

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE SUŞLARINDA
ANTİBİYOGRAF DİRENCİ VE İZOLATLARIN
SEROTİPLENDİRİLMESİ**

Bio. Muharrem TOPAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Prof.Dr. Mustafa ALTINDİŞ
Tez No: 2012-027**

2012 - Afyonkarahisar

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE SUŞLARINDA
ANTİBİYOGRAM DİRENCİ VE İZOLATLARIN
SEROTİPLENDİRİLMESİ

Bio. Muharrem TOPAL

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof.Dr. Mustafa ALTINDIŞ

Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Komisyonu tarafından 12.SAĞ.BİM.10 proje numarası ile
desteklenmiştir.

Tez No: 2012-027

2012 - Afyonkarahisar

KABUL VE ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** Olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05/12/2012


Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ

Jüri Başkanı


Yrd. Doç. Dr. Gülşah AŞIK

Üye


Prof. Dr. Ahmet KAHRAMAN

Üye

Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı Öğrencisi Muharrem Topal'ın "**Klinik Örneklerden İzole Edilen *Streptococcus pneumoniae* Suşlarında Antibiyogram Direnci Ve İzolatların Serotiplendirilmesi**" başlıklı tezi 14.12.2012 günü saat 11:00'da Lisansüstü Eğitim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Kağan ÜÇOK

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Tezimin konusunun seçilmesinde ve hazırlanmasında bana yol gösteren ve her türlü desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof.Dr. Mustafa ALTINDIŞ'e, desteklerini gördüğüm Dr. Özlem YOLDAŞ, Dr. Halil ER ve Uzm.Dr. Selin NAR ÖTGÜN'e, yüksek lisans yapan arkadaşlarıma ve laboratuvar çalışanlarına ayrı ayrı teşekkürü borç bilirim.

Hayatımın her döneminde desteklerini, sevgilerini, esirgemeyen; başarı ya da başarısızlığımda hep yanımda olan; kendileriyle gurur ve onur duyduğum çok değerli anneme, babama ve ağabeyime çok teşekkür ederim.

Bio. Muharrem TOPAL

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
ÖNSÖZ.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
TABLolar	vi
GRAFİKLER	vi
RESİMLER	vii
1.GİRİŞ	1
1.1.Genel Bilgiler.....	3
1.1.1.Streptokokların Genel Özellikleri, Morfolojileri ve Biyokimyasal Özellikleri.....	3
1.2 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	4
1.2.1 Tarihçe	4
1.2.2 Mikrobiyoloji.....	5
1.2.3 Epidemiyoloji.....	7
1.2.4 Patogenez.....	11
1.2.5 Klinik Belirtiler ve Bulgular	12
1.2.6 Tanı.....	13
1.2.7 Tedavi ve Korunma	21
2. MATERYAL VE METOD.....	34
2.1 Örneklerin toplanması.....	34
2.2 Optokin duyarlılık testi	34
2.3 Safrada erime testi.....	35
2.4 Antibiyotik duyarlılık testleri.....	37
2.5 Serotiplendirme.....	39
3. BULGULAR.....	42
4. TARTIŞMA	48
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	59
ÖZET.....	60
SUMMARY	62
KAYNAKLAR	64

SİMGELER ve KISALTMALAR

- α : Alfa
 β : Beta
 γ : Gama
°C: Celsius
VA: Vankomisin
TE: Tetrasiklin
LEV: Levofloksasin
DA: Klindamisin
SXT: Sulfametoksazol / Trimetoprim
OX: Oksasilin
E: Eritromisin
IPM: İmipenem
MEM: Meropenem
P: Penisilin
OFX: Ofloksasin
CTX: Sefotaksim
CRO: Seftriakson
CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute
ÇDST: Çift disk sinerji testi
EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
GİS: Gastrointestinal sistem
MIK: Minimum İnhibitor Konsantrasyon
ml: Mililitre
mm: Milimetre
pH: Hidrojen potansiyeli
DDPD: Düşük düzeyde penisilin direnci
YDPD: Yüksek düzeyde penisilin direnci
NDS: Nutrisyonel defektli streptokoklar
PBP: Penisilin bağlayan protein

TABLolar

Tablo 1.1. Streptokokların; grup antijenleri, hemolitik aktiviteleri ve biyolojik özelliklerine göre sınıflandırılmaları	4
Tablo 1.2. Pnömonokok aşılı ve içerdığı serotipler.....	31
Tablo 1.3. Sağlıklı çocuklarda konjuge pnömonokok aşı şeması.....	32
Tablo 1.4. Yüksek riskli çocuklarda aşılama.....	32
Tablo 1.5. Pnömonokok polisakkarit aşısı'nın (PS23) yapılması gereken yaş grupları.....	33
Tablo 2.1. CLSI 2010 Önerilerine Göre <i>S. pneumoniae</i> İçin Rapor Edilen Bazı Antibiyotiklerin Zon Çapları ve MIC Değerleri.....	38
Tablo 2.2. Chess-board metodu	41
Tablo 3.1 <i>S. pneumoniae</i> suşlarındaki çoklu ilaç direci (ÇİD).....	45
Tablo 3.2. Penisiline direnç durumuna göre suşların erintromisin ve tetrasiklin direncinin karşılaştırılması.....	46
Tablo 4.1. Çeşitli ülkelerde izole edilen <i>S. pneumoniae</i> suşlarının serotipleri.....	48
Tablo 4.2. Ülkemizde izole edilen <i>S. pneumoniae</i> suşlarının serotiplere, örnek türüne ve yaşlara göre dağılımı.....	51

GRAFİKLER

Grafik 3.1. Örnek tiplerinin dağılımı.....	42
Grafik 3.2. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı	43
Grafik 3.3. CLSI 2010 Önerilerine Göre <i>S. pneumoniae</i> suşlarının penisiline direnç durumları.....	44
Grafik 3.4. <i>S.pneumoniae</i> suşlarının serotip dağılımı.....	45
Grafik 3.5. Örneklerinin mevsimlere göre dağılımı.....	46
Grafik 3.6. <i>S. pneumoniae</i> izolatlarının antibiyotik direnç oranları.....	46
Grafik 3.7. <i>S. pneumoniae</i> suşlarının klinik dağılımı.....	47

RESİMLER

Resim 1.1. <i>S. pneumoniae</i> Gram boyanması	6
Resim 1.2. <i>S. pneumoniae</i> 'nin safrada erime testi ile tanısı	15
Resim 2.1. α - hemoliz gösteren <i>S. pneumoniae</i> kolonileri.....	35
Resim 2.2. <i>S. pneumoniae</i> 'nin optokin diski ile identifikasyonu.....	35
Resim 2.3. <i>S. pneumoniae</i> suşlarının antibiyotik direnç oranlarının disk difüzyon yöntemi ile tespiti.....	39
Resim 2.4. <i>S. pneumoniae</i> suşlarının antibiyotik direnç oranlarının E test yöntemi ile tespiti.....	39
Resim 2.5. Kapsül şişme (Quellung) testi.....	40

1. GİRİŞ

Streptococcus pneumoniae, tüm dünyada üst solunum yolu enfeksiyonu ile sepsis, menenjit, pnömoni gibi invaziv enfeksiyonların önemli etkenlerindedir, 2 yaşından küçük çocuklar, 65 yaşından büyük yetişkinler daha yüksek risk altındadırlar. Pnömonokok enfeksiyonlarının tedavisinde en etkili seçenek penisilindir. Ancak son yıllarda penisiline ve diğer antibiyotiklere karşı direncin giderek artması bu enfeksiyonlara karşı tedavide önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle *S. pneumoniae* 'nin direnç durumunun araştırılması önemlidir (Can E ve ark., 2006). Bölgemizde de pnömokoklarda direnç ve serotip belirlenmesi gereklidir, çalışma bu anlamda bir ilk olması ile önemli olacaktır.

