



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE'NİN MAKROLİD DİRENÇİNDE
mef DENETİMİNDEKİ AKTİF İLAÇ POMPASININ ROLÜ**

BURÇİN KARAÇANLI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. Münevver Ufuk HASDEMİR

İSTANBUL - 2010

EK 2

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()

Anabilim Dalı : Tıbbi Mikrobiyoloji

Tez Sahibi : Burçin Karagözü

Tez Başlığı : Streptococcus pneumoniae'de moksiflavon direncinde mof dene-
timindeki altyıllak pompasının rolü

Sınav Yeri : Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Sınav Tarihi : 07.09.2010

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Kurumu

Prof. Dr. M. Ufuk Hancıoğlu M.Ü. TIP Fak.

Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı,

Soyadı)

Prof. Dr. Aytegin Yagci Karahoson

M.Ü. TIP

Prof. Dr. Önder Ergonül M.Ü. TIP Fak.

İmza

M. Ufuk Hancıoğlu

A. Karahoson

Önder Ergonül

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü yönetim Kurulu'nun 15/09/2010 tarih ve 71. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet GENÇOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez alımasın kendi alııam olduğunu, tezin planlanmasından yazınına kadar butun aıamalarda etik daı davranıının olmadığını bu tezdeki butun bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez alıımasıyla elde edilmeyen butun bilgi ve yorumlara kaynak gosterdiğimi ve bu kaynaklarıda kaynaklar listesine aldığını yine bu tezin alıııııııııı ve yazını sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranıının olmadığını beyan ederim.

24.08.2010

Burın KARAÇANLI

I) ÖNSÖZ

Yüksek lisans eđ itimim ve tez alēmam boyunca her konuda desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimleriyle eđ itimime katkıda bulunan değ erli danēkman hocam Prof. Dr. Münevver Ufuk Hasdemirē,

Eđ itimim süresince bilimsel fikir ve dükünceleriyle yolumu aydēnlatan hocalarēn Prof. Dr. Güner Söyletirē, Prof. Dr. Aykeğül Karahasanē, Prof. Dr. Nilgün erikioğ luēna ve Doç. Dr. Nurver Ülgerē,

Tez alēmamda ve yüksek lisans eđ itimim süresince her zaman destek olan, bilgi, görük, deneyim ve yardēnlarēnē hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Burak Aksuōya, Uzm. Dr. Pēnar Sağ ēođ luēna ve Uzman Dr. Arzu Kkiōye,

Yüksek lisans eđ itimime başladē ēm günden beri her zaman manevi desteğiyle yanēnda olan biyolog Sezgi entürkē,

Değ erli biyolog arkadaşlarēn Silva Polatē, Neke Balkanē ve Övgü elikē, Nil Türkölmezē, Nesrin Aydoğ anē ve Nebahat Tiryakioğ luēna,

Tez alēmalarēn süresince bilgi ve deneyimleriyle desteklerini esirgemeyen doktora öđ rencisi Gülken Altēkanatē ve Deniz Günekerē, M.Sc. biyolog Nilay Özelē,

Anabilim dalēnēzēn ve hastanemizin tüm asistan ve alēanlarēna,

Hayatēnēn her döneminde maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman beraber olduğ um ve onlarla büyüdüğ üm anneme ve babama, her zaman beni yürekten destekleyen canēn kardekim Burak Karaanlōya ve hayatēn boyunca bende apayrēbir yeri ve emē i olan sevgili amcam Erdoğ an Karaanlōya

Sonsuz tekekür ederim.

II) İÇİNDEKİLER

I)	Önsöz	iii
II)	İçindekiler	iv-v
III)	Kısaltmalar Listesi	vi
IV)	Şekil, Resim ve Tablolar Listesi	vii-viii-ix
	Özet	1
	Summary	2
1.	Giriş ve Amaç	3-4
2.	Genel Bilgiler	5-38
2.1.	Tarihçe	5-6
2.2.	<i>Streptococcus pneumoniae</i> 'nin Mikrobiyolojik Özellikleri ve Virülansı	7-17
2.2.1.	<i>Streptococcus pneumoniae</i> 'nin hücre yüzeyi ve virülanstaki rolü	11-16
2.2.1.1.	Kapsül ve virülanstaki rolü	16-17
2.3.	<i>Streptococcus pneumoniae</i> 'nin Klinik Önemi: Enfeksiyonlar, Patogenezi, Epidemiyolojisi, Korunma ve Kontrolü	17-23
2.4.	Makrolid ve Linkozamid Grubu Antibiyotiklerin Genel Özellikleri ve Pnömonoklara Etki Mekanizmaları	23-29
2.4.1.	Makrolid grubu antibiyotikler	23-28
2.4.2.	Linkozamidler	29
2.5.	<i>Streptococcus pneumoniae</i> 'de makrolid direnci ve mekanizmaları	30-38
3.	Gereç ve Yöntemler	39-48
3.1.	Gereçler	39-42
3.1.1.	Besiyerleri	39
3.1.2.	Standart kökenler	39
3.1.3.	Antibiyotikler	40

3.1.3.1.	Antibiyotik diskleri	40
3.1.3.2.	Antibiyotik tozlar	40
3.1.4.	Kimyasal maddeler	40-41
3.1.5.	PZR malzemeleri	41
3.1.6.	Araçlar ve aygıtlar	42
3.2.	Yöntemler	43-48
3.2.1.	İzolatların tanımlaması	43
3.2.2.	Antibiyotik duyarlılık testleri	43-45
3.2.2.1.	İzolatların makrolid ve linkozamid duyarlılıklarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenmesi	43-44
3.2.2.2.	İzolatların makrolid ve linkozamid minimum inhibitör konsantrasyonlarının (MİK) sēvē mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmesi	44-45
3.2.3.	Makrolid direnç mekanizmalarının fenotipik test ile belirlenmesi	45-46
3.2.4.	Makrolid direnç genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlenmesi	46-48
3.2.4.1.	DNA izolasyonu	46
3.2.4.2.	Polimerez zincir reaksiyonu	47
3.2.4.3.	PZR ürünlerinin saptanması	48
4.	Bulgular	49-52
5.	Tartışma	53-57
6.	Kaynaklar	58-69

Özgeçmiş

Etik Kurul Onayı

III) KISALTMALAR

ATCC: *American Type Culture Collection*

BOS: Beyin omurilik s v   

Bp: Baz  ifti

C: Sitozin

CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*

CRP : C-reaktif protein

CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute*

cMLS_B: *Constitutive Macrolid Linkosamid Streptogramin B*

DNA: Deoksiribon kleik asit

EARSS: *European Antimicrobial Resistance Surveillance System*

G: Guanin

iMLS_B: *Inducible Macrolid Linkosamid Streptogramin B*

Kb: Kilobaz

Kob: Koloni olu turan birim

M   : Minimum inhibitör konsantrasyonu

ODPD: Orta d zey penisilin direnci

PBP: Penisilin ba layan protein

PROTEKT: *The Prospective Resistant Organism Tracking and Epidemiology
for the Ketolide Telithromycin*

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu

YDPD: Yüksek düzey penisilin direnci

WHO: World Health Organization

IV) ŞEKİLLER, TABLOLAR VE RESİMLER

I. ekillerin Listesi

Şekil 1. Gram pozitif bakteri hücre yüzeyinin kematik görünümü

Şekil 2. Gram pozitif bakteri hücre duvar yapısının kematik görünümü

Şekil 3. *Streptococcus pneumoniae* hücre membran hücre duvar ve kapsülü.

Şekil 4. *Streptococcus pneumoniae* de yüzey yapıdar ve virlans faktörleri

Şekil 5. *Streptococcus pneumoniae* nin virlans faktörlerinin kematik görünümü

Şekil 6. Makrolid ve ketolitlerin moleküler yapıdarn kematik görünümü

Şekil 7. Ribozomun yapısının kematik görüntüsü

Şekil 8. Translokasyonun kematik görüntüsü

Şekil 9. Klindamisinin moleküler yapısının kematik görüntüsü

Şekil 10. Major Facilitator Süper (MFS) ailesinden dka atn pompasının kematik görüntüsü

II. Resimlerin Listesi

Resim 1. *Streptococcus pneumoniae*’nin mikroskopik görüntüsü

Resim 2.1. Kanlı agar da alfa hemoliz yapan *Streptococcus pneumoniae* kolonilerinin görüntüsü

Resim 2.2. Kanlı agar da beta hemoliz yapan *Streptococcus pneumoniae* kolonilerinin görüntüsü

Resim 3. *Streptococcus pneumoniae*’nin kanlı agar da mukoid kolonilerinin görüntüsü

Resim 4. *Streptococcus pneumoniae*’nin tipik draught kolonilerinin görünümü

Resim 5. *Streptococcus pneumoniae*’de optokin duyarlılığı

Resim 6. Quellung (kapsül kırma reaksiyonu) reaksiyonu

Resim 7. *Streptococcus pneumoniae*’de kapsül kırma reaksiyonunun (quellung) mikroskoptaki görüntüsü

Resim 8. cMLS_B direnç fenotipi: Eritromisin, azitromisin ve klaritromisine dirençli izolat

Resim 9. iMLS_B direnç fenotipi: Eritromisin, azitromisin, klaritromisine dirençli klindamisin eritromisine bakan yüzünde küntleşme görünümü

Resim 10. M direnç fenotipi

Resim 11. Kontrol kökenlerinin eritromisin klindamisin çift disk testi sonuçları

Resim 12. Makrolid direnç genleri negatif ve pozitif olan kontrol kökenlerinin agaroz jeldeki görüntüsü

Resim 13. Makrolid direnç geni [*erm*(TR)] negatif ve pozitif olan kontrol kökeninin agaroz jeldeki görüntüsü

Resim 14. İzolatların MİK değ erlerinin tespit edildiği i s ev mikrodilüsyon plağından bir kesit

Resim 15. Makrolid direnç genleri pozitif olan kökenlerinin agaroz jeldeki görüntüsü

III. Tabloların Listesi

Tablo 1. Pnömonokok enfeksiyonuna zemin hazırlayan durumlar

Tablo 2. Makrolidlerin sınıflandırılması

Tablo 3. CLSI'nin *Streptococcus pneumoniae* için önerdiği disk difüzyon değeri belirleme kriterleri

Tablo 4. CLSI'nin *Streptococcus pneumoniae* için önerdiği minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeri belirleme kriterleri

Tablo 5. Polimeraz zincir reaksiyonu koşulları

Tablo 6. Makrolid direnç genlerine özgü primerler

Tablo 7. Kökenlerin izole edildiği örnek türü ve hasta yakınına göre dağılımı

Tablo 8. İzolatların makrolid ve linkozamid grubu antibiyotiklere MiK değerlerinin dağılımı

Tablo 9. 50 Eritromisin dirençli kökenlerde direnç genleri dağılımı

Tablo 10. Makrolid direnç fenotipinin, makrolid direnç genleri ve minimal inhibitör konsantrasyonlarıyla ilişkisi

ÖZET

Streptococcus pneumoniae toplum kaynaklı solunum yolu enfeksiyonları en önemli etkeni olup, morbiditesi ve mortalitesi yüksek enfeksiyonlara yol açan bir patojendir. Makrolidlerin toplum kaynaklı solunum yolu enfeksiyonları tedavisinde yaygın ve uygunsuz kullanımı bu grup antibiyotiklere dirençli pnömokokların tüm dünyada yayılmasına yol açmıştır. Ülkemizde makrolidlere dirençli pnömokokların insidansı % 25'in üzerindedir.

Çalışmamızda amaçımız; hastanemizde klinik örneklerden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve makrolid direnci gösteren pnömokok izolatlarının makrolid direncinde, *mef* denetimindeki aktif ilaç pompasının rolünü ortaya koymaktır.

İzolatların disk difüzyon yöntemi ile eritromisin, azitromisin, klaritromisin, klindamisin duyarlılığı ve sē mikrodilüsyon yöntemi ile minimum inhibitör konsantrasyonları belirlenmiştir. Makrolid direnç fenotipinin saptanmasında eritromisin ve klindamisin çift disk yöntemi kullanılmıştır. İzolatlarda makrolid direncinin genetik determinantları *mef*(A), *mef*(E), *erm*(B), *erm*(TR) her gene özgü primerler kullanılarak PZR yöntemiyle tespit edilmiştir. İzolatların % 40'ında (n:20) sadece *erm*(B), % 30'unda (n:15) sadece *mef*(E) geni, % 30'unda (n:15) da her iki gen birlikte bulunmuştur. *erm*(B) taşıyan izolatlar cMLS_B fenotipinde olup, makrolid ve linkozamid MIC'leri yüksek düzeydedir. Sadece *mef*(E) taşıyan izolatların 14'ünde M fenotipi saptanmış ve makrolid MIC'leri göreceli olarak düşük bulunmuştur. *mef*(E) taşıyan 1 izolat iMLS_B fenotipinde bulunmuştur.

Çalışmamız kökenlerdeki yüksek eritromisin direncinden sorumlu olan ana mekanizma hedef bölge değişikliği [*erm*(B)] olarak bulunmasına rağmen, yalnız bakına ya da *erm*(B) ile birlikte bulunan yüksek *mef*(E) geni varlığı bölgemizdeki makrolid dirençli pnömokoklar açısından yeni bir tehdit olarak karşımıza gelmektedir.

Anahtar sözcükler: *erm*(B), makrolid direnci, *mef*(E), *Streptococcus pneumoniae*

SUMMARY

The Role of the Active Macrolide Efflux Pump Mediated by *mef* in the Macrolide Resistance of *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae is the most important pathogen of the community-acquired respiratory tract infections and causes high morbidity and mortality rates. Widespread and improper use of macrolides for the treatment of the community-acquired respiratory tract infections has led to the quick spread of the antibiotic-resistant pneumococci throughout the world. Incidence rate of the macrolide-resistant pneumococci is 25 % in our country. Our aim in this study is to display the role of the active drug pump under the control of *mef* in the macrolide resistances of pneumococcus isolates that are isolated from the clinical samples as the infection factor in our hospital and show macrolide resistance. Erythromycin, azithromycin, clarithromycin, clindamycin sensitivity of the isolates were determined with disc diffusion method and their minimum inhibitory concentrations investigated with liquid microdilution method. Erythromycin and clindamycin double disc method was used for the determination of macrolide resistance phenotype. Genetic determinants of the macrolide resistance: *mef*(A), *mef*(E), *erm*(B), *erm*(TR) genes were detected in the isolates with PCR method by using primers specific to each gene. *erm*(B) was the only gene in 40 % (n:20) of the isolates while *mef*(E) gene was detected alone in 30 % (n:15) of the isolates and both genes were detected in 30 % (n:15). Isolates carrying *erm*(B) show cMLS_B phenotype and their macrolide and lincosamide MIC levels are high. M phenotype was detected in 14 of the isolates carrying only *mef*(E) and their macrolide MIC levels were found to be relatively low. One isolate carrying *mef*(E) was found to show iMLS_B phenotype.

Although the main mechanism responsible for the high erythromycin resistance in the origins of our study was found out to be the target area change [*erm*(B)], presence of *mef*(E) gene either alone or with *erm*(B) emerges as a new threat to the macrolide-resistant pneumococci in our region.

Key words: *erm*(B), macrolide resistance, *mef*(E), *Streptococcus pneumoniae*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Streptococcus pneumoniae çocuklarda ve erişkinlerde toplum kaynaklı pnömoni, otitis media, sinüzit, menenjit ve sepsisin önde gelen etkenleri arasında olup, belirli hasta gruplarında morbiditesi ve mortalitesi yüksek olan enfeksiyonlara neden olmaktadır. 1980'li yıllardan başlayarak penisiline dirençli ve çoklu dirençli *S. pneumoniae* kökenleri giderek yaygınlaşmakta ve dünya genelinde önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu durum pnömokok enfeksiyonlarının tedavisinde makrolidlerin alternatif olarak öne çıkmasına sebep olmuştur. Pnömokoklarda penisiline dirençli suşların artmasıyla birlikte, alternatif antimikrobiyallerin daha fazla kullanılmasıyla birlikte makrolidler baktı olmak üzere diğer antimikrobiyallere de direnç gelişmeye başlamıştır. Avrupa Antimikrobiyal Direnç İzleme Sistemi'nin (EARSS) 2005 yılı verilerine göre Türkiye'de haftanın eritromisin direnç oranı % 10 iken, bu oran 2008 yılında Türkiye'nin de aralarında bulunduğu bir grup ülkede (İtalya, Türkiye, Fransa, Macaristan, Kıbrıs) % 25-50 arasında olmuştur. Türkiye'deki eritromisin direnç oranı ise % 29'dur. Pnömokoklarda en yüksek eritromisin direnci Asya ülkelerinde görülmektedir.

Pnömokokların klinikte önem taşıyan makrolid direncinde, esas olarak iki mekanizma rol oynamaktadır. İlki; sentezlenen metilaz enzimiyle ribozomal RNA'nın metilasyonu sonucu antibiyotik hedefinde değişiklik oluşması ikincisi; antibiyotik aktif olarak hücre dışına pompalanması (efflux) mekanizmalarıdır. Son dönemlerde yapılan pnömokoklarda makrolid direncinden sorumlu mekanizmaların araştırılmasına birçok çalışma, ilacın hücre dışına atılmasına yol açan aktif pompa proteinlerinin makrolid direncindeki rolünün giderek arttığına dikkat çekmektedir. *mef* geni denetimindeki aktif ilaç pompası prevalansı makrolid dirençli *S. pneumoniae* izolatlarında giderek artmaktadır. Ülkemizde pnömokoklarda görülen makrolid direnç mekanizmalarının genetik karakteristiklerini araştıran çalışma sayısı sınırlıdır. Pnömokok enfeksiyonlarının etkin tedavisi için mikroorganizmanın yaygın kullanımındaki antibiyotiklere karşı geliştirdiği antibiyotik direnç mekanizmalarının belirlenmesinin ve bölgesel farklılıkların ortaya konulmasının büyük önemi vardır.

Makrolidlere dirençli pnömokokların oranı ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye, hastaneden hastaneye hatta aynı hastane içinde çeşitli birimler arasında dahi farklılıklar göstermektedir.

Bu çalışmada amaçlarımız, hastanemizde klinik örneklerden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve makrolid direnci gösteren pnömokok izolatlarında, makrolid direncinin fenotipik ve genotipik karakteristiklerini ve makrolid direncinde *mef* denetimindeki aktif ilaç pompasının rolünü ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

1881 yılında Amerikalı bilim adamı George Miller Stenberg ve Fransız bilim adamı Louis Pasteur başlıca olarak yaptıkları çalışmalarda, insan tükürüğüünü tavşanlara enjekte ettikten sonra, tavşanların kanında lanset şeklindeki diplokokları tespit etmişlerdir ve o zamandan beri pnömokoklar, klinik öneme en fazla sahip bakterilerden biri olmuştur. Stenberg tarafından *Micrococcus pasteur* ve Pasteur tarafından *Microbe septicemique du salive* olarak adlandırılan pnömokokların pnömoni ile ilişkisi ilk olarak 1882'de, pnömoni sonucu ölmüş sekiz hastanın akciğer kesitlerinde Friedländer'in diplokokları göstermesi ile bakılır (1,2,3). Christian Gram, bu hastaların akciğer kesitlerini anilin-jelatin moru, iyodin ve Bismarck kahverengisi ile boyadığında, kesitlerde anilin-jelatin moru ile boyanmış ikili uzamış kokları görmüştür (1). Böylelikle pnömokoklar, Gram boyama ile gösterilen ilk mikroorganizmalar olmuştur (1,2).

Pulmoner hastalık yapma yetiminden dolayı 1886'da mikroorganizmanın ismi; *Pneumococcus* olarak konulmuş ancak 1920'de mikroskoptaki ikili kokları halindeki görüntüsünden dolayı *Diplococcus pneumoniae* olarak yeniden adlandırılmıştır. Sıvı besiyerinde kok zincirleri şeklindeki üreme özelliklerinden dolayı mikroorganizmaya, 1974 yılında taksonomik olarak *Streptococcus* cinsi içerisinde, günümüzde bilinen adı olan *Streptococcus pneumoniae* adı verilmiştir (1,3).

1890'de yılların baklarında Felix ve George Klemperer eşle ile öldürülmüş pnömokok kökenlerini tavşanlara enjekte ederek yaptıkları çalışmada, tavşanların aynı kökenle yeniden karıştırdıklarında bu kökene karşı başlıca hale geldiklerini, aktif immünizasyon ile hayvanların korunabileceğini ve serumda bu korunmaya neden olan faktörlerin olduğunu ortaya koymuşlardır. *S. pneumoniae*'nin kullanıldığında bu çalışma, modern immünolojinin temelini oluşturur (1,4).

1900 yēānda Neufeld, safranē pnōmokoklar ūzerine litik etkisi olduēunu ve 1902 yēānda da tipe ōzgē antiserum ile kapsēl materyali arasēnda olukan ve kapsēlēn gōrēnūr hale gelmesini saē layan kapsēl kıkme reaksiyonunu (Quellung) gōstermiktir (1,2,3).

1927 yēānda Scheiman ve Casper, 1930'da ise Francis ve Tillet insanlarda kapsēler polisakkarit ile immēnizasyon saē lanabileceēini gōstermiklerdir. 1977'de tetravalan pnōmokok akēāna lisans alēnmēk ve 1983'te de 23 serotipi iēeren 23-valanlē akēkullanēna girmiktir (1,5).

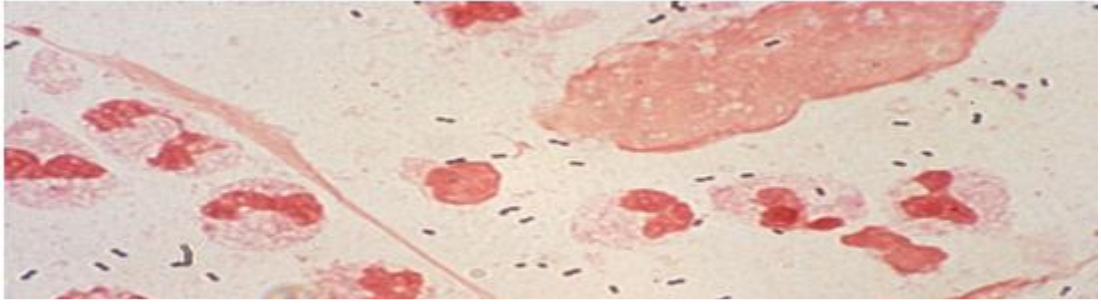
Farmakoterapide ilk olarak ņkininō kullanēlmēk, sonra da kinin derivesi olan ņetilhidrokēprein hidroklorideō (optokin) kemoterapiye ilave edilmiktir. 1912 yēānda Morgenroth ve Kaufmann optokine direnēli pnōmokoklarē farelerden izole etmiklerdir. Kū vivo bir kaynaktan elde edilen pnōmokoklar, antimikrobiyal bir ajana direnē gōsterdēi belirlenen ilk bakterilerdir (2,5).

Streptococcus pneumoniae DNAēnēn kekfinde de ōnemli rol oynayan bir bakteridir. 1920ēde Griffith farelere canlē ve kapsēlsēz pnōmokoklarla birlikte, ēē ile ōldērēlmēk kapsēllē pnōmokoklarē intraperitoneal olarak enjekte etmiktir. Daha sonra farelerden canlē kapsēllē bakteriler izole etmik ve bu olayē ņtransformasyonō olarak adlandērmēktē (4). Griffithēn transformasyona dayalē ēalēmasē genetik materyalin nēkleik asit olduēu fikrine temel tekkil etmiktir (6). 1944 yēānda bir grup araktēēē tarafēndan transformasyon sērasēnda DNAēnēn fenotipik deē ikimden sorumlu olduēu gōsterilmiktir. Bu ēalēma, molekēler genetik alanēnēn baklangēē ēalēmasē olarak kabul edilmektedir (1,3,4). Bunu takiben 1953ēde Watson ve Crick, pnōmokoklarla ilgili ēalēmalarēn ēēē ānda genetik materyalin yapēēnē yani ēift sarmalli DNAēyē aēēklamēdlardē (7).

