

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ : ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Ε. ΠΕΤΕΙΝΑΚΗ**

**ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΟΥ *prtF1*
ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΑΝΤΟΧΗ
ΣΤΙΣ ΜΑΚΡΟΛΙΔΕΣ ΣΕ ΣΤΕΛΕΧΗ
*Streptococcus pyogenes***

**ΕΥΑΝΘΙΑ Α. ΤΑΤΣΙΔΟΥ
ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΛΑΡΙΣΑ 2010

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ : ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Ε. ΠΕΤΕΙΝΑΚΗ**

**ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΟΥ *prtF1*
ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΑΝΤΟΧΗ
ΣΤΙΣ ΜΑΚΡΟΛΙΔΕΣ ΣΕ ΣΤΕΛΕΧΗ
*Streptococcus pyogenes***

**ΕΥΑΝΘΙΑ Α. ΤΑΤΣΙΔΟΥ
ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΛΑΡΙΣΑ 2010

Στην οικογένειά μου που πάντα με στηρίζει

Στην καθηγήτριά μου κ. Εφη Πετεινάκη

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Ευθυμία Πετεινάκη, Επίκουρη Καθηγήτρια Μικροβιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Γεώργιος Συρογιαννόπουλος, Καθηγητής Παιδιατρικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νικόλαος Σκεντέρης, Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Ευθυμία Πετεινάκη, Επίκουρη Καθηγήτρια Μικροβιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Γεώργιος Συρογιαννόπουλος, Καθηγητής Παιδιατρικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νικόλαος Σκεντέρης, Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Γεώργιος Νταλέκος, Καθηγητής Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης, Καθηγητής Πνευμονολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Χρήστος Χατζηχριστοδούλου, Αναπληρωτής Καθηγητής Υγιεινής και Επιδημιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Γεώργιος Κουκούλης, Καθηγητής Παθολογοανατομίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο β-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος της ομάδας Α αποτελεί συχνό αίτιο λοιμώξεων που αφορούν το ανώτερο αναπνευστικό και το δέρμα στα παιδιά.

Οι περισσότεροι κλινικοί ιατροί είναι εξοικειωμένοι με τον β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ως αίτιο φαρυγγοαμυγδαλίτιδας. Ωστόσο, μπορεί επίσης να προκαλέσει αρκετές λοιμώξεις του δέρματος και των μαλακών μορίων.

Αν και οι περισσότερες λοιμώξεις που προκαλεί δεν επιφέρουν σημαντική νοσηρότητα ή θνησιμότητα, μερικές φορές μπορεί να είναι βαριές ή απειλητικές για τη ζωή.

Ο οξύς ρευματικός πυρετός, η οξεία σπειραματονεφρίτιδα καθώς και οι πυώδεις επιπλοκές όπως το περιαμυγδαλικό απόστημα είναι δυνατό να επιπλέκουν τη στρεπτοκοκκική φαρυγγίτιδα.

Η επίπτωση του ρευματικού πυρετού έχει μειωθεί σημαντικά τα τελευταία 50 έτη, ωστόσο εξακολουθεί να αποτελεί την πρώτη αιτία καρδιολογικών προβλημάτων στην παιδική ηλικία στις αναπτυσσόμενες χώρες.

Αντίθετα η επιδημιολογία των διεισδυτικών στρεπτοκοκκικών λοιμώξεων παρουσιάζει σημαντικές αλλαγές την τελευταία δεκαετία με αύξηση της συχνότητας αλλά και της σοβαρότητας των κλινικών τους εκδηλώσεων. Είναι χαρακτηριστικό ότι ενώ παλαιότερα οι εν τω βάθει στρεπτοκοκκικές λοιμώξεις ήταν συνηθέστερες σε ηλικιωμένους, άτομα με χρόνια νοσήματα όπως σακχαρώδης διαβήτης, νεφρική ανεπάρκεια, αιματολογικά νοσήματα, ανοσοανεπάρκειες κ.τ.λ., τα τελευταία χρόνια, τα περισσότερα περιστατικά συμβαίνουν σε νέα και χωρίς προδιαθεσικούς παράγοντες άτομα.

Στόχος της θεραπείας της στρεπτοκοκκικής φαρυγγίτιδας είναι η πρόληψη των πυωδών και μη πυωδών επιπλοκών της, ο περιορισμός των κλινικών σημείων και συμπτωμάτων, η μείωση της μεταδοτικότητας στους οικείους και η διασπορά πιθανώς διεισδυτικών στελεχών του βακτηριδίου.

Τα τελευταία 50 χρόνια, η πενικιλίνη αποτελεί το φάρμακο εκλογής για τη θεραπεία της στρεπτοκοκκικής φαρυγγοαμυγδαλίτιδας λόγω της αποτελεσματικό-

τητας, της ασφάλειας, του στενού εύρους δραστηκότητας και του χαμηλού κόστους της.

Παρότι *in vitro* αντοχή του μικροοργανισμού στη πενικιλίνη δεν έχει αναφερθεί, στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ένα σημαντικό ποσοστό (5-30%) περιπτώσεων στις οποίες παρά την θεραπεία με πενικιλίνη ο μικροοργανισμός δεν εκριζώνεται από το φάρυγγα.

Μία σειρά από υποθέσεις έχουν διατυπωθεί με σκοπό να εξηγηθεί το φαινόμενο αυτό. Από τις πλέον πρόσφατες, είναι η θεωρία της ενδοκυττάριας διείσδυσης του στρεπτόκοκκου μέσα στα επιθηλιακά κύτταρα, με αποτέλεσμα αφενός να αντιστέκεται στην δράση της πενικιλίνης, αφετέρου να αποφεύγει τους διάφορους μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή. Η ικανότητα διείσδυσης του μικροβίου έχει συσχετιστεί με την παρουσία ενός γονιδίου, του *prtF1*, που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη F (fibronectin binding protein) η οποία δρα ως προσκολλητίνη αλλά και προστατεύει τον στρεπτόκοκκο από τη φαγοκυττάρωση.

Η ικανότητα του στρεπτόκοκκου να διεισδύει ενδοκυττάρια, σε συνδιασμό με την αύξηση ανάπτυξης αντοχής του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου στις μακρολίδες, που παρατηρείται την τελευταία δεκαετία κυρίως στις ευρωπαϊκές χώρες, μπορούν να οδηγήσουν σε θεραπευτικό αδιέξοδο.

Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκε η συχνότητα του γονιδίου *prtF1* σε στελέχη β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου που απομονώθηκαν κατά τα έτη 2002-2004 από παιδιά με εικόνα φαρυγγοαμυγδαλίτιδας και εξετάστηκαν στο Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών της Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας. Επίσης μελετήθηκαν τα ποσοστά αντοχής των απομονωθέντων στελεχών στις μακρολίδες και στις λινκοσαμίδες και συσχετίστηκαν με την παρουσία του *prtF1* γονιδίου.

Η μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας σε συνεργασία με την Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Επιβλέπουσά μου, Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Έφη Πετεινάκη, για την πολύτιμη καθοδήγηση που μου προσέφερε, την υπομονή που έδειξε και την αμέριστη βοήθεια και στήριξη που μου παρείχε. Επίσης θα ήθελα να

την ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου, ελπίζοντας να υπήρξα αντάξιά της.

Παράλληλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Παιδιατρικής και μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής κ. Γ. Συρογιαννόπουλο για την επιστημονική και ηθική υποστήριξη καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον Επίκουρο Καθηγητή Παιδιατρικής και μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής κ. Ν. Σκεντέρη για τις κατευθυντήριες οδηγίες του. Θα ήταν παράλειψή μου να μην αναφερθώ στην κ. Β. Μικράκη την οποία ευχαριστώ από καρδιάς για τη συνεργασία που είχαμε.

Τέλος, θα ήθελα να απευθύνω θερμές ευχαριστίες στα μέλη του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας κ. Ε. Μάλλη και κ. Δ. Κλάψα για τη βοήθειά τους κατά το πειραματικό στάδιο της διατριβής μου και στην κ. Κ. Καλογιάννη, γραμματέα του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας, για την αμέριστη συμπαράσταση κατά τη διάρκεια της συγγραφής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
2.	ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	13
2.1	ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ STREPTOCOCCUS PYOGENES	14
2.2	ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ	22
2.3	ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΟ Β-ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΟ ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΟ ΟΜΑΔΑΣ Α	25
2.4	ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΙΚΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ	40
2.5	ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΙΚΗΣ ΑΜΥΓΔΑΛΙΤΙΔΑΣ	41
2.6	ΠΙΘΑΝΟΙ ΛΟΓΟΙ ΑΠΟΤΥΧΙΑΣ ΤΗΣ ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΙΚΗΣ ΦΑΡΥΓΓΟΑΜΥΓΔΑΛΙΤΙΔΑΣ	43
2.7	ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΙΚΗΣ ΦΑΡΥΓΓΟΑΜΥΓΔΑΛΙΤΙΔΑΣ	45
2.8.	ΑΝΤΟΧΗ ΤΟΥ β-ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΟΥ ΟΜΑΔΟΣ ΣΤΙΣ ΜΑΚΡΟΛΙΔΕΣ ΚΑΙ ΛΙΝΚΟΣΑΜΙΔΕΣ	50
3.	ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	53
3.1	ΜΕΛΕΤΗ	53
3.1.1	ΥΛΙΚΟ	53
3.1.2	ΜΕΘΟΔΟΙ	53
3.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	60
3.3	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	63
3.4	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	66
3.5	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	67
3.6	ABSTRACT	68
4.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	69

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο β-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος της ομάδας A ή *Streptococcus pyogenes* είναι Gram-θετικός κόκκος, ο οποίος ενοχοποιείται τόσο για επιπολής λοιμώξεις των βλεννογόνων και του δέρματος (φαρυγγοαμυγδαλίτιδα, ερυσίπελας) όσο και για εν τω βάθει διεισδυτικές λοιμώξεις με εκτεταμένες νεκρώσεις μυών και περιτονιών, όπως πυομυοσίτιδα και νεκρωτική περιτονίτιδα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν και οι μη πυογόνες ανοσολογικού τύπου κλινικές εκδηλώσεις, όπως ο ρευματικός πυρετός, η μεταστρεπτοκοκκική σπειραματονεφρίτιδα, η χορεία του Sydenham, το σύνδρομο Kawasaki και το σπάνιο παιδιατρικό-νευροψυχιατρικό σύνδρομο PANDAS.

Η οξεία φαρυγγίτιδα ή κυνάγχη ή φαρυγγοαμυγδαλίτιδα είναι συχνή νόσος της παιδικής ηλικίας και οφείλεται σε πολλά αίτια. Αν και ο β-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος της ομάδας A αποτελεί, όπως έχει ήδη αναφερθεί, το συχνότερο μικροβιακό αίτιο οξείας στρεπτοκοκκικής φαρυγγίτιδας, μικρό ποσοστό ασθενών, όμως, νοσεί από αυτόν σε σχέση με τα υπόλοιπα αίτια. Επειδή η στρεπτοκοκκική φαρυγγίτιδα απαιτεί θεραπεία με αντιμικροβιακή αγωγή, ο κλινικός ιατρός είναι απαραίτητο να αποφασίζει άμεσα για τη διάγνωση. Μία γρήγορη επιβεβαιωτική δοκιμασία για τη διάγνωση στρεπτοκοκκικής φαρυγγίτιδας είναι το Strep-test. Εφόσον η δοκιμασία αυτή είναι θετική επιβεβαιώνεται η παρουσία του πυογόνου στρεπτόκοκκου στο φαρυγγοαμυγδαλικό επίχρισμα και ο κλινικός ιατρός πρέπει να χορηγήσει αντιμικροβιακή θεραπεία για την ταχεία βελτίωση των κλινικών συμπτωμάτων και την πρόληψη των επιπλοκών.

Θεραπεία εκλογής της στρεπτοκοκκικής φαρυγγίτιδας θεωρείται η δεκαήμερη χορήγηση πενικιλίνης. Τα τελευταία 50 χρόνια, η πενικιλίνη αποτελεί το φάρμακο εκλογής για τη θεραπεία της στρεπτοκοκκικής φαρυγγοαμυγδαλίτιδας λόγω της αποτελεσματικότητάς της, της απουσίας ανάπτυξης αντοχής εκ μέρους του μικροοργανισμού και του χαμηλού κόστους της. Είναι ενδιαφέρον ότι, παρά την ευρεία χορήγηση της πενικιλίνης, ο μικροοργανισμός δεν έχει αναπτύξει μηχανισμούς αντοχής. Εντούτοις, στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ένα σημαντικό ποσοστό της τάξης του 5-30% των περιπτώσεων στις οποίες παρά τη χορήγηση πενικιλίνης ο μικροοργανισμός δεν εκριζώνεται από το φάρμακο. Στις περιπτώσεις αυτές εναλλακτική θεραπευτική επιλογή αποτελούν οι μακρολίδες ή οι λινκοσαμίδες.

Μία σειρά από υποθέσεις έχουν διατυπωθεί με σκοπό να εξηγηθεί το φαινόμενο της *ανοχής* του στρεπτόκοκκου στην πενικιλίνη. Παλαιότερα είχε διατυπωθεί η άποψη ότι η παρουσία στην στοματική κοιλότητα μικροοργανισμών που παράγουν πενικιλινάσες και η μη συμμόρφωση του ασθενούς στη σωστή λήψη του αντιβιοτικού ευθύνονταν για την αναποτελεσματικότητα της θεραπείας με πενικιλίνη. Σήμερα θεωρείται υπεύθυνη η ενδοκυττάρια διείσδυση του μικροοργανισμού μέσα στα επιθηλιακά κύτταρα του φαρυγγοαμυγδαλικού ιστού, η οποία προφυλάσσει τον μικροοργανισμό τόσο από τη φαγοκυττάρωση όσο και από τη δράση των β-λακταμικών αντιβιοτικών. Η ικανότητα διείσδυσης του μικροβίου έχει συσχετιστεί με την παρουσία ενός γονιδίου, του *prtF1*, που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη F (fibronectin binding protein) η οποία δρα ως προσκολλητίνη αλλά και προστατεύει τον στρεπτόκοκκο από τη φαγοκυττάρωση.

Η ικανότητα του στρεπτοκόκκου να διεισδύει ενδοκυττάρια, σε συνδυασμό με τα αυξημένα ποσοστά ανοχής του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου στις μακρολίδες ή και στις λινκοσαμίδες, μπορούν να οδηγήσουν σε θεραπευτικό αδιέξοδο στις μέρες μας.

Στην παρούσα μελέτη μελετήθηκε η συχνότητα του γονιδίου *prtF1* σε στελέχη β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου που απομονώθηκαν από παιδιά με εικόνα φαρυγγοαμυγδαλίτιδας και εξετάστηκαν στο Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών της Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας. Επίσης μελετήθηκαν τα ποσοστά ανοχής των απομονωθέντων στελεχών στις μακρολίδες και στις λινκοσαμίδες και συσχετίστηκαν με την παρουσία του *prtF1* γονιδίου.

2.ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Μικροβιολογικά χαρακτηριστικά του *Streptococcus pyogenes* ή β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου ομάδας A

Ο β-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος ομάδας A (*Streptococcus pyogenes*) είναι Gram θετικός κόκκος, καταλάση αρνητικός, ανήκει στο γένος *Streptococcus* της οικογένειας *Deinococcaceae*. Στο γένος των στρεπτόκοκκων ανήκουν 29 είδη και η ταξινόμηση των ειδών του γένους μεταβάλλεται συνεχώς .

Για πρακτικούς διαγνωστικούς λόγους, εξακολουθεί να ισχύει η παραδοσιακή ταξινόμηση των στρεπτόκοκκων, που στηρίζεται στον τύπο αιμόλυσης που προκαλούν όταν αναπτύσσονται σε αιματούχο άγαρ, σύμφωνα με την οποία υποδιαιρούνται σε :

- α-αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους ή πρασινίζοντες, οι οποίοι προκαλούν ατελή αιμόλυση στα ερυθρά αιμοσφαίρια και παρουσιάζουν πράσινη άλω γύρω από τις αποικίες.
- β-αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους, οι οποίοι προκαλούν πλήρη αιμόλυση στα ερυθρά και παρουσιάζουν μια διαυγή περιοχή γύρω από τις αποικίες
- μη αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους, οι οποίοι δεν παρουσιάζουν καμία αλλοίωση γύρω από τις αποικίες τους.

Οι β-αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι ταξινομούνται περαιτέρω με βάση την σύνθεση του πολυσακχαριδικού αντιγόνου του κυτταρικού τοιχώματός τους σε ειδικές ομάδες κατά Lancefield, οι οποίες αριθμούνται με τα κεφαλαία γράμματα του λατινικού αλφαβήτου, A-H και K-V [1].

Ο β-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος είναι μικρόβιο του ανθρώπου. Ζει και πολλαπλασιάζεται ως μέλος της φυσιολογικής χλωρίδας της μύτης και του φάρυγγα ανθρώπων που νόσησαν από στρεπτοκοκκική κυνάγχη. Βρίσκεται και στο ορθό υγιών ατόμων. Πιο συχνά ανευρίσκεται στη μύτη παρά στον φάρυγγα του ανθρώπου, όπου τον ανταγωνίζονται οι πρασινίζοντες στρεπτόκοκκοι και οι Ναϊσσέριες. Η συχνότητα της μικροβιοφορίας υγιών ατόμων στον πληθυσμό δεν είναι απόλυτα γνωστή, αλλά υπολογίζεται ότι κυμαίνεται μεταξύ του 5 και 10%.

Συνήθης πηγή μόλυνσης είναι κάποιο άτομο νοσούν από αμυγδαλίτιδα ή φαρυγγικός ή ρινικός φορέας, η δε μετάδοση γίνεται από άτομο σε άτομο μέσω των μολυσμένων σταγονιδίων του φάρυγγα και της μύτης.

Σε χώρες με εύκρατο κλίμα το χειμώνα και την άνοιξη υπολογίζεται ότι το 20% των παιδιών της σχολικής ηλικίας είναι φορείς. Οι ρινικοί φορείς είναι συχνότεροι παρά οι φαρυγγικοί. Όλες οι ηλικιακές ομάδες και αμφότερα τα φύλα είναι ευαίσθητα στη νόσηση.

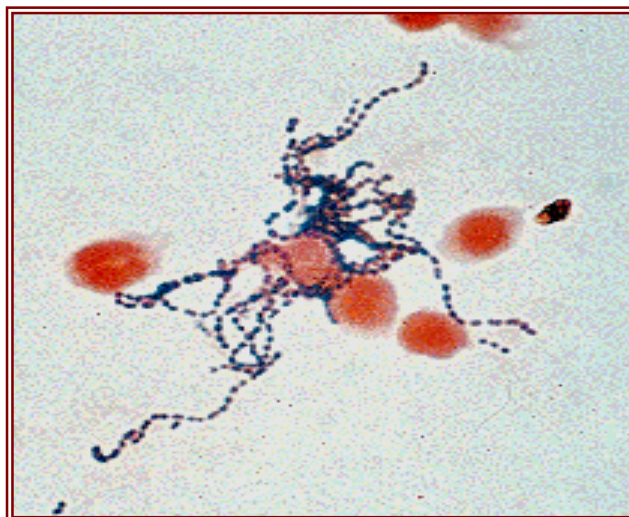
Τις τελευταίες 2 δεκαετίες παρατηρείται ανησυχητική αύξηση των βαρέων διειδυτικών, λοιμώξεων συμπεριλαμβανομένης της βακτηριαμίας, του συνδρόμου στρεπτοκοκκικής καταπληξίας και της νεκρωτικής περιτονίτιδας [2]. Παράγοντες αυξημένου κινδύνου θεωρούνται το άρρεν φύλο, η ύπαρξη δερματικών βλαβών, είτε λόγω τραύματος είτε λόγω λοίμωξης π.χ ανεμευλογιάς, καθώς και υποκείμενο οργανικό νόσημα όπως σακχαρώδης διαβήτης. Επίσης, έχουν ενοχοποιηθεί η ενδοφλέβια χρήση ναρκωτικών, καθώς και περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως ο συγχρωτισμός [3].

2.1.1 Μορφολογία

Είναι Gram-θετικοί κόκκοι, σφαιρικοί που διατάσσονται ο ένας κοντά στον άλλο και σχηματίζουν αλυσίδες, καταλάση-αρνητικοί, οι οποίοι προκαλούν πλήρη β - αιμόλυση στο αιματούχο άγαρ και φέρουν το πολυσακχαριδικό αντιγόνο A κατά Lancefield. Συνήθως οι αλυσίδες του μικροοργανισμού είναι μακριές και οι κόκκοι πιεσμένοι κατά τον επιμήκη άξονα της αλυσίδας. Φέρουν λεπτά ινίδια και λεπτό στρώμα ναλουρονικού οξέος, αδιόρατα στο οπτικό μικροσκόπιο.

Φωτογραφία 1 :

φαίνεται η ταυτόχρονη παρουσία πυοσφαιρίων και αλυσίδων με μορφολογία στρεπτών.

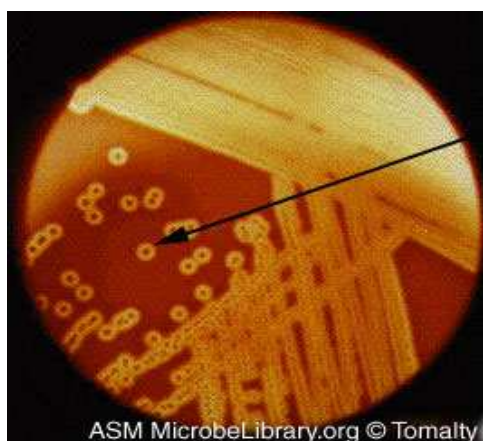


2.1.2 Καλλιεργητικοί χαρακτήρες - απομόνωση

Ο β-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος ομάδας αναπτύσσεται εύκολα στο αιματούχο άγαρ, ενώ δεν αναπτύσσεται σε υλικά χωρίς αίμα, όπως στο σκέτο κοινό θρεπτικό άγαρ.

Οι αποικίες στο αιματούχο άγαρ είναι μικρές, διαμέτρου 0,5-1 mm, μεμονωμένες, άσπρες και περιβάλλονται από πλατειά ζώνη β-αιμόλυσης. Η ζώνη αυτή είναι απόλυτα κυκλική με σαφή όρια, ομοιομεγέθης για όλες τις αποικίες. Είναι πιο έντονη όταν γίνει σε αναερόβιο περιβάλλον (Φωτογραφία 2).

Ευνοϊκή θερμοκρασία ανάπτυξης είναι η των 37°C. Κατά την πρώτη 24ωρη ανάπτυξη οι αποικίες μπορεί να είναι άστιλπνες, όταν ακόμη δεν έχει παραχθεί αρκετό υαλουρονικό οξύ στο περιβάλλον των κόκκων. Όσο το καλλιέργημα αναπτύσσεται, καθώς και στις ανακαλλιέργειες, οι αποικίες γίνονται γυαλιστερές μέχρι και βλενωδείς. Αποικίζεται από βακτηριοφάγους λυτικούς, που δεν είναι ειδικοί για το είδος και από προφάγους λυσιγόνους, που είναι φορείς γόνων, όπως π.χ του γόνου παραγωγής ερυθρογόνου τοξίνης, της αντοχής προς την ερυθρομυκίνη και λινκομυκίνη. Διασπά διάφορα σάκχαρα με παραγωγή οξέος, όχι όμως και αερίου, όπως τη λακτόζη, τη σαλικίνη και την τρεχαλόζη. Καταστρέφεται στους 54°C για 30 min, αντέχει στην ξήρανση [4].



