no sekojošām un laboratoras izmaiņas)

- Nieru bojājums
- Koagulopātija
- Aknas funkcijas izmaiņas
- ARDS
- Plaša audu nekroze (nekrotizējošs fasciīts)
- Eritematozi izsitumi

Pierādīts gadījums – izolēts AGBHS no sterilas vides un atbilstošas klīniskās pazīmes

Iespējams gadījums – izolēts AGBHS no nesterilas ķermeņa vides un atbilstošas klīniskās pazīmes.

Streptokoku toksiskā šoka sindroma diagnostiskie kritēriji

AGBHS izolēts no sterilas vides (asinis, cerebrospinālais šķidrums, pleiras telpa, peritoneālā telpa, audu biopsija, ķirurģiska brūce u.c.)

UN

Hipotensija

UN

Vismaz 2 no sekojošiem:

1. Nieru bojājums
2. Koagulopātija
3. Aknas bojājums
4. ARDS
5. Plaša audu nekroze/nekrotizējošs fasciīts
6. Eritematozi izsitumi

Empīrisks rīcības algoritms Streptokoka toksiskā sindroma gadījumā

- Hemodinamikas kontrole
- I/venoza šķidruma ievade lielā apjomā
- Vazopresori (dopamīns un/vai norepinefrīns)
- Ķirurģiska terapija
 - Atbilstoša un agresīva iespējamo infekcijas avotu apzināšana un revīzija
 - Apsvērt ķirurģisku iejaukšanos pacientiem ar drudzi un mokošām sāpēm, jo īpaši ar mīksto audu pietūkumu vai vezīkulu vai bullu veidošanos
- Uzsāk empīrisku antibakteriālo terapiju

Nekavējoties uzsāk empīrisku terapiju, ko vēlāk, saņemot asins kultūras vai iespējamā infekcijas avota uzsējuma rezultātus, maina uz atbilstošu antimikrobo terapiju.

Empīrisku terapiju uzsāk ar:

1. Klindamicīnu ik 8 h

plus vienu no sekojošiem:

2. Karbapenēmu (Imipenēms ik 6h **vai** meropenēms ik 8 h)

vai

kombināciju: penicilīns + beta-laktamāzes inhibitors ik 8h (tikarcilīna-klavulanāts ik 4h **vai** piperacilīns-tazobaktāms ik 6h)

- I/v imūnglobulīns (1 g/kg 1.dienā, turpmāk 0.5 g/kg 2. un 3.dienā)

AGBHS antimikrobās terapijas iespējas

Antibiotika	Deva	Ilgums (dienas)
<i>Penicilīni</i>		
Penicilīns V	250 mg (400 000 U), ja svars < 27 kg vai 500 mg (800 000 U), ja svars > 27 kg 2x vai 3x dienā	10
Amoxicilīns	12.5 mg/kg 2x dienā	10
<i>Makrolīdi</i>		
Eritromicīns (estolāts)	20-40 mg/kg/dn (max 1g/dn) 2-4x dienā	10
Eritromicīns (etilsukcināts)	40 mg/kg/dn (max 1g/dn) 2x dienā Smagas infekcijas gadījumā, devu var dubultot.	10
Klaritromicīns	7.5 mg/kg 2x dienā	10
Azitromicīns	12 mg/kg 1x dienā	5
<i>I paaudzes cefalosporīni</i>		
Cefadroxils	30 mg/kg 1xd vai 15 mg/kg 2xd	10
Cephalexins	12.5-25 mg/kg 2x dienā	10
<i>II paaudzes cefalosporīni</i>		
Cefaclor	20 mg/kg/dn sadalot 2-3 x	10
Cefprozil	7.5 mg/kg 2xd	10
Cefuroxims	50-100 mg/kg/dn sadalot 3-4 x	10
<i>III paaudzes cefalosporīni</i>		
Cefdinir	7 mg/kg 2x dienā 14 mg/kg 1x dienā	5-10 10
Cefpodoxime	5 mg/kg 2x dienā	5-10
Cefixime	4 mg/kg 2x d 8 mg/kg 1x dienā vieglas un vidēji smagas infekcijas gadījumā	10
<i>Linkozamīdi</i>		
Klindamicīns	20 mg/kg/dn sadalot 3x	10

