

157942

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
İNFeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji
Servis ŞefliĐi

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE SUŞLARI ARASINDA PENİSİLİN,
MAKROLİD VE FLUOROKİNOLON DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

AHMET KARAKAŞ
J. TBP. YZB.

İSTANBUL 2004

ÖNSÖZ

“*Streptococcus pneumoniae* suşları arasında penisilin, makrolid ve fluorokinolon direncinin araştırılması” isimli tez konusu GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servis Şefliğinin 08.08.2001 gün ve İNF. HAST.:0530-61-01/262 sayılı yazısı ile verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır.

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin çalışma, yazım aşamasında bilgi ve deneyimleri ile her zaman yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Şaban ÇAVUŞLU ve Doç. Dr. Oral ÖNCÜL’e teşekkür ve saygılarımı arz ederim.

Değerli yardımları ile her zaman yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Vedat TURHAN ve Uz. Dr. Fevzi ÖZSOY’a; dört yıl boyunca birlikte çalışmaktan gurur duyduğum klinik ve laboratuardaki tüm personele; tez çalışmam boyunca her türlü desteği gösteren Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi’nin değerli öğretim üyesi ve personeline; Haydarpaşa Numune Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında görevli Uz. Dr. Faruk ÇOBANOĞLU’na teşekkürü bir borç bilirim.

Sınırsız desteğini her zaman yanımda hissettiğim sevgili eşim Nuran KARAKAŞ ve kızlarım Selin ile Deniz’e teşekkür ederim.

Dr. Ahmet KARAKAŞ

İstanbul 2004

İÇİNDEKİLER

I.	GİRİŞ.....	1
II.	GENEL BİLGİLER.....	2
	A. TARİHÇE.....	2
	B. MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ.....	5
	C. KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ.....	5
	D. HÜCRE DUVARI YAPISI.....	7
	E. PNÖMOKOKLARIN ANTİJENİK YAPILARI.....	7
	F. TOKSİNLERİ.....	9
	G. KOLONİZASYON VE HASTALIK YAPMA ÖZELLİKLERİ.....	10
	H. YAPTIĞI HASTALIKLAR.....	13
	I. EPİDEMİYOLOJİ.....	14
	J. ANTİBİYOTİK DİRENÇ MEKANİZMALARI	23
	K. PNÖMOKOK İNFEKSİYONLARININ TEDAVİSİ.....	26
	L. KORUNMA.....	28
III.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
IV.	BULGULAR.....	39
V.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	47
VI.	ÖZET.....	55
VII.	YABANCI DİLDE ÖZET.....	56
VIII.	KAYNAKLAR.....	58

I. GİRİŞ

Streptococcus pneumoniae hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde akut bakteriyel sinüzit, akut otitis media, toplum kaynaklı pnömoni gibi solunum yolu enfeksiyonları ile kronik bronşitin akut alevlenmesinde etken olduğu kadar menenjit ve bakteriyemi gibi invaziv hastalıklara da neden olmaktadır (95).

Pnömonokok enfeksiyonları çocuklar, yaşlılar ve immün yetmezliği olanlarda daha sık görülmektedir. Her yıl, yaklaşık bir milyon çocukta (beş yaş altı) pnömonokok kaynaklı enfeksiyon gelişmektedir. Etkili antibiyotiklerin kullanımında olmasına rağmen menenjit ve pnömoni gibi pnömonokok enfeksiyonlarına bağlı mortalite halen yüksektir. ABD’de her yıl yaklaşık 40.000 kişinin pnömonokok enfeksiyonları sonucu öldüğü bildirilmektedir. Pnömonokoksik menenjitlerde ölüm oranı ise halen %20-50’lerdedir. Ayrıca, tedavi sonrası iyileşen olgularda, yaşa bağlı değişimle birlikte %30-60 oranında nörolojik sekel gelişmektedir (72).

Dirençli pnömonokok suşlarının ortaya çıkmasına kadar penisilin, pnömonokok enfeksiyonlarının tedavisinde etkili ve tek seçenek antibiyotik olmuştur. Avustralya’da penisilin ve tetrasiklin dirençli pnömonokokların bildirilmesinden bu yana, dirençli pnömonokok suşları dünya genelinde hızla artış göstermiştir. Günümüzde penisilin direnci tüm coğrafik bölgelerde görülmektedir ve direnç oranları Latin Amerika’da %60, Güney Doğu Asya’da %80’lere kadar yükselmiştir (72, 80). Bunun sonucunda penisilin ciddi enfeksiyonların empirik tedavisinde ilk seçenek antibiyotik olma özelliğini kaybetmiştir.

Pnömonokoklar genellikle nazofarenkste kolonize olurlar ve bu durum sıklıkla yaşamın ilk günlerinde ortaya çıkmaya başlar. Kolonizasyon üç yaşına kadar en yüksek düzeye (%60) ulaşır. Özellikle kreş, bakımevleri ve cezaevleri gibi toplu yaşam yerleri pnömonokok kolonizasyon riskini arttırmaktadır (122). Nazofaringeal pnömonokok kolonizasyonun genellikle semptomsuz olmasına karşın viral enfeksiyonlar, immün sistemin baskılanması veya yaşlılık gibi bazı tetkikleyici faktörlerin varlığında enfeksiyonlara neden olabilmektedir (18).

Bu çalışmada, toplu yaşam yerlerinde yaşayan sağlıklı genç erişkinler ve çocuklarda pnömonokok kolonizasyon sıklığı ile bu olguların nazofarenks sürüntüleri ve diğer çeşitli klinik örneklerden izole edilen pnömonokok suşlarında antimikrobiyal direnç paterninin araştırılması amaçlanmıştır. Bunun yanı sıra, çeşitli risk faktörlerinin ve kreşte bulunma süresinin çocuklardaki nazofaringeal pnömonokok kolonizasyonu üzerine olan etkileri incelenmiştir.

II. GENEL BİLGİLER

Streptococcus pneumoniae (pnömokok), hem çocuklarda hem de yetişkinlerde üst ve alt solunum yolları infeksiyonlarına yol açan mikroorganizmaların başında gelmektedir. Ayrıca menenjit, bakteriyemi gibi çeşitli invaziv hastalıklara da neden olmaktadır (69). Pnömokokların bugüne kadar kullanılagelmiş *Micrococcus pneumoniae*, *Micrococcus lanceolatus*, *Micrococcus pasturei*, *Streptococcus lanceolatus pasturei* gibi çeşitli isimlerine de rastlanılmış olmasına karşın, son zamanlara kadar *Diplococcus* diye ayrı bir cins sayılmışlardır. *Diplococcus pneumoniae* adı ile anılmakta olan pnömokoklar yeni isimlendirmede *Streptococcus* cinsi içerisinde ayrı bir tür olarak sayılmış ve günümüzde *Streptococcus pneumoniae* olarak adlandırılmaya başlanmıştır (16).

A. TARİHÇE

Etken ilk olarak Fransa'da Pasteur tarafından 1880 yılında tükürükte rastlantısal olarak bulunmuş ve "*Microbe Septicemique du Saliva*" olarak adlandırılmıştır. Aynı yıllarda ABD'de Stenberg kendi tükürüğünü tavşana inoküle ederek bakteriyi izole etmiş ve saptadığı bu mikroorganizmayı "*Micrococcus pasturei*" olarak isimlendirmiştir. Ancak, her iki araştırmacı da izole ettikleri bu mikroorganizmayı pnömoni ile ilişkilendirememişlerdir. Pnömokokların lobar pnömoni ile olan ilişkisi, 1884 yılında Frankel ve 1886 yılında Weichselbaum tarafından yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konmuştur. Lobar pnömoni ile olan ilişkisinden dolayı 1880'li yılların sonlarında bu bakterinin ismi *pneumococcus* olarak değiştirilmiştir. 1890'lı yıllarda Felix ve Klemperer ölü pnömokokları kullanarak immünizasyon çalışmalarını başlatmışlardır. İmmünize edilen hayvanların daha sonra pnömokoklarla karşılaştıklarında hastalığa yakalanmadığını ve bu hayvanlardan alınan serumların bu koruyuculuğu immünize olmayan diğer hayvanlara aktarabildiğini göstermişlerdir. Daha sonraki çalışmalarda pnömokoksik pnömoni geçirip iyileşen kişilerden alınan serumların da aynı derecede koruyucu olduğu bulunmuştur (95).

Fransız araştırmacılar Griffon ve Bezancon, 1897 yılında antipnömokok tavşan serumlarını kullanarak pnömokoklar arasında farklı aglütinasyon reaksiyonlarını gözlemlemişlerdir. Bundan hareketle pnömokokların birçok farklı tipte olabileceği sonucuna varmışlardır (56). Almanya'da 1910 yılında Neufeld ve Handel pnömonili hastalardan elde ettikleri pnömokokları kullanarak immünize edilmiş tavşan, eşek ve atlardan yüksek potensli

monovalan serumlar elde etmişlerdir. Bu araştırmacılar monovalan antiserumları kullanarak pnömokokları antijenik yapılarına göre üç serotipe (I, II, III) ayırmışlardır. 1913 yılında Dochez ve Gilesie aglütinasyon reaksiyonları sonucunda heterojen aglütinasyon veren yeni bir grubun varlığını ortaya koymuş ve pnömokokları dört (I-IV) grupta toplamışlardır. Aynı yıllarda Güney Afrika'da Lister, opsonizasyon özelliklerine dayanarak beş grup tanımlamış ve A, B, C, D, E olarak isimlendirmiştir (56).

Serotiplendirilmede kullanılan bu antiserumlar insanlarda kullanılarak bağışıklık etkisinden yararlanılmaya çalışılmıştır. Maynard, Lister, Wright ve diğer araştırmacılar Afrikalı maden işçilerine pnömokok antiserumlarını vererek pnömoni insidansında belirgin azalma saptamışlardır. Heidelberg ve Avery bu koruyuculuğun pnömokok yüzey polisakkaridi ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmalar pnömokok aşısının temeli oluşturmuştur (56).

Cooper ve arkadaşları 1921-1932 yılları arasında monovalan tavşan ve at serumlarını kullanarak yaptıkları aglütinasyon çalışmaları sonucunda pnömokokların 32 farklı tipte olduklarını bildirmişler ve bu serotipleri numaralar ile göstermişlerdir. Monovalan serumların elde edilmesi ile pnömokoklara karşı antikor içeren serumların hastaların tedavilerinde kullanılabileceği fikri ortaya atılmış ve tavşan kaynaklı pnömokok antiserumları, lobar pnömoni tedavisinde ilk kez 1937 yılında Danimarka'da kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, ortaya çıkan II. Dünya Savaşı, sülfonamidlerin keşfi ve 1940'lı yılların ortasında penisilinin klinik kullanıma girmesi ile birlikte tavşan serumlarına dayalı tedaviler giderek azalmış olmasına rağmen Danimarka'da 1950'li yılların başlarına kadar kullanılagelmiştir (56).

ABD'de 1938 yılında, Felton saf olarak elde ettiği pnömokok polisakkaridini sağlıklı kişilere inoküle etmiş ve bunlarda bağışıklık geliştiğini ortaya koymuştur. Bundan hareketle geliştirilen polisakkarid kaynaklı pnömokok aşısı II. Dünya Savaşı sırasında kullanılmıştır. Polisakkarid aşısı ile aşılanan askerlerin aşı içeriğindeki suşlarla meydana gelen pnömoniye karşı bağışık oldukları gösterilmiştir (95).

Kauffmann 1940 yılında birçok yeni serotip tanımlamış ve ayrıca birbirleri ile benzer antijenik özellikler gösteren tiplerin, grup yedi örneğine benzer şekilde (7, 7A, 7B ve 7C) sınıflandırılmasını önermiştir. Walter ve arkadaşları 1941 yılında Danes tarafından tanımlanan nomenklatüre sadık kalarak izole ettikleri 17 yeni tipi ve bazı subtipleri tanımlamışlardır. 1954 yılında Kauffman ve Lund, kendi isimlendirmelerinin kullanılmasını önermiş, ancak yapılan görüşmelerde tam bir fikir birliğine varılamamıştır. Lund 1970 yılında pnömokok

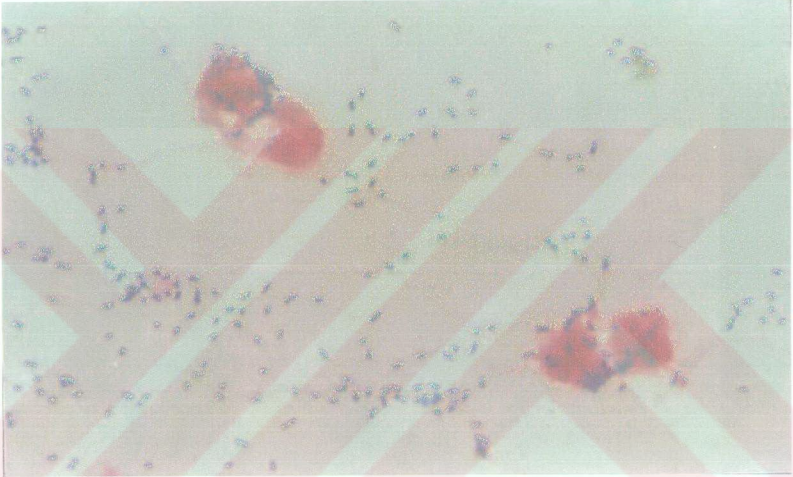
gruplarının (6 ve 9 hariç) ilk serotipinin F (*First=ilk*), diğerlerinin de A'dan başlanmak üzere sıra ile adlandırılmasını önermiştir. 1972 yılına gelindiğinde serotip 47A'nın tanımlanması ile birlikte toplam kapsüller serotip sayısı 83'e ulaşmıştır. Sonuç olarak 1980'li yıllarda yapılan ve *Food and Drug Administration (FDA)*, aşı üreticileri, *Centers for Disease Control (CDC)*, *World Health Organisation (WHO)* yetkilileri ile Danimarka'dan Henrichsen'nin katıldığı bir toplantıda Henrichsen ürettiği ticari pnömokok antiserumlarını Danimarka isimlendirme sistemine (Danish) göre etiketlemeye devam edeceğini belirtmiştir. CDC'nin Danish sisteminden adapte ettiği yeni isimlendirmenin "*The International Code of Nomenclature of Bacteria*"ya uymadığını ve karışıklığa neden olduğunu ifade etmiştir. Buna rağmen günümüzde hem Danimarka hem de Amerikan isimlendirme sistemi kullanılmaktadır (56). Son olarak 1995 yılında yenilerinin tanımlanması ile günümüzde serotip sayısı 90'a ulaşmıştır (99).

Wright ve arkadaşlarının 1911 yılında maden işçilerinde pürifiye edilmemiş tüm hücre pnömokok aşısı kullanarak pnömoni insidansında bariz azalma saptamalarının ardından hazırlanan 2-valan, 3-valan ve 4-valan aşılar lisans alarak kullanıma girmiştir. Ancak, 1940'lı yıllarda penisilinin keşfi ile pnömokok enfeksiyonlarının tedavisinde büyük başarılar elde edildiğinden aşılar ile korunma geri planda kalmış ve söz konusu aşılarda üretimi 1950'li yıllarda durdurulmuştur. Her dört pnömokoksik pnömoni olgusundan birinin tedaviye rağmen ölmesi dikkati tekrar aşılar üzerine yöneltmiş ve 1960'lı yıllarda 6-valan aşı kullanıma girmiştir. 1977'de 14-valan, 1981'de 23-valan kapsüller polisakkarid aşıları lisans alarak kullanılmaya başlanmıştır. 2000 yılında da ilk konjuge protein aşısı olan 7-valan aşı lisans almıştır (24).

Pnömokokların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde ilk olarak kinin kullanılmış ve daha sonra da kinin derivativesi olan optokin tedaviye eklenmiştir. Ancak, her iki ilaçla da istenen sonuçlar alınamamıştır. Pnömokoklarda ilk antibiyotik direnci 1912 yılında farelerden izole edilen suşlarda saptanan optokin direncidir (7). Penisilin, keşfinden 1960'lı yılların sonlarına kadar pnömokok enfeksiyonların tedavisinde tek seçenek olmuştur. İlk penisilin dirençli pnömokok suşu 1969 yılında Yeni Gine'nin Anguganak bölgesinde üç yaşındaki sağlıklı bir çocuğun boğazından izole edilmiş olan kapsüller tip-4 pnömokok serotipidir (MİK: 0.5 mcg/mL). Daha sonra 1977 yılında Güney Afrika'da pnömokoksik menenjit epidemisi sırasında penisilin (MİK=4-8 mcg/mL) ile birlikte kloramfenikol, tetrasiklin ve makrolid grubu antibiyotiklere dirençli olan suşlar rapor edilmiştir (7).

B. MORFOLOJİ VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

Streptococcus pneumoniae'nin birbirine bakan yüzleri düz, diğer uçları sivri olup boyları enlerinden uzundur. Gram pozitif olan pnömokoklar bakteriyolojik boyalarla kolayca boyanırlar. Genellikle mum alevi ya da lanset şeklinde olan pnömokoklar, 0.5-1.25 mikrometre büyüklüğünde diplokoklar şeklinde görünürler (Şekil 1). Bununla beraber bazen oval, iki uçları sivri, tek tek koklar ve özellikle sıvı besiyerinde 5-6 koklu zincir halinde de görünebilirler (95).



Şekil 1: Beyin omurilik sıvısının gram boyamasında gram-pozitif diplokoklar görülmektedir.

Hareketsiz, sporsuz ve fakültatif anaerop olan pnömokoklar, organizmadan yeni ayrıldıklarında tipe özgü bir kapsülü içerirler. Zenginleştirilmiş besiyerlerindeki pasajlarında kapsül oluşumu devam ederse de diğer besiyerlerinde kısa zamanda kaybolur (16).

C. KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ

S. pneumoniae kan ürünleri ile zenginleştirilmiş ortamlarda (triptik soy agar, beyin-kalp infüzyon agar gibi) kolaylıkla üremesine rağmen; buyyon, jeloz gibi basit besiyerlerinde zor ürer. Koyun kanı içeren agarda %5 CO₂'li ortamda, 18-24 saatlik inkübasyon sonucunda

besiyerinin yüzeyinde küçük, yuvarlak ve yüzeyden hafif kabarık, 0.5-1.5 mm çapında koloniler oluşturur. Ancak kapsül maddesi fazla olan serotiplerin (serotip 3, 19, 37 gibi) kolonileri daha büyük ve mukoiddir. Hatta bu özelliğinden dolayı serotip-3, *Streptococcus mucosus* olarak da isimlendirilmektedir (16).

Optimal 35°C (25-42°C) ve pH: 7.4-7.8'de ürer. %5 CO₂'li ortamda üretildiğinde koloni etrafında yeşil renkli bir alfa-hemoliz zonu oluşur. Ancak, aerob şartlarda üretildiğinde *pneumolysin-O* toksini sayesinde koloni çevresinde beta-hemoliz zonu meydana gelir. Oksijen varlığında bir metabolizma ürünü olan H₂O₂ yaparlar. Peroksidaz ve katalaz aktivitelerinin olmaması nedeni ile H₂O₂'i parçalayamaz ve otolize uğrarlar. Otolize uğrayan bu kolonilerin ortası hafif çöküntülüdür (70).

Pnömonokoklar kültür ortamında oldukça değişiklik gösterebilen bakterilerdir. Bunlardan ilki koloni morfolojisinde gözlenen S-R değişikliğidir. Kapsüllü ve virülan özellikteki S kolonileri, homolog antiserumların bulunduğu besiyerinde kapsülsüz, kaba ve granüllü avirülan R kolonilerine dönüşmektedirler. R kolonilerinin buyyon kültürleri farelere inoküle edilecek olursa aynı tipin S şekline dönüşebilir. Pnömonokokların tipe özgü antijenik yapısı (*Specific Soluble Substance*, SSS) kapsül polisakaridinde bulunması nedeni ile R şekline dönüşen koloniler kapsülsüz hale geldiklerinde tip özelliğini de kaybederler. Pnömonokok infeksiyonlarının seyri sırasında ortaya çıkan *anti*-SSS antikorları konakta kapsülsüz R kolonilerinin oluşmasına neden olur (95).

Pnömonokoklarda görülen ikinci bir değişiklik ise transformasyondur. Transformasyon sırasında kapsülsüz bakteriler, başka bir serotipten DNA parçası alarak kapsüllü hale gelebilirler. Bu olay ilk olarak 1920'li yıllarda gösterilmiştir. Bu dönüşümde DNA'nın rol oynadığı ortaya konmuş ve bu çalışma ile modern anlamda DNA'nın keşfinin temeli atılmıştır (95).

Pnömonokoklar karbonhidratları laktik asit oluşturarak parçalarlar. Glukozun fermentasyonu ile oluşan laktik asit, ortam pH'sının değişmesine ve uygun olmayan üreme koşullarının ortaya çıkmasına neden olur. Kanlı agardaki koloni morfolojileri diğer alfa-hemolitik streptokoklara benzer. Bunlardan ayırımında inülin fermentasyonu, optokin duyarlılığı, safra tuzlarında erime, deney hayvanlarındaki patojenik özelliklerinden faydalanılır. Pnömonokoklar inülini asit oluşturarak parçalarlar. Optokine duyarlıdır. Ancak zaman zaman optokine dirençli suşlar da bildirilmektedir. Sıvı besiyerindeki kültürlerine %10-20 sığır safrası veya %2-4'lük safra tuzu eriyiği eklendiğinde otolize uğrarlar.

Pnömonokokların safra karşısında erimeleri, peptidoglikan tabakayı eritebilen ve safra varlığında aktive olan *otolizin* sayesinde olmaktadır. *Streptococcus pneumoniae* diğer alfa-hemolitik streptokokların aksine fareler için oldukça patojendir (16).

Pnömonokoklar organizma dışında kısa sürede canlılıklarını kaybederler. Oda ısısındaki balgamda birkaç gün, +4°C'de 10 güne kadar canlılığını sürdürebilir. Isı ve antiseptikler karşısında çabucak inaktive olurlar (16, 70).

D. HÜCRE DUVARI YAPISI

Pnömonokokların yüzeyinde onları fagositoza karşı koruyan polisakkarid polimerlerinden oluşan bir kapsül vardır. Kapsülün altında ise peptidoglikan tabaka ve teikoik asitten oluşan hücre duvarı yapısı bulunur. Bu yapı antijenik etkiden sorumlu tutulmaktadır. Peptidoglikan tabaka, *N-asetil muramik asit* ve *N-asetil glukozamin* peptid köprüleri ile çapraz zincirler yapması ile oluşur. Diğer ana komponent olan teikoik asit ise kolin, fosfat ve galaktozaminde zengindir. Kolin hücre duvarının hidrolizinde önemli rol oynar. Hücre duvar yapısındaki antijenik yapılar, gram negatif bakterilerin yapısında bulunan *lipid-A* kadar güçlüdür.

Pnömonokoklarda hücre membranında yer alan ve *penisilin bağlayan protein* (PBP) olarak adlandırılan enzimler bulunur. Bunlar, hücre duvarındaki peptidoglikan tabakasının sentezinin son basamağında rol oynarlar. PBP'ler üzerinde bulunan aktif bölge, beta-laktam grubu antibiyotiklerle bağlandığında inaktif hale geçerler. Hücre duvarı yapısında yer alan bazı enzimler (*peptidoglikan hidrolaz*) antibiyotiklerin PBP ile bağlanmaları sonucu aktif hale geçer. Bu etkiler sonucunda hem bakterinin hücre duvarı sentezi durur hem de bakteri otolize uğrar (95).

E. PNÖMOKOKLARIN ANTİJENİK YAPILARI

Pnömonokoklarda başlıca iki tip antijen bulunmaktadır.

1. Kapsül Antijeni: Pnömonokokların en önemli antijenik yapısı olup haptin özelliğinde bir polisakkarid bileşigidir. Her tip için ayrı immünolojik karakter taşıyan bu maddeye "*specific soluble substance*" (SSS) adı verilir. Bu maddenin antijenik özelliğine göre, pnömonokoklar serolojik olarak tiplendirilir. İzole edilen serotiplerden saflaştırılan kapsül polisakkaridi aşı hazırlamada kullanılmaktadır. Kapsüle karşı oluşan antikorlar aynı zamanda tanı amaçlı da kullanılmaktadır. *S. pneumoniae* değişik şekillerde tiplendirilebilmektedir:

- Tipe özgü antiserumlarla pnömokok aglütinasyonu
- Tipe özgü antiserumlarla SSS presipitasyonu
- Kapsül şişme reaksiyonu (Quellung reaksiyonu)

Kapsüller tipler çapraz reaksiyonların varlığı gösterilmiştir. Mesela tip 2 ve 5, tip 3 ve 8, tip 7 ve 18 arasında böyle çapraz reaksiyonlar vardır.