Φωτογραφία 2: Διακρίνεται η ζώνη β-αιμόλυσης γύρω από τις αποικίες του πυογόνου στρεπτόκοκκου.

2.1.3 Αντιγονική δομή

Όπως όλοι οι Gram-θετικοί κόκκοι περιβάλλεται από ένα παχύ στρώμα πεπτιδογλυκάνης που βρίσκεται πάνω από την κυτταρική μεμβράνη. Μέσα στη μάζα της πεπτιδογλυκάνης βρίσκεται το A σακχαρίδιο ομάδας κατά Lancefield. Από το στρώμα πεπτιδογλυκάνης ξεκινούν τα ινίδια και τα μόρια της M-πρωτεΐνης. Εκεί βρίσκεται το καρβοξυλικό άκρο του μορίου της ενώ το αμιδικό της άκρο βγαίνει προς την επιφάνεια που συμπλέκεται με τα λεπτότατα ινίδια. Πάνω από την πεπτιδογλυκάνη αναπτύσσεται ένα στρώμα από υαλουρονικό οξύ όπου εντοπίζεται το λιποτεχοϊκό οξύ. Αυτό μαζί με το ινίδιο και την M-πρωτεΐνη παίρνει μέρος στην προσκόλληση του στρεπτόκοκκου στην επιφάνεια του επιθηλιακού κυττάρου του ξενιστή [5].

Αναλυτικότερα οι χαρακτήρες των αντιγόνων αυτών είναι οι εξής :

Πολυσακχαρίτης C

Το αντιγόνο αυτό περιέχεται στο κυτταρικό τοίχωμα πολλών αιμολυτικών στρεπτόκοκκων. Το αντιγόνο C μελέτησε η Lancefield και με τον προσδιορισμό του οι στρεπτόκοκκοι διαιρούνται σε ομάδες οι οποίες χαρακτηρίζονται με τα γράμματα του λατινικού αλφαβήτου, A-H και K-U. Ο πολυσακχαρίτης C είναι ειδικός της ομάδας, αλλά διαφορετικός για κάθε μία από αυτές και η ειδικότητά του καθορίζεται από την παρουσία ενός αμινοσάκχαρου. Το ειδικό αμινοσάκχαρο για τους στρεπτόκοκκους της ομάδας A είναι ραμνόζη-N-ακετυλογλυκοζαμίνη. β-αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι οι οποίοι έχουν το αντιγόνο C χαρακτηρίζονται ως στρεπτόκοκκοι πυογόνοι.

Αντιγόνο M

Το αντιγόνο M είναι πρωτεΐνη που βρίσκεται μόνο στον στρεπτόκοκκο της A ομάδας και, βάσει των αντιγονικών διαφορών που παρουσιάζει αυτή, το είδος διαχωρίζεται σε ορολογικούς τύπους. Υπάρχουν 100 τουλάχιστον ορότυποι που χαρακτηρίζονται με αραβικούς αριθμούς. Η τυποποίηση για τον καθορισμό του M-τύπου γίνεται με την βοήθεια ειδικών αντιορών . Το αντιγόνο M εκχυλίζεται με θερμό HCl οξύ από την καλλιέργεια στρεπτόκοκκου [5].

Η κλασσική κατά Lancefield τυποποίηση με βάση την Μ πρωτεΐνη αντικαθίσταται τα τελευταία χρόνια με την *emm* τυποποίηση με βάση το γονίδιο που κωδικοποιεί την σύνθεση της Μ πρωτεΐνης. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωρισθεί τουλάχιστον 200 *emm*, τύποι σύμφωνα με πρόσφατα δεδομένα από το CDC. Το αντιγόνο αυτό βρίσκεται με την μορφή φιλμικών στην επιφάνεια του κυτταρικού τοιχώματος του στρεπτόκοκκου και καλύπτεται από λιποτεichoϊκό οξύ.

Το μόριο της Μ-πρωτεΐνης είναι ινιδιοειδές, το καρβοξυλικό άκρο του οποίου βρίσκεται στη μάζα της πεπτιδογλυκάνης, ενώ το αμιδικό της άκρο προέχει ελεύθερα στην επιφάνεια του κυττάρου, περιελισσόμενο με τα ινίδια του μικροβίου. Η διάταξη αυτή συντείνει στην προσκόλληση του στρεπτόκοκκου στην επιφάνεια του επιθηλιακού κυττάρου.

Η Μ-πρωτεΐνη έχει σχέση με την παθογόνο δράση του μικροβίου και καθιστά τον στρεπτόκοκκο ανθεκτικό στην φαγοκυττάρωση. Στρεπτόκοκκος που έχασε την ικανότητα παραγωγής της Μ-πρωτεΐνης δεν είναι λοιμογόνος [6,7].

Αντισώματα ενός ορισμένου τύπου αντιγόνου Μ προστατεύουν μόνον από λοιμώξεις με τον ίδιο τύπο στρεπτόκοκκου.

Μερικοί Μ-ορότυποι, όπως οι Μ1, Μ3 και Μ-18, είναι πιο παθογόνοι από άλλους, ενώ μερικοί, όπως οι Μ12, Μ49 και Μ52, δείχνουν ειδικό οργανοτροπισμό είναι δηλαδή πιο νεφριτιδογόνοι από τους άλλους και άλλοι Μ-ορότυποι είναι πιο δερμοπαθογόνοι.

Αντιγόνο Τ

Είναι πρωτεΐνη. Δεν έχει σχέση με την λοιμογόνο δύναμη του αιμολυτικού στρεπτόκοκκου και καταστρέφεται κατά την εκχύλιση με οξύ και την θέρμανση. Με την βοήθεια του αντιγόνου Τ οι στρεπτόκοκκοι διακρίνονται σε ορότυπους. Η τυποποίηση αυτή γίνεται με συγκολλητινοαντιδράσεις με ειδικούς ορούς. Το ίδιο αντιγόνο Τ είναι δυνατόν να υπάρχει σε διάφορους τύπους Μ στρεπτόκοκκων και στελέχη του αυτού Μ τύπου είναι δυνατόν να έχουν διαφορετικά αντιγόνα Τ.

Τα τελευταία χρόνια αποδίδεται μεγαλύτερη σημασία στο Τ αντιγόνο ως συστατικό των ινιδίων με τα οποία ο στρεπτόκοκκος δύναται να προσκολλάται στα επιθηλιακά κύτταρα. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωρισθεί 20 Τ ορότυποι [8].

Αντιγόνο R

Είναι αντιγονική πρωτεΐνη της επιφάνειας του μικροβίου.

Πυρηνοπρωτεΐνες.

Με την εκχύλιση στρεπτόκοκκων με ασθενές αλκαλικό διάλυμα λαμβάνεται μίγμα ουσιών, το οποίο έχει μικρή ορολογική ειδικότητα. Είναι γνωστές ως ουσίες P και προέρχονται από το μικροβιακό σώμα.

Πρωτεΐνη F

Η πρωτεΐνη F, καθώς και το λιποτειχοϊκό οξύ, είναι απαραίτητα, προκειμένου τα στελέχη του *S.pyogenes* να προσκολληθούν στην φμπρονεκτίνη της επιφάνειας των επιθηλιακών κυττάρων, γεγονός που αποτελεί το πρώτο βήμα για τον αποικισμό των βλεννογόνων [7,9].

Παράγων θολερότητας του ορού(Serum Opacity Factor –OF)

Περίπου 29 στελέχη που διαθέτουν M-πρωτεΐνη παράγουν OF, ο οποίος ανιχνεύεται με ειδικούς αντιορούς, ακόμα και όταν απωλέσουν την ικανότητα παραγωγής M-πρωτεΐνης [10].

2.1.4 Τοξίνες-Ένζυμα

Ο μικροοργανισμός παράγει ποικιλία τοξινών και ενζύμων μέσω των οποίων ασκεί την παθογόνο δράση. Παρακάτω γίνεται αναφορά στις σημαντικότερες τοξίνες και ένζυμα.

Ερυθρογόνος τοξίνη

Η εξωτοξίνη αυτή ονομάζεται και στρεπτοκοκκική πυρετογόνος εξωτοξίνη. Παράγεται από στρεπτόκοκκους ομάδας A, οι οποίοι απομονώνονται από περιπτώσεις οστρακιάς και συνδρόμου στρεπτοκοκκικής καταπληξίας. Υπάρχουν τρεις αντιγονικοί τύποι της εξωτοξίνης αυτής: A, B και O. Από αυτές η σπουδαιότερη είναι η A. Η εξωτοξίνη αυτή παράγεται μόνον από λυσιγόνα στελέχη στρεπτόκοκκου, δηλαδή από στρεπτόκοκκους οι οποίοι φέρουν υπολοιμογόνο φάγο [4,5,10].

Η πυρετογόνος εξωτοξίνη C συμβάλλει στην εμφάνιση του συνδρόμου της τοξικής καταπληξίας, ενώ η συμβολή της εξωτοξίνης B δεν είναι σαφής. Οι αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι της ομάδας A οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για περιπτώσεις συνδρόμου τοξικής καταπληξίας ανήκουν κυρίως στους τύπους M1 και M3. Η στρεπτοκοκκική πυρετογόνος εξωτοξίνη δρα ως υπεραντιγόνο. Τα υπεραντιγόνα χαρακτηρίζονται από την ικανότητα να προκαλούν πολλαπλασιασμό και ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων ανεξάρτητα από την οδό ενεργοποίησης με τα κλασσικά αντιγόνα. Τα υπεραντιγόνα ενεργοποιούν τα T-κύτταρα συνδεδεμένα με μόρια του Μείζονος Συστήματος Ιστοσυμβατότητας τύπου II(MHC-II) και την Vβ περιοχή του υποδοχέως T-κυττάρου (TCR). Τα ενεργοποιημένα T-κύτταρα παράγουν κυτταροκίνες και ογκονεκρωτικό παράγοντα (TNF) που προκαλούν τα συμπτώματα του συνδρόμου της τοξικής καταπληξίας όπως περιγράφονται παρακάτω.

Αιμολυσίνες

Οι β-αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι ομάδας A παράγουν δύο αιμολυσίνες, οι οποίες ονομάζονται στρεπτολυσίνες: τη στρεπτολυσίνη O και την στρεπτολυσίνη S.

Στρεπτολυσίνη O: αιμολύει τα ερυθρά αιμοσφαίρια ανθρώπου, προβάτου και ίππου. Είναι πρωτεΐνη MB 60.000, δρα με την αναχθείσα της μορφή και αδρανοποιείται από το οξυγόνο.

Η στρεπτολυσίνη O έχει αντιγονικές ιδιότητες και προκαλεί την παραγωγή αντισώματος, της αντιστρεπτολυσίνης O (ASO), μετά από λοίμωξη από στρεπτόκοκκο ο οποίος παράγει στρεπτολυσίνη O. Το αντίσωμα αυτό εξουδετερώνει την αιμολυτική δράση της στρεπτολυσίνης O. Η ASO προσδιορίζεται ποσοτικά *in vitro* στον ορό του αίματος. Ο τίτλος της ASO εκφράζεται σε μονάδες, που είναι ως παρανομαστής, η μεγαλύτερη αραίωση του ορού η οποία αναστέλλει την αιμόλυση. Τίτλος ASO μέχρι 200 μονάδες θεωρείται φυσιολογικός. Στον άνθρωπο μετά από αναπνευστικές στρεπτοκοκκικές λοιμώξεις παρατηρείται αύξηση του τίτλου ASO στο τέλος της πρώτης εβδομάδας της νόσου και φτάνει στο ανώτερο σημείο μεταξύ 3^{ης} και 5^{ης} εβδομάδας. Μετά ο τίτλος ελαττώνεται και επανέρχεται στο αρχικό ύψος σε διάστημα 2-3 εβδομάδων. Υψηλός τίτλος ASO σημαίνει πρόσφατη στρεπτοκοκκική λοίμωξη ή εμμένοντα υψηλό τίτλο αντισώματος λόγω αυξημένης αντίδρασης του ανοσολογικού συστήματος, ως αποτέλεσμα προηγηθείσας λοίμωξης [4,5]. Τόσο η στρεπτολυσίνη O

όσο και η στρεπτολυσίνη S έχουν την ικανότητα να καταστρέφουν τις μεμβράνες των πολυμορφοπύρηνων, των αιμοπεταλίων, όπως και των ενδοκυττάρων οργανιδίων.

Στρεπτολυσίνη S

Προκαλεί β-αιμόλυση γύρω από τις αποικίες του στρεπτόκοκκου οι οποίοι αναπτύσσονται στην επιφάνεια του αιματούχου άγαρ, διότι δεν αδρανοποιείται από το οξυγόνο. Δεν είναι αντιγονική [1,4].

Υαλουρονιδάση

Είναι ένζυμο το οποίο διασπά το υαλουρονικό οξύ του συνδετικού ιστού. Με τον τρόπο αυτό διευκολύνει την διασπορά των μικροβίων και την επέκταση της λοίμωξης. Είναι ουσία αντιγονική [4,5].

Στρεπτοκινάση

Παράγεται από πολλά στελέχη β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου. Διαλύει την ινική και άλλες πρωτεΐνες μετατρέποντας το πλασμινογόνο του ορού στο πρωτεϊνολυτικό ένζυμο, την πλασμίνη, που, με τη σειρά της, διασπά το ινώδες και το ινωδογόνο, οδηγώντας στη λύση των θρόμβων και των εναποθέσεων ινώδους. Έτσι, το ένζυμο αυτό μπορεί να προκαλέσει λύση των θρόμβων του αίματος και των εναποθέσεων ινικής, γεγονός που διευκολύνει την γρήγορη εξάπλωση του πυογόνου στρεπτόκοκκου στους προσβεβλημένους ιστούς. Είναι ουσία αντιγονική, που προκαλεί στον οργανισμό παραγωγή αντισώματος, την αντι-στρεπτοκινάση [4,5].

Δεσοξυριβονουκλεάση

Είναι ένζυμο το οποίο προκαλεί αποπολυμερισμό του DNA. Μίγματα στρεπτοκινάσης χρησιμοποιούνται για την ρευστοποίηση συλλογών πύου στους ιστούς και την διάλυση συμφύσεων και ινικής σε κλειστές κοιλότητες του σώματος. Είναι ουσία αντιγονική και προκαλεί την παραγωγή αντισώματος. Το αντίσωμα έναντι της DNAσης ιδιαίτερος σχηματίζεται μετά από λοιμώξεις του δέρματος και από οξεία σπειραματονεφρίτιδα. Ο προσδιορισμός του τίτλου του αντισώματος είναι χρήσιμος για την διάγνωση στρεπτοκοκκικής λοίμωξης. Φυσιολογική τιμή : 100 μονάδες [4,5].

C5a πεπτιδάση

Το συστατικό C5a του συμπληρώματος μεσολαβεί στη φλεγμονή στρατολογώντας και ενεργοποιώντας τα φαγοκύτταρα. Η C5a πεπτιδάση διαταράσσει αυτή τη διαδικασία αποικοδομώντας το C5a [4,5].

2.2. Παθοφυσιολογία

Η δράση και η αλληλεπίδραση του βακτηρίου και του ξενιστή είναι σύνθετες διεργασίες. Μετά τον αποικισμό, η λοίμωξη επισυμβαίνει όταν τα βακτήρια αποφύγουν τους αμυντικούς μηχανισμούς των φαγοκυττάρων και διεισδύσουν στους ιστούς. Σε αυτό μπορεί να συμβάλουν και προδιαθεσικοί παράγοντες, όπως αλλεργία, ιογενής λοίμωξη, οπότε εξασθενούν οι μηχανισμοί κάθαρσης του ξενιστή και ο αποικισμός εξελίσσεται σε λοίμωξη.

Ο πυογόνος στρεπτόκοκκος αποικίζει το ανώτερο αναπνευστικό σύστημα ή το δέρμα, όπου προσκολλάται στα επιθηλιακά κύτταρα με ποικίλους μηχανισμούς. Προκαλεί νόσο λόγω της ικανότητάς του να διαφεύγει την φαγοκυττάρωση, να διεισδύει και να παραμένει ενδοκυττάρια, αποφεύγοντας τους διάφορους μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή ή παράγοντας και τοξίνες [11].

Το πρώτο βήμα για την ανάπτυξη της λοίμωξης είναι η προσκόλληση και διείσδυση του στρεπτόκοκκου στα επιθηλιακά κύτταρα.

Σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του πυογόνου στρεπτόκοκκου έχει η Μ-πρωτεΐνη (σχήμα 1), η οποία δρα αφενός μεν ως προσκολλητίνη διευκολύνοντας την προσκόλληση και διείσδυση του μικροβίου αφετέρου δε προστατεύει το στρεπτόκοκκο από τη φαγοκυττάρωση συνδεδεμένη με τον ανθρώπινο παράγοντα Η και το ινοδωγόνο. Επίσης, σε συνδυασμό με το περίβλημα του στρεπτόκοκκου που αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες υαλουρονικού οξέος, βοηθά στην καλύτερη επιβίωση του στρεπτοκόκκου στο αίμα και στους ιστούς. Σήμερα είναι γνωστοί πάνω από 100 διαφορετικοί τύποι Μ πρωτεΐνης που κωδικοποιούνται από την ομάδα γονιδίων *emm* [9,12].

Νεότερες μελέτες ανέδειξαν την ύπαρξη και άλλων πρωτεϊνικών στοιχείων στην κυτταρική μεμβράνη του πυογόνου στρεπτόκοκκου που δρουν ως προσκολλητίνες και συνδέουν με μεγάλη συνάφεια την φμπρονεκτίνη (Fn)

διευκολύνοντας έτσι τη διαδικασία προσκόλλησης και διείσδυσης του μικροοργανισμού στα επιθηλιακά κύτταρα.

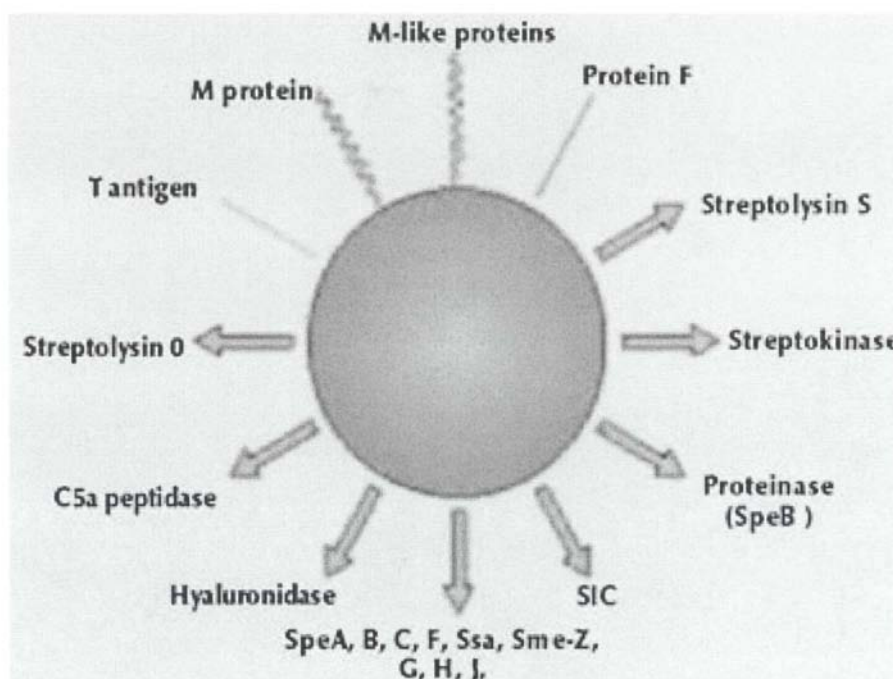
Μεταξύ αυτών η σημαντικότερη είναι η πρωτεΐνη F (fibronectin binding protein) που κωδικοποιείται από το γονίδιο *prtF 1*. Νεότερα δεδομένα ανέδειξαν ότι η πρωτεΐνη F1 εκτός από προσκολλητίνη (adhesion-invasin) προστατεύει τον στρεπτόκοκκο από τη φαγοκυττάρωση εμποδίζοντας την εναπόθεση του C3b στην επιφάνεια του μικροβίου, κυρίως σε M1 στελέχη [13,14,15].

Ένα χαρακτηριστικό που εμφανίζεται σε όλες τις υψηλής συγγένειας συνδεόμενες με την φιβρονεκτίνη πρωτεΐνες του πυογόνου στρεπτόκοκκου, αλλά και τις συνδεόμενες με τη φιβρονεκτίνη πρωτεΐνες άλλων Gram θετικών κόκκων, είναι η δομή που εμπεριέχει διαδοχικές επαναλήψεις αλληλουχιών μήκους 32-50 αμινοξέων. Οι παραπάνω περιοχές βρίσκονται παρακείμενα της συντηρημένης καρβοξυλικής περιοχής στο σημείο της κυτταρικής σύνδεσης. Συγκεκριμένα η πρωτεΐνη F1 του πυογόνου στρεπτόκοκκου περιέχει 2 περιοχές σύνδεσης με τη φιβρονεκτίνη, εκ των οποίων η μία βρίσκεται στο καρβοξυλικό άκρο του μορίου - επαναλαμβανόμενη περιοχή 2 (repeat domain 2) και έχει αναφερθεί ότι περιέχει 5 επαναλήψεις, 4 πλήρεις επαναλήψεις 37 αμινοξέων και μία ατελή 32 αμινοξέων κοντά στο καρβοξυλικό άκρο [16]. Αντίστοιχα, η RD2 περιοχή του *prtF1* γονιδίου έχει αναφερθεί ότι αποτελείται από 5 επαναλήψεις, 4 μήκους 111 βάσεων (στο 3' άκρο) και η μία μήκους 96 βάσεων [16,17]. Ο αριθμός των επαναλήψεων ποικίλλει από μια έως έξι και δεν σχετίζεται με την ικανότητα σύνδεσης της πρωτεΐνης με τη φιβρονεκτίνη [12,14,15].

Άλλοι λοιμογόνοι παράγοντες που είναι παρόντες και προαναφέρθηκαν είναι οι στρεπτολυσίνες O και S που εμποδίζουν την φαγοκυττάρωση λόγω της κυτταροτοξικής δράσης που έχουν στα φαγοκύτταρα, οι πυρετογόνες εξωτοξίνες A, B, και C και οι λιγότερο γνωστές D, Z-2, ο μιτογόνος παράγοντας SpeF και το στρεπτοκοκκικό υπεραντιγόνο SSA, που είναι γνωστές και για τις ιδιότητές τους ως υπεραντιγόνα. Τα υπεραντιγόνα διαφέρουν στο ότι από τα συμβατικά αντιγόνα έχουν την ικανότητα να διεγείρουν μαζικά όλα τα λεμφοκύτταρα που φέρουν μία συγκεκριμένη αλληλουχία της β- αλυσού του υποδοχέα τους (Vβ+T λεμφοκύτταρα) και όχι μόνο εκείνα των οποίων ο υποδοχέας παρουσιάζει δομική ομοιότητα με το υπεραντιγόνο, επειδή προσκολλώνται άμεσα στη συγκεκριμένη περιοχή της Vβ

αλύσου των υποδοχέων των λεμφοκυττάρων. Έτσι, ενώ τα συμβατικά αντιγόνα διεγείρουν περίπου 1 στα 10000 κυκλοφορούντα λεμφο-κύτταρα, τα υπεραντιγόνα διεγείρουν 20-30% των κυκλοφορούντων λεμφοκυττάρων. Η μαζική αυτή διέγερση έχει σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση μεγάλης ποσότητας προφλεγμονωδών κυτταροκινών TNF- α , IL-1, IL-6 που προκαλούν πυρετό, πτώση της αρτηριακής πίεσης και εκτεταμένη καταστροφή των ιστών. Οι πυρετογόνες εξωτοξίνες A και B κωδικοποιούνται από τα γονίδια *speA* και *speB*, ενώ πρόσφατα ανακαλύφθηκε μια νέα οικογένεια γονιδίων που κωδικοποιούν υπεραντιγόνα, τα γονίδια *speG, speH, speJ* [18,19].