2001 yēānda *Streptococcus pneumoniae* R6 kōkenin genomu aydēnlatēlmēktē. Bakterinin tek dairesel kromozomu bulunmakta, 2.038.615 baz ēiftinden (bp) (% 40 G+C) olukmaktadē ve 2043 tane protein kodlayan bōlgesi vardē (8). Aynē yēā yapēdan ēalēmada *Streptococcus pneumoniae* TIGR4 kōkenin genomunun, 2.160.837 baz ēiftinden (% 39.69 G+C) oluktuēu ve 2236 tane protein kodlayan bōlgesi olduēu tespit edilmiktir (9).

2.2. *Streptococcus pneumoniae*’nin Mikrobiyolojik Özellikleri ve Virülansı

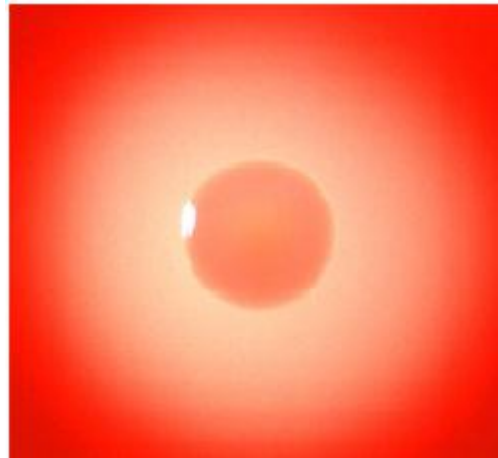
Streptococcus pneumoniae, *Streptococcaceae* ailesinin *Streptococcus* cinsinde yer alan bir türdür. Gram-pozitiftir. Oval veya yuvarlak, 0.5-1.25 µm boyutlarında, tipik olarak ikili, bazen de tek veya kısa düz zincirler halinde bulunurlar. Her ikilinin distal uçları sivrilermeye eğimlidir (10). Şekilleri lansete benzer. Hareketsizdirler (11) (Resim 1). Sitokromlardan ve katalaz enziminden yoksundur. Kültür ortamında olukan hidrojen peroksitin (H_2O_2) etkisinden korunmak için, ekzojen katalaza gereksinim duyar, bunu da eritrositler sağlar (10,12). Aerob kokullarda kanlı agar da, alfa (α) hemoliz, anaerob ortamda ise pnömolizin-O₂ya bağılı olarak beta (β) hemoliz oluşturlar (Resim 2.1, 2.2). Kapsül polisakkarit maddesi akare yapıldığında, agar besiyerinde, mukoid görünümlü M koloni oluşturlar (Resim 3).



Resim 1. *Streptococcus pneumoniae*’nin mikroskopik görüntüsü: Gram pozitif, lanset şekilli diplokoklar (<http://www.microbelibrary.org>)



Resim 2.1. Kanlı agar da alfa hemoliz yapan *Streptococcus pneumoniae* kolonilerinin görüntüsü (<http://www.microbelibrary.org>)



Resim 2.2. Kanlı agar da beta hemoliz yapan *Streptococcus pneumoniae* kolonilerinin görüntüsü (<http://www.microbelibrary.org>)

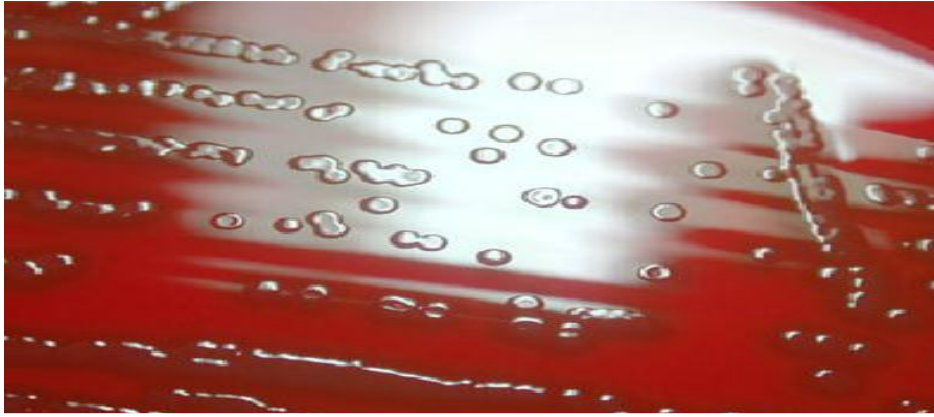


Resim 3. *Streptococcus pneumoniae*’nin kanlı agarda mukoid kolonilerinin görüntüsü (<http://www.microbelibrary.org>)

Hücre duvarının majör polimerleri; peptidoglikan ve kolin-ribitol-teikoik asit kompleksinden oluşur. Safra/safra tuzları bakterinin otolitik enzimi; L-alanin müramil amidazı aktive eder ve hücreler lizise uğrar (3,10). Kökenlerin çoğu optokine duyarlıdır. Bakteriler 600 °C sıcaklığa 30 dakika dayanabilirler. *S. pneumoniae* fakültatif anaerob bir bakteri olması rağmen, klinik örneklerden ilk izolasyonunda % 5-10 CO₂’li ortamdaki inkübasyonda daha iyi ürer (13,14). Pnömonokoklar basit besiyerlerinde üremeyip; kan, serum, haben serum gibi maddeler içeren zenginleştirilmiş besiyerlerinde, % 5 koyun kanı ilave edilmiş beyin-kalp infüzyon agar, triptik soy agar veya çukulata agarda iyi ürerler (14,15). Kanlı besiyerinde ürediklerinde kolonilerin etrafında, α-hemoliz olarak kabul edilen yekil bir zon görülür. Bu, bakterinin oluşturduğu pnömolizin enzimi ile iliklidir, eritrositlerle ilgili olmayıp hemoglobinin parçalanması ile ilgilidir (12,14). İsmi 25-42 °C ve pH’ın da 6.5-8.3 olduğu kokullarda üreyebilirler (15). Optimal üreme sıcaklığı 37 °C’de pH 7.4-7.8 olarak bilinmektedir. Fakültatif anaerob olduklarından karbonhidratları laktik aside fermente ederek enerji kazanırlar. Açık ve çekim laktik asit ise, hızlı toksik seviyelere ulaşarak bakterilerin üremelerini sınırlar. Pnömonokoklar oksijenli ortamda metabolizma ürünü olarak H₂O₂ açığa çıkarırlar. Uzun süreli inkübasyonda kalırlarsa, ortamda H₂O₂ birikimi sonucu sitolize uğrarlar (15). Ayrıca koloniler zaman içerisinde otolize uğradıklarından, santral kesimlerinde bir çöküntü meydana gelir (16).

Pnömonokok enfeksiyonlarının kesin tanısı klinik örnekten mikroorganizmanın izolasyonunu sağlayan kültür ile konmaktadır (17,18). *Streptococcus pneumoniae*’nin tipik morfolojik özellikleri ve uygulanan fenotipik testler tanı

koymaya yardımcıdır. Klinik örneklerin gram preparasyonunun direkt mikroskopik incelemesinde; lanset şeklinde gram pozitif diplokoklar veya zincir yapma koklar halinde görülürler (18). Klinik materyal % 5 oranında defibrine edilmiş koyun kanı içeren agar ekilir ve % 5 CO₂ ortamda 35 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılır (17). İnkübasyon esnasında, pnömokoklar tarafından üretilen hemolizin enzimiyle hemoglobinin parçalanması sonucunda, alt katmanlar ve çevresi yeşil α-hemoliz zonu ile çevrili, küçük, gri, yekilimsi, mukoid koloniler görülür. 24-48 saatlik inkübasyon sonrasında kolonilerin merkezleri çökük hale gelir ve bu kolonilere draughtsman kolonileri adı verilir (18). Ortası çökük koloniler bakterinin otolitik enzimleri nedeniyle hücre yapılarının erimesi sonucu meydana gelir (19) (Resim 4).



Resim 4. *Streptococcus pneumoniae*'nin tipik draughtsman kolonilerinin görünümü (<http://www.microbelibrary.org>).

Pnömokokların mikrobiyolojik identifikasyonunda 4 reaksiyon kriteri söz konusudur; kanı agarda α-hemoliz oluşturan, optokine duyarlı safrada eriyebilen ve katalaz negatif reaksiyon veren izolatlar pnömokok olarak tanımlanır (12). Bakterinin diğer α-hemolitik streptokoklardan ayarınada en sık kullanılan test, optokin duyarlıdır. Optokin testi disk difüzyon prensibi ile çalışan ve pnömokok olduğu düşünülen bakterilerin, ekimi yapılmış kanı agar besiyerine optokin emdirilmiş diskin yerleştirilip 18-24 saatlik inkübasyon sonrasında, diskin etrafında olukan inhibisyon zonunun çapına göre duyarlı ya da dirençli diye değerlendirildiği bir yöntemdir. 6 mm çapında optokin diski kullanıldığında zon çapı 14 mm veya 10 mm çapında disk kullanıldığında zon çapı 16 mm olan ve safrada eriyen koloniler pnömokok olarak tanımlanır (Resim 5) (12,18,20,21).



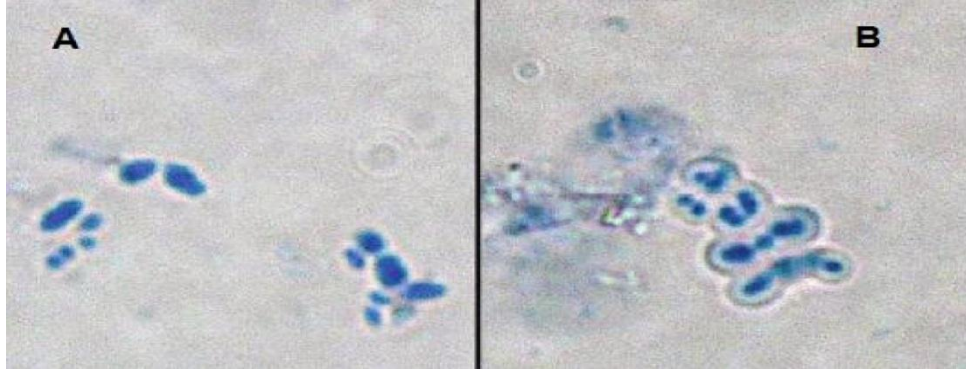
Resim 5. *Streptococcus pneumoniae*’de optokin duyarlılık testi (18 numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

Safra tuzu bakterinin erimesine neden olan indirekt etkili bir madde olup otolitik enzim sentezini aktive ederek etkisini gösterir. Optokine duyarlılık deneyinden daha özgül olduğu kabul edilir. Kanlı agar da üremiş, pnömokok olduğu düşünülen bakteri kolonisinin üzerine, birkaç damla safra tuzu solüsyonunun eklenmesi, sonrasında da 15 dakika kadar etüvde inkübasyona bırakılması ile yapılmaktadır. Pnömokoklar, sentezledikleri otolitik enzimlerin tuzlar aracılığıyla aktive olmaları sonucunda litik reaksiyona girerek besiyerinde erimektedir. Besiyerinde gözlenen bu erimeye göre sonuç verilmektedir (18,20,21).

Günümüzde optokine dirençli pnömokokların bildirilmesi ve *Streptococcus pseudopneumoniae*’nin tanımlanmasından sonra, *Streptococcus pneumoniae*’nin tanımlanması karmaklık hale gelmiştir. Pnömokok tanımlanması sadece optokin duyarlılık testi ile kalmamalı, safrada erime testi de kolonilere uygulanmalıdır. *S. pseudopneumoniae*’nin, *S. pneumoniae*’den ayrılmasında dikkat edilmesi gereken özellikleri; kapsülsüz olması, safrada erimemesi, % 5 CO₂’li ortamda inkübe edildiğinde optokine dirençli veya az hassas görülmesi, normal oda kokullarında inkübe edildiğinde ise, optokine hassas görülmesidir (12,18,22).

Pnömokokların serolojik tanısında kullanılan Quellung reaksiyonu, tanı ve serotiplendirmede kullanılan bir testtir. Bakterinin kapsül materyali ile tipe özgü antiserum arasında oluşan presipitasyon reaksiyonu sonucunda kapsülün görünür

hale gelmesi esasēna dayanē (Resim 6). Günümüzde kullanēdan ticari antiserumlar 90 farklı serotipi tanēmlayabilir. Serotiplendirmede kapiller presipitasyon, karkēēklē immünoelektroforez (CIEP), lateks aglütinasyon ve koagl tinasyon yöntemlerinden yararlanēdabilir (23).



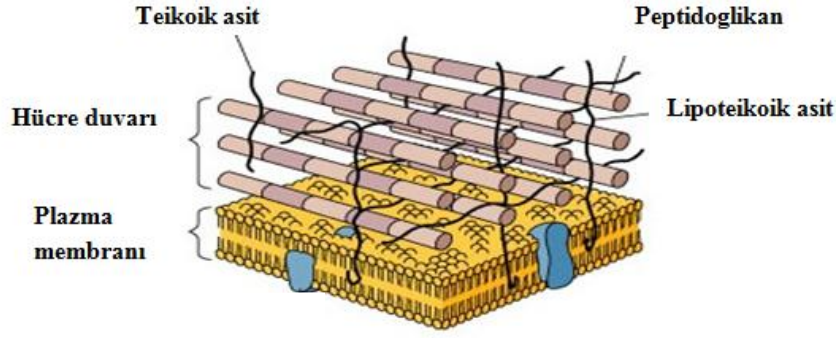
Resim 6. Quellung (kapsül k kme) reaksiyonu (18 numaralē kaynaktan uyarlanm t r).

Bakterinin k pheli klinik örneklerde gösterilmesinde veya saf kültürün tanēēnda özellikle virulans faktörlerini belirleyen genlerin saptanmasē moleküler tanē yöntemlerindendir. Rintamaki ve ark. pnömolizin gen yapēēnē belirlemek amacēyla, geliētirilm k PZR yöntemiyle klinik örneklerde güvenilir sonuēlar elde etm klerdir. Bakēcalarē DNA-DNA hibridizasyonu, DNA prob hibridizasyonu, 16S rRNA sekanslama ve PZR teknolojisine dayalē yöntemlerdir (19). Günümüzde gerēek zamanlē polimeraz zincir reaksiyonu h zlē sonuē vermesi, kontaminasyon riskini en aza d k rmesi gibi avantajlarēndan dolayēlytA, ply ve psaA gibi pnömokokal vir lans genlerini saptamada umut vermektedir (24).

2.2.1. *Streptococcus pneumoniae* nin hücre yüzeyi ve vir lanstaki rolü

Streptococcus pneumoniae grubu bakterilerde hücre yüzeyinde iēten d ēa doē ru    tabaka ay t edilir; sitoplazmik membran, hücre duvarēve kapsül (25) ( ekil 1).

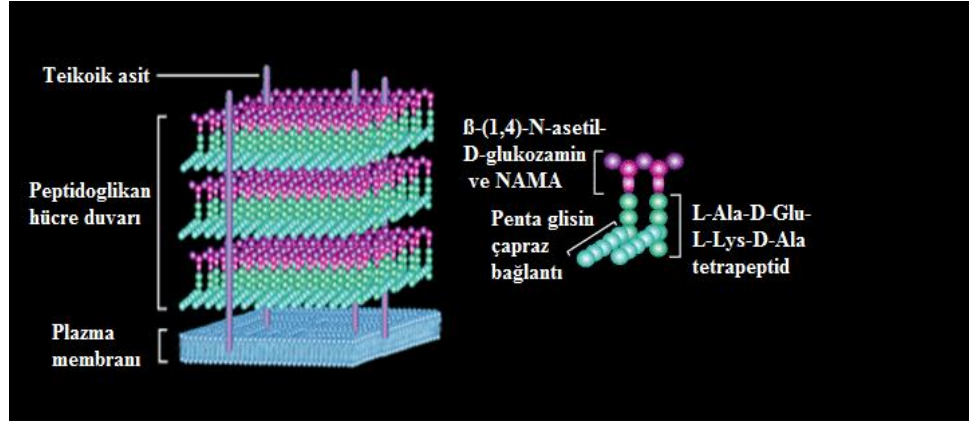
Sitoplazmik membran tüm bakteri hücrelerinde sitoplazmayē çevreleyen, fosfolipit, protein ve karbondhidrat iēeren bir membrandır. Fosfolipit tabaka genellikle fosfatidilgliserol, fosfatidil etanolamin ve difosfatidil gliserolden olukur. Fosfatidil kolin (lesitin) sadece birkaç bakteri türünde bulunur (26).



Şekil 1. Gram pozitif bakteri hücre yüzeyinin şematik görünümü : En içte plazma membranı ve plazma membranının üzerinde peptidoglikan tabaka ile teikoik asit ve lipoteikoik asitten oluşan hücre duvarı (www.classes.midlandstech.edu)

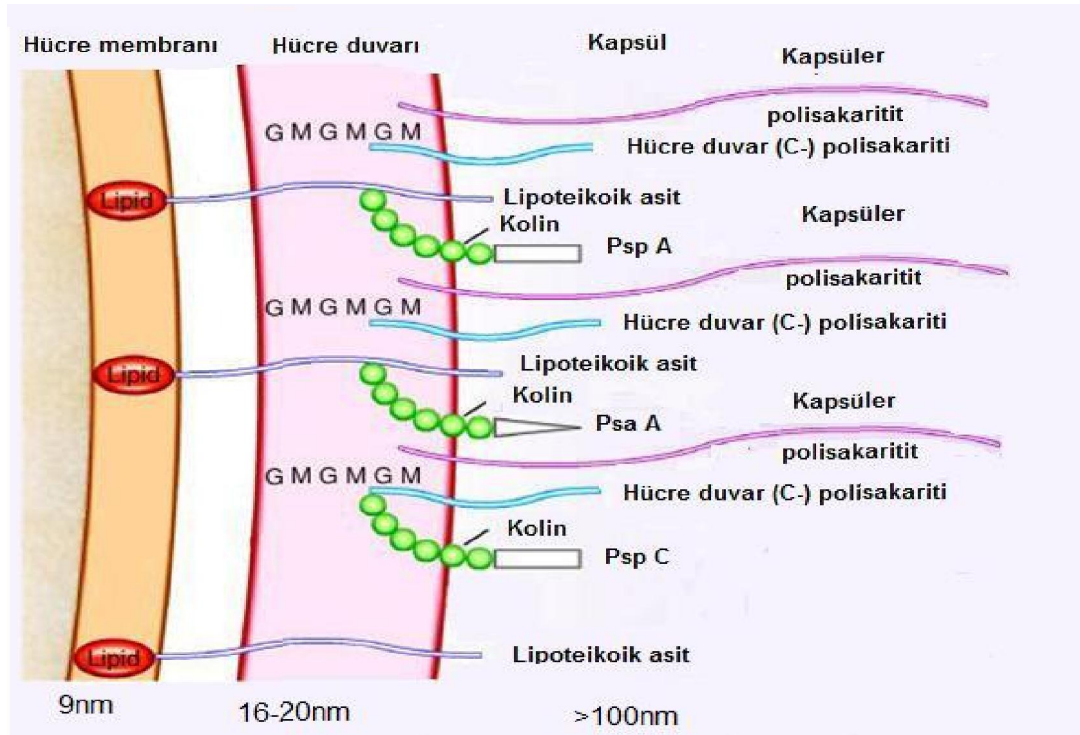
Hücre duvarı sitoplazmik membranın dışında yer alan bakteriye şeklini veren, dayanıklı ve kompleks bir yapıdır. Fiziksel bariyer olarak işlev gören bu yapı bakteriye kendi iç basıncına karşı korumaktadır. Bakteri hücre duvarındaki temel yapı peptidoglikan denilen büyük bir polimerdir. Bu tabakanın omurgası 1,4 β-glikozid bağlarıyla bağlanan N-asetilglukozamin (NAGA) ve N-asetilmuramik asit (NAMA) molekülleri tekil eder. Gram pozitif bakterilerde NAMA molekülüne önce L-alanin bağlanır, buna D-glutamik asit ve L-lizin eklenir. Birbirine bağlanmak için iki D-alanin (D-alanin, D-alanin) molekülünden oluşan dördüncü ve beşinci aminoasitler de, ilk üç aminoasite katılarak halinde bağlanırlar ve pentapeptid yan zincirini oluştururlar. Her bir zincir üzerindeki penta glisin ile yanındaki zincirin DAP veya L-lizin molekülü arasında çapraz ve kovalent bağlar meydana gelir. Dördüncü pozisyonundaki D-alanin, diğer zincirde üçüncü pozisyonundaki L-lizine penta glisin bağla ile bağlanır. Son aminoasit olan D-alanin kopar, kompleksten ayrılır ve geriye dört aminoasit kalır (26,27) (Şekil 2). Bu olay transpeptidasyondur ve β-laktam grubu antibiyotiklerin etki alanıdır. Sitoplazmik membranın dış yüzünde yer alan serin proteaz derivativesi transpeptidaz, transglikosilaz, karboksipeptidaz, endopeptidaz gibi enzimlerle katalize edilmektedir ve bunlara Penicilin Bağlayan Protein (PBP) denmektedir (28).

Pnömonokokların hücre duvarı peptidoglikan ve kolin, ribitol, teikoik asit kompleksinden oluşur (29,30). Hücre duvarının dışı iki tabakasında bakteri hücre yüzeyine ait antijenik determinantlar yer almaktadır (26) (Şekil 3).



Şekil 2. Gram pozitif bakteri hücre duvar yapışının şematik görünümü (www.sigmaaldrich.com).

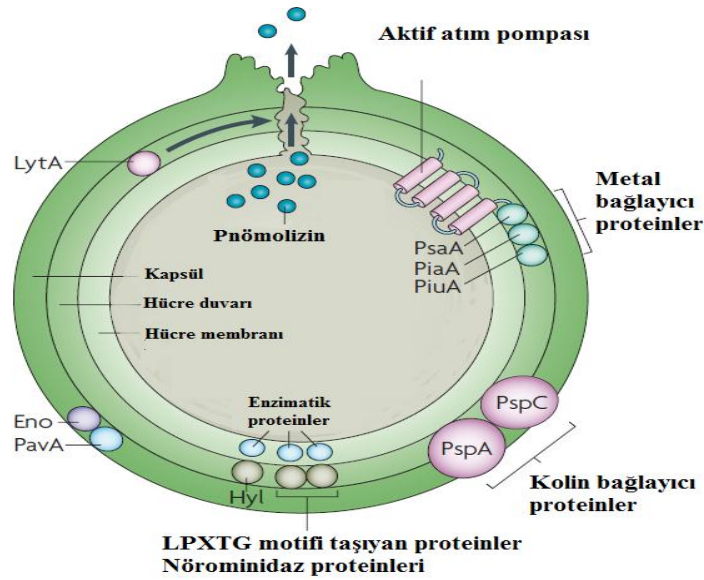
Suda eriyebilen, fosfodiester bağları ile bağlanarak uzun zincirler teşkil eden teikoik asit; kolin, fosfat ve galaktozaminde zengindir (29). Kolin, hücre duvarının hidrolizinde önemli rol oynar ve yokluğunda pnömokok otolitik enzimleri görev yapamaz (29,30). Hücre duvarının asıl elemanı türe özel karbonhidrat olan C polisakaritidir. Teikoik asit polimeri olan C antijeninin yapısında; kolin, galaktoz, ribitol, glikoz ve fosfat bulunur. Bu antijene karşın konakta C reaktif protein (CRP) ismi verilen bir madde oluşturulur (15,17).