Pnömokokların tiplendirilmesinde Danimarka ve Amerikan sistemi kullanılmaktadır. 1970'li yıllara kadar kabul gören Danimarka sistemi, günümüzde yerini Amerikan sistemine bırakmaya başlamıştır. Danimarka isimlendirme sisteminde serotipler yapısal ve antijenik karakterlerine göre sınıflandırılır. Benzer antijenik yapı gösteren tipler aynı grubun subtipleri olarak kabul edilmektedir. Bu sisteme göre izole edilen ilk tipe F (first), diğerlerine sırası ile A, B, C gibi harfler verilerek adlandırılır. Örneğin birbirlerinden çok az yapısal farklılık gösteren iki suş 6A, 6B olarak isimlendirilmektedir. Buna karşılık Amerikan isimlendirme sisteminde suşların adlandırılması izolasyon önceliklerine göre yapılmaktadır. Böylece 6A, 6B olarak adlandırılan tipler Amerikan sisteminde sırası ile tip 6 ve tip 26 olarak adlandırılmaktadır. Benzer şekilde 19F, 19A, 19B ve 19C olarak adlandırılan suşlar sırası ile 19, 57, 58 ve 59 olarak tiplendirilmiştir (95).

Bazı pnömokok serotipleri sıklıkla penisiline daha fazla direç gösterirler (serotip 6, 14, 19, 23). Hazırlanan pnömokok aşılarında bu suşlar bulunmaktadır (94, 99).

2. Somatik Antijenler: Pnömokoklar kapsül antijeninden başka iki farklı somatik antijen içerir. Bu antijenlerden biri, *S. pyogenes*'deki ile benzer olan M proteinidir. Pnömokok tipleri arasında bu maddenin yapısal farklılığına rastlanmakta ise de bu ayrımlar tiplendirmede yararlanılacak kadar özgül değildir. M proteinine karşı gelişen antikorlar fagositoza karşı koruyucu özelliği yetersizdir (16, 95).

Diğer bir somatik antijen ise aynı zamanda *C-substans* olarak da adlandırılan C maddesidir. Bu madde plazma membran lipitlerine kovalent olarak bağlanır ve türe spesifik özellik gösterir. *C-substans* kalsiyum varlığında serum globülünün bir fraksiyonu ile çöktelti oluşturur. Organizmada C antijenine karşı gelişen ve onunla birleştiğinde presipitasyona neden olan bu madde, akut faz reaktanlarının bir elemanı olan *C reaktif protein (CRP)*'dir. Sağlıklı bireylerde düşük konsantrasyonlarda bulunurken akut inflamatuvar hastalıklar, multipl myeloma ve miyokard infarktüsü gibi doku harabiyetiyle seyreden hastalıklarda seviyesi yükselir. Pnömokoklarda bulunan diğer bir antijen de memeli hücrelerinde Forssman

antijenleri ile çapraz reaksiyon verebilen, membran lipoteikoik asit yapısındaki F antijenidir (95).

F. TOKSİNLERİ

Pnömonokokların hastalık oluşturabilmeleri, doku invazyonu ve fagositik etkiden kurtulabilmelerine bağlıdır. Bunda, pnömonokokların salgıladıkları toksinler ve kapsül oluşturmaları etkilidir. Başlıca toksinleri:

1. Pnömolizin: *Streptolizin O* ile immünolojik olarak benzer olup ısı ve oksijene duyarlı, 52.8 kDa büyüklüğünde bir hemolizindir. Hücre duvarının yapısındaki lipid tabaka içerisinde yer alır. Ancak bakteri parçalandığında ortaya çıkar. Anaerobik ortamda üreyen *S. pneumonia*'nin oluşturduğu beta-hemolizden sorumludur. Dermotoksik özellik gösteren *pnömolizin* deneysel tavşan enfeksiyonlarında hemolitik anemiye sebep olabilmektedir (16, 95). Bu etkilerini, konak hücre membranındaki kolesterole bağlanıp, membranda porlar oluşturarak ortaya çıkarır. Direkt sitolitik etkilerinin yanında komplemanı aktive edici özelliklere de sahiptir. Komplemanın C1 parçasının pnömonokok kapsülüne bağlanmasını sağlar ve ayrıca dolaylı yoldan da komplemanı aktive eder. Kompleman aktivasyonu da inflamatuvar kaskadı tetikleyerek konak hücrede hasar oluşturur (1). Diğer bir etkisi deney hayvanlarında pupura ve kanamalara neden olabilmesidir. Bu nedenle "*Pupura Oluşturucu Faktör*" olarak da anılmaktadır (95). Ayrıca nöraminidaz enziminin aktivitesini artırır. Yapılan çalışmalarda farelere enjekte edilen anti-pnömolizin antikollarının fareleri enfeksiyondan koruduğu gösterilmiştir (44).

2. Nöraminidaz: Glikozidik yapıtlı bir enzim olup, iki tipi vardır. Birincisi, pnömonokokların nazofarenks epiteline tutunmasını sağlamaktadır. Diğeri ise pnömonokok yüzey proteinlerini örterek kompleman aktivasyonunu engellemektedir (137). Nöraminidaz, nazofarenks epitelinin yüzeyinde bulunan mukozanın yapısındaki *Secondary terminal-N-actyl neurominidase* bağlarını ayırır. Mukozanın yapısının bozulması ile pnömonokokların adezyonu için gerekli yüzey oluşturulur (1). Nöraminidaz aynı zamanda pnömonokokların infekte dokuya yayılmasında da rol oynar (95).

Bu toksinleri dışında pnömonokokların hücre duvar yapısında bulunan ve hastalık oluşturmalarında etkili kolin ile non-kovalan bağlarla bağlanmış çeşitli yapısal porteinler vardır. Bunlardan; *pnömonokok yüzey proteini* (*Psp A*), hemen hemen tüm pnömonokokların yüzeyinde bulunur. Bunlara karşı oluşan antikollar, deney hayvanlarını pnömonokok

invazyonuna karşı korumaktadır. *Anti-Psp A* antikorlarının koruyucu özelliğinin olması bunların izvasyon basamağında etkili olduklarını düşündürmektedir (95).

Diğer bir protein ise pnömokokların nazofarenks epitelinin yüzeyindeki karbohidratlara (N-acetyl-glycosamine) bağlanmasında etkili olan "*Pneumococcal Surface Adhezin A (Psa A)*" proteinidir (18).

G. KOLONİZASYON VE HASTALIK YAPMA ÖZELLİKLERİ

Pnömokokların Mukozal Kolonizasyonu: Pnömokokların patojenitesinde ilk basamak kolonizasyondur. Kolonize olan her pnömokok suşu enfeksiyona neden olmaz. Ancak, immün sistem bozukluğu veya üst solunum yollarındaki mukozanın yapısının bozulması durumunda patojen hale geçebilirler. Pnömokokların kolonizasyonu yaşamın ilk günlerinde ortaya çıkmaya başlar ve üç yaşına kadar en üst düzeye düzeye ulaşır. Kolonizasyon, pnömokokların epitel hücrelerine yapışması (*adherans*) ile başlar. Pnömokoklar, nazofarenks epitelinin yüzeyinde bulunan karbohidratlara (*N-acetyl-glycosamine*) hücre duvarları ile ilişkili olan *Psa A* ile bağlanır. Viral enfeksiyonlar sırasında ortaya çıkan interlökinler ve *tümör nekrozis faktör* gibi inflamatuvar mediatörlerin lokal oluşumu, asemptomatik taşıyıcılığın invaziv hastalığa dönüşmesine neden olabilmektedir. Oluşan inflamatuvar döngü, epitel yüzeyinde bulunan reseptörlerin hem yapısını hem de sayısını değiştirir. Pnömokok hücre duvarındaki kolin maddesinin, değişen bu yüzey reseptörleri ile platelet aktive edici faktör reseptörlerine afinitesi artar. Bunun sonucunda pnömokoklar, epitel ve endotel hücreleri arasında geçerek içeri alınır. Artık canlılığı devam eden bakteri dokuya invaze olmuştur. Ayrıca *Kolin Bağlayıcı Protein A (Chp A)*, sitokinlerin uyardığı epitel hücrelerinin yüzeyindeki sialik asit ve lacto-N-neotetraose yapılarına bağlanır. *Chp A*, direkt olarak IgA'nın reseptörleri ile etkileşir. Bu olay mukozal bariyerden pnömokokların geçişini artırır. Bu etki, pnömokokların *IgA1 proteaz* aracılığı ile IgA'yı parçalayarak yüzey gerilimini değiştirmesi ve *Chp A*'nın *platelet aktive edici faktör (PAF)* reseptörüne karşı artmış fiziksel yaklaşması sonucu ortaya çıkar. Ayrıca *Chp A*, *salgisal immünglobulin A (sIgA)*'ya bağlanarak kompleman yolağı ile etkileşime geçer ve konağın immün yanıtından korunur. Diğer bir enzim olan nöraminidaz musini parçalayarak mukusun vizkozitesini düşürür ve kolonizasyona katkıda bulunur. Nöraminidaz ayrıca glikolipid, glikoprotein ve oligosakkaridleri de parçalayarak, konak hücre yüzeyindeki *N-asetil-glikozamin* respörlerini açığa çıkarır. İnfluenza ve parainfluenza gibi viral enfeksiyonlar sırasında pnömokok kolonizasyonu, bu viruslerin nöraminidaz aktiviteleri

sayesinde artmaktadır. Bazı pnömokok suşlarının nazofarenkste daha sık kolonize olmaları, yüzey proteinlerindeki değişikliklerle açıklanmaktadır (18).

Nazofaringeal kolonizasyon sıklığı yaşa bağlı bir şekilde değişiklik gösterir. İlk üç yaş içerisinde %55'e ulaşan kolonizasyon oranı, giderek azalır ve 10 yaşından sonra %8'e kadar geriler. Sağlıklı kişilerde risk faktörleri kolonizasyon üzerine belirleyici rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda etnik yapı, kalabalık yaşam, çevresel ve sosyoekonomik faktörler (aile büyüklüğü, özellikle küçük kardeş varlığı), gelir düzeyi, sigara (pasif veya aktif içicilik) ve antibiyotik kullanımı nazofaringeal taşıyıcılık üzerine etkili bağımsız risk faktörleri olarak bulunmuştur (30, 51). Kalabalık yaşam, gerek pnömokokların kolonizasyonunu gerekse yayılımı etkileyen en önemli faktördür. Çocuk yaş grubunda özellikle kreşe devam edenler arasında pnömokok kolonizasyon oranı oldukça yüksektir (17). Hollanda'da yapılan bir çalışmada kreşe devam eden çocuklarda kolonizasyon sıklığı, etmeyenlere oranla 1.6 kat daha fazla bulunmuştur (17). Bu ve buna benzer çalışmalardan elde edilen bilgiler, belli bazı pnömokok tiplerinin kreşlerdeki çocuklar arasında yayılım gösterdiğini desteklemektedir. Raymod ve arkadaşları, öksüzler yurdundaki bebekler arasında kolonizasyon oranının %80'lere kadar çıktığını bildirmişlerdir (113). Etnik yapı, kolonizasyonu artıran bir diğer faktördür. Afrika asıllı Amerikan, Kızılderili ve Alaska yerlilerinde pnömokokkal kolonizasyon ve dolayısı ile invaziv hastalık oranları diğer popülasyonu göre daha fazladır. Çocuklarda (24-35 ay) invaziv hastalık riskinin araştırıldığı bir çalışmada, tüm çocuklarda bu risk 64.7/100.000/yıl iken, Amerika'daki zenciler arasında 116.4/100.000/yıl, kızılderililer arasında 73-227/100.000/yıl olarak bildirilmiştir (107). Artmış bu riskten dolayı ACIP (US Advisory Committee for Immunization Practices) bu popülasyondaki bütün yaş grupları için pnömokok aşısını önermektedir. Özellikle kreşe giden çocuklar başta olmak üzere 7-yaşlı pnömokok aşısı ile aşılanmaları önerilmektedir (111).

Nazofaringeal taşıyıcılardan elde edilen pnömokok serotiplerinin dağılımı ülke, yaş ve bölgeye göre çok az farklılık göstermektedir. Mesela Hollanda kaynaklı serotipler daha çok 19F, 6B, 6A, 9V ve 23F iken Amerika'da 6B, 14, 19F ve 23F serotipleri sıklıkla izole edilmektedir (17, 140). Ancak kreşe devam etme veya üst solunum yolu enfeksiyonu gibi risk faktörleri ile serotiplerin dağılımı arasında bir ilişki bulunamamıştır (17).

Pnömokoklar nazofarenks epitelini dışındaki düşük pH nedeni ile oral seks sırasında vajinal mukozada da kolonize olabilmektedirler. Yapılan çalışmalarda vaginal kolonizasyon nedeni ile, normal doğum sırasında neonatal sepsis gelişebileceği bildirilmiştir (92).

Hastalık Yapma Özellikleri: Pnömonokların infeksiyon oluşturmalarında etkili en önemli faktörlerin başında kapsül yapıları gelir. Pnömonoklar kapsülleri sayesinde opsonizasyon ve fagositozdan kaçabilmektedirler. Bu etki; (a) kapsülün, kompleman komponentlerinin fagositlerin yüzeyindeki reseptörlere bağlanmasını engellemesi, (b) fagositik hücrelerin yüzeyinde kapsül polisakkaridini tanıyan reseptörlerin bulunmaması, (c) fagositik hücrelerle bakteriler arasındaki elektrostatik itme gibi değişik yollarla ortaya çıkar (95).

Dokuya invaze olan pnömonoklar komplemanı aktive ederek güçlü bir inflamatuvar yanıt oluşturmurlar. *Streptococcus pyogenes* gibi diğer organizmalardan farklı olarak çeşitli toksinler üreterek doku hasarını artırır.

Konak (a) epiglot refleksi, (b) yapışkan mukus varlığı, (c) solunum yollarını döşeyen silialı epitel varlığı, (d) öksürük refleksi, (e) terminal bronş ve bronşioollerine drene eden lenfatikler ve (f) mononükleer alveolar hücrelerin etkinliği gibi çeşitli savunma mekanizmaları ile *Streptococcus pneumoniae*'nin solunum yollarına kolonizasyon ve invazyonunu engellemeye çalışır. Ancak, pnömonokların doku invazyonunu artıran konağa ait çeşitli risk faktörleri de vardır. Normalde üst ve alt solunum yollarına ulaşan bakterileri uzaklaştırmada etkili mukosilier temizleme mekanizmalarını bozan sigara, soğuk hava, allerji ve viral infeksiyonların varlığında pnömonoklar östaki borusu, paranasal sinüs orifisleri ve bronşlara kolayca yayılırlar (101).

Pnömonok infeksiyonlarında kapsül antijenine karşı koruyucu antikörler, hastalıktan 5-8 gün sonra oluşur (87). Pnömonoksik pnömoni geçiren yetişkinlerin 2/3'ünde, çocuklarda ise daha düşük oranlarda antikor yanıtı ortaya çıkmaktadır. Pnömonoklar ile kolonize olan kişilerin de 2/3'ünde ve ilk 30 gün içinde antikor yanıtı gözlenir. Kolonizasyonda oluşan antikor düzeylerinin, infeksiyon sonrasında oluşan antikor düzeyi kadar yüksek olduğu gösterilmiştir (95).

H. YAPTIĞI HASTALIKLAR

S. pneumoniae nazofaringeal kolonizasyon bölgesinden direkt yayılımıyla bronş, akciğer, trakea, sinüs ve orta kulak infeksiyonu; hematojen yayılımı ile de santral sinir sistemi, peritoneal kavite, eklemler, kemik infeksiyonlarına sebep olur (95).

Ciddi pnömonok infeksiyonları sıklıkla uç yaşlarda (iki yaşın altındaki çocuklar ile 65 yaşın üstündeki erişkinler) ve belli bazı predispozan hastalığı olanlarda görülmektedir. Orak

hücreli anemisi olan çocuklarda invaziv pnömokok infeksiyonlarındaki artış buna bir örnektir (126). Erişkin popülasyonda HIV infeksiyonu, splenektomi, multiple myeloma, bağ dokusu hastalığı, steroid kullanımı, diyabetes mellitus ve damar içi ilaç kullanımı invaziv pnömokok infeksiyonları için başlıca risk faktörlerini oluşturmaktadır (95, 126). İnvaziv hastalıklarda genellikle kapsüllü pnömokok suşları sorumlu iken, kapsülsüz olan atipik pnömokoklar lokal infeksiyonlara neden olmaktadır. Bununla birlikte 2002 yılında ABD’de bir okulda 698 kişiyi etkileyen bir konjunktivit salgınında etkenin kapsülsüz bir pnömokok suşu olduğu bildirilmiştir (88).

Pnömoni: Pnömokokların neden olduğu ve mortalitesinin halen yüksek seyrettiği hastalıkların başında gelmektedir. Olguların büyük bir kısmı çocuk ve yaşlılar olup, küçük bir kısmını sağlıklı genç erişkinler oluşturmaktadır. Sağlıklı yetişkinlerde tablo genellikle hiperakut olarak ortaya çıkar. Bunun aksine çok yaşlılarda tablo başlangıçta silik olabilir, hastalık hipotermi ve şok ile seyredebilir (95).

Gelişmekte olan ülkelerde hastaneye yatmayı gerektiren toplum kökenli pnömonilerin %50’sinden fazlasını bakteriyel pnömoniler oluşturmaktadır. *H. influenzae* ve *S. pneumoniae* bu bakteriyel pnömonilerin %80’ninden sorumludur (95).

Yapılan çalışmalarda çocuk ve yaşlılarda farklı serotipler ile pnömoni geliştiği bildirilmiştir. Çocuk pnömonilerinin %85’inden 14, 6, 18, 19, 23, 1, 4 ve 9 serotipleri sorumlu iken, bebek pnömonilerinde en sık serotip 14 ve erişkin pnömonilerinde de 1, 3, 4, 5, 7, 8, 12, 14, 19 serotipleri izole edilmiştir (71, 110).

Akut Otitis Media: Sıklıkla küçük yaş grubu çocukları etkileyen infeksiyonların başında gelir. Genelde orta şiddette seyretmesine rağmen kronikleşebilir ve işitme kaybına, mastoidite ve intrakraniyal komplikasyonlara neden olabilir. Akut otitis media en sık nedeni sıklık sırasına göre *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis*’tir. Etken saptanan olguların %40-60’ından bu bakteriler sorumludur. Otitli olgulardan sıklıkla serotip 6, 9, 14, 19F ve 23F sorumlu tutulmaktadır (95).

Sinüzit: Sinüslerin akut infeksiyonlarına neden olan mikroorganizmalar akut otitis media’da görülenlerle aynıdır. Mukozal membranlarda viral ve allerjik olaylar sonucu ortaya çıkan konjesyon patogeneze önemli rol oynamaktadır. Sinüs ağzının tıkanması ve buna bağlı hava ve sekresyon geçişinin bozulması infeksiyona zemin hazırlar (95).

Menenjit: Pnömokokların santral sinir sistemine geçişleri ya bakteriyemi sırasında ya da kulak ve sinüs infeksiyonları sonucunda komşuluk yolu ile olmaktadır. *Dura materin*

bütünlüğünün bozulduğu durumlarda tekrarlayan menenjitlere sebep olabilir. Pnömonokoksik menenjit yenidoğanda nisbeten daha azdır. Buna karşın çocuk menenjitlerinin %15'inde, yetişkin menenjitlerinin de %30-50'sinden sorumludur (95). 1985-1994 yılları arasında İsviçre'de yapılan ve 393 invaziv suşun dahil edildiği bir çalışmada 165 (%42) suşun BOS kaynaklı olduğu bildirilmiştir. Mortalite ve ciddi nörolojik sekeller, diğer bakteriyel menenjitlere oranla *S. pneumoniae* menenjitinde 4-20 kat daha fazla görülür (133).

Yaptığı Diğer Hastalıklar

Streptococcus pneumoniae yukarıda sayılan hastalıkların en sık nedeni olmakla beraber ender olarak birçok enfeksiyonda etken olarak izole edilmiştir. Plevral ampiyem, akciğer absesi, bronşit, anjin, sepsis, konjunktivit, keratit, artrit, osteomyelit, sakroileit, endokardit, perikardit, mikotik anevrizma, beyin absesi, epidural abse, primer peritonit, appendisit, üriner enfeksiyon, salpenjit, endometrit, selülit, nekrotizan fasiit yaptığı diğer hastalıklar arasında yer almaktadır (104, 126).

I. EPİDEMİYOLOJİ

Pnömonokoklar sağlıklı insanların nazofarenksleri başta olmak üzere üst solunum yolu mukozasında yerleşme eğilimindedir. Nazofaringeal pnömonokok kolonizasyonu yaşamın ilk günlerinde başlayıp, ilk üç yaşta doruk seviyeye ulaşmakta ve sıklığı yaşla birlikte giderek azalmaktadır. Ancak okul, askeri birlikler, cezaevleri, bakımevleri gibi toplu yaşam yerlerinde sıklığı toplumun diğer kesimlerine oranla daha yüksek seyretmeye devam etmektedir. Pnömonokok kolonizasyonun riski açısından cinsiyetin önemi saptanmamıştır. Ortalama olarak yetişkinlerin %5-10'u, çocukların %20-40'ı kolonize olmaktadır (95). İsrail'de yapılan ve 1300 yetişkin ile 404 çocuğun (0-6 yaş grubu) dahil edildiği bir çalışmada yetişkinler arasında pnömonokok taşıyıcılığı %4, çocuklar arasında ise %53 oranında bulunmuştur (114). Yapılan çalışmalarda yaşamın ilk ayında %3.1 oranında olan pnömonokok kolonizasyonunun, bir yaşında %19.4'e kadar ulaştığı bildirilmiştir (136). İsveç'te 1980'li yıllarda yapılan bir çalışmada, üç aylık bebeklerde kolonizasyon oranı sadece %12 iken, bu oranın yedinci ayda %30'a, 12-18'nci aylarda %32'ye çıktığı saptanmıştır (3). Benzer şekilde Finlandiya'da 2-24 aylık çocuklar üzerinde yapılan çalışmada, altı ayın altındaki çocuklarda pnömonokok kolonizasyon sıklığının %13, 19 aydan büyük çocuklarda ise %43 olduğu saptanmış ve bu oranların üst solunum yollarını etkileyen enfeksiyonlar sırasında daha da arttığı gözlenmiştir

(120). Daha büyük çocuklar ile ilgili yapılan çalışmalarda, yaşamın ilk üç yılında kolonizasyonun %55'lere ulaştığı ve 10 yaşından sonra bu oranın %8'e kadar gerilediği saptanmıştır (19).

Pnömonokok kolonizasyon oranları mevsimden mevsime değişkenlik gösterebilmektedir. Özellikle Ocak-Mart aylarında viral kaynaklı solunum yolu infeksiyonlarındaki artış nedeni ile kolonizasyon oranları da rölatif olarak artış göstermektedir (39). Çocuk yaş grubundaki kolonizasyon sıklığının coğrafik bölgelere göre dağılımına bakıldığında bu oranlar %8 ile %56 arasında değişmektedir (Tablo-I).

Tablo-I: *Streptococcus pneumoniae* kolonizasyonu ile ilgili yapılmış olan bazı çalışmalar.

Yıl	Ülke	Çocuk sayısı	Yaş (yıl)	Kolonizasyon (%)	Kaynak
1994-95	Finlandiya	329	2-24 ay	45-56*	120
1995	ABD	306	6 ay	23	42
1997	Endonezya	484	0-25 ay	48	118
1997	Kanada	1322	0-6	44.3	71
1997-99	Yunanistan	2448	2-23 ay	34	121
1998-00	İtalya	55	6-84 ay	24	86
1998-99	Tayvan	478	1-14	19.9	83
1998-99	Asya	4963	0-5	11-43	79
1999-00	Honkong	1978	2-6	39.0	28
2000	Türkiye	1382	0-10	8	10
2000	İtalya	2799	0-7	9	87
2002	Hollanda	3200	1-19	8-50	19
2003	İsrail	404	0-6	53	114

*Otitis medialis olgular

Nazofarenkste tek bir serotiple kolonizasyon gelişebileceği gibi, aynı anda birden fazla serotiple de kolonizasyon gerçekleşebilmektedir. Yapılan çalışmalarda aynı anda dört farklı serotipin nazofarenkste yerleştiği gösterilmiştir (95, 130). Çocuklarda nazofarenkste en sık yerleşen serotipler 6A, 6B, 19F, 14, ve 23F, 15 ve 33 iken, yetişkinlerde ise 23F, 22, 3, 10, 6B ve 19F serotiplerinin baskın olduğu bildirilmektedir (71, 110, 141).

Ülkemizde sağlıklı çocuklar üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda nazofarenks pnömonokok kolonizasyonu %8.5-36.7 arasında bildirilmiştir (34, 35, 123). Dansuk ve arkadaşları, kreşe devam eden 285 çocuğun 62 (%21.7)'sinde pnömonokok kolonizasyonu saptamışlardır (35). Çiftçi ve arkadaşları, 2001 yılında 2 ay-12 yaş aralığındaki sağlıklı

çocuklar üzerinde yaptıkları çalışmada pnömokok kolonizasyonunu %36.7 olarak bulmuşlardır (34).