Παράγοντας της παθογόνου δράσης που μελετάται τα τελευταία χρόνια είναι και μία πρωτεΐνη αναστολέας στη δράση του συμπληρώματος που κωδικοποιείται από το *sic* γονίδιο και παρεμβαίνει στη δράση του συμπλέγματος προσβολής της μεμβράνης συνδεδεμένο με ένα ή περισσότερα πρωτεϊνικά του στοιχεία [13,14].



Σχήμα 1 . Λοιμογόνοι παράγοντες στρεπτόκοκκου

2.3. Κλινικά σύνδρομα που σχετίζονται με τον β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδας A

Ο β-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος μπορεί να προκαλέσει ευρύτατο φάσμα λοιμώξεων. Η πλέον συχνή και τυπική λοίμωξη που προκαλεί είναι η φαρυγγοαμυγδαλίτιδα.

Οι στρεπτοκοκκικές λοιμώξεις διαχωρίζονται σε κλασσικές μη διεισδυτικές και σε νεότερες διεισδυτικές.

Μη διεισδυτικές λοιμώξεις

- Οξεία φαρυγγίτιδα/φαρυγγοαμυγδαλίτιδα
- Οστρακιά
- Δερματίτιδα ή impetigo
- Ερυσίπελας
- Επιλόχειος πυρετός
- Πυώδεις φλεγμονές τραυμάτων και εγκαυμάτων
- Αιματογενής διασπορά και εντόπιση σε όργανα και ιστούς
- Μεταστρεπτοκοκκικοί νόσοι: ρευματικός πυρετός, οξεία σπειραματονεφρίτιδα, χορεία του Sydenham, σύνδρομο Kawasaki, σύνδρομο PANDAS

Διεισδυτικές λοιμώξεις

- Τοξικό σύνδρομο καταπληξίας (Toxic shock syndrome-TSS)
- Στρεπτοκοκκική νεκρωτική περιτονίτιδα (necrotising fasciitis)
- Στρεπτοκοκκική μυοσίτιδα - πυομυοσίτιδα
- Μικροβιαμία
- Πυώδεις λοιμώξεις των αρθρώσεων
- Απόστημα εγκεφάλου, πνεύμονα

Στρεπτοκοκκική φαρυγγοαμυγδαλίτιδα

Η λοίμωξη του φάρυγγα ή και των αμυγδαλών αποτελεί την συχνότερη βακτηριακή λοίμωξη της παιδικής ηλικίας. Η νόσος απαντάται κυρίως μεταξύ των

παιδιών της σχολικής ηλικίας(5 έως 15 ετών).Είναι σχετικά σπάνια πριν από τα 2 έτη ζωής.

Αντιπροσωπεύει το 10-15% των περιπτώσεων της φαρυγγοαμυγδαλίτιδας, ενώ οι περισσότερες περιπτώσεις (80—85%) οφείλονται σε ιούς. Άλλα λιγότερο συχνά αίτια φαρυγγίτιδας είναι ο στρεπτόκοκκος ομάδας C, το αιμολυτικό αρκανοβακτηρίδιο σε εφήβους και νεαρούς ενήλικες, η *Francisella tularensis*, τα χλαμύδια πνευμονίας και το μυκόπλασμα πνευμονίας [20].

Παθοφυσιολογία. Ο β-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος μεταδίδεται συνήθως με την άμεση επαφή μεταξύ των ατόμων, πιθανότατα μέσω σταγονιδίων σιέλου ή ρινικών εκκρίσεων. Αφού μολυνθεί ένα άτομο, ο τυπικός χρόνος επώασης είναι 2 έως 4 ημέρες. Το πρώτο βήμα στην παθοφυσιολογία της στρεπτοκοκκικής φαρυγγοαμυγδαλίτιδας είναι η διείσδυση του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου μέσω της βλεννώδους μεμβράνης που καλύπτει το βλεννογόνο του στοματοφάρυγγα και η επακόλουθη σύνδεση στα επιφανειακά επιθηλιακά κύτταρα. Η σύνδεση αυτή πυροδοτεί την κυτταρική ενεργοποίηση, την είσοδο των βακτηρίων μέσα στα επιθηλιακά κύτταρα, με αποτέλεσμα την επαγωγή φλεγμονώδους αντίδρασης στους υποκείμενους ιστούς [5].

Κλινική εικόνα. Η έναρξη της νόσου είναι αιφνίδια με φαρυγγαλγία και μέτριο ή υψηλό πυρετό. Κεφαλαλγία, ναυτία, έμετος και κοιλιακό άλγος είναι συχνά συνοδά συμπτώματα. Σε μία τυπική περίπτωση, στην επισκόπηση, κύρια ευρήματα είναι η ερυθρότητα του φάρυγγα (αμυγδαλές και παρίσθμιες καμάρες),η διόγκωση των αμυγδαλών και η παρουσία εξιδρώματος. Μπορεί να υπάρχουν πετέχειες στην μαλθακή υπερώα και τον οπισθοφάρυγγα [21,22].



Φωτογραφία 3: Κλινική εικόνα ασθενούς με οξεία στρεπτοκοκκική φαρυγγοαμυγδαλίτιδα

Οι πρόσθιοι τραχηλικοί λεμφαδένες διογκώνονται και είναι επώδυνοι. Τα συμπτώματα της νόσου όμως ποικίλλουν και πολλά παιδιά εμφανίζουν μόνο μία ελαφρά ερυθρότητα χωρίς εξίδρωμα ή τραχηλική λεμφαδενοπάθεια. Τα βρέφη με στρεπτοκοκκική φαρυγγοαμυγδαλίτιδα έχουν απολέπιση στους ρόθωνες και εμφανίζουν γενική κακουχία και ατονία. Η παρουσία επιπεφυκίτιδας, βήχα, βράγχους φωνής, ρινίτιδας, στοματίτιδας, εξελκώσεων στο στοματικό βλεννογόνο, εξανθήματος και διάρροιας ενισχύουν την ιογενή αιτιολογία. Υπάρχουν, όμως, περιπτώσεις που το εξίδρωμα είναι τόσο λίγο, ώστε κλινικά η διάκριση μεταξύ ιογενούς και στρεπτοκοκκικής φαρυγγίτιδας να είναι αδύνατη, ενώ σε >1/3 των μη στρεπτοκοκκικών φαρυγγίτιδων της ομάδας A παρατηρείται εξίδρωμα στο φάρυγγα.

Η κλινική διάγνωση της στρεπτοκοκκικής φαρυγγίτιδας στηρίζεται στην αναζήτηση των τεσσάρων κριτηρίων Centor (Πίνακας 1). Η παρουσία 3 ή 4 κριτηρίων, σε ενήλικες, έχει αρνητική προγνωστική αξία 80% [21,22].

Πίνακας 1. Τροποποιημένα κριτήρια Centor

Κριτήρια	Βαθμός
Θερμοκρασία (>38.3°C)	1
Απουσία βήχα	1
Οιδηματώδεις και ευαίσθητοι πρόσθιοι τραχηλικοί λεμφαδένες	1
Αμυγδαλές οιδηματώδεις ή με επίχρισμα	1
Ηλικία :	
3-14 ετών	1
15-45 ετών	0
>45 ετών	-1
JAMA 2004 ;291:1587-95	

Οι επιπλοκές της στρεπτοκοκκικής φαρυγγίτιδας διακρίνονται σε πυώδεις και μη πυώδεις. Οι πυώδεις επιπλοκές περιλαμβάνουν το περιαμυγδαλικό απόστημα, την περιαμυγδαλική κυτταρίτιδα, το οπισθοφαρυγγικό απόστημα, τη μέση ωτίτιδα, την παραρινοκολπίτιδα, την σταφυλίτιδα, την ενδοκαρδίτιδα, την οστεομυελίτιδα, την μηνιγγίτιδα και τα εγκεφαλικά αποστήματα. Οι μη πυώδεις επιπλοκές αφορούν στον ρευματικό πυρετό, στην οξεία σπειραματονεφρίτιδα και στην μεταστρεπτοκοκκική αντιδραστική αρθρίτιδα, για την οποία μερικοί ερευνητές υποθέτουν ότι αποτελεί παραλλαγή ή πρόδρομο του οξέος ρευματικού πυρετού.

Οστρακιά

Μερικά παιδιά με στρεπτοκοκκική φαρυγγίτιδα μπορεί να αναπτύξουν εξάνθημα (οστρακιάδες εξάνθημα). Η οστρακιά οφείλεται σε λοίμωξη από στέλεχος στρεπτόκοκκου που παράγει πυρετογόνο εξωτοξίνη.

Αν και σχετίζεται με τις φαρυγγικές λοιμώξεις, η οστρακιά μπορεί να ακολουθεί στρεπτοκοκκικές λοιμώξεις σε άλλες θέσεις, όπως στο δέρμα ή στα μαλακά μόρια. Το εξάνθημα εμφανίζεται τυπικά κατά τη δεύτερη ημέρα της κλινικής νόσου ως διάχυτο ερύθημα. Το εξάνθημα συχνά ξεκινά από το ανώτερο τμήμα του θώρακα και κατόπιν εξαπλώνεται στο υπόλοιπο σώμα. Συχνά, φείδεται των παλαμών, των πελμάτων και του προσώπου. Οι πτυχώσεις του δέρματος στον τράχηλο, στις μασχάλες, στη βουβωνική χώρα, στους αγκώνες και στα γόνατα διαγράφονται εντονότερα (γραμμές Pastia). Η απόφραξη των ιδρωτοποιών αδένων δημιουργεί στο δέρμα μία υφή υαλόχαρτου [20].

Στρεπτοκοκκικό Πυόδερμα

Το στρεπτοκοκκικό πυόδερμα ορίζεται ως εντοπισμένη πυώδης λοίμωξη του δέρματος και συχνά χρησιμοποιείται ως συνώνυμο του στρεπτοκοκκικού κηρίου (impetigo) και του μολυσματικού κηρίου. Παρατηρείται σε οικονομικά καθυστερημένους λαούς των τροπικών κλιμάτων με χαμηλό επίπεδο υγιεινής, καθόλη την διάρκεια του έτους, όπως και τους καλοκαιρινούς μήνες σε βορειότερες περιοχές, συχνότερα σε παιδιά ηλικίας μεταξύ 2 και 5 ετών. Είναι χαρακτηριστικό ότι τα αποκαλούμενα ως "δερματικά στελέχη" των στρεπτόκοκκων ανήκουν σε υψηλούς αριθμούς M-οροτύπων και είναι διαφορετικά από τα "φαρυγγικά στελέχη" που

συνήθως αφορούν στους Μ-τύπους 1,3,5,6,12,18,19 και 24 που,κατ' ουσίαν, δεν απομονώνονται από βλάβες πυοδέρματος [4,20].

Το πυόδερμα συχνότερα προκύπτει κατόπιν άμεσου ενοφθαλμισμού του δέρματος με β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδας Α ύστερα από επιπόλαιο τραύμα, εκδορά ή δήγμα εντόμου. Στις περισσότερες περιπτώσεις υπάρχει ταυτόχρονη λοίμωξη από χρυσίζοντα σταφυλόκοκκο. Ξεκινά συχνά ως βλατίδα που εξελίσσεται σε κυστική βλάβη που περιβάλλεται από ερύθημα. Η κυστική βλάβη συχνά δημιουργεί φλύκταινες που αυξάνονται σταδιακά και κατόπιν λύνονται, οπότε σχηματίζονται παχιές εφελκίδες με το χρώμα του μελιού. Μπορεί να παρατηρηθεί διόγκωση των επιχώριων λεμφαδένων. Σε περίπτωση που η δερματική βλάβη σχηματίσει πομφόλυγα, τότε αίτιο είναι, με βεβαιότητα, στέλεχος *Staphylococcus aureus*. Για άγνωστους λόγους το στρεπτοκοκκικό κηρίο δεν επιπλέκεται από ρευματικό πυρετό, ενώ,αντιθέτως,"νεφριτογόνα" στελέχη επιπλέκονται με μετα-στρεπτοκοκκική σπειραματονεφρίτιδα. Η ανοσολογική απάντηση ως προς την ASO είναι πτωχή, ενώ, αντιθέτως, αυξάνουν τα αντισώματα έναντι της υαλουρονιδάσης και της DNAσης. Είναι όμως άγνωστο εάν τα αντισώματα αυτά είναι προστατευτικά έναντι του Μ-ορότυπου που προκάλεσε τη λοίμωξη.

Ερυσίπελας

Το ερυσίπελας χαρακτηρίζεται από οξεία φλεγμονή του δέρματος με εμπλοκή των δερματικών λεμφαγγείων. Κλασικά αφορά στις περισσότερο επιφανειακές στοιβάδες του δέρματος και στα δερματικά λεμφαγγεία, ενώ η κυτταρίτιδα εκτείνεται βαθύτερα στους υποδόριους ιστούς. Σε ένα τυπικό περιστατικό, η λοίμωξη αρχίζει κατόπιν άμεσου ενοφθαλμισμού του δέρματος με β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο. Ύστερα από περίοδο επώασης 2 έως 5 ημερών, αναπτύσσεται μία μικρή περιοχή ερυθρότητας, της οποίας το μέγεθος σταδιακά αυξάνεται, οπότε σχηματίζεται μία χαρακτηριστική τεταμένη, θερμή, επώδυνη, με γυαλιστερό ζωηρό ερυθρό χρώμα, σκληρή, διηθημένη πλάκα με σαφές και καλά αφοριζόμενο περίγραμμα, τον αποκαλούμενο "όχθο", μεταξύ προσβεβλημένου και υγιούς δέρματος [20]. Η ερυθρότητα του δέρματος συνοδεύεται από οίδημα και σχηματισμό φυσαλίδων, ενώ, όταν προσβάλλεται το πρόσωπο, συχνά λόγω του οιδήματος, δεν ανοίγουν οι

οφθαλμοί. Η δερματική προσβολή συνοδεύεται από πυρετό που εισβάλλει με ρίγος και συστηματική τοξικότητα .

Ρευματικός πυρετός (ΡΠ)

Αποτελεί τη σοβαρότερη επιπλοκή της λοίμωξης με β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδας Α διότι έχει ως αποτέλεσμα βλάβες των αρθρώσεων, του καρδιακού μυός και των βαλβίδων της καρδιάς. Ο ρευματικός πυρετός σε αναπτυσσόμενες χώρες είναι η πρώτη αιτία καρδιολογικών προβλημάτων στην παιδική ηλικία. Εμφανίζεται 1-4 εβδομάδες μετά από λοίμωξη των ανώτερων αναπνευστικών οδών. Δεν οφείλεται στην άμεση δράση του στρεπτόκοκκου, ο οποίος ουδέποτε ανευρίσκεται στις παθολογοανατομικές βλάβες της νόσου, αλλά στην ύπαρξη κοινού αντιγόνου στον στρεπτόκοκκο και τον καρδιακό μυ. Η επικρατούσα άποψη αφορά στην πρόκληση αυτοάνοσων αντιδράσεων στον άνθρωπο λόγω ομοιότητας ορισμένων στρεπτοκοκκικών αντιγόνων με τα αντιγόνα των ιστών. Η άποψη αυτή βασίζεται στην αυτοανοσία ή στην αποκαλούμενη "molecular mimicry", η οποία ενισχύεται και από την παρουσία ειδικών αντισωμάτων, των αποκαλούμενων "αντικαρδιακών αντισωμάτων", στους ασθενείς με ΡΠ. Είναι εξαιρετικά ενδιαφέρον ότι έχουν αναγνωριστεί επίτοποι στις στρεπτοκοκκικές Μ-πρωτεΐνες, οι οποίες έχουν τα ίδια αντιγόνα με την καρδιακή μυοσΐνη, τη μεμβράνη του σαρκολύματος των πρωτεϊνών, την αρθρική μεμβράνη και τον αρθρικό χόνδρο [20,23,24]. Εξάλλου, η αναγνώριση ότι τόσο η Μ-πρωτεΐνη όσο και οι στρεπτοκοκκικές πυρετογόνες εξωτοξίνες λειτουργούν ως υπεραντιγόνα αποτελεί έμμεση ένδειξη του μηχανισμού που τροφοδοτεί την "απεριόριστη ανοσολογική έφοδο" που είναι αποδεκτό ότι υφίσταται στο ΡΠ.

Ο ρευματικός πυρετός προσβάλλει συχνότερα τα παιδιά 6-15 ετών, ώστε η σπανιότητά του στις μικρότερες ηλικίες να θέτει την υποψία ότι απαιτούνται επαναλαμβανόμενα επεισόδια στρεπτοκοκκικής κυνάγχης πριν από την εμφάνισή του. Η επίπτωση του ΡΠ στη σχολική ηλικία κυμαίνεται μεταξύ 0.4% και 0.9%, ανέρχεται όμως σε 3% και 2,5% αντιστοίχως σε στρατόπεδα, όπως και στην περίπτωση σοβαρών στρεπτοκοκκικών λοιμώξεων που εκδηλώνονται με εξιδρωματική φαρυγγίτιδα, υψηλό τίτλο ASO, θετικές καλλιέργειες φαρυγγικού επιχρίσματος για

S.pyogenes και παρατεινόμενη φορεία μετά την ανάρρωση. Εντούτοις ,περίπου το 1/3 των περιπτώσεων ΡΠ παρατηρούνται μετά από ασυμπτωματικές λοιμώξεις.

Παρόλο ότι στις ΗΠΑ η επίπτωση του ΡΠ, τουλάχιστον στα λευκά παιδιά σχολικής ηλικίας, φτάνει σε 0.5% ανά 100.000/έτος, η επίπτωση είναι υψηλότερη στους μαύρους και γενικά στις ομάδες με χαμηλό κοινωνικό και οικονομικό επίπεδο. Εντούτοις, μετά το 1985 άρχισαν να επανεμφανίζονται επιδημίες και κρούσματα σε πολλές πολιτείες των ΗΠΑ προσβάλλοντας παιδιά μεσαίας τάξης λευκών οικογενειών [25]. Η λανθάνουσα περίοδος μεταξύ προηγούμενης στρεπτοκοκκικής κυνάγχης και της εμφάνισης ΡΠ κυμαίνεται από 1 έως 5 εβδομάδες, με μέσο όρο 19 ημέρες, χωρίς να υπάρχει διαφορά μεταξύ πρώτης προσβολής και υποτροπών. Ο κίνδυνος της υποτροπής του ΡΠ είναι υψηλότερος τα πρώτα χρόνια μετά την προσβολή και γενικότερα μέχρι την ενηλικίωση. Ο κίνδυνος υποτροπής υπερβαίνει το 50% εφόσον προϋπάρχει καρδιακή ρευματοπάθεια, όπως και σε έντονη ανοσολογική απάντηση (υψηλός τίτλος ASO) [26].

Τα αναθεωρημένα κριτήρια του Jones παρατίθενται στον Πίνακα 2. Ο τρόπος εισβολής της νόσου ποικίλλει. Εάν η πολυαρθρίτιδα αποτελεί το κύριο σύμπτωμα, τότε η έναρξη είναι οξεία και χαρακτηρίζεται από υψηλό πυρετό και τοξική εικόνα, ενώ αν η πρώτη εκδήλωση είναι η καρδίτιδα, τότε η έναρξη του ΡΠ δυνατόν να είναι ύπουλη και υποκλινική. Αρθρίτιδα παρατηρείται στο 75% περίπου, καρδίτιδα στο 40-50%, χορεία στο 15% και δερματικές εκδηλώσεις σε ποσοστό <10%.

Η καρδίτιδα συχνά αφορά σε πανκαρδίτιδα και εκδηλώνεται τις πρώτες τρεις εβδομάδες της νόσου. Η μιτροειδής προσβάλλεται συχνότερα σε σχέση με την αορτική βαλβίδα. Τα ευρήματα από το κυκλοφορικό αφορούν οργανικά φυσήματα που δεν προϋπήρχαν, καρδιακή διάταση, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, περικαρδιακή τριβή ή περικαρδιακό υγρό. Είναι χαρακτηριστικό ότι τα φυσήματα στην οξεία ρευματική καρδίτιδα είναι φυσήματα ανεπάρκειας των στομίων και αφορούν τρία είδη [20,27] :

- υψηλής συχνότητας ολοσυστολικό φύσημα στην κορυφή, ενδεικτικό ανεπάρκειας της μιτροειδούς
- χαμηλής συχνότητας μεσοδιαστολικό φύσημα στην κορυφή (φύσημα Carey-Coombs)

- υψηλής συχνότητας "decrecendo" διαστολικό φύσημα στις θέσεις ακρόασης της αορτής, ως συνέπεια ανεπάρκειας του αορτικού στομίου.

Η προσβολή των αρθρώσεων κυμαίνεται από εμφάνιση αρθραλγιών έως γνήσια μεταναστευτική αρθρίτιδα των μεγάλων αρθρώσεων. Περίπου στο 50% των ασθενών προσβάλλονται έξι τουλάχιστον αρθρώσεις. Εφόσον προσβληθεί μία άρθρωση, η φλεγμονή αρχίζει να υποχωρεί εντός ολίγων ημερών έως και μία εβδομάδα μετά, για να εξαφανιστεί εντός 2-3 εβδομάδων. Είναι, επομένως, σύνηθες να ανευρίσκονται συγχρόνως προσβεβλημένες πολλές μεγάλες αρθρώσεις, αλλά η πολυαρθρική προσβολή δεν υπερβαίνει σε διάρκεια τις 4 εβδομάδες.

Οι υποδόριοι όζοι αφορούν σταθερές και ανώδυνες διογκώσεις διαμέτρου ολίγων χιλιοστών έως 2 cm, οι οποίοι κυμαίνονται σε αριθμό από ένα έως μερικές δωδεκάδες και ανευρίσκονται επί των οστικών επιφανειών ή των οστικών προεξοχών και των τενόντων. Υποχωρούν σε 1-2 εβδομάδες. Η παρουσία τους συνδέεται με σοβαρή καρδίτιδα [20].

Το οχθώδες ερύθημα είναι ανώδυνο, μη κνησμώδες και εμμένει στον κορμό ή στις εγγύς περιοχές των άκρων για εβδομάδες έως μήνες. Θυμίζει τους κύκλους καπνού, με τάση να εξαφανίζεται και να επανέρχεται εντός λεπτών ή ωρών, με ερυθρότητα στην περιφέρεια και ωχρότητα στο κέντρο, ώστε να θεωρείται περισσότερο ως αγγειοκινητικό φαινόμενο παρά ως δερματική παθολογοανατομική διεργασία.