Çalışmaya, Nisan 2010 – Kasım 2012 tarihleri arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne gelen hastalardan izole edilen ardışık olmayan 34 adet *S. pneumoniae* suşu alınmıştır. Suşlar, solunum yolu (balgam, endotrakeal aspirat, bronkoalveoler lavaj), konjunktival sürüntü, kan, yara kültürü ve BOS örneklerinden izole edilmiştir. Suşların optokin duyarlılık ve safrada erime testleri ile doğrulanmaları yapıldıktan sonra, antibiyotik duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre disk difüzyon testi ve E test ile belirlenmiştir. Özellikle antibiyotik dirençli suşların epidemiyolojik izleminde ilk yapılması gereken serotip belirlenmesidir. Suşların serotiplendirilmeleri Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı kapsamındaki Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarı'nda altın standart olarak kabul edilen Quellung reaksiyonu ile yapılmıştır.

Penisilinlere dirençli *S. pneumoniae* izolatları yıllar içinde giderek artış göstermektedir. Bu durum pnömokok enfeksiyonlarının tedavisinde güçlük yaratmaktadır. Rutin aşılama şemalarının oluşturulması pnömokokların sebep olduğu hastalıklardan korunmak ve mortalite, morbiditeyi önlemekte oldukça etkili bir yöntemdir. Pnömonokokların kapsül sentezinde görev alan *cps* gen bölgesinde sık rekombinasyon görülmesi sebebiyle suşlar arasında serotip değişimleri

gözlenebilmektedir. Bu durum aşıda bulunmayan serotiplerle enfeksiyonların görülmesine zemin hazırlamaktadır. Serotiplerin değişimlerinin ve direnç paternlerinin izlenmesi amacıyla epidemiyolojik çalışmalar yapılmalı, yeni aşıların etkinlikleri kapsamlarına bu serotiplerin dâhil edilmesiyle arttırılmalıdır (Coffey, T.J ve ark.1998 ; Jiang, S.M ve ark.,2001).

1.1 Genel Bilgiler

1.1.1 Streptokokların Genel Özellikleri, Morfolojileri ve Biyokimyasal Özellikleri

Streptokoklar, Streptococcaceae ailesinde yer alan mikroorganizmalardır. 16s rRNA dizi analizine göre 7 gruba ayrılmışlardır. Bu sınıflamada pnömokoklar piyogenik bakteriler olmalarına rağmen genetik olarak viridan streptokoklara (*S. mitis*, *S. gordonii*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. parasanguis*) benzer olduklarından aynı grupta yer almaktadırlar. Streptokoklar gram pozitif, katalaz negatif, yuvarlak veya oval yapılı, 2 µm' den daha küçük, hareketsiz, sporsuz, sıvı besiyerlerinde üretildiklerinde zincir benzeri peş peşe dizilen, fakültatif anaerop, glikozu heksozdifosfat yolu ile fermente ederek laktik asit oluşturan mikroorganizmalardır. Özellikle A grubu streptokoklarda bulunan hyalünorik asitten oluşan kapsül, ilk kültürlerde ve zengin besiyerlerinde bulunduğu çıkar. Tekrarlayan kültürlerde kapsül görülmez, hyalünorik asit besiyeri içerisinde dağılmış bulunur. Pililer lipoteikoik asitle kaplıdır, epitel hücrelerine yapışmada rol alırlar. Streptokoklar pH 7,4'de, % 10 CO₂ içeren ortamda ürer ve hemolizin oluştururlar. Streptokoklar, koloni özellikleri ve hemolitik aktiviteleri açısından farklılıklar gösterirler (Coffey, T.J. ve ark., 1998 ; Jiang, S.M. ve ark.,2001).

Tablo 1.1. Streptokokların grup antijenleri, hemolitik aktiviteleri ve biyolojik özelliklerine göre sınıflandırılmaları

Serolojik sınıf	Biyokimyasal sınıf	Hemolitik özellikler
A grubu	<i>S. pyogenes</i>	Beta
B grubu	<i>S. agalactiae</i>	Beta; bazen alfa veya nonhemolitik
C grubu	<i>S. anginosus, S. equismilis</i>	Beta; bazen alfa veya nonhemolitik
D grubu	<i>S. bovis</i>	Alfa veya nonhemolitik; bazen beta
F grubu	<i>S. anginosus</i>	Beta
G grubu	<i>S. anginosus</i>	Beta
-	<i>S. pneumoiae</i>	Alfa
Viridans grubu	<i>S. mutans</i> grup	
	<i>S. salivarius</i> grup	
	<i>S. sanguis</i> grup	
	<i>S. mitis</i> grup	Alfa, nonhemolitik

Kanlı agarda koloni etrafında şeffaf zon oluşturacak şekilde hemoliz yapanlar **beta hemolitik**, yeşilimsi bir zonla kendini gösteren tam olmayan hemolize neden olanlar **alfa hemolitik** olarak adlandırılırlar. Bazıları kanlı agarda herhangi bir değişiklik oluşturmazlar ve **gamma hemolitik (nonhemolitik)** olarak bilinirler. Besiyerinde kullanılan kanın kaynağı (at, koyun, insan) streptokokların hemolitik aktivitelerini etkiler; örneğin beta hemoliz en iyi %5 koyun kanı içeren agarda oluşmaktadır (Willett HP, 1992 ; Murray PR, 1998).

1.2 *Streptococcus pneumoniae*

1.2.1 Tarihçe

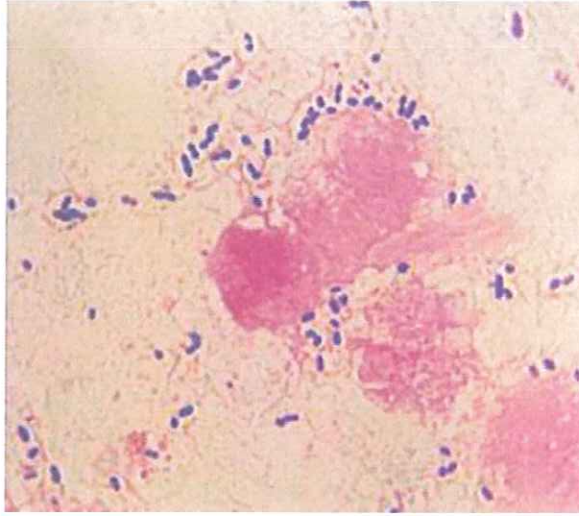
Pnömonokoklar (*S. pneumoniae*), ilk kez 1881 yılında Louis Pasteur ve George Miller Sternberg tarafından insan tükürüğünden izole edilmiştir. Pasteur *Microbe septicemique du saliva*, Sternberg *Micrococcus pasteurii* olarak isimlendirmiştir.

1926 yılında Gram boyalı balgam preparatının incelenmesinde morfolojik görünümüne göre *Diplococcus* olarak ve 1974'te sıvı besiyerinde üreme özelliklerine göre *S. pneumoniae* olarak adlandırılmış, *Streptococcus* genusu içinde yer almıştır. 1980'li yıllarda *S. pneumoniae* lobar pnömoninin en sık sebebi olarak gösterilmiştir (Watson, D.A, 1993). *S. pneumoniae* tipik ekstrasellüler patojendir, fagositoza dirençlidir. Felix ve Klemper 1890'lerde hayvanlarda tekrarlayan pnömokok enfeksiyonlarında koruyucu immüniteyi göstermiş, Neufeld ve Rimpau bu koruyucu etkiyi opsonizasyon olarak adlandırmıştır. Maynard, Lister, Wright gibi araştırmacılar madencilerde en sık görülen enfeksiyonlardan epidemik lobar pnömoninin önlenmesinde hümmoral immünite kavramını kullanmıştır. Madencilere öldürülmüş pnömokokların inoküle edilmesi ile pnömoni insidansında önemli azalma kaydedilmiştir. Heidelberger ve Avery kapsüler yüzey polisakkaritlerinin immünite oluşturduğunu göstermişlerdir. İnsanlarda immünizasyonda kullanılan pürifiye pnömokokal kapsüler polisakkaritleri ilk kez Felton hazırlamış, tip I polisakkarit 1938 yılında Massachusetts'te bir epidemik pnömoninin profilaksisinde kullanılmıştır (Musher, D.M, 2000).