Şekil 3. *Streptococcus pneumoniae* hücre membranı hücre duvarı ve kapsülü. M:NAM ve G:NAG (12 numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

Pnömonokokların virülansından sorumlu en önemli yapıları olan kapsülleri hücre duvarının dışında yer alır ve hücreye asıl şeklini verir. Kapsül polisakkaritleri; tekrarlayan ünitelerden oluşan, dallanan veya dallanmayan 5-6 karbonlu monosakkaritlerin oluşturduğu yüksek molekül ağırlıklı polimerlerdir (3,29,31,32). Her antijenik tip için ayrı immünojenik özellik taşıyan kapsüller polisakkaritlere "specific soluble substance" (spesifik çözünebilir madde) kısaca "SSS" adı verilir (33).

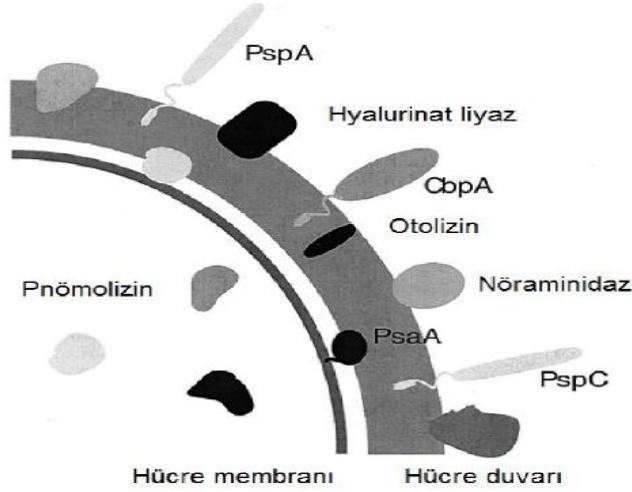
Pnömonokoklarda bekenden fazla yüzey proteini vardır. Bu proteinlerin bir kısmı kovalan olarak peptidoglikan tabakaya bağlanırken, bir kısmı ise fosforilkolin aracılığıyla non-kovalan olarak bağlanır. Bunun sonucunda üç ana protein ailesi karımıza çıkar (29). Bunlar; lipoproteinler, kolin bağlayıcı protein ailesi ve LPXTG motifi taşıyan protein aileleridir. Pnömonokokların hücre duvarında non-kovalan bağlarla bağlanmak 13-16 adet çeşitli proteinler bulunmaktadır. Bu proteinler; kolin bağlayıcı proteinler (CBP) ailesini oluştururlar. Bu ailenin en önemli üyeleri; koruyucu protein olan PspA, ana adezin CbpA ve otolitik enzim LytA'dır (34,35) (Şekil 4).



Şekil 4. *Streptococcus pneumoniae*’de yüzey yapıları ve virülans faktörleri (32 numaralı kaynaktan uyarlanmıştır)

Pnömonokokların patojenitesinden sorumlu çok sayıda virülans faktörü vardır ve önemli bir kısmı yüzey yapılarını oluşturur. Günümüzde kapsülsüz bazı suşların,

kapsüllü olan suklar kadar virülan olduklarēnē gösterilmik olmasē virülansta kapsül kadar önemli olan bir çok protein yapēnē da olduğunu ortaya çēkarmēktē. En önemli proteinler; hyalürinat liyaz (Hyl), pnömolizin, iki nöraminidaz (NanA ve NanB), ana otolizin (LytA), kolin bağ layēēprotein A (CbpA) pnömokok yüzey antijen A (PsaA) ve pnömokok yüzey protein A (PspA)ôđē (şekil 5) (36).



şekil 5. *Streptococcus pneumoniae*ın virülans faktörlerinin kematik görünümü (36 numaralē kaynaktan uyarlanmēktē.)

Pnömokoklarē ana yüzey proteinlerinden olan hyalürinat liyaz, hyalürinik asiti parçalar ve ekstrasellüler matriksin bütünlüğünü bozarak, dokulara invazyonu kolaylaştēē (36).

Pnömokok yüzey protein A (PspA) hücre duvarında bulunan yüzeyel bir proteindir (37). Tam olarak işlevi anlaşılamamēktē. Komplemanē aktivasyonunu engellediği bilinmektedir (34). Yüzey adezin molekülü olan pnömokok yüzey antijen A (PsaA), pnömokoklarē konak hücre yüzeyine tutunmasında rol oynamaktadır (38). Adezyonda ve kolonizasyonda rol alan kolin bağ layēēprotein A (CbpA) ise, salgēsal IgAôya ve komplemanē C3 fraksiyonuna bağlanarak komplemanē inhibe eder (4,38).

Nöraminidaz; müköz membran yüzeyinde bulunan sialik asiti, hücre yüzey glikanlarēndan ayēē, konak hücrenin glikolipitlerinin ve glikoproteinlerinin hasar görmesine neden olur. Sialik asiti parçalayēp bakterinin tutunduğu GlcNAc-Gal molekülünü açēa çēkararak ve konak hücrenin glikolizasyon paternlerinde

değ ikiklî e yol açarak pnömokoklarē aderansēē ve kolonizasyonunu arttēē (12,36). NanA ve NanB olmak üzere iki tiptir. NanA, pnömokokun nazofarinks epiteline tutunmasēē sağ larken, NanB; komplemanē aktive eden pnömokok yüzey proteinlerini örterek kompleman aktivasyonunu engeller (36).

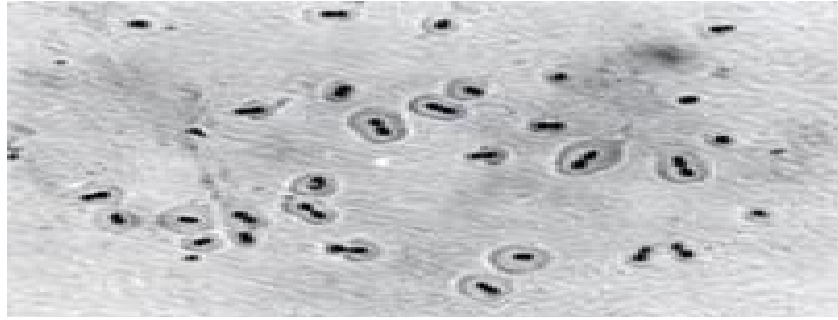
Normalde inaktif olan otolizinler besin yokluğu, antibiyoterapi gibi özel durumlarda aktive olurlar ve peptidoglikan tabakayē parçalayēp hücreyi lize uđ ratēlar (29,36).

Pnömokoklarda hücre yüzeyi ile doç rudan ilikkili olmayan pnömolizin, salgēsal IgA gibi virölans faktörleri de vardē. Tüm pnömokok serotipleri ũtiyolē ile aktive olan ũpnömolizinē isimli bir toksin üretir (25). Nazofarinkste kolonize olan pnömokoklarē, üst solunum yollarēē siliyer aktivitesinden korunmasēnda önem takē. Bu korunma sonrasēnda pnömokoklar akciğ erlere, sinüslere ve östaki borusuna geçebilir (39). Fagositik ve silli bronkiyal epiteliyal hücreler için sitotoksik etkilidir (36). Konak hücre membranēdaki kolesterole bağ lanēp porlar oluşturarak membranē parçalar ve enfeksiyonunun yayđmasēē kolaylađtēē (36,39). Pnömolizin-O, IgGŕnin Fc kēsmēna bağ lanarak yaptđ ē kompleman aktivasyonunun yanē sēa, TNF-Ŭ (tümör nekrozis faktör alfa), IL-1 (interlökin-1) üretimini indükleyerek de inflamasyona neden olur (14). Ayrēca pnömokoklarē nöraminidaz enziminin aktivasyonunu artēarak, pnömokoklarē hastalandēēđēk özelliklerini etkilediğ i kabul edilmektedir (15,17). Kolonizasyonda rol oynayan diğer bakteriyel komponent salgēsal IgA proteaz (sIgA), Fab ve Fc bağ lantēēē parçalayarak pnömokoklarē mukus içinde tutulmasēē engeller (39).

2.2.1.1. Kapsül ve virölanstaki rolü

Hemen hemen tüm pnömokoklarda bulunan kapsül, bakteriyi fagositoya karkē koruyan ve virölansē sağ layan temel yapıēdē. Virölans oluşturma mekanizmasē fagositozdan kaçēk ve kompleman aktivasyonudur (12). Kapsül hem antifagositik hem de antijeniktir (11). Bakterinin granülositler ve makrofajlar tarafēndan fagositozunu engeller (40). Kapsüle karkē olukan antikorlar opsoniktir (11). Kapsüllü bakteriler opsonik etki ile antikorlarē nötralize ettiğ inden fagositoya dirençli;

kapsülsüz bakteriler ise duyarlıdır (15). Kapsülün antijenik özelliği bakterilerin serolojik tehisinde önem kazanmaktadır (27). Pnömonokok serotipleri Amerikan ve Danimarka sistemleriyle iki şekilde numaralandırılır. Amerikan numaralandırma sisteminde serotipler tanımlanma sırasına göre, daha çok kabul gören Danimarka sisteminde ise, antijenik benzerliklerine göre sınıflandırılır (25). *Streptococcus pneumoniae* kendi serotipine özgül antikorlar ile karışık ortamda kapsüllü mikroskopik olarak belirgin hale gelir, buna kapsül kırma reaksiyonu (Quellung) adı verilir (4,12) (Resim 7).



Resim 7. *Streptococcus pneumoniae* ile kapsül kırma reaksiyonunun (quellung) mikroskoptaki görüntüsü (www.textbookofbacteriology.net)

2.3. *Streptococcus pneumoniae*’nin Klinik Önemi: Enfeksiyonlar, Patogenezi, Epidemiyolojisi, Korunma ve Kontrolü

Pnömonokoklar nazofarinksin normal bakteri florasında yer alırlar ve solunum yolları epitelinde hasar olmaksızın varlıklarını kommensal olarak sürdürürler (13). Enfeksiyon oluşturmaları için, nazofarinkste kolonize olmaları gerekir. Kolonizasyon bakterinin, konağın nazofaringeal kavitesindeki hücre yüzey yapılarına bağlanabilme yeteneğine bağlıdır. Bağlanma; bakteri yüzey adezinleri ve disakkarit GlcNAc₆-4Gal içeren epitel hücre reseptörlerinin özgün etkileşimi sonucu olur (31,12,39). Solunum yollarına döken hücrelerde viral, mekanik veya kimyasal etkilerle meydana gelen anatomik değişiklikler, bakteriyel enfeksiyona zemin hazırlar (13). Kolonizasyon sonrasında viral üst solunum yolu enfeksiyonları ya da allerji gibi koruyucu mekanizmaları işlevinin bozulduğu durumlarda pnömonokoklar, alt solunum yoluna ulaşarak enfeksiyona neden olurlar (4). Alt solunum yollarına

yabancı cisim aspirasyonundan koruyan kompleks ve koordine bir takım nöromusküler reflekslerin bozulması akciğerlerin enfekte olmasıyla sonuçlanır (13).

Pnömonokok enfeksiyonları patogeneğinde en önemli iki mekanizma; fagositozdan kaçmak ve kompleman aktivasyonudur (29). Fagositozdan korunmayı sağlayan polisakkarit kapsüldür. Bu mekanizma şu hipotezlerle açıklanmaktadır: i) Spesifik antikapsüller antikorların yokluğunda fagositoz gerçekleştirmez, fagositik hücrelerde kapsüller polisakkaritleri tanıyan reseptörler bulunmamaktadır, ii) Kapsül fagositik hücreleri itebilen bir elektrokimyasal ikiye sahiptir iii) Serumda bulunan bazı antikor ve komplemanlar bakteri hücre duvarında birikir ve fagositik hücrelerin antijeni tanımasını engeller, iv) Komplemanı inaktive eder (4,12).

Pnömonokokların neden olduğu enfeksiyonlar genellikle endojendir ve mikroorganizmanın kolonize olduğu bölgelerden distal bölgelere yayılmasıyla ortaya çıkar. Bakteri akciğerlere (pnömoni), paranazal sinüslere (sinüzit), orta kulak (otitis media) ve beyine (menenjit) komşuluk, aspirasyon veya kan yoluyla yayılabilir. Bakterinin kana, santral sinir sistemine ve diğer steril vücut bölgelerine yayılması sonucu invazif enfeksiyon gelişebilir (30).

Pnömonokoları içeren orofarinks florası aspirasyonu sonucunda gelişen pnömoni tüm pnömonilerin % 10-35'inden sorumludur. Alveollerde çoğalan bakteriler, serum ve polimorfonükleer lökositlerin saldırısıyla ciddi yaygın yanarda neden olur. Enfeksiyon alveol duvarlarından yayılır ve lobar infiltratlar oluşur (41).

Pnömonokoklar, paranazal sinüslerin ve orta kulak için akut enfeksiyonları en yaygın görülen etkenidir. Hastalık genellikle üst solunum yollarının viral enfeksiyonu ve sonrasında orta kulak kanalına ve sinüslere geçen ve buradan tükürük taşıyan polimorfonükleer lökositlerden kaynaklanmaktadır (33). Konak savunma mekanizmaları enfeksiyonu akciğer dokusuna sınırlamada yetersiz kaldığında, bakteriler hiler lenf bezlerine ulaşır ve duktus torasikus aracılığıyla sistemik dolaşıma katılarak bakteriyemi oluştururlar. Herhangi bir enfeksiyon odağı olmaksızın meydana gelen bakteriyemi özellikle meninksler, eklemler ve periton gibi seröz boşluklara yayılarak metastatik odaklar meydana getirir. Bunun dışında menenjit, enfeksiyonun paranazal sinüsler veya orta kulaktan yayılmasıyla ya da bakteriyemi sonucunda koroid pleksus girişi ile olmaktadır (4,12). Ampiyem veya

perikardit ise, enfeksiyonun akciğ erlerden yayılma sonunda olukabilir. Endokardit ise, bakteriyemi ile seyreden enfeksiyonların bir komplikasyonudur.

Pnömonok enfeksiyonunda spontan iyileşme, tipe özgü antikapsüler antikorların oluşmasına bağı lıdır. Oluşan antikorlar IgM ve IgG sınıfındadır. Bu antikorlar kompleman da etkisiyle, enfekte eden pnömonokların çevresindeki polisakkarit kapsüle bağ lanarak hem onları birbirine yapıştırır hem de fagosit olmalarına sağlar (13). Konağa ait bazı özel durumlar pnömonok enfeksiyonlarının oluşumuna zemin hazırlar (Tablo 1) (42).

Tablo 1. Pnömonok enfeksiyonuna zemin hazırlayan durumlar (42).

Defektif Antikor Üretimi	
Primer	Sekonder
Konjenital agammaglobulinemi	Multiple myeloma
Kazanılmış Agammaglobulinemi	Kronik lenfositik lösemi
Selektif IgG subklas eksikliği	Lenfoma
	HIV enfeksiyonu
Kompleman Azlığı ya da Yokluğu (C1,C2,C3,C4)	
Yetersiz Polimorf Nüveli Lökosit Sayısı	
Primer	Sekonder
Sıklık nötropeni	İlaçla indüklenen nötropeni
	Aplastik anemi
Polimorf Nüveli Lökosit Fonksiyonlarında Azalma	
Alkolizm	Renal yetmezlik
Karaciğer sirozu	Fcdelta/R131 aleli reseptörlerinde afinite azlığı
Kortikosteroid tedavisi	
Pnömonoksik Bakteriyeminin Yetersiz Klerensi	
Primer	Sekonder
Konjenital aspleni,hipospleni	Splenektomi
	Orak hücreli anemi (otosplenektomi)
Multifaktöriyel Nedenler	
İnfant dönemi,yaşlılık	Alkolizm
Glukokortikosteroid tedavisi	Kronik hastalık,hastanede kalış
Malnütrüsyon	Yorgunluk
Karaciğer sirozu	Stres
Renal yetmezlik	Soğuğa maruz kalma
Diabetes Mellitus	
Temas Riskinde Artma	
Kreşler	Hapishaneler
Askeri eğitim kampları	Huzurevleri
Daha Önce Geçirilmiş Solunum Yolu enfeksiyonu	
İnfluenza	Diğerleri
İnflamatuvar Durumlar	
Sigara içmek	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
Astım	

Pnömonok enfeksiyonlarının tedavisinde penisilinler klinik kullanıma girmelerinden bu yana, yaklaşık yarım yüz yıldır bakterıyla kullanılmaktadır, ancak son 25 yıldır Avrupa’da ve son 15 yıldır da ABD’de pnömonoklarda penisiline direnç sorunu ortaya çıkmıştır. Ülkemizde de benzer sorun vardır. *Streptococcus*

pneumoniae kökenlerinde penisilinlere, makrolidlere ve diğer antibiyotiklere direnç görülmesiyle birlikte, bu bakterilerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde sıkıntılar bak göstermiştir. MİK değerleri 0.1-1 mg/mL arasında bulunan pnömokoklar penisilin için ODPD, 2 mg/mL ve üzerinde bulunanlar yüksek düzey dirençli olarak kabul edilmektedir (CLSI 2008 kriterleri öncesi). Menenjit durumunda ODPD sukların neden olduğu enfeksiyonlarda penisilin ile tedavide sorun yoktur. Bu direnç durumu menenjit tedavisinde sorun oluşturunken, pnömonili olgularda mortaliteye or denli etki etmemiştir. BOS'a iyi geçebilen seftriakson ve sefotaksim gibi üçüncü kuşak sefalosporinler, penisiline dirençli pnömokok menenjitli olguların tedavisinde kullanılmaktadır. Pnömokoklarda vankomisine direnç bugüne kadar bildirilmemiştir.

Akut otitis media'de çocuklardaki tedavide amoksisilin sık verilmektedir. Akut sinüzitte ilk seçenek amoksisilindir, yanlı alamadığı anda amoksisilin/klavulanik asite geçilir. Çocuklarda kullanılmayan kinolonlar, erişkinlerde alternatif olabilir. Ketolit grubundan bir antibiyotik seçilebilir. Pnömokokların neden olduğu pnömonide, ayaktan takip edilen hastalara kinolonlar, makrolidler, penisilinler, 6-laktam+6-laktamaz inhibitörü, trimetoprim/ sülfametoksazol veya doksisiklin verilebilir. Toplum kaynaklı kökenlerde giderek artan makrolid direnci akla tutulmalıdır. Yatan hastalarda kadvuzlar doç rultusunda tedavi planlanır. Penisiline yüksek düzey dirençli bir suş söz konusuysa, seftriakson veya sefotaksim verilebilir. Penisiline dirençli pnömokoklarla oluşan enfeksiyonlarda, meropenem veya üçüncü kuşak sefalosporinle kombine edilecek bir yeni kinolon alternatif tedaviler arasında sayılabilir (13).

Streptococcus pneumoniae'nin neden olduğu hastalıklar tüm dünyada önemli bir sağlık problemini oluşturmaktadır (www.who.int/nuvi/pneumococcus/en/ erişim tarihi 23.08.2010). *S. pneumoniae* tüm yaş gruplarında görülebilmekle birlikte, küçük çocuklar, yaşlılar ve kronik hastalığı olanlarda ciddi enfeksiyonlara ve ölümlere yol açabilen bakteriyel bir patojendir. Sağlıkla bireylerin üst ve alt solunum yollarının florasında bulunan ve özellikle nazofarinkste kolonize olan pnömokoklar, doğumdan sonra 6. ayda kolonize olmaya başlarlar ve 3. yaşta en yüksek düzeye ulaşır (14). Sağlıkla yetkinlerde taşıyıcılık oranı % 5-10 iken, çocuklarda % 20-40 civarındadır (12). Pnömokokların neden olduğu invazif hastalıklar gelişmekte olan ülkelerde iki yıldan küçük çocuklardaki ölümlerin başta gelen nedeni olup, 0-5 yaş arası çocuk

ölümlerinin % 9'undan yani her yıl meydana gelen 1.5 milyon çocuk ölümünden sorumludur (43). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2000 yılı verilerine göre 14.5 milyon insan pnömokokkal hastalıklara yakalanmıştır ve bunun 826.000'i 1-5 yaş arasındaki çocukların ölümüyle sonuçlanmıştır. 826.000'in 91.000'i HIV pozitif çocuklar iken, 735.000'i HIV negatif çocuklardır ve bunun da % 61'ini Asya ve Afrika ülkelerinde kayanlar oluşturmaktadır (www.who.int/nuvi/pneumococcus/en erişim tarihi: 23.08.2010).

Pnömokoklarda serotip dağılımı popülasyonun yakını ve coğrafi bölgeye göre farklılık göstermektedir (44). Çocuklarda oluşan enfeksiyonların yarısından çoğunda 6A, 14, 19F ve 23F ayrıca 4, 6B, 9V, 12F, 18C, 19A erişkinlerde ise; 3, 19F, ve 6A serotipleri ön planda olarak enfeksiyon etkeni olurlar. Bebek pnömonilerinde serotip 14 en sık izole edilendir. Toplu halde kayan kreler, bakımevleri ve askeri kamplar yaygın için uygun ortamlardır (4). Yüksek taşıyıcılık oranları iki yakından küçüklerde, kre veya yuvaya gidenlerde, kalabalık ortamlarda kayanlarda, uygunsuz antibiyotik kullananlarda ve ebeveyni sigara içenlerde daha yüksektir. Kolonizasyon ve taşıyıcılık enfeksiyon gelişimi ile ilişkilidir. Pnömokok taşıyıcılığı mevsimlere göre farklılık gösterir, yaz aylarında en düşük düzeydedir (43).

CDC'nin (*Centers for Disease Control and Prevention*) verilerine göre 2008 yılında 5 yaş altındaki çocuklarda pnömokokların neden olduğu invazif hastalıkların insidansı 20.2/100.000 iken, bu oran 2010 yılında 46/100.000'e yükselmıştır. 65 yaş ve üzeri kişilerde 2008'de 40.4/100.000 olan insidans, 2010 yılında 42/100.000 olmuştur (45).

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Departmanı'nın yapmak olduğu çalışmaya göre, ülkemizde her yıl 5 yaş altında 150.000 pnömokok pnömonisi olgusunun bulunduğu tahmin edilmekte ve 5 yaklaşık 1800 çocuğun pnömokoka bağlı pnömoni nedeniyle kaybedildiği tahmin edilmektedir. Ülkemizde 5 yaş altında pnömokok menenjit oranı ise 3-5/100.000 olarak hesaplanmıştır. Pnömoni ve invazif pnömokok hastalığına bağlı olarak 5 yaş altındaki çocuklarda, ülkemizde her yıl kaybedilen yaşam yılı 114.2 yıl, pnömokoka bağlı hastalıkların direkt tedavi maliyeti ise, yaklaşık 110 milyon Amerikan Doları olarak hesaplanmıştır (46).

Dünya genelinde akē ile korunabilir hastalıklar arasāda pnömokoklarē neden olduğ u hastalıklar, yēda 1.609.000 ölümle birinci sērayē almaktadır (47). Zaman içinde antibiyotik direncinin ortaya çıkēē pnömokok enfeksiyonlarēē önemini daha da arttırmaktadır. Yaygın görülen bu enfeksiyon etkeninin tedavisinde de sorunlar görülmesi hastalaktan akē ile korunma arayēklarēē arttırmaktadır (48).