Η χορεία του Sydenham δυνατόν να αποτελεί τη μόνη εκδήλωση του ΡΠ, εμφανιζόμενη οψίμως ή από κοινού με άλλες εκδηλώσεις, και διαρκεί 2-4 μήνες. Χαρακτηρίζεται από μυική αδυναμία, συναισθηματική αστάθεια και ταχείες ασυντόνιστες και άσκοπες κινήσεις που αφορούν κυρίως στο πρόσωπο, τα χέρια και τα πόδια.

Η διάγνωση του ΡΠ βασίζεται στα κριτήρια Jones, παρόλο που επί υποτροπών της νόσου, αρκετές φορές, τα κριτήρια δεν φαίνεται να επαρκούν.

Πίνακας 2. Κριτήρια Jones για τη διάγνωση της πρώτης προβολής του ρευματικού πυρετού –αναθεώρηση 1992

Μείζονες εκδηλώσεις

- Καρδίτιδα
- Πολυαρθρίτιδα
- Χορεία
- Οχθώδες ερύθημα
- Υποδόριοι όζοι

Ελλάσσονες εκδηλώσεις

- Κλινικά ευρήματα
- Αρθραλγίες
- Πυρετός

Εργαστηριακά ευρήματα

- Αύξηση λευκών αιμοσφαιρίων
- Αύξηση CRP
- Αύξηση ΤΚΕ
- Παράταση PR διαστήματος στο ΗΚΓ

Ενδείξεις προηγθείσας στρεπτοκοκκικής λοίμωξης

- Θετική καλλιέργεια φάρυγγα ή θετική ταχεία δοκιμασία ανίχνευσης στρεπτοκοκκικού αντιγόνου
- Υψηλός ή ανερχόμενος τίτλος αντιστρεπτοκοκκικών αντισωμάτων

Εφόσον υπάρχει ένδειξη προηγθείσας στρεπτοκοκκικής λοίμωξης από *S.pyogenes*, η παρουσία δύο μείζονων ή ενός μείζονος και δύο ελλασόνων εκδηλώσεων θέτει με μεγάλη πιθανότητα τη διάγνωση του οξέος ρευματικού πυρετού. Αποτυχία εκλήρωσης των κριτηρίων του Jones θέτει σε αμφιβολία τη διάγνωση, με εξαίρεση την περίπτωση μακράς λανθάνουσας περιόδου από την προηγθείσα λοίμωξη(π.χ. χορεία Sydenham ,αφανής καρδίτιδα).
Από :Dajani AS,et al .Circulation 1993; 87:307-307

Οξεία μεταστρεπτοκοκκική σπειραματονεφρίτιδα (ΟΜΣ)

Εμφανίζεται μετά από 3 εβδομάδες περίπου από την έναρξη μιας στρεπτοκοκκικής λοίμωξης, συνήθως με δερματική εντόπιση, όπως είναι η δερματίτιδα ή η οστρακιά, από ορισμένους M-ορολογικούς τύπους όπως οι τύποι 12, 4, 9, 49, 59, 61 [1].

Η σπειραματονεφρίτιδα οφείλεται στον σχηματισμό συμπλεγμάτων αντιγόνου-αντισώματος και συμπληρώματος στη βασική μεμβράνη του επιθηλίου των νεφρικών σωματίων. Το σπουδαιότερο αντιγόνο κατά πάσα πιθανότητα ευρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη του στρεπτόκοκκου [20]. Παρόλο ότι μέχρι σήμερα ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο οι στρεπτόκοκκοι προκαλούν οξεία σπειραματονεφρίτιδα δεν έχει διευκρινιστεί, οι υπάρχουσες ενδείξεις συγκλίνουν υπέρ ανοσολογικής διεργασίας και βασίζονται :

- στη μεσολαβούσα λανθάνουσα περίοδο μεταξύ της στρεπτοκοκκικής λοίμωξης και της εκδήλωσης της ΟΜΣ
- στη μείωση του συμπληρώματος
- στο γεγονός ότι συμπλέγματα ανοσοσφαιρίνης (IgG), κλασμάτων του συμπληρώματος (C3) και αντιγόνων που αντιδρούν με στρεπτοκοκκικά αντισώματα εναποτίθενται υποεπιθηλιακά στο νεφρικό σπείραμα στις πρώιμες φάσεις της νόσου και διακρίνονται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ως χαρακτηριστικοί ύβοι (humps). Στην τυπική της μορφή η οξεία μεταστρεπτοκοκκική νεφρίτιδα εκδηλώνεται ως οξύ νεφριτιδικό σύνδρομο, το οποίο χαρακτηρίζεται από αιφνίδια εμφάνιση μακροσκοπικής αιματουρίας, οιδήματος, υπέρτασης και νεφρικής ανεπάρκειας.

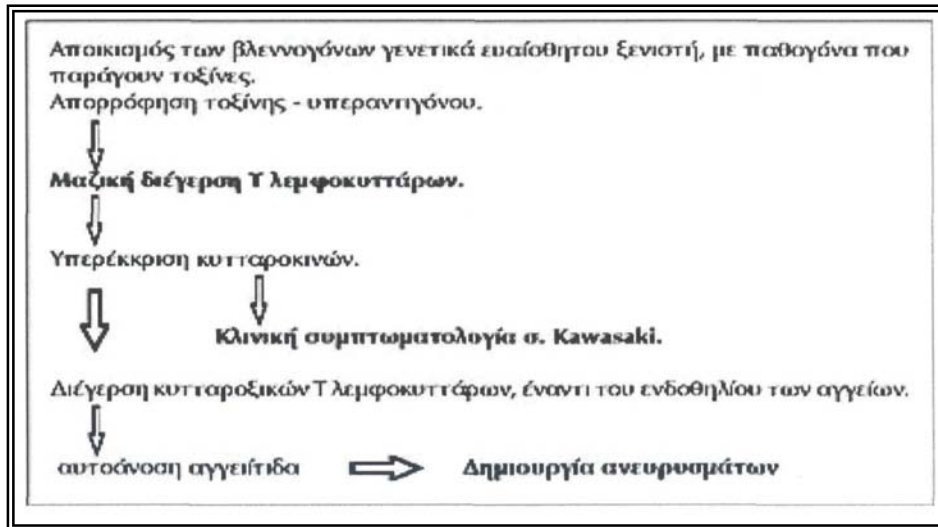
Στρεπτόκοκκος και σύνδρομο Kawasaki

Οι ομοιότητες στην επιδημιολογία και την κλινική συμπτωματολογία που παρουσιάζει το σύνδρομο Kawasaki με τις στρεπτοκοκκικές λοιμώξεις οδήγησε στην υπόθεση συσχέτισης του στρεπτόκοκκου με την παθογένεια του συνδρόμου. Η υπόθεση αυτή ενισχύθηκε περισσότερο από την παρατήρηση ότι οι διαταραχές του ανοσολογικού συστήματος που παρατηρούνται στο σύνδρομο Kawasaki είναι

παρόμοιες με εκείνες που προκαλούν οι τοξίνες του στρεπτόκοκκου σε ασθενείς με εικόνα τοξικού shock. Υπάρχουν μάλιστα βιβλιογραφικές αναφορές ασθενών, που, ενώ παρουσίασαν αρχικά εικόνα τοξικού shock, ακολούθως ανέπτυξαν ανευρύσματα των στεφανιαίων αγγείων που χαρακτηρίζουν το σύνδρομο Kawasaki [28].

Είναι γνωστό ότι τα περιστατικά του συνδρόμου Kawasaki έχουν επιδημική μορφή με συσσώρευση των κρουσμάτων κυρίως το χειμώνα και την άνοιξη, περίοδος που συμπίπτει με την αύξηση των στρεπτοκοκκικών λοιμώξεων. Η οξεία αυτοπεριοριζόμενη φύση της νόσου, αλλά και η ηλικία των ασθενών, συνηγορούν για τη συσχέτιση του συνδρόμου με λοιμογόνο παράγοντα. Το σύνδρομο Kawasaki παρατηρείται σε παιδιά ηλικίας 6 έως 10 ετών που θεωρούνται ευάλωτα επειδή έχουν χάσει την προστασία από τα μητρικά αντισώματα, ενώ δεν έχουν αναπτύξει ακόμα φυσική ανοσία στον συγκεκριμένο λοιμογόνο παράγοντα [29].

Το σύνδρομο Kawasaki πιθανολογείται ότι εκδηλώνεται σε άτομα με γενετική προδιάθεση, όταν αυτά αποικίζονται από στρεπτόκοκκο ή κάποιο μικροοργανισμό που παράγει υπεραντιγόνα (σχήμα 2) [30]. Τα υπεραντιγόνα απορροφώνται από φλεγμαίνοντες βλεννογόνους και προκαλούν διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος και υπερέκκριση κυτταροκινών, που με τη σειρά τους ευθύνονται για τις κλινικές εκδηλώσεις του συνδρόμου: πυρετός πάνω από 5 ημέρες, επιπεφυκίτιδα, τραχηλική λεμφαδενίτιδα, ερύθημα δέρματος και βλεννογόνων, πολύμορφο εξάνθημα και απολέπιση των άκρων, που είναι παρόμοια με την κλινική συμπτωματολογία που προκαλούν οι τοξίνες του στρεπτόκοκκου σε ασθενείς με οστρακιά ή τοξικό shock. Σε απάντηση της διέγερσης από κυτταροκίνες, τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων γίνονται ευάλωτα σε κυτταροτοξικά αντισώματα και στη δημιουργία θρόμβων. Η μυοκαρδίτιδα και η δημιουργία ανευρυσμάτων των στεφανιαίων αγγείων αποδίδονται στην ενεργοποίηση μιας υποομάδας Τα λεμφοκυττάρων που φέρουν υποδοχείς έναντι των κυττάρων του ενδοθηλίου των αγγείων και του μυοκαρδίου και πυροδοτούν την αλληλουχία των κυτταρικών και μοριακών γεγονότων που προκαλούν την αυτοάνοση αγγειίτιδα που χαρακτηρίζει το σύνδρομο Kawasaki.



Σχήμα 2. Παθογεντικός μηχανισμός στο σύνδρομο Kawasaki

Στρεπτόκοκκος και σύνδρομο PANDAS

Το σύνδρομο PANDAS (paediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections) είναι μια σπάνια νευροψυχιατρική διαταραχή που παρατηρείται σε παιδιά και οφείλεται σε βλάβες των βασικών γαγγλίων του εγκεφάλου που αποδίδονται σε στρεπτοκοκκικές λοιμώξεις [31]. Η παθογένεση του συνδρόμου αποδίδεται σε αντιδράσεις αυτοανοσίας από αντισώματα κατά της Μ πρωτεΐνης που παρουσιάζει κυτταροτοξική δράση έναντι των νευρώνων, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την κινητικότητα και τη συμπεριφορά. Είναι δύσκολο να υπολογισθεί η συχνότητα του PANDAS στο γενικό πληθυσμό, λόγω της σπανιότητάς του. Παρόλα αυτά, υπολογίζεται ότι 1 στα 7 παιδιά με μανιοκαταθλιπτικές διαταραχές μπορεί να εμπίπτει στην ξεχωριστή κλινική οντότητα του σ.PANDAS, όταν παρουσιάζει τα παρακάτω διαγνωστικά κριτήρια [32]:

- Επεισόδια μανιοκατάθλιψης/τικής που χαρακτηρίζονται από απότομη έναρξη και συχνές υποτροπές
- Έναρξη συμπτωμάτων στην παιδική ηλικία.

Μέση ηλικία έναρξης των συμπτωμάτων είναι τα 7 έτη δηλαδή 3 έτη νωρίτερα από εκείνη στην οποία εμφανίζονται αμιγείς νευροψυχιατρικές διαταραχές.

- Ύπαρξη περιοδικής εμφάνισης των κλινικών συμπτωμάτων. Μεταξύ των κρίσεων τα συμπτώματα παρουσιάζουν ύφεση και μερικές φορές εξαφανίζονται.
- Συνύπαρξη νευρολογικών διαταραχών
- Συσχέτιση με στρεπτοκοκκικές λοιμώξεις. Η επιδείνωση των συμπτωμάτων μπορεί περιστασιακά να σχετίζεται με στρεπτοκοκκικές λοιμώξεις που επιβεβαιώνονται με θετικές καλλιέργειες φαρυγγικού και αύξηση του τίτλου ASO. Η στρεπτοκοκκική λοίμωξη πρέπει να προηγείται το πολύ μέχρι 6 εβδομάδες πριν από την επιδείνωση των συμπτωμάτων.

ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΕΣ ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

Η επιδημιολογία των διεισδυτικών στρεπτοκοκκικών λοιμώξεων παρουσιάζει αλλαγές την τελευταία δεκαετία, με αύξηση της συχνότητας αλλά και της σοβαρότητας των κλινικών εκδηλώσεων. Είναι χαρακτηριστικό, επίσης, ότι ενώ παλαιότερα οι εν τω βάθει στρεπτοκοκκικές λοιμώξεις ήταν συνηθέστερες σε ηλικιωμένους και άτομα με χρόνια νοσήματα, τα τελευταία χρόνια τα περισσότερα περιστατικά συμβαίνουν σε νέα και χωρίς προδιαθεσικούς παράγοντες άτομα. Στα παιδιά παρατηρούνται συνήθως μετά από ανεμευλογία.

Τοξικό σύνδρομο καταπληξίας TSS

Ο ορισμός του συνδρόμου αναφέρεται στον Πίνακα 3. Πρόκειται για πολυσυστηματική νόσο που εκδηλώνεται με αιφνίδια έναρξη, πυρετό, ρίγη, υπόταση και εξάνθημα. Η πολυσυστηματική συμμετοχή οδηγεί σε εμέτους, διάρροια, μυαλγία, υπεραιμία των βλεννογόνων, διανοητική σύγχυση, νεφρική ανεπάρκεια, ηπατικές διαταραχές και θρομβοκυτταροπενία. Οι Todd και Fishaut πρώτοι περιέγραψαν το σταφυλοκοκκικό TSS το 1978.

Περιπτώσεις που προκλήθηκαν από στρεπτόκοκκους αναφέρθηκαν πρώτη φορά κατά τα μέσα της δεκαετίας του '80.

Το στρεπτοκοκκικό TSS προκαλείται από στρεπτόκοκκους που παράγουν στρεπτοκοκκική πυρετογόνο τοξίνη A (SPEA) ή στρεπτοκοκκική πυρετογόνο εξωτοξίνη B (SPEB). Οι μικροοργανισμοί που παράγουν την SPEA είναι συχνότεροι στις ΗΠΑ, ενώ αυτοί που παράγουν την SPEB απομονώνονται συχνότερα στη

Σουηδία και το Ηνωμένο Βασίλειο. Οι επικρατέστεροι ορότυποι είναι οι M-1, αλλά και οι M-2, M-3, M-12 και M-28 [33,34].

Οι στρεπτοκοκκικές εξωτοξίνες πυροδοτούν την παραγωγή πληθώρας κυτταροκινών, όπως τον παράγοντα TNF-α, τις ιντερλευκίνες IL-2 και IL-6, που οδηγούν σε πολυοργανική βλάβη και TSS.

Το στρεπτοκοκκικό τοξικό shock έχει συσχετισθεί με τις παρακάτω καταστάσεις [35]:

- Λοιμώξεις δέρματος
- Χειρουργικά τραύματα
- Φαρυγγίτιδα
- Ανεμευλογία
- Γρίπη
- Χρήση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, που πιθανόν να σχετίζεται με την καταστολή πρώιμων σημείων της στρεπτοκοκκικής λοίμωξης καθυστερώντας έτσι την έγκαιρη έναρξη χορήγησης αντιμικροβιακών φαρμάκων.

Πίνακας 3. Ορισμός του Στρεπτοκοκκικού Συνδρόμου Τοξικής Καταπληξίας

I. Απομόνωση στρεπτοκόκκων της Ομάδας A

A. Από φυσιολογικά στείρα περιοχή (π.χ. αίμα, ENY, πλευριτικό ή περιτοναϊκό υγρό βιοψία ιστών, χειρουργικό τραύμα)

B. Από μη στείρα περιοχή (π.χ. φάρυγγας, πτύελα, κόλπος, επιπολής δερματική βλάβη)

II. Κλινικά σημεία καθορισμού σοβαρότητας της λοίμωξης

A. Υπόταση: συστολική πίεση ≤ 90 mmHg σε ενήλικες και

B. Δύο ή περισσότερα από τα ακόλουθα σημεία:

1. Νεφρική ανεπάρκεια: κρεατινίνη ορού ≥ 2 mg/dl

2. Διαταραχή της πήκτικότητας, εκδηλούμενη με αριθμό αιμοπεταλίων $\leq 100.000/\text{mm}^3$ ή εργαστηριακές ενδείξεις διάχυτης ενδαγγειακής πήξης.

3. Ηπατική προσβολή εκδηλούμενη με ≥ 2 φορές αύξηση της SGPT και της SGOT ή της ολικής χολερυθρίνης υπεράνω των φυσιολογικών τιμών

4. Σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας του ενήλικου ή παρουσία συνδρόμου capillary leaking

5. Γενικευμένο ερυθματώδες – κηλιδώδες εξάνθημα που οδηγεί σε απολέπιση

6. Νεκρωτική απονευρωσίτιδα ή μυοσίτιδα ή γάγγραινα μαλακών μορίων

Η διάγνωση, για να είναι βέβαια, απαιτεί την παρουσία των κριτηρίων IA και II(A και B) ενώ η παρουσία των κριτηρίων IB και II (A και B), θέτει τη διάγνωση ως πιθανή

Από: The Working Group on Severe Streptococcal Infections, JAMA 1993;269:390-1

Στρεπτοκοκκική νεκρωτική περιτονίτιδα (necrotizing fasciitis)

Είναι δυνατή η διάκριση τριών τύπων :

- Τύπος I, πολυμικροβιακής αιτιολογίας
- Τύπος II, οφειλόμενος στον β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδας A
- Τύπος III, γνωστός και ως αεριογόνος γάγγραινα.

Ο τύπος II έχει γίνει γνωστός στο κοινό από τα μέσα μαζικής ενημέρωσης ως "flesh-eating disease". [34].

Είναι μία ταχέως εξελισσόμενη, εν τω βάθει λοίμωξη των βαθύτερων υποδόριων ιστών και της περιτονίας. Αν και έχει αναγνωριστεί εδώ και αρκετά χρόνια, έχει παρατηρηθεί πρόσφατα μία αύξηση περιστατικών των λοιμώξεων αυτών. Η κυριότερη θέση ενοφθαλμισμού είναι συνήθως κάποια περιοχή επιπόλαιου τραυματισμού ή οι δερματικές βλάβες της ανεμευλογιάς. Επίσης, μπορεί να παρατηρηθεί κατόπιν εγκαυμάτων, εκδορών, χειρουργικών επεμβάσεων, τοκετών. Στα νεογνά, η ομφαλίτιδα και η περιτομή αποτελούν συχνούς προδιαθεσικούς παράγοντες.

Η συν-λοίμωξη με β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδας A και χρυσίζοντα σταφυλόκοκκο συχνά χαρακτηρίζει την νεκρωτική περιτονίτιδα που αναπτύσσεται σε ασθενείς κατόπιν τραύματος στο δέρμα και τους μαλακούς ιστούς ή σε ασθενείς με ανεμευλογιά. Η νεκρωτική περιτονίτιδα που αφορά στο κοιλιακό τοίχωμα και εκείνη που ακολουθεί τις εγχειρήσεις της κοιλίας συχνά χαρακτηρίζονται ως μικτές λοιμώξεις που περιλαμβάνουν τόσο αναερόβια όσο και αερόβια αρνητικά κατά Gram βακτήρια.

Εξελίσσεται μέσα σε 10 ημέρες από το αρχικό ερύθημα έως και τη γάγγραινα.

Μικροβιαμία από στρεπτόκοκκο

Παρατηρείται στα βρέφη και νήπια μικρότερα των 2 ετών και σε ηλικιωμένους ασθενείς. Επιπλέκει την ανεμευλογιά, τα εγκαύματα, τις κακοήθειες και την ανοσοκαταστολή γενικά. Μικροβιαμία στρεπτοκοκκική παρατηρείται σε μικρό ποσοστό κατά την διαδρομή της οστρακιάς, καθώς και κατά την διαδρομή της ανεμευλογιάς. Τα τελευταία 4-6 χρόνια η εμφάνιση στρεπτοκοκκικής μικροβιαμίας έχει αυξηθεί κατά 600% στους εφήβους και νεαρούς ενήλικες λόγω της ενδοφλέβιας χρήσης ναρκωτικών.

2.4 Διάγνωση των στρεπτοκοκκικών λοιμώξεων

Η διάγνωση των στρεπτοκοκκικών λοιμώξεων βασίζεται:

- 1. στην άμεση ανίχνευση στρεπτοκοκκικών αντιγόνων στο κλινικό δείγμα,** μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται ευρέως στη διάγνωση της στρεπτοκοκκικής φαρυγγοαμυδαλίτιδας. Το Strep-test είναι εμπορική μέθοδος με την οποία ανιχνεύονται με ανοσοχρωματογραφία μικροβιακά αντιγόνα σε φαρυγγικό επίχρισμα. Το αποτέλεσμα είναι διαθέσιμο σε λιγότερο από μισή ώρα και, εφόσον είναι θετικό, δίνει τη δυνατότητα αποκλεισμού της ιογενούς φαρυγγοαμυδαλίτιδας.
- 2. στην καλλιέργεια,** όπου μετά από ενοφθαλμισμό του κλινικού δείγματος σε διάφορα καλλιεργητικά υλικά γίνεται η απομόνωση του αιτιολογικού παράγοντα της λοίμωξης. Στη συνέχεια, ο μικροοργανισμός ταυτοποιείται και ελέγχεται η ευαισθησία του σε διάφορα αντιμικροβιακά φάρμακα (μακρολίδες, λινκοσαμίδες κλπ). Κλινικά υλικά τα οποία λαμβάνονται σε υποψία στρεπτοκοκκικής λοίμωξης είναι φαρυγγικό επίχρισμα, αίμα, δερματική αλλοίωση κλπ
- 3. στην ανίχνευση στον ορό του αίματος ειδικών αντισωμάτων (ASTO, anti-DNase).**

Αναλυτικότερα, η διάγνωση της στρεπτοκοκκικής φαρυγγοαμυδαλίτιδας στηρίζεται στην κλινική εικόνα (τροποποιημένη βαθμολογία Centor), στη λευκοκυττάρωση και στη θετική καλλιέργεια για β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο της ομάδας A η στο θετικό αποτέλεσμα του Strep-test. Η καλλιέργεια του φαρυγγικού επιχρίσματος είναι θετική στο 95% των στρεπτοκοκκικών λοιμώξεων και, επί υποψίας, πρέπει να λαμβάνεται πριν από τη χορήγηση αντιβιοτικών [20,21]. Σήμερα οι μέθοδοι διάγνωσης ταχείας ανίχνευσης στρεπτοκοκκικών αντιγόνων (STREP-TEST) επιτρέπουν τη διάγνωση σε λιγότερο από μισή ώρα από τη λήψη του φαρυγγικού επιχρίσματος. Η ειδικότητα του Strep-test υπερβαίνει το 95% ώστε να ισοδυναμεί με το αποτέλεσμα των καλλιεργειών, αλλά η ευαισθησία κυμαίνεται μεταξύ 80 και 90%. Η σχετικά χαμηλή ευαισθησία έχει αποδοθεί στην πιθανότητα φορείας και όχι αληθούς λοίμωξης από *S.pyogenes*. Σύμφωνα με τις πρόσφατες οδηγίες των ACP-ASIM, η θετική καλλιέργεια φαρυγγικού επιχρίσματος (που πρέπει να λαμβάνεται με ιδιαίτερη προσοχή από τις δύο αμυδαλές και το οπίσθιο τοίχωμα, με φροντίδα ώστε ο στυλεός να μην αγγίξει άλλες επιφάνειες) πρέπει να ερμηνεύεται όχι μόνο μετά από 24 h επώασης αλλά και μετά από 48 h. Η θετική Strep-test

δοκιμασία αποτελεί επαρκή επιβεβαίωση στρεπτοκοκκικής λοίμωξης σε ενήλικες, ενώ στα παιδιά το αρνητικό Strep test απαιτεί επιβεβαίωση και με καλλιέργεια φαρυγγικού επιχρίσματος.