1.2.2 Mikrobiyoloji

S. pneumoniae lanset ya da mum alevi görünümünde gram pozitif diplokoktur. Eski kültürlerinde gram negatif görülebilir (Resim 1.1). Kapsüllü cinslerinde genellikle geniş, yuvarlak, mukoid ve pigmentsizken, kapsülsüz cinsleri küçük ve yassı koloni morfolojisindedir. Hücre duvarının majör polimerleri peptidoglikan ve kolinibitolteikoik asit kompleksinden oluşur. Safra ya da safra tuzları bakterinin otolitik enzimi L-alaninmüramil amidazı aktive eder ve hücreler lizise uğrar. Kökenlerin çoğu ethylhydrocupreine hydrochloride (optokin) duyarlıdır (Cengiz, A.T, 1999).

Resim 1.1. *S. pneumoniae* gram boyanması. (Color Atlas of Medical Microbiology,2005)



Koloniler zaman içerisinde otolize uğrar ve orta kısımlarında çöküntü meydana gelir. Kanlı agarda aerobik inkübasyonda α - hemoliz oluştururlar. Hemolizden "alfa hemolizin" sorumludur. Anaerop ortamda ise pnömölizin-O 'ya bağlı beta hemoliz oluştururlar. Bazı kökenler ilk izolasyonda CO₂'e gereksinim duyarlar. İdentifikasyonda; katalaz enzimlerinin bulunmaması, inülini fermente etmeleri, safrada çözünmeleri ve optokine duyarlı olmaları kullanılır. Son yıllarda optokine dirençli kökenlere rastlanmakta olup tanımlamada safrada erime deneyi daha güvenilir kabul edilmektedir (Kathryn LR, 1995).

S. pneumoniae üremek için kan ürünleri ile desteklenmiş zenginleştirilmiş besiyerine gereksinim duymaktadır (triptik soy agar, beyin, kalp infüzyon agar gibi). Ancak glukoz fermantasyonu ile oluşan laktik asidin toksik etkisi sonucu üremesi bu ortamda yavaşlamaktadır (Kobayashi GS ve ark., 1994).

S. pneumoniae'nın virulan türleri kompleks polisakkarit bir kapsül ile çevrilidir, kapsüller polisakkaritlerinin farklılığı temel alınarak pnömokokların 90 serotipi tanımlanmıştır. İzole edilen serotiplerden elde edilen kapsüller materyal aşı hazırlamak amacıyla ve tanı amaçlı kullanılmaktadır (Henrichsen J, 1999).

S. pneumoniae'da iyi belirlenmiş antijenler; hücre duvarındaki C polisakarit maddesi, tipe özgü M proteinleri, PspA adı verilen yüzey proteinleri ve tipe özgü kapsül polisakaritleridir. Toksik olmayan bu polimerler antifagositik etkileri sayesinde bakterinin virulansında önemli rol oynamaktadırlar (Musher, D.M, 2000).

1.2.3 Epidemiyoloji

Pnömonokoklar 5 yaşın altındaki çocuklarda dünyada yılda yaklaşık bir milyon üzerinde ölüme neden olmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde 5 yaş altındaki çocuklarda görülen pnömonilerinin % 60-90'ından pnömonokoklar sorumludur. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 500.000'den fazla pnömoni, 6 milyondan fazla otitis media ve 6000'den fazla menenjitin nedeni pnömonokoklardır (Mera, R.M ve ark., 2005).

Pnömonokok infeksiyonları, mevsimsel değişikliklere, iklime, toplumdaki viral infeksiyonlara ve hava kirliliğine göre değişik sıklıklarda görülürken, kışın başında ve ilkbaharda daha sık rastlanmaktadır (Jacobs, M.R, 1996).

Pnömonokoklar sağlıklı erişkinlerin % 5-10'unun ve sağlıklı çocukların % 20-40'ının nazofarenksinden izole edilebilmektedirler. Küçük çocuklarda ve bebeklerde bu oran % 40-60'a kadar artabilir. Kolonizasyon özellikle kış mevsiminin ortalarında yüksektir. Bebeklerde 6 aylıktan ilk pnömonokok kolonizasyonu olur ve ortalama 4 ay kadar sürmektedir. Erişkinlerde ise bu süre sıklıkla 2-4 haftadır. Altı ay ile 4,5 yaş arasındaki çocukların % 91 kadarı bir dönem *S. pneumoniae* taşıyıcısıdır. 45 gün-6 ay süresince aynı serotip taşınmaktadır. Bir serotipin taşıyıcılığı aynı serotipe karşı bağışıklık kazanılabildiğini sağlamaz. Küçük çocukların % 15'inde nazofarenkse yeni bir pnömonokok serotipi yerleştiğinde, yeni serotip edinildikten sonraki bir ay içinde hastalık ortaya çıkmaktadır. Pnömonokok izolasyon oranı 2 yaşa kadar en yüksek seviyelere çıkar, daha sonra azalmaya başlar. Viral üst solunum yolu enfeksiyonları pnömonokok infeksiyonlarının ortaya çıkmasında yardımcı bir faktör olabilir (Gray BM ve ark.,1980 ; Musher DM,2000 ; Teele DW,1998 ; Todd J,2000).

İki yaşından küçük çocuklarda polisakkarit kapsül antijenlerine karşı antikor oluşturma yeteneği az olduğundan bu yaşlardaki çocuklar pnömokok enfeksiyonlarına daha duyarlıdır (Yalçın I ve ark., 2006).

İnvaziv pnömokok enfeksiyonu yenidoğan ve 2 yaşına kadar olan çocuklarda siktir. İnvaziv pnömokok enfeksiyonlarına büyük çocuk ve genç erişkinlerde az rastlanırken 65 yaş üzerinde yüksek sıklıkta görülmektedir. Bir çalışmada invaziv pnömokok enfeksiyonu sıklığı bebeklerde 160/100,000 iken genç erişkinlerde 5/100,000 olarak bildirilmiştir. Çocuklarda otitis media ve invaziv enfeksiyon viral enfeksiyon sıklığı enfeksiyonun damlacık yoluyla bulaşması ve kalabalık yaşam koşulları nedeniyle mevsimsel değişiklik gösterebilir. Genellikle Eylül - Mayıs arasındaki dönemde daha siktir (Yalçın I ve ark., 2006).

Pnömokoklar ekstrasellüler patojenlerdir. Buldukları konakta bu patojene karşı antikor ve kompleman gibi humoral faktörler ile fagositik hücreler konak direncinin oluşumunda önemli rol oynar. Konjenital veya edinsel defektif antikor oluşumu (agamaglobulinemi, lenfoma, HIV enfeksiyonu), kompleman eksikliklerinden C3b oluşumunu ilgilendiren defektler (C1, C2, C3, C4 azlığı veya yokluğu), nötrofil sayı ve fonksiyonlarında azlık, pnömokok bakterisinin defektif klirensine yol açan primer (konjenital aspleni) ve sekonder aspleni (splenektomi, orak hücre hastalığı) durumlarında pnömokok enfeksiyonları daha sık görülmektedir. Yorgunluk, stres, önce geçirilen viral enfeksiyon, kreşte bulunma, ortamda sigara içilmesi gibi faktörler de pnömokok enfeksiyonlarına eğilimi artırır. Ayrıca, doğumsal malformasyon, kafa kaide kırığı veya nöroşirurjikal girişim sonrası rinore ve otore bulunan hastalarda pnömokok menenjitleri gelişebilmektedir (Musher DM,2000 ; Teele DW,1998 ; Todd J,2000).

İnkubasyon süresi enfeksiyonun tipine göre değişmekle birlikte en kısa 1-3 gün civarındadır (Bogaert D ve ark., 2004).