Pnömokok enfeksiyonlarēē güvenli ve etkili aklarla önlemek, hem antibiyotik direncinin gelişmesini önlemeye katkı sağlayacak hem de bu enfeksiyonlarē kontrolünde daha etkili ve ekonomik olacaktır (13). Korunma 23 valanlı pnömokok polisakkarit akesē (PPV23) ve 7 valanlı pnömokok konjuge akesē (PCV7) ile sağlanır. Polisakkarit pnömokok akesē 1977’de 14 serotipi içeren bir akē olarak geliştirilmiştir, 1983’de 23 serotipi (1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F) içeren akē üretilmiştir. Bu serotipler endüstrilemiş ve gelişmekte olan ülkelerde görülen invazif pnömokok enfeksiyonlarēē % 90 kadarēē kapsamaktadır (48,49). PPV23, ABD’de ruhsat aldığı 1977 yēından beri ülkemiz de dahil bir çok ülkede uygulanmaktadır. Ancak PPV23 kısa süreli bağışıklık oluşturmada antijenle tekrar karşılaşınca anamnestic yanıt oluşmaması ve iki yēından küçük çocuklarda yeterli antikor yanıtı oluşturulmaması nedeniyle normal akladamada kullanılamaz. Sadece iki yaş üstünde risk faktörleri taşıyan çocuklara uygulanabilir. Pnömokok kapsülünün yapısında bulunan polisakkaritler T-bağımsız antijenlerdir. T bağımsız antijenler, olgun B lenfositlerini (antikor yanıtı) T lenfositlerden bağımsız uyarırlar. İki yēından küçüklerde T-bağımsız antijen yanıtı yetersiz olduğu için, polisakkarit pnömokok akesine antikor yanıtı zayıf olur koruyuculuk oluşmaz. Polisakkaritlerin proteinlerle konjugasyonu ile T-bağımsız yanıt, T-bağımlı yanıtla dönüşür. Bu antijen kompleksi, T-yardımcı hücreleri uyatarak süt çocuklarında birincil yanıt ve yeniden karşılaşmada güçlü tekrar yanıtı sağlar. Birincil immünizasyonla ömür boyu bağışıklık sağlanabilir. Pnömokok konjuge akē polisakkarit akēdan farklı olarak takviye edilmesi azaltılır ve doğrudan korunma yanında toplumun korunmasına da etkili olur (47). Polisakkarit konjuge akē 2000’de ABD’de lisans aldıktan sonra (Prenar; Wyeth Lederle Vaccines) günümüzde bir çok gelişmiş ülkede de lisans alarak uygulanmaya başlanmıştır (47,49). Konjuge aklarda pnömokokal polisakkaritler bir protein taşıyıcı konveyör olarak bağlanırlar (40). PCV7 yetmiştenden fazla ülkede ruhsat

almāk ve birçok gelikmīk ūlkede (Ocak 2007 itibariyle toplam 18 ūlkede) akē kemasēna dahil edilmiktir. Tūrkiyeōde PCV7 (Prevenar) 2005 yēānda ruhsat alarak kullanēna girmiktir (48). Akēnēn, 4-8 hafta arayla 3 doz ve 1 yē sonra rapel olmak ūzere 4 doz uygulanmasē gerekmektedir (13).

Son olarak 24 Mart 2007ōde yayēnladē ē bildiride WHO, konjuge pnōmokok akđamasēnēn gelikmekte olan ūlkeler iēin öncelik olduđunu bildirmiktir (47).

Yakē 23 ay ve altēnda olan tüm çocuklar, yakē 24-59 ay arasēnda olan çocuklar, orak hücre hastalē ē ve diē er orak hücre hemoglobinopatiler, konjenital veya akkiz aspleni veya splenik disfonksiyon, HIV ile infekte çocuklar, immün yetmezlik durumlarē olanlar, böbrek yetmezliē i ve nefrotik sendromu olanlar, immünsüpresif tedavi veya radyoterapi alanlar, maligniteler (lösemi, lenfoma, Hodgkin hastalē ē), uzun süreli sistemik kortikosteroid tedavisi, solid organ transplantasyonu yapđanlar, kronik kalp hastalē ē (siyanotik hastalēk, kalp yetmezliē i), kronik akciē er hastalē ē (astēn hariē), BOS kaēaē ē olanlar, diabetes mellitus hastalarē akē yapđmasē gereken grubu oluşturmaktadēlar (48).

2.4. Makrolid ve Linkozamid Grubu Antibiyotiklerin Genel Özellikleri ve Pnōmokoklara Etkileri

2.4.1. Makrolid grubu antibiyotikler

İlk kez 1952ōde McGuire ve ark. tarafēndan toprakta bulunan *Streptomyces erythreus*ōden eritromisin elde edilmiē, bu kefin ardēndan gerek doğal gerek sentetik birçok makrolid türü antibiyotik kullanēna sunulmuştur (50).

Temel yapē olarak glikozid baē larēyla dezozamin ve kladinoz kēkerlerine baē lē 14, 15 veya 16 atom iēeren bir makrosiklik lakton (aglikon) halkasē takēyan antibiyotiklerdir. Lakton halkasēndaki hidroksil gruplarēna, nōtral veya bazik kēker radikalleri, glikozid baē larēyla baē lanmēttē. Bu halka üzerinde ayrēca alkil, keton, metil veya aldehid gibi antibiyotiklere farklı biyolojik özellikler kazandıran yapđar yer alē. Makrosiklik lakton çekirdeē i iēermeleri nedeniyle ĩmakrolidlerō diye

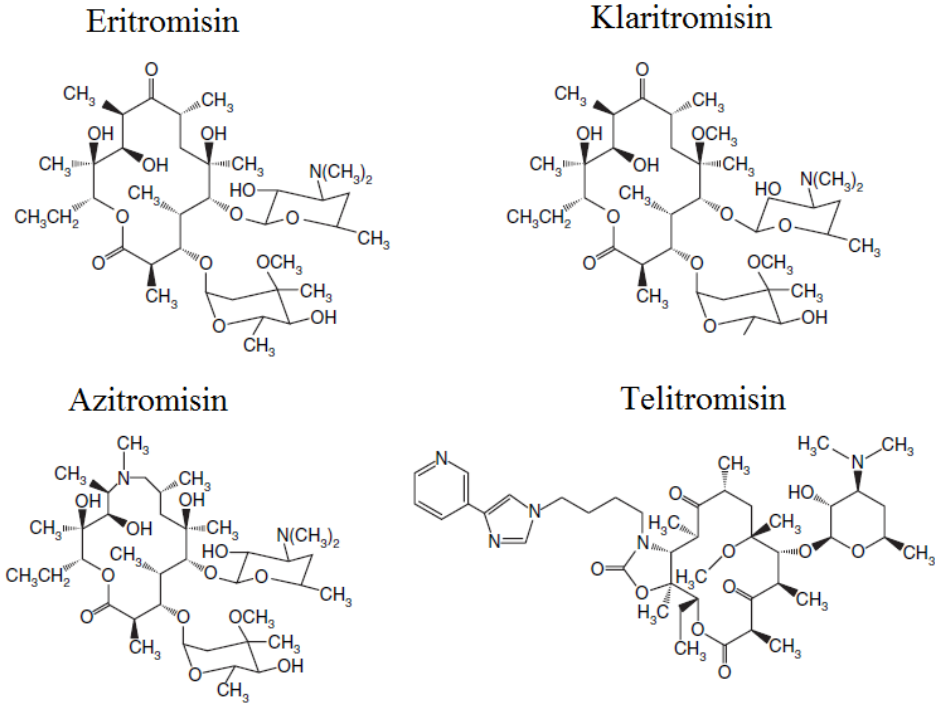
adlandırılan bu grup antibiyotikler, içerdikleri atom sayılarına göre 14, 15 ve 16 üyeli olmak üzere üç gruba ayrılırlar (Tablo 2) (50,51). En yaygın kullanılan ve ilk bulunan, grup temsilcisi 14 üyeli eritromisindir. Eritromisin primer endike olduğu durumların yanı sıra, penisilin allerjisi olanlarda alternatif olarak da kullanılmaktadır.

Tablo 2. Makrolidlerin sınıflandırılması (50).

Makrolid Türü	Doğal	Yarı sentetik
14 karbonlu	Eritromisin Oleandomisin Klaritromisin	Roksitromisin Diritromisin
15 karbonlu		Azitromisin
16 karbonlu	Josamisin Spiramisin Tilosin Midekamisin Kitasamisin	Rokitamisin Miokamisin Tilmikosin

Eritromisinde 9. karbon atomunda keton grubu bulunur ve lakton halkasına iki keker bağlanmıştır. On dört üyeli makrolidler arasında; eritromisin, oleandomisin, roksitromisin, klaritromisin, diritromisin, fluritromisin sayılabilir. Makrolid halkasına bir azot atomu yerleştirilerek, 15 üyeli bir makrolid olan azitromisin elde edilmiştir. Azalidler de denilen bu antibiyotik sınıfının ilk üyesi spiramisin olup, bunu takiben josamisin, miokamisin, rokitamisin elde edilmiştir. Eritromisin derivesi antibiyotiklerle ilgili bazı problemlerin üstesinden gelmek amacıyla yeni makrolid antibiyotikler sentezlenmiştir. Klaritromisin ve diritromisin yine 14 üyeli halka içeren semisentetik türevlerdir. Eritromisinin 6. pozisyonundaki hidroksil grubunun metilasyonu ile aside dayanıklılık arttırılarak klaritromisin sentezlenmiştir. Azitromisin ve klaritromisinin, antimikrobik aktivite, farmakokinetik özellikler ve yan etki açısından eritromisine üstünlükleri vardır (50,51) (Şekil 6). Geniş spektrumlu makrolidler olarak kabul edilen azitromisin ve klaritromisinin farenjit, sinüzit, otit, bronkit gibi solunum yolu enfeksiyonlarında etkinlikleri kanıtlanmıştır.

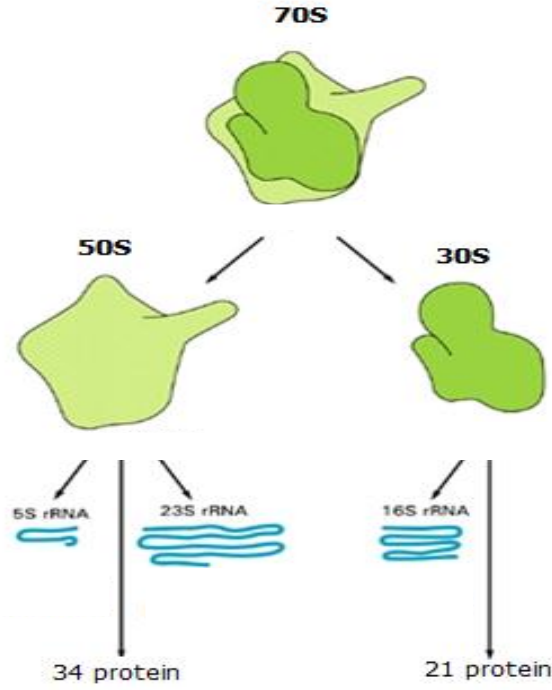
Eritromisin ayrēca A, C, G grubu streptokok ve pnömokoklara (penisiline duyarlı) baē l  geliken solunum yolu enfeksiyonlar n  tedavisinde penisiline alternatif olarak kullanılır (50).



Şekil 6. Makrolid ve ketolitlerin moleküler yap lar n  kematik görünümü (52 numaralı kaynaktan uyarlanm  r).

Genel olarak bakteriyostatik etkili ilaçlar olarak kabul edilen makrolidler, mikroorganizman  türüne (*Streptococcus pyogenes* ve *Streptococcus pneumoniae* gibi), üreme dönemine ve yoē unluē una baē l  olarak bakteriyostatik veya bakterisidal etkili olabilirler (50).

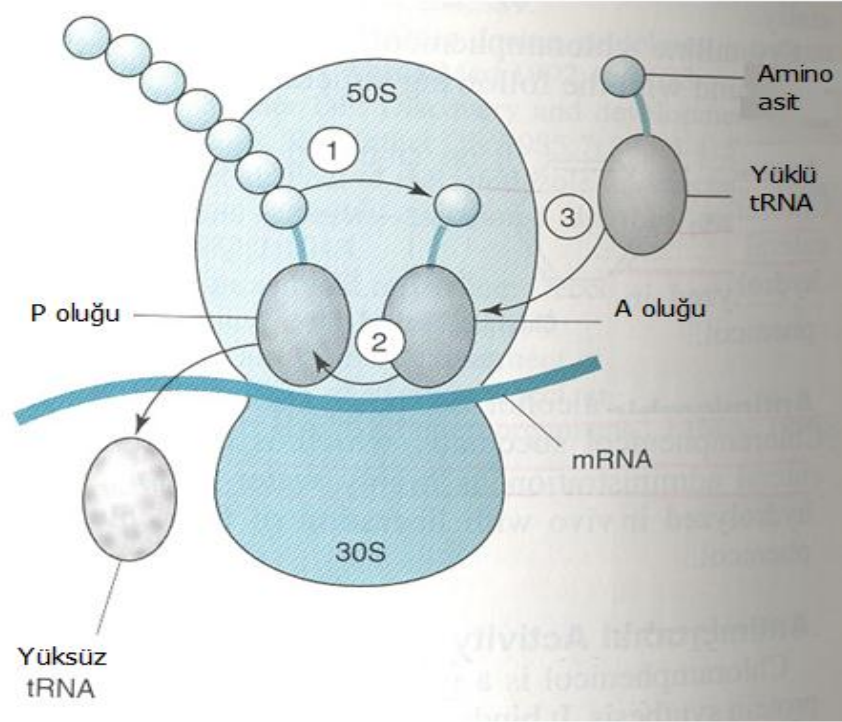
Bakterilerde ribozom 30S küçük alt birim ve 50S büyük alt birimden oluk r. 30S alt birim 16S rRNA dan oluk rken, 50S alt birim ise; 5S rRNA ve 23S rRNA dan oluk makt r (53) ( ekil 7). Makrolid grubu antibiyotikler, bakteri ribozomunun 50S alt birimine baē lanarak protein sentezini inhibe etmek suretiyle ribozomun fonksiyonu üzerine etki ederler (54).



Şekil 7. Ribozomun yapışın kematik görüntüsü (53 numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

Protein sentezi genel olarak dört aşamadan oluşmaktadır: Baklama, uzama, sonlanma ve geri dönüşüm. Baklama aşamasında; ribozom alt birimleri mRNA'ya bağlanıp AUG baklama kodonunu bulduktan sonra, metionil-tRNA ribozomlardaki peptidil (P) bölgesine bağlanır. Uzama aşamasında, aminoasit-tRNA'lar ribozomlardaki akseptör (A) bölgesine girer ve peptidil (P) bölgesinde bulunan aminoasit ile peptit bağlanarak polipeptit zinciri uzamaya başlar. Ribozomlar mRNA üzerinde diğer kodona doğru kayar ve işlem tekrarlar. Bir stop kodona ulaşması durumunda sonlanma gerçekleşir. Sonlanma polipeptit ribozomlardan ayrılır ve geri dönüşüm aşamasında ribozomal birimler birbirinden ayrılır, mRNA ve deasile olmuş (yüksüz) tRNA'lar serbest kalırlar. Peptit bağlanma katalizleyen enzimatik aktivite, peptidil transferaz olarak kabul edilmiş ve uzun süre büyük alt birimdeki bir protein tarafından yapıldığı düşünülmüştür. 1992 yılında Hary Noller ve ekibi bu aktivitenin proteinler tarafından değil, 23S rRNA tarafından katalizlendiğini göstermiştir. Bu bulgular, RNA'nın enzimatik aktiviteye sahip olduğunu gösteren çok önemli bulgulardır. Uzama döngüsünün üçüncü aşaması ribozomun bir kodon mesafesi kadar 3' ucuna doğru ilerlediği translokasyon

akamasāđē. Ribozomun bu hareketi mRNAâda ikinci kodonda bulunan dipeptidil-tRNAôyē A bölgesinden P bölgesine getirir ve deasile olmak tRNA da P bölgesinden ayrđarak sitoze bēakđē. Böylece mRNAônē üçüncü kodonu A bölgesine, ikinci kodonu ise P bölgesine yerlekir. Polipeptit zinciri her zaman en son eklenen aminoasitin tRNAôēna bağ lēkalē (53) (ķekil 8) .



ķekil 8. Translokasyonun ķematik görüntüsü (<http://yunus.hacettepe.edu.tr/~pkelicen>).

Makrolidler, duyarlē bakterilerde ribozomun 50S alt biriminde yer alan 23S rRNAâdaki polipeptid ķēķē tünelinin bađlangēcēē olukturan 2058-2062 arasēndaki 6 nükleotidlik bir bölgeye reversibl (geriye dönüķümlü) olarak bağ lanēp, akseptör noktadaki (A noktasē) aminoaçil-tRNA molekülüne bağ lē peptid zincirinin peptidil (P) noktasēna kaymasēē (translokasyon olayē) engelleyerek peptid zincirinin uzamasēēönler. Böylece bakteri hücrelerinde protein sentezi engellenir (50,51).

Eritromisin bunun dēānda olasēđēkla yine 23S rRNAôya bağ landē ē için, 50S alt ünitelerdeki yapıđarē bir araya gelmesini de engellemektedir. Eritromisin ve diğer makrolidler bağ landē ē yere, kloramfenikol ve linkozamidler de bağ lanē. Makrolidler, peptidil transferaz bölgesindeki peptid bağ ē olukumunu doğrudan

engellemelerine rağmen, direkt peptidil transferaz etkinliği olan linkozamidlerle yarışa girmeleri ve aynı direnç mekanizmasından etkilenmeleri, bazı lanté bölgeleri arasında kısmi bir ortaklık olduğu unu düşündürmektedir (50).

Solunum yolu enfeksiyonlarında tané güçlüü ve artan direnç oranları nedeniyle, ampirik tedavide en uygun seçenek arayışları devam etmektedir (50). Bu amaçla mikroorganizmanın tipine ve antibiyotik duyarlılığına göre bakteriyostatik veya bakterisidal etki gösterebilen eritromisinin semisentetik türevi ketolitler üretilmiştir. Lakton halkasına çeşitli gruplar eklenerek değişik biyolojik özellikler kazandırılmıştır. Bu grubun ilk kullanıma giren üyesi telitromisinde en belirgin yapısal fark, eritronolid halkasının 3. pozisyonundaki nötral keker L-kladinoz yerine keto grubunun gelmesidir. L-kladinozun kaldırılması aside dayanıklılığı keto grubunun gelmesi ise indüklenebilir MLS_B direncine dayanıklılığı sağlamıştır. Ayrıca 11. ve 12. pozisyonlara eklenen heterosiklik aromatik karbamat yan zincirleri ise, ribozomlara bağlanma affinitesinin ve antibakteriyel etkinliğin artmasını sağlamıştır. Telitromisin, penisiline ve/veya eritromisine dirençli olan *Streptococcus pneumoniae* nin etken olduğu toplum kaynaklı solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde aktif olan oldukça yararlı bir ajandır. (50,55,56) (şekil 6).

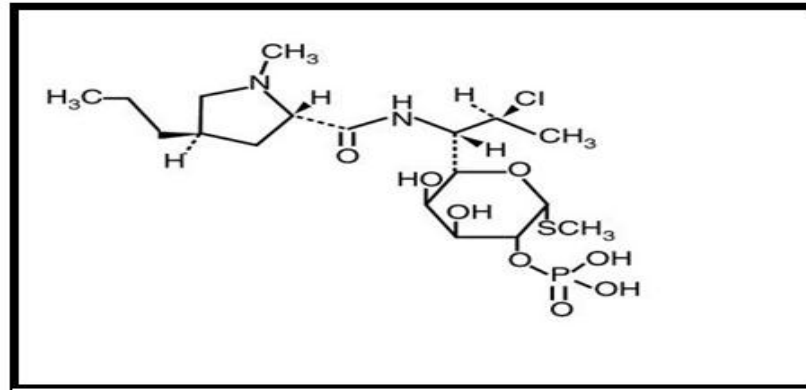
Tek doz kullanımı, az yan etki ve kısa süreli tedavi gibi hasta uyumunu arttıran özellikler dikkate alındığında ketolitler uygun bir seçenek olarak görülmektedir. Şu an klinik kullanımda olan üyesi telitromisin olup, başka ABT-773 (ketromisin) olmak üzere değişik ketolitler (HMR 3004, TE-802, TE-810) üzerinde çalışılmaktadır (50).

Ketolitler eritromisine benzer şekilde 50S ribozomal alt birime bağlanırlar, ancak bu bağlanma 11/12. pozisyonundaki karbamat yan zincirleri sayesinde 10 kat daha güçlüdür. Ribozomal alt birimin 23S rRNA'sında bulunan domain V molekülünün peptidil transferaz bölgesindeki nükleotidlere ve domain II molekülündeki spesifik nükleotidlere bağlanırlar. Translasyonu bloke ederek protein sentezini inhibe ederler (50).

2.4.2. Linkozamidler

İlk olarak 1962'de *Streptomyces lincolnensis*den elde edilen linkomisin ve daha sonra bundan kimyasal olarak türetilen klindamisin olmak üzere iki üyesi vardır. Linkomisin; prolin aminoasidi ile kükürtlü amino oktoz molekülünün birleşmesinden oluşan bir amiddir. Linkomisin molekülünde bir hidroksil grubu yerine klor atomunun eklenmesiyle elde edilen 7-kloro 7-deoksi türevi olan klindamisin, yarı-sentetik ve daha lipofilik bir antibiyotiktir (50) (şekil 9) .

Linkozamidler, *Streptococcus pneumoniae*nin 50S ribozomal alt birimine bağlanan bakteriyostatik etkili antibiyotiklerdir. Peptidil (P) noktasına bloke edip, transpeptidasyonu engelleyerek protein sentezini inhibe ederler. Klindamisin düşük dozlarda bile opsonizasyon, fagositoz ve hücre içi öldürme mekanizmalarına aktive edebilir (50).



Şekil 9. Klindamisinin moleküler yapısının şematik görünümü
(www.medicineonline.com)

Makrolidler ve linkozamidler arasında pnömokoklarda, ribozomun 50S alt ünitesinde yer alan 23S rRNA'ya bağlanarak 50S alt ünitenin polipeptid translasyon aktivitesini engelleyen streptograminlerin, aynı direnç mekanizmasından etkilendikleri için bağlanma bölgelerinin kısmen makrolidlerle ortak olduğu tahmin edilebilir. Birçok *Streptomyces* türü, streptogramin ailesinden grup A ve grup B olarak adlandırılan bir çift antibiyotik üretmektedir. Günümüzde klinik kullanımda olan kinupristin ve dalfopristin streptogramin A ve B grubu antibiyotiklerdir (50).

2.5. *Streptococcus pneumoniae*’de Makrolid Direnci ve Mekanizmalar

Makrolidler günümüzde düşük yan etkiye sahip olmaları geniş etkinlik, yüksek doku ve serum düzeylerine ulaşmaları ile önemini koruyan antimikrobiyallerdir (57). İlk kez eritromisine dirençli suklar 1959 yılında İngiltere’den ve 1967 yılında da Kuzey Amerika’dan rapor edilmiştir (58).

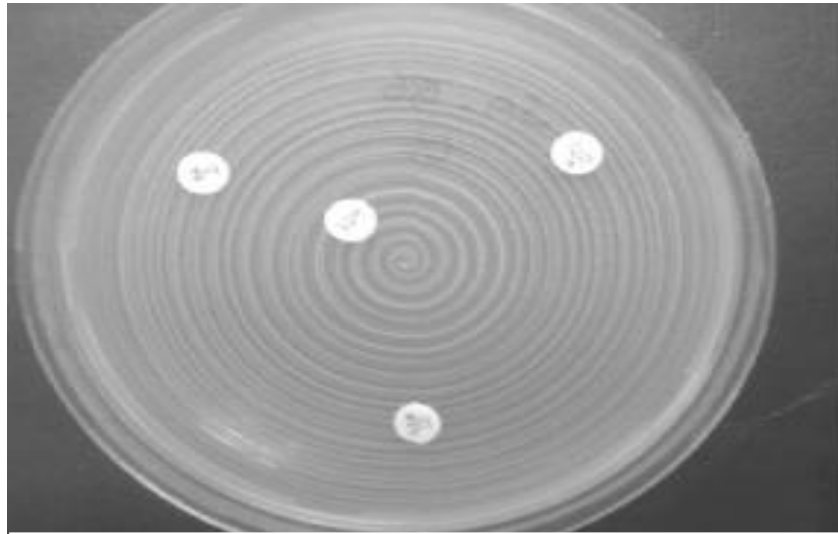
Pnömonoklarda penisiline dirençli sukların artmasıyla birlikte alternatif antimikrobiyallerin daha fazla kullanılmasıyla birlikte makrolidler baktırmak üzere diğer antimikrobiyallere de direnç gelişmeye başlamıştır (58).