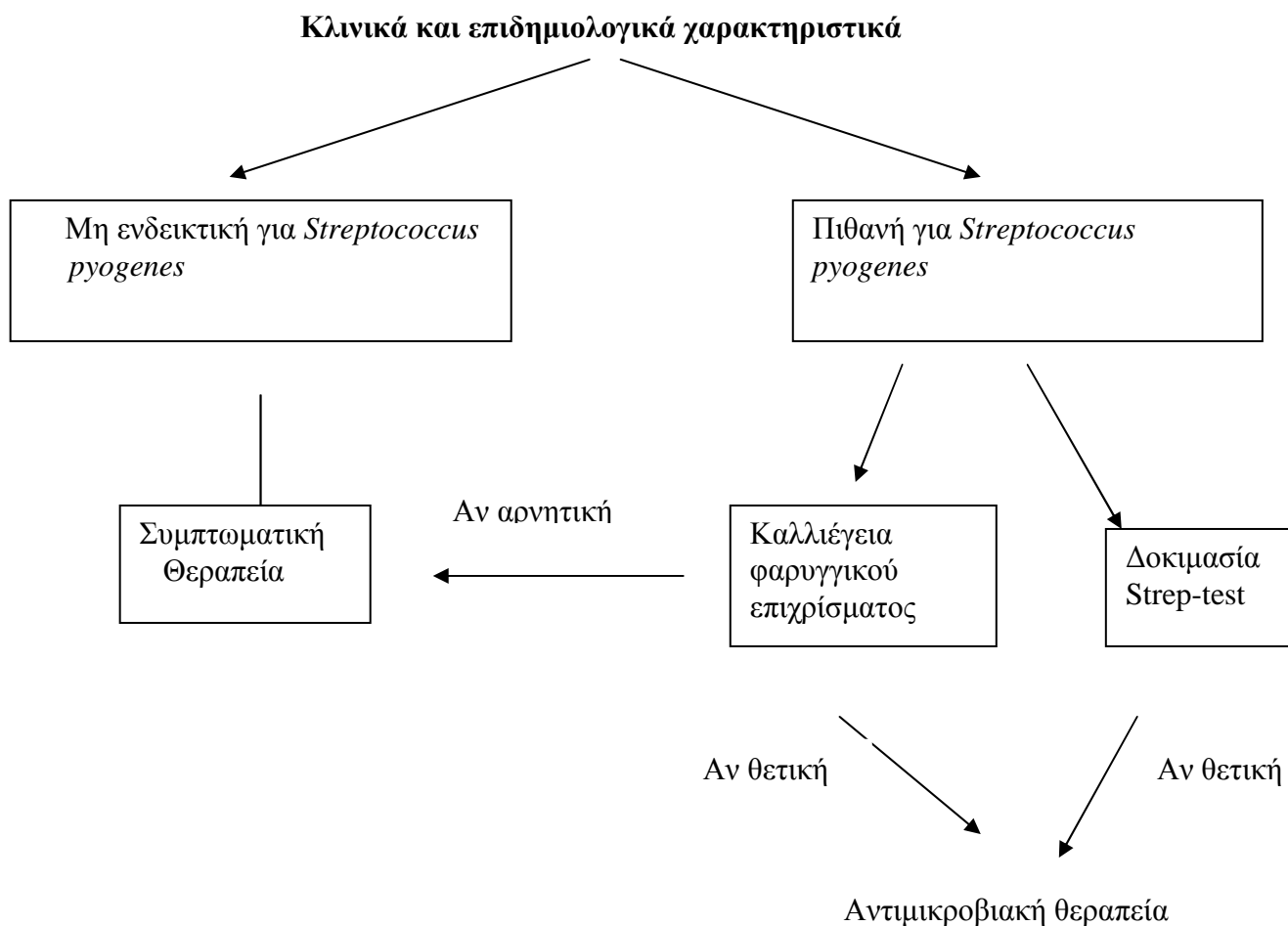
Οι ορολογικές αντιδράσεις, όπως η αντιστρεπτολυσίνη O και η αντιDNAση είναι χρήσιμες μόνο για την αναδρομική διάγνωση στρεπτοκοκκικής λοίμωξης και δεν βοηθούν καθόλου στη λήψη απόφασης για την έναρξη θεραπευτικής αγωγής, γιατί η θετικοποίησή τους καθυστερεί (>2 εβδομάδες). Αυξημένος τίτλος ASO δεν παρατηρείται στους ασθενείς με στρεπτοκοκκικό πυόδερμα. Η παραγωγή άλλων αντισωμάτων, ιδιαίτερα στην DNAση B, έχει καταγραφεί σε ασθενείς με στρεπτοκοκκικό πυόδερμα και φαρυγγίτιδα. Η δοκιμασία αντι-DNAσης B θα πρέπει να εκτελείται σε υποψία στρεπτοκοκκικής σπειραματονεφρίτιδας.

2.5 Θεραπεία στρεπτοκοκκικής φαρυγγοαμυγδαλίτιδας

Οι κύριοι λόγοι για την χορήγηση αντιμικροβιακής αγωγής είναι:

- η πρόληψη των επιπλοκών και ιδιαίτερα του ρευματικού πυρετού. Οσον αφορά στην οξεία σπειραματονεφρίτιδα υπάρχει αμφιβολία αν η επιτυχής θεραπεία πραγματικά προφυλάσσει, πιθανώς λόγω του μικρού λανθάνοντα χρόνου εμφάνισής της (< από 2 εβδομάδες)
- η εξάλειψη της φαρυγγικής φορέας του πάσχοντα, για να προστατευθεί το περιβάλλον από τα νεφριτογόνα στελέχη
- η πρόληψη των πυωδών επιπλοκών
- η ταχύτερη βελτίωση της κλινικής εικόνας [36,37]
- η μείωση της μεταδοτικότητας, λόγω παράλληλης μείωσης της λοιμογονικότητας των στρεπτόκοκκων και η ταχεία επάνοδος του ασθενούς στις δραστηριότητές του [11,21,37].

Σύμφωνα με τις οδηγίες της IDSA (Infectious Diseases Society of America) μία ορθολογική προσέγγιση του θεραπευτικού προβλήματος της φαρυγγίτιδας-αμυγδαλίτιδας περιγράφεται στο Σχήμα 3.



Σχήμα 3. Αλγόριθμος διαγνωστικής και θεραπευτικής προσέγγισης της μη επιπλεγμένης με πυώδεις επιπλοκές οξείας φαρυγγίτιδας (Bisno AL, et al. Clin Infect Dis 2002;35 :113-25)

Αντιμικροβιακό φάρμακο επιλογής εξακολουθεί να είναι η πενικιλίνη διότι είναι αποτελεσματική (εφόσον δεν έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα ανθεκτικά στελέχη), έχει στενό αντιμικροβιακό φάσμα, ώστε να μην επηρεάζει τις φυσιολογικές χλωρίδες, ενώ είναι ασφαλής και φτηνή [25,27,39]. Χορηγείται πενικιλίνη 1.5 εκ. IU στους ενήλικες (και η ημίσεια δόση στα παιδιά), μία ώρα πριν από το φαγητό 2-3 φορές ημερησίως. Εναλλακτικά, δίδεται ενδομυϊκά βενζαθινική πενικιλίνη G 1.2 εκ. IU στους ενήλικες (και 600.000 στα παιδιά) εφάπαξ. Η πρόληψη του ρευματικού πυρετού εξαρτάται από την εκρίζωση των στρεπτοκόκκων από το φάρυγγα,

αποτέλεσμα που εξαρτάται όχι τόσο από τις υψηλές δόσεις πενικιλίνης και την τυχόν καθυστέρηση ενάρξεως της θεραπείας όσο από την διάρκεια της θεραπείας [40].

Γιαυτό το λόγο η θεραπεία από του στόματος πρέπει να διαρκεί ένα πλήρες 10ήμερο προϋπόθεση που πρέπει να καθίσταται σαφής στον ασθενή ή στους γονείς του. Περίπου το 15% των ασθενών, παρά τη σωστή θεραπεία, γίνονται φορείς των στρεπτόκοκκων, γεγονός που μερικές φορές προδικάζει κλινική υποτροπή, ενώ >25% των μελών της οικογένειας θα γίνουν φορείς. Εντούτοις, δεν συνιστάται καλλιέργεια του φάρυγγα μετά τη διακοπή της θεραπείας, ούτε στον πάσχοντα ούτε στα μέλη της οικογένειάς του, εκτός εάν ένα μέλος έχει ιστορικό ρευματικού πυρετού ή σε περίπτωση αυξημένης επίπτωσης ρευματικού πυρετού και σπειραματονεφρίτιδας στην κοινότητα.

Σε άτομα αλλεργικά στην πενικιλίνη συνιστάται θεραπεία με ερυθρομυκίνη (40mg/kg/24ωρο) σε 2-4 δόσεις, PO επί 10 ημέρες ή κλαριθρομυκίνη ή αζιθρομυκίνη

Σε περίπτωση αλλεργίας στην πενικιλίνη, όχι τύπου I και δυσανεξίας στις μακρολίδες, είναι ενδεδειγμένη η χορήγηση κεφαλοσπορίνης α' ή β' γενεάς από το στόμα. Τα τελευταία χρόνια, στην προσπάθεια να αυξηθεί η συμμόρφωση του ασθενούς στη δοσολογία και την διάρκεια της θεραπείας, χωρίς να μειωθεί η αποτελεσματικότητά της, γίνεται προσπάθεια μείωσης της διάρκειας με 5νθήμερα σχήματα με τη χορήγηση κεφαλοσπορινών. Εντούτοις, απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να διευκρινισθεί η αληθής πρόληψη του ρευματικού πυρετού με τα 5νθήμερα σχήματα [41,42,43,44].

Για την θεραπεία συμπτωματικών ασθενών που εμφανίζουν υποτροπιάζοντα επεισόδια φαρυγγοαμυγδαλίτιδας συνιστάται η χορήγηση κλινδαμυκίνης (παιδιά:20-30mg/kg/24ωρο σε τρεις δόσεις, ενήλικες:600mg/24ωρο σε 2-4 δόσεις από του στόματος) ή αμοξυκιλλίνη-κλαβουλανικό (παιδιά :40mg/kg/24ωρο σε τρεις δόσεις, ενήλικες:625mg/12ωρο) για 10 ημέρες.

2.6 Πιθανοί λόγοι αποτυχίας της θεραπείας με πενικιλίνη σε ασθενείς με οξεία στρεπτοκοκκική φαρυγγοαμυγδαλίτιδα

Τα τελευταία 50 χρόνια η πενικιλίνη παραμένει η θεραπεία εκλογής για την στρεπτοκοκκική φαρυγγοαμυγδαλίτιδα. Παρότι μέχρι σήμερα δεν έχει αναφερθεί in vitro αντοχή του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου στην πενικιλίνη, στην διεθνή

βιβλιογραφία αναφέρεται ένα σημαντικό (5-30%) ποσοστό περιπτώσεων στις οποίες παρά τη θεραπεία με πενικιλίνη ο μικροοργανισμός δεν εκριζώνεται από το φάρυγγα. Αρκετές θεωρίες έχουν διατυπωθεί, με σκοπό να εξηγήσουν το φαινόμενο αυτό με κυριότερες τις ακόλουθες:

1. Η παραγωγή β-λακταμάσης από τη φυσιολογική χλωρίδα του φάρυγγα προστατεύει τον β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο από τη δράση της πενικιλίνης [11,45].

Μικροοργανισμοί, όπως οι *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenza*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides oralis*, που αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του φάρυγγα, παράγουν β-λακταμάση, με αποτέλεσμα να αδρανοποιούν την πενικιλίνη, όταν αυτή χορηγείται για εκρίζωση του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου [45,46,47,48].

2. Ανεπαρκής συμμόρφωση του ασθενούς με την αγωγή : μειωμένη δοσολογία, μικρότερη διάρκεια θεραπείας [49].

3. Άμεση έναρξη αγωγής : η πρόωμη αντιμικροβιακή αγωγή καταστέλλει την φυσική ανοσία του ξενιστή [50,51].

4. Φαινόμενο Eagle-Inoculum effect : Ο Eagle απέδειξε σε πειραματόζωα (ποντίκια) με στρεπτοκοκκική μυσίτιδα ότι η αποτελεσματικότητα της πενικιλίνης μειώνεται καθώς ο αριθμός των μικροβίων στους μύες αυξάνεται. Πιθανολογείται ότι, καθώς ο αριθμός των μικροβίων αυξάνεται, υπάρχει ένα οριακό σημείο όπου ο μεταβολισμός και ο πολλαπλασιασμός του μικροβιακού πληθυσμού είναι λιγότερο ενεργός, με αποτέλεσμα να μειώνεται η έκφραση των πενικιλινοδεσμευτικών πρωτεϊνών που αποτελούν το στόχο δράσης της πενικιλίνης και επομένως και η ευαισθησία στη δράση της πενικιλίνης [52,53].

5. Ενδοκυττάρια είσοδος του μικροοργανισμού στα επιθηλιακά κύτταρα του φαρυγγααμυγδαλικού ιστού : Πρόσφατα ενοχοποιήθηκε η παρουσία του *priF1* γονιδίου στο γενετικό υλικό του στρεπτόκοκκου, το οποίο κωδικοποιεί την F1 πρωτεΐνη, που διευκολύνει τη προσκόλληση και διείσδυση του μικροβίου στα επιθηλιακά κύτταρα. Μέσα στο κύτταρο ο μικροοργανισμός επιζεί, διότι «ξεφεύγει» τόσο από τη δράση του συμπληρώματος όσο και από τη δράση της πενικιλίνης και των άλλων β-λακταμικών αντιβιοτικών (τα οποία, ως γνωστό, δεν έχουν τη δυνατότητα να εισέρχονται ενδοκυττάρια) [15,54-56].

2.7 Εναλλακτικές θεραπευτικές προσεγγίσεις στη θεραπεία της οξείας στρεπτοκοκκικής φαρυγγοαμυγδαλίτιδας

A. Μακρολίδες

Οι μακρολίδες είναι μεταβολίτες του *Streptomyces* spp. Αποτελούνται από ένα μεγάλο δακτύλιο λακτόνης, στον οποίο είναι προσκολλημένα δύο σάκχαρα και ο οποίος ποικίλλει σε μέγεθος στα διάφορα σκευάσματα ανάλογα με τα άτομα άνθρακα που περιέχει (12-16 άτομα) (Σχήμα 4).

Οι μακρολίδες ταξινομούνται σε 4 κατηγορίες, ανάλογα με τον αριθμό ατόμων άνθρακα του λακτονικού δακτυλίου.

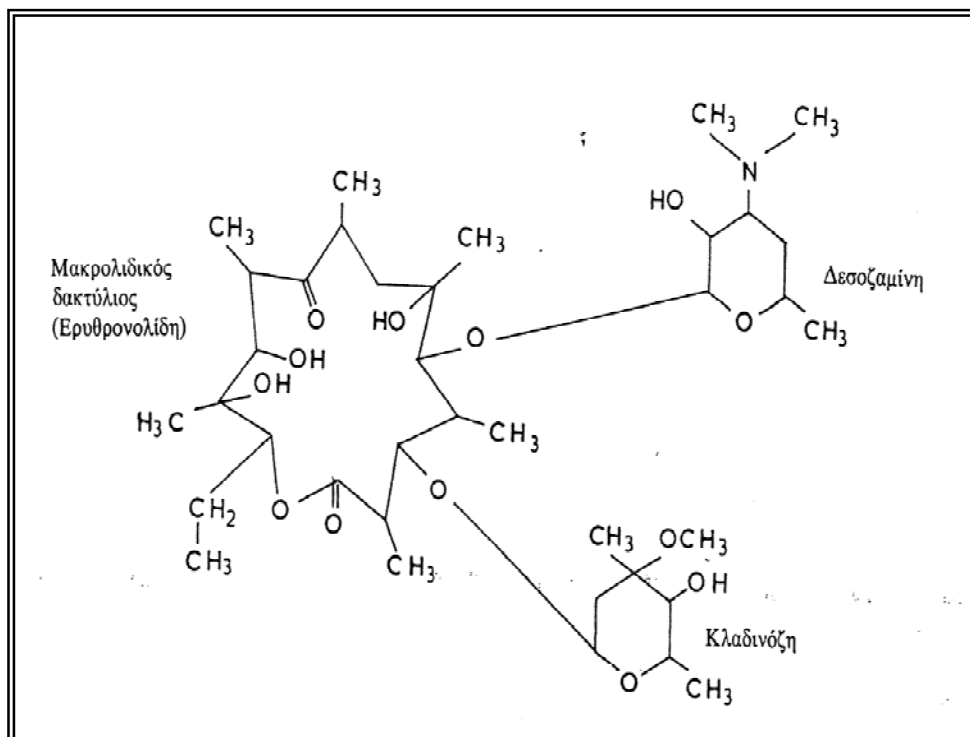
Οι **12μελείς** μακρολίδες έχουν μία κετωτική ομάδα στη θέση C-7. Είναι κυρίως φυσικές μακρολίδες.

Στις **14μελείς** μακρολίδες κύριος αντιπρόσωπος είναι η ερυθρομυκίνη, ουσία με ευρεία μεν χρήση, γενικώς όμως ασταθής στα οξέα και με μεγάλο ποσοστό γαστρεντερικών διαταραχών. Η αστάθεια στα οξέα μειώνεται και με δομικές μεταβολές του δακτυλίου της ερυθρομυκίνης. Τέτοιες μεταβολές οδήγησαν στην παρασκευή νεότερων μακρολιδών. Πρώτο παράγωγο ήταν η ροξιθρομυκίνη (μεταβολή στη θέση C-9). Ακολούθησε η ντιριθρομυκίνη, παραγόμενη από τον συνδυασμό της ενεργούς ουσίας της ερυθρομυκίνης με μία ακεταλδεΐδη. Το επόμενο σκεύασμα ήταν η φλουριθρομυκίνη, με την προσθήκη φθορίου στη θέση C-8. Σημαντική ήταν η τροποποίηση της υδροξυλικής ομάδας στη θέση C-6, που είχε ως αποτέλεσμα την παρασκευή της κλαριθρομυκίνης, σκευάσματος με σαφώς μειωμένες γαστρεντερικές διαταραχές και σαφώς αυξημένη αντιμικροβιακή δράση, που περιλαμβάνει πλέον και τον *H.influezae* [57. Στη **15μελή** ομάδα ανήκει η αζιθρομυκίνη που παρήχθη από την προσθήκη αζώτου στη θέση C-9α. Στην προσθήκη αυτή οφείλονται οι φαρμακοκινητικές ιδιότητες της αζιθρομυκίνης : αυξημένη δραστηριότητα (σε σχέση με την ερυθρομυκίνη) κατά του *H.influezae* και των άτυπων μικροβίων, καλή ιστική διείσδυση και μεγάλη ημιπερίοδος ζωής. Η αζιθρομυκίνη ανήκει στις αζαλίδες, που χημικά μοιάζουν με την ερυθρομυκίνη κι η διαφορά τους οφείλεται στην τροποποίηση που προαναφέρθηκε [58,59].

Οι φυσικές ουσίες της **16μελούς** ομάδας έχουν τροποποιηθεί χημικά και παρουσιάζουν αυξημένη δράση έναντι ανθεκτικών μικροοργανισμών και βελτιωμένο

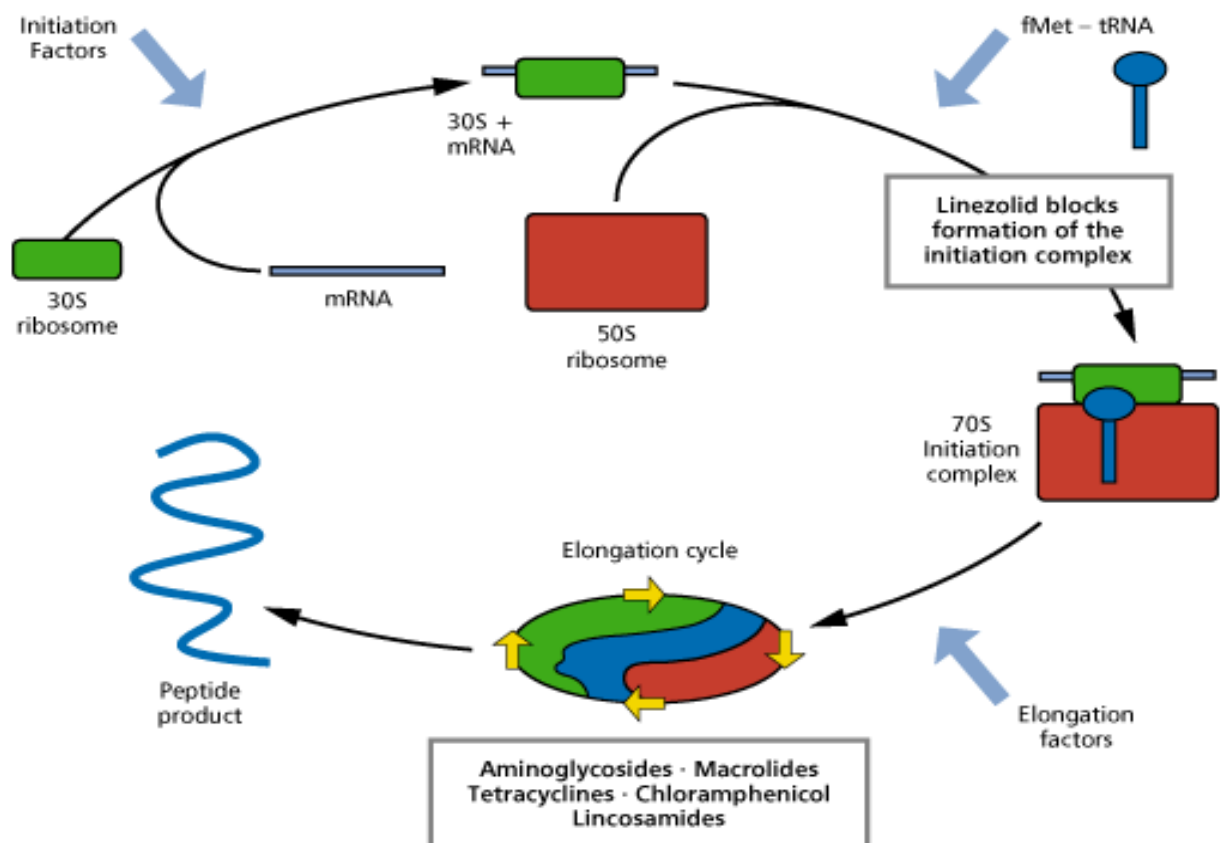
γενικά φαρμακοκινητικό προφίλ. Κύριοι εκπρόσωποι εδώ είναι η μιοκαμυκίνη, η γιοσαμυκίνη, η μιντεκαμυκίνη και η σπιραμυκίνη.