Pnömokoksik infeksiyon sıklığı dünyanın değişik bölgelerinde farklılık göstermekle birlikte insidansı yaklaşık olarak 15/100.000 kişidir. Çevresel ve genetik bazı faktörler nedeni ile Kızılderili ve Aborjinler gibi belli bazı topluluklarda *S. pneumoniae* kaynaklı infeksiyonlar daha sık görülmektedir. İnvaziv pnömokokkal infeksiyonların sıklığı yenidoğan ile iki yaş arası dönemde rölatif olarak sık olup, ergenlik döneminde azalmakta ve 65 yaş üzerinde tekrar artış göstermektedir (95). ABD’ de her yıl *S. pneumoniae* kaynaklı 500.000 pnömoni, 55.000 primer bakteremi, 6.000 menenjit ve 7.000.000 akut otitis media olgusu bildirilmektedir (104). Domingo ve arkadaşları iki yaş altı çocuklarda invaziv pnömokoksik infeksiyon insidansını %16.8 ve pnömokoksik menenjit sıklığını da %3.8 olarak saptamışlardır. 15 yaş altı çocuklarda invaziv pnömokoksik infeksiyon insidansını ise yılda 100.000’de 4.6 olarak bildirmişlerdir (39).

Pnömokoksik infeksiyon insidansı antibiyotiklerin keşfinden önceki dönemle karşılaştırıldığında genellikle azalmış olmasına rağmen yaş dağılımında değişiklik olmamıştır. *S. pneumoniae* toplum kaynaklı pnömoni olgularının yaklaşık %30-50’sinden ve hastane kaynaklı pnömoni olgularının da %8’inden sorumludur. Aynı zamanda etkeni tespit edilemeyen pnömoni olgularının büyük bir kısmının pnömokok kaynaklı olduğu düşünülmektedir (104).

Etkili antibiyotik tedavisine rağmen yaşlı ve ciddi pnömonili olgularda mortalite oranı geçtiğimiz dekatta pek değişiklik göstermemiştir. Bu risk grubunda mortalite oranı %10-30 arasında değişmektedir. Son zamanlarda prevalansının artması ile HIV infeksiyonu pnömokokkal pnömoni ve bakteremi için önemli bir risk faktörü haline gelmiştir. Genel olarak pnömokok kaynaklı pnömonilerde mortalite oranı dünya genelinde değişiklik göstermekle beraber %6-25 arasında değişmektedir. Ölüm oranı özellikle iki yaş altı çocuklarda sıktır (41).

Mortalitesi yüksek seyreden bir diğer pnömokok kaynaklı enfeksiyon da menenjitir. Meningokoksik menenjitler hariç tutulacak olursa özellikle beş yaş üstü çocuklar ile yetişkinler arasında görülen bakteriyel menenjitlerin en sık sebebidir. İspanya’da 1995-2000 yılları arasında beyin omurilik sıvısından etken tespit edilen 64 menenjit olgusunun %39’unun pnömokok kaynaklı olduğu bildirilmektedir (68). Türkiye’de yapılan bir çalışmada iki ay-2 yaş arası çocuk menenjitlerinin %25’ini ve iki yaş üstü çocuk menenjitlerinin de %12’sini

pnömokokların oluşturduğu, mortalitenin ise %50 dolayında seyrettiği bildirilmiştir (102). Yapılan çalışmalarda 6B, 19F, 23F, 6A, ve 14 serotiplerinin çocuk yaş grubu menenjitlerinin, 23F, 22, 3, 10, 6B ve 19F serotiplerinin de yetişkin yaş grubu menenjitlerinin büyük kısmından sorumlu olduğu belirlenmiştir (132).

Sülfonamidlerin pnömokok infeksiyonlarının tedavisinde kullanılmasının ardından ilk sülfonamid dirençli pnömokok suşu 1943'de bildirilmiştir. Penisilin keşfi ve infeksiyonların tedavisinde kullanılmasından sonra uzun yıllar boyunca pnömokok infeksiyonlarının tedavisinde etkili ve tek seçenek antibiyotik olmuştur. Laboratuvar kaynaklı ilk penisilin dirençli pnömokok suşu Avustralya'dan bildirilmiş ve bunu 1969 yılında Yeni Gine'de penisilin dirençli klinik izolat takip etmiştir. Aynı yıllarda Güney Afrika, İsrail, Polonya ve İspanya'dan da penisilin dirençli pnömokoklar ile ilgili bildirimler yapılmaya başlanmıştır (127). 1974 yılına gelindiğinde Avustralya ve Yeni Gine'de penisilin dirençli pnömokok prevalansı %12'lere ulaşmıştır. 1977 yılında Güney Afrika'dan penisilin yanında, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisine de direnç gösteren çoğul dirençli pnömokok suşu bildirilmiştir. Bu tarihten itibaren penisilin dirençli pnömokoklar bütün dünyaya yayılmaya başlamış ve giderek önemli bir klinik sorun haline gelmiştir (143).

1993 yılına kadar pek yaygın olmayan penisilin direnci her kıtadaki ülkelerin çok az bir kısmında %10'lar düzeyindeydi. ABD'nin güney eyaletlerinde, Güney Amerika'da Brezilya ve Arjantin'de, Avrupa'da İspanya, Fransa, Romanya, Polonya ve Türkiye'de, Afrika'da Güney Afrika ve Kenya Cumhuriyeti'nde, Asya'da Suudi Arabistan, Uzak Doğu'da Japonya ve Yeni Gine'de %10'ların üzerinde direnç oranları bildirilmiştir (93,72). 1993 yılından sonra penisilin direnci diğer bir çok ülkeden de bildirilmeye başlanmış ve penisilin direncinin %10 olduğu ülkelere Slovenya, Bulgaristan, Avustralya, Hong Kong gibi ülkeler de katılmıştır. Bunun yanında Kanada, Almanya, İngiltere ve Belçika gibi ülkelerde %5-10 oranında değişen bildirimler yapılmıştır (101). ABD'de 1961-1964 yılları arasında penisilin dirençli pnömokok bildirimi olmadığı halde, 1976-1977 yılları arasında izole edilen klinik kaynaklı tüm suşların sadece 46 (%4)'sında orta düzey penisilin direnci bildirilmiştir (20, 32). Klinik izolatlardaki PDP insidansı 1989'dan önce %5'lerde iken, bu oranlar 1991 yılında %6.6'ya 1994 yılında %18'e ve 1997 yılında da %33'e ulaşmıştır (142). ABD'de 1994-1995 yılları arasında %23.6 (%9.5 yüksek, %14.1 orta düzey direnç) olan direnç oranı, 1999-2000 yıllarında %34.2 (%12.7 orta düzey, %21.5 yüksek düzey)'ye çıkmıştır. Ayrıca çoğul direncin de %9.1'den

%16.0'a ulaştığı bildirilmiştir (37, 38). Bu oran 2001 yılında %38.9 ((%12.5 orta düzey, %26.4 yüksek düzey)'a ulaşmıştır (36).

Benzer şekilde İspanya'da penisilin direnci 1989 yılına kadar keskin bir artışın ardından günümüzde yaklaşık olarak %42'ye kadar çıkmıştır (48). 1980'lerde İspanya gibi birçok ülkede geçtiğimiz dekatta düşük düzeydeki penisilin direnci çarpıcı bir şekilde artmıştır. Fransa'da 1987 yılında %3.2 olan penisilin direnci 1999 yılında %43'e ulaşmıştır (50, 116). Buna karşın, Avrupa'daki diğer ülkelerde penisilin dirençli pnömokok insidansı diğer bölgelere göre göreceli olarak düşük düzeyde kalmıştır. Bu oranlar Danimarka'da %0.1, Almanya'da %1.8, Belçika'da %2-4, İsveç'te %1.7, Finlandiya'da %1.7 ve İtalya'da %5.5 düzeyinde kalmıştır (116).

Direnç oranlarındaki artışla birlikte dikkat çeken bir diğer nokta da, 1993 yılına kadar orta düzey dirençli pnömokok suşları daha sık izole edilmekte iken, 1996 yılına gelindiğinde yüksek düzey dirençli suşlara rastlanma sıklığında gözlenen artıştır (21). 1987-1988 yılında Jorgensen ve arkadaşları solunum yolu kaynaklı 487 izolat arasında sadece %0.7'sinde yüksek düzey penisilin direnci saptamışlardır (67). Bundan sadece birkaç yıl sonra 19 mekezin katıldığı geniş bir çalışmada %15 orta düzey ve %7 yüksek düzey direnç bildirilmiştir (11). 1996-1997 yılına gelindiğinde bildirilen yüksek düzey direnç oranları %17'lere kadar çıkmıştır (11).

Kanada'da penisilin direnci ABD'deki kadar hızlı bir artış göstermemiştir. 1994-1995 yılları arasında Kanada genelini kapsayan ve 39 merkezin katıldığı geniş bir çalışmada %8 orta düzey, %3 yüksek düzey penisilin direnci saptanmıştır (117).

Yapılan son çalışmalarda belirgin artışın ardından Uzak Doğu'da penisilin direncinin %68'lere ulaştığı bildirilmektedir. Felmingham ve arkadaşlarının 1999-2000 yılları arasında yaptıkları çok merkezli bir çalışmada, yüksek ve orta düzey direnç oranlarının sırası ile Hong Kong'da %1.4 ve %57.1, Japonya'da %19.8 ve %44.5, Güney Kore'de %9.5 ve %71.5 olduğu bildirilmiştir. (46).

Özellikle çocuklardan izole edilen serotipler 6, 14, 19 ve 23F olup, bu serotiplerin penisiline direnç oranları daha yüksektir. Serotip 23F klonuna (Spanish/USA 23F) ait izolatlar penisiline olduğu kadar tetrasiklin, kloramfenikol, makrolid ve trimetoprim-sulfametoksazole de direnç göstermektedir. Serotip 23F klonu beş kıtadaki ülkelerde izole edilen penisilin dirençli pnömokok suşlarının büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır (143). Pnömokoklarda penisilin direnci özellikle 6, 9, 14, 19 ve 23 serogruplarında daha sık görülmektedir. Bunun

yanında 4, 5, 11, 18 ve 25 serogruplarında da daha düşük oranda olmak üzere penisilin direncine rastlanmaktadır (101).

Çalışmalar penisilin dirençli suşların büyük kısmının (23F, 6B, 14) Avrupa, Amerika, Güney Afrika ve Asya kaynaklı olduğunu göstermiştir. Bu suşların İspanya ve Fransa'dan bütün dünyaya yayılmış olduğuna inanılmaktadır. Kore, Tayvan, Doğu Avrupa, İspanya gibi bazı ülkelerde dirençteki artışta antibiyotiklerin kontrolsüz kullanımının etkili olduğu bildirilmektedir (29, 31, 33, 47, 61, 91). Tablo-II'de dirençli pnömokok insidansının yıllar içerisindeki değişimi görülmektedir.

Tablo-II: Penisiline dirençli pnömokok insidansının yıllar içerisinde değişimi

Ülke	1990 öncesi	Kaynak	1990-1995	Kaynak	1995-2000	kaynak
ABD	4.2	37	23.6	37	34.2	12
Kanada	2.0	22	11.0	26	21	66
Japonya	1.0	5	28	5	47.6	116
Güney Kore	1.7	5	25	5	79.0	30
Hong Kong	-	-	28.9	5	60.0	116
Güney Afrika	9.9	75	34.4	81	51.7	116
İspanya	19.0	48	35.0	48	53.3	46
Fransa	0.5	14	22	14	62.0	46
Belçika	2.8	134	7.6	134	17.9	46
Yunanistan	-	-	21.9	45	33.6	116
Macaristan	20.0	73	45.0	73	64.9	46

Diğer beta-laktam antibiyotiklere olan direnç, penisilin direncine paralel olarak artmaktadır. Penisiline orta düzey dirençli suşların 1/3'ü, yüksek düzey dirençli suşların neredeyse tamamı sefuroksime de dirençlidir (103, 112). Sefotaksim ve seftrikason direnci sık değildir ancak bazı bölgelerde yüksek olduğu bildirilmiştir (8). ABD'de 1996 yılında %4 olan sefotaksim ve seftriakson direnci 1998 yılında %6.5'e çıkmıştır (29).

Eritromisine direnç hemen hemen penisiline olan dirençle paralel bir artış göstermiştir. Makrolidler arasında genel bir çapraz direnç vardır. Direnç oranındaki artışın, makrolidlerin

son zamanlarda solunum yolu ve peptik ülser tedavisinde yaygın kullanımı ile penisilin ve makrolidlere direnç kazanan klonların yayılması sonucu olduğu bildirilmektedir (135).

İspanya’ da 1988 yılında yapılan bir çalışmada %7.6 olan eritromisin direncinin 1992 yılında iki katına çıktığı bulunmuştur (48). Aynı yıllarda İtalya’da eritromisin direncinin %7.1 ve %32.8 olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen izolatların büyük kısmının klindamisine de dirençli olduğu rapor edilmiştir (13).

Pnömonokoklar arasında makrolid direnci açısından dünya genelinde hızlı bir artış meydana gelmekte olup, direnç oranları bölgeden bölgeye oldukça farklılık göstermektedir. Güney Afrika ve İsrail’de yüksek penisilin direnç oranlarına rağmen makrolid direnci halen <%3 düzeyindedir (90, 116). Amerika Birleşik Devletlerinde 1979-1986 yılları arasındaki dönemde makrolid direncinin yalnızca %0.3 olduğu; buna rağmen 1997-1998 yıllarında %14 eritromisin, %22-23 eritromisinle birlikte azitromisin ve klaritromisin direnci bildirilmiştir (29). Yine ABD’de yapılan bir çalışmada 1994 yılında %15 olan eritromisin direnç oranının 2000 yılında %56’ya ulaştığı bildirilmiştir (90).

Yakın bir geçmişte yapılan ve Asya ülkelerini kapsayan bir çalışmada eritromisin direnci ortalama %61.1 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada eritromisin direncinin Vietnam’da %91.6, Tayvan’da %87, Kore’de %86, Hong Kong’da %76, Çin’de %75, Singapor’da %58.8, Malezya’da %48.7, Tayland’da %31.8 olduğu görülmektedir. En düşük direnç ise %12.9 ile Sri Lanka ve %1.5 ile Hindistan’dan bildirilmiştir. Bildirilmiş olan eritromisin dirençli suşların %60-70’ninin MLS_B fenotipine sahip oldukları görülmektedir (79).

Avrupa’da ise en yüksek eritromisin direnci Fransa (%58.1), İspanya (%57.1), İtalya (%31.4) ve Belçika (%26.3)’dan bildirilmektedir (45). Trimetoprim/sulfametoksazol (TMP-SMZ) direnci de penisilin direnci ile ilgili olarak tüm dünyada artış göstermektedir. A.B.D.’de son zamanlarda yapılan çalışmalarda TMP-SMZ direncinin %18-60 arasında olduğu bildirilmiştir. Bu yüksek düzeydeki direnç nedeni ile pnömokok kaynaklı infeksiyonların tedavisinde TMP-SMZ empirik tedavide önerilmemektedir (29). Tetrasiklin direnci dünya genelinde %3-82 arasında değişmektedir. ABD’de 1994 öncesi dönemde %6 olan tetrasiklin direncinin 1998 yılında %16.1’e çıktığı bildirilmiştir. Yüksek düzey penisilin dirençli suşlar arasında tetrasiklin direnci ise %42-55 arasında değişmektedir (29). Kloramfenikol direnci Kuzey Amerika ve çoğu Avrupa ülkesinde <%5 iken, diğer bazı ülkelerde (Kuzey Afrika, İspanya, Macaristan, Kore, Pakistan) >%25 düzeyindedir (80, 82, 134). Kloramfenikol, beta-laktam antibiyotiklerle birlik kullanıldığında antagonistik etki gösterebilir. Tedaviye

eklendiğinde pnömokok kaynaklı menenjitlerde tedavi başarısızlığına yol açtığı bildirilmiştir (75).

Karbapenemler pnömokoklara karşı sefalosporinlerden daha etkilidirler. Bununla birlikte bazı ülkelerde karbapenemlere karşı direncin giderek arttığı gösterilmiştir. Pikis ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada penisiline dirençli pnömokoklar arasında imipeneme karşı %47 ve meropeneme karşı %49 oranında direnç saptanmıştır (109).

Birinci kuşak fluorokinolonların pnömokoklara etkinlikleri düşük olmasına karşın, yeni fluorokinolonların etkinliği oldukça yüksektir (59). Kinolonlar arasında en yüksek direnç siprofloksasine karşıdır. Bununla birlikte levofloksasin, sparfloksasin, grepafloksasin, gatifloksasin, moksifloksasin ve gemifloksasine karşı duyarlılıkta azalma görülmektedir (128). Siprofloksasin ile ilgili yapılan çalışmalarda kinolon direnci ABD’de %66 Kuzey İrlanda’da %15.2, Hong Kong’da %12.1 ve İspanya’da %5.3 oranlarında bildirilmektedir. (60, 112). Kanada’da yapılan bir çalışmada *S. pneumoniae*’nın siprofloksasine direnci 1993 yılında %0 iken 1997 yılında kinolon kullanımının artmasına paralel bir şekilde artış göstermiş ve %1.7’ye ulaşmıştır. Bu çalışmada siprofloksasin direnci ile ilişkili risk faktörleri; solunum yolu kaynaklı, 65 yaş üstü hasta ve yaşanan bölge (Ontario) olarak saptanmıştır (26).

Levofloksasin ve diğer yeni kinolonlar hem yüksek düzey hem de çoğul dirençli pnömokok enfeksiyonlarının tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (60). 1999-2000 yılları arasında yapılan ve dünya genelinde 69 merkezin katıldığı bir çalışmada genel olarak levofloksasin direnci %1 altında saptanmıştır. En yüksek direnç oranları Hong Kong (%14.3), Güney Kore (%2.9), Amerika (%1.8), Meksika (%1.5), Kanada (%1.4) ve Japonya (%1.3)’da bulunmuştur. Aynı çalışmada Avrupa ülkelerinde en yüksek levofloksasin direnci İsviçre (%0.9) ve Almanya (%0.3)’da gözlemlendiği, Türkiye’de levofloksasin direnci ile karşılaşmadığı bildirilmiştir (25).

Dirençli pnömokok enfeksiyonlarının tedavisinde etkili diğer antibiyotikler ise glikopetidler ve quinopristin-dalfopristin’dir. Pömokokların tamamı quinopristin-dalfopristine duyarlıdır ve ayrıca hem penisiline hem de diğer antimikrobik ilaçlara karşı dirençli olan suşlara karşı vankomisin halen etkilidir (8). Ancak, pnömokok suşlarındaki vankomisin toleransı endişe vericidir. İlk olarak İsveç’ten klinik örneklerden izole edilen üç vankomisin toleran suşun aynı zamanda penisiline de dirençli olduğu bildirilmiştir. Teorik olarak yeni mutasyonlar sonucu toleran suşların günün birinde vankomisine tamamen dirençli hale

gelebileceği varsayılmaktadır. Vankomisin toleransının *vncS* genindeki mutasyon sonucu ortaya çıktığı gösterilmiştir (57, 97).

Ülkemizde pnömokoklarda penisilin direnci ile ilgili ilk veriler Erbaş ve arkadaşlarının 1989-1990 yıllarında yaptıkları çalışma ile elde edilmiştir (40). Bu çalışmada disk diffüzyon yöntemi ile penisilin direnci %12.3 olarak saptanmıştır. Daha sonra Tunçkanat ve arkadaşları MİK değerlerine göre elde ettikleri suşların %26.3'nün orta, %7.3'nün de penisiline yüksek düzeyde dirençli olduğunu bildirmişlerdir (129). Yapılan başka bir çalışmada sağlıklı çocuklardan elde edilen pnömokok suşlarında orta düzey penisilin direnci %27.4 olarak bildirilmiş ve yüksek düzey dirence rastlanmamıştır (35). Gür ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada orta düzey penisilin direnci %30, yüksek düzey penisilin direnci %17 olarak saptanmıştır(53). Bu veri Türkiye'den o döneme kadar bildirilmiş olan en yüksek direnç oranlarını içermektedir. Daha önce hastanemizde yapılmış olan çalışmalarda %12-30.9 oranında penisilin direnci gözlenmiştir. Bu çalışmalarda 1993-1997 yılları arasında orta düzey penisilin direnci %12 iken yüksek düzey direnç ile karşılaşılmamıştır. 1997-2000 yılları arasında elde edilen suşların ise %3.9'u yüksek düzey ve %27'si orta düzey dirençli bulunmuştur (100). Ülkemizde yapılan değişik çalışmalarda %12.0-39.9 orta düzey ve %0-9.5 yüksek düzey penisilin direnç oranları bildirilmiştir. (Tablo-III).

Tablo-III: Ülkemizde *S. pneumoniae*'nin penisiline olan direncinin yıllara değişimi

Yıl	Araştırmacı	Kaynak	ODD (%)	YDD (%)	Kaynak
1989-90	Erbaş ve ark.	Klinik izolat	12.4*		40
1992	Tunçkanat ve ark.	Karışık	26.3	7.3	129
1993-97	Öncül	Karışık	12.0	0.0	101
1993-95	Yaman ve ark.	Klinik izolat	29.4	19.5	139
1995-97	Şener ve ark.	Sağlıklı çocuklar	39.9	3.5	124
1996-99	Gür ve ark.	Klinik örnek	29.0	3.0	52
1997	Çiftçi ve ark.	Sağlıklı çocuklar	32.7	2.7	34
1999	Dansuk ve ark.	Sağlıklı çocuklar	27.4	0.0	35
2000	Tünger ve ark.	Huzurevi yaşlıları	13.0	0.0	131
2002	Bakır ve ark.	Sağlıklı çocuklar	28.8**		9
2004	Şener ve ark.	Klinik izolat	34.7	7.0	125

*Disk diffüzyon yöntemi, **Toplam direnç

Bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de diğer grup antibiyotiklere karşı artan bir direnç söz konusudur. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda bildirilen makrolid direnci %6.7-43.6

arasındadır. Berkiten ve arkadaşları 1987-1996 yılları arasında solunum yolu infeksiyonlarından izole ettikleri pnömokokların %6.7'sinin eritromisine dirençli olduğunu bildirmişlerdir (15). Şener ve arkadaşları 1998 yılında Ankara'da eritromisin direncini %11.2 bulmuşlardır (124). Adana'da yapılan bir çalışmada 1993-1995 yılları arasında çeşitli klinik örneklerde izole edilen suşların %26.8'sinde yüksek düzey, %16.8'de ise orta düzey eritromisin direnci bildirilmiştir (139). Gür ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada eritromisin, TMP-SMZ, Kloramfenikol ve sefotaksim direnci sırası ile %11, %27, %6, %7 bulunmuştur. Bu oranlar Öncül'ün çalışmasında sırası ile %12.5, %7.4, %6 ve %0 olarak rapor edilmiştir (53, 100).

Üç ve daha fazla ilaca direnç varlığında çoğul dirençten bahsedilir. Çoklu ilaca dirençli 19F gibi dolaşan bazı dirençli serotipler genlerinin horizontal transferi sonucu ortaya çıkan Spanish 23F serotipinin varyantlarıdır (78, 89). Diğer klonlar penisilin bağlayıcı protein (PBP) genlerindeki değişikliğin horizontal yayılımı sonucu ortaya çıkarlar (penisilin dirençli serotip 9V'de olduğu gibi). Dünya genelindeki altı serotip (6A, 6B, 9, 14, 19F, 23F) dirençli izolatların %80'den fazlasını oluşturmaktadır. Bu serotipler günümüzde kullanılan pnömokokkal polisakkarid aşılarda içeriğinde bulunmaktadır. Serotip 1, 3, 4, 5, 7, 11, 15 ve 18 ise daha az oranda antibiyotik direnç genleri taşımaktadır (143).

J. ANTİBİYOTİK DİRENÇ MEKANİZMALARI

Pnömokok infeksiyonlarının tedavisinde iki dekat öncesine kadar penisilin empirik olarak kullanılan ilk seçenek antibiyotik olmuştur. Ancak son yıllarda penisiline dirençli suşlar tüm dünyada yaygın olarak bildirilmiş ve özellikle ciddi infeksiyonlar başta olmak üzere penisilinin empirik tedavide kullanımı kısıtlı kalmıştır (72).

Penisiline dirençli pnömokokların neden olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde geniş spektrumlu antibiyotikler başarılı bir şekilde kullanılmış olmasına rağmen son yıllarda artan penisilin direncine paralel olarak bu antibiyotiklere de direnç gelişmiştir. Beta-laktam grubu dışında pnömokoklarda çeşitli antibiyotiklere (eritromisin, tetrasiklin, klindamisin, kloramfenikol) de direnç ortaya çıkmıştır. Hatta kullanıma henüz girmiş olmalarına karşın levofloksasin gibi yeni kuşak kinolanlara da direnç bildirilmektedir (25).