Izmantotā literatūra

1. Billroth AW. Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica. 1874. Berlin: Georg Reimer.
2. Rosenbach FJ. Mikro-organismen bei den Wund-infection-krankheiten des Menschen. 1884. Wiesbaden: JF Bergmann.
3. Kilian Mogens. Microbiology and Microbial infections. 10th Ed, 2006. Topley & Wilson's.
4. 2006 Red Book: Report of the Committee in Infectious Diseases. 25th ed. IL: American Academy of Pediatrics; 2006, p610-620.
5. Long S, Pickering L, Prober C. Principles and practice of Pediatric Infectious Diseases. 3rd Ed, Churchill Livingstone, 2008, pp.700 – 711.
6. Bisno AL, GerberMA, Gwaltney JrJM., Kaplan EL, Schwartz RH: Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Group A Streptococcal Pharyngitis. *Clinical Infectious Diseases* 2002;35:113-125.
7. Basco WT Jr: Viewpoint: Acute Pharyngitis in Children: Properly Managed? *Pediatrics*. 2006; 117:1871-1878.
8. Dace Zavadska, Ilze Grope, Nīna Pugačova, Līga Drukaļska, Dace Gardovska: A grupas B hemolītiskā Streptokoka etioloģijas akūta faringīta prevalence, klīnika un diagnostika bērniem Bērnu klīniskajā universitātes slimnīcā. *RSU Zinātniskie raksti* 2007
9. Pechere JC, Kaplan EL (eds): Streptococcal Pharyngitis. Issues Infect Dis. Basel, Karger, 2004, vol 3, pp1-2.
10. Pichichero ME: Clinical Management of Streptococcal Pharyngitis. Professional Communications, USA, 2007, pp11-12.
11. Kaplan E et al. Are Group A Streptococcal Infections Associated with Clinical Exacerbations of the „PANDAS” Syndrome? Results from a large intensive 25 month prospective study. XVII Lancefield international symposium on streptococci & streptococcal diseases, Abstract book, O 2.3, p24.
12. 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.

13. Stevens DL. Streptococcal toxic-shock syndrome: spectrum of disease, pathogenesis, and new concepts in treatment. *Emerg Infect Dis*. Jul-Sep 1995; 1(3):69-78.
14. Musser JM, Hauser AR, Kim MH, Schlievert PM, Nelson K, Selander RK. Streptococcus pyogenes causing toxic-shock-like syndrome and other invasive diseases: clonal diversity and pyrogenic exotoxin expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Apr 1 1991; 88(7):2668-72.
15. Stevens DL. The toxins of group A streptococcus, the flesh eating bacteria. *Immunol Invest*. Jan-Feb 1997;26(1-2):129-50.
16. National Center for Immunization and Respiratory Diseases: Division of Bacterial Diseases. *Group A Streptococcal (GAS) Disease*. April 3, 2008.
17. Lamagni T, Efstratiou A, Vuopio-Varkila J. The epidemiology of severe Streptococcus pyogenes associated disease in Europe. *Euro Surveill*. Sep 1 2005;10(9): 179-84.
18. Snider LA, Swedo SE. Post-streptococcal autoimmune disorders of the central nervous system. *Curr Opin Neurol*. Jun 2003; 16(3):359-65.
19. Choby BA. Diagnosis and treatment of streptococcal pharyngitis. *Am Fam Physician*. 2009 Mar 1;79(5):383-90.
20. Shulman ST. Acute streptococcal pharyngitis in pediatric medicine: current issues in diagnosis and management. *Pediatr Drugs*. 2003;5 Suppl 1:13-23.
21. Casey JR, Pichichero ME. Metaanalysis of short course antibiotic treatment for group a streptococcal tonsillopharyngitis. *Pediatr Infect Dis J*. Oct 2005;24(10):909-17.
22. Altamimi S, Khalil A, Khalaiwi KA, Milner R, Pusic MV, Al Othman MA. Short versus standard duration antibiotic therapy for acute streptococcal pharyngitis in children. *Cochrane Database Syst Rev*. Jan 21 2009;CD004872.
23. Falagas ME, Vouloumanou EK, Matthaiou DK, Kapaskelis AM, Karageorgopoulos DE. Effectiveness and safety of short-course vs long-course antibiotic therapy for group a beta hemolytic streptococcal tonsillopharyngitis: a meta-analysis of randomized trials. *Mayo Clin Proc*. Aug 2008;83(8):880-9.
24. 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/epid/program/session1.asp>