Σχήμα 4: Δομή μακρολίδης



Μηχανισμός δράσης

Οι μακρολίδες αναστέλλουν την πρωτεϊνική σύνθεση συνδεόμενες στη θέση P της 50S υποομάδας του μικροβιακού ριβοσώματος και εμποδίζουν τη μεταφορά ή και τη μετάθεση των πεπτιδίων. Η ριβοσωματική λειτουργία αναστέλλεται από τα αντιβιοτικά μακρολίδες, λινκοσαμίδες και στρεπτομυκίνη B (MLS_B), μετά από σύνδεση με το 23S rRNA της 50S υποομάδας του ριβοσώματος. Αυτό έχει ως συνέπεια να μη λειτουργεί η πεπτιδυλοτρανσφεράση, ένζυμο που καταλύει την κεντρική αντίδραση της πρωτεϊνοσύνθεσης (Σχήμα 5) [60].



Σχήμα 5: Περιγραφή των σταδίων της πρωτεϊνοσύνθεσης και των θέσεων σύνδεσης διαφόρων αντιμικροβιακών φαρμάκων στο ριβόσωμα

Αντιμικροβιακό φάσμα

Οι μακρολίδες είναι μικροβιοστατικά φάρμακα, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να είναι μικροβιοκτόνα. Αυτό εξαρτάται από το είδος του μικροβίου, τη φάση ανάπτυξής του, τη συγκέντρωση του φαρμάκου και το μέγεθος του μικροβιακού φορτίου. Ως τυπικό παράδειγμα αναφέρεται ότι η κλαριθρομυκίνη είναι βακτηριοκτόνος για το β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο [60].

Οι μακρολίδες δρουν ανταγωνιστικά με την χλωραμφαινικόλη, γιατί καταλαμβάνουν κοινές θέσεις με αυτή στο ριβόσωμα. Ωστόσο, σημειώνεται ότι δεν υφίσταται ανταγωνισμός μεταξύ ερυθρομυκίνης ή άλλων μακρολιδών και αμινογλυκοσιδών, κινολονών και β-λακταμικών αντιβιοτικών. Αυτή είναι σημαντική ιδιότητα που επιτρέπει στις μακρολίδες να συνδυάζονται με άλλα αντιβιοτικά για τη θεραπεία σοβαρών λοιμώξεων. Έχουν ευρύ φάσμα που καλύπτει τα κυριότερα

παθογόνα του αναπνευστικού, του δέρματος, των μαλακών μορίων και των σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων. Είναι δραστικές έναντι Gram (+) και Gram(-) βακτηρίων, άτυπων μυκοβακτηριδίων, τρεπονημάτων, μυκοπλασμάτων, χλαμυδίων, ρικετσιών, Λεγιονελλών [61]. Επίσης, έχουν πολύ καλή δράση έναντι της μπορντετέλλας του κοκκύτη, του καμπυλοβακτηριδίου, του ελικοβακτηριδίου, του τοξαπλάσματος και του μυκοβακτηριδίου *avium*. Φυσική αντοχή στα ανωτέρω αντιβιοτικά, λόγω δομής του κυτταρικού τους τοιχώματος, παρουσιάζουν τα εντεροβακτηριακά, ψευδομονάδες, αιμόφιλος, εντερόκοκκοι, μηνιγγιτιδόκοκκος και γονόκοκκος.

Εκτός από την αντιμικροβιακή δράση, οι μακρολίδες διαπιστώθηκε ότι διαθέτουν και αντιφλεγμονώδη και ανοσορρυθμιστική δράση. Η κλαριθρομυκίνη π.χ έχει σταθεροποιητική δράση στις μεμβράνες, ομαλοποιεί την έκκριση της βλέννας, μειώνει την αντιδραστικότητα των βρόγχων, την πυώδη σύσταση των πτυέλων και τον αριθμό των λευκοκυττάρων, επηρεάζει την παραγωγή κυτοκινών, προφυλλάσει το κροσσωτό επιθήλιο από οξειδωτικές βλάβες [62]. Βελτιώνει την πνευμονική λειτουργία σε ασθματικά άτομα που λαμβάνουν στεροειδή. Επίσης, σε μελέτες τόσο πειραματικές όσο και σε ανθρώπους, βρέθηκε ότι η κλαριθρομυκίνη σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία επιτείνει την δραστηριότητα εξουδετέρωσης του όγκου και μειώνει το ποσοστό θανάτων, ενώ μπορεί να αυξήσει τον χρόνο επιβίωσης σε ορισμένους τύπους καρκίνου του πνεύμονα.

Φαρμακοκινητική

Οι μακρολίδες έχουν μέτρια βιοδιαθεσιμότητα (30-55%) από το στόμα. Είναι λιποφιλικές με έντονη διείσδυση στους ιστούς και τα υγρά του σώματος (ειδικά στο αναπνευστικό) και μάλιστα σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από αυτές του ορού.

Σε αντίθεση με τις β-λακτάμες και τις αμινογλυκοσίδες, έχουν την ικανότητα να εισέρχονται στα αμυντικά κύτταρα του ξενιστή και ειδικά στα μακροφάγα και στα πολυμορφοπύρρηνα [60]. Η ιδιότητα αυτή από μόνη της δεν εγγυάται πλήρως την αντιμικροβιακή δράση. Χρειάζεται επικουρία και άλλων παραγόντων, όπως ο μηχανισμός δράσης, θέση εγκατάστασης του φαρμάκου στο κύτταρο σε σχέση με τη θέση του παθογόνου μικροοργανισμού, δράση του φαρμάκου στη φαγοκυτταρική λειτουργία. Η πλειονότητα των μακρολιδών συγκεντρώνεται στα λισσοσώματα. Τα

πολυμορφοπύρηννα πιστεύεται ότι δρουν ως μεταφορείς της μακρολίδης στη θέση λοίμωξης μέσω του μηχανισμού χημειοταξίας. Η απελευθέρωση του φαρμάκου από τα πολυμορφοπύρηννα επιταχύνεται παρουσία του παθογόνου μικροοργανισμού.

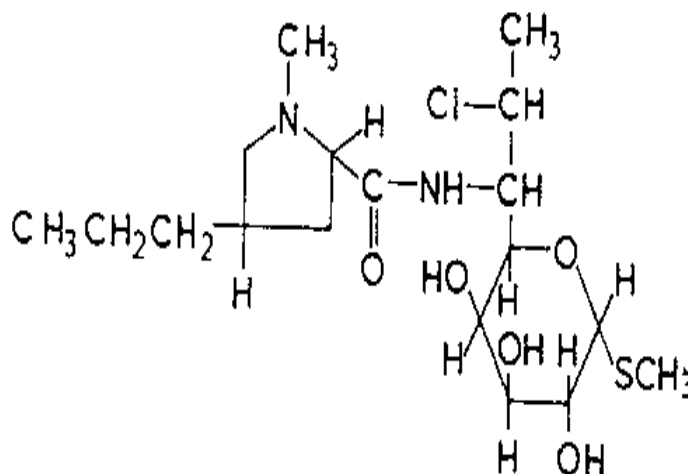
Η αντιμικροβιακή δράση ενός φαρμάκου μπορεί να είναι, ως γνωστόν, εξαρτώμενη από τη συγκέντρωση του φαρμάκου ή ανεξαρτήτως αυτής (χρονο-εξαρτώμενη). Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν οι αμινογλυκοσίδες και οι κινολόνες, ενώ στη δεύτερη οι β-λακτάμες. Οι μακρολίδες δεν είναι εύκολο να καθορισθεί σε ποια κατηγορία ανήκουν. Στην πλειονότητα όμως μοιάζουν με τις β-λακτάμες.

Μεγάλο πλεονέκτημα των μακρολιδών είναι η ικανότητά τους για αντιμικροβιακή δράση μετά την απόσυρση του φαρμάκου (μετα-αντιβιοτική δράση). Η ιδιότητα αυτή είναι σημαντική όταν η πυκνότητα του φαρμάκου υποχωρεί κάτω από την ελάχιστη ανασταλτική πυκνότητα. Η μετα-αντιβιοτική αυτή δράση είναι μεγαλύτερη στα Gram(+) παθογόνα και κυρίως στους στρεπτόκοκκους [60].

B. Λινκοσαμίδες

Στην ομάδα των αντιβιοτικών αυτών ανήκει η κλινταμυκίνη, αντιβιοτικό το οποίο χρησιμοποιείται εναλλακτικά στη θεραπεία στρεπτοκοκκικών λοιμώξεων. Αντιβιοτικά που ανήκουν στην ομάδα αυτή είναι η λινκομυκίνη, που ανακαλύφθηκε το 1962 και παράγεται από τον *Streptomyces lincolnensis*, και η κλινταμυκίνη, ημισυνθετικό παράγωγο, λιγότερο τοξική και περισσότερο δραστική από τη λινκομυκίνη. Το μόριό τους αποτελείται από αμινοξύ ενωμένο με αμινοσάκχαρο (Σχήμα 6).

Σχήμα 6.
Χημική δομή
κλινταμυκίνης



Μηχανισμός δράσης.

Οι λινκοσαμίδες συνδέονται στην 23S περιοχή της 50 S υπομονάδας του ριβοσώματος, και συγκεκριμένα στην ίδια θέση με τις μακρολίδες.

Αντιμικροβιακό φάσμα

Φυσική αντοχή στις λινκοσαμίδες παρουσιάζουν οι Εντερόκοκκοι (*E.faecalis-E. faecium*), *Haemophilus* spp, *N. meningitidis*, *N.gonorrhoeae*, *Mycoplasma* και τα εντεροβακτηριακά. Το αντιβιοτικό είναι δραστικό έναντι των **Gram(+)** κόκκων (σταφυλοκόκκων, β- αιμολυτικού στρεπτόκοκκου, πνευμονιόκοκκου), των **ram(+)** βακτηριδίων (κορυνοβακτηριδίου της διφθερίτιδας) και των **αναεροβίων** (συμπεριλαμβανομένου και του *Bacteroides fragilis*) [60].

2.2 Αντοχή του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου ομάδας A στις μακρολίδες-λινκοσαμίδες

Η ερυθρομυκίνη και άλλες μακρολίδες χρησιμοποιούνται εναλλακτικά για τη θεραπεία της στρεπτοκοκκικής φαρυγγίτιδας σε ασθενείς αλλεργικούς στην πενικιλίνη ή σε ασθενείς όπου η χορήγηση της πενικιλίνης δεν ήταν θεραπευτικά αποτελεσματική. Η κατάχρηση όμως της ερυθρομυκίνης στην κοινότητα είχε ως αποτέλεσμα την επικράτηση στελεχών *S.pyogenes* ανθεκτικών στις μακρολίδες (ακόμη και στην αζιθρομυκίνη). Στην Ευρώπη τα ποσοστά αντοχής κυμαίνονται από 10% στη Σουηδία, 17% στη Φινλανδία μέχρι και 47% στην Ιταλία. Τα τελευταία δεδομένα από την Ελλάδα δείχνουν ότι το 21-24% των στελεχών *S.pyogenes* που απομονώνονται από το φάρυγγα ασθενών είναι ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη και όλες τις μακρολίδες [63-64].

Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί ανάπτυξης αντοχής του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου ομάδας A στις μακρολίδες είναι [67-69]:

α) Αλλαγή στη θέση-στόχο του αντιβιοτικού μέσω μεθυλίωσης, η οποία καταλύεται από μία μεθυλάση η οποία κωδικοποιείται από τα *erm* γονίδια (erythromycin ribosomal methylase). Συγκεκριμένα, τα γονίδια αυτά κωδικοποιούν μία rRNA μεθυλάση, η οποία προκαλεί μεθυλίωση στα δύο νουκλεοτίδια της

αδενίνης στο πεδίο V του 23S rRNA τμήματος της 50S υποομάδας. Η μεθυλίωση αυτή προκαλεί μεταβολή στη θέση σύνδεσης του αντιβιοτικού, με αποτέλεσμα να μην μπορούν να συνδεθούν με αυτό τόσο οι μακρολίδες όσο και άλλα αντιβιοτικά (λινκοσαμίνη, στρεπτογραμμίνη Β) με κοινό στόχο δράσης. Τα στελέχη που έχουν αναπτύξει τον εν λόγω μηχανισμό αντοχής εμφανίζουν δύο φαινότυπους :

1. τον *ιδιοσυστατικό (CR) φαινότυπο*, ο οποίος εκφράζει αντοχή σε ερυθρομυκίνη και κλινδαμυκίνη
2. τον *επαγωγίμο (ID) φαινότυπο*, ο οποίος εκφράζει αντοχή στην ερυθρομυκίνη και ευαισθησία στην κλινδαμυκίνη. Σε ασθενείς οι οποίοι νοσούν από τέτοια στελέχη η χορήγηση κλινταμυκίνης μπορεί να μην έχει θεραπευτικό αποτέλεσμα. Για το λόγο αυτό η CLSI προτείνει να αποφεύγεται η χορήγηση της κλινταμυκίνης και τα στελέχη αυτά να θεωρούνται ανθεκτικά στις λινκοσαμίδες, παρά τη φαινοτυπική ευαισθησία τους στην κλινταμυκίνη.

β) Μηχανισμός αντλίας εξώθησης, ο οποίος *εξωθεί ενεργητικά* τις μακρολίδες εκτός του μικροβιακού κυττάρου και κωδικοποιείται από το *mefA* γονίδιο (φαινότυπος M). Η αντλία εξώθησης επηρεάζει μόνο τις 14-μελείς και 15-μελείς μακρολίδες όχι όμως τις 16-μελείς, την κλινδαμυκίνη και τις στρεπτογραμμίνες Β. Σε ασθενείς οι οποίοι νοσούν από τέτοια στελέχη επιτρέπεται η χορήγηση 16-μελούς μακρολίδης και κλινταμυκίνης [68,69].

Διάκριση ανάμεσα στον επαγωγίμο MLS_B φαινότυπο και στον M φαινότυπο. Εφαρμογή του DD-test

Η δοκιμασία των διπλών δίσκων όπου χρησιμοποιείται δίσκος ερυθρομυκίνης και δίσκος κλινταμυκίνης, εξ ου και η ονομασία DD test, στοχεύει στη διάκριση του επαγωγίμου MLS_B φαινότυπου από τον M-φαινότυπο. Οι δύο δίσκοι τοποθετούνται σε απόσταση 12 mm ο ένας από τον άλλο και τα τρυβλία επωάζονται στους 37° C παρουσία 5% CO₂. Ανάπτυξη του μικροβίου γύρω από το δίσκο της κλινταμυκίνης από την πλευρά του δίσκου της ερυθρομυκίνης και αναστολή της ανάπτυξής του από την άλλη πλευρά χαρακτηρίζει τον επαγωγίμο MLS_B φαινότυπο. Αντίθετα, ο M-φαινότυπος χαρακτηρίζεται από αναστολή ανάπτυξης του μικροβίου γύρω από την κλινταμυκίνη [69].

3.ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΜΕΛΕΤΗ

3.1.1 ΥΛΙΚΟ

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 186 κλινικά στελέχη *Streptococcus pyogenes*, τα οποία απομονώθηκαν από καλλιέργειες φαρυγγικού επιχρίσματος παιδιών ηλικίας 2 έως 14 ετών, τα οποία εξετάστηκαν στο ΤΕΠ της Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, με σημεία και συμπτώματα οξείας φαρυγγοαμυγδαλίτιδας, από τον Οκτώβριο 2002 έως τον Μάιο 2004. Σημειώνεται ότι το Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας είναι τριτοβάθμιο νοσοκομείο 750 κλινών και καλύπτει όλη τη Θεσσαλία (1.000.000 άτομα).

3.1.2 ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1.2.1 Απομόνωση και ταυτοποίηση των μικροοργανισμών

Φαρυγγικά επιχρίσματα από ασθενείς με κλινικά συμπτώματα οξείας φαρυγγοαμυγδαλίτιδας στάλθηκαν στο Μικροβιολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας σε στυλεούς μεταφοράς. Τα δείγματα καλλιεργήθηκαν σε αιματούχο άγαρ με 5% αίμα προβάτου, το οποίο επώαστηκε στους 37° σε μικροαερόφιλες συνθήκες για 24-48 ώρες. Μετά την επώαση έγινε επισκόπηση για ανεύρεση αποικιών με πλήρη αιμόλυση. Οι αιμολυτικές αποικίες εξετάστηκαν με Gram-χρώση, με τη δοκιμασία καταλάσης και με τη συγκόλληση με ειδικό αντιορό έναντι του αντιγόνου A (Slidex Streptokit A,B,C,D,F,G bioMerieux). Αναφέρουμε ότι στα φαρυγγικά επιχρίσματα η Gram-χρώση δεν προσφέρει καμία πληροφορία, δεδομένου ότι στη χλωρίδα του φάρυγγα υπάρχουν πολλοί Gram-θετικοί κόκκοι ως μέλη της φυσιολογικής χλωρίδας και έτσι είναι αδύνατον να ξεχωρίσουμε μέσα σε αυτούς τον πυογόνο στρεπτόκοκκο.

3.1.2.2 Έλεγχος ευαισθησίας σε αντιβιοτικά

Ο έλεγχος ευαισθησίας των στελεχών του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου στην ερυθρομυκίνη πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο διάχυσης των δίσκων σύμφωνα

με τις οδηγίες της CLSI. Συγκεκριμένα, βαμβακοφόρος στυλεός εμβαπτίστηκε σε εναιώρημα του μικροοργανισμού πυκνότητας 10^5 cfu/ml και, στη συνέχεια επιστρώθηκε σε τρυβλίο Mueller-Hinton άγαρ εμπλουτισμένο με 5% αίμα προβάτου. Στη συνέχεια, πάνω στην επιφάνεια του τρυβλίου τοποθετήθηκε δίσκος ερυθρομυκίνης 15 μ g και κλινταμυκίνης 2 μ g (NCCLS 2000). Σύμφωνα με τις οδηγίες της CLSI, ζώνη αναστολής της μικροβιακής ανάπτυξης > 21mm ερμηνεύεται ως ευαισθησία του στελέχους στην ερυθρομυκίνη, ενώ ζώνη αναστολής κάτω από <15mm ερμηνεύεται ως αντοχή του μικροοργανισμού στην ερυθρομυκίνη [69]. Αντίστοιχα, ζώνη αναστολής της μικροβιακής ανάπτυξης πάνω από 19mm ερμηνεύεται ως ευαισθησία του στελέχους στην κλινταμυκίνη, ενώ ζώνη αναστολής κάτω από 15mm ερμηνεύεται ως αντοχή του μικροοργανισμού στην κλινταμυκίνη.



Φωτογραφία 4: Διακρίνονται μεγάλες ζώνες αναστολής στην ερυθρομυκίνη (E), λινκομυκίνη (L), κλινταμυκίνη (CM), με αποτέλεσμα το στέλεχος να χαρακτηρίζεται ως ευαίσθητο.

Για τη διάκριση ανάμεσα στον επαγωγίμο MLS_B και στον M φαινότυπο χρησιμοποιείται η δοκιμασία των διπλών δίσκων (DD test). Οι δύο δίσκοι ερυθρομυκίνης 15 μ g και κλινταμυκίνης 2 μ g τοποθετούνται σε απόσταση 12 mm ο

ένας από τον άλλο και τα τρυβλία επωάζονται στους 37° C παρουσία 5% CO₂. Ανάπτυξη ανάπτυξης του μικροβίου γύρω από το δίσκο της κλινταμυκίνης από την πλευρά του δίσκου της ερυθρομυκίνης και αναστολή της ανάπτυξης του από την άλλη πλευρά χαρακτηρίζει τον επαγωγίμο MLS_B φαινότυπο. Αντίθετα, ο M- φαινότυπος χαρακτηρίζεται από αναστολή ανάπτυξης του μικροβίου γύρω από την κλινταμυκίνη.

Πιθανοί Φαινότυποι Αντοχής στις M και L

- **cMLS_B φαινότυπος** (ιδιοσυστασιακός)
- **M φαινότυπος Dtest (-)**
- **iMLS_B φαινότυπος** (επαγωγίμος) ...απαιτεί έκθεση του βακτηρίου στον επαγωγέα (ερυθρομυκίνη) **Dtest (+)**

Φωτογραφία 5: Διακρίνονται οι φαινότυποι αντοχής σε μακρολίδες-λινκοσαμίδες όπως ανιχνεύονται με το DD test.

3.1.2.3 Ανίχνευση της παρουσίας του γονιδίου *prtF1* με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης

Για την ανίχνευση της παρουσίας του γονιδίου *prtF1* στα εξεταζόμενα στελέχη χρησιμοποιήθηκε η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR). Αρχικά, από 1-2 αποικίες κάθε υπό εξέταση στελέχους έγινε απομόνωση του γενετικού υλικού και στη συνέχεια, εφαρμόστηκε πρωτόκολλο για την ανίχνευση του υπό μελέτη γονιδίου.

Η τεχνική της PCR περιλαμβάνει τη σύνθεση ενός τμήματος DNA, σε πολλά εκατομμύρια αντίγραφα, με τη βοήθεια ενός ενζύμου, της DNA πολυμεράσης,

κατόπιν προσθήκης κατάλληλα επιλεγμένων εκκινητών και τριφωσφορνοουκλεοτιδίων σε ρυθμιστικό διάλυμα.

Η μέθοδος περιλαμβάνει τρία στάδια που είναι απαραίτητα σε κάθε αντίδραση σύνθεσης του DNA [70] :

1. Στάδιο αποδιάταξης των αλυσίδων του DNA με θέρμανση στους 94-95°C
2. Στάδιο σύνδεσης ολιγονουκλεοτιδίων στις περιοχές του DNA-στόχου, που είναι συμπληρωματικές με αυτά, σε κατάλληλη θερμοκρασία, αναλόγως των αλληλουχιών που έχουν επιλεγεί.
3. Αντίδραση επέκτασης των ολιγονουκλεοτιδίων και αντιγραφή του τμήματος των αλυσίδων του DNA που παρεμβάλλεται μεταξύ τους, με θέρμανση του διαλύματος στους 72°C. Αυτά τα τρία στάδια αποτελούν τον καλούμενο θερμικό κύκλο.

Ένα τυπικό πρωτόκολλο της PCR περιλαμβάνει 20-40 θερμικούς κύκλους .Το προϊόν της μπορεί να γίνει ορατό σε υπεριώδες φως μετά την ηλεκτροφόρησή του σε πήκτωμα αγαρόζης, αφού προηγουμένως χρωματισθεί με την προσθήκη βρωμιούχου αιθιδίου.

Αντιδραστήρια

Κατά την εκτέλεση της PCR χρησιμοποιήθηκαν τα εξής: Tag DNA polymerase(Fermentas), dNTPs mix 10Mm(Fermentas), μάρτυρας μοριακών μαζών των 100bp, χρωστική ηλεκτροφόρησης (Fermentas), TBE buffer (10.8gr/L Tris,5.5g/L βορικό οξύ και 0.002 M EDTA), βρωμιούχο αιθίδιο.

Όργανα

Χρησιμοποιήθηκαν τα εξής: Θερμικός κυκλοποιητής PTC-200 Peltier Thermal Cycler, τράπεζα υπεριώδους ακτινοβολίας και σύστημα απεικόνισης του DNA και συσκευή ηλεκτροφόρησης από plexiglass.