S. pneumoniae'nin kapsüllerindeki polisakkarit yapısına göre 90 serotipi vardır ancak invaziv enfeksiyonlara sebep olan serotipler sadece bir kısmıdır (Lineras L ve

ark., 2010).

S. pneumoniae'de enfeksiyonlara neden olan serotipler çocuk ve erişkinlerde farklılık göstermektedir. Çocuklardaki enfeksiyonların büyük çoğunluğunda 6A, 14, 19F ve 23F serotipleri saptanmakta olup, 4, 6B, 9V, 12F, 18C, 19A serotiplerinin de izole edilebileceği belirtilmektedir. Bebek pnömonilerine özellikle serotip 14'ün sebep olduğu bildirilmektedir. Erişkinlerden ise en sık izole edilen serotipler 3, 19F ve 6A'dır (İlki A ve ark.,2006). Yenidoğan dönemindeki çocuklarda ortaya çıkan invaziv pnömokok enfeksiyonlarının %20-25'inde serotip 1, 5, nadiren de 7F, 3 serotiplerinin etken olabilmektedir. 2-5 yaş ve hatta 5 yaş üzerinde de serotip 1'in %15 oranında bulunduğu belirtilmiştir (Hedlund J ve ark.,2002 ; Sörberg M ve ark.,2003).

Pnömokok serotiplerinin dağılımına yaştan yanı sıra coğrafi farklılıklar da etki edebilmektedir. Bu nedenle ülkeler arasında hatta aynı ülke veya aynı şehirdeki merkezler arasında dahi farklı dağılımlar görülebilmektedir. Örneğin, Hindistan'da serogrup 15, Endonezya'da 15, 13, 12 ve 3 serogrupları, Kenya'da ise 13 ve 15 sık izole edilen serogruplardır. Fransa'da serogrup 33, 7F, A.B.D.'de bazı merkezlerde seyrek olarak serotip 33F ile oluşan enfeksiyonlar da bildirilmiştir (Noskin GA,2006). Aynı zamanda enfeksiyonun invaziv veya non-invaziv olmasına göre de farklı serotipler görülebilmektedir (Dominguez A ve ark.,2002).

S. pneumoniae serotipleri enfeksiyon bölgesine bağlı olarak da farklılık gösterebilmektedir. Alt solunum yollarında 1, 14, 7, 3 ve 4 en sık görülen serotiplerdir. Üst solunum yollarında ise 6, 14, 19, 23 serotiplerine daha sık rastlanmaktadır (Imöhl M ve ark., 2010).

Pnömokokların bazı serotiplerinin hastalıklarla ilişkili olarak da farklılık gösterebildiği belirtilmektedir. Örneğin, kan ve BOS örneklerinde çocuklarda serogrup 6, 10 ve 23 bulunurken, erişkinlerde ise serogrup 1, 4, 14'e daha sık rastlandığı bildirilmiştir (Fraser D ve ark.,2001 ; Givon-Lavi N ve ark.,2002).

S. pneumoniae serotiplerinde antibiyotik direnç paternleri farklılık gösterebilmektedir. Genellikle 6, 9, 14, 19 ve 23 serotipleri penisiline yüksek düzey direnç göstermektedir. Bu suşlar aynı zamanda çocuk yaş grubundan ve invaziv enfeksiyonlu hastalardan en sık izole edilen suşlardır. Çocuklarda solunum yolu enfeksiyonlarının daha sık görülmesi ve bu nedenle antibiyotik kullanımının daha fazla olması, direncin artmasında önemlidir (Imöhl M ve ark., 2010).

Serotip 3'ün erişkinlerde diğer serotiplere göre daha fatal seyirli enfeksiyonlardan sorumlu olduğu görülürken, serotip 1 enfeksiyonlarının düşük oranda ölümle seyrettiği bildirilmiştir (Lineras L ve ark., 2010).

Genellikle belirli pnömokok serotipleri invaziv enfeksiyonlara neden olsa da az rastlanılan serotipler de invaziv enfeksiyonlar gelişebilmektedir. Ülkemizde meninjitli bir çocuktan *S. pneumoniae* serotip 20 görüldüğü bildirilmiştir (Can E ve ark.,2006).

Yalçın ve ark. tarafından 7 merkezin katılımı ile yapılan çalışmada invaziv enfeksiyonlu çocuklardan izole edilen 93 *S. pneumoniae* suşundan en sık rastlanan serotiplerin 6 B, 23F ve 19F olduğu, bunun yanı sıra 2, 5, 17, 33 serotiplerinin de görüldüğü bildirilmiştir (Yalçın I ve ark.,2006).

Çeşitli ülkelerde ve ülkemizde en sık görülen pnömokok serotipleri 23 ve 7 valanlı aşı suşlarıyla uyumludur. Yüksek düzeyde penisilin direncinin görüldüğü suşların büyük bir çoğunluğunun 6, 9, 14, 19 ve 23 serogruplarından olduğu bildirilmiştir (Bogaert D ve ark.,2004 ; Hedlund J ve ark.,2003).

Son yıllarda serogrup 7 insidansının arttığına dair sonuçlar bildirilmektedir. Ayrıca genellikle çoğul dirençli olan serotip 19A da enfeksiyonlarda görülmektedir (Lineras L ve ark.,2010 ; Imöhl M ve ark.,2010).

Penisilin direncinin düşük olduğu suşların daha çeşitli serotiplerden oldukları görülmektedir. Ülkemizde penisiline dirençli *S. pneumoniae* suşlarının

serogruplarının incelendiği bir çalışmada, serogrup 19, 9, 23'ün en fazla izole edildiği görülmektedir. Bu sonuçlar yurtdışında yapılan bildirilen diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Yalçın I ve ark.,2006).

1.2.4 Patogenezi

Pnömonokoklar nazofarenksin normal bakteri florasında yer almaktadır. Solunum yollarını döşeyen hücrelerde viral, mekanik veya kimyasal nedenli anatomik değişiklikler bakteriyel enfeksiyona zemin hazırlamaktadır. Viral üst solunum yolu enfeksiyonları üstaki borusunda ödeme, orta kulakta negatif basınca neden olur ve bakteriyel otitis media'ya ortam hazırlar, pnömonokoklar en sık nedenler arasındadır. Alt solunum yollarını yabancı cisim aspirasyonundan koruyan kompleks ve koordine nöromüsküler reflekslerin bozulması sonucu akciğerlerde enfeksiyon ortaya çıkmaktadır. Pnömonokok hücre duvarındaki yapılar ve pnömolizin enflamatuvar süreçte rol oynamaktadır. Polimorf nüveli lökositlerin bölgeye migrasyonunu geciktiren alkol, anestezi ve kortikosteroid gibi maddeler pnömoni için risk faktörüdür. Bakteriler hiler lenf bezleri aracılığıyla duktus torasikusa ve sistemik dolaşıma katılarak bakteriyemi oluşturmaktadırlar (Sümerkan, B, 2002).

Pnömonokoklar, çocuklarda nazofarenks mukoza bariyerini geçip servikal lenf yolları aracılığı ile sistemik dolaşıma katılıp, herhangi bir enfeksiyon odağı olmadan bakteriyemiye, meninksler, eklemler ve periton gibi seröz boşluklara yayılarak metastatik odaklar meydana gelmesine neden olmaktadır. Enfeksiyonun paranazal sinüsler veya orta kulaktan yayılmasıyla menenjit meydana gelebilmektedir. Akciğerlerden yayılım sonucunda ampiyem veya perikardit oluşabilmektedir. Özellikle 40 yaş üzerindeki kişilerde komplikasyon olarak endokardit görülmektedir (Tuomanen, E.I ve ark., 1995).