Üç veya daha fazla antibiyotik grubuna direnç varlığında, pnömokoklarda çoğul dirençten bahsedilmektedir. İlk çoğul dirençli pnömokok suşu, Güney Afrika'dan bildirilmiştir (127). Bu suş penisilin yanında tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, TMP-SMZ

ve kloramfenikole de dirençli idi. Son yıllarda çoğul dirençli pnömokok suşlarında da artış gözlenmiştir. Beta-laktam dışı antimikrobiyal direnç daha çok penisilin direnci ile birlikte olma eğilimindedir (72).

Beta-Laktam Direnç Mekanizması: Genel olarak penisilin direnci, sıklıkla antibiyotiğin bir beta-laktamaz tarafından hidrolizine bağlıdır. Beta-laktamaz oluşturmeyen bakteri türlerinde ise penisiline direnç gelişimi, ya dış membranın geçirgenliğinin azalmasıyla ya da antibiyotiğe afinitesi azalmış olan yüksek molekül ağırlıklı penisilin bağlayan proteinlerin (PBP) gelişmesiyle ortaya çıkar (119). Pnömokoklar beta-laktamaz üretmezler ve bunlarda beta-laktam direnci sadece PBP'lerdeki değişiklik sonucu ortaya çıkar.

PBP'ler bakteriyel hücre duvarının oluşturulmasında müreîn biyosentezinin terminal evresini katalize etmekten sorumlu enzimlerdir. PBP-penisilin kompleksi oluşumu hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (27). Pnömokoklardaki penisilin ve beta-laktam direncinden tek bir PBP'deki değişiklik sorumlu değildir. Yüksek molekül ağırlıklı PBP (1A, 1B, 2B, 2X, 3)'lerden herhangi birinde meydana gelen yapısal değişiklik bu dirence neden olabilmektedir ve sıklıkla tek bir PBP'deki yapısal değişikliktir. Yüksek molekül ağırlıklı PBP (1A, 1B, 2B, 2X, 3)'lerden herhangi birinde meydana gelen yapısal değişiklik bu dirence neden olabilmektedir ve sıklıkla tek bir PBP'deki yapısal değişikliktir. Bu değişiklikler, kromozomal kaynaklı mutasyonlar sonucu meydana gelir (72). Pnömokoklar bu basamak tarzındaki direnç nedeni ile PBP'lerdeki değişimlere paralel olarak MİK değerleri de yükselmektedir. Yapılan çalışmalar, PBP1a ve PBP2x genlerini alan mutantların penisiline karşı düşük düzeyde direnç kazandıklarını ($MİK \leq 0.1 \mu g/ml$) göstermiştir. Ancak, bunlarla birlikte PBP2b genini de içine almış olan mutantlarda penisilin MİK değerleri ($MİK 0.25-8 \text{ mcg/mL}$) daha yüksektir (27). Her beta-laktam antibiyotiğin bağlanma afinitesinin olduğu PBP'ler farklı gösterdiğinden birine karşı dirençli saptanan suş diğerine karşı duyarlı olabilir (72).

Makrolid Direnç Mekanizması: Pnömokoklarda makrolid, direnci ya ilacın hedef bölgesinde değişiklik ya da aktif efflüks pompa aracılığı ile ilacın dışarı atılması sonucu ortaya çıkar. Eğer makrolid direnci efflüks pompa sistemi aracılığı ile ortaya çıkıyorsa suş, eritromisin, klaritromisin ve azitromisine dirençli ancak klindamisine ve diğer 16 üyeli makrolidlere (josamisin ve roksitromisin) duyarlıdır (M fenotipi). Bu tür direnç *mefE* geni tarafından kodlanır. Direnç 50S ribozomal subunitinin (23S rRNA) metilasyonu ile ortaya çıkıyorsa ki bu makrolidlerin bağlandığı hedef bölgenin değişikliğine neden olur, MLS_B (makrolid-linkozamid-streptogramin B) fenotipinden bahsedilir. Bu durumda suş tüm makrolidlere yüksek düzeyde dirençli olmakla beraber klindamisine de dirençlidir. Bu tip

direnç ise *ermA* geni tarafından kodlanmaktadır. Bölgesel farklılıklar olmasına karşın, pnömokoklardaki direnç daha çok efflüks pompa kaynaklıdır. ABD’de makrolid direncinin büyük kısmı (%75) M fenotipinde iken, bunun tersine Avrupada MLS_B fenotipi (%90) hakimdir (90).

Ketolidler yapı olarak 14 üyeli makrolid grubundan türetilmişlerdir. Makrolidlere benzer şekilde bir makrolakton halkası içerir. Bu halkanın 3. pozisynunda *L-cladinose* şekeri yerine keto grubunun eklenmesi ile ketolidler elde edilmiştir. Telitromisinde ayrıca, 6. pozisyonda metoksi grubu, 11. ve 12. pozisyonda bir karbamat yan zinciri vardır. Keto grubu MLS_B direncinin indüklenmesini önlemektedir Etki mekanizması eritomisine benzer, ancak MLS_B direncine yol açan ribozomlara, eritromisinden 20 kat daha fazla bağlanmaktadır (77).

Eritomisin direnci ile ilgili temel risk faktörü daha önceki makrolid grubu antibiyotik kullanımıdır. Halbuki penisilin direnci beta-laktam veya diğer grup antibiyotiklerin kullanımı sonucu ortaya çıkabilmektedir. Makrolid direnci ile ilgili diğer risk faktörlerini 5 yaş altı çocuklar, hastaneden kazanılan suş olma ve penisilin direnci oluşturmaktadır (90).

Kinolon Direnç Mekanizması: Genellikle kinolonlar, DNA’nın süpersarmal hale gelmesinde rol oynayan bakteriyel DNA-giraz ve topoisomerez-IV’ü inhibe ederek bakterilerin ölümüne neden olmaktadır. Pnömokoklarda kinolon direnci, ya hedef bölgede değişiklik ya da efflüks sistemi aracılığı ile meydana gelir. Hedef bölgenin değişikliği, topoisomerez-IV ve DNA-giraz enzimlerini kodlayan genlerdeki iki aşamalı kromozomal değişiklik sonucu ortaya çıkar. Bunların birincisi, topoisomerez-IV’te meydana gelen *parC* mutasyonu (orta düzey dirençten sorumlu), ikinci basamak ise DNA girazda meydana gelen *gyrA* (yüksek düzey dirençten sorumlu) mutasyonudur (108).

Gatifloksasin, gemifloksasin ve moksifloksasin gibi yeni kinolonların etkileri oldukça güçlendirilmiştir. Böylece mikroorganizmada gelişen *parC* mutasyonun da bile etkinlikleri devam etmektedir (60).

Bunun dışında pnömokoklarda direnç oranlarının yüksek ve yaygın olduğu diğer antibiyotikler de TMP-SMZ, tetrasiklin ve kloramfenikoldür. Bu antibiyotiklere karşı gelişen direnç mekanizmaları Tablo-IV’de gösterilmiştir.

Tablo-IV: *Streptococcus pneumoniae*’ da antibiyotik direnç mekanizmaları (72).

Antibiyotik Sınıfı	Direnç Mekanizması
Penisilin	Hedef bölgenin değişikliği: PBP’ lerde değişiklik
Makrolidler	Efflux pompa (M fenotip, düşük düzey dirençten sorumlu) Hedef bölgenin değişikliği: rRNA’ nın metilasyonu (MLS _B fenotipi, yüksek düzey dirençten sorumlu)
Kinolonlar	Hedef bölgenin değişikliği: DNA giraz veya topoizomeras-IV’te değişiklik
Trimetoprim-sulfametoksazol	Metabolik by-pass (Dihidrofolat redüktaz enziminde değişiklik)
Kloramfenikol	Enzimatik yıkım: asetiltransferaz
Rifampin	Hedef bölgenin değişikliği: RNA polimerazın beta subunitinde değişiklik
Tetrasiklin	Hedef bölge değişikliği (<i>tetM</i> geni)

K. PNÖMOKOK İNFEKSİYONLARININ TEDAVİSİ

Pnömonokların neden olduğu infeksiyonlarda penisilinin keşfinden önceki dönemlerde mortalite oranı pnömonide %20, bakteriyemide %50, menenjitlerde %80-100 iken penisilinin kullanıma girmesi ile bu oranlar sırası ile %5, %20 ve %30’a gerilemiştir (21). Ancak son yıllarda ortaya çıkan penisilin direncindeki artış ve yaygınlık, hatta Doğu Avrupa kökenli bazı pnömokok suşlarının MİK değerlerinin 16 mcg/mL düzeylerinde olması, pnömokok kaynaklı infeksiyonların tedavisinde penisilin dışında yeni seçenekleri gündeme getirmiştir (23). Penisiline duyarlı pnömokokların ampisilin, sefuroksim, seftriakson, sefotaksim, sefepim, imipenem, meropenem de duyarlı oldukları kabul edilir. Ancak, dirençli suşlar arasında bu antibiyotiklere de sıklıkla direnç gözleendiğinden, tedavide kullanılacakları zaman MİK düzeyleri mutlaka belirlenmelidir (23).

Pnömonokok kaynaklı infeksiyonların empirik tedavisinde hastanın yaşı, altta yatan hastalığı, infeksiyonun yeri ve bulunulan bölgedeki direnç sıklığı gözönünde bulundurulmalıdır (23).

Menenjit: Duyarlı (MİK<0.1µg/ml) suşların etken olduğu tüm menenjitlerde seçilecek ilk antibiyotik penisilindir (58). Orta derecede dirençli (MİK: 0.12-1.0 µg/ml) suşların etken olduğu menenjitlerin tedavisinde penisilin kullanıldığında olguların çoğunda başlangıçta bir yanıt alınmasına karşın, sonradan tedavide başarısızlıklar görülebilir. Bu olay, tedavi sırasında inflamasyonun azalması sonucu beyin omurilik sıvısında penisilin konsantrasyonunun düşmesi ile açıklanmaktadır. Bir çalışmada BOS penisilin konsantrasyonunun tedavinin birinci gününde 0.8 mcg/mL'den, tedavinin beşinci gününde 0.7 mcg/mL'ye ve 10. gününde de 0.3 mcg/mL'ye düştüğü gösterilmiştir (64). Orta dereceli direnç gösteren suşların neden olduğu menenjitlerde duyarlı oldukları taktirde seçilecek antibiyotikler sefotaksim ve seftriakson'dur. Ancak penisiline yüksek seviyede direnç gösteren suşlar, genellikle bu antibiyotiklere de dirençli olabileceğinden bu ilaçlar rifampisin ile birlikte kullanılması önerilmektedir (60). Diğer bir tedavi seçeneği de vankomisinidir. Ancak son yıllarda ortaya çıkan vankomisin toleran suşlar bu antibiyotiğin tek başına kullanılması yerine seftriakson veya sefotaksim ile birlikte kullanılması önerilmektedir. Vankomisin renal fonksiyonları normal olan kişilerde yüksek dozlarda başlanır. Başlangıç dozu çocuklarda 60-80 mg/kg, yetişkinlerde 2500-3000 mg/gün olup, dört dozda verilmelidir (55). Dirençli pnömokok menenjit tedavisinde diğer bir seçenek de karbapenemlerdir. Bunlardan PDP üzerindeki invitro etkisi imipenemden 12 kat daha yüksek olan meropenem önerilmektedir. Meropenemin BOS konsantrasyonu 40 mg/kg dozunda uygulandıktan sonra tedavi süresi boyunca 0.3-6.5 mcg/mL arasında kalır (69).

Kloramfenikolün kullanımı, penisiline duyarlı ve dirençli suşlarla meydana gelen menenjitlerin tedavisinde çoğu kez başarısızlığa neden olmaktadır (55). Bu nedenle pnömokok kaynaklı menenjitlerin tedavisinde kullanılması önerilmemektedir. Makrolidlerin BOS penetrasyonu iyi değildir ve bu nedenle menenjitli hastaların tedavisinde yeri yoktur. Pnömonokoksik menenjitli olgularda steroid kullanımı halen netlik kazanmamıştır. Steroidlerin inflamasyonu azaltıcı etkileri nedeni ile antibiyotik penetrasyonunu sınırladıkları düşünülmektedir (55).

Pnömoni: Duyarlı ve orta düzey dirençli pnömokokların neden olduğu pnömonilerin tedavisinde penisilin yeterli etkinlik sağlamaktadır. Hatta yüksek doz (12-24 milyon ünite)

kullanıldığında $MİK \leq 2$ mcg/mL olan suşlara etkili düzeyde doku konsantrasyonuna ulaşmaktadır. Bundan dolayı 2000 yılında “*Drug Resistant Streptococcus pneumoniae Working Group*” pnömonili olgulardan izole edilen pnömokok suşlarının MİK düzeylerinin değiştirilmesini önermiştir. MİK değerleri 1 mcg/mL’nin altında olan suşların duyarlı, 2 mcg/mL olanların orta düzey dirençli, 4 mcg/mL olanların da yüksek düzey dirençli olarak yeniden sınıflandırmasını önermiştir. Buna göre penisilin duyarlı suşların neden olduğu pnömonilerin tedavisinde penisilin ile yeterli cevap alınmaktadır. Orta düzeyli suşlarla meydana gelen pnömoni olguları da yüksek doz penisilin ile tedavi edilebilmektedir (73). Ancak, yüksek düzeyde direnç gösteren kökenlerin neden olduğu pnömonilerin tedavisi için yüksek doz penisilin etkili değildir. Bu kökenler sefotaksim ve seftriaksona da genellikle dirençli oldukları için bu antibiyotikler de etkili olmayabilir (64).

Penisilin dirençli pnömokok suşları ile gelişen pnömonilerde duyarlı oldukları takdirde makrolidler de kullanılabilir. Son yıllarda kullanıma girmiş olan ketolid grubu antibiyotiklerin hem penisilin hem de makrolid dirençli pnömokok kaynaklı pnömoni olgularında etkili olduğu bildirilmiştir (77). Penisiline yüksek düzeyde direnç gösteren suşların neden olduğu pnömonilerde seçilebilecek antibiyotikler karbapenem, glikopeptidler ve yeni kinolonlardır (49). Levofloksasin, hem penisiline hem de geniş spektrumlu sefalosporinlere dirençli olan pnömokoklara karşı oldukça etkilidir. Bu ilaca, FDA tarafından toplum kaynaklı pnömonilerin empirik tedavisinde onay verilmiştir (60).

Otitis Media: Pnömokokların neden olduğu otitis media’lı olgularda beta-laktam grubu antibiyotikler yeterli klinik etkinlik oluşturabilir. Otitis media’lı çocukların tedavisinde de eğer orta ve yüksek düzey direnç söz konusu ise tedavide penisilin kullanılmamalıdır. Kapalı bir ortam olması nedeni ile orta kulak mukozasında yeterli ilaç konsantrasyonlarına ulaşılamamaktadır. Penisilin tedavisinin yetersiz olduğu durumlarda makrolidler, klindamisin ve seftriakson önerilmektedir (55).

L. KORUNMA

Pnömokok kolonizasyonunu önlemede ve eradikasyonunda etkili bir antimikrobiyal tedavi seçeneği yoktur. Mupirosin ile yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar alınamamıştır. Direnç gelişimi nedeni ile bunlarda antibiyotik kullanımı da önerilmemektedir (95). Ayrıca, pasif bağışıklama da çeşitli alerjik yan etkilerinden dolayı tercih edilmemekte ve sıklıkla aktif bağışıklamadan faydaniılmaktadır. Halen yaygın olarak kullanılmakta olan 23-valan aşının

içeriğinde serotip 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F bulunmakta ve iki yaşından büyüklere uygulanması önerilmektedir. Ancak bu tür aşılarda koruyuculuğu beş yıl kadar sürdüğünden, riskli gruba dahil kişilerin her beş yılda bir rapel yaptırmaları gerekmektedir. Polisakkarid aşılarda 0-2 yaş grubu çocuklarda yeterince immünojen olmamaları nedeni ile *Haemophilus influenzae tip-b* konjuge aşılardan hareketle daha immünojen etkinlik gösteren protein konjuge aşılarda geliştirilmiştir. Bu aşılarda immünojitesi, içeriğinde bulunan pnömokokların antijenik kompozisyonlarına difteri ve tetanoz toksoidleri, meningokok dış membran kompleksi ve difteri CRM₁₉₇ proteini eklenerek artırılmıştır (99).

Protein konjuge aşılarda, pnömokoksik otitis media ve bakteriyemi açısından büyük risk altında bulunan 0-2 yaş grubu çocuklarda sık görülen infeksiyonlardan sorumlu olan serogrupları içermesi ve polisakkarit aşılarda göre daha da iyi immün yanıtı yol açmaları nedeniyle yaygın olarak kabul görmektedir. Bu amaçla geliştirilen ve içeriğinde 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F serotipleri bulunan 7-valan aşı 2000 yılında FDA tarafından onaylanarak kullanıma girmiştir. Bu aşının her 0.5 mL'sinde, 4, 9V, 14, 19F ve 23F için 2 mcg kapsüller polisakkarid, 18C için 2 mcg oligosakkarid, 6B için 4 mcg oligosakkarid, 20 mcg taşıyıcı protein olan CRM₁₉₇ ve 0.125 mcg alüminyum bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda doğumdan 4-6 hafta sonra iki ay ara ile üç doz aşı ve 12-15 nci aylarda rapel dozu ile %97.4 oranında etkinlik sağladığı gösterilmiştir (98). Ancak konjuge aşılarda polisakkarid aşılarda oranla pahalı olmaları dezavantajlarıdır. Aşıların uygulanması pnömokok kolonizasyonu ve invaziv infeksiyon riski en yüksek olan çocuk yaş grubunda hem taşıyıcılığı azaltmakta hem de infeksiyon gelişimini önleyerek mortalite, morbidite ve ekonomik kayıpları azaltmaktadır.

İmmün yetmezlikli, yaşlı ve kronik hastalıklı kişiler, kronik akciğer hastalıklı, kronik alkolik ve splenektomili kişiler ile yaygın penisilin direnci bulunan bölgelerdeki toplu yaşam yerlerinde bulunan kişilerin aşılarda önerilmektedir (137).

HIV'li hastalarda aşılarda karşı yeterli antikor yanıtı gelişmemektedir. Bu hastalara düzenli uygulanan insan globulini pnömokok infeksiyonlarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Ancak yüksek maliyet nedeni ile uygulanması güç gibi görünmektedir (95).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 01 Eylül 2003–31 Mart 2004 tarihleri arasında GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servis Laboratuvarı, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Haydarpaşa Numune Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örnekler ile, sağlıklı 545 (295 çocuk ve 250 yetişkin) olgunun nazofarenks sürüntülerinden elde edilen pnömokok suşları kullanıldı. Çalışma öncesinde yerel etik komitesine başvurularak gerekli izin alındı.

GRUPLAR

1. Sağlıklı Çocuklar: Bu gruba kreşe devam eden yaşları 2-6 arasında değişen toplam 295 çocuk dahil edildi. Kreşler İstanbul'un Anadolu yakasındaki değişik semtlerden seçildi. Beş farklı kreşteki çocuk sayısı ortalama 59 (23-84)'du (Tablo-V). Son 15 gün içerisinde üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYİ) geçirenler, son bir ay içerisinde antibiyotik kullanım öyküsü olanlar ile çalışma süresi içerisinde kreş ve anaokulundan ayrılanlar çalışma kapsamı dışında tutuldu. Örnekler alınmadan önce çocukların aileleri ile görüşülerek demografik bilgileri, altta yatan hastalıkları, daha önceki ilaç kullanım öyküsü, daha önce ÜSYİ geçirme öyküsü ve daha önce hastanede yatma öyküsü gibi bilgileri içeren standart bir form dolduruldu.

Tablo-V: Çalışmaya dahil edilen kreşlerdeki çocuk sayısı

Kreş	Çocuk Sayısı	Yüzde (%)
Sarıköşk	43	14.6
Gamze	23	7.8
Selimiye	84	28.5
III selim	64	21.7
Esentepe	81	27.4
Toplam	295	100.0

2. Sağlıklı Yetişkinler: Hastanemize başvuran yaşları 20-26 arasında değişen, en az üç aydan fazla süre ile toplu yaşam yerlerinde bulunan 250 asker çalışmaya alındı. Üst solunum yolu

infeksiyonu olanlar ile son bir ay içerisinde antibiyotik kullanım öyküsü olanlar çalışma kapsamı dışında tutuldu. Demografik özellikler ile daha önceki antibiyotik kullanma, geçirilmiş ÜSYİ, sigara içme ve allerji gibi risk faktörleri anket formlarına kaydedildi.

3. Klinik İzolatlar: Bu grup hastanemizin değişik polikliniklerine ayaktan başvuran veya hastaneye yatırılan hastalardan izole edilen suşlardan oluşturuldu. Bu hastalardan alınan çeşitli klinik örnekler (balgam, kan, beyin omurilik sıvısı, trakeal aspirat, paranazal sinüs aspiratı, plevral sıvı) tekniğine uygun olarak Müller Hinton Agar (MHA)'a ekildi. Klinik örneklerinden pnömokok izole edilen hastalara ulaşılarak risk faktörlerini içeren standart anket formu dolduruldu.

Gerekli Malzemeler:

1. Fleksibl pamuklu eküvyon çubukları
2. Alüminyum aljinat içeren transport besiyeri (*Steril transport medium, Copan, İtalya*)
3. Koyun kanı
4. 0.25 cm büyüklüğünde cam boncuklar
5. Balon joje ve Erlenmayer tüpleri
6. Su banyosu
7. Otoklav
8. Etüv
9. Cetvel
10. Dispenser
11. Karbondioksitli ortam oluşturmak için jar
12. Müller Hinton Agar (Oxoid, İngiltere)
13. Skim milk besiyeri
14. pH metre
15. Optokin, oksasilin (1 mcg), eritromisin (30 mcg), klindamisin (2 mcg), tetrasiklin (30 mcg), sefuroksim (30 mcg), seftriakson (30 mcg), sefotaksim (30 mcg), rifampisin (5 mcg), trimetoprim-sulfametoksazol (1.25/23.75 mcg), vankomisin (30 mcg), telitromisin (15 mcg), ofloksasin (5 mcg), siprofloksasin (30 mcg), levofloksasin (5 mcg) ve moksifloksasin (5 mcg) içeren antibiyotik diskleri (Oxoid, İngiltere).
16. Eritomisin (Koçak ilaç sanayii, İstanbul) ve penisilin (İbrahim Ethem Ulagay İlaç Sanayii, İstanbul) baz maddesi

17. Gentamisin ampul
18. Katalaz testi için %3' lük H₂O₂
19. Çini mürekkebi
20. Safra tuzu

Koyun Kanının Alınması: Bu işlemde kullanılan koyun kanı Selimiye Veteriner Meslek Lisesi'nde bulunan koyunlardan alındı. İşlem öncesi okul yöneticilerinden gerekli izinler alındı. Koyunun boyun bölgesindeki yünler jiletle temizlendikten sonra cilt alkol ile dezenfekte edildi. Bir veteriner yardımı ile juguler vene ponksiyon yapıldı. Kanın daha önceden steril edilmiş ve içerisinde cam boncuk bulunan balon jojeye akması sağlandı. Pıhtılaşmasını engellemek amacıyla balon joje nazikçe çalkalandı. Her bir koyundan ortalama 250 mililitre (ml) kan örneği alındı. Laboratuara ulaştırılan kan, fibrinden ayrılarak kapaklı cam kaplara alınıp kullanılana kadar buzdolabında +4°C'de saklandı.

Sterilizasyon: Camdan yapılmış malzemenin sterilizasyonu için kuru tip pastör fırını kullanıldı. Kaplar 150°C'de üç saat süre ile bekletilerek sterilize edildi. Besiyerlerinin sterilizasyonu ise basınçlı otoklav kullanılarak yapıldı.

KULLANILAN BESİYERLERİ VE HAZIRLANMALARI

1. Müller Hinton Agar ve Gentamisin içeren Müller Hinton Agarın Hazırlanması

Müller Hinton Agar (MHA) kuru toz halinde ticari olarak elde edildi. İlk önce hassas terazide 37 gram toz halindeki MHA tartıldı ve cam kap içerisindeki 1000 mililitre distile suya eklenerek iyice karışması sağlandı. Kabin ağzı gazlı beze sarılmış pamuk ile kapatıldı ve sterilizasyon kontrolü için üzerine sterilizasyon kontrol bandı yapıştırıldı. Bu şekilde hazırlanan karışım otoklavda 121°C'de 15 dakika süre ile bekletildi. Steril edilen sıvı haldeki agar, donmasını engellemek için sıcaklığı 45-50°C'ye ayarlanmış su banyosuna alındı. Burada yaklaşık 30 dakika süre ile bekletildikten sonra %5 oranında koyun kanı eklendi. Alev başında steril petri kapları içerisine agar kalınlığı 4-5 milimetre olacak şekilde döküldü ve soğumaya bırakıldı. Donması sağlanan agar içeren petri kapları ters çevrilerek kullanılıncaya kadar buzdolabında +4°C'de saklandı.