Son yıllarda tüm dünyada makrolidlere dirençli *Streptococcus pneumoniae* kökenlerinde artış gözlenmektedir. 2007 yılında EARS verilerine göre eritromisin direnci gösteren pnömokokların oranları Fransa, İtalya, Macaristan, Finlandiya ve Kıbrıs’ta % 25-50; İrlanda, İrlanda, Portekiz, Belçika, Avusturya, İsviçre, Hırvatistan, Bulgaristan, Romanya ve Türkiye’de % 10-25; İngiltere, Norveç, İsveç, Almanya, Hollanda, Çek Cumhuriyeti ve Litvanya’da % 5-10 arasındadır (59). 2005 yılında verilerine göre Türkiye’de haftanın eritromisin direnç oranı % 10 iken, bu oran 2008 yılında Türkiye’nin de aralarında bulunduğu bir grup ülkede (İtalya, Türkiye, Fransa, Macaristan, Kıbrıs) % 25-50 arasındadır. Türkiye’de eritromisin direnç oranı ise % 29’dur (60,61). Makrolid direncinin en fazla görüldüğü ülkeler ise Asya ülkeleridir. Bu ülkelerde makrolid direnç oranının % 79’una ulaştığı belirlenmiştir (62).

Streptococcus pneumoniae’nin makrolid direncinden sorumlu 2 ana mekanizma tanımlanmıştır. Bunlardan birincisi; antibiyotik’in hedefinde değişiklik oluşması ikincisi ise; antibiyotik’in aktif olarak hücre dışına pompalanması mekanizmalarıdır (63,64). i) **Hedef molekül değişikliği**: İlk olarak tanımlanan ve en yaygın görülen direnç mekanizmasıdır. Makrolidler, bakterilerde 50S ribozomal alt birimin bir parçası olan 23S rRNA’nın domain V molekülüne bağlanarak, protein sentezini inhibe ederler (65). Bakterilerin 23S rRNA’ya metile eden bir enzim sentezlemeleri sonucu 23S rRNA’nın domain V molekülünün adenin (genellikle A2058 ve A2059) rezidüleri metilaz enzimi ile metillenir. Metillenme sonucunda ribozomda yapısal bir değişiklik oluşur ve ilacın ribozomlara bağlanması azalır (58,65,66,67). Metilazlar

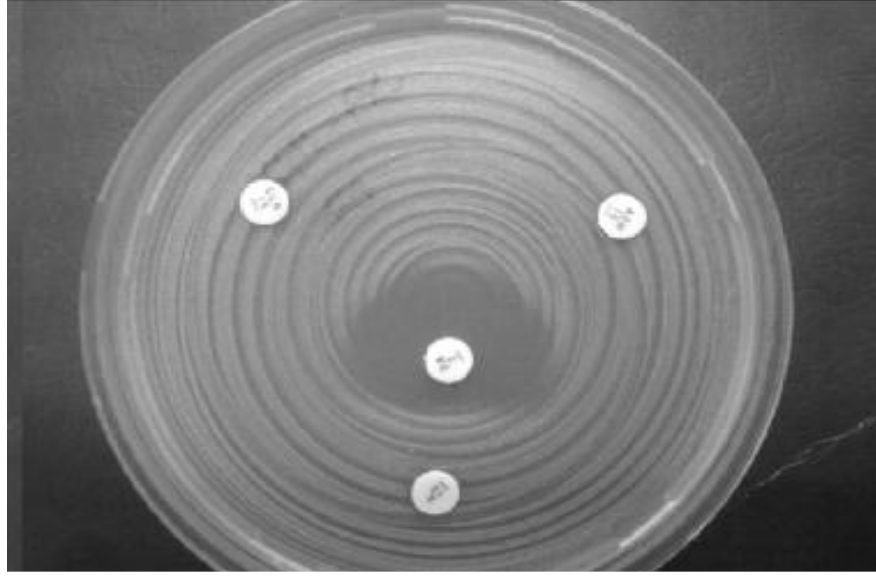
kodlayan genler, genel olarak *erm* (*erythromycin ribosomal methylase*) şeklinde adlandırılmaktadır. Günümüzde tanımlanmış olan 40 *erm* geni vardır ve 21 *erm* geni sınıflandırılmaktadır. Bu genler plazmid ya da transpozonlar tarafından kodlanabilmektedir. Patojen mikroorganizmalarda *erm*(A), *erm*(B), *erm*(C), ve *erm*(F) olmak üzere 4 ana *erm* sınıfı tespit edilmiştir. Stafilocoklarda; *erm*(A) ve *erm*(C), streptokoklar ve enterokoklarda *erm*(B) geni bulunurken, *erm*(F) genleri ise; *Bacteroides* türleri ve diğer anaerobik bakterilerde görülür. β -hemolitik streptokoklar ve pnömokoklarda *erm*(B) geninin yanında nadir olmakla birlikte *erm*(A) geninin varyantı *erm*(TR) geni de görülebilir (58).

Enzimin sentezi yapısal veya indüklenebilir türde olabilir (67). Yapısal olarak metilaz geni bulunduran pnömokoklarda bu enzim devamlı olarak üretilir (65). Eritromisinin bağlanma bölgesi yapısal olarak farklı olmakla birlikte, linkozamidler ve streptograminler ile örtükür (50,68). Dolayısıyla, yapısal metilaz geni bulunduran bakterilerde, makrolidlerle birlikte linkozamid ve streptogramin B'ye karşı yüksek düzeyde çapraz direnç (MIK > 64 µg/mL) gelişir ve cMLS_B direnç fenotipi ortaya çıkar (58,69,70) (Resim 8). Ayrıca eritromisine dirençli olan pnömokoklar, aynı zamanda azitromisin, klaritromisin, roxitromisin gibi azalidlere ve diğer makrolidlere de direnç geliştirirler (69,71). Pnömokoklarda hedef bölge dışındaki bağlanma direnç mekanizması baskın olarak görülmektedir. *Streptococcus pneumoniae*de 23,5 kb boyutundaki Tn1545 adlı transpozon ile taşınan *erm*(B) geni kromozom ve plazmid üzerinde yer alabilir veya konjugatif transpozonlarla taşınabilir (68,70). Bu mekanizma Avrupa'da ve Güney Afrika'da yaygın olarak görülmektedir (70).



Resim 8. cMLS_B direnç fenotipi: Eritromisin, azitromisin ve klaritromisine dirençli (29 numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

Daha az sıklıkla *erm*(TR) geni tarafından kodlanan direnç ise, indüklenebilir makrolid direnç fenotipi ile karışır. Düşük veya yüksek düzeyde dirence yol açar (MIK 1-8µl/mL veya > 128µg/mL) (58). İndüklenebilir dirençte bakteri aktive olmamak mRNA salgı, böylece metilaz enzimi kodlanamaz. mRNA ancak ortamda indükleyici bir makrolid varlığında aktive olur. Bunun sonucu olarak iMLS_B fenotipi oluşur (Resim 9) (65).

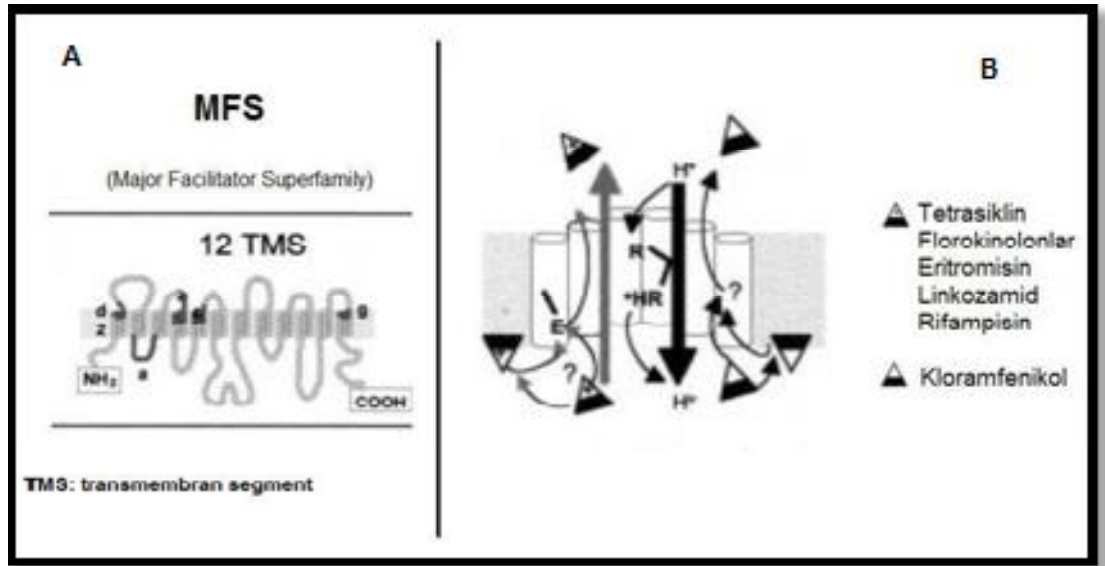


Resim 9. iMLS_B direnç fenotipi: Eritromisin, azitromisin, klaritromisine dirençli klindamisin eritromisine bakan yüzünde kütleme görünümü (29 numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

ii) Pnömonoklarda makrolid direncinden sorumlu ikinci mekanizma ise *mef* geninin kontrolündeki, membranda yerleşim gösteren transport sistemidir. Antibiyotiklerin pnömokok hücrelerinden atılma bakterilerin antibiyotiklerin hücre içi yoğunluğunu azaltmak için kullandıkları proton motivasyon kuvvetiyle çalışan bir transport mekanizması ile gerçekleşmektedir (efflux). Bu durumda direncin seviyesi düşüktür (1-32 µg/mL) ve klindamisin ile 16- üyeli makrolidler bu dirençten etkilenmezler (65,69,72). Aktif ilaç pompa proteinleri bakterilerde, aminoasit diziliklerindeki homologilere göre bek büyük protein süper ailesinin [ATP binding cassette süper ailesi (ABC), Major facilitator süper ailesi (MFS), Small multidrug resistance süper ailesi (SMR), Multidrug and toxic compound extrusion (MATE) süper ailesi, Resistance-nodulation-cell division (RND) süper ailesi] üyeleri olup, çoğunluğu kromozomal genler tarafından kodlanmaktadır (73,74).

Aktif pompa proteinleri, gram pozitif bakterilerde yaygın olarak bulunmakta olup, makrolid direncinden sorumlu iki pompa ailesi vardır. Bunlar; MFS ve ABC süper aileleridir (58,73,74). Hücre duvarı yapısının farklılığı nedeniyle, gram pozitif bakterilerde bulunan aktif ilaç pompa sistemlerinin organizasyonu basit olup, hücre membranındaki bir aktif pompa proteini ile bu fonksiyon yerine getirilmektedir (73). Stafilocoklarda makrolid direncinden ABC, streptokoklarda ise MFS süper ailesinde yer alan pompa proteinleri sorumludur. Stafilocoklarda pompa proteinini *msr(A)* geni kodlar. Bu gen, *Staphylococcus epidermidis*'den orjin alır. Ayrıca varlığı ilk kez *S. epidermidis*'de gösterilen ABC ailesine mensup *msr(A)* proteininin homoloğu, *Staphylococcus aureus*'ün klinik izolatlarında da gösterilmiş olup, makrolid ve streptogramin B direnciyle ilişkili bulunmuştur (73).

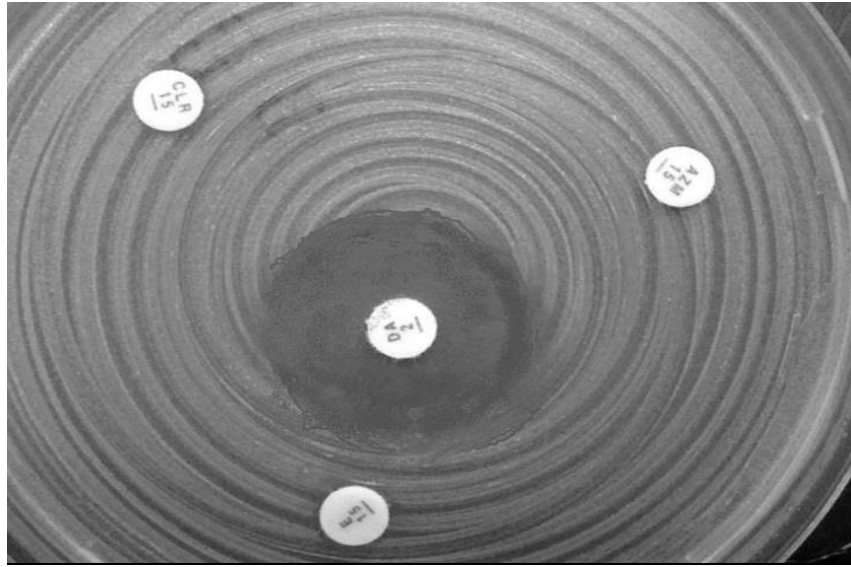
Streptococcus pyogenes'de pompayı kodlayan gen *mef(A)*'dir (58). *Streptococcus pneumoniae*'nin klinik izolatlarında varlığı gösterilen pompa proteinlerini kodlayan *mef* geninin ise *mef(E)* ve *mef(A)* olmak üzere iki varyante vardır. Nükleotid sekansları ortalama % 90 oranında benzerlik gösteren *mef(E)* ve *mef(A)* genleri MFS süper ailesinden 12 transmembran segmentli, proton motivasyon kuvvetiyle çalışan pompa proteinini kodlarlar (Şekil 10) (13,65,68,75).



Şekil 10. Major Facilitator Süper (MFS) ailesinden ilaç atma pompasının şematik görünümü: A) MFS'ler 12 segmentli bir ilaç pompasını kodlar. B) İlaç pompası hidrojen gradientine bağlı olarak çalışmaktadır (74 numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

Pnömonokokların makrolid direncinde *erm(B)* geninin neden olduğu mekanizma baskın olarak bulunmakla birlikte *erm(B)* geninin yanı sıra *mef(E)* geninin varlığı da yeni bir tehdit olarak karşımıza çıkmaktadır.

Streptococcus pneumoniae’de M direnç fenotipine neden olan *mef(E)* geni ilk olarak 1996 yılında tanımlanmıştır (67,76). Aktif pompaya bağlı dirençte düşük düzey makrolid direnci (MIK 1-32 µg/mL) söz konusu olup, bakteriler linkozamidlere ve streptograminlere duyarlı kalmaktadırlar. (58,70,77,78). Bu özellik rutin tanı laboratuvarlarında kolaylıkla aydın edilebilecek tipik bir fenotip olan M fenotipinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (73) (Resim 10).



Resim 10. M direnç fenotipi: Klindamisine hassas, eritromisin, azitromisin ve klaritromisine dirençli (29 numaralı kaynaktan uyarlanmıştır).

MFS tipi transport proteinlerinin sentezi transkripsiyon seviyesinde kontrol edilmektedir (73). *mef* genleri çoğunlukla kromozomda bulunmakta ve konjugasyon ile iletilmektedir (13,29). *Streptococcus pneumoniae*’de *mef(E)* geni, 5.5 kb boyutunda konjugatif transpozon MEGA (*macrolide efflux genetic mef assembly*) ile taşınırken, *mef(A)* geni 7.2 kb boyutundaki Tn1207.1 ile taşınmaktadır. *Streptococcus pyogenes*’de ise *mef(A)* geni Tn1207.3 ile taşınmaktadır (65,79,80). *mef(A)* geni esas olarak *S. pyogenes*’den orjinlenirken, *mef(E)* geni esas olarak *S. pneumoniae*’den orjinlenir (81). *mef(A)* geninin, orjin aldığı *S. pyogenes*’den konjugasyonla *S. pneumoniae*’ye geçtiği, transpozonlar yoluyla da diğer

pnömokoklara aktarıldığı düşünülmektedir (58). Yapılan çalışmalarda *mef(A)* geni takıyan izolatların MIK değerleri, *mef(E)* takıyanlara göre daha yüksek bulunmuştur (82,83,84).

Pnömokokların diğer bir pompa proteini PmrA ise, *Staphylococcus aureus*'taki NorA'nın bir homoloğu olup, florokinolon direnciyle ilişkilidir (73,85).

erm(B) ve *mef(E)* genleri coğrafik bir dağılım gösterirler. *erm(B)* geni kontrolündeki makrolid direnci Avrupa'da ve Güney Afrika'da yaygındır. Kuzey Amerika'da ve Japonya'da aktif atım pompasına bağlı makrolid direnci % 61-85 oranında iken, bu oran Avrupa'da % 20'nin altındadır (70). *mef(E)* takıyan pnömokoklar Kuzey Amerika, Güney Afrika ve Asya'da sık görülürken, *mef(A)* geni takıyanlar ise Avrupa'da sık görülmektedir (82). PROTEKT'ın yapması olduğu çalışmada *mef(A)* geninin neden olduğu aktif atım pompasına bağlı makrolid direnci Avustralya, Kanada, Almanya, Yunanistan, Kıta, İngiltere, Türkiye, Japonya ve Hong Kong'da yaygın olarak tespit edilmiştir (86). Kıta'da yapılan çalışmada M fenotipine neden olan genetik determinant % 84 oranında *mef(A)* iken, % 16 oranında *mef(E)* genidir (87). kiliöde yapılan çalışmada ise aktif atım pompasına bağlı makrolid direncinden sadece *mef(E)* geni sorumlu olarak bulunmuştur (88). Yapılan çalışmalar aktif atım pompasına bağlı makrolid direncinin Bulgaristan'da yaygın olarak *mef(E)* geni kontrolünde olduğunu göstermektedir (89,90).

Otuz sekiz ülkede yürütülen PROTEKT'ın 5 yıllık surveyans çalışması sonuçlarına göre 6646 *S. pneumoniae* izolatının eritromisin direnci % 31.3 olarak saptanırken, çoklu ilaç direnci gösteren izolatların oranı % 37.2 olarak bulunmuştur. Makrolid direnç mekanizmaları araştırıldığında, dirence % 61.4 oranında *erm(B)* geninin neden olduğu belirlenmiştir. Birinci yıl sonunda *erm(B)* ve *mef(A)* genlerinin birlikte saptandığı dirençli izolatların oranı % 5.4 iken, ikinci yıl sonunda bu oran % 7.4'e yükselmıştır (89). Makrolid direncinin en fazla görüldüğü ülkeler Asya ülkeleridir. Bu ülkelerde makrolid direnç oranının % 79'da ulaştığı belirlenmiştir (62). Toplumdan kazanılmak solunum yolu enfeksiyonu etkeni olan patojenlerin antimikrobiyal ilaçlara duyarlılıklarının araştırıldığı surveyans çalışması Alexander Projesi'nde *S. pneumoniae* izolatlarında makrolid direnç prevalansı % 24.6 olarak saptanmıştır. (91).

Makrolidlere direnç mekanizmalarē ile ilgili űlkemizde yapđan alēmalardan birinde Ekel ve ark. 1998-2003 yđlarē arasēnda Kayseriōde klinik örneklerden izole edilen *S. pneumoniae* kökenlerinde (n=525) makrolid direncini % 3.2 oranēnda saptamēlardē. Dirençli bulunan 17 suğun 10ūnda *erm*(B), 6ōsēnda *mef*(A) geni saptamēdar, 1 suğa ise; 23S rRNAōda A2059G mutasyonunu Türkiyeōde ilk kez olmak üzere belirlemiklerdir (66).

Solunum yolu enfeksiyonlarēnda tedavinin çođ unlukla ampirik olmasēnedeniyle, kullanēnda olan antibiyotiklere karkē direnç oranlarēna ilikkin bölgesel verilere ihtiyaç duyulduđ undan Gür ve alēma grubunun, Eylül 2002 ve Haziran 2003 yđlarē arasēnda bir çok űlkede yürüttüđ ü çok merkezli in vitro bir araktēma olan e-BASKETT-II surveyans alēmasēnē Türkiye bölümünde, on sekiz merkezden izole edilen pnömokoklarda makrolid direnci % 17.3 oranēnda bulunmuştur. Eritromisine dirençli izolatlarēn % 77.8ōnde *erm*(B), % 17.8ōnde *mef*(A) geni ve 1 izolatta (% 2.2) *erm*(B) ve *mef*(A) genleri birlikte saptanmēktē (92).

Gülay ve ark. İmir ve Ankara illerinden izole edilen 151 pnömokok suğunda, eritromisin direncini % 26.4 oranēnda saptamēlardē. Eritromisine dirençli 40 suğun 38ōnde ribozomal metilasyona bağ lē direnç [*erm*(B)] 1ōnde M tipi [*mef*(A)/*mef* (E)] direnç, 1ōnde ise, her iki mekanizmanēn da olduğ unu göstermiklerdir. *erm*(B) ve *mef*(A)/*mef*(E) genlerini birlikte takēyan izolatēn direnç fenotipi ise iMLS_B + M fenotipi olarak belirlenmiktir (93).

Torun ve ark.đarēnē İstanbul űniversitesiōnde 2008 yđnda yaptēklarēalēmada ise, eritromisin direnci % 42 gibi yüksek bir oran olarak saptanmēktē (44).

İkalyaōda yapđan bir çalēmada iki *Streptococcus pneumoniae* kökeninde *mef* geni varyantēolan *mef*(I) tanēnlanmēktē. *mef*(I), hareketsiz 30.5 kb boyutunda 5216Q kompleksi ile takēnmaktadē (94).

Pnömokoklarda iki ana makrolid direnç mekanizmasēnēn dēkēnda nadir olarak görülen, bununla beraber son yđlarda bu konuda yapđan alēma sayēsēnē giderek arttē ē bakka bir direnç mekanizmasē daha vardē. Bu mekanizmada, makrolid direncinden bakteri ribozomunun 50S alt biriminde yer alan ve makrolidlerin bağ landē ēyer olan 23 rRNA ve L4, L22 gibi ribozomal proteinlerde meydana gelen mutasyonlar sorumludur. 23S rRNAōdaki mutasyon genellikle domain V

molekölünün A2058 veya A2059 pozisyonlarında meydana gelmektedir. L4 veya L22 ribozomal proteinlerindeki mutasyonlar ise, aminoasit zincirinde tek veya birden fazla aminoasitin insersiyonu ve/veya delesyonu şeklinde olmaktadır (95).

Tait-Kamradt ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada; 14 ve 15 üyeli makrolidlere dirençli bulunan 4 *S. pneumoniae* izolatında söz konusu direnç, bilinen hiçbir mekanizma ile açıklanamamaktadır ve yapıdan araştırmada bu 4 izolatın 23S rRNA'da mutasyon saptanmıştır. Aynı çalışmada, 23S rRNA'da değil ikilik olmayan 2 *S. pneumoniae* izolatının, L4 ribozomal proteinlerindeki aminoasit dizilimlerinde nokta mutasyonları saptanmıştır. Tait-Kamradt ve arkadaşları 2000 yılında yayınlamış oldukları bu çalışma pnömokoklarda mutasyonun gösterildiği ilk çalışmadır (96).

Türkiye'nin de yer aldığı PROTEKT'in araştırmasında rRNA metilasyonu ve aktif atın pompası saptanamayan pnömokok izolatlarının 23S rRNA'da A2058G, A2059G ve C2611G mutasyonları saptanırken, Japonya'dan elde edilen izolatlarda aynı zamanda L22 ribozomal proteininde G95D mutasyonu saptanmıştır (97). Yapılan çalışmalarda mutasyon saptanan izolatların çeşitli antimikrobiyalere karşı olan MIC değerlerinde artışlar saptanırken, genellikle telitromisin'in MIC değerlerinde önemli bir değişim görülmemiştir.