Tipe özgü antikapsüler antikorların oluşması ile pnömonokok enfeksiyonlarında spontan iyileşme görülmektedir. Komplemanın etkisi ile antikorlar pnömonokokların çevresindeki polisakkarit kapsüle bağlanarak onları birbirine yapıştırmakta ve fagosite olmalarını sağlamaktadır. Oluşan antikorlar

IgM ve IgG sınıfından antikorlardır. Aynı kapsüler tipte reenfeksiyon agamaglobulinemi ve disgamaglobulinemi olmadıkça son derece nadirdir (Tünger Ö, 2000).

1.2.5 Klinik Belirtiler ve Bulgular

Erişkinde lobar pnömoninin prodrom döneminde soğuk algınlığı veya influenza gibi bir viral enfeksiyon vardır. En önemli semptomlar öksürük, balgam ve ateştir. Klinik tablo hastanın yaşına ve predispozan faktörlerin bulunup bulunmamasına göre önemli farklar gösterir. Üşüme ve titremeyle yükselen ateş, prodüktif öksürük, kan içerebilen hafif pembe balgam en sık rastlanan bulgudur. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı olanlarda öksürük ve balgam miktarında artış, balgamın sarı-yeşil renge dönüşmesi, 48-72 saat içinde giderek yükselen ateş gözlenmektedir. Tedavi edilmeyen olgularda ateş 5-10 günde düşmektedir (Heath PT, 2000).

İleri yaşlardaki hastalarda ateş ve balgam olmaksızın, hafif öksürük, halsizlik ve konfüzyonla seyreden pnömoni görülebilir; hasta hipotermik olabilir ve şoka girebilir. En ağır seyir ise asplenik hastalarda görülmektedir. Pnömokoksik pnömoninin bir diğer semptomu plöretik yan ağrısıdır. Fizik muayenede hasta genellikle halsiz, soluk ve dehidrate görünümündedir. Yüksek ateş, taşikardi ve takipne vardır. Tutulumun olduğu tarafta yardımcı solunum kasları devreye girer göğüs duvarı hareketleri azalmaktadır. Olguların %50'sinde perküsyonla matite, oskültasyonda kreptan raller saptanmaktadır. Plevral sıvı varlığında sinüsler kapalıdır. Laboratuvar bulgularına bakıldığında lökositoz ve periferik yaymada sola kayma, arteriyel kan gazında hipoksi ve alkaloz görülmektedir. Lökopeni kötü prognozun göstergesidir. Eritrositlerin akciğerlerde yıkımına bağlı olarak serum bilirübin düzeylerinde artış görülebilmektedir. Akciğer grafisinde kostofrenik açıda küntleşme parapnömonik effüzyon ya da ampiyemin göstergesi olabilmektedir (Bridy-Pappas AE ve ark., 2005).

1.2.6 Tanı

Enfeksiyonun tanısı organizmanın kan, orta kulak, beyin omurilik sıvısı veya diğer seröz boşluklardan izolasyonuna dayanmaktadır. Pnömokoksik pnömoninin tanısı balgamın mikroskopik ve kültür yöntemleri ile incelenmesi sonucu yapılabilmektedir. Pnömokokların üst solunum yolları florasında bulunması izolasyonun akciğerlerdeki enfeksiyonu her zaman yansıtmamasına neden olmaktadır. Balgam steril bir kaba alınmalı, direkt mikroskopik inceleme yapılmalıdır. Mikroskopik incelemeden sonra balgam pürülan özellikte ise kanlı agara ekilir ve % 5 CO₂'li ortamda inkübe edilir. Pnömokoklara ait tipik koloniler (alfa hemolizli, ortaları çökük veya mukoid koloniler) optokine duyarlılıkları ve safrada (% 10 sodyum deoksikolat) erimeleri açısından incelenir. Quellung reaksiyonu tanıda altın standarttır. Pnömokok tanısında moleküler testlerden de yararlanılabilir, bakterilerin rRNA'sına komplementer kemilüminesan işaretli tek sarmallı DNA kullanılmaktadır (Barış C, 2004).

1.2.6.1 Klasik tanı

Dört fenotipik özellik aranır: bunlar kanlı jelozda koloni morfolojisi, optokine duyarlılık (% 5 CO₂'li ortamda), safrada erime ve tipe özel antiserumlarla yapılan serolojik reaksiyonlardır (kapsül şişme deneyi, lateks aglutinasyonu) (Pikis A ve ark., 2001). Tanı amacıyla hazırlanmış otomatize identifikasyon sistemleri de bulunmaktadır (Aris2X, Vitek2, Phoenix gibi).

Koloni morfolojisi: Kanlı agarda alfa-hemoliz yapan kolonileri 2 şekilde görülmektedir; biri üzerleri düz ve muntazam, diğeri kenarları kalkık, ortası çökük, pnömokoklara özgül kabul edilen tavla pulu görünümündeki kolonilerdir. Ortası çökük koloniler bakterinin otolitik enzimleri nedeniyle hücre yapılarının erimesi sonucu meydana gelmektedir. Kapsüllü olanlar mukoid tipte koloni yapmaktadır (Barış C, 2004).

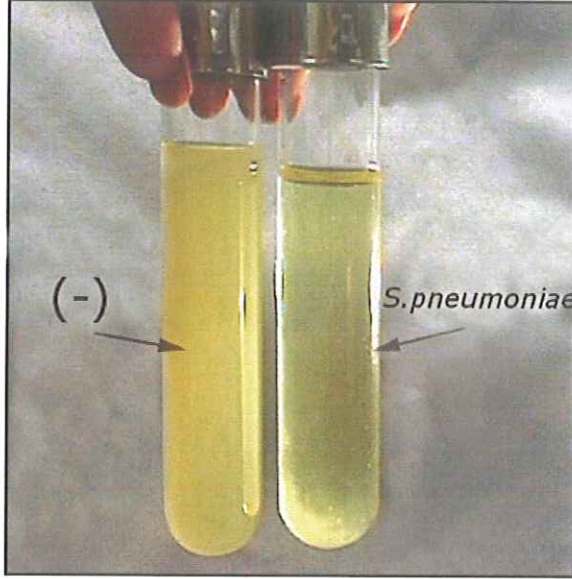
Optokine duyarlılık: Bir kinin analogu olan optokine duyarlılık *S. pneumoniae*'nin VS (Viridans Streptokok)'lardan ayırımında en çok aranan özelliktir. Ancak nadir de olsa dirençli suşlara rastlanmaktadır. Direnç oluşumu, yoğun antibiyotik kullanımına veya optokine etki mekanizmasında meydana gelen mutasyona bağlanmaktadır. Özellikle invaziv enfeksiyonlardan izole edilen optokine dirençli suşlara VS tanısı konmadan önce safrada erime ve DNA prob hibridizasyon deneyi yapılmalıdır. Optokine duyarlılık zon çapı, kullanılan besiyeri, kan (eritrosit çeşidi), kültür atmosferi (CO₂ yüzdesi ve normal ortam) ve inkübasyon süresine (18-24 saat) göre fark göstermektedir; bu nedenle CLSI kurallarına uymak gerekmektedir (Jehl F ve ark., 2003).

Optokin duyarlılığı ticari hazırlanmış iki farklı çaptaki (6 mm ve 10 mm) disk (5 µg) ile araştırılmaktadır. İnhibisyon zon çapının 6 mm'lik diskle >14 mm, 10 mm'lik diskle >16 mm olması duyarlılığı göstermektedir. Çap genişliği normal atmosferde ve % 5 CO₂'li ortamlarda farklı olabilmektedir. CO₂'li ortamda üreyen bazı suşlar yoğun üreme nedeniyle optokine dirençli veya orta duyarlı bulunabilmektedir. Orta duyarlı olan şüpheli suşlar serolojik veya PCR yöntemi ile tekrar incelenmelidir (Jehl F ve ark., 2003).