Απομόνωση χρωμοσωμικού DNA

Η απομόνωση του DNA των στελεχών έγινε μετά από διάλυση 1- 2 αποικιών, από καλλιέργημα 18 ωρών, σε 100μl λυτικού διαλύματος. Το εναιώρημα επώασθηκε σε υδατόλουτρο στους 100°C για 30 min. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 13.000 στροφές για 5 min για να αποχωριστούν στον πυθμένα τα διάφορα κυτταρικά υπολείμματα. Το υπερκείμενο, το οποίο περιείχε γενετικό υλικό, φυλάχθηκε στην κατάψυξη στους -20°C για περαιτέρω έλεγχο.

Σύσταση λυτικού διαλύματος

Διαλύματα	Όγκος
1M Tris pH 7.0	5ml
Triton-X-100	1ml
0.5M EDTA pH 8.0	0.5ml
H ₂ O	x
Τελικός όγκος	100ml

Έλεγχος καταλληλότητας του DNA

Η καταλληλότητα του εξαγόμενου DNA και η απουσία αναστολέων της PCR έγινε με την εφαρμογή σε όλα τα δείγματα μιας αντίδρασης PCR όπου χρησιμοποιήθηκαν εκκινήτες και οι οποίοι στοχεύουν σε αλληλουχίες του 16 S rRNA του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου ομάδας A. Οι αλληλουχίες αυτές είναι:

S1: 5'-GAGAGACTAACGCATGTTAGTA-3'

S2: 5'-TAG TTACCGTCACTTGGTGG-3'

Συνθήκες αντίδρασης

95° 30sec

95° 15 sec

50° 30 sec

75° 30 sec 40 cycles

75° 10 min

Απαραίτητη προϋπόθεση για να προχωρήσουμε στην μοριακή ανίχνευση των γονιδίων *prtF1*, *mefA*, *ermA(TR)*, *ermB* ήταν να έχουμε θετικό αποτέλεσμα με την

ανωτέρω αντίδραση. Σε περίπτωση που κάποιο δείγμα έδινε αρνητικό αποτέλεσμα ακολουθούσε νέα εκχύλιση από τις αποικίες για εξαγωγή γενετικού υλικού και επανέλεγχος με την ανωτέρω αντίδραση.

Διαδικασία και συνθήκες της αντίδρασης PCR

Η αναζήτηση του γονιδίου *prtFl* έγινε με τη χρήση του ζεύγους των εκκινητών 5'-TTT TCA GGA AAT ATG GTT GAG ACA-3' και 5'-TCG CCG TTT CAC TGA AAC CAC TCA-3'.

Η αντίδραση της PCR έλαβε χώρα σε τελικό όγκο 50 μl που περιείχε 5 μl εκχυλισμένου DNA, 5 μl 10X Buffer, 3mM MgCl₂, 0.4U Taq DNA polymerase, 1 μl dNTPs και 0.5 μl από κάθε εκκινητή.

Οι συνθήκες της αντίδρασης που χρησιμοποιήθηκαν είναι: Η αρχική αποδιάταξη των αλυσίδων έγινε στους 94°C για 5min, ακολούθησαν 35 κύκλοι πολλαπλασιασμού με αποδιάταξη στους 94°C για 1 min, επιμήκυνση στους 72°C για 3 min και μία τελική παράταση της επιμήκυνσης στους 72°C για 7 min.

Το αναμενόμενο προϊόν της PCR για το *prtFl* γονίδιο είναι 500bp

Ηλεκτροφόρηση

Το προϊόν της PCR ηλεκτροφορήθηκε σε πήκτωμα αγαρόζης 1.2% και συσκευή ηλεκτροφόρησης (EC 105-LVD Submarine Gel system Classic) που περιείχε IX Tris Boric EDTA. Η αναγνώριση των αποτελεσμάτων έγινε μετά από χρωματισμό του πηκτώματος αγαρόζης σε βρωμιούχο αιθίδιο και την έκθεσή του σε υπεριώδη ακτινοβολία (Mini Bis Pro).

3.1.2.4. Ανάλυση της παρουσίας των *mefA*, *ermB*, *ermA(TR)* γονιδίων με την αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης χρησιμοποιήθηκε και για την ανίχνευση της παρουσίας των γονιδίων αντοχής στην ερυθρομυκίνη *mefA*, *ermB* και *ermA(TR)* σε όλα τα υπό εξέταση στελέχη.

Περιγράφονται οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για κάθε γονίδιο

mef1: 5'-AGTATCATTAATCACTAGTGC-3'

mef2: 5'-TTCTTCTGGTACTAAAAGTGG-3'

ermB1:GAAAAGGTACTCAACCAAATA-3'

*ermB*2:AGTAACGGTACTTAAATTGTTTAC-3'

ermA(TR)1:5'-TCTAAAAAGCATGTAAAAGAA-3'

ermA(TR)2:5'-CTTCGATAGTTTATTAATATTAGT-3'

Η σύσταση των αντιδράσεων είναι η ακόλουθη:

5 μl από το εκχυλισμένο DNA προστίθεται σε μίγμα PCR συνολικού όγκου 20μl που περιέχει 5 μl εκχυλισμένου DNA, 5 μl 10X Buffer, 3mM MgCl₂, 0.4U Taq DNA polymerase, 1 μl dNTPs και 0.5 μl από κάθε εκκινητή.

Για την ανίχνευση των *ermB* και *mefA* γονιδίων οι συνθήκες των PCR αντιδράσεων ήταν οι ίδιες:

Η αρχική αποδιάταξη των αλυσίδων έγινε στους 93°C για 3 min, ακολούθησαν 35 κύκλοι πολλαπλασιασμού με αποδιάταξη στους 93 °C για 1 min, επαναδιάταξη στους 52°C για 1 min, επιμήκυνση στους 72°C για 1 min και μία τελική παράταση της επιμήκυνσης στους 72°C για 5 min.

Τα προϊόντα των PCR ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης 1.5% και η ανάγνωση των αποτελεσμάτων έγινε μετά από χρωματισμό του πηκτώματος αγαρόζης σε βρωμιούχο αιθίδιο και την έκθεσή του σε υπεριώδη ακτινοβολία.

Τα αναμενόμενα προϊόντα της PCR είναι:

- για το *ermB* 640 bp
- για το *mefA* 348 bp
- για το *ermA*(TR) 400bp

Οι συνθήκες πολλαπλασιασμού για το *ermA*(TR) ήταν:

94°C για 4 min, 35 κύκλοι πολλαπλασιασμού στους 94°C για 30sec, 42°C για 30 sec, 72°C για 1 min και μία τελική παράταση στους 72°C για 5 min.

Ως θετικοί μάρτυρες για την ανίχνευση των *ermB*, *mefA* και *ermA*(TR) χρησιμοποιήθηκαν τα στελέχη *S.pyogenes* 02C1061, *S.pyogenes* 0261110 και *S.pyogenes* 02C1064. Δύο φαινοτυπικά ευαίσθητα στην ερυθρομυκίνη στελέχη β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου χρησιμοποιήθηκαν ως αρνητικοί μάρτυρες.

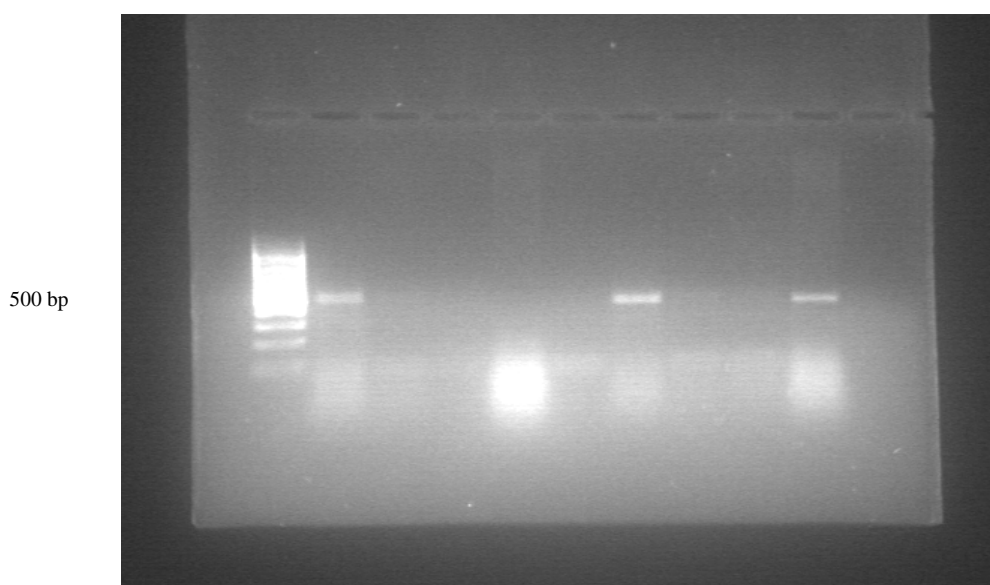
Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση της παρουσίας του *prtF1* στα ευαίσθητα και στα ανθεκτικά στελέχη του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου της μελέτης μας έγινε με το Fisher's exact test. Το αποτέλεσμα θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό όταν $P < 0.05$.

3.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.2.1 Ανάλυση της παρουσίας του *prtFl* γονιδίου

Στο σύνολο των 186 στελεχών βρέθηκε ότι 121 στελέχη ποσοστό 65% έφεραν το γονίδιο *prtFl*, σε ένα ή περισσότερα αντίγραφα, εύρημα συμβατό με προηγούμενες μελέτες.

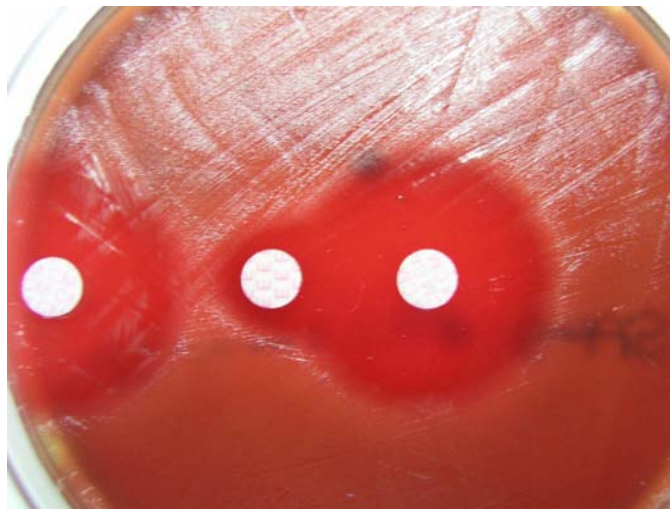


Φωτογραφία 6. Στελέχη τα οποία φέρουν το *prtFl* γονίδιο

3.2.2 Αντοχή στην ερυθρομυκίνη Από το σύνολο των 186 στελεχών *Streptococcus pyogenes* 38 στελέχη (20,43%) βρέθηκαν ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη. Από τα 38 ανθεκτικά στελέχη, τα 24 (63% επί των ανθεκτικών στελεχών) παρουσίαζαν M φαινότυπο (αντοχή μόνο στις μακρολίδες με συνοδό ευαισθησία σε λινκοσαμίδες), ενώ τα υπόλοιπα 14 (36.8% επί των ανθεκτικών στελεχών) εμφάνισαν τον επαγωγίμο iMLS_B φαινότυπο (αντοχή στις μακρολίδες και φαινοτυπική ευαισθησία στις λινκοσαμίδες). Αυτό το εύρημα δείχνει την ανάγκη καθιέρωσης του DD-test προκειμένου τα στελέχη αυτά να μπορούν σωστά να διαχωριστούν από τον M-φαινότυπο.



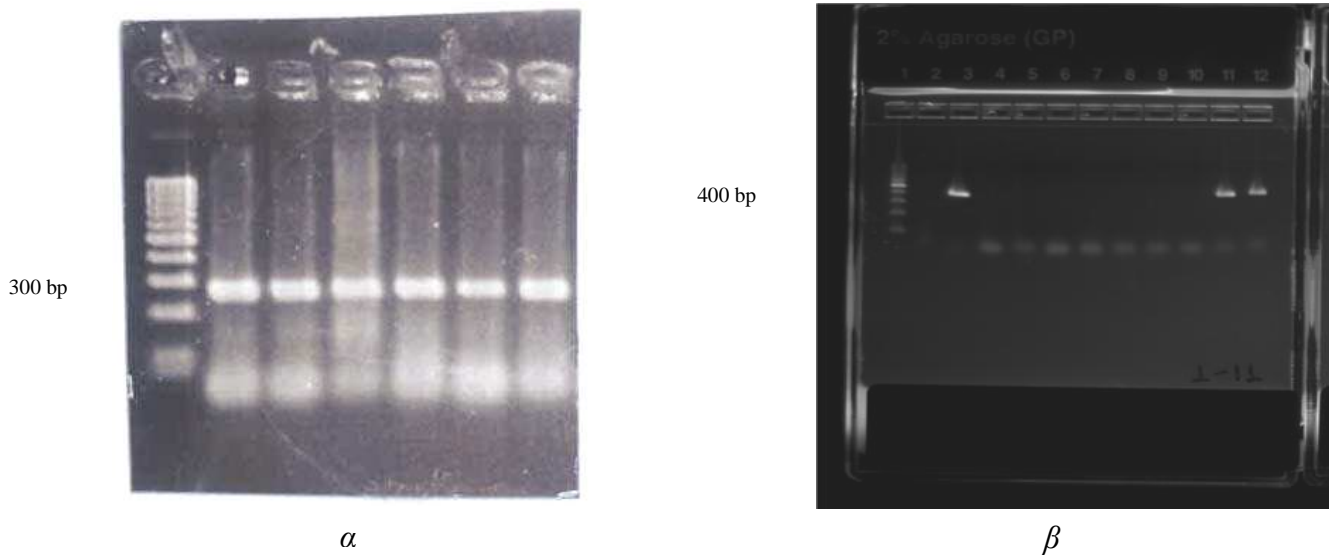
Φωτογραφία 7 : Στέλεχος που εκφράζει τον επαγωγίμο MLSB φαινότυπο, **DD-test**



Φωτογραφία 8. Στέλεχος που εκφράζει τον M-φαινότυπο , **DD-test αρνητικό**

3.2.3 Ανάλυση της παρουσίας των γονιδίων *mefA* , *ermA(TR)* και *ermB*

Τα 24 στελέχη με M φαινότυπο έφεραν το γονίδιο *mefA*, ενώ και τα 14 στελέχη με MLS_B φαινότυπο έφεραν το γονίδιο *ermA(TR)*. Σε κανένα στέλεχος δεν ανιχνεύθηκε το *ermB* γονίδιο.



Φωτογραφία 9. Στελέχη τα οποία φέρουν το *mefA* γονίδιο (α) και στελέχη που φέρουν το *ermA(TR)* γονίδιο (β)

3.2.4 Συσχέτιση της παρουσίας του *prtFl* γονιδίου με την αντοχή σε μακρολίδες

Το *prtFl* γονίδιο ανιχνεύθηκε σε 25 από τα 38 ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη στελέχη (ποσοστό 65.78%). Συγκεκριμένα το γονίδιο βρέθηκε σε 12 από τα 14 στελέχη με τον επαγωγίμο MLS_B φαινότυπο και σε 13 από τα 24 στελέχη με τον M-φαινότυπο.

Παράλληλα το γονίδιο βρέθηκε σε 96 από τα 148 στελέχη της μελέτης που ήταν ευαίσθητα στις μακρολίδες (ποσοστό 64,86%). Δεν παρατηρήθηκε **στατιστικά σημαντική διαφορά** της παρουσίας του γονιδίου ανάμεσα στα ανθεκτικά και ευαίσθητα στελέχη της μελέτης (**p:0.480**).

3.3 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η στρεπτοκοκκική φαρυγγοαμυγδαλίτιδα αποτελεί μία από τις συχνότερες βακτηριακές λοιμώξεις της παιδικής ηλικίας. Η μη εκρίζωση και παραμονή του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου έχει συσχετισθεί με σοβαρές διεισδυτικές και μη διεισδυτικές επιπλοκές. Για το λόγο αυτό ο σκοπός της αντιβιοτικής αγωγής είναι να επιτευχθεί εκρίζωση του μικροοργανισμού .

Η πενικιλίνη μέχρι και σήμερα παραμένει φάρμακο εκλογής για τη θεραπεία της στρεπτοκοκκικής φαρυγγοαμυγδαλίτιδας, αφού ο μικροοργανισμός δεν έχει εμφανίσει αντοχή μέχρι σήμερα. Παρά ταύτα η θεραπεία με β-λακταμικά αντιβιοτικά έχει συσχετισθεί με αποτυχία εκρίζωσης του μικροβίου σε ποσοστό 5-30% παρά την *in vitro* ευαισθησία του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου στα β-λακταμικά αντιβιοτικά [56,71]. Για τον λόγο αυτό έχουν διατυπωθεί διάφορες υποθέσεις, όπως η παραγωγή β-λακταμασών από την φυσιολογική γλωρίδα του φάρυγγα, η ανοχή στη πενικιλίνη ή επαναλοίμωξη από το ίδιο στέλεχος [56,71].

Τα τελευταία χρόνια ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο ρόλος της F1 πρωτεΐνης που κωδικοποιείται από το *priF1* γονίδιο και βοηθά στην προσκόλληση και διείσδυση του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου ομάδος A στα επιθηλιακά κύτταρα. Έτσι, ο μικροοργανισμός μπορεί να παραμείνει ενδοκυττάρια, αποφεύγοντας τη φαγοκυττάρωση αλλά και τη δράση αντιβιοτικών, όπως τα β-λακταμικά, ερμηνεύοντας έτσι και την αποτυχία της βακτηριολογικής εκρίζωσης με πενικιλίνη [31,46-48].

Ως εναλλακτική θεραπεία, κυρίως σε αλλεργικούς στην πενικιλίνη ασθενείς ή σε ασθενείς όπου η πενικιλίνη δεν είχε θεραπευτικό αποτέλεσμα, προτείνονται οι μακρολίδες. Ο πρώτος ανθεκτικός στις μακρολίδες β-αιμολυτικός στρεπτόκοκκος ομάδας A (MRSP) αναφέρθηκε το 1968. Παρά ταύτα αντοχή στις μακρολίδες σε κλινικά δείγματα άρχισαν να περιγράφονται στη διεθνή βιβλιογραφία μόλις το 1980, όταν άρχισαν να κυκλοφορούν νεότερες μακρολίδες και η χρήση τους γενικότερα να αυξάνεται. Σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες η αντοχή έχει αυξηθεί σε επίπεδα του 20% και πλέον, ενώ σε ασιατικές χώρες έχουν αναφερθεί ποσοστά αντοχής μέχρι και 70% [72-74].

Από μελέτες των τελευταίων χρόνων προκύπτει ότι στην αύξηση της αντοχής στις μακρολίδες συνέβαλε σημαντικά η υπέρμετρη χρήση των μακρολιδών, χωρίς

όμως να αποκλείονται και άλλοι παράγοντες εκ μέρους του ίδιου του μικροοργανισμού. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον προκάλεσε η εργασία των Martin et al, το 2002, όπου περιγράφηκε ραγδαία αύξηση αντοχής στις μακρολίδες σε ποσοστό 48% στην περιοχή του Pittsburgh των Η.Π.Α, όπου μέχρι τότε κυμαινόταν σε χαμηλά επίπεδα λόγω εξάπλωσης ενός κλώνου [75]. Το ίδιο χρονικό διάστημα (2001), οι Facinelli et al ανακοίνωσαν την ανεύρεση σημαντικής συσχέτισης μεταξύ του *prtF1* γονιδίου, που ευνοεί την διείσδυση και ενδοκυττάρια παραμονή του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου ομάδας A, και της αντοχής στις μακρολίδες [55]. Το γεγονός αυτό δημιούργησε την ανησυχία ότι τα στελέχη αυτά, τα οποία κατορθώνουν να διαφεύγουν από τους αμυντικούς μηχανισμούς του ξενιστή και από τη δράση των β-λακταμικών αντιβιοτικών αλλά και των μακρολίδων λόγω της αντοχής τους, μπορούν να ευνοήσουν την κλωνική διασπορά.

Στην παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της παρουσίας του *prtF1* γονιδίου σε στελέχη β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου ομάδος A που απομονώθηκαν από φαρυγγικά επιχρίσματα παιδιατρικών ασθενών με εικόνα φαρυγγοαμυγδαλίτιδας κατά τα έτη 2002-2004 στη Θεσσαλία, ενώ παράλληλα έγινε συσχέτιση της παρουσίας του *prtF1* σε συνδυασμό με την αντοχή των εξετασθέντων στελεχών σε μακρολίδες-λινκοσαμίδες. Σε προηγούμενες μελέτες είχε διαπιστωθεί σημαντική στατιστικά συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας του γονιδίου *prtF1*, που προσδίδει στον πυογόνο στρεπτόκοκκο την ικανότητα να προσκολλάται και να διεισδύει στα επιθηλιακά κύτταρα και εκεί να "λαθροβιώνει", και της αντοχής στις μακρολίδες. Συγκεκριμένα, στη μελέτη των Facinelli et al, το 2001, σε στελέχη από την Ιταλία, παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της αντοχής στις μακρολίδες και της ύπαρξης του *prtF1* γονιδίου [55]. Αναλυτικότερα, το *prtF1* γονίδιο βρέθηκε σε ποσοστό 89% στα ανθεκτικά στελέχη, ενώ στα ευαίσθητα σε ποσοστό 21%. Ομοίως σημαντική συσχέτιση ανακοίνωσαν και οι Haller et al, το 2005, σε στελέχη από την Γερμανία σε μικρότερα όμως ποσοστά από αυτά των Facinelli et al (48,7% στα ανθεκτικά σε σχέση με 27,7% στα ευαίσθητα στελέχη) [55,76]. Εντούτοις, από τα ευρήματα της μελέτης μας βρέθηκε ότι το *prtF1* γονίδιο υπάρχει στα στελέχη της περιοχής μας σε ποσοστό 65%, το οποίο είναι ανάλογο άλλων μελετών, ενώ δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά της παρουσίας του ανάμεσα στα ανθεκτικά και στα ευαίσθητα στελέχη ($p:0.480$). Συγκεκριμένα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης μας, το

γονίδιο *prtF1* ανιχνεύθηκε στα ανθεκτικά στελέχη σε ποσοστό 65,78% ενώ στα ευαίσθητα σε ποσοστό 64,8%. Επιπλέον, πρόσφατη μελέτη από τους Skoulakis et al, έδειξε ότι, σε αμυγδαλικούς ιστούς ασθενών με υποτροπιάζουσα φαρυγγοαμυγδαλίτιδα ανιχνεύθηκε σε χαμηλό ποσοστό ενδοκυττάρια η παρουσία του πυογόνου στρεπτόκοκκου, εύρημα που αποδυναμώνει το ρόλο του *prtF1* γονιδίου στην παθογένεια της υποτροπιάζουσας φαρυγγοαμυγδαλίτιδας [77].