Antimikrobiyal ajanlara karşı ortaya çıkan direnç sorunu çeşitli enfeksiyonların tedavisinde yeni antimikrobiyallerin geliştirilme gereksinimi de beraberinde getirmiştir. Bu süreç sonunda makrolidlerin yeni bir sınıfına oluşturan ketolitler geliştirilmiştir. Telitromisin bu ailenin ilk üyesidir (98).

İndüklenebilir makrolid direncinden 14- ve 15- üyeli makrolidler etkilenirken, 3. pozisyonda L-kladinoz yerine, keto grubunun bulunması nedeniyle indüklenebilir dirençten telitromisin etkilenmez (56). Ketolitlerin domain II'ye olan spesifik etkisi, MLS_B grubu antibiyotiklere karşı dirençte önemli rol oynayan domain V'deki değişimlerin olumsuz etkisini de azaltır. Ketolitlerde direnci indüklemeye engel iliminin düşük olması bu olayın da rolü olduğu düşünülmektedir (50).

Telitromisin, yapışal MLS_B direnci gösteren *Streptococcus pneumoniae* suşlarına etkinliğini sürdürürken, *mef* genleri ile kodlanan efflux direncinden karbamat yan zincirleri dolayısıyla etkilenmezler. Sonuçta ketolit direnci yapışal

olarak metilaz ekspresyon seviyesine veya ek olarak bilinmeyen başka mekanizmalara bağılı olarak gelişebilir (50,56).

Fogarty ve arkadaşları telitromisinin klinik ve bakteriyolojik etkinliğini araştıran çalışmalarında, eritromisin MIKK değerinden bağımsız olarak bütün pnömokok suşları telitromisine duyarlı oldukları gösterilmiştir (99). Ülkemizde son yıllarda yapılan çok merkezli bir çalışmada 260 pnömokok suşundan sadece biri telitromisine orta duyarlı bulunurken, İstanbul'da iki büyük üniversite hastanesinde ortak yapılan bir çalışmada ise kökenlerinin hepsi telitromisine duyarlı bulunmuştur (92,100).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

3.1.1. Besiyerleri

1. % 5 Koyun Kanlı Agar (Biomeriux)
2. % 5 Koyun Kanlı Müeller Hinton Agar (Biomeriux)
3. Katyon Ayarlanmış Müeller Hinton Buyyon (BD)
4. Lize Edilmiş At kanı (Oxoid)
5. Skim Milk (Oxoid)
6. Triptik Soy Buyyon (Oxoid)

3.1.2. Standart kökenler

1. *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619: Tüm antimikrobiyal duyarlılık testlerinde kalite kontrol kökeni olarak kullanılmaktadır (101).
2. *Streptococcus pneumoniae* ATCC 700675: *erm*(B), *mef*(A/E) ve *erm*(TR) genlerinden hiç birini taşımayan kontrol kökeni (68).
3. *Streptococcus pneumoniae* ATCC 700677 : *erm*(B) geni taşıyan pozitif kontrol kökeni (68).
4. *Streptococcus pneumoniae* ATCC 700676: *mef*(A) geni taşıyan pozitif kontrol kökeni (82,102).
5. *Streptococcus pneumoniae* KTL spn-237: *mef*(E) geni taşıyan pozitif kontrol kökeni (82,103).
6. *Streptococcus pyogenes* A200: *erm*(TR) geni taşıyan pozitif kontrol kökeni (89).

[Not: Kontrol kökenleri 2008 yılında İKlinik *Streptococcus pneumoniae* İzolatlarında Makrolid Direnç Mekanizmalarının Araştırılması isimli tez çalışmasını yapan Dr. Pınar Sağır'ından temin edilmektedir. Dr. Pınar Sağır'ın *erm*(B), *mef*(A) pozitif kontrol ve negatif kontrol kökenlerini Almanya Ulusal Streptokok Referans Enstitüsünden Prof. Dr. Ralf Reine Reinert'tan, *mef*(E) ve *erm*(TR) pozitif kontrol kökenlerini Finlandiya Ulusal Halk Sağlığı Enstitüsü Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Departmanından Prof. Dr. Pentti Huovinen'den temin etmektedir.]

3.1.3. Antibiyotikler

3.1.3.1. Antibiyotik diskleri

1. Eritomisin disk 15 µg (Oxoid)
2. Klindamisin disk 2 µg (Oxoid)
3. Azitromisin disk 15 µg (Oxoid)
4. Klaritromisin disk 15 µg (Oxoid)
5. Optokin disk (Oxoid)

3.1.3.2. Antibiyotik tozlar

1. Eritomisin toz (Fluka)
2. Klindamisin toz (Sigma, Eczacıbaşı Zentiva)
3. Azitromisin toz (Fluka, Eczacıbaşı Zentiva)
4. Klaritromisin toz (Sigma, Eczacıbaşı Zentiva)

3.1.4. Kimyasal maddeler

1. Gliserol (Sigma)
2. PBS (pH: 7,2)

3. Na₂CO₃ (Merck)
4. KOH (Merck)
5. NaOH (Merck)
6. HCl (Merck)
7. NaCl (Merck)
8. Sodium deoksikolat (Fluka)

3.1.5. PZR malzemeleri

1. DNA ekstraksiyon Kiti (Roche)
2. 100 kb DNA Ladder (MBI Fermentas)
3. Lamda DNA (MBI Fermentas)
4. 10x TBE Buffer (Tris, EDTA, Borik asit)
5. 1x TBE Buffer (Tris, EDTA, Borik asit)
6. 6 x Loading Dye (MBI Fermentas)
7. 2x PCR Master mix (MBI Fermentas)
8. Enjeksiyon suyu (DNaz-RNaz Free Distile su) (MBI Fermentas)
9. *erm*(B), *mef*(A), *mef*(E), *erm*(TR) primer çiftleri (IDT)
10. 1,5 mL, 0,5 mL ve 0,2 mL'lik ependorflar (Axygen)
11. Mavi, sarı beyaz pipet uçları (DNaz, RNaz Free) (Grenier)
12. Agaroz (Appllichem)
13. Etidyum bromid (Merck)
14. Eldiven (Beybi)
15. Polaroid film (Kodak)

3.1.6. Araçlar ve aygātalar

1. Tek kanallēotomatik pipetler (Pipetmen, Kōotherm, Thermo)
2. Sekiz kanallēotomatik pipet (Thermo)
3. Petri kutularē balonlar, pipetler, tüpler, sarē ve mavi pipet uçlarē sporlar
4. 96 kuyucuklu U tabanlēplak (LP Itiliana)
5. Etüv (Memert)
6. Pasteur fāñē (Memert)
7. Otoklav (Hirayama)
8. Buzdolabē (Arçelik)
9. (- 20 °C) Dondurucu (Ugur)
10. (- 80 °C) Dondurucu (iShin)
11. Hassas terazi (Sartorius)
12. Kaba terazi (Scaltec)
13. Vorteks (Yellow line)
14. Su banyolarē (Memert)
15. Kurutma kağ ālarē
16. Steril eküvyonlar
17. Termal Döngü Cihazē (Techne, BIO RAD)
18. Elektroforez tanklarē ve cihazē (Biometra)
19. pH metre cihazē (Hana instruments)
20. Mikrodalga fāñ (Beko)
21. UV görüntüleyici (Vilber Lourmant)
22. Santrifüjler (Hettich)
23. Model 111 Mini IEF Cell (BIO-RAD)
24. Power Pac Universal Power Supply (BIO-RAD)

3.2. Yöntemler

2009 yılında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çekitli klinik örneklerden, enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve rutin disk difüzyon testi ile eritromisine dirençli bulunan 50 *Streptococcus pneumoniae* izolat çalışmaya dahil edildi.

Çalışmamızda izolatların disk difüzyon yöntemi ile eritromisin, azitromisin, klaritromisine ve klindamisine olan duyarlılığı ve sēve mikrodilüsyon yöntemi ile minimum inhibitör konsantrasyonları belirlendi. Makrolid direnç fenotipinin saptanmasında eritromisin ve klindamisin çift disk yöntemi kullanıldı. İzolatlarda makrolid direncinin genetik determinantları *mef(A)*, *mef(E)*, *erm(B)* ve *erm(TR)* genleri her gene özgü primerler kullanılarak PZR yöntemiyle tespit edildi.

3.2.1. İzolatların tanımlanması

Streptococcus pneumoniae izolatlarının tanımlanması koloni morfolojisi ve gram boyama özelliklerinin incelenmesini takiben, optokin ve safrada erime testleri uygulanarak yapıldı. % 5 koyun kanı agarında α-hemoliz oluşturan, mikroskopik incelemede gram pozitif diplokok olarak görülen, kanı agarında 6 mm optokin diski etrafında 14 mm inhibisyon zonu oluşturan ve % 10 sodyum deoksikolatatta eriyen izolatlar *Streptococcus pneumoniae* olarak tanımlandı(18,20,21).

3.2.2. Antibiyotik duyarlılık testleri

3.2.2.1. İzolatların makrolid ve linkozamid duyarlılıklarının disk difüzyon yöntemiyle belirlenmesi

İzolatların eritromisin, azitromisin, klaritromisine, ve klindamisine duyarlılıkları CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) standartlarına uygun olarak disk

difüzyon yöntemi ile belirlendi. Bakterilerin koyun kanlı agarda üreyen bir gecelik kolonilerinden Mueller Hinton sıvı besiyerinde 0,5 McFarland bulanıklığında (1.5×10^8 kob/mL) hazırlanan bakteri süspansiyonları % 5 koyun kanlı Mueller Hinton agar yüzeyine steril eküvyonla yayıldı. Antibiyotik diskleri agar üzerine, merkezden merkeze uzaklıkları 24 mm olacak şekilde yerleştirildi ve 35 ± 2 °C'de 20-24 saat inkübe edildi. Antibiyotik diskleri çevresinde oluşan inhibisyon zonları ölçülerek isolatlar duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak gruplandırıldı (Tablo 3). Tüm testlerde *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 kalite kontrol suşu olarak kullanıldı (101).

Tablo 3. CLSI'nin *Streptococcus pneumoniae* için önerdiği disk difüzyon değerlendirme kriterleri (101).

Antibiyotik	Dirençli	Orta duyarlı	Duyarlı
Eritromisin	≤ 15 mm	16-20 mm	≥ 21 mm
Klaritromisin	≤ 16 mm	17-20 mm	≥ 21 mm
Azitromisin	≤ 13 mm	14-20 mm	≥ 18 mm
Klindamisin	≤ 15 mm	16-18 mm	≥ 19 mm

3.2.2.2. İzolatların makrolid ve linkozamid minimum inhibitör konsantrasyonlarının (MİK) sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmesi

Eritromisin, azitromisin, klaritromisin ve klindamisin antibiyotiklerinin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile CLSI standartlarına uygun olarak belirlendi (104).

i) Antibiyotik dilüsyonlarının hazırlanması antibiyotiklerin 512 µg/mL'den başlayarak 0.015 µg/mL'e kadar seri sulandırımları hazırlandı ve steril U tabanlı plak kuyucuklarına her bir konsantrasyondan 100 µL dağıldı. ii) Bakteri inokulumlarının hazırlanması direkt koloni yöntemi kullanılarak isolatların 18-20 saatlik kültürlerinden 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonları hazırlandı. iii) Hazırlanan süspansiyonlar antibiyogram plâkındaki son bakteri inokulum konsantrasyonu 5×10^5 cfu/mL olacak şekilde 1/100 oranında % 5 lize

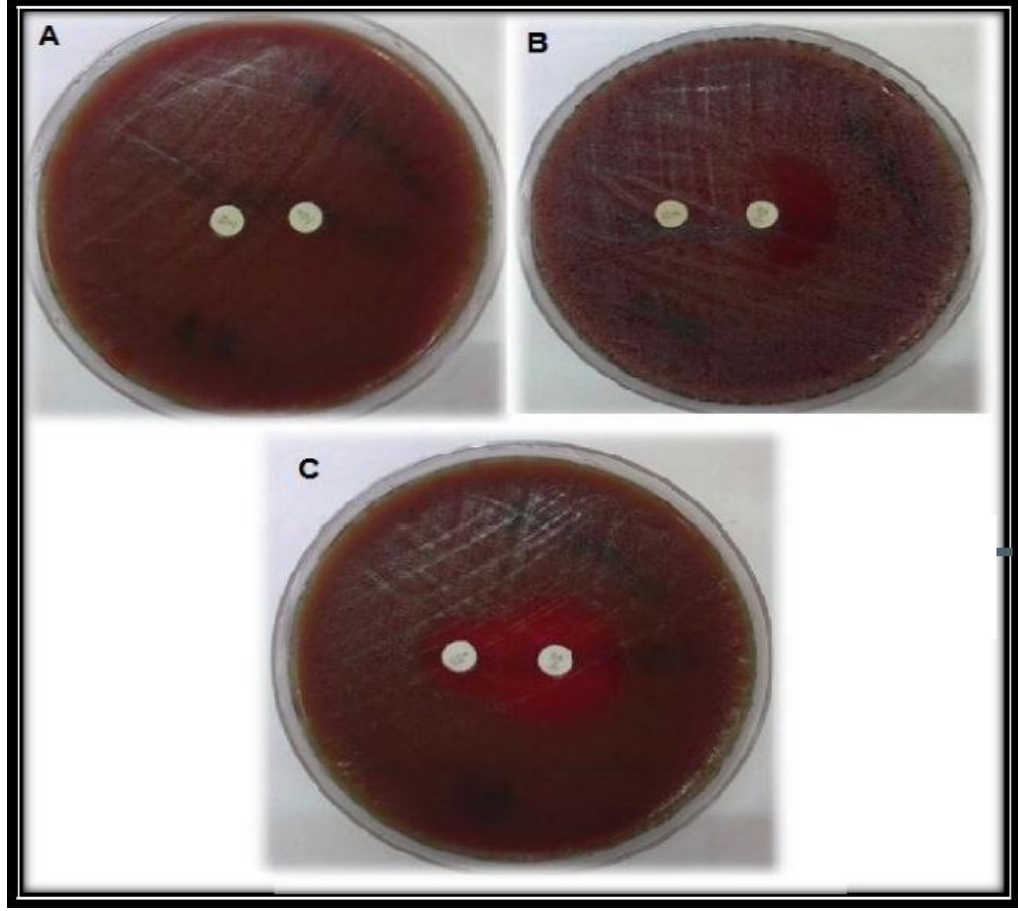
edilmik at kanē içeren katyonu ayarlanmāk Mueller Hinton sēvē besiyeri ile sulandēddē ve her bir kuyucuĵa inokulumdan 100 εl eklendi. Plaklar 35±2°Cde 20-24 saat inkübe edildi ve gözle üreme görülmeyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edildi. MİK değeri CLSI kriterlerine göre duyarlē orta duyarlē ve dirençli olarak yorumlandē (Tablo 4). *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 kalite kontrol suķu olarak kullanēddē(104).

Tablo 4. CLSI'nin *Streptococcus pneumoniae* için önerdiĵi minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeriendirme kriterleri (104).

Antibiyotik	Dirençli (μg/ml)	Orta duyarlı (μg/ml)	Duyarlı (μg/ml)
Eritromisin	≥ 1	0.5	≤ 0.25
Klaritromisin	≥ 1	0.5	≤ 0.25
Azitromisin	≥ 2	1	≤ 0.5
Klindamisin	≥ 1	0.5	≤ 0.25

3.2.3. Makrolid direnç mekanizmalarēn fenotipik test ile belirlenmesi

İzolatlarē makrolid grubu antibiyotiklere direnç fenotipi eritromisin ve klindamisine çift disk testi ile belirlendi. Bakterilerin kültürlerinden Mueller Hinton sēvē besiyerinde 0.5 McFarland bulanıklıĵında (1.5×10^8 kob/mL) hazērlanan bakteri süspansiyonlarē % 5 koyun kanlē Mueller Hinton agar yüzeyine steril eküvyonla yayēddē Eritromisin ve klindamisin diskleri, birbirlerine uzaklıklarē merkezden merkeze 15-20 mm olacak şekilde yerlektirildi. Deĵeriendirme, plaklar % 5 CO₂ içeren ortamda 35±2 °Cde bir gece inkübe edildikten sonra yapēddē Hem eritromisin hem de klindamisine dirençli bulunan izolatlar yapēsal MLS_B fenotipi (cMLS_B) olarak, klindamisinin eritromisine bakan tarafēnda küntlekme gösteren izolatlar indüklenebilir MLS_B fenotipi (iMLS_B) olarak, eritromisine dirençli klindamisine hassas bulunan izolatlar ise M fenotipi olarak kabul edildi (Resim 11) (29,105). cMLS_B fenotipini belirlemede kontrol kökeni olarak *Streptococcus pneumoniae* ATCC 700677, iMLS_B fenotipi için *Streptococcus pyogenes* A200 ve M fenotipi için de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 700676 kontrol kökeni olarak kullanēddē (68,82,89,102,103) (Resim 11).



Resim 11. Kontrol kökenlerinin eritromisin klindamisin çift disk testi sonuçları A) Eritromisin ve klindamisine dirençli cMLS_B fenotipi gösteren köken, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 700677 B) Klindamisin eritromisine bakan yüzünde küntleşme ile karakterize iMLS_B fenotipi gösteren köken, *Streptococcus pyogenes* A200 C) Eritromisine dirençli, klindamisine hassas M fenotipi gösteren köken, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 700676.

3.2.4. Makrolid direnç genlerinin polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlenmesi

3.2.4.1. DNA izolasyonu

High Pure PCR Template Preparation (Roche, Germany) DNA izolasyon kiti ile üretici firmanın önerilerine göre bakterilerin DNA'sı izole edildi.

3.2.4.2. Polimeraz zincir reaksiyonu

İzolatlarda makrolid direnç genlerinden *mef*(A), *mef*(E), *erm*(B), *erm*(TR) varlığı polimeraz zincir reaksiyonu ile uygun reaksiyon koşullarında, her gene özgü primerlerle gerçekleştirildi. Denatürasyon, bağlanma ve uzama basamakları termal döngü cihazında 30 döngü tekrarlandı (Tablo 5, Tablo 6).

Tablo 5. Polimeraz zincir reaksiyonu koşulları (29,68,82,102,103).

	<i>erm</i> (B)	<i>mef</i> (A)	<i>mef</i> (E)	<i>erm</i> (TR)	Siklus sayısı
Başlangıç denatürasyonu	94 °C 4 dak	94 °C 4 dak	94 °C 4 dak	94 °C 4 dak	1
Denatürasyon	94 °C 1 dak	94 °C 1 dak	94 °C 1 dak	94 °C 1 dak	30
Bağlanma (Annealing)	55 °C 1 dak	55 °C 1 dak	55 °C 1 dak	50 °C 1 dak	30
Uzama (Elongation)	72 °C 1 dak	72 °C 1 dak	72 °C 1 dak	72 °C 1 dak	30
Son Uzama (Final Elongation)	72 °C 7 dak	72 °C 7 dak	72 °C 7 dak	72 °C 7 dak	1

50 µl reaksiyon karışımına 5 µl ekstrakte edilmik DNA, 25 µl PCR Master Mix (dNTP, Tag polimeraz, MgCl içeren), 10 µl primer çifti ve 18 µl RNAaz DNAaz içermeyen ajirojen su içerecek şekilde hazırlandı (29,82,89).

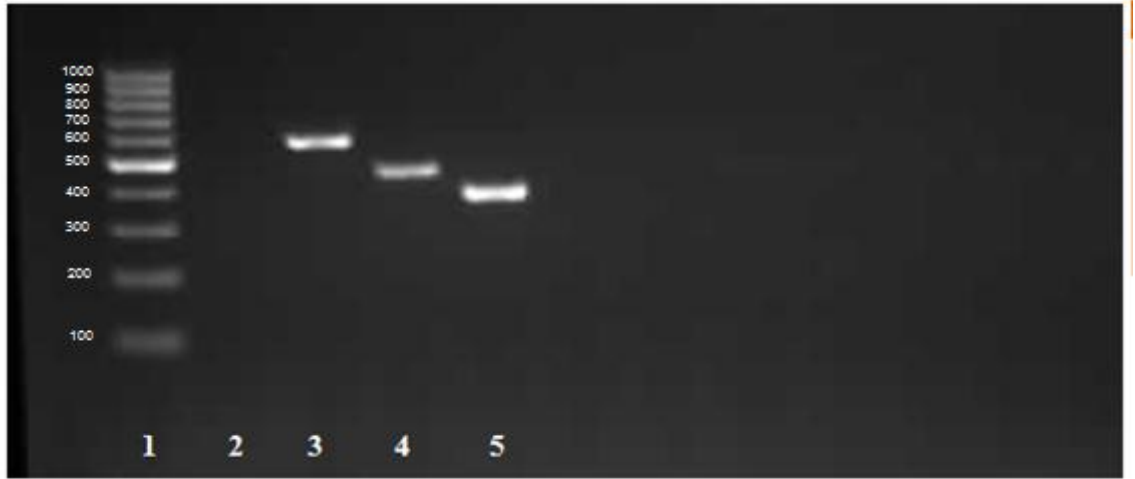
Tablo 6. Makrolid direnç genlerine özgü primerler

Gen	"Forward primer"	"Reverse primer"	Kaynak No
<i>erm</i> (B)	5'-ATTGGAACAGGTAAAGGGC-3'	5'-GAACATCTGTGGTATGGCG-3'	68
<i>mef</i> (A)	5'-TGGTTCGGTGCTTACTATTGT-3'	5'-CCCCTATCAACATTCAGA-3'	82,102
<i>mef</i> (E)	5'-GGGAGATGAAAAGAAGGAGT-3'	5'-TAAAATGGCACCAGAAAG-3'	82,103
<i>erm</i> (TR)	5'-ACAGAAAAACCGAAAAATACG-3'	5'-TTGGATAATTTATCAAGATCAG-3'	89

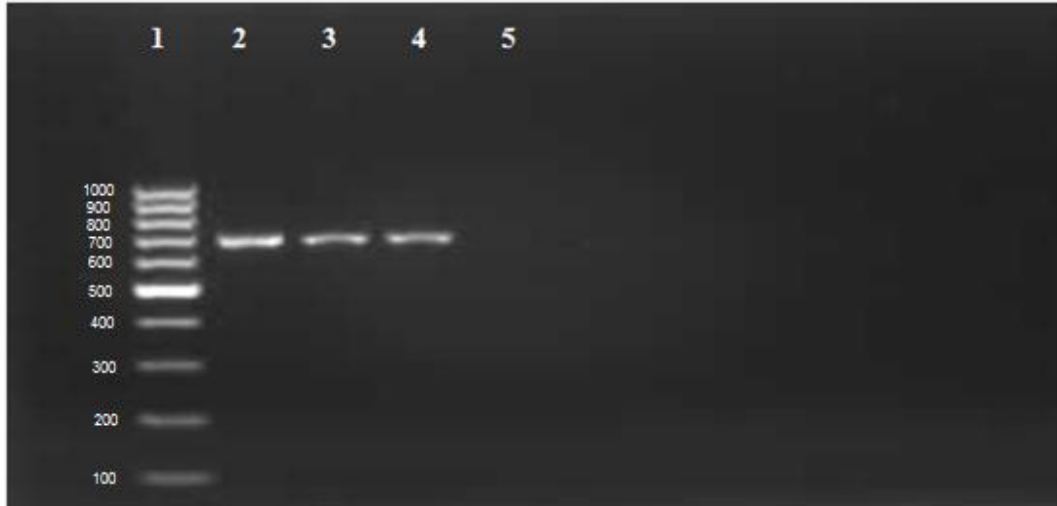
PCR'da *Streptococcus pneumoniae* ATCC 700675, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 700677, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 700676, *Streptococcus pneumoniae* KTL spn-237, *Streptococcus pyogenes* A200 kontrol kökeni olarak kullanıldı (68,82,89,102) (Resim 12, Resim 13).

3.2.4.3. PZR ürünlerinin saptanması

Elde edilen PCR ürünlerine agaroz jel elektroforezi uygulandı PCR ürünleri etidyum bromid içeren % 1'lik agaroz jelde 90 V'da 1 saat yürütüldü. İzolatlara ait PCR bantları UV ışık altında, kontrol izolatları ile karşılaştırılarak değerlendirildi.