Safrada erime testi: Safra tuzu (sodium deoxycholate, sodium taurocholate) bakterinin erimesine neden olan, indirekt etkili bir maddedir; otolitik enzim sentezini aktive ederek etkisini göstermektedir. Optokine duyarlılık deneyinden daha özgül olduğu kabul edilmektedir. Test, aktif üreme fazındaki 18-24 saatlik katı veya daha özgül olan sıvı kültürler ile tüpte yapılır. Katı besiyeri için % 2'lik, tüp testi için % 10'luk sodyum deoksikolat hazırlanır. Sıvı kültürle yapılan deneyde bakteri tercihen uygun buyyon besiyerinde süspanse edilerek (0,5-1 McFarland) biri kontrol olan 2 tüpe 0,5 ml konur; birinin üzerine safra çözeltisi, diğerine fizyolojik tuzlu su aynı miktarda ilave edilerek 35°C'de 2 saat bekletilir. Tüp deneyinde bakteri süspanسیونununun pH'sı 7'e ayarlanmalıdır, çünkü safra tuzu 6,5 ve daha düşük pH'da presipite olarak etkisiz kalır. Suşların % 86'sı tamamen erir; kısmen erime gösterenler kapsül şişme deneyi veya moleküler yöntemlerle tekrar incelenmelidir. Tüpte yapılan safrada erime deneyinin kolay, ucuz ve özgülük oranının yüksek

olması nedeniyle PCR deneylerinden önce yapılması önerilmektedir. Sonuçlar değerlendirilirken safrada erimeyen atipik pnömokokların varlığı unutulmamalıdır (Kearns AM ve ark., 2000).

Resim 1.2. *S. pneumoniae*'nin safrada erime testi ile tanısı
(www.mesacc.edu/~johnson/labtools/Dbiochem/opto.html)



Serotip tayini: Klasik tanı yöntemlerinden biridir; optokine duyarlılık ve safrada erime deneylerinden şüpheli sonuç alındığında ileri doğrulama deneyi olarak da kullanılmaktadır. Pnömokoklar kapsül antijenlerini belirleyen serolojik yöntemle (kapsül şişme reaksiyonu) 90 serotipe ayrılmıştır. Kapsül şişme deneyi daha güvenilir bir yöntemdir ve lâteks aglutinasyonu ile şüpheli sonuç alındığında uygulanmalıdır. Kapsül serotip genlerinin transformasyon yolu ile suşlar arasında transfer olması çapraz reaksiyonların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Ayrıca pnömokok dışı alfa-hemolitik streptokoklarla, non-hemolitik streptokok türlerinin birçoğunda pnömokoklardakine benzer kapsül antijenlerinin bulunduğu bildirilmiştir. Suşun kapsülünü kaybetmesi veya henüz bilinmeyen bir serotip antijenine sahip olması da suşların % 20'sinin tiplendirilmesine engel olmaktadır (Kearns A.M ve ark., 2000).

1.2.6.2 Moleküler tanı:

Bakterinin şüpheli klinik örneklerde gösterilmesinde veya saf kültürün tanısında özellikle virulans faktörlerini belirleyen genlerin saptanması tanı koydurucudur. Rintamaki ve ark. pnömolizin gen yapısını belirlemek amacıyla özel geliştirilmiş PCR yöntemi ile klinik örneklerde oldukça güvenilir sonuçlar elde etmişlerdir. Yine pnömokok geni kazanan VS'larla, tanı hedef bölgelerinde meydana gelen mutasyonlar sonucu özellik değiştiren atipik pnömokokların tanısında da kullanılmaktadır. Fakat bu yöntemler alt yapı yetersizliği ve maliyet yüksekliği nedeniyle birçok laboratuvarında her zaman uygulanamaz (Berkiten R, 2006).

1.2.6.3 *S. pneumoniae* tanısında karşılaşılan zorluklar

Optokin ve antibiyogram duyarlılık: Pikis ve ark. tarafından 1992-1998 yılları arasında yapılan çalışmada çocuk hastalardan izole edilen optokine dirençli 4 *S. pneumoniae* suşundan 3'ünün, optokine duyarlı ve dirençli olmak üzere 2 farklı popülasyondan meydana geldiğini, ancak her alt popülasyondaki bakterinin serotipinin, antibiyogram sonuçlarının ve RFP (restriction fragment profiles)'lerinin aynı olduğu görülmüştür. Homojen dirençli olan 4. suşun optokin MİK değerinin duyarlı olandan 4-30 kat fazla, serotip ve RFP'nin farklı olduğunu, ortak klonal özellik göstermediği tespit edilmiştir (Pikis A ve ark., 2001).

Kapsül şişme deneyi: Diğer yöntemlere göre daha güvenilir bir yöntemdir ve lateks aglutinasyonu ile şüpheli sonuç alındığında uygulanmalıdır. Kapsül serotip genlerinin transformasyon yolu ile suşlar arasında transfer olması çapraz reaksiyonların meydana gelmesine sebep olmaktadır. Ayrıca pnömokok dışı α -hemolitik streptokoklarla, non-hemolitik streptokok türlerinin bir çoğunda pnömokoklardakine benzer kapsül antijenleri bulunmuştur. Suşun kapsülünü kaybetmesi ya da henüz bilinmeyen bir serotip antijenine sahip olması da suşların % 20'sinin tiplendirilmesine engel olmaktadır. Dolayısıyla bu yöntemin de her zaman yeterli özgüllüğe sahip olmadığı kabul edilmektedir (Kearns A.M ve ark., 2000).

Moleküler yöntemler: Bakterinin şüpheli klinik örneklerde gösterilmesinde veya saf kültürün tanısında özellikle virulans faktörlerini belirleyen genlerin saptanması tanı koymada önemlidir. Rintamaki ve ark. pnömölizin gen yapısını belirlemek amacıyla özel geliştirilmiş PCR yöntemi ile klinik örneklerde oldukça güvenilir sonuçlar elde etmişlerdir. Yine pnömokok geni kazanan VS'larla, tanı hedef bölgelerinde meydana gelen mutasyonlar sonucu özellik değiştiren atipik pnömokokların tanısında da kullanılmaktadır. Fakat bu yöntemler yetersiz alt yapı ve yüksek maliyet nedeniyle çoğu zaman uygulanamamaktadır (Rintamaki S ve ark., 2002).

Bu yöntemlerin başlıcaları DNA-DNA hibridizasyonu, DNA prob hibridizasyonu, 16S rRNA sekanslama ve PCR teknolojisine dayalı yöntemlerdir. MLST (multilocus sequence typing) ve LAMP (loop-mediated isothermal amplification) hata oranını azaltmak amacıyla son yıllarda geliştirilen diğer yöntemlerdir. PCR en sık uygulanandır ve bakterinin otolizin (autolysin, *lytA*), pnömölizin (pneumolysin, *ply*), pnömokok tutunma faktörü (pneumococcal adhesin A), pnömokok yüzey proteini (pneumococcal surface protein A, *PspA*); manganze bağlı superoksit dismutaz (manganese-dependent superoxide dismutase, *sodA*) gibi virulans genlerini saptamaktadır. MLST ile *aroE*, *gdh*, *gki*, *recP*, *spi*, *xpt*, *ddl* gibi gen belirleme çalışmaları yapılmaktadır. Ancak aranan ve belirlenen özelliklerin tümü *S. pneumoniae* için özgün değildir ve bazıları α -hemolitik streptokoklarda da bulunur. Ayrıca *S. pneumoniae*'ye spesifik olması gereken bazı genler çok nadir de olsa *S. mitis* ve *S. oralis*'de gösterilmiştir. Yine α -hemoliz yapan bir streptokok suşunda *ply* ve *lytA* virulans faktörlerinin gösterilmesi o bakterinin pnömokok olduğunu her zaman göstermez. Seki ve ark. geliştirdikleri, *lytA* genlerini hedef alan ve yeni bir nükleik asit amplifikasyonu olan LAMP yönteminin, klasik PCR'dan daha özgün olduğunu bildirmişlerdir (Hanage WP ve ark., 2005 ; Heeg C ve ark., 2005 ; Seki M ve ark., 2005 ; Whatmore A.M ve ark., 2000).