Nazofaringeal örneklerin ilk ekimlerinin yapıldığı gentamisinli MHA hazırlanması için yukarıdaki aşamalar takip edildi. Ancak son aşama olan MHA'ın soğuması esnasında koyun kanı ile birlikte önceden hazırlanmış gentamisin içeren solüsyon (5 mcg/mL olacak

şekilde) eklendi (106). Besiyerinin pH kontrolü pH metre ile yapıldı. Bunun için karışımdan alınan bir kısım agarın içine pH metre kağıdı batırılarak etrafında agarın donması sağlandı. Besiyerinin pH'sı, N/10 HCl eklemek sureti ile 7.2–7.4 olacak şekilde ayarlandı. Petri kaplarına 4-5 milimetre kalınlığında dökülen besiyeri katılaştıktan sonra petri kapları ters çevrilerek kullanılıncaya kadar buzdolabında +4 °C'de saklandı.

2. Skim Milk Besiyerinin Hazırlanması: Ticari olarak elde edilen skim toz halindeki milk'ten 10 mg tartıldı ve 100 mililitre distile suda süspansiyon haline getirildi. Bu şekilde hazırlanan karışım otoklavda 121°C'de 15 dakika bekletilerek sterilizasyon sağlandı. Otoklavdan çıkarılan skim milk ağzı kauçuk tıplarla kapalı olan cam tüplere alındı ve buzdolabında +4°C'de saklandı.

Antibiyotik Stok Solüsyonlarının Hazırlanması: Penisilin (İbrahim Ethem Ulagay İlaç Sanayi, İstanbul) ve Eritromisin (Koçak İlaç sanayi, İstanbul) baz maddesi üretici firmalarından temin edildi. Üzerlerinde jenerik ismi, assay potensi ve son kullanma tarihleri olan antibiyotik tuzları kullanılıncaya kadar –20°C' de saklandı. Assay potensi standart aktivite birimidir ve antibiyotik tozunun birim hacim ve konsantrasyondaki etki gücünü gösteren parametredir. Antibiyotiklerin potenslerinin farklılığından (çalışmamızda penisilin için assay potensi %100, eritromisin için %103 idi) dolayı kullanılacak antibiyotik dozu aşağıda formül kullanılarak hesaplandı.

$$Ağırlık (mg) = volum (ml) \times Konsantrasyon (mcg/ml) / Assay potensi$$

Bu formüldeki konsantrasyon ibaresi mililitrede oluşturulması istenen antibiyotik konsantrasyonunu göstermektedir. Burada penisilin tozunun çözünürlüğünü elde etmek için steril su, eritromisin tozunun çözünürlüğünü sağlamak için de %95'lik etanol kullanıldı (4). Yukarıdaki formüle göre her iki antibiyotiğin 1280 mcg/mL'lik stok çözeltileri elde edildi ve 10 mililitre hacimli steril tüplere alınarak –20 °C' de saklandı.

Agar Dilüsyon Plaklarının Hazırlanması

- Daha önceden hazırlanmış olan antibiyotik stok solüsyonları –20 °C'den çıkarılıp oda ısısında çözünmesi sağlandı. Mililitrede 1280 mcg olan stok solüsyonları 1/10 oranında sulandırılıp 128 mcg/mL konsantrasyondaki dilüsyon elde edildi. Bu son

konsantrasyondan hareketle eritromisin için 0.03-128 mcg/mL, penisilin için 0.03-16 mcg/mL aralığında değişen seri dilüsyonlar hazırlandı.

- Her iki antibiyotik için hazırlanmış olan uygun dilüsyonlar, sıcaklığı su banyosunda 45 - 50°C'ye getirilmiş erimiş haldeki koyun kanı eklenmiş MHA'a eklendi.
- İyice karışması sağlandıktan sonra düz bir zeminde petri kaplarına döküldü.
- Oda ısısında donması sağlandıktan sonra +4°C'de saklandı. Agar dilüsyon plakları bir hafta içerisinde kullanıldı.
- Test agarlarının sterilizasyonunun kontrolü için örneklerden 2-3 tanesi 72 saat süre ile hem oda ısısında hem de etüvde tutuldu.

Örneklerin Toplanması:

Kreş ve gündüz bakımevinde bulunan her çocukta Eylül 2003 - Mart 2004 tarihleri arasında üç ay ara ile toplam üç adet nazofarenks sürüntü örneği alındı. Eylül 2003 tarihinde alınan örnekler I. dönem, Aralık 2003'de alınanlar II. dönem ve Mart 2004'de alınanlar da III. dönem olarak adlandırıldı. Sağlıklı yetişkinlerden ise Eylül - Aralık 2003 tarihleri arasında her olgudan sadece bir nazofarenks sürüntü örneği alındı.

Nazofarenks sürüntülerinin elde edilmesinde her olgu için ucu pamuklu, steril, fleksibl eküvyon çubukları kullanıldı. Eküvyon burundan içeri doğru dirençle karşılaşınca kadar (nazofarenks duvarına kadar) ilerletildi ve nazikçe döndürülerek nazofarenk mukozası ile iyice temas etmesi sağlandı. Yavaşça geriye doğru çekilen eküvyonlar, modifiye Stuart taşıma besiyeri içerisine konularak iki saat içerisinde laboratuara ulaştırıldı. Laboratuarda örnekler, gentamisin eklenmiş koyun kanlı MHA'a koloni azaltma yöntemi ile ekilerek %5 CO₂ içeren ortamda 35°C'de 18-24 saat süre ile inkübe edildi.

Pnömonokok infeksiyonu olduğu düşünülen hastalardan kan kültürü için 5-10 ml' lik kan örneği BACTEC 9050 otomotize sistem (Becton Dickonson) hazır besiyerine alındı. Bu sistemde üreme sinyali oluşturan örneklerin %5 koyun kanlı MHA'a subkültürleri yapıldı. Laboratuara gönderilen diğer hastalık örnekleri (balgam, torasentez sıvısı, beyin omurilik sıvısı, paranazal sinüs aspiratı, trakeal aspirat) tekniğine uygun olarak aynı besiyerine ekildi ve 35°C'de 24 saat süre ile inkübe edildi.

PNÖMOKOKLARIN TANIMLANMASI

İnkübasyon sonrasında alfa-hemoliz gösteren, besiyerinin yüzeyinden hafif kabarıklık oluşturan ve ortası toplu iğne başı ile bastırılmış gibi görünen koloniler ile alfa-hemolitik mukoid koloniler belirlenerek aşağıdaki işlemler uygulandı.

1. Gram Boyama: Gram boyama sonucunda neticesinde direkt mikroskopik incelemede birbirine bakan yüzleri düz, diğer uçları sivri, mum alevi şeklinde gram pozitif, diplokokların varlığı araştırıldı.

2. Kapsül Boyama: Bu amaçla çini mürekkebi, %6'lık glikoz çözeltisi ve %1' lik metilen mavisi kullanıldı. Temiz bir lam üzerine glikozun saf sudaki %6'lık çözeltisinden 50 mikrolitre (μ L) konuldu. Üzerine uygun koloniden bir öze dolusu bakteri konulup homojenize edildi. Hazırlanmış olan süspansiyon üzerine 25 mikrolitre çini mürekkebi damlatıp öze ile karıştırıldı. Daha sonra temiz bir lamel ile mürekkepli materyal lam yüzeyine yayıldı. Havada kurutulup metanol ile tespit edildikten sonra birbuçuk dakika kadar metil viyole eriyiği ile boyandı. Siyah zemin üzerinde boyanmış olan bakterilerin çevresinde renksiz boşlukların gözlenmesi, incelenen bakterinin kapsüllü olduğunu göstermektedir.

3. Katalaz Testi: Bu test katalaz enzimi oluşturan bakterilerin saptanmasında kullanılmaktadır. Pnömoklar katalaz aktivitesi gösteremezler. Temiz bir lam üzerine konulan bir miktar bakteri kolonisi %3'lük hidrojen peroksit ile muamele edildiğinde normalde katalaz aktivitesine sahip bakterilerde gaz kabarcıkları olduğu halde, incelenen kolonilerinde görülmemiş olması sonucu katalaz testi negatif olarak yorumlandı.

4. Optokin Deneyi: Pnömokok suşları bir kinin derivesi olan optokinin çok düşük konsantrasyonlarında bile üreyemedikleri halde diğer alfa-hemolitik streptokoklar optokine dirençlidirler. Bu işlem için incelenen bakteri Müller Hinton Agar'a ekildi ve agar yüzeyine optokin diski yerleştirildi. Yirmidört saatlik inkübasyon sonunda optokin diskinin etrafında ≥ 16 milimetrelık bir inhibisyon bölgesinin bulunması durumunda incelenen bakterinin optokine duyarlı olduğu kabul edildi.

5. Safrada Erime Deneyi: Bazı pnömokok suşlarının optokine dirençli olabileceği göz önünde bulundurularak ileri testi olarak safrada erime deneyi kullanıldı. Pnömok kolonilerinin %10-20 konsantrasyondaki sıgır safrası veya %2-4'lük safra tuzları karşısında erime özelliği nedeni ile, kültür ortamındaki koloniler üzerine %2-4'lük safra tuzu eriyiği damlatıp 30-60 dakika etüvde bekletildi. Bu süre sonunda erime gösteren kolonilerin safra karşısında otolize uğradıkları kabul edildi ve bu bakteri pnömokok olarak adlandırıldı.

Suşların Saklanması: Pnömonok olduğu saptanan kolonilerin MHA'daki 24 saatlik kolonilerinden 4-5 tanesi öze ile alınarak, daha önceden hazırlanmış bir mililitre skim milk içeren ependorf tüplerine aktarıldı. Antibiyotik duyarlılık testleri çalışılana kadar -70 °C' de saklandı.

ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

Oksasilin (OX), eritromisin (E), tetrasiklin (TE), trimetoprim-sülfametoksazol (TMP-SMZ), klindamisin (DA), sefuroksim (CXM), seftriakson (CRO), sefotaksim (CTX), siprofloksasin (CIP), ofloksasin (OF), levofloksasin (LEV), moksifloksasin (MXF), vankomisin (VA) ve telitromisin (TEL), rifampisin (R) duyarlılığı Kirby-Bauer Disk Diffüzyon yöntemi ile araştırıldı.

Kirby-Bauer Disk Diffüzyon Yöntemi:

Etüvde 24 saat süre ile inkübe edilen %5 koyun kanlı MHA'daki kolonilerden aynı morfolojideki koloniler alınarak 4-5 mL serum fizyolojik içinde süspansiyon haline getirildi. Bulanıklık derecesi otomatik komperatörle 0.5 McFarland'a ayarlandı. Bu şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonu içerisine steril eküvyon batırılıp MHA yüzeyine homojen olacak şekilde yayıldı. Diskler besiyeri yüzeyine yerleştirilemeden önce yüzeyindeki nemin kuruması için beş dakika bekletildi. Diskler dispenser yardımı ile besiyeri yüzeyine aralarında en az iki santimetre olacak şekilde yerleştirildi. Plaklar ters çevrilerek %5 CO₂ içeren ortamda 35°C'de 18-24 saat süre ile inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında disklerin zon çapları cetvelle ölçülerek kaydedildi. Sonuçlar NCCLS kriterlerine göre değerlendirildi. Kontrol olarak *S. pneumoniae* ATCC 29546 suşu kullanıldı.

DİRENÇ TANIMI:

Penisilin için 1 mcg oksasilin içeren diskler kullanıldı ve zon çapı ≥ 20 mm olan suşlar duyarlı kabul edildi. Eritromisin için ≥ 17 mm olan suşlar duyarlı kabul edildi. Kullanılan diğer antibiyotik disklerinin zon çapı yorumlama kriterleri Tablo-VI'da gösterilmiştir. Penisilin ve eritromisine direçli görünen suşların MİK değerleri agar dilüsyon yöntemi ile belirlendi.

Tablo-VI. *Streptococcus pneumoniae* için zon çapı yorumlama kriterleri

Antibiyotik	Disk içeriği	Zon çapı (mm)		
		Dirençli	Orta düzey dirençli	Duyarlı
Penisilin	1 mcg oksasilin	-	-	≥ 20
Eritromisin	30 mcg	-	-	≥ 17
Tetrasiklin	30 mcg	≤ 18	19-22	≥ 23
Ofloksasin	5 mcg	≤ 12	13-15	≥ 16
Levofloksasin	5 mcg	≤ 13	14-16	≥ 17
Moksifloksasin	5 mcg	≤ 14	15-17	≥ 18
Vankomisin	30 mcg	-	-	≥ 17
Tirmetoprim/sulfametoksazol	1,25/23,75 mcg	≤ 15	16-18	≥ 19
Rifampin	5 mcg	≤ 16	17-18	≥ 19
Klindamisin	2 mcg	≤ 15	16-18	≥ 19
Telitromisin	15 mcg	≤ 15	16-18	≥ 19

Çoğul Direnç: İncelenen pnömokok suşların aynı anda üç veya daha fazla antibiyotiğe dirençli olmaları durumunda *çoğul direnç* tanımı kullanıldı.

Makrolid Direnç Fenotipi: Disk diffüzyon tarama yönteminde aynı anda hem eritromisin hem de klindamisine dirençli olan suşlar MLS_B, sadece eritromisine dirençli olan suşlar M tipi makrolid direnç fenotipi olarak kabul edildi.

AGAR DİLÜSYON YÖNTEMİ:

Bakteri İnokülomunun Hazırlanması: Disk diffüzyon yönteminde anlatıldığı gibi 0.5 McFarland standardında bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bu standartdaki bakteri süspansiyonu yaklaşık olarak 1×10^8 CFU/mL bakteri içermektedir. Ancak istenen son inokülum 5-8 mm'lik bir alan içerisinde 10^4 CFU'dur. Bu konsantrasyonda bakteri süspansiyonu elde etmek için 0.5 McFarland bulanıklığa ulaşmış bakteri süspansiyonu steril serum fizyolojik içinde 1/100 oranında dilüe edildi. Süspansiyonun besiyerine inokülasyonu için 5 mcg damlatabilen pipetlerden faydalandı. Uygun şekilde hazırlanmış olan bakteri süspansiyonları 15 dakika içerisinde besiyerine inoküle edildi.

Bakteri süspansiyonları içeren tüpler bir supora dizildi ve iyice karıştırılması sağlandıktan sonra her tüpten alınan 10 mikrolitre süspansiyon pipet yardımı ile en düşük konsantrasyon olan 0.03 mcg/mL den en yüksek konsantrasyon olan 128 mcg/mL'ye kadar plak yüzeylerine ekildi. Üreme kontrolü için antibiyotik içermeyen plağa aynı şekilde bakteri

süspansiyonları inoküle edildi. İnokülüm noktaları işaretlendi. Plaklar oda sıcaklığında inokülüm noktalarının agara nüfuz etmelerini sağlamak için 15 dakika bekletildikten sonra, %5 CO₂'li ortamda 35°C'de 18 saat süre ile inkübe edildi. Kültürlerin karışık olup olmadığını anlamak ve gerektiğinde testleri tekrarlamak amacı ile her inokülmünden alınmış bir örnek MHA'a ekilerek taze kültürleri elde edildi.

MİK Değerlerinin Belirlenmesi ve Duyarlılık Sonuçlarının Değerlendirmesi:

Plaklar, inkübasyon sonunda üremenin gözlenmediği ilk plağın belirlenmesi amacı ile koyu renkli ve ışığı yansıtmayan bir yüzeyde incelendi. Üremeyi önleyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu o pnömokok suşu için MİK değeri olarak kabul edildi.

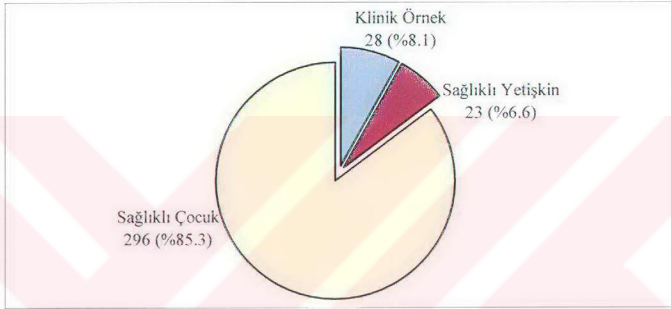
Penisilin MİK sınır değerlerine göre pnömokoklar duyarlı (≤ 0.06 mcg/mL), orta düzey dirençli (0.12-0.1 mcg/mL) ve yüksek düzey dirençli (≥ 2 mcg/mL) olarak tanımlandı. Eritromisin MİK sınır değerleri ≤ 0.25 mcg/mL duyarlı, 0.5 mcg/mL orta düzey dirençli ve ≥ 1 mcg/mL yüksek düzey dirençli olarak kabul edildi (4).

İSTATİSTİK

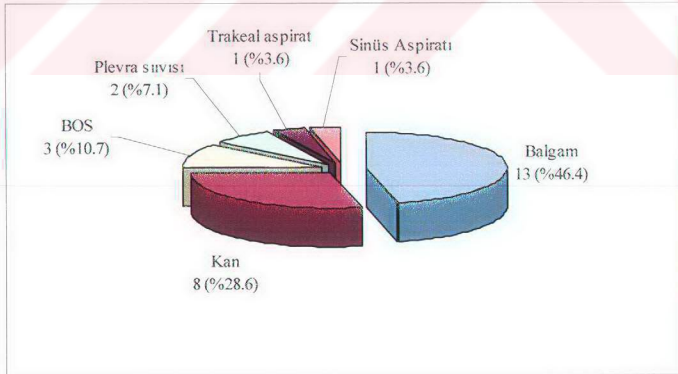
Bütün veriler SPSS for Windows V.10.0'a kaydedildi. Elde edilen tüm verilerin istatistiksel karşılaştırmaları bu program yardımı ile yapıldı. Tanımlayıcı veriler kesikli değişkenler için sayı ve yüzde, sürekli değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Gruplararası karşılaştırmalarda *Ki kare*, *McNemar*, *Fischer kesin kare* testleri kullanıldı. Tek değişkenli (univariete) analizlerde risk faktörü olabileceği değerlendirilen değişkenler çok değişkenli analize dahil edildi. Lojistik regresyon analizinde Backward LR yöntemi kullanıldı. $p < 0.05$ bulunan alfa değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

Bu çalışmada toplam 347 pnömokok suşunda antimikrobiyal direnç araştırıldı. Bu suşların 23'ü toplu yaşam yerlerinde bulunan sağlıklı genç erişkinlerin nazofarenks sürüntüsünden, 296'sı kreşe giden çocukların nazofarenks sürüntüsünden ve 28'i de değişik klinik örneklerden izole edildi. (Şekil 2). Suşların en sık soyutlandığı klinik örnekler sırası ile balgam (%46.4), kan (%28.6) ve beyin omurilik sıvısı (%10.5) idi (Şekil 3).



Şekil 2: İzole edilen pnömokok suşlarının gruplara göre dağılımı



Şekil 3: Hastalardan elde edilen pnömokok suşlarının klinik örneklerle göre dağılımı

Kreşlerde bulunan çocukların 160 (%54.2)'ı erkek, 135 (45.8)'i kızdı. Yaşları 2-6 (ortalama 5.3 ± 1.08) arasında değişmekteydi. Çocuklar arasında cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.3$). Kreşlerin mevcudu 23-84 (ortalama $\pm$ SD, 52 ± 25) arasındaydı. Çocukların %54.9'u bir, %17.3'ü iki ve %9.2'si üç veya daha fazla kardeşe sahipti. Çocukların %50.8 (150/295)'inde ÜSYİ, %25.1 (74/295)'inin ailesinde sigara kullanım öyküsü saptandı. Tüm çocukların 16 (%5.4)'sında çeşitli nedenlerle daha önce hastaneye yatırılma ve 125 (%48.5)'inde daha önce antibiyotik kullanma öyküsü vardı (Tablo-VII).

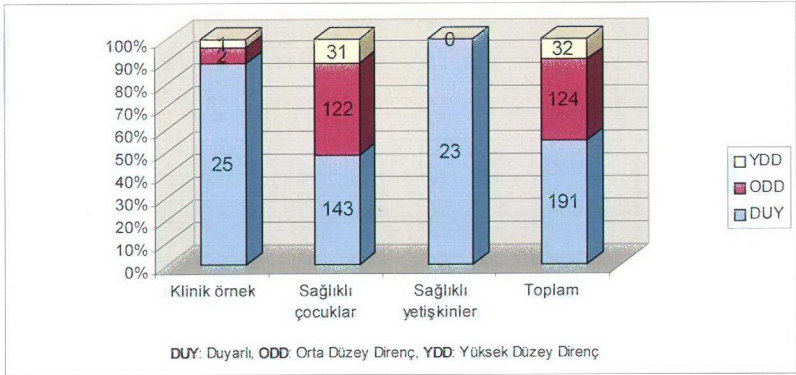
Sağlıklı yetişkin grubu olgularımızın tamamı en az üç aylık asker olup yaş ortalaması 20.07 ± 1.6 (20-31) idi. Olguların %39.2'sinde geçirilmiş ÜSYİ, %38.4'ünde antibiyotik kullanım öyküsü, %33.2'sinde sigara içiciliği ve %6.4'ünde allerji öyküsü saptandı.

Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile suşların %58.5 (203/347)'inde penisilin ve %34.9 (121/347)'ünde eritromisin direnci saptandı. Bunun dışında TMP-SMZ, klindamisin, tetrasiklin ve sefuroksime direnç oraları sırası ile %63.1, %24.8, %23.1, %6.6 olarak bulundu. Pnömonokok suşlarının %63.1 (219/347)'i test edilen antibiyotiklerin en az birine dirençli iken, %34.9 (121/347)'u çoğul dirençli (ÇDP) olarak saptandı. Pnömonokok suşlarının hiçbirinde vankomisin, rifampisin, seftriakson, sefotaksim, telitromisin ve kinolon (siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin, moksifloksasin) direnci saptanmadı.

Penisilin ve eritromisine direnç saptanan suşlarda orta ve yüksek düzey direnç varlığı agar dilüsyon yöntemi ile araştırıldı. Disk difüzyon yöntemi ile 203 (%58.5) suşta penisilin direnci saptandı. Agar dilüsyon yöntemi ile bu suşların 47'si duyarlı, 124'ü orta düzey dirençli (MİK: 0.12-1 mcg/mL) ve 32'si de yüksek düzey dirençli (MİK:2-4 mcg/mL) bulundu. Sonuç olarak izole edilen tüm pnömonokok suşlarının %55.1'i penisiline duyarlı, %35.7'si orta düzey dirençli, %9.2'si de yüksek düzey dirençli bulundu. Direnç oranları nazofarenks sürüntülerinden elde edilen suşlarda (sırası ile %38.2 ve %9.7) klinik izolatlarla (sırası ile %7.1 ve %3.6) göre daha yüksek bulundu ($p<0.001$) (Şekil 4).

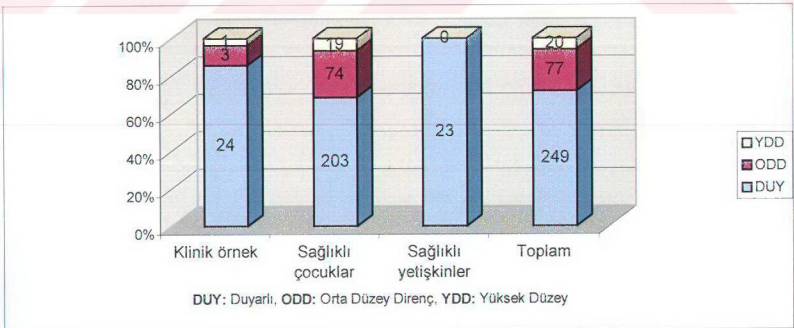
Tablo-VII: Kreş yaş grubu çocukların epidemiyolojik özellikleri

Özellik	sayı	(%)
Cinsiyet		
Erkek	160	54.2
Kız	135	45.8
Yaş		
2	14	4.7
3	13	4.4
4	18	6.1
5	77	26.2
6	173	58.6
Kardeş sayısı		
0	55	18.6
1	162	55.0
≥2	78	26.4
Evde sigara içimi		
Evet	71	24.1
Hayır	147	49.8
Bilinmiyor	77	26.1
Antibiyotik kullanımı		
Evet	125	42.4
Hayır	104	35.3
Bilinmiyor	66	22.4
Daha önce hastaneye yatış		
Evet	16	5.4
Hayır	279	94.6
Solunum yolu infeksiyonu		
Evet	131	44.4
Hayır	164	55.6
Otit	52	17.6
Rekürren otit	15	5.1



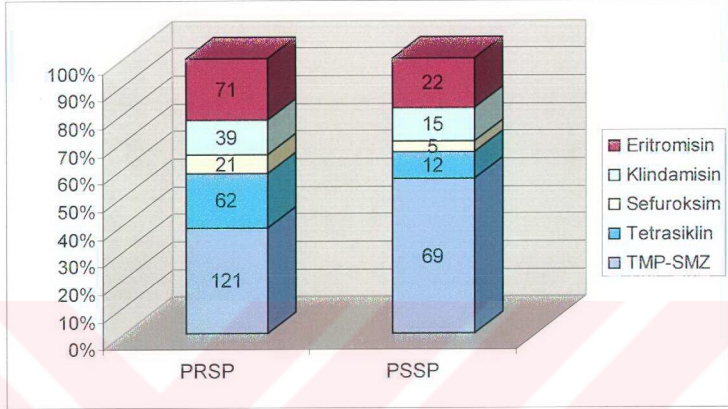
Şekil 4: Klinik örnek ve nazofarenks sürüntülerinden elde edilen suşlarda penisilin duyarlılığının karşılaştırılması.