Resim 12. Makrolid direnç genleri negatif ve pozitif olan kontrol kökenlerinin agaroz jeldeki görüntüsü: **1)** DNA Ladder (1000 bp çifti) **2)** Negatif kontrol kökeni (*Streptococcus pneumoniae* ATCC 700675) **3)** *mef(A)* pozitif kontrol kökeni (*Streptococcus pneumoniae* ATCC 700676) (553 bp) **4)** *erm(B)* pozitif kontrol kökeni (*Streptococcus pneumoniae* ATCC 700677) (442 bp) **5)** *mef(E)* pozitif kontrol kökeni (*Streptococcus pneumoniae* KTL spn-237) (363 bp).



Resim 13. Makrolid direnç geni [*erm(TR)*] negatif ve pozitif olan kontrol kökeninin agaroz jeldeki görüntüsü **1)** DNA Ladder (1000 bp çifti) **2, 3, 4)** *erm(TR)* pozitif kontrol kökeni (*Streptococcus pyogenes* A 200) (679 bp) **5)** Negatif kontrol kökeni (*Streptococcus pneumoniae* ATCC 700675).

4. BULGULAR

2009 yēında Marmara Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarēna gönderilen klinik örneklerden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 118 *Streptococcus pneumoniae* kökeni arasēndan, disk difüzyon testi ile eritromisin direnci tespit edilen 50 köken çalāmamēza dahil edilmiştir. Hastanemizde 2009 yēē eritromisin direnç oranē % 42.3 olarak tespit edilmiştir. Laboratuvarēnēz verilerine göre çalāmamēzda test edilen kökenlerin % 94ü penisilinlere, % 96ē tetrasikline, % 90ē trimetoprim-sulfometaksazole dirençli bulunurken, % 2ēsi de kinolonlara dirençli bulunmaktır. İncelenen 50 *Streptococcus pneumoniae* kökeninin % 60ē balgam örneē inden, % 16ē endotrakeal aspirat (ETA), % 14ü bronkoalveolar lavaj (BAL), % 4ü beyin omurilik sēvēē (BOS), % 2ēsi kan, % 2ēsi derin trakeal aspirat (DTA), % 2ēsi de plevra örneklerinden izole edilmiştir. Gelen örneklerin yaklaşık % 82ēsi 0-18 yak arasē hastalara aittir (Tablo 7). Kökenlerin % 18ü hastanede yatan hastalardan gelen örneklerden izole edilirken % 82ēsi ise poliklinik hastalarēn örneklerinden izole edilmiştir.

Tablo 7. Kökenlerin izole edildiē i örnek türü ve hasta yakēna göre daē lēnē

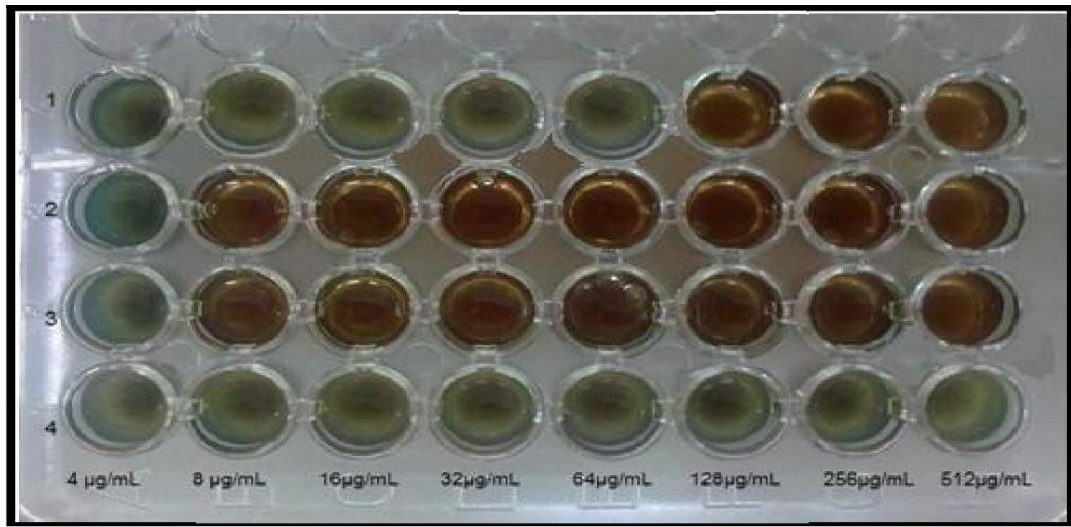
Örnek Cinsi		0-5	5-18	22-37	71-76
Solunum Yolu	Balgam	-	26	2	2
	BAL	4	1	2	-
	ETA	7	1	-	-
	DTA	-	-	-	1
Vücut Sıvısı	BOS	-	1	-	-
	Plevra	-	-	-	1
Kan	Kan	1	-	1	-

İzolatlarēn tamamē disk difüzyon yöntemiyle makrolid grubu antibiyotiklere (eritromisin, azitromisin, klaritromisin) dirençli bulunurken, % 28ü klindamisine duyarlē bulunmaktır.

Disk difüzyon yönteminde olduğu gibi sēv mikrodilüsyon yöntemiyle de izolatların hepsi makrolid grubu antibiyotiklere dirençli bulunmuştur. Makrolid grubu antibiyotiklere izolatların % 32'sinde düşük düzeyde, % 68'inde yüksek düzeyde eritromisin direnci tespit edilmıştır (Tablo 8). Yüksek düzeyde makrolid direnci tespit edilen kökenlerin MİK değ erleri 256 - 512 µg/mL, düşük düzeyde direnç tespit edilen kökenlerin MİK değ erleri 2-32 µg/mL arasındadır. İzolatların % 30'u klindamisine duyarlı olarak bulunup, MİK değ erleri 0.03-0.125 µg/mL arasındadır (Tablo 8). Sēv mikrodilüsyon testi sonuçlarının değ erlendirilmesi Resim 14'de gösterilmiştir.

Tablo 8. İzolatların makrolid ve linkozamid grubu antibiyotiklere MİK değ erlerinin dağılımı

Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) (µg/mL)																	
Antibiyotik		≥ 512	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03
Eritromisin	n	28	3	3			1	3		9	3						
	(%)	(56)	(6)	(6)			(2)	(6)		(18)	(6)						
Azitromisin	n	24	9	2			3	2	6	4							
	(%)	(48)	(18)	(4)			(6)	(4)	(12)	(8)							
Klaritromisin	n	2	20	11	2				2	4	7	2					
	(%)	(4)	(40)	(22)	(4)				(4)	(8)	(14)	(4)					
Klindamisin	n	1	2	28	1	2				1					1	13	1
	(%)	(2)	(4)	(56)	(2)	(4)				(2)					(2)	(26)	(2)

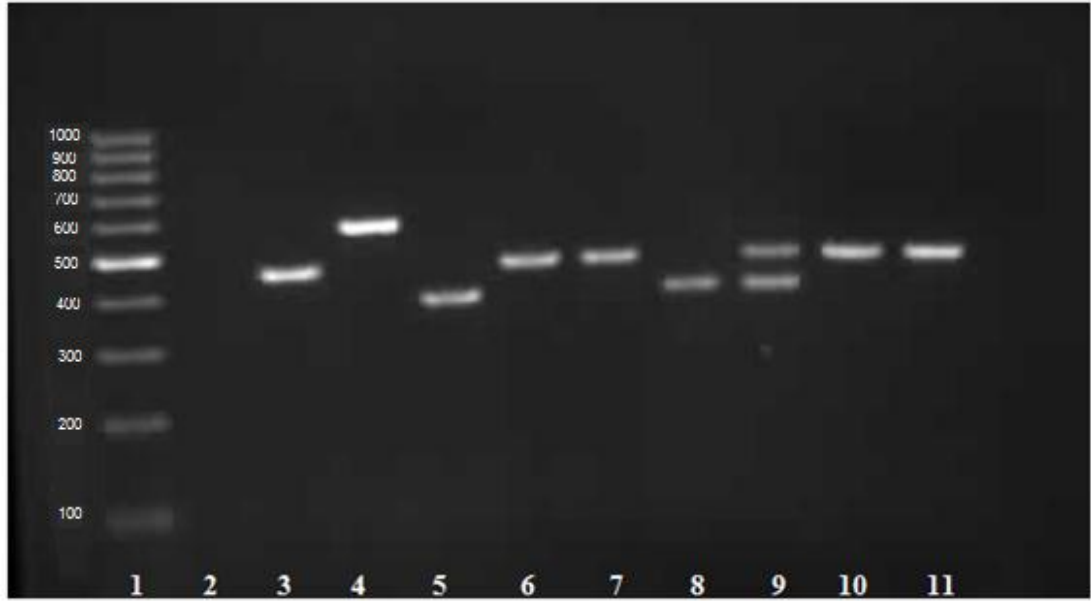


Resim 14. İzolatların MİK değ erlerinin tespit edildiği sēv mikrodilüsyon plâğından bir kesit: Yekil ile görülen kuyucuklarda üreme gözlenirken, kâmezâmsē kahverengi görülen kuyucuklarda üreme gözlenmemiştir. Üremenin olmadığ ilk kuyucuk eritromisin MİK değ eri olarak alınmıştır. 1 numaralı izolatın eritromisin MİK değ eri 128 µg/mL , 2. ve 3. izolatın 8µg/mL ve 4. İzolatın ise 512 µg/mL dır.

Polimeraz zincir reaksiyonunda 50 *Streptococcus pneumoniae* izolata arattıran makrolid direnç genlerinden *erm*(B) geni, izolatların % 70'inde, *mef*(E) geni % 30'unda tespit edilmiştir. *erm*(B) izolatların % 40'ında tek bakına, % 30'unda ise *mef*(E) geni ile birlikte saptanmıştır. *mef*(A) ve *erm*(TR) genleri hiçbir izolatta tespit edilmemiştir (Tablo 9). PZR sonuçlarının değerlendirilmesi Resim 15'de gösterilmiştir.

Tablo 9. 50 Eritromisin dirençli kökende direnç genlerinin dağılımı

Genler	Gen taşıyan izolat sayısı (%)
<i>erm</i> (B)	20 (40)
<i>mef</i> (E)	15 (30)
<i>erm</i> (B) + <i>mef</i> (E)	15 (30)



Resim 15. Makrolid direnç genleri pozitif olan kökenlerinin agaroz jeldeki görüntüsü: **1)** DNA Ladder **2)** Negatif kontrol kökeni (*Streptococcus pneumoniae* ATCC 700675) **3)** *erm*(B) pozitif kontrol kökeni (*Streptococcus pneumoniae* ATCC 700677) (442 bp) **4)** *mef*(A) pozitif kontrol kökeni (*Streptococcus pneumoniae* ATCC 700676) (553 bp) **5)** *mef*(E) pozitif kontrol kökeni (*Streptococcus pneumoniae* KTL spn-237) (363 bp) **6,7,10,11)** *erm*(B) pozitif kökenler **8)** *mef*(E) pozitif köken **9)** *erm*(B) ve *mef*(E) pozitif köken

erm(B)öyi *mef*(E) ile birlikte ya da olmaksözün takēyan 35 izolat (% 70) cMLS_B fenotipi göstermik olup, makrolid MİK değ erleri 32 - Ó 512 µg/mL ve klindamisin MİK değ erleri 4 - Ó 512 µg/mL arasēdadēr (Tablo 10). *mef*(E)öyi tek bakēna takēyan izolatlarēn biri hariç tümü M fenotipindedir ve makrolid MİK değ erleri 1-32 µg/mL, klindamisin MİK değ erleri 0.06 - 0.125 µg/mL arasēdadēr (Tablo 11). İzolatlarēn makrolid ve klindamisin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değ erleri Tablo 10âda gösterilmiktir.

Tablo 10. Makrolid direnç fenotipinin, makrolid direnç genleri ve minimal inhibitör konsantrasyonlarēile ilikkisi

Makrolid direnç fenotipi	İzolat sayısı (%)	Antibiyotik	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) (µg/mL)			Gen içeren izolat sayısı		
			Aralık	MİK ₅₀	MİK ₉₀	<i>erm</i> (B)	<i>mef</i> (E)	<i>erm</i> (B) + <i>mef</i> (E)
cMLS _B	35 (%70)	Eritromisin	32 - ≥ 512	≥ 512	≥ 512	20	-	15
		Azitromisin	256 - ≥ 512	≥ 512	≥ 512			
		Klaritromisin	128 - ≥ 512	512	512			
		Klindamisin	4 - ≥ 512	256	512			
iMLS _B	1 (%2)	Eritromisin	-	-	-		1	-
		Azitromisin	-	-	-			
		Klaritromisin	-	-	-			
		Klindamisin	-	-	-			
M	14 (%28)	Eritromisin	2-16	4	16	-	14	-
		Azitromisin	4 - 32	8	32			
		Klaritromisin	1 - 8	2	8			
		Klindamisin	0.06 - 0.125	0.06	0.06			

5. TARTIşMA

Dünya sağ lık örgütü verilerine göre, yēda 1.6 milyon insan pnömokoka bağ lē hastalıklar nedeniyle yakamēē yitirmektedir. Bu ölümlerin 1 milyondan fazlasēē 5 yakē altēdaki çocuklar oluşturmaktadır (106,107). Bu korkutucu tablonun ortaya çēkmasēda mikroorganizmanē virölans özelliklerinin yanēsēa, antibiyotiklere çoklu direnç gösteren izolatlarēē hēzla artmasēē da önemli rolü vardē. 1980đi yēlardan itibaren pnömokokal enfeksiyonlarē tedavisinde bakterēyla kullanēdan penisiline karkē direnç gösteren pnömokok izolatlarēē dünyada hēzla yayēmasē alternatif tedavi protokollerinin geliştirilmesine ihtiyaç göstermik ve bunlar arasēda da makrolidler düşük yan etkiye sahip olmalarē geniş etkinlikleri, yüksek doku ve serum düzeyine erikmeleri ile ön sēada yerlerini almēlardē. Ancak pnömokoklar, makrolidlere karkē direnç geliştirmekte de gecikmemikler ve makrolidlere dirençli pnömokoklarē sayēsē birçok ülkede önemli bir sorun haline gelmiştir (98,108).

Özellikle son 15 yēdan bu yana ülkemizin de içinde bulunduğ u dünyanın birçok bölgesinde ciddi bir problem haline gelen pnömokoklardaki makrolid direncinin mekanizmalarēē bilmek, bu bakterinin neden olduğ u enfeksiyonlarē tedavi yaklakēnlarēē düzenlenmesinde kritik bir öneme sahiptir. Uluslararası yapēan birçok çalēmada makrolid direnç mekanizmalarē ile ilgili epidemiyolojik pek çok veri elde edilmiştir (73). Avrupa Antimikrobiyal Direnç İzleme Sistemiōnin (EARSS) 2005 yēē verilerine göre Türkiyeēdeki eritromisin direnç oranē % 10 iken, bu oran 2008 yēēda % 29ā yükselmiştir (60,61). Hastanemize ait veriler, pnömokoklarda makrolid direnç oranlarēē yēlar içinde giderek arttē ēē ve son 4 yēda % 30āın üzerine çēktē ēē göstermektedir (29). 2009 yēēda eritromisin direnç oranēē % 42.3 olarak tespit edilmiştir. Ülkemizde pnömokoklarē makrolid grubu antibiyotiklere direnç oranlarē azēsanmayacak düzeylere ulakmasēa rağ men, makrolid direncinin özellikle genotipik karakteristiklerini ortaya koyan çalēmalarē sayēsēēēlēdē (29,92,93).

Pnömokoklarē makrolid direnç fenotiplerini belirlemeye yönelik dünyanın çekitli ülkelerinde yapēmēk birçok çalēmada, makrolid direnç fenotiplerinin coğ rafi

bir dağ dān gösterdiğ i ortaya konmuktur. Asya ve Avrupa ūlkelerinde MLS_B fenotipi daha sēk gōrūlmektedir. *erm*(B) geni kontrolūndeki makrolid direnci Avrupaâda ve Gūney Afrikaâda yaygāndā (70). Asyaâda (Çin) yapđan bir çalāxmada % 90 oranānda cMLS_B, % 5.7 oranānda iMLS_B ve % 4 oranānda M fenotipine; Avrupaâda (Kalya) yapđan bir çalāxmada % 61.2 oranānda MLS_B, % 36.12 oranānda ise M fenotipine rastlanmāxtā (87,109). Bu ūlkelere ve ūlkemizde yapđan diğ er çalāxmalara benzer ūekilde hastanemiz izolatlarānda da MLS_B fenotipi baskān (% 70) olarak bulunmuktur (Tablo 10) (29,92,93). Bununla beraber izolatlarānēzān % 28 gibi yūksek bir oranda M fenotipi gōstermik olmasē pnōmokoklarān makrolid direncine neden olan ana mekanizmanān hedef molekūl değ ikikliğ i olmasāna rağ men, aktif atān pompasānān da makrolid direncinde azānsanmayacak ūlçūde ūnemli rolū olduğ unu gōstermektedir.

Asya ve Avrupaâdaki çalāxmalarān aksine M fenotipi Amerikaâda daha yaygān olarak gōrūlmektedir. ABDâde yapđan bir çalāxmada eritromisin dirençli kōkenlerin % 75ānin M, % 25ānin ise MLS_B fenotipinde olduğ u, kiliâde yapđan bir çalāxmada bu oranlarān % 56.5 M ve % 43.5 MLS_B ūeklinde olduğ u gōsterilmiktir (88,110).

Ūlkemizde Deniz ve ark. ile Gūlay ve ark.ān yaptāklarēçalāxmalarda M fenotipi oldukça dūkūk oranlarda saptanmāxtā (92,93). Hastanemizde yapđan 2005-2008 yālarānē kapsayan ve 50 eritromisine dirençli pnōmokok izolatānān değ erlendirildiğ i tez çalāxmasānda izolatlarda % 14 oranānda M fenotipi tespit edilmiktir (29).

Çalāxmamāz bu anlamda M fenotipinin yaygānlığ ānē gōstermesi bakānāndan ūnem takānmaktadır.

Makrolid direncinin genetik determinantlarē arasānda 50 *Streptococcus pneumoniae* izolatānān % 70ānde *erm*(B) geni tek bakāna ya da *mef*(E) ile birlikte, % 60ānda ise *mef*(E) geni tek bakāna ya da *erm* (B) geni ile birlikte tespit edilmiktir. *erm*(B) ve *mef*(E) genlerinin birlikte bulunduğ u izolatlarān oranē% 30ādur.

Gūlay ve ark. yaptāklarē çalāxmada 40 *Streptococcus pneumoniae* kōkeninde makrolid direncinden % 95 oranānda *erm*(B) geninin sorumlu olduğ unu gōstermikler, Gūr ve ark. ise çalāxmalarānda % 77.8 oranānda *erm*(B) geninin varlığ ānē tespit etmiklerdir (92,93).

Polimeraz zincir reaksiyonu sonuçlarānēz, baskān olan cMLS_B fenotipinden sorumlu ana mekanizmanān *erm*(B) geni kontrolūnde olduğ unu ortaya koymuktur.

erm(B)’yi tek bakına ya da *mef(E)* ile birlikte takıyan tüm izolatlar cMLS_B fenotipi göstermek olup, yüksek MİK değ erlerine sahiptir (Tablo 10). *erm(B)* dünyanın birçok bölgesinde ve Türkiye’de yapılan sınırlı çalınmalarda gösterildiğ i gibi pnömokoklarda yüksek makrolid direncinin ana mekanizması olarak karkınıza çalınmaktadır. Bununla beraber çalınmamızda % 60 oranında *mef(E)* geni varlığ ı tespit edilmektedir. Son yıllarda pnömokokların makrolid direncinde *mef* geninin kontrolündeki aktif atın pompasının rolü giderek artmaktadır (29,66,110). Her ne kadar fenotipte *erm(B)* geni baskın olsa da, *mef(E)*’nin izolatlardaki bu yaygınlığ ı bölgede bu gen denetimindeki aktif makrolid pompasının da, kökenlerimizin makrolid direncinde önemli bir tehdit oluşturdığ unu göstermektedir. *mef(E)*’yi tek bakına takıyan izolatların oranı % 30 ’dur (n:15) ve bu izolatların 14’ü beklenildiğ i gibi M fenotipi göstermek olup, makrolid MİK değ erleri göreceli olarak düşük bulunmaktadır. Bu kökenler linkozamidlere (klindamisin) duyarlıdır (Tablo 9, Tablo 10).

Türkiye’de yapılan diğ er çalınmaların bazılarında hiç *mef* geni saptanmamışken, *mef* geni saptananlarda ise bu oran % 20’yi geçmemektedir. Gür ve ark. yaptıkları çalınmada % 2.5 gibi oldukça düşük bir oranda *mef(A)/mef(E)* geni saptamışlarken, Deniz ve ark. çalınmalarında pnömokokların makrolid direncinden % 17.8 oranında *mef(A)* geninin sorumlu olduğ unu tespit etmişlerdir (92,93).

Bu yönüyle çalınmamız, aktif makrolid pompa geninin yüksek oranında gösteren, hastanemiz izolatlarında yapılan ikinci tez çalınmasıdır. Çalınmamız *Streptococcus pneumoniae*’de % 60 gibi oldukça yüksek bir oranda *mef(E)* geninin tek bakına ya da *erm(B)* ile birlikte tespit edilmesi bakımından önem taşımaktadır.

Çalınmamızda *mef(E)*’yi tek bakına takıyan ve de M fenotipi gösteren izolatların % 28 gibi yüksek bir oranda bulunması ise, bölgede rutin tanı laboratuvarlarında makrolidlere dirençli bulunan pnömokok izolatlarının mutlaka linkozamid duyarlılıklarının da test edilmesi gerekliliğ ine işaret etmektedir. Böylelikle aktif pompa denetimindeki mekanizma ile makrolidlere dirençli olan bir pnömokokun neden olduğ u enfeksiyonun tedavisinde linkozamid grubu bir antibiyotik rahatlıkla kullanılabilecektir.

Bilindiđ i üzere *mef*(A) ve *mef*(E) genleri cođ rafik bir dađ đēn gōstermektedir. Genellikle *mef*(E) takēyan pnōmokoklar Kuzey Amerika, Gūney Afrika ve Asyaōda sēk gōrōlūrken, *mef*(A) takēyanlar ise Avrupaōda sēk gōrōlmektedir (82). *mef*(A) geninin, orijin aldđ ē *S. pyogenes*ōden konjugasyonla *S. pneumoniae*ōye geçtiđ i, transpozonlar yoluyla da diđ er pnōmokoklara aktarđdđ ē ileri sūrōlmektedir (58). *mef*(E) ve *mef*(A) genlerinin nōkleotid sekanslarē ortalama % 90 oranēda benzerlik gōsterir (68). PROTEKTōn yapmēk olduđ u çalēxmada *mef*(A) geninin neden olduđ u aktif atēn pompasēna bađ lē makrolid direnci Avustralya, Kanada, Almanya, Yunanistan, Kālya, Kūgiltere, Tūrkiye, Japonya ve Hong Kongōda yaygēn olarak tespit edilmiktir (86). Kālyaōda yapđan çalēxmada M fenotipine neden olan genetik determinant % 84 oranēda *mef*(A) iken, % 16 oranēda *mef*(E) geni olarak bulunmaktir (87). kiliōde yapđan bir bakka çalēxmada ise aktif atēn pompasēna bađ lē makrolid direncinden sadece *mef*(E) geni sorumlu olarak bulunmaktir (88). Yapđan çalēxmalar aktif atēn pompasēna bađ lē makrolid direncinin Bulgaristanōda yaygēn olarak *mef*(E) geni kontrolünde olduđ unu gōstermektedir (89,90)

Çalēxmamēzēn ilginç sonuçlarēndan bir diđ eri ise, sadece *mef*(E) geni takēyan 1 izolatēn iMLS_B fenotipinde olmasēdē (Tablo 10). Bu izolat iMLS_B fenotipi gōstermesine karkēn, sanki M fenotipi gōsterir gibi oldukça dōkōk makrolid ve linkozamid MĖK deđ erlerine sahiptir. Literatūrde sadece *mef* geni takēyan pnōmokok izolatlarēda bōyle bir fenotip bildirilmemiktir. Bu izolatēn sahip olduđ u makrolid direnç mekanizmasē araktēđmak üzere daha ileri dōzeyde çalēxmalara ihtiyaç gōstermektedir.