25. Gieseke KE, Roe MH, MacKenzie T, Todd JK. Evaluating the American Academy of Pediatrics diagnostic standard for *Streptococcus pyogenes* pharyngitis: backup culture versus repeated rapid antigen testing. *Pediatrics*. 2003 Jun;111(6 Pt 1):e666-70.
26. Van Limbergen J, Kalima P, Taheri S, Beattie TF. *Streptococcus A* in paediatric accident and emergency: are rapid streptococcal tests and clinical examination of any help? *EmergMed J*. 2006 Jan; 23(1):32-4.
27. dos Santos AG, Berezin EN: Comparative analysis of clinical and laboratory methods for diagnosing streptococcal sore throat. *J Pediatr (Rio J)*. 2005 Jan-Feb;81(1):1-2.
28. Rimoin AW, Walker CL, Chitale RA, Hamza HS, Vince A, Gardovska D, da Cunha AL, Qazi S, Steinhoff MC. Variation in clinical presentation of childhood group A streptococcal pharyngitis in four countries. *J Trop Pediatr* 2008; Oct;54(5): 308-12.
29. Smith A, Lamagni TL, Oliver I. Invasive group A streptococcal disease: should close contacts routinely receive antibiotic prophylaxis? *Lancet Infect Dis*. Aug 2005;5(8):494-500.
30. Carapetis JR, Steer AC, Mulholland EK, Weber M. The global burden of group A streptococcal diseases. *Lancet*. 2005, vol. 5, n°11:685-694.
31. <http://emedicine.medscape.com/article/971097-treatment>
32. <http://emedicine.medscape.com/article/228936-overview>
33. Meury SN, Erb T, Schaad UB, Heininger U. Randomized, comparative efficacy trial of oral penicillin versus cefuroxime for perianal streptococcal dermatitis in children. *J Pediatr*. Dec 2008;153(6):799-802.
34. Norrby-Teglund A, Muller MP, Mcgeer A, Gan BS, Guru V, Bohnen J, et al. Successful management of severe group A streptococcal soft tissue infections using an aggressive medical regimen including intravenous polyspecific immunoglobulin together with a conservative surgical approach. *Scand J Infect Dis*. 2005; 37(3):166-72.

14.6. Pateicības

Autore pateicas promocijas darba vadītājai Profesorei Dacei Gardovskai un darba zinātniskajiem konsultantiem asociētajai profesorei Valdai Staņēvičai un medicīnas zinātņu doktoram Edvīnam Miklaševičam par padomiem, neizsīkstošu atbalstu un izcilu vadītprasmi!

Paldies darba recenzentiem - Profesorei Ludmilai Vīksnai, Profesoram Aleksandram Rapoportam un asociētajam profesoram Enokam Biķim par vērtīgajiem un rosinošajiem ieteikumiem!

Paldies RSU zinātņu proktorei Profesorei Ivetai Ozolantai un zinātniskajai sekretārei Ingrīdai Kreilei par sniegtajām konsultācijām un atbalstu doktorantūras laikā.

Sirsnīgs paldies par uzmundrinājumu un palīdzību docentei Ilzei Gropei!

Par valodas labskanību pateicos literārajai redaktorei Mārai Bitniecei.

Liels ir RSU Pediatrijas katedras un BKUS Bērnu slimību klīnikas darbinieku nopelns, kuri bija iesaistīti dažādos darba tapšanas etapos.

Tāpat autore vēlas pateikties datorprasmju speciālistam Mārim Eihvaldam par datortehnikas reanimācijas darbiem un operativitāti.

Nenovērtējams autores balsts un stimulds darba procesā ir, bija un būs ģimene, paldies maniem mīļajiem par pacietību, piedošanu un mīlestību!