Disk difüzyon yönteminde eritromisine dirençli saptanan suşların (121) agar dilüsyon yönteminde 24'ü duyarlı, 77'si, orta düzey dirençli (MIK:0.5 mcg/mL) ve 20'si yüksek düzey dirençli (MIK:1-64 mcg/mL) bulundu. Sonuçta izole edilen pnömokok suşlarının eritromisine %72.0'si duyarlı iken, %22.2'inde orta düzey direnç, %5.8'inde de yüksek düzey direnç saptandı. Bu oranlar nazofarenks sürüntü örneklerinde sırası ile %70.0, %24.1, %5.9 iken, klinik örneklerde %85.7, %10.7 ve %3.6 idi ($p<0.001$) (Şekil 5).



Şekil 5: Klinik örnek ve nazofarenks sürüntülerinden elde edilen suşlarda eritromisin duyarlılığının karşılaştırılması.

Eritromisin direnci penisiline duyarlı suşlarda %15.4 ve penisiline dirençli suşlarda %46.4 olarak saptandı (Şekil 6).



PRSP: Penisiline dirençli *S. pneumoniae*, **PSSP:** Penisiline duyarlı *S. pneumoniae*.

Şekil 6: Penisiline dirençli ve duyarlı olan pnömokok suşlarının diğer antibiyotiklere direnç durumu.

Klinik izolatlar ile karşılaştırıldığında (%7.1) nazofarenks sürüntüsünden elde edilen suşlarda (%37.3) çoğul direnç daha yüksek bulundu ($p<0.001$). Genç erişkinlerden elde edilen pnömokoklarda çoğul dirençli suş ile karşılaşmadı. Çocuk olguların nazofarenks sürüntüsünden izole edilen pnömokokların %40.2'si çoğul dirençli idi.

NAZOFARİNGEAL *S. PNEUMONIAE* TAŞIYICILIĞI

Toplu yaşam yerlerinde üç aydan daha uzun süre bulunan 250 askerde (20.07 ± 1.6) nazofaringeal *S. pneumoniae* kolonizasyonu %9.2 (23 olgu) oranında saptandı. Buna karşın kreşe devam eden 2-6 yaş grubu (ortalama 5.3 ± 1.08) 295 çocuklarda kolonizasyon oranı %33.4 idi ($p<0.001$).

Pnömokok kolonizasyonundaki artış irdelendiğinde, artışın çocuk sayının 40'ın üzerinde olan kreşlerde daha fazla olduğu görüldü (Tablo-VIII). Çocukların kreşe başladığı dönemde alınan nazofarenks sürüntülerinde %18.6 oranında kolonizasyon saptandı.

Çocukların kreşlerde bulundukları sürenin üçüncü ayında alınan örneklerde bu oran %34.6'ya ($p<0.001$), altıncı ayda ise %47.1'e ($p<0.001$) ulaştı. Bu artış trendi tüm kreşlerde gözlemlendi. Dönemler arası pnömokok kolonizasyon artış trendi irdelendiğinde, çocuk sayısının az olduğu Gamze kreşi dışındaki tüm kreşlerde istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo-VIII).

Çalışma kapsamına alınan çocukların 160'ı erkek, 135'i kız idi. Çocukların 78'i iki veya daha fazla kardeşe sahipti ve 125'i daha önce çeşitli nedenlerle antibiyotik kullanmışlardı (Tablo-IX). Risk faktörleri irdelendiğinde ikiden fazla kardeş sahip olma, ÜSYİ, antibiyotik kullanımı ve evde sigara içme öyküsü olan olgularda kolonizasyon oranlarının daha yüksek olduğu görüldü (Tablo-IX). Daha önce antibiyotik kullanan olgularda penisiline direnç oranı (%61.6), kullanmayanlara göre (%30.8) daha yüksekti ($p<0.001$).

Tablo-VIII: Kolonizasyon oranlarının kreşlere göre dağılımı.

Kreş	Çocuk sayısı	I.Dönem		II. Dönem			III. Dönem		
		Sayı	%	Sayı	%	p*	Sayı	%	p**
Sarıköşk	43	16	37.2	16	37.2	1	27	62.8	0.001
Gamze	23	8	34.7	9	39.1	0.76	12	52.2	0.37
Selimiye	84	11	13.1	33	39.3	0.000	42	50	0.004
III. Selim	64	11	17.2	23	35.9	0.000	28	43.7	0.06
Esentepe	81	9	11.1	21	25.9	0.000	30	37.0	0.004
Toplam	295	55	18.6	102	34.6	0.000	139	47.1	0.000

*I-II. Dönemlerin karşılaştırılması, **II-III. Dönemlerin Karşılaştırılması

Her üç dönemde de nazofaringeal pnömokok taşıyıcılığı iki ve daha fazla kardeşe sahip olan, daha önce üst solunum yolu enfeksiyonu geçiren, antibiyotik kullanımı, tekrarlayan otitis media ve daha önce hastaneye yatış öyküsü olanlarda daha yüksek bulundu (Tablo-IX). Penisilin direnci, daha önce antibiyotik kullanım öyküsü olanlarda daha yüksek saptandı (Tablo-X).

Tablo-IX: Nazofaringeal pnömokok kolonizasyonu ile ilişkili risk faktörleri

Risk Faktörleri	I.dönem			II.dönem			III. dönem		
	P	OR	%95 CI	P	OR	%95 CI	P	OR	%95CI
Cinsiyet	0.95	1.0	(0.5-1.8)	0.86	1.0	(0.6-1.6)	0.88	1.0	(0.6-1.6)
≥2 Kardeş	0.000	2.9	(1.5-5.4)	0.000	2.8	(1.6-4.8)	0.000	3.4	(3.4-6.0)
Astım	0.09	2.5	(0.8-7.9)	0.21	1.9	(0.6-5.7)	0.44	1.5	(0.5-4.5)
Üsye	0.000	3.2	(1.7-5.9)	0.000	3.3	(2.0-5.5)	0.000	4.2	(2.6-6.9)
Evde sigara içimi	0.004	2.8	(1.3-5.7)	0.32	1.3	(0.7-2.4)	0.09	1.6	(0.9-2.8)
Antibiyotik kullanımı	0.008	2.6	(1.2-5.6)	0.000	3.2	(1.7-5.8)	0.000	2.8	(1.6-4.9)
Hastaneye Yatış	0.000	8.6	(2.9-25.0)	0.03	4.5	(1.5-13.4)	0.005	5.2	(1.4-18.8)

Tablo-X: Pnömonok şaşlarında penisilin direnci ile risk faktörlerinin ilişkisi.

	Dönemler				
	I.Dönem (sayı=25)	II. Dönem (Sayı=57)	III. Dönem (Sayı=71)		
Risk faktörleri (sayı)	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)	p	p
Cinsiyet					
Kız (135)	6 (24.0)	24 (42.1)	29 (40.8)	0.36	0.27
Erkek (160)	19 (76.0)	33 (57.9)	42 (59.1)		
≥2 Kardeş (78)	11 (20.0)	19 (33.3)	26 (36.6)	0.07	0.7
Astım (14)	2 (8.0)	4 (7.0)	19 (26.8)	1.0	0.71
Üşye (131)	17 (68.0)	36 (63.1)	41 (57.7)	0.89	0.22
Rekürren otit (15)	6 (24.0)	6 (10.5)	9 (12.7)	1.0	0.13
Evde sigara içimi (71)	11 (44.0)	14 (24.6)	19 (26.8)	0.34	0.57
Antibiyotik kullanımı (125)	16 (64.0)	36 (63.1)	46 (64.8)	0.18	0.001
Hastaneye Yatış (16)	6 (24.0)	7 (12.3)	8 (11.3)	0.75	0.42

TARTIŞMA VE SONUÇ

Penisiline dirençli pnömokok suşları tüm coğrafik bölgelerde yaygın olarak görülmekte ve bu direnç oranları bazı bölgelerde %70-80'lere kadar çıkmaktadır (46, 81). 1970'li yılların başında ilk bildirimlerde yüksek düzey direnç oranlarına rastlanmazken, orta düzey direnç oranları %2.4-12 olarak bildirilmiştir (50, 85). Güney Afrika, Yeni Gine, İspanya ve ABD ile sınırlı olan bildirimleri, 1970'li yılların sonu ve 1980'li yılların başında diğer ülkeler takip etmiştir. 1990'lı yılların ikinci yarısında tüm kıtalarda pnömokoklarda penisilin direnci ortaya çıkmış ve 2000'li yıllarda yüksek düzey direnç oranları Kuzey Amerika'da %10.6-32.6, Latin Amerika'da %8.1-24.1, Batı Avrupa'da %0-46.2, Doğu Avrupa'da %13-14.2 ve Asya-Pasifik'de %0-71.5'e ulaşmıştır (36, 46).

Pnömokoklar izole edildiği yaş gruplarına göre ve kaynaklara göre farklı direnç paterni göstermektedir. Yapılan çalışmalarda penisilin direncinin özellikle çocukluk döneminde (0-5 yaş) izole edilen suşlarda, diğer yaş gruplarından izole edilen suşlarla kıyaslandığında daha yüksek oranlardadır. Jones ve arkadaşları 0-5 yaş arası çocuklarda penisilin direncini %31.8 saptamışlardır. Buna karşın, 6-20 yaş arasında %21.2, 21-40 yaş arasında %19, 41-64 yaş arasında %15.9 ve 65 yaş üstünde % 18.8 direnç oranları bildirmişlerdir. Diğer yaş grupları ile kıyaslandığında çocuklardaki bu direnç yüksekliğini istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır ($p<0.05$) (66). ABD'de yapılan ve 1531 suşun dahil edildiği benzer bir çalışmada 0-5 yaş arasındaki olgularda %13.7 orta düzey ve %28.9 yüksek düzey direnç saptanmış ve bu oranların diğer yaş gruplarına göre yüksek olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada hastaneye yatırılan hastalardan izole edilen suşlarda penisilin direnci %32.3, ayaktan tedavi edilenlerde de %36.4 oranında bulunmuştur. Suşlar izole edildikleri klinik örneklerle göre değerlendirildiğinde en yüksek direnç oranının üst solunum yolu kaynaklı izolatlarda (%45.4) olduğu, bunu alt solunum yolu izolatlarının (%34.9) ve invaziv izolatların (%25.9) takip ettiği bildirilmiştir (37). Yurt dışında yapılan çeşitli çalışmalarda çocuklardan elde edilen pnömokoklarda penisilin direnç oranları Avrupa'da %13-64 Afrika'da %50-83, Asya'da %2.1-91.3 dolaylarında olduğu bildirilmektedir (5, 65, 80, 96).

Çalışmamızda 250 sağlıklı erişkinden izole ettiğimiz 23 pnömokok suşunun hiçbirisi penisiline dirençli değildi. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 28 suшта ise orta düzey direnç %7.1 oranında ve yüksek düzey direnç ise %3.6 oranındadır. Buna karşın, 2-6 yaş grubu çocuklardan izole ettiğimiz 296 suшта bu oranlar sırası ile %41.2 ve %10.5 olarak

saptanmıştır. Bu oranlar klinik izolatlara ve sağlıklı genç erişkin grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.001$) (Şekil 4).

Ülkemizde ilk bildirimlerin yapıldığı 1990'lı yılların başından beri pnömokoklarda penisilin direncinde belirgin bir artış olmuştur. Erbaş ve arkadaşları 1989-1990 yıllarında disk difüzyon yöntemi ile penisilin direncini %12.3 olarak bildirmişlerdir (40). Daha sonra Tunçkanat ve arkadaşları yaptıkları çalışmada suşların %26.3'ünde orta ve %7.3'ünde penisiline yüksek düzeyde direnç saptamışlardır (129). Ancak sonraki direnç bildirimleri daha düşük düzeylerde kalmıştır. Aynı dönemde hastanemizde yapılan çalışmada yüksek düzey direnç saptanmaz iken orta düzey penisilin direnci %12.3 olarak bulunmuştur (100). Yıllar içerisinde belirgin bir artışın ardından 2000'li yılların başından günümüze kadar oranlar hızla yükselmiştir. Halen ülkemizde yüksek düzey direnç oranı %0-10, orta düzey direnç oranı da %25-40 düzeyinde seyretmektedir (51, 35, 54, 76).

Çalışmamızda %35.7 orta, %9.2 yüksek düzey penisilin direnci bulunmuştur. Bu direnç oranları son yıllardaki benzer çalışmalara göre yüksektir. Bunun nedeni çalışmamızda izole edilen suşların %85'inin kreş ortamında bulunan çocuklardan izole edilmiş olmasına bağlıdır.

Ülkemizde sağlıklı genç erişkinlerle yapılan çalışmalara rastlanmamıştır. Huzurevinde kalan yaşlılar ile ilgili yapılan çalışmalarda ise penisilin direnci %8.3 olarak bildirilmektedir (131). Bu çalışmalarla karşılaştırıldığında, sağlıklı yetişkinlerden izole ettiğimiz suşlardaki direnç oranlarımız düşük bulunmuştur. Bunun nedeni huzurevinde kalan popülasyonun büyük çoğunluğunun 65 yaşın üzerinde olması, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, diyabetes mellitus gibi altta yatan çeşitli hastalıkların bulunması olabilir.

Benzer şekilde klinik örneklerden de izole ettiğimiz suşlarda da direnç oranları, daha önce yapılmış olan çalışmalar ile karşılaştırıldığında düşüktür. Bunun nedeni çalışmamızdaki klinik izolat sayısının az olmasına bağlı olabileceği gibi hastalık türlerine, çevresel faktörlere ve daha önce kullanılan antibiyotik öyküsü ile açıklanabilir.

Çocuklardan izole ettiğimiz 296 suşun 153 (%51.7)'ü penisiline dirençli bulunmuştur. Şener ve arkadaşlarının 0-11 yaş grubunda yaptıkları benzer bir çalışmada direnç oranı %54.1 olarak bildirilmiştir (123). Bulgularımız bu çalışma ile uyumludur. Ancak sonuçlarımız, Bakır ve arkadaşlarının bulmuş olduğu orandan (%28.8) yüksektir (9). Direnç oranlarındaki bu farklılığın çalışmamızdaki küçük yaş grubu çocukların Bakır ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya göre daha çoğunlukta olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Pnömonoklarda penisilin direncinin yanı sıra bu bakterilerde diğer grup antibiyotiklere (diğer beta-laktamlar, makrolidler, TMP-SMZ, kloramfenikol, tetrasiklin ve yeni fluorokinolonlar) karşı ortaya çıkan direnç penisilin direnci ile paralel artış göstermiş ve günümüzde özellikle ciddi pnömokoksik infeksiyonların tedavisinde zorluklarla karşılaşılmasına neden olmaktadır.

Makrolidler solunum yolu infeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan antibiyotikler olmaları nedeni ile pnömokoklarda bu grup antibiyotiklere direnç oldukça yaygındır. ABD’de makrolid direnci 1988’de %0.2 iken, %1992’de %6.4’e, 1995’de 10.6’ya ve 1999’da %20.4’e tırmanmıştır. Aynı dönemde makrolid kullanımındaki artış ise %320 olarak olarak bildirilmiştir (47, 63, 67). Bu oran 2001-2002 yıllarında %27.9’a ulaşmıştır (43). Pek çok ülkeyi kapsayan PROTEKT çalışmasında makrolid direnç oranları ülkeden ülkeye farklılık göstermekle birlikte ortalama olarak %31’lerdedir. Makrolid direnci Avrupa kıtasında İspanya’da %28.6, Fransa’da %58.1, İtalya’da %42.9 oranlarında iken, Asya-Pasifik ülkelerinde bu oranlar Hong Kong’da %71.4, Japonya’da %77.9 ve Güney Kore’de %87.6 olarak bildirilmiştir (46).

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda makrolid direnci %6.7-43.6 arasındadır (15, 139). Berkiten ve arkadaşları 1987-1996 yılları arasında solunum yolları enfeksiyonlarından izole ettikleri pnömokoklarda eritromisin direncini %6.7 olarak saptamışlardır (15). Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada da bu oran %11.2 olarak bildirilmiştir (124). Adana’da yapılan bir çalışmada 1993-1995 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen suşların %26.8’inde yüksek düzey, %16.8’inde ise orta düzey eritromisin direnci bildirilmiştir (139).

Çalışmamızda izole edilen toplam 347 pnömokok suşunun %21.9’unda orta ve %6.3’ünde yüksek düzey direnç olmak üzere toplam %28.2 oranında makrolid direnci saptanmıştır. Bu oranlar klinik izolatlarda (sırası ile %10.7 orta düzey, %3.6 yüksek düzey), nazofarenks sürüntülerinden elde edilen suşlara göre (%23.2 orta düzey ve %5.9 yüksek düzey) daha düşüktür (Şekil 5). Oranlarımız diğer çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda, penisiline dirençli pnömokok suşlarında makrolid direncinin, duyarlı olan suşlara göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir. İtalya’da yapılan bir çalışmada sağlıklı çocuklardan izole edilen pnömokok suşlarında eritromisin direnci, penisiline duyarlı suşlarda %6.2 iken, bu oranlar orta düzey dirençli suşlarda %22.6 ve yüksek düzey dirençli suşlarda ise %19.5 olarak bildirilmiştir (84). Başka bir çalışmada penisilin duyarlı pnömokok

suşları arasındaki eritromisin direnci %59.0 iken, penisilin dirençli suşlarda %96.7 gibi oldukça yüksek bir oran saptanmıştır (62). Çalışmamızda da yukarıdaki çalışmalarla benzer bulgular elde edilmiştir. Çocuklardan izole edilen penisiline duyarlı suşlar arasında eritromisin direnci %15.4 iken, orta ve yüksek düzey dirençli suşlar arasında sırası ile %38.6 ve %77.4 bulunmuştur ($p<0.05$) (Şekil 6).

Direnç gelişim fenotipinin benzer olması nedeni ile makrolid dirençli pnömokoklar MLS ailesindeki (makrolid, linkozamid, streptogramin) diğer antibiyotiklere de dirençli olabilmektedir. M tipi fenotipik dirence sahip izolatlar sadece makrolidlere dirençli iken, MLS_B tipi dirençte makrolidlerle birlikte klindamisine de direnç gelişmektedir. Avrupa kıtasında daha da çok MLS_B tipi (%90) makrolid direnç fenotipi görülürken ABD’de M tipi (%75) fenotipik direncin ön planda olduğu bildirilmektedir (90). Ülkemizde yapılan bir çalışmada eritromisinle birlikte klindamisin direnci %48.9 olarak bildirilmiştir (125). Çalışmamızda makrolid ve klindamisin direnç birlikteliği %53.1 oranında saptanmıştır. İzole edilen pnömokok suşlarının en az yarısının MLS_B tipi fenotipik dirence sahip olması, ülkemizin de pnömokların, antibiyotik direnç paternlerinde olduğu gibi, Avrupa kıtası ile benzer özellikler taşıdığını ortaya koymaktadır.

Dirençli pnömokok suşlarının tedavisinde önerilen antibiyotikler arasında yeni kuşak fluorokinolonlar, telitromisin, linezolid, quinopristin/dalfopristin ve vankomisin bulunmaktadır (104). Yeni fluorokinolonlar dışında bu antibiyotiklere dirençli pnömokok bildirimi yoktur. Ancak, vankomisine karşı toleran suşların varlığından bahsedilmektedir ve bu suşlarla meydana gelen infeksiyonlarla tek başına vankomisin kullanımı ile başarısız sonuçlar elde edilmektedir (6). Ülkemizde levofloksasine dirençli pnömokok suşlarının varlığı bildirilmiştir (2). Ancak bunlar olgu bildirimleri dışına çıkmamıştır. Levofloksasin direncinin Uzak Doğu dışında dünyanın diğer ülkelerinde halen %1’in altında bulunması bu antibiyotiklerin klinik kullanıma makrolidlerden sonradan girmiş olması, endikasyon dışı kullanımlarında makrolidlere göre daha sınırlayıcı önlemler getirilmiş olması ve çocuk yaş grubunda kullanılmaması ile açıklanabilir. Uzak Doğu’da diğer antibiyotiklere olduğu gibi yüksek kinolon direncinin çoğul antibiyotik direnci taşıyan suşların klonal yayılımıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (61). Telitromisin son yıllarda kullanıma giren ketolid grubu antibiyotiklerin ilk üyesidir. ABD’de %0.3 oranında telitromisin direnci bildirilmektedir (38). Çalışmamızda telitromisin direnci ile karşılaşmamıştır. Molekül yapısının makrolidlere

benzerliği nedeni ile telitromisin'in yaygın kullanımı sonucu direnç gelişebilme potansiyeli taşımaktadır. Bu nedenle gerekli endikasyonlar dışında yaygın kullanımından kaçınılmalıdır.

Pnömonoklardaki penisilin direncindeki artışın yanı sıra çoklu direnç oralarındaki yükseklik, pnömonok infeksiyonlarının tedavisinde zorlukları da beraberinde getireceği ve ciddi infeksiyonlarda mortalite oranlarının yükselmesine neden olacağını göstermektedir. Pnömonoklarda penisilin'in yanı sıra diğer antibiyotik gruplarının en az ikisine daha direnç gelişmesi çoğul direnç olarak tanımlanmaktadır. Güney Afrika'da izole edilen suşların %16-60'ı Macaristan'da izole edilenlerin ise %70 kadarı çoğul dirençlidir (74). ABD'de 1995'li yıllarda %9 olan çoklu direnç oranı, 2000'li yıllarda %14'e ulaşmıştır (138). Ülkemizde yapılan çalışmalarda genellikle %0.7-4 oranlarında bildirilmektedir. Hastanemizdeki yapılan çalışmada çoğul dirençli olarak tanımlanan pnömonok suşları 1993-1997 yılları arasında %0.7 iken, 1997-2000 yılları arasında %4'e ulaşmıştır (100). Bu oran bizim çalışmamızda %34.9 olarak saptanmıştır. Bulgularımız ülkemizde çoğul direnç oranlarının artış trendi gösterdiğini ve ciddi boyutlara ulaştığını ortaya koymaktadır.

Yapılan çalışmalarda etnik yapı, çevresel ve sosyoekonomik faktörler (aile büyüklüğü, özellikle küçük kardeş varlığı), gelir düzeyi, sigara (pasif veya aktif içicilik), antibiyotik kullanımı ve kalabalık yaşam (kreşler, askeri birlikler, bakımevleri ve cezaevleri gibi) nazofaringeal kolonizasyon üzerine etkili bağımsız risk faktörleri olarak bildirilmektedir (18).

S. pneumoniae'nin çocuk yaş grubunda kolonizasyonunu etkileyen önemli parametrelerden biri de yaştır. Pnömonok kolonizasyonu yaşamın ilk yılında ortaya çıkmaya başlar. İlk üç yılda %55 ve daha sonra giderek azaldığı düşünülecek olursa, 0-3 yaş grubu çocuklar taşıyıcılık ve bakterinin horizontal yayılımı açısından en riskli grubu oluşturmaktadır. Çocuklarda pnömonok kolonizasyonunun erişkinlere göre daha yüksek saptanmasında; (a) pnömonok kolonizasyonun erken yaşta başlaması, (b) koruyucu antikorların yıllar içerisinde ortaya çıkması ve giderek artış göstermesi, (c) yoğun antibiyotik kullanımına maruz kalmaları, (d) bu yaş grubunda yakın temasın daha sık olması, (e) kendi kişisel hijyenlerini sağlayamamaları sebep olarak gösterilmektedir (18). Çalışmamızda da risk grupları irdelendiğinde kalabalık ailede yaşıyor olma, sık sık ÜSYİ geçirme ve antibiyotik kullanmanın kolonizasyon sıklığının artışına neden olduğu ($p<0.05$) ve bunlardan antibiyotik kullanımı öyküsünün varlığı penisilin direnç artışında etkili olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Çalışmamızda kreş çocuklarındaki kolonizasyon oranları sağlıklı genç erişkinlere göre oldukça yüksek bulunmuştur ($p<0.005$).