Makrolidlere dirençli pnōmokoklarēn oranē gōrōldōđ ū ūlkelere ve ūlkeler iēerisinde de bōlgelere gōre deđ ikmekle birlikte, aynē bōlgelerde hastaneden hastaneye hatta aynē hastane iēinde çekitli birimler arasēda dahi farklılēklar gōstermektedir.

Çalēxmamēz hastanemiz izolatlarēnēn yōksek eritromisin direncinden esas olarak sorumlu olan ana mekanizmanēn *erm*(B) denetimindeki hedef bōlge deđ ikliđ i olduđ unu gōstermekle birlikte, M fenotipinin % 28 gibi yōksek bir oranda bulunmasē ve ūzellikle aktif makrolid pompa geni *mef*(E)ōnin izolatlarēn % 60 gibi yōksek bir oranēda saptanmasē aktif makrolid pompasēnēn Tūrkiyeōde izole edilen

pnömokoklar arasēnda oldukça önemli bir tehdit olduğunu açēkça ortaya koymaktadır. Bu izolatların serotiplendirilmesi ve daha ileri moleküler analizlerle direncin genotipik karakteristiklerinin daha detaylı olarak aydēlatēlmasēna ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

- 1) Watson DA, Musher MD, Jacobson JW, Verhoef J. (1993). A brief history of the pneumococcus in biomedical research: A panoply of scientific discovery. *Clinical Infectious Disease*, 17:913-924.
- 2) Austrian R. (1981). Pneumococcus: The first one hundred years. *Reviews of Infectious Diseases*, 3:183-189.
- 3) López R. (2006). Pneumococcus: The sugar coated bacteria. *International Microbiology*, 9:179-190.
- 4) Daniel Musher. (1995). *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Elsevier Churchill Livingstone, 179 (Suppl 2): p.1811-1822.
- 5) Austrian R. (1999). The pneumococcus at the millenium: Not down, not out. *The Journal of Infectious Diseases*, 179(Suppl 2): p.338-341.
- 6) Bal E, Karataş M. (2007). Nükleik Asitler. Editörler: Yâddârm A, Bardakcê F, Karataş M, Tanyolaç B. Moleküler Biyoloji, Nobel Têp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul, 1.Baskê s.55-91.
- 7) Watson JD, Crick F. (2003). Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid nature. *The American Journal Psychiatry*, 171:737-738.
- 8) Glass JI, Hoskins J, Alborn WE. (2001). Genome of the bacterium *Streptococcus pneumoniae* strain R6. *Journal Of Bacteriology*, 183:5709-5717.
- 9) Hamilton OS, Heidelberg J, Peterson S. (2001). Complete genome sequence of a virulent isolate of *Streptococcus pneumoniae*. *Science*, 293:498-506.
- 10) Sümerkan B. (2002). *Streptococcus pneumoniae*. Editörler: Ayke Willke Topçu, Güner Söyletir, Mehmet Doğanay. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 2, İstanbul Nobel Kitabevi, 3.Baskê s.1493-1497.
- 11) Anj Ö. (2006). *Streptococcus pneumoniae*. Mikrobiyoloji. Lippincott Illustrated Reviews. İstanbul Nobel Kitabevi, s.150-154.

- 12) Daniel Musher. (2009). *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Elsevier Churchill Livingstone.
- 13) Sümerkan B. (2008). *Streptococcus pneumoniae*. Editörler: Ayke Willke Topçu, Güner Söyletir, Mehmet Doğanay. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 2, İstanbul Nobel Kitabevi, 3. Baskı s.2051-2057.
- 14) Gürler N. (2008). Pnömonokok enfeksiyonlarında Mikrobiyoloji ve Direnç, *ANKEM Dergisi* 22 (Ek 2): 238-251.
- 15) Cengiz TA. (1999). *Streptococcus pneumoniae*. Editör: Kemsettin Ustaçelebi. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara, Güneş Kitabevi, 1.Baskı s.365-369.
- 16) Henrichsen J. (1995). Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 33:2759-2762.
- 17) Bilgehan H. (1996). *Streptococcus pneumoniae*. Klinik Mikrobiyoloji. İzmir, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları 8.Baskı s.276-285.
- 18) Werno AM, Murdoch DR. (2008). Medical microbiology: Laboratory diagnosis of invasive pneumococcal disease. *Clinical Infectious Disease*, 46:926-32.
- 19) Berkitan R. (2006). *Streptococcus pneumoniae*: Klasik ve moleküler tanıda karşılaşılan sorunlar. *ANKEM Dergisi*, 20:180-186.
- 20) Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr.W.C. (2006). *Streptococcus pneumoniae*. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th ed., Philadelphia, Lippincott, p.578-610.
- 21) Bailey and Scott S. (1990). Streptococci and Related Genera. Diagnostic Microbiology, 9th.ed., p.323-352.
- 22) Arbique JC, Poyart C, Trieu-Cuot P, Quesne G, Gloria M, Carvalho S, Steigerwalt A, Morey RE, Jackson D, Davidson RJ, Facklam RR. Accuracy of phenotypic and genotypic testing for identification of *Streptococcus pneumoniae* and description of *Streptococcus pseudopneumoniae* sp. nov. (2004). *Antimicrobial of Clinical Microbiology*, 42:4686-4696.
- 23) Lankinen SK.(2003). Catching the pneumococcus studies focusing on carriage, epidemiology and microbiological methods, Textbook.

- 24) Carvalho MGS, Tondella ML, McCaustland K. (2007). Evaluation and improvement of real time PCR assays targeting *lytA*, *ply* and *psaA* genes for detection of pneumococcal DNA. *Journal of Clinical Microbiology*, 45:2460-2466.
- 25) Snippe H. (1995). *Streptococcus pneumoniae*: Virulence factors, pathogenesis and vaccines. *Microbiological Reviews*, 59:591-603.
- 26) Mutlu G, Öjünç D. (1999). Mikroorganizmalarda Hücre Yapı Editör: Şemsettin Ustaçelebi. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara, Güneş Kitabevi, 1.Baskı s.7-21.
- 27) Haşcelik G. (2008). Enfeksiyonlara Ait Temel Özellikler. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 1, Ayşe Willke Topçu, Güner Söyletir, Mehmet Doğanay İstanbul Nobel Kitabevi, 3. Baskı s.3-30.
- 28) Özgüven V. (2002). Antibakteriyel İlaçlar. Editörler: Ayşe Willke Topçu, Güner Söyletir, Mehmet Doğanay. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 1, İstanbul Nobel Kitabevi, 3.Baskı s.192-202.
- 29) Sağır Oğlu P. (2009). Klinik *Streptococcus pneumoniae* İzolatlarında Makrolid Direnç Mekanizmalarının Araştırılması M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof.Dr.U Hasdemir).
- 30) Tünger Ö. (2006). Pnömonokok enfeksiyonları ve korunma. *ANKEM Dergisi*, 20:125-132.
- 31) Watson DA, Musher DM, Verhoef J. (1995). Pneumococcal virulence factors and host immune responses to them. *European Journal Clinical Microbiology Infectious Diseases*, 14:479-490.
- 32) Kadıoğlu A, Weiser JN, Paton JC, Andrew PW. (2008). The role of *Streptococcus pneumoniae* virulence factors in host respiratory colonization and diseases. *Nature Reviews/Microbiology*, 6:288-297.
- 33) Öztürk D. (2008). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Streptococcus pneumoniae* Serotiplerinin Heterodupleks Yöntemiyle Serotiplendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, (Danışman: Doç.Dr.A Pinar).
- 34) Bergmann S, Hammerschmidt S. (2006). Versatility of pneumococcal surface proteins microbiology, *Microbiology*, 152:295-303.

- 35) Tuomanen E. (1999). Molecular and cellular biology of pneumococcal infection. *Current Opinion in Microbiology*, 2:35-39.
- 36) Jedrzejewski JM. (2001). Pneumococcal virulence factors: Structure and function *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, 65:187-207.
- 37) Jedrzejewski JM, Hollingshead SK, Lebowitz J, Chantlat L, Briles DE, Lamani E. (2000). Production and characterization of the functional fragment of pneumococcal surface protein A. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 373:116-125.
- 38) Mitchell JT. (2000). Virulence factors and the pathogenesis of disease caused by *Streptococcus pneumoniae*. *Research in Microbiology*, 151:413-419.
- 39) Tünger Ö. *Streptococcus pneumoniae* infeksiyonlarındaki patogenezi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 30:49-55.
- 40) Alhan E. (2006). Yeni pnömokok aşıları *ANKEM Dergisi*, 20 (Ek 2): 48-51.
- 41) Eraksoy H. (2002). Bakteriyel Pnömoniler. Editörler. Ayşe Willke Topçu, Güner Söyletir, Mehmet Doğanay. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 1, İstanbul Nobel Kitabevi, 3.Baskı s.522-528.
- 42) Daniel Musher. (2005). *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Elsevier Churchill Livingstone p.2392-2411.
- 43) Somer A. (2008). Çocukluk çağı pnömokok infeksiyonlarında klinik ve tedavi. *ANKEM Dergisi* 22 (Ek 2): 252-257.
- 44) Şener B. (2010). Pnömoniklarda direnç epidemiyolojisi. *Gülhane Mikrobiyoloji Günleri: Antimikrobik Kemoterapi ve Yenilikler*, s.136-148.
- 45) Active Bacterial Surveillance (ABCs) Report Emerging Infections Program Network *Streptococcus pneumoniae* (2008).
- 46) Bakır M. (2010). Pneumococcal problem in Turkey. *The Pediatric Infectious Journal*, 4(Suppl 1):p.20-22.
- 47) Kurugöl Z. (2007). Pnömonokok aşıları *Türk Pediatri Arşivi Özel Sayı* 42:43-50.

- 48) Çiftçi E. (2008). Pnömonokok enfeksiyonlarında korunma. *ANKEM Dergisi*, 22(EK 2): 258-261.
- 49) Pneumococcal Disease: Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases, textbook, p.217-229.
- 50) Tünger Ö. (2008). Makrolitler, ketolitler ve linkozamitler. Editörler: Ayke Willke Topçu, Güner Söyletir, Mehmet Doğanay. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 1, İstanbul Nobel Kitabevi, 3. Baskı s.313-325.
- 51) Çokça F. (2002). Makrolidler, Azalidler, Streptograminler. Editörler: Ayke Willke Topçu, Güner Söyletir, Mehmet Doğanay. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 1, İstanbul Nobel Kitabevi, 3.Baskı s.227-234.
- 52) Doern GV. (2006). Macrolide and ketolide resistance with *Streptococcus pneumoniae*. *Medical Clinics North America*, 90:1109-1124.
- 53) Yerlikaya A (2007). Protein Sentezi ve Yıkama Yıkama A, Bardakcı F, Karataş M, Tanyolaç B. Moleküler Biyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul, 1.Baskı s.219-246.
- 54) Weisblum B. (1995). Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39:577-585.
- 55) Küçükbaşmacı Ö, Gönüllü N, Aktak Z, Gürol D, Berkten R. (2003). In vitro activity of telithromycin compared with macrolides and fluoroquinolones against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 22:497-501.
- 56) Leblebicioğlu H. (2004). Telitromisin. *ANKEM Dergisi*, 18 (Ek 2): 170-173.
- 57) Gür D. (2008). Bakterilerde Antibiyotiklere Karşı Direnç. Editörler: Ayke Willke Topçu, Güner Söyletir, Mehmet Doğanay. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 1, İstanbul Nobel Kitabevi, 3. Baskı s.243-247.
- 58) Leclercq R. (2002). Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: Nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clinical Infectious Diseases*, 34:482-92.

- 59) The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) Annual Report 2007.
- 60) The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) Annual Report 2005.
- 61) The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) Annual Report 2008.
- 62) Felmingham D, Reinert RR, Hirakata Y, Rodloff A. (2002). Increasing prevalence of antimicrobial resistance among isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the PROTEKT surveillance study and comparative in vitro activity of the ketolide, telithromycin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50(Suppl. S1): p.25-37.
- 63) Klugman KP, Lonks JR. (2005). Hidden epidemic of macrolide-resistant pneumococci. *Emerging Infectious Diseases*, 11:802-807.
- 64) Jalava J, Kataja J, Seppala H, Huovinen P. (2001). In vitro activities of the novel ketolide telithromycin (HMR 3647) against erythromycin-resistant *Streptococcus* Species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45:789-793
- 65) Leclercq R, Courvalin P. (2002). Resistance to macrolides and related antibiotic in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46:2727-2734.
- 66) Ek̇el D, Bozdoĝ an B, Ṡumerkan B, Appelbaum PC. (2004). Makrolidlere dirençli *Streptococcus pneumoniae* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarē ve direnç mekanizmalarē 3. Ulusal Molek̇ler ve Tanēsal Mikrobiyoloji Kongresi özeti kitabē Ankara, s.143.
- 67) Sutcliffe J, Tait-Kamradt A, Wondrack L. (1996). *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* resistant to macrolides but sensitive to clindamycin: A common resistance pattern mediated by a efflux system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40:1817-1824.
- 68) Amazega MR, Carter PE, Cash P, McKenzie H. (2002). Molecular epidemiology of erythromycin resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates from blood and noninvasive sites. *Journal of Clinical Microbiology*, 40:3313-3318.

- 69) Appelbaum PC. (2002). Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: Implications for drug selection. *Clinical Infectious Diseases*, 34:1613-20.
- 70) Martinez FJ, Lynch JP. (2002). Clinical relevance of macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* for community-acquired pneumonia. *Clinical Infectious Diseases*, 34(Suppl): p.27-46.
- 71) Appelbaum PC, Davies TA, Kelly LM, Jacobs MR. (2000). Antipneumococcal activity of telithromycin by agar dilutions, microdilution, E test and disk diffusion methodologies. *Journal of Clinical Microbiology*, 38:1444-1448.
- 72) Gür D. (2008). Bakterilerde Antibiyotiklere Karşı Direnç. Editörler: Ayke Willke Topçu, Güner Söyletir, Mehmet Doğanay. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 1, İstanbul Nobel Kitabevi, 3. Baskı s.243-247.
- 73) Hasdemir U. (2007). Çoklu ilaç direncinde bakteri hücre duvarı organizasyonunun ve aktif pompa sistemlerinin rolü. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 41:309-27.
- 74) Poole K. (2000). Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in gram-positive bacteria and the Mycobacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44:2595-2599.
- 75) Bambeke FV, Balzi E, Tulkens PM. (2000). Antibiotic efflux pump. *Biochemical Pharmacology*, 60:457-470.
- 76) Gay K, Stephens DS. (2001). Structure and dissemination of a chromosomal insertion element encoding macrolide efflux in *Streptococcus pneumoniae*. *The Journal of Infectious Diseases*, 184:56-65.
- 77) Hyde TB, Gay K, Stephens DS. (2001). Macrolide resistance among invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates. *JAMA*, 286:1857-1862.
- 78) Zhanel GG, Wierzbowski AK, Swedlo D, Boyd D, Mulvey M, Nichol KA. (2005). Molecular epidemiology and prevalence of macrolide efflux genes *mef(A)* and *mef(E)* in *Streptococcus pneumoniae* obtained in Canada from 1997 to 2002. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49:1257-1261.

- 79) Reinert RR. (2009). The antimicrobial resistance profile of *Streptococcus pneumoniae*, *Clinical Microbiology and Infection*, 15(Suppl 3): p.7-11.
- 80) Pantosti A, Grosso MD, Camilli R, Iannelli F, Pozzi G. (2006). The *mef(E)* carrying genetic element (mega) of *Streptococcus pneumoniae* : Insertion sites and association with other genetic elements. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50:3361-3366.
- 81) Pzzi G, Santagati M, Iannelli F, Oggioni MR, Stefani S. (2000). Characterization of a genetic element carrying the macrolide efflux gene *mef(A)* in *Streptococcus pneumoniae* *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44:2585-2587.
- 82) Daly MM, Doktor S, Flamm R, Shortridge D. (2004). Characterization and prevalence of *mef(A)*, *mef(E)* and the associated *msr(D)* gene in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates, *Journal of Clinical Microbiology*, 42:3570-3574.
- 83) Klaassen CHW, Mouton JW. (2005). Molecular detection of the macrolide efflux gene: To discriminate or not to discriminate between *mef(A)* and *mef(E)*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49:1271-1278.
- 84) Varaldo PE, Montanari MP, Giovanetti E. (2009). Genetic elements responsible for erythromycin resistance in Streptococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53:343-353.
- 85) Gill MJ, Brenwald NP, Wise R. (1999). Identification of an efflux pump gene, *pmrA*, associated with fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43:187-189.
- 86) Farrell DJ, Couturier C, Hryniewicz W. (2008). Distribution and antimicrobial susceptibility of macrolide resistance genotypes in *Streptococcus pneumoniae* PROTEKT Year 5 (2003-2004). *International Journal of Antimicrobial Agents*, 31:245-249.
- 87) Pantosti A, Monaco M, Camilli R, D'Ambrosio F, Grosso MD. (2005). Evolution of erythromycin resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Italy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55:256-259.

- 88) Palavecino EL, Riedel I, Duran C, Bajaksouzian S, Joloba M, Davies T, Appelbaum PC, Jacobs MR. (2002). Macrolide resistance phenotypes in *Streptococcus pneumoniae* in Santiago, Chile. *International Journal of Antimicrobial Agents* 20:108-112.
- 89) Appelbaum PC, Nagai K, Davies TA, Kelly LM, Hoellman DB, Andrasevic AT, Drukalska L, Hryniewicz W, Jacobs MR, Kolman J, Miciuleviciene J, Pana M, Setchanova L, Thege MK, Hupkova H, Trupl J, Urbaskova P. (2002). Susceptibilities to telithromycin and six other agents and prevalence of macrolide resistance due to L4 ribosomal protein mutation among 992 pneumococci from 10 central and eastern european countries. *Antimicrobial Agents and chemotherapy*, 46:371-377.
- 90) Alexandrova A, Setchanova L, Sredkova M, Haydoushka I, Markova B, Proevska U, Bojkova K, Mitov I. (2009). MLS_B genotype is predominant molecular genetic mechanism among erythromycin resistant *Streptococcus pneumoniae* for the period: 2006-2008. *Journal of IMAB-Annual Proceeding*.
- 91) Jacobs MR, Felmingham D, Appelbaum PC, Grüneberg RN. (2003). The Alexander Project 1998-2000: Susceptibility of pathogens isolated from community-acquired respiratory tract infection to commonly used antimicrobial agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52:229-246.
- 92) Gür D, Mülazınoğlu L, Ünal S. (2007). In vitro susceptibility of respiratory isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* to telithromycin and 11 other antimicrobial agents: Turkish results of e-BASKETT II Surveillance Study. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 41:1-9.
- 93) Gülay Z, Özbek ÖA, Biçmen M, Gür D. (2008). Macrolide resistance determinants in erythromycin- resistant *Streptococcus pneumoniae* in Turkey. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 61:490-493.

- 94) Montanari MP, Mingoi M, Vecchi M, Cochetti I, Tili E, Vitali LA, Manzin A, Varaldo PE. (2007). Compositive structure of *Streptococcus pneumoniae* containing the erythromycin efflux resistance gene *mef(I)* and the chloramphenicol resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51:3983-3987.
- 95) Roberts MC. (2008). Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide and oxazolidinone resistance genes. *FEMS Microbiology Letters* 282:147-159.
- 96) Tait-Kamradt A, Davies T, Cronan M, Jacobs MR, Appelbaum PC, Sutcliffe J.(2000). Mutations in 23S rRNA and ribosomal protein L4 account for resistance in pneumococcal strains selected in vitro by macrolide passage. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44:2118-2125.
- 97) Farrell DJ, Douthwaite S, Bakker MS, Poehlsgaard J, Jakobsen L, Felmingham D. (2003). Macrolide resistance by ribosomal mutation in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the PROTEKT 1999-2000 Study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* , 47:1777-1783.
- 98) Aydın K. (2007). Makrolidler ve linkozamidler. *ANKEM Dergisi*, 21(Ek 2): 57-61.
- 99) Fogarty CM, Kohno S, Buchanan P, Aubier M, Baz M. (2003). Community-acquired respiratory tract infections caused by resistant pneumococci: Clinical and bacteriological efficacy of the ketolide telithromycin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51:947-955.
- 100) Gonullu N, Catal F, Kucukbasmaci O, Ozdemir S. (2009). Comparison of in vitro activities of tigecycline with other antimicrobial agents against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* in two university hospitals in İstanbul, Turkey. *Chemotherapy*, 55:161-167.
- 101) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Nineteenth informational supplement. M100-S19. Wayne, PA: CLSI; 2009.

- 102) Clancy J, Petitpas J, Dib-Hajj F, Yuan W, Cronan M, Kamath AV, Bergeron J, Retsema JA. (1996). Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, *mef* (A), from *Streptococcus pyogenes*. *Molecular Microbiology*, 22 (5): 867-79.
- 103) Tait-Kamradt A, Clancy J, Cronan M, Dib-Hajj F, Wondrack L, Yuan W, Stueliffe J. (1997). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41: 2251-2255.
- 104) Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved Standard, 7 th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. CLSI, 2006.
- 105) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Eighteenth informational supplement. M100-S18. Wayne, PA: CLSI; 2008.
- 106) World Health Organization. (2007). Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization-WHO position paper. *Weekly Epidemiological Record*, 82:93-104.
- 107) Borg MA, Tiemersma E, Scicluna E, Sande-Bruinsma N, Kraker M, Momen J, Grundmann H. (2008). Prevalence of penicillin and erythromycin resistance among invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates reported by laboratories in the southern and eastern mediterranean region. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 15:232-237.
- 108) Appelbaum PC. (2002). Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: Implications for drug selection. *Clinical Infectious Diseases*, 34:1613-20.
- 109) Wang MG, Zhang YY, Zhu DM, Wang F. (2001). Prevalence and phenotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Shanghai, China. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 39:187-189.

- 110) Edward O, Mason JR, Wald ER, Bradley JS, Barson WJ, Kaplan SL. (2003). Macrolide resistance among middle ear isolates of *Streptococcus pneumoniae* observed at eight United States pediatric centers: prevalence of M and MLSB phenotypes. *Pediatric Infectious Diseases Journal*, 22:623-7.

ÖZGEÇMİŞİ

Kişisel Bilgiler

Adē	Burçin	Soyadē	KARAÇANLI
Doğum Yeri	İstanbul	Doğum Tarihi	01.01.1987
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	13151464904
E-mail	burcinkaracanli@hotmail.com	Tel	05352724207

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	2010
Lisans	Trakya Üniversitesi-Biyoloji	2008
Lise	Süleyman Nazif Lisesi	2004

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	Çok iyi	Orta	iyi

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eni Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	80	82	83
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word, Excel, Office	Çok iyi



MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ARAŞTIRMA-ETİK KURULU

SAYI: B.30.2.MAR.0.01.02/AEK/ 530
İLGİ :

25.06.2009

Sayın : Prof.Dr. Münevver Ufuk HASDEMİR

MAR-YÇ-2009-0297 protokol nolu “Streptococcus pneumoniae’nın Makrolid Direncinde mef denetimindeki aktif ilaç pompasının rolü” isimli projeniz Fakültemiz Araştırma Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hacer DİRESKENELİ
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Araştırma Etik Kurul Başkanı