DNA-DNA homoloji sonuçlarının tanı değeri oldukça yüksektir. Ancak pnömokoklarla Smit grubu arasında %40-60 oranında benzerlik bulunduğundan tanı hatalı olabilir. *S. pneumoniae*'nin en fazla karıştırıldığı türler 16S rRNA nükleotid

sırası *S. pneumoniae* ile % 99'un üzerinde aynı olan *S.mitis* ve *S.oralis*'dir ve bu nedenle kullanımı yine sınırlıdır. Virulans genlerinin gösterilmesi de tanı için yeterli değildir. Kaijalainen ve ark. klasik tanı özelliklerine sahip olmayan şüpheli suşların idantifikasyonu için *ply* PCR ve geliştirdikleri ticari RNA hibridizasyon testlerinin kesin sonuç vermediğini bildirmişlerdir. Housekeeping genlerin (örneğin *xpt*, *recP*, *hexB*, *ddl*) gösterilmesi *S. pneumoniae*'nin ayırımında ümit verici olduğu bildirilmiş, ancak altın standart bir yöntem olmadığı görülmüştür. Örneğin, *ddl* gibi pnömokok için spesifik olduğu kabul edilen bir gen *S.sanguinis* ve *S.gordonii*'de de bulunmuştur (Dowson CG, 2004 ; Kaijalainen T, 2002 ; Kawamura Y ve ark., 1999 ; Winn W ve ark., 2006).

Neeleman ve ark. pnömokok ön tanısı konmuş (şüpheli), makrolit dirençli 141 suşu, 16S rRNA sekans, AFLP (amplified-fragment length polymorphism), *ply* ve *lytA* yönünden incelediklerinde, 91 'inin (% 65) *S .pneumoniae*, 32'sinin *S.mitis*, 18'inin streptokok cinsi bakteri olduğunu saptamışlardır. Sonuçta *lytA* saptanan suşların tümünün pnömokok, saptanamayanların ise pnömokok dışı bakteri olduğu görülmüştür (Neeleman C ve ark., 2004).

Araştırmalarda ilk bakteri gruplamaları koloni şekline, kapsül varlığına (tiplendirilebilme) veya atipik özellik göstermesine göre yapılmaktadır (Chandler LJ, 2000 ; Carvalha MG ve ark., 2003 ; Hanage WP ve ark., 2005 ; Heeg C ve ark., 2005).

Chandler ve ark. 209 *S. pneumoniae* suşunun tanısında uyguladıkları 4 yöntemi (safrada erime, optokine duyarlılık, lateks aglutinasyonu, DNA prob hibridizasyonu) karşılaştırmak amacı ile yaptıkları çalışmada, bakterileri önce koloni morfolojilerine göre ikiye ayırmışlar ve 151 suşu Grup I (kenarları kalkık, ortası çökük), 58 suşu Grup II (alfa-hemolitik) olarak belirlemişlerdir. DNA prob hibridizasyonu deneyinde Grup I'den 141, Grup II'den 10 suş *S. pneumoniae* olarak tanımlanmış; Grup I'de optokin duyarlılığı ve lateks deneyi % 100 duyarlılık ve spesifiklik göstermiş; safrada erime deneyi bir suş dışında tümünde pozitif; Grup II'de optokine duyarlılık ve spesifiklik % 100; lateks deneyinde duyarlılık % 80, spesifiklik % 94; safrada

erime deneyinde duyarlılık % 80, spesifikklik % 100 bulunmuştur. Deney sonuçlarına göre tipik koloni morfolojisi gösteren suşlara uygulanan tüm testlerin güvenilir olduğu, alfa-hemoliz yapanlarda safrada erime ve lateks aglutinasyon pozitifliğinin yanlış tanıya yol açabileceği hususuna dikkat çekilmiştir (Chandler LJ, 2000).

Carvalho ve ark. epidemik konjunktivit etkeni kapsülsüz, dolayısıyla tiplendirilemeyen 11 suşun fenotipik ve genotipik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında tümünün optokine duyarlı, safrada eriyen ve DNA-DNA hibridizasyonu pozitif *S. pneumoniae* olduğunu saptamışlardır (Carvalho MG, 2003).

Hanage ve ark. tiplendirilebilen (kapsüllü) pnömokoklarla, pnömokok ön tanısı almış tiplendirilemeyen suşları MLST ve kısmi dizi analizi (partial sequencing) ile *ply* yönünden inceleyerek genetik yakınlıklarını araştırdıkları çalışmalarında tiplendirilemeyen suşların pnömokok olabileceği gibi viridans streptokok da olabileceğini, güç vakalarda *ply* geninin saptanmasının destekleyici olacağını bildirmişlerdir (Hanage WP, 2005).

Ko ve ark. çeşitli Asya ülkelerinden toplanan ve tiplendirilemeyen 54 suşu inceledikleri [optokine duyarlılık, safrada erime, housekeeping gen tayini (MLST), virulansla ilgili genlerin amplifikasyonu, 16S rDNA-RsaI digestion ve 16S rDNA sequencing] çalışmalarında 6'sının *lytA*, 16S rDNA ve MLST yönünden pnömokoklardan farklı olduğunu ve klasik yöntemlerin yanlış tanıya götürdüğünü, ayrıca pnömokok tanısı alan bu suşların farklı bir türe ait olduğunu bildirmişlerdir (Ko KS ve ark., 2005).

Messmer ve ark. pnömokok ön tanısı alan fakat tiplendirilemeyen suşları, yakın benzerlik gösteren atipik streptokoklardan ayırmak için yaptıkları *lytA*, *psaA*, *ply* PCR deneylerinde sonuçların ayırd ettirici olmadığını bildirmişlerdir (Messmer TO, 2004).

Llull ve ark. çeşitli serotiplerden 29 *S. pneumoniae* ve 22 *S. mitis* (2'si *S. pseudopneumoniae*) suşunun *lytA* genindeki nükleotid dizilimini inceledikleri

çalışmalarında 19'unda pnömokoklara özel, 20'sinde atipik alellerin bulunduğunu; pnömokoklarda saptanan alellerin özgül, pnömokok dışı suşlarda saptananların ise atipik aleller olduğunu belirlemişlerdir (Llull D, 2006).

Verhelst ve ark. *S. pneumoniae* olduğu düşünülen optokine dirençli 49 alfa-hemolitik streptokok suşunu, kapsül varlığı ve *ply*, *lytA*, *psaA*, 16S rRNA hibridizasyonu yönünden inceledikleri çalışmalarında, yalnız 11 'inin kapsüllü ve klasik pnömokok özelliklerini gösterdiğini, kalan kapsülsüz 38 suştan 20'sinin pnömokok olmadığını, 18'inin ise tür düzeyinde isimlendirilemediğini bildirmişlerdir. Sonuçta fenotipik ve genotipik yöntemlere rağmen tanıda hâlâ problemlerin bulunduğunu bildirmişlerdir (Verhekst R, 2003).

Optokine biri duyarlı, diğeri orta duyarlı 2 viridans suşunun genetik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada optokin MİK değerinin duyarlı suşda *S. pneumoniae*'ye eşit, orta duyarlı olanda yüksek olduğu saptanmış, ayrıca duyarlı suşun safrada erimediği, kapsül antiserumu ile reaksiyon vermediği, rRNA, *lytA* ve *pnl* pnömokok spesifik problar ile hibridizasyon yapmadığı, 16S rRNA ve *sodA* genleri araştırıldığında bu 2 suşun *S.mitis* olduğu saptanmıştır. Duyarlı suşda optokinin hedef yeri olan ATPaz incelendiğinde, *S. pneumoniae* ile büyük benzerlik gösterdiği ve bu genin pnömokoklardan kazanıldığı, orta duyarlı suşa da optokin duyarlılığını sağlayan belirli aminoasit dizisininin transfer olduğu gösterilmiştir (Martin-Galiano AJ, 2003).