Çalışmamızda olgularımızın %91'i 4-6 yaş grubunda bulunmaktadır. Bu da taşıyıcılık riskinin daha fazla olduğu düşünülen 0-3 yaş grubunun sayısal azlığına bağlı olarak gerçekçi bir kıyaslama yapmayı engellemektedir. Ayrıca 0-3 yaş grubu çocukların çalışma süresince kreşe devamlılığının 4-6 yaş grubuna oranla daha az olması, bu yaş grubunda nazofarenks sürüntü örneklerinin alınması sırasında karşılaşılan güçlükler ya da ailesinden gerekli izinlerin alınamamış olması sayısal azlığın bir nedeni olabilir. Olgularımızın yaş dağılımının 4-6 yaşları arasında yoğunlaşması, pnömokok kolonizasyon oranlarının beklenenden daha az saptanmış olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızdaki 0-3 yaş grubu olgularda kolonizasyon oranlarının daha fazla olabileceğini destekleyen önemli bir gösterge de kreşler arasındaki kolonizasyon oranlarında görülen farklılıklardır. Çalışma süresince en fazla kolonizasyon oranı Sarıköşk (%45) ve Gamze (%42) Kreşleri'nde saptanmıştır. Gamze Kreşi'nde toplam çocuk sayısının diğer kreşlere oranla daha az olmasına karşın her iki kreşte gözlenen yüksek kolonizasyon oranlarının, 0-3 yaş grubu çocukların sayısal olarak diğer kreşlere oranla daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Risk grubunu oluşturan 0-3 yaş grubu çocukların daha fazla bulunduğu bu kreşlerde pnömokok taşıyıcılığı çalışmamızın başladığı ilk dönemden son döneme kadar diğer kreşlerden daha yüksek oranlarda saptanmıştır.

Dünyanın değişik bölgelerinde yapılan çalışmalarda kreşte bulunma süresine paralel olarak çocuk yaş grubu olgularda nazofaringeal pnömokok taşıyıcılığının artış gösterdiği bildirilmektedir (105). Bu risk, Peerboms ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada kreş yaş grubu çocuklarda, kreşte bulunmayan çocuklara oranla 1.6 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir (105). Elde ettiğimiz önemli sonuçlardan biri de dönemler arasında çalışma kapsamındaki her beş kreşte de kolonizasyon oranlarında artış görülmesidir (Tablo-VIII). Kolonizasyondaki artış çocuk sayısının az olduğu Gamze Kreşi dışında kalan diğer kreşlerde anlamlı bulunmuştur (Tablo-VIII). Gamze kreşindeki kolonizasyon oranlarının anlamlı bulunmamış olması bu kreşteki çocuk sayısının az olması ile ilişkili olabilir. Kolonizasyon oranlarındaki farklılığı oluşturan bir diğer faktör de sosyoekonomik ve kültürel farklılıklardır. Gelir düzeyinin daha iyi olduğu ve çekirdek aile yaşamının sık görüldüğü Esentepe kreşinde kolonizasyon oranları daha düşük olduğu halde, daha düşük gelir seviyesi ve kalabalık aile yaşamının olduğu bölgelerde bulunan kreşlerde daha yüksek kolonizasyon oranları saptanmıştır.

Çalışmamız İstanbul gibi sosyoekonomik ve kültürel farklılığın her çeşidini içeren ve farklı bir mozaik oluşturan Türk Toplumu'nda kreş çocukları arasında kreşe devam süresi ile ilişkili olarak nazofaringeal pnömokok taşıyıcılığının her kesimde artış gösterdiğini ve bu durumun da özellikle çocuk yaş grubu olgularda potansiyel bir tehlike oluşturabileceğini ortaya koyması açısından son derece önemlidir.

Pnömokok kolonizasyonu çocuk yaş grubundaki kadar fazla olmamakla beraber yetişkin yaş grunda da görülmektedir. Yetişkinlerin nazofarenks mukozasında pnömokok taşıyıcılığı %5-10 arasında değişmektedir. Bu oranlar sigara kullanımı, üst solunum yolu enfeksiyonu, toplu yaşam merkezlerinde bulunma gibi faktörlerden etkilenmektedir. Erişkin popülasyon ile yapılan çalışmalar genelde bakımevleri ile sınırlıdır. Bu popülasyonlar dışında sağlıklı yetişkinlerde kolonizasyon taramasının yapıldığı İsrail'deki bir çalışmada kolonizasyon oranı %4 olarak bildirilmiştir (114). Ülkemizde huzurevinde kalan yaşlılarda yapılan çalışmalarda kolonizasyon oranı %8 olarak bulunmuştur (131). Bizim saptadığımız %9.2'lik oran, buna yakındır. Çalışmamızdaki sağlıklı yetişkin yaş grubunu asker popülasyonu oluşturmaktadır. Olgularımızın askeri kıtlada en az üç ay süre ile bulunmuş olma zorunluluğu, bakterinin bireyler arasında yayılımını hızlandırıp taşıyıcılık oranlarını artırmış olabilir. Ancak ülkemizde bu konu ile ilgili daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışma sonuçlarımız İstanbul gibi Türkiye'nin karma yapısını yansıtan metropol özelliğindeki bir şehirde kreş çağındaki çocuk olgularımızda taşıyıcılığın ve antibakteriyel direncin zaman içerisinde arttığını ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar önceki yıllarda elde edilen veriler ışığında ülke genelinde etkili olabilecek bazı radikal değişiklikleri ve bunları uygulamaya koymanın gerekliliğine işaret etmektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Askeri birlikler gibi kalabalık ortamlar olan kreşlerde bulunan çocuklarda kolonizasyon sıklığı genç erişkinlere göre yüksek bulunmuştur ($p<0.001$).
2. Çocuklarda pnömokok kolonizasyon sıklığı kreşte bulundukları süre içerisinde artış trendi göstermiştir. Bu da, kreşte bulunmanın pnömokok kolonizasyonu için önemli bir risk faktörü olduğunu ortaya koymaktadır. Bunun dışında, kalabalık aile yaşamı (kardeş sayısının ikiden fazla olması), evde sigara içilmesi, ÜSYİ ve antibiyotik kullanımının kolonizasyonu artıran risk faktörleri olduğu saptanmıştır.
3. Çalışmamız süresince izole edilen pnömokok suşlarında antibiyotik direnci önceki yıllara göre artış trendi göstermiştir. Direnç oranları çocuklarda izole edilen pnömokok suşlarında klinik izolat ve genç erişkinlerin nazofarenks sürüntüsünden izole edilenlere göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$).
4. Özellikle ülkemizde solunum yolları infeksiyonlarının tedavisinde yaygın kullanılan beta-laktam antibiyotikler ve makrolidlere direnç oranları oldukça yüksektir (penisilin direnci %44.9, eritromisin direnci %28). Bundan dolayı; (a) ÜSYİ'nin yaklaşık %80'inin viral etkenlerle oluştuğu unutulmamalı, bakteriyel infeksiyon klinik ve laboratuvar bulguları saptanmayan olgulara antibiyotik verilmemeli, (b) eczanelerden reçetesiz antibiyotik satışı önlenmeli, (c) ailelerin eğitilerek doktor önerisi dışında antibiyotik kullanımının önlenmesi, (d) evde sigara kullanılması kolonizasyon riskini artırdığı hatırlatılmalı ve çocukların sigara içilen ortamlarda bulunmaları engellenmelidir.
5. Ülkemizde pnömokok kolonizasyon sıklığı ve antibiyotik direnç oranlarında artışın devam etmesi nedeni ile özellikle risk gruplarında kesitsel süreyans çalışmaları sürdürülmelidir.
6. Halen invaziv pnömokok infeksiyon riski olanlarda önerilen pnömokok aşısının tüm risk gruplarına uygulanması ve çocukluk çağı aşılama programının içerisinde yer alması pnömokok infeksiyonlarına bağlı morbidite ve mortaliteyi önemli oranda azaltacaktır.

V. ÖZET

Bu çalışmada 01 Eylül 2003-31 Mart 2004 tarihleri arasında izole edilen 347 pnömokok suşunda antimikrobiyal direnç ile toplu yaşam merkezinde bulunan 250 sağlıklı genç erişkin ve İstanbul'un değişik semtlerindeki kreşlerde bulunan 295 çocuktan alınan nazofaringeal sürüntü örneklerinde (toplam 1135) pnömokok kolonizasyon sıklığı araştırıldı. Ayrıca, kreşte bulunma süresinin pnömokok kolonizasyonuna etkisi ortaya kondu. Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi ile penisilin ve eritromisine dirençli saptanan pnömokoklarda direnç düzeyi agar dilüsyon yöntemi ile bakıldı. Bu 347 pnömokok suşunun 28'i değişik klinik örneklerden ve 319'u (23'ü sağlıklı yetişkinden, 296'sı sağlıklı çocuktan) nazofarenks sürüntüsünden izole edildi. Kreşte bulunan çocukların 160 (%54,2)'i erkek, 135 (%45,8)'i kız idi ve yaş ortalaması 5.3 ± 1.08 arasında değişmekte idi. Sağlıklı yetişkinlerin tamamı asker olup yaş ortalaması 20.7 ± 1.6 idi.

Suşların %44,9'unda penisilin (ODD %35,7 ve YDD %9,2) ve %28,0'inde eritromisin direnci (ODD %22,2 ve YDD %5,8) saptandı. Bunun dışında TMP-SMZ, klindamisin, tetrasiklin ve sefuroksime direnç oranları sırası ile %63,1, %24,8, %23,1 ve %6,6 olarak bulundu. Pnömokok suşlarının %63,1'i test edilen antibiyotiklerin en az birine dirençli iken, %34,9'u çoğul dirençli saptandı. Suşların hiçbirinde vankomisin, seftriakson, sefotaksim, telitromisin ve kinolon (siprofloksasin, levofloksasin, moksifloksasin) direnci saptanmadı. Penisilin ve eritromisin direnci nazofarenks sürüntülerinden elde edilen suşlarda (sırası ile %47,9 ve %30,0) klinik izolatlara göre (sırası ile %10,7 ve %14,3) daha yüksek bulundu ($P < 0.001$). Kreşlerdeki 295 çocuktan alınan 885 nazofarenks sürüntü örneğinden 296 (%33,4), toplu yaşam merkezinde bulunan genç erişkinlerden alınan 250 nazofarenks sürüntü örneğinden 23 (%9,2) pnömokok suşu izole edildi. Kolonizasyon oranı çocuklarda daha yüksek bulundu ($p < 0.001$). Çocuklarda başlangıçta %18,6 olan kolonizasyon oranı üçüncü ayda %34,6'ya ($p < 0.001$), altıncı ayda %47,1'e ($p < 0.001$) ulaşmıştır. Bu artış trendi tüm kreşlerde gözlemlendi.

Sonuç olarak, kreşlerin çocuklarda pnömokok kolonizasyonunu artıran önemli bir risk faktörü olduğu görülmektedir. Pnömokoklarda solunum yolu infeksiyonlarının tedavisinde sık kullanılan penisilin (beta-laktam antibiyotikler) ve makrolidlere direnç oranı oldukça yüksektir. Bundan dolayı, gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesi, pnömokok aşısının risk gruplarında yaygınlaştırılması ve çocukluk aşılama programına alınması pnömokok infeksiyonlarına bağlı morbidite ve mortaliteyi önemli oranda azaltacaktır.

VII. SUMMARY

INVESTIGATION OF RESISTANCE TO PENICILLIN, MACROLIDE, AND FLUOROQUINOLONE IN *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* STRAINS

We reviewed the pneumococcus colonization rate and antimicrobial resistance of 347 *Streptococcus pneumoniae* strains in nasopharyngeal samples (totally 1135) taken from 295 children who were in different day-care centers (DCC) of Istanbul and additional 250 healthy young adults who lived in common living areas between September 01, 2003 and March 31, 2004. Besides that, we disclosed the effect of time spent in DCC to the pneumococcus colonization in this study. We used the agar dilution method to observe the resistance level in pneumococci which found resistance to penicillin and erythromycin detected with disc diffusion method of Kirby-Bauer. Twenty-eight out of 347 pneumococci were obtained from different clinical samples and 319 were isolated (23 healthy young adults and 296 healthy children) from nasopharyngeal samples. While 160 (54.2%) of the children in DCC's were male, 135 (45.8%) were female, and the mean age of them was 5.3 ± 1.08 . All of the healthy adults were army recruits and their mean age was 20.07 ± 1.6 .

We observed resistance to penicillin in 44.9% [35.7% intermediate resistance (IR) and 9.2% resistance (R)] and to erythromycin in 28.0 (22.2% IR and 5.8% R). However, the resistance rates were found 63.1%, 24.8%, 23.1%, and 6.6% respectively to TMP-SMZ, clindamycin, tetracycline, and cefuroxime. While 63.1% of the strains were found resistance to at least one antibiotic tested, 34.9% showed multiple resistance. We did not observe any resistance to vancomycin, ceftriaxone, cefotaxime, ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, and telitromycin. Resistance to penicillin and erythromycin were found higher in pneumococci isolated from nasopharynx (47.9% and 30% respectively) than the clinically isolated ones (10.7% and 14.3% respectively) ($p < 0.001$). We isolated 296 (33.4) strains of pneumococci out of 885 nasopharyngeal samples taken from 295 children who lived in DCC's, and 23 (9.2%) strains out of 250 nasopharyngeal samples obtained from young adults who lived in common places. Colonization rate was found higher in children ($p < 0.001$). While the initial colonization rate in children was 18.6%, it reached 34.6% at third month ($p < 0.001$, and to 47.1% at sixth month ($p < 0.001$).

As a summary, the DCC's are important risk factor in colonization of pneumococci in children. The resistance rate to penicillin (beta-lactam) and macrolides are quite high which

were commonly used in the treatment of pneumococcus derived upper and lower respiratory tract infections. Because of this, the prevention of unnecessary use of antibiotics, the common use of pneumococcal vaccine in high-risk groups and its inclusion in children vaccination programme will probably decrease the morbidity and mortality rate due to pneumococcal infections.



VIII. KAYNAKLAR

1. Abigail, A., Salyers, D., Whitt, D.: *Streptococcus pneumoniae*. Bacterial Pathogenesis a Molecular Approach, Washington, ASM Press, 1994, 322-331.
2. Ak, Ö., Benzonana, N., Özer, S., Eraksoy, H.: Emergence of High Level Fluoroquinolone-Resistant *Streptococcus pneumoniae* in Turkey. Int. J. Infect. Dis. 7(4):288, 2003.
3. Aniasson, G., Alm, B., Andersson, B., Larsson, P., Nylen, O., Peterson, H., Rigner, P., Svanborg, M., Svanborg, C.: Nasopharyngeal Colonization During The First Years of Life. J. Infect. Dis., 165: S38-42, 1992.
4. Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları; Onikinci Bilgi Eki. *Streptococcus pneumoniae* İçin MİK Yorumlama Standartları, Cilt. 22, Sayı.1. M100-S12, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2002.
5. Appelbaum, P.C.: Antimicrobial Resitance in *Streptococcus pneumoniae*: An Overwiev. Clin. Infect. Dis., 15:77-83, 1992.
6. Atkinson, R.M., Mitchell, L.S., Tuomanen, E.: Mechanism of Tolerance to Vancomycin in *Streptococcus pneumoniae*. Infect. Med.,17:793-801, 2000.
7. Austrian, R.: The Pneumococcus at the Millenium: Not Down, Not Out. J. Infect. Dis., 179 (suppl.2):338-41, 1999.
8. Bajaksouzian, S., Visalli, M.A., Jacobs, M.R.: Antipneumococcal Activities of Cefpirome and Cefotaxime, Alone and in Combination With Vancomycin and Teicoplanin, Determined by Checkerboard and Time-Kill Methods. Antimicrob. Agents Chemother., 40:1973, 2000.
9. Bakır, M., Yağcı, A., Akbenlioğlu, C., Ülger, U., Söyletir, G.: Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* Pharyngeal Carriage Among Healthy Turkish Infants and Children. Eur. J. Pediatr., 161(3):165-166, 2002.
10. Bakır, M., Yagci, A., Ulger, N., Akbenlioglu, C., Ilki, A., Soyletir, G.: Asymtomatic Carriage of *Neisseria Meningitidis* and *Neisseria Lactamica* in Relation to *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* Colonization in Healthy Children: Apropos of 1400 Children Sampled. Eur J Epidemiol., 17(11):1015-1018, 2001.

11. Barry, A.L., Pfaller, M.A., Fuchs, P.C.: In Vitro Activities of 12 Orally Administered Antimicrobial Agents Against Four Species of Bacterial Respiratory Tract Pathogens From U.S. Medical Centers in 1992-1993. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38:2419-2425, 1994.
12. Barry, A.L.: Antimicrobial resistance Among clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae* in North America. *Am. J. Med.*, 107(1A):28S-33S, 1999.
13. Bauer, T., Santiago, E., Marcos, M.A., Werninghaus, G.S. Torres, A. *Streptococcus pneumoniae* in Community-Acquired Pneumonia. How Important is Drug Resistance? *Medical Clinics of North America*, 85 (6): 1-14, 2001.
14. Bedos, J.P., Chevret, S., Chastang, C.: Epidemiological Features of and Risk Factors for Infection by *Streptococcus pneumoniae* Strains With Diminished Susceptibility to Penicillin: Findings of a French Survey. *Clin. Infect. Dis.*, 22:63-72, 1996.
15. Berkiten, R., Erkan-Krause, F.:1987-1996 Yıllarında Solunum Yolu Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Streptococcus pneumoniae* Suşları. *Klinik Derg.*, 12(1):9-12, 1999.
16. Bilgehan, H.: Klinik Mikrobiyoloji, 9. Basım, İzmir, Barış Yayınları, 1995, 277-285.
17. Bogaert, D., de Groot, R., Hermans, P.W.M.: *Streptococcus pneumoniae* Colonisation: The Key to Pneumococcal Disease. *Lancet Infect. Dis.*, 4:144-54, 2004.
18. Bogaert, D., Engelen, M.N., Timmers-Reker, A.J., Elzenaar, K.P., Peerbooms, P.G., Coutinho, R.A., de Groot, R., Hermans, P.W.: Pneumococcal Carriage in Children in The Netherlands: A Molecular Epidemiological Study. *J. Clin Microbiol.*, 39(9):3316-20, 2001.
19. Bogaert, D., Koppen, S., Boelens, H.: Epidemiology and Determinants of Nasopharyngeal Carriage of Bacterial Pathogens in Healthy Dutch Children. Abstract. 21st Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases; Giardini Naxos, April 9-11, 2003.
20. Breiman, R.F., Butler, J.C., Tenovar, F.C., Elliott, A., Facklam, R.R.: Emergence of Drug Resistant Pneumococcal Infections in the United States. *JAMA*. 231:1831, 1994.
21. Breiman, R.F., Spika, J.S., Navarro, V.J., Darden, P.M., Dasby, C.P.: Pneumococcal Bacteremia in Charleston Country, South Carolina: A Decade Later. *Arch. Intern. Med.*, 150:1401-1405, 1990.

22. Brown , S.D., Rybak, M.J.: Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* and *Haemophilus influenzae* Collected From Patients Across the USA, in 2001-2002, as part of the PROTEKT US Study. J. Antimicrob. Chemother., 54 (Suppl.1):i7-115, 2004.
23. Bryan, C.S.: Treatment of Pneumococcal Pneumoniae: The Case Control For Penicillin G. Am. J. Med., 107:63-68, 1999.
24. Butler, J.C., Shapiro, E.D., Carlone, G.M.:Pneumococcal Vaccines: History, Current Status, and Future. Am. J. Med., 107(1A):69S-76S,1999.
25. Canton, R., Morosini, M., Enright, M.C., Morrissey, I.: Worldwide Incidence, Molecular Epidemiology and Mutations Implicated in Fluoroquinolone-Resistant *Streptococcus pneumoniae*: Data From the Global PROTEKT Surveillance Programme. J. Antimicrob. Chemother., 52: 944–952, 2003.
26. Chen, D.K., McGeer, A., Azavedo, J.C., Low, D.E.: Decreased Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to Fluoroquinolones in Canada. N. Engl. J. Med., 341:233-239, 1999.
27. Chesney, P.J: The Escalating Problem of Antimicrobial Resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Am J. Dis. Child., 146:912-916, 1992.
28. Chiu, S.S., Ho, P.L., Chow, F.K., Yuen, K.Y., Lau, Y.L.: Nasopharyngeal Carriage of Antimicrobial-Resistant *Streptococcus Pneumoniae* Among Young Children Attending 79 Kindergartens and Day Care Centers In Hong Kong. Antimicrob Agents Chemother., 45(10):2765-2670, 2001.
29. Clavo-Sanchez, A.A.J., Giron-Gonzalez, J.A., Lopez-Prieto, D.:Multivariate Analysis of Risk Factors For Infection Due to Penicillin-Resistant And Multi-Drug-Resistant *Streptococcus pneumoniae*: A Multicenter Study. Clin. Infect. Dis., 24:1052-1059, 1997.
30. Coles, C.L., Rahmathullah, L., Kanungo, R., Thulasiraj, R.D., Katz, J., Santosham, M., Tielsch, J.M.: Nasopharyngeal Carriage of Resistant Pneumococci in Young South Indian Infants. Epidemiol. Infect., 29(3):491-7, 2002.
31. Collignon, P.J., Turnidge, J.D.: Antibiotic Resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Med. J. Aust., 173:S58–64, 2000.

32. Cooksey, R.C., Facklam, R.R., Thornsbery, C.: Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Streptococcus pneumoniae* in the US, 1979-1987. J. Infect. Dis., 163:1273-1278, 1991.
33. Critchley, I.A., Thornsberry, C., Piazza, G., Jones, M., Hickey, M.L., Barth, A.L., Mendes, C., Rossi, F.F., Sader, H.S., Teixeira, L.M., Sahm, D.F.: Antimicrobial Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* Collected From Five Centers in Brasil, 1997-98. Clin. Microbio. Infect. 6: 178-184, 2000.
34. Çiftçi, E., Doğru, Ü., Aysev, D., İnce, E., Güriz, H.: Investigation of Risk Factor for Penicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* Carriage in Turkish Children. Pediatrics Internationals, 43:385-390, 2001.
35. Dansuk, Z., Ülkar, G., Ceryan, N., Gürbüz, O., Mert, A.: Surveillance of Oropharyngeal Penicillin Resistant *Streptococcus pneumoniae* Carriage Rates of Children Attending Day Care Centers. Enfeksiyon Derg., 15:481-484, 2001.
36. Doern, G.V., Brown, S.D.: Antimicrobial Susceptibility Among Community-Acquired Respiratory Tract Pathogens in the USA: data from PROTEKT US 2000-01. Journal of Infection 48, 56-65, 2004.
37. Doern, G.V., Brueggemann, A., Holley, H.P.: Antimicrobial Resistance of *Streptococcus pneumoniae* Recovered From Outpatients in the United States During the Winter Months of 1994 to 1995: Results of a 30-Center National Surveillance Study. Antimicrob. Agents Chemother., 40:1208-1213, 1990.
38. Doern, G.V., Heilmann, K.P., Huynh, H.K., Rhomberg, P.R., Cofmann, S.L., Brueggemann, A.B.: Antimicrobial Resistance Among Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States During 1999-2000, Including a Comparison Resistance Rate Since 1994-1995. Antimicrobial. Agents Chemother., 45(6):1721-1729, 2001.
39. Domingo, J.D., Pereriro, I., Gimeno, C., Lerma, M., Oyagüz, I., Gonzalez, A.: Epidemiology of Invasive *Streptococcus pneumoniae* Infections in Children in Spain, 1996-1998. J. Infect., 45:139-143, 2002.
40. Erbaş, O., Önde, U., Kurt, B., Açar, N., İçten, B.: Pnömonokollarda Penisilin Direncinin Saptanması. Ankara Hastanesi Tıp Bülteni, 26:219-21, 1991.