Επιπλέον, όσον αφορά στα επίπεδα αντοχής στις μακρολίδες βρέθηκε στην παρούσα μελέτη ότι σε σύνολο 186 στελεχών πυογόνου στρεπτόκοκκου 38 στελέχη ήταν ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη (20.43%). Σε παλαιότερη μελέτη του 2001 στην περιοχή της Θεσσαλίας καταγράφηκε παρόμοιο ποσοστό αντοχής (19.3%), ενώ σε μελέτη από τη Δυτική Ελλάδα κατά τα έτη 1999-2002 αναφέρεται ποσοστό 24% [78,78]. Ενδιαφέρον εύρημα είναι ότι ο φαινότυπος M κυριαρχούσε στα ανθεκτικά στελέχη της περιοχής μας τόσο στη μελέτη του 2001 όσο και στην παρούσα μελέτη, γεγονός που επέτρεπε τη χρήση της κλινταμυκίνης ως εναλλακτική θεραπευτική επιλογή. Τα υπόλοιπα ανθεκτικά στελέχη της μελέτης έκφραζαν τον επαγωγίμο *iMLS_B* φαινότυπο. Επειδή, ως γνωστόν, η έκφραση του επαγωγίμου *iMLS_B* φαινότυπου δεν μπορεί να διακριθεί από τον M-φαινότυπο με το κλασσικό αντιβιογράμμα, ενισχύεται η ανάγκη εφαρμογής του DD-test στα κλινικά Μικροβιολογικά Εργαστήρια.

Η μελέτη των γονιδίων που σχετίζονται με την αντοχή σε μακρολίδες-λινκοσαμίδες έδειξε ότι όλα τα στελέχη με M-φαινότυπο έφεραν το γονίδιο *mefA*, όπως άλλωστε ήταν αναμενόμενο. Από την άλλη μεριά, στελέχη με επαγωγίμο *iMLS_B* έφεραν το *ermA*(TR). Κανένα στέλεχος δε βρέθηκε να φέρει το *erm B* γονίδιο ή συνδυασμό των ανωτέρω γονιδίων.

3.4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Το γονίδιο *prtF1* ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 65.32% των στελεχών του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου ομάδας A που απομονώθηκαν κατά τα έτη 2002-2004 στην περιοχή της Θεσσαλίας.
2. Η αντοχή του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου ομάδας A στις μακρολίδες-λινκοσαμίδες είναι της τάξης του 20.43%. Ο πιο συχνός φαινότυπος αντοχής στις μακρολίδες είναι ο M φαινότυπος και συσχετίστηκε με την παρουσία του γονιδίου *mefA* και ακολουθεί ο επαγωγίμος iMLS_B ο οποίος συσχετίστηκε με την παρουσία του *ermA*(TR) γονιδίου.
3. Η παρουσία του *prtF1* γονιδίου που κωδικοποιεί την F1 πρωτεΐνη, σε στελέχη του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου έχει συσχετισθεί με την ικανότητά του να προσκολλάται και να διεισδύει στα επιθηλιακά κύτταρα του ξενιστή. Η ενδοκυττάρια παραμονή του καθιστά τον μικροοργανισμό "άτρωτο" τόσο από τα β-λακταμικά αντιβιοτικά όσο και από τους αμυντικούς μηχανισμούς του ξενιστή. Έτσι, η ύπαρξη στελεχών που συνδυάζουν την παρουσία γονιδίων αντοχής και του *prtF1*, θεωρούνται δυνητικά πιο ανθεκτικά και αποτελούν θεραπευτικό πρόβλημα, ενώ παράλληλα το γεγονός ότι το παραπάνω γενετικό υλικό μπορεί να βρίσκεται σε μεταθετά στοιχεία, καθιστά πιο εύκολη την διασπορά τους. Στην παρούσα μελέτη δεν διαπιστώθηκε σημαντική στατιστικά διαφορά στην συχνότητα παρουσίας του γονιδίου *prtF1* μεταξύ ανθεκτικών και ευαίσθητων στην ερυθρομυκίνη στελεχών.

3.5 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν να καταγραφεί η συχνότητα παρουσίας του *prtFI* γονιδίου σε στελέχη *Streptococcus pyogenes* και να γίνει συσχέτιση της παρουσίας του με την έκφραση αντοχής σε μακρολίδες-λινκοσαμίδες.

Υλικά-μέθοδοι

Κατά το χρονικό διάστημα 2002-2004 απομονώθηκαν 186 στελέχη *Streptococcus pyogenes* από παιδιατρικούς ασθενείς με εικόνα φαρυγγοαμυγδαλίτιδας, που εξετάστηκαν στο Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας. Στα στελέχη αυτά μελετήθηκε τόσο η παρουσία του *prtFI* όσο και η συχνότητα και οι τύποι αντοχής στις μακρολίδες-λινκοσαμίδες. Η ευαισθησία των στελεχών στα διάφορα αντιμικροβιακά φάρμακα μελετήθηκε με τη μέθοδο διάχυσης των δίσκων, ενώ η παρουσία των *prtFI*, *mefA*, *ermA (TR)* και *ermB* γονιδίων μελετήθηκε με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης. Η διαφοροποίηση του M φαινότυπου από τον επαγωγίμο MLS_B φαινότυπο έγινε με το DDtest.

Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας έδειξαν ότι το 65% των στελεχών *Streptococcus pyogenes* που μελετήθηκαν έφερε το *prtFI* γονίδιο, ενώ ποσοστό 20,43% έκφραζε αντοχή σε μακρολίδες-λινκοσαμίδες. Από αυτά 63% είχαν φαινότυπο M (αντοχή μόνο στις μακρολίδες με συνοδό ευαισθησία σε λινκοσαμίδες) και τα 36,8% είχαν φαινότυπο MLS_B (inducible) (αντοχή σε μακρολίδες και λινκοσαμίδες).

Συμπεράσματα

Κατά τα έτη 2002-2004 η αντοχή του β-αιμολυτικού στρεπτόκοκκου ομάδας A στην περιοχή της Θεσσαλίας κυμαινόταν στο 20.43%, ενώ ο φαινότυπος αντοχής που επικρατούσε ήταν ο M φαινότυπος. Δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά της παρουσίας του *prtFI* γονιδίου μεταξύ των ευαίσθητων και ανθεκτικών στην ερυθρομυκίνη στελεχών (p:0.480).

3.6 ABSTRACT

Objectives: The distribution of *prtF1* gene among *Streptococcus pyogenes* isolates and the correlation of its presence with the expression of resistance to macrolides-lincosamides.

Materials-Methods: A total of 186 *S. pyogenes* isolates collected from clinical specimens during 2002-2004 in the University Hospital of Larissa were tested for the presence of *prtF1* gene and for the rate and the phenotypes of resistance to macrolides-lincosamides. The detection of the *prtF1*, *mefA*, *ermA*(TR) genes was performed by PCR. The antimicrobial susceptibility to macrolides and lincosamides was tested by the disk diffusion method, while, the differentiation of iMLS_B and M-phenotypes was assessed by the DDtest.

Results: Among the tested isolates 65% carried the *prtF1* gene, while, 20.43% expressed resistance to macrolides. In more details, the majority of the erythromycin-resistant -isolates (63%) expressed the M-phenotype carrying the *mefA* gene, while, the remaining isolates (36.8%) expressed the iMLS_B phenotype carrying the *ermA*(TR) gene.

Conclusions: In Thessalia, from 2002 to 2004, the rate of resistance to macrolides of *S. pyogenes* was 20.4% , while the phenotype that predominated was the M-phenotype. No significant difference was found about the presence of *prtF1* gene in erythromycin-sensitive and erythromycin-resistant isolates (p:0.480).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Παπαπαναγιώτου Ι, Κυριαζοπούλου-Δαλαΐνα Β. Στρεπτόκοκκος. Στο βιβλίο : Ιατρική Μικροβιολογία και Ιολογία 2004, 2^η έκδοση, University Studio Press, σελ.20-27
2. Lamagni TS, Darenberg J, Luca-Harari B, Siljander T, Efstratiou A, Henriques-Normark B, Vuopio-Varkila J, et al. Epidemiology of severe streptococcus pyogenes disease in Europe. *J Clin Microbiol* 2008;46:2359-2367
3. Musser JM, and Krause RM. The revival of group A streptococcal diseases, with a commentary on staphylococcal toxic shock syndrome. In: *Emerging Infections*. Krause RM, editor 1998 Academic Press. New York USA 185-218
4. Αρσένη Α. Πυογόνοι αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι. Στο βιβλίο: Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διάγνωση Λοιμώξεων. 1994, 4^η έκδοση, Ζήτα ιατρικές εκδόσεις, σελ.117-136
5. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Στρεπτόκοκκοι. Στο βιβλίο: Ιατρική Μικροβιολογία 2005, 5^η έκδοση ,Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου ΑΕ, σελ.239-249
6. Fischetti VA 2000. Surface proteins on Gram-positive bacteria. In: *Gram-positive pathogens*. VA. Fischetti, PR Nonick, JJ Ferreti, DA Portnoy and JI.Rodd, editors. American Society for Mikrobiology Press 2000 .Washington DC USA 11-24
7. Hyland K, Wang B, and Cleary PP. Protein F1 And streptococcus pyogenes resistance to phagocytosis. *Infection and Immunity* 2007; 3188-3191
8. Mora M, Bensi G, Capo S, Falugi F, Zingaretti C, Manetti AG, et al. Group A Streptococcus produce pilys-like structures containing protective antigens and Lancefield T antigens. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(43):15641-15646

9.Hanski E and Caparon M. Protein F, a fibronectin-binding protein, is an adhesion of the group A streptococcus pyogenes. Proc Natl Acad Sci USA,1992; 89:6172-6176

10.Γιαμαρέλου Ε. Λοιμώξεις από Στρεπτοκόκκους. Στο βιβλίο: Λοιμώξεις και αντιμικροβιακή χημειοθεραπεία 2009, εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδης , σελ.797-816.

11.Sela S and Barzilai A. Why do we fail with penicillin in the treatment of group A streptococcus infections? Ann Med 1999;31:303-307

12.Natanson S, Sela S, Moses A, Musser JM, Caparon MG, Hanski E. Distribution of fibronectin-binding proteins among group A streptococci of different M types. The Journal of Infectious Disease 1995;171:871-8

13.Brant C, Allerberger F, Spellerbeg B, Holland R, Lütticken R, Haase G. Characterization of consecutive streptococcus pyogenes isolates from patients with pharyngitis and bacteriological treatment failure: special reference to prtF1 and sic/drs. J of Infect Dis 2001;183:670-4

14.Xiaoming M, Kikuta H,Ishiguro N, Yoshioka M, Ebihara T, Murai T, et al. Association of the prtF1 (encoding Fibrinogen-binding Protein F1) and the sic gene (encoding the streptococcal inhibitor of complement) with emm types of group A streptococci isolated from Japanese children with pharyngitis. J Clin Microbiol 2002;40:3835-3837

15.Neeman R, Keller N, Korenman Z, Sela S. Prevalence of internalization-associated gene, prtF1, among persisting group A streptococcus strains isolated from asymptomatic carriers. Lancet 1998;352:1974-7

16.Spinaci C, Magi G, Zampaloni C, Vitali LA, Paoletti C, Catania MR, Prenna M, Ferrante L, Ripa S, Varaldo PE, and Facinelli B. Genetic diversity of cell-invasive erythromycin-resistant and susceptible group A streptococci determined by analysis of the DR 2 region of the prtF1 gene. J Clin Microbiol 2004;42:639-644

17. Fiscetti VA. 2000. Surface proteins on gram-positive bacteria, p.11-24. In: VA Fiscetti, RP Novick, J J Ferretti, D A Portnoy and J I Rood (ed.) Gram-positive pathogens 2000. American Society for Microbiology, Washington DC
18. Madeleine W, Cunningham. Pathogenesis of group A streptococcal infections. Clin Microbiol Rev 2000; 13(3):470-511
19. McCormick JK, Yarwood JM, Schlievert PM. Toxic shock syndrome and bacterial superantigens: an update . Annu Rev Microbiol 2001; 55:77-104
20. Γιαμαρέλλου Ε και συνεργάτες. Λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος. Στο βιβλίο: Λοιμώξεις και αντιμικροβιακή χημειοθεραπεία 2009, εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, σελ.339-415
21. Bisno AL, Gerber MA, Gwaltney JM, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis. Clin Infect Dis 2002;35:113-25
22. Centor RM, Witherspoon JM, Dalton HP, et al. The diagnosis of strept throat in adults in the emergency room. Med Decis Making 1981; 1:239-46
23. Dell A, Antone SM, Gauntt CJ, et al. Autoimmune determinants of rheumatic carditis: Localization of epitopes in human cardiac myosin. Eur Heart J 1991; 12(SD):158-62
24. Cantazaro FJ, Stetson CA, Morris AJ, et al. The role of streptococcus in pathogenesis of rheumatic fever. Am J Med 1954 ;17:749-56
25. World Health Organization (WHO). Rheumatic fever and rheumatic heart disease. Geneva: WHO 1988. Technical report 764

26. Dajani AS, Ayoub E, Bierman FZ. Guide-lines for the diagnosis of rheumatic fever: Jones criteria, updated 1992. *Circulation* 1993; 87:302-307
27. Dajani A, Tauberg K, Ferrieri P et al. Treatment of acute streptococcal pharyngitis and prevention of rheumatic fever: a statement for health professionals. Committee on rheumatic fever, endocarditis, and Kawasaki disease of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, the American Heart Association. *Pediatrics* 1995;96:758-764
28. Hoares S, Abinum M, Cant A. Overlap between Kawasaki disease and group A streptococcal infection. *J Pediatric Dis* 1997;16(6):633-634
29. Meissner CH, Leung DYM. Kawasaki syndrome: Where are the answer? *Pediatrics* 2003;672-675
30. Meissner CH, Leung DYM. Superantigens, conventional antigens and the etiology of Kawasaki syndrome. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19:91-94
31. Svedo SE, Leonard HL, Garvey M, Mittleman B, Allen AJ, Perimutter S, Lougee L, Dow S, Zammkof J, Dubbert B. Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections: Clinical Description of the first 50 cases. *Am J Psychiatry* 1988;155(2):264-271
32. Murphy ML, Pichichero ME. Prospective Identification and Treatment of children with Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Group A Streptococcal Infection (PANDAS). *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002;156:356-361
33. Proft T, Sriskandan S, Yang L, Fraser JD. Superantigens and Streptococcal Toxic Shock Syndrome. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(10)
34. Stevens DL. The flesh-eating Bacterium: What's next? *J Inf Dis* 1999; 179(2):366-374

35. Stevens DL. Streptococcal toxic shock syndrome: Spectrum of disease, pathogenesis, and new concepts in treatment. *Emerging Infect Dis* 1995;1:69-78
36. Nelson JD. The effect of penicillin therapy on symptoms and signs of streptococcal pharyngitis. *Pediatr Infect Dis J* 1984;3:10-3
37. Randolph MF, Gerber MA, DeMeo KK, Wright L. Effect of antibiotic therapy on the clinical course of streptococcal pharyngitis. *J Pediatr* 1985 ;106:870-5
38. Gerber MA, Tanz RR. New approaches to the treatment of group A streptococcal pharyngitis. *Curr Opin Pediatr* 2001;13:51-5
39. Committee on Infectious Disease. Group A streptococcal infection. In: Pickering LK, ed. 2000 Red book. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics, 2001:526-36
40. Mehra S, Van Moerkerke M, Welck J, et al. Short course therapy with cefuroxime acetyl for group A streptococcal tonsillopharyngitis in children. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:452-7
41. Adam D, Hostalek U, Troster K. 5-day therapy of bacterial pharyngitis and tonsillitis with cefixime: comparison with 10-day treatment with penicillin V. Cefixime Study Group. *Klin pediatr* 1996;208:310-3
42. Pichichero ME, Gooch WM, Rodriguez W, et al. Effective short-course treatment of acute group A beta hemolytic streptococcal tonsillopharyngitis: ten days of penicillin vs 5 days of cefpodoxime therapy in children. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1994;148:1053-60
43. Syrogiannopoulos G, Bozdogan B, Grivea I, Ednie LM, Kritikou D, Katopodis G, Beratis N, Appelbaum PC, and the Hellenic Antibiotic Resistant Respiratory Pathogens Study Group. Two dosages of clarithromycin for five days,

amoxicillin/clavulanate for five days or penicillin V for ten days in acute group A streptococcal tonsillopharyngitis. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:857-865

44. Brook I. Emergence and persistence of beta-lactamase-producing bacteria in the oropharynx following penicillin treatment. *Arch Otolaryngology*. 1988;114:667-670

45. Brook I. Role of anaerobic beta-lactamase-producing bacteria in upper respiratory tract infections. *Pediatr Infect Dis J*. 1987;310-316

46. Pichichero ME. Controversies in the treatment of streptococcal pharyngitis. *Am Fam Physician* 1990;42:1567-1576

47. Kaplan EL, Johnson DR. Eradication of group A streptococci from the upper respiratory tract by amoxicillin with clavulanate after oral penicillin V treatment failure. *J Pediatr* 1988;113:400-403

48. Eisen SA, Miller DK, Woodward RS, et al. The effect of prescribed daily doses frequency on patient medication compliance. *Arch Intern Med* 1990;150:1881-1884

49. Pichichero ME, Disney FA, Talpey WB, et al. Adverse and beneficial effects of immediate treatment of group A beta-hemolytic streptococcal pharyngitis with penicillin. *Pediatr Infect Dis J* 1987;6:635-643

50. El-Dahar NT, Hijazi SS, Rawashdeh NM, et al. Immediate vs delayed treatment of group A beta-hemolytic streptococcal pharyngitis with penicillin V. *Pediatr Inf Dis J* 1991;10:126-130

51. Kaplan EL, Top FH Jr, Dudding BA, Wannamaker LW. Diagnosis of streptococcal pharyngitis: differentiation of active infection from the carrier state in the symptomatic child. *J Infect Dis*. 1971;123:490-501

52. Gerber MA ,Randolph MF, Mayo DR. The group A streptococcal carrier state. A reexamination. *Am J Dis Child*.1988;142:562-565
- 53.Eagle H. Experimental approach to the problem of treatment failure with penicillin. Group A streptococcal infection in mice. *Am J Med* 1952;13:389-399.
- 54.Baldassari L, Creti R, Imperi M, Recchia S, Pataracchia M, and Orefici G. Detection of genes encoding internalization-associated proteins in *Streptococcus pyogenes* isolates from patients invasive diseases and asymptomatic carriers. *J Clin Microbiol* 2007;45(4):1284-1287
- 55.Facinelli B, Spinaci GM, Giovanetti E, and Varaldo PE. Association between erythromycin resistance and ability to enter human respiratory cells in group A streptococci. *Lancet* 2001; 358:30-33
56. Coccuza CE, Mattina R, Mazzariol A, Orefici G, Rescaldani R, Primavera A, Bramati S, et al. 1997 . High incidence of erythromycin-resistance *Streptococcus pyogenes* in Monza(North Italy) in untreated children with symptoms of acute pharyngo-tonsillitis: an epidemiological and molecular study. *Microb Drug Resist* 1997; 3:371-378
- 57.Καβαλιώτης Ι. Μακρολίδες. 6^ο Σεμινάριο Παιδιατρικών Λοιμώξεων.Θεσσαλονίκη 2003, σελ.98-105
- 58.Ohara T, Kume M, Narukawa Y, et al. Novel antimicrobial macrolides: synthesis of 15-membered diolides. *J Org Chem* 2002 ; 2:67-78.
59. Alvarez-Elcoro S, Enzler MJ. The macrolides: Erythromycin,clarythromycin, and azithromycin. *Mayo Clin Proc* 1999; 74:613-634.
60. Γιαμαρέλλος-Μπουρμπούλης Ε, Κανελλακοπούλου Κ. Μακρολίδες-Αζαλίδες-Κετολίδες.Από το βιβλίο: Λοιμώξεις και αντιμικροβιακή χημειοθεραπεία. Γιαμαρέλλου Ε και συνεργάτες 2009 ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης

61. Cuzzolini L, Fanos V. Use of macrolides in children: a review of the literature .
Infect Med 2002, 19:279-85
62. Giamarellos-Bourboulis EJ. Macrolides beyond the conventional antimicrobials: a class of potent immunomodulators . Int J Antimicrob Agents 2008; 31:12-20
63. Kataja J, Huovinen P, Skurnik M, the Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance, and Seppala H. Erythromycin resistance genes in group A streptococci in Finland. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43:48-52
64. Bassetti M, Manno G, Collida A, Ferrado A , Gatti G, Guilty E, Cruciani M, and Bassetti D. Erythromycin resistance in Streptococcus pyogenes in Italy. Emerg Infect Dis 2000; 6:180-183
65. Jasir A, and Schalen C. Survey of macrolide resistance phenotypes in Swedish clinical isolates of Streptococcus pyogenes. J Antimicrob Chemother 1998; 41:135-137
66. Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: Nature of the resistance elements and their clinical implications. Clin Infect Dis 2002; 34:482-92
67. Poehlsgaard J, Douthwaite S. The macrolide binding site on the bacterial ribosome. Curr Drug Targets Infect Disord 2002, 2:67-78.
68. Syrogiannopoulos G, Grivea I, Fitousi F, Doit C, Katopodis G, Bingen E, Beratis N. High prevalence of erythromycin resistance of streptococcus pyogenes in Greek children. Pediatr Infect Dis J 2001 ;20(9):863-868
69. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; approved standard. Sixteenth information supplement. Document M 100-S16. Wayne, PA: CLSI; 2006

70. Παπαπαναγιώτου Ι,Κυριαζοπούλου-Δαλαΐνα Β. Γενετική των μικροβίων: Εισαγωγή στην Ιατρική Μικροβιολογία, Ιολογία και Ανοσολογία 2005, 1^η έκδοση, University Studio Press, σελ.63-89
- 71.Brook J. Failure of penicillin to eradicate group A beta-hemolytic streptococci tonsillitis: causes and management.The Journal of Otolaryngology 2001;30:324-329
- 72..Bingen et al. Emergence of macrolide-resistant streptococcus pyogenes strains in French Children. Antimicrob Agents and Chemother 2004;48:3559-3562
- 73.Bingen , R.Leclercq ER, Fitousi F, Brahami N, Malbruny B, Deforche D, and Kochen R. Emergence of group A streptococcus strains with different mechanisms of macrolide resistance. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:1199-1203.
- 74.de Azavedo J,Yeung R, Bast D, et al. Prevalence and mechanisms of macrolide resistance in clinical isolates of group A streptococci from Ontario, Canada. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:2144-7
- 75.Martin JM, Green M, Barbadora K, Wald ER. Erythromycin-resistant group A streptococci in schoolchildren in Pittsburgh. N Engl J Med 2002;346:1200-1205
- 76.Haller M, Fluegge K, Jasminder Arri S,Adams B, Berner R. Association between resistance to erythromycin and the presence of the fibronectin binding protein F1 gene, in streptococcus pyogenes isolates from German Pediatric patients. Antimicrob Agents and Chemother 2005;49:2990-2993
- 77.Skoulakis Ch, Tigrioglou E, Gkarelis K, Klapsa D, Damani A, Papadakis K, Petinaki E. Level of Streptococcus pyogenes in patients with recurrent tonsillitis and tonsillary hypertrophy. Scand J Infect Dis 2008;40(11-12):899-903

78.Petinaki E, Kontos F, Pratti A, Skoulakis C, Maniatis A. Clinical isolates of macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* in Central Greece. *Int J Antimicrob Agents* 2003;21:67-70

79.Grivea I, Al-Lahham A, Katopodis G, Syrogiannopoulos G, and Reinert RR. Resistance to erythromycin and telithromycin in *Streptococcus pyogenes* isolates obtained between 1999 and 2002 from Greek children with tonsillopharyngitis: phenotypic and genotypic analysis. *Antimicrob Agents and Chemother* 2006, 50:256-261