41. Ewig, S., Ruiz, M., Torres, A., Marco, F., Martinez, J.A., Sanchez, M., Mensa, J.: Pneumonia Acquired in the Community Trough Drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*.
Am. J. Respir. Crit. Care Med., 159:1835-1842, 1999.
42. Faden, H., Duffy, L., Wasielewski, R., Wolf, J., Krystofik, D., Tung, Y.: Relationship Between Nasopharyngeal Colonization and the Development of Otitis Media in Children. J. Infect. Dis., 175(6):1440-5, 1997.
43. Farrell, D.J., Jenkins, S.G.: Distribution Across The USA Of Macrolide Resistance and Macrolide Resistance Mechanisms Among *Streptococcus pneumoniae* Isolates Collected From Patients With Respiratory Tract infections: PROTEKT US 2001-2002. J. Antimicrob. Chemother., 54 (Suppl.1):17-22, 2004.
44. Feldman, C., Munro, N.C., Jeferry, P.K., Mitchell, T.J., Andrew, P.W., Boulnois, G.S., Guerreiro, D., Rodhe, J.A.L., Todd, H.C., Cole, P.J., Wilson, R.R.: Pneumolysin Induces the Slient Histological Features of Pneumococcal Infection in the Rat Lung in Vivo. Am. J. Respr. Cell Molecul. Biol., 5:416-23, 1991.
45. Felmingham, D., Gruneberg, R.N.: The Alexander Project 1999 Preliminary Results: Penicillin And Macrolide Resitance in *Streptococcus pneumoniae* From Europe. In Abst. of the 48th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherpy, Toronto, Canada, 2000.Abstract, p108.
46. Felmingham, D., Reinert, R.R., Hirakata, Y., Rodloff, A.: Increasing Prevalance of Antimicrobial Resistance Among Isolates of *Streptococcus pneumoniae* from PROTEKT Surveillance Study, and Comparative in Vitro Activity of the Ketolide, Telitromycin. J. Antimicrob. Chemother. 50 (suppl.1):25-37, 2002.
47. Felmingham, D., Washington, J.: Trends in the Antimicrobial Susceptibility of Bacterial Respiratory Patogens-Findings of Alexander Project 1992-1996. Alexander Project Group. J. Chemother., 11:5-11, 1999.
48. Fenoll, A., Jado, I. Vicioso, D., Perez, A., Casal, J.: Evolution of *Streptococcus pneumoniae* Serotypes and Antibiotic Resistance in Spain: Update (1990 to 1996). J. Clin. Microbiol., 36(12):3447-3454, 1998.
49. Frick, P.A., Black, D.J., Duchin, J.S., Deliganis, S., McKee, W.M., Fritsche, T.R.: Prevalence of Antimicrobial Drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Washington State. West. J. 169(6):364-369, 1998

50. Geslin, P., Buu-Hoi, A., Fremaux, A., Acar, J.F.: Antimicrobial Resistance in *Streptococcus pneumoniae*. An Epidemiological Survey in France, 1970-1990. Clin Infect. Dis, 15:95, 1992.
51. Ghaffar, F., Friedland, I.R., McCracken, G.H.: Dynamics of Nasopharyngeal Colonization by *Streptococcus pneumoniae*. Pediatr. Infect. Dis, 18:638-46, 1999.
52. Gür, D., Güçiz, B., Haşcelik, G.: *Streptococcus pneumoniae* Penicillin Resistance in Turkey. J. Chemother., 13:541-545, 2001.
53. Gür, D., Özalp, M., Sümerkan, B., Kaygusuz, A., Töreci, K., Köksal, İ., Över, U., Söyletir, G.: Prevalance of Antimicrobial Resistance in *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Moraxella catarrhalis*, and *Streptococcus pyogenes*: Results of a Multicentre Study in Turkey. Int. J. Antimicrob. Agents, 19:207-211, 2002.
54. Gür, D., Tunçkanat, F., Şener, B., Kanra, G., Akalın, H.: Penicillin Resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Turkey. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 13:440-441, 1994.
55. Harwell, J.I., Brown, R.B.: The Drug Resistant Pneumococcus: Clinical Relevance, Therapy, and Prevention. Chest, 117:530, 1998.
56. Henriksen, J.: Typing of *Streptococcus pneumoniae* Past, Present And Future. Am. J. Med., 107:50S-54S, 1999.
57. Henriques, B., Novak, R., Ortqvist A.: Emergence of Vancomycin Tolerance in Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Nature, 399:590-593, 1999.
58. Ho, P.L., Que, T.L., Tsang, D.N., Ng, T.K., Chow, K.H., Seto, W.H.: Emergence of Fluoroquinolone Resistance Among Multiply Resistant Strains of *Streptococcus pneumoniae* in Hong Kong. Antimicrob. Agents Chemother., 43(5):1310-1313, 1999.
59. Hoellman, D.B., Lin, G., Jacobs, M.R.: Anti-pneumococcal Activity of Gatifloxacin Compared With Other Quinolone and Non-Quinolone Agents. J. Antimicrob. Chemother., 42:803-806, 1998.
60. Hooper, D.C.: Expanding Use of Fluoroquinolones: Opportunities and Challenges. Ann. Intern. Med., 129:908-910, 1998.
61. Hsueh, P.R., Luh, K.T.: Antimicrobial Resistance in *Streptococcus pneumoniae*, Taiwan. Emerg. Infect. Dis., 8(12):1487-1491, 2002.

62. Hsueh, P.R., Teng, L.J., Lee, L.N., Yang P.C., Ho, S.W., Luh, K.T.: Extremely High Incidence of Macrolide and Trimetoprim-Sulfamethoxazole Resistance Among Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Taiwan. J. Clin. Microbiol., 37(4):897-901, 1999.
63. Hyde, T.B., Gay, K., Stephens, D.S., Vugia, D.J., Pass, M., Johnson, S., Barrett, N.L., Schaffner, W., Cieslak, P.R., Maupin, P.S., Zell, E.R., Jorgensen, J.H., Facklam, R.R., Whitney, C.G.; Active Bacterial Core Surveillance/Emerging Infections Program Network.: Macrolide Resistance Among Invasive *Streptococcus pneumoniae* Isolates. JAMA., 286:1857-1862, 2001.
64. John, R.L., Antone, A.M.: The Growing Threat of Antibiotic-Resistant *Streptococcus pneumoniae*. Medical Clinics of North America, 79: 523-535, 1995.
65. Joloba, M.L., Bajaksouzian, S., Palavecino, E., Whalen, C., Jacobs, M.R.: High Prevalence of Carriage Of Antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Children in Kampala Uganda. Int. J. Antimicrob. Agents, 17(5):395-400, 2001.
66. Jones, R.N., Biedenbach, D.J., Beach, M.L.: Influence of Patient Age on the Susceptibility Patterns of *Streptococcus pneumoniae* Isolates in North America (2000-2001): Report From the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Diag. Microbiol. Infect. Dis., 46:77-80, 2003.
67. Jorgensen, J.H., Doern, G.V., Maher, L.A.: Antimicrobial Resistance Among Respiratory Isolates of *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae* in the United States. Antimicrob. Agent. Chemother. 34:2075-2080, 1990.
68. Juan, M., Flores-Cordero, R., Amaya-Villar, M., Santiago, R., Leal-Noval, J., Garnacho-Montero, J., Murillo-Cabezas, F.: Acute Community-Acquired Bacterial Meningitis in Adults Admitted To The Intensive Care Unit: Clinical Manifestations, Management And Prognostic Factors. Intensive Care Med., 29:1967-1973, 2003.
69. Kaplan, S.L., Mason, E.O.: Management of Infections Due to Antibiotic-Resistant *Streptococcus pneumoniae*. Clin. Microbiol. Rev., 11(4):628-644, 1998.
70. Kathryn, L.R.: *Streptococcus*. In Manual of Clinical Microbiology (Eds): Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., Tenover, R.H., Washington D., 6th Edition, ASM Press, 1995, 299-307.

71. Kellner, J.D., Ford-Jones, E.L.: *Streptococcus pneumoniae* Carriage in Children Attending 59 Canadian Child Care Centers. Toronto Child Care Centre Study Group. Arch. Pediatr. Adolesc. Med., 153(5):495-502, 1999.
72. Klugman, K.P., Feldman, C.: *Streptococcus pneumoniae* Respiratory Tract Infections. Curr. Opin. Infect. Dis., 14:173-179, 2001.
73. Klugman, K.P.: Pneumococcal Resistance to Antibiotics. Clin. Microbiol. Rev., 3:171-96, 1990.
74. Klugman, K.P.: Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: Implication for Drug Selection. Clin. Infect. Dis., 34:1613-20, 2002.
75. Koornhof, H.J., Wasas, A., Klugman, K.: Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: A South African Perspective. Clin. Infect. Dis., 15:84-94, 1992.
76. Küçükbasmacı, Ö., Gönüllü, N., Aktaş, Z., Gürol, D., Berkiten, R.: In Vitro Activity of Telitromycin Compared With Macrolides and Fluoroquinolones Against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis*. Int. J. Antimicrob. Agents, 22:497-501, 2003.
77. Leblebicioğlu, H.: Telitromisin. Ankem Derg., 18(2):170-173, 2004.
78. Lee, H.J., Park, J.Y., Jang, S.H.: High Incidence of Resistance to Multiple Antimicrobials in Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae* From a University Hospital in Korea. Clin Infect. Dis., 20:826-835, 1995.
79. Lee, N.Y., Song, J.H., Chang, H.H., Suh, J.y., Ko, S.K., Oh, W.S., Peck, K.R.: Macrolid Resistance and Genotypic Characterization of *Streptococcus pneumoniae* in Asian Countries: A Study of Asian Network for Surveillance-of Resistant Pathogens (ANSORP). J. Antimicrob. Chemother., 53:457-463, 2004.
80. Lee, N.Y., Song, J.H., Kim, S., Peck, K.R., Ahn, K.M., Lee, S.I., Yang, Y., Li, J., Chongthaleong, A., Tiengrim, S., Aswapokee, N., Lin, T.Y., Wu, J.L., Appelbaum, P.C.: Carriage of Antibiotic-Resistant Pneumococci Among Asian Children: A Multinational Surveillance by The Asian Network For Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP). Clin. Infect. Dis., 15:32(10):1463-1469, 2001.
81. Liebowitz, L.D., Slabbert, M., Huisamen, A. National Surveillance Programme on Susceptibility Patterns of Respiratory Pathogens in South Africa: Moxifloxacin Compared With Eight Other Antimicrobial Agents. J. Clin. Pathol., 56:344-347, 2003.

82. Linares, J., Pallares, R., Alonso, T.: Trends in Antimicrobial Resistance of Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Bellvitge Hospital, Barcelona, Spain (1997-1990). Clin. Infect. Dis., 15:99-105, 1992.
83. Lo, W.T., Wang, C.C., Yu, C.M., Chu, M.L.: Rate of Nasopharyngeal Carriage, Antimicrobial Resistance and Serotype of *Streptococcus pneumoniae* Among Children in Northern Taiwan. J. Microbiol. Immunol. Infect., 36(3):175-81, 2003.
84. Lopez, B., Vazquez, C.F., Fenoll, A., Gutierrez, J., Fidalgo, C., Caicoya, M., Mendez, F.J.: Epidemiological Study of *Streptococcus pneumoniae* Carriers in Healthy Primary-School Children. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 18:771-776, 1999
85. Maki, D.G., Helstad, A.G., Kimball, J.L.: Penicillin Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in 1978. Screening For Resistance By Disk Testing. Am J Clin Pathol., 73(2):177-82, 1980.
86. Marchisio, P., Claut, L., Rognoni, A., Esposito, S., Passali, D., Bellussi, L., Drago, L., Pozzi, G., Mannelli, S., Schito, G., Principi, N.: Differences In Nasopharyngeal Bacterial Flora in Children With Nonsevere Recurrent Acute Otitis Media And Chronic Otitis Media With Effusion: Implications For Management. Pediatr. Infect. Dis. J., 22(3):262-268, 2003.
87. Marchisio, P., Esposito, S., Schito, G.C., Marchese, A., Cavagna, R., Principi, N.; Hercules Project Collaborative Group: Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Healthy Children: Implications for The Use of Heptavalent pneumococcal conjugate vaccine. Emerg. Infect. Dis., 8(5):479-84, 2002.
88. Martin, M., Turco, J.H., Zegans, M.E., Facklam, R.R., Sodha, S., Elliott, J.A., Pryor, J.H., Beall, B., Erdman, D., Baumgartner, Y., Sanchez, P.A.: An Outbreak of Conjunctivitis Due to Atypical *Streptococcus pneumoniae*. N. Engl. J. Med., 348:1112-21, 2003.
89. Marton, A.: Pneumococcal Antimicrobial Resistance: The Problem in Hungary. Clin. Infect. Dis., 15:106-111, 1992.

90. Mason, E., Wald, E.R., Bradley, J.S., Barson, W.J., Kaplan, S.L.: Macrolid Resistance Among Middle Ear Isolates of *Streptococcus pneumoniae* Observed at Eight United States Pediatric Centers: Prevalance of M and MLS_B Phenotypes. *Pediatr. Infect. Dis.*, 22:623-628, 2003.
91. McDonald, C.L., Lauderdale, T.L., Shiau, Y.R., Chen, P.C., Lai, J.F., Wang, H.Y., Hob, M., TSAR Participating Hospitals.: The Status of Antimicrobial Resistance in Taiwan Among Gram-Positive Pathogens: The Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance (TSAR) Programme, 2000. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 23:362-370, 2004.
92. McDonald, L.C., Bryant, K., Synder, J.: Peripartum Tranmission of Penicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.*, 41(5):2258-2260, 2003.
93. Memish, .A., Balkhy, H.H., Shibl, A.M., Barrozo, C.P., Gray, G.C.: *Streptococcus pneumoniae* in Saudi Arabia: Antibiotic Resistance and Serotypes of Recent Clinical Isolates. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 23:32-38, 2004.
94. Montaner, M., Moreno, M., Gil, M., Roman, J., Gobernado, M., Canton, E.: Surveillance of *Streptococcus pneumoniae* Serotypes Before Vaccination. Abstract. 11th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Istanbul, Turkey April 1-4, 2001. p884.
95. Mucher, D.M.: *Streptococcus pneumoniae*. Principles and Practise of Infectious Diseases (Eds.) Mandell, G.L., Bennet, J.E., Dolin, R., Fifth Edition, Philadelphi, USA, Curchill Livingstone Co. 2000; 2128-2147.
96. Mühlemann, K., Matter, H.C., Tauber, M.G., Bodmer, T.: Nationwide Surveillance of Nasopharyngeal *Streptococcus pneumoniae* Isolates From Children With Respiratory Infection, Switzerland, 1998-1999. *J. Infect. Dis.*, 187:589-96, 2003.
97. Novak, R., Henriques, B., Charpentier, E.: Emergence of Vancomycin Tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. *Nature*. 399:590-593, 1999.
98. Obaro, S.K., Huo, Z., Banya, W.A.: A Glycoprotein Pneumococcal Conjugate Vaccine Primes for Antibody Responses to a Pneumococcal Polysaccharide Vaccine in Gambian Children. *Pediatr. Infect. Dis.*, 12:1135-1140, 1997.
99. Obaro, S.K.: The New Pneumococcal Vaccine. *Clin. Microbiol. Infect.*, 8:623-633, 2001.

100. Oncul, O., Erdem, E., Altunay, H., Ozsoy, M.F., Pahsa, A., Cavuslu, S.: The Trends of Penicillin Resistant *Streptococcus pneumoniae* in a Training Hospital. The Internet Journal of Infectious Diseases, 3(1):1-13, 2003.
101. Öncül, O., Çavuşlu, Ş., Yenen, O.Ş.: Penisiline Dirençli Pnömonokoklar Ülkemiz İçin Gerçekten Bir Sorun mu?. Flora, 4(Ek-2):3-23, 1999.
102. Özkan, Ş.: 1988 Yılında Dr. Sami Ulus Çocuk Hastanesinde Akut Pürülan Menenjit Olarak İzlenen Olguların Yaş Gruplarına Göre Dağılımı, Tedavi ve Antibiyogram Sonuçları. Infek. Derg., 4:437-443, 1990.
103. Pallares, R., Linares, J., Vadillo, M., Cabellos, C., Manresa, F., Viladrich, P.F., Martín R., Gudiol, F.: Resistance to Penicillin and Cephalosporin and Mortality From Severe Pneumococcal Pneumonia In Barcelona, Spain. N. Engl. J. Med., 333 (8):474-479, 1995.
104. Paradisi, F., Corti, G., Cinelli, R.: *Streptococcus pneumoniae* as an Agent of Nosocomial Infection: Treatment in the era of Penicillin-Resistant Strains. Clin. Microbiol. Infect., 4:34-42, 2001.
105. Peerbooms, P.G., Engelen, M.N., Stokman, D.A., van Benthem, B.H., van Weert, M.L., Bruisten, S.M., van Belkum, A., Coutinho, R.A.: Nasopharyngeal Carriage of Potential Bacterial Pathogens Related to Day Care Attendance, With Special Reference to The Molecular Epidemiology of *Haemophilus influenzae*. J Clin Microbiol., 40(8):2832-6, 2002.
106. Peled, N., Yagupsky, P. Improved detection of *Streptococcus pneumoniae* in Middle Ear Fluid Cultures By Use Of a Gentamicin Containing Medium. J. Clin. Microbiol., 37 (10): 3415-3416, 1999.
107. Pelton, S.I., Dagan, R., Gaines, B.M., Klugman, K.P., Laufer, D., O'Brien, K., Schmitt, H.J.: Pneumococcal Conjugate Vaccines: Proceedings From an Interactive Symposium at The 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vaccine. 2;21(15):1562-1571, 2003.
108. Piddock, L.J.V.: Mechanism of Fluoroquinolone Resistance: An update 1994-1998. Drugs, 58(suppl.2):11-18, 1999.
109. Pikiş, A., Donkersloot, J.A., Akram, S.: Decreased Susceptibility To Imipenem Among Penicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae*. J. Antimicrob. Chemother., 40:105-108, 1997.

110. Pons, J.L., Lle Mandement, M.N., Martin, E., Lemort, L., Nouvellon, M., Mallet, E., Lemeland J.F.: Clonal and Temporal Patterns of Nasopharyngeal Penicillin-Susceptible and Penicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* Strains in Children Attending a Day Care Center. *J. Clin. Microbiol.*, 34 (12): 3218–3222, 1996.
111. Prevention of Pneumococcal Disease: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, 46:1-24, 1997.
112. Quale, J., Landman, D., Ravishankar, J., Flores, C., Bratu, S.: *Streptococcus pneumoniae*, Brooklyn, New York: Fluoroquinolone Resistance at our Doorstep. *Emerg. Infect. Dis.*, 8:594-597. 2002.
113. Raymond, J., Le Thomas, I., Moulin, F., Commeau, A., Gendrel, D., Berche, P.: Sequential Colonization by *Streptococcus pneumoniae* of Healthy Children Living in an Orphanage. *J. Infect. Dis.*, 181(6):1983-1988., 2000.
114. Regev-Yochay, G., Raz, M., Dagan, R., Porat, N., Shainberg, B., Pinco, E., Keller, N., Rubinstein, E.: Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae* by Adults and Children in Community and Family Settings. *Clin. Infect. Dis.*, 38(5):632-639, 2004.
115. Rotimi, V.O., Feteih, J., Barbor, P.R.H.: Prevalence of Penicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* in a Saudi Arabian Hospital. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect.*, 14:149–151, 1995.
116. Schito, G.C., Debbia, E.A., Marchese, A.: The Evolving Threat of Antibiotic Resistance in Europe: New Data from Alexander Project. *J. Antimicrob. Chemother.*, 46:3-9, 2000.
117. Simor, A.E., Louie, L., Low, D.E., The Canadian Bacterial Surveillance Network: Canadian National survey of prevalence of Antimicrobial Resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 40:2190-2193, 1996.
118. Soewignjo, S., Gessner, B.D., Sutanto, A., Steinhoff, M., Prijanto, M., Nelson, C., Widjaya, A.: *Streptococcus pneumoniae* Nasopharyngeal Carriage Prevalence, Serotype Distribution, and Resistance Patterns Among Children on Lombok Island, Indonesia. *Clin. Infect. Dis.*, 32(7):1039-1043, 2001.
119. Spratt, B.G: Resistance to Antibiotics Mediated by Target Alterations. *Science* 264:388-389, 1994.

120. Syrjanen, R.K., Kilpi, T.M., Kajjalainen, T.H., Herva, E.E., Takala, A.K.: Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Finnish Children Younger Than 2 Years. *J. Infect. Dis.*, 184:451-459, 2001.
121. Syrogiannopoulos, G.A., Grivea, I.N., Davies, T.A., Katopodis, G.D., Appelbaum, P.C., Beratis, N.G.: Antimicrobial Use and Colonization With Erythromycin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* in Greece During the First 2 Years of Life. *Clin. Infect. Dis.*, 31(4):887-893, 2000.
122. Syrogiannopoulos, G.A., Grivea, I.N., Beratis, N.V.: Resistance Pattern of *Streptococcus pneumoniae* from attending day-care Centers in Soutwestern Greece. *Clin. Infect. Dis.*, 25:188-194, 1997.
123. Şener, B., Arıkan, S., Ergin, M.A., Günalp, A.: Rate of Carriage, Serotype And Penicillin Reistance Of *Streptococcus pneumoniae* in Healthy Children. *Tr. J. Med. Science.*, 29:279-283, 1999.
124. Şener, B., Günalp, A.: Trends in Antimicrobial Resistance of *Streptococcus pneumoniae* in Children in a Turkish Hospital. *J. Antimicrob. Chemother.*, 42:381-384, 1998.
125. Şener, B., Köseoğlu, Ö.: Comparative in Vitro Activity of Antiribosomal Agents on Penicillin-Susceptible and Resistant *Streptococcus pneumoniae* in Relation to Their Resistance genotype. *Int. J. Antimicrob. Chemother.*, 24(1):39-42, 20004.
126. Taylor, N.S., Sanders C.V. Unusual Manifestations of Invasive Pneumococcal Infection. *Am. J. Med.*, 107: 12-27, 1999.
127. Tomasz, A.: New Faces of an Old Pathogen: Emergence and Spread of Multidrug-Resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Am. J. Med.*, 107(1A):55S-62S, 1999.
128. Torsten, B., Santiago, E., María A.M., Schultze-Werninghaus, G., Torres, A.: *Streptococcus pneumoniae* in Community-Aquired Pneumonia How Important is Drug Resistance. *Medical Clinics of North America*, 85 (6): 1-1, 2001.
129. Tunçkanat F., Akan, Ö., Gür, D., Akalın, H.E.: *Streptococcus pneumoniae* suşlarında Penisilin Direnci. *Mikrobiol. Bül.*, 26:307-313, 1992.
130. Tuomanen, E.I., Austrian, R., Masure, R. Pathogenesis of Pneumococcal Infection. *N. Engl. J. Med.*, 332:1280-1284, 1995.

131. Tünger, Ö., Özbakkaloğlu, B., Ecemiş, T.: Huzurevi Yaşlılarında *Streptococcus pneumoniae* Taşıyıcılığı ve Bu Kökenlerde Penisilin Direnci. *İnfeksiyon Dergisi*. 15(1):67-71, 2001 .
132. Ubukata, K., Chiba, N., Hasegawa, K., Kobayashi, R., Iwata, S., Sunakawa, K.: Antibiotic Susceptibility in Relation to Penicillin-Binding Protein Genes And Serotype Distribution of *Streptococcus pneumoniae* Strains Responsible for Meningitis in Japan, 1999 to 2002. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 48(5):1488-1494, 2004.
133. Venetz, I., Schopfer, K., Mühleman, K., Swiss Pneumococcal Study Group.: Paediatric, Invasive Pneumococcal Disease in Switzerland, 1985-1994. *Int. J. Epidemiol.*, 27:1101-04, 1998.
134. Verhaegen, J., Glupzinsky, Y., Verbist, L.: Capsule Types And Antimicrobial Susceptibility Of Pneumococci Isolated From Patient in Belgium With Serious Infections, 1980-1993. *Clin Infect Dis.*, 20:1339-1345, 1995.
135. Visalli, M.A., Jacobs, M.R., Appelbaum, P.C.: Susceptibility of Penicillin-Susceptible And-Resistant Pneumococci to Dirithromycin Compared With Susceptibilities to Erythromycin, Azithromycin, Clarithromycin, Roxithromycin, and Clindamycin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 41:1867, 1997.
136. Vives, M., Garcia, M.E., Saenz, P., Mora, M.A., Mata, L., Sabharwal, H., Svanborg, C.: Nasopharyngeal Colonization in Costa Rican Children During The First Year of Life. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 9:852-588, 1997.
137. Watson, D.A., Musher, D.M., Verhoef, J.: Pneumococcal Virulence Factors and Host Immune Responses to Them. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 14:479-90, 1995.
138. Whitney, C.G., Farley, M.M., Hadler, J., Harrison, L.H., Lexau, C., Reingold, A., Lefkowitz, L., Cieslak, P.R., Cetron, M., Zell, E.R., Jorgensen, J.H., Schuchat, A.: Active Bacterial Core Surveillance Program of the Emerging Infections Program Network.: Increasing Prevalence of Multidrug-Resistant *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *N. Engl. J. Med.*, 343(26):1917-24, 2000. .
139. Yaman, A., Taşova, Y., Dündar, İ., Aksungur, P.: Penicillin Resistance in *Streptococcus pneumoniae* in the Balçalı Hospital in Adana, Turkey. *J. Infect.*, 36(3):347-8, 1998.

140. Yeh, S.H., Zangwill, K.M., Lee, H., Chang, S.J., Wong, V.I., Greenberg, D.P., Ward, J.I.: Heptavalent Pneumococcal Vaccine Conjugated to Outer Membrane Protein of *Neisseria meningitidis* Serogroup-b and Nasopharyngeal Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Infants. *Vaccine*, 21(19-20):2627-31, 2003.
141. Yenişehirli, G., Şener, B.: Antibiotic Resistance and Serotype Distribution of *Streptococcus pneumoniae* Strains Isolated from Patients at Hacettepe University Medical Faculty. *Mikrobiyol. Bul.*, 37(1):1-11, 2003.
142. Zhaneli, G.G., Karlowsky, J.A., Palatnick, L., Vercaigne, L., Low, D.E., Hoban, D.J.: Prevalance of Antimicrobial Resistance in Respiratory Tract Isolates of *Streptococcus pneumoniae*: Results of Canadian National Surveillance Study. The Canadian Respiratory Infection Study Group. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 43(10):2504-2509, 1999.
143. Ziglam, H. M., Finch, R. G.: Penicilin Resistant Pneumococci Implications for Management of Community-Acquired Pneumonia and Meningitis. *Int. J. Infect. Dis.*, 4:14-18, 2002.