Heeg ve ark. Almanya, İspanya ve Fransa'da invaziv infeksiyonlardan izole edilen 12 atipik pnömokok suşunun fenotipik ve genotipik özelliklerini inceleyerek *S. pseudopneumoniae* ile karşılaştırdıklarında *S. pneumoniae*'nin 9'unda DNA prob hibridizasyonunun pozitif, geri kalan 3'ünde klasik pnömokok özellikleri olduğunu (safrada eriyen, optokine duyarlı veya kapsül şişme deneyi pozitif) saptamışlar; farklı olarak yedi suşun *S.pseudopneumoniae* gibi optokine % 5 CO₂'li ortamda dirençli, normal ortamda duyarlı sonuç verdiğini ve tümü kapsüllü olan suşlardan yalnız 3'ünün tiplendirilebildiğini (serotip 14) bildirmişlerdir. Genotipik özellikleri incelendiğinde tümünün *ply*, 6'sının *lytA*, 2'sinin *psaA* yönünden pozitif olduğu,

MLTS deneyi ile tüm suşlarda farklı gen dizimi bulunduğu saptanmıştır (Heeg C ve ark., 2005).

Bu sonuçlara göre araştırmacılar *S. pneumoniae*'nin VS' lardan ve *S. pseudopneumoniae*'den ayırımının oldukça güç olduğunu, gösterilen *ply* ve *lytA* virulans faktörlerinin *S. mitis* ve *S. oralis*'de de bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca atipik pnömokoklarla, alfa-hemolitik streptokokların DNA yapıları benzerlik gösterdiğinden elde edilen sonuçların kesin tanıya götürmediği anlaşılmıştır. Bunun yanında atipik pnömokokların belirlenmesinde MLST deneyinin ayırıcı bir öneme sahip olduğu kabul edilmiştir (Heeg C ve ark., 2005).

Suzuki ve ark. 2005, Whalan ve ark. 2006 yılında yayınladıkları ve pnömokok tanısını sağlayabilecek hedef moleküllerin belirlenmesini amaçlayan çalışmalarında yine kesin sonuç elde edememişlerdir (Suzuki N ve ark., 2005 ; Whalan RH ve ark., 2006).

Çalışmaların sonuçlarından elde edilen tüm veriler değerlendirildiğinde tipik koloni morfolojisi gösteren suşlarda saptanan *lytA*, *lytB*, *psaA*, *piaA* genlerinin yüksek tanı değerine sahip olduğu kabul edilmesine rağmen kesin tanıya götürmediği saptanmıştır (Heeg C ve ark., 2005).

Ülkemizde moleküler yöntemler ile *S. pneumoniae* saptama ve tanı çalışmaları son yıllarda bildirilmeye başlamıştır. Klasik yöntemlerle pnömokok tanısı alan fakat ileri inceleme ile pnömokok olmadığı saptanan ilk suş Aktaş ve ark. tarafından yayınlanmıştır. Bu çalışmada suşun, *psaA* gen amplifikasyonu ile pnömokok olmadığı, streptokok kiti (API ID32 strep) ile *Gemella haemolysans* (% 99,1) olduğu ortaya çıkmıştır (Aktaş Z ve ark., 2005).

1.2.7 Tedavi

Pnömokokların tedavisinde beta-laktam antibiyotikler (penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler) makrolidler, linkozamidler, glikopeptidler,

kloramfenikol, kinolonlar (trovafloksasin, sparfloksasin, gatifloksasin, grepafloksasin ve levofloksasin) kullanılmaktadır. Pnömonoklarda kromozomal beta laktam direnci görülmektedir ve bu durum penisilin bağlayan proteinleri (PBP) kodlayan genlerde oluşan değişikliklere bağlıdır (Cengiz, A.T, 1999).

Son yıllarda pnömokoklarda penisiline direnç sorunu ortaya çıkmıştır. MİK değerleri 0,1-1 mg/mL arasında bulunan pnömokoklar penisilin için düşük düzey, 2 mg/mL ve üzerinde bulunanlar ise yüksek düzey dirençli olarak kabul edilmektedirler. Menenjit dışında orta dereceli dirençli suşların neden olduğu enfeksiyonlarda penisilin tedavide kullanılabilir. Penisiline orta ya da yüksek düzey dirençli suşlar aynı zamanda kloramfenikol, makrolidler, kotrimoksazol ve klindamisin gibi diğer antibiyotiklere de dirençli bulunabilirler. Beyin omurilik sıvısına iyi geçebilen seftriakson ve sefotaksim gibi üçüncü kuşak sefalosporinler penisiline dirençli pnömokok menenjitli olguların tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak bu antibiyotiklere dirençli (MİK>0,5 mg/mL) suşlarda tedavi başarısızlıkları görülmüştür. Pnömonoklarda vankomisine direnç henüz bildirilmemiştir.

1.2.7.1 Direnç Mekanizmaları

Pnömonoklarda penisilin direnci, penisilin bağlayan protein (PBP)'lerden bir veya daha fazlasında gelişen değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Markiewicz Z ve ark.,1989). PBP'lerdeki bu değişiklik iki yolla gerçekleşmektedir: *i)* PBP genlerinde spontan kromozomal mutasyon, *ii)* dirençli başka bakterilerden gelen DNA segmentlerinin pnömokoklarda PBP'leri kodlayan DNA segmentlerinin arasına yerleşmesi yani "mozaik gen" oluşumu. Direncin derecesi etkilenen PBP'lerin sayısına ve özgüllüğüne bağlıdır. Mutasyona uğrayan PBP2b ve PBP2x penisiline düşük afinite gösterir ve bakteride düşük düzey dirence yol açar. PBP2b ve/veya PBP2x varlığında bakteride PBP1a da varsa yüksek düzey direnç gelişebilmektedir. Benzer şekilde PBP2a, bakteride PBP2x varsa dirençte rol oynamaktadır (Coffey TJ

ve ark.,1991). Bu yüzden yüksek düzey direnç oluşumu basamak tarzında gerçekleşmektedir.

Pnömonoklarda penisilin direnci ilk kez 1945 yılında Erikson tarafından laboratuvar suşlarında gösterilmiştir. Dirençli ilk klinik izolatlar ise 1967'de Avustralya ve Papua Yeni Gine'den bildirilmiştir. Ardından 1977'de Güney Afrika'dan çoklu dirençli pnömokok izolatları tespit edilmiştir (Appelbaum PC, 2002). Çoklu dirençli izolatlar penisilinün yanı sıra makrolidler, kloramfenikol, tetrasiklinler, trimetoprim-sulfametoksazol gibi ajanların iki veya daha fazlasına da dirençlidirler. Yüksek düzey penisilin direnci ABD'de % 34, Güney Afrika'da % 50, Avrupa'da İspanya'da % 50, Macaristan'da % 60 iken, Almanya ve Hollanda'da düşük düzeylerde görülmüştür (Doern GV ve ark.,2001 ; Jacobs MR ve ark.,2003). Hong Kong, Kore gibi Uzak Doğu ülkelerinde ise direnç % 60'ları geçmektedir ve bu izolatların büyük bir bölümü çoklu direnç taşımaktadır (Song JH ve ark.,2004).

Türkiye'de pnömokok direnciyle ilgili ilk çalışmalar 1980'lerin sonlarında başlamış ve özellikle 1990'larda artmıştır. Erdem ve Pahsa'nın Türkiye'de pnömokok direnciyle ilgili 1980-2005 yılları arasındaki çalışmaları değerlendirdikleri derlemelerinde ülkemizde pnömokoklarda penisilin direnci farklı bölgelerde değişkenlik göstermektedir. Penisilin dirençli izolatların büyük çoğunluğunu orta dirençli izolatlar oluşturmaktaysa da son çalışmalar yüksek düzey dirençli izolatların oranında da bir artış görüldüğüne işaret etmektedir (Erdem H ve ark.,2005).

Pnömonoklar, birçok antibiyotiğe duyarlıdır ve yıllarca penisilin G ile tedavi edilmişlerdir (Öncül O. Ve ark.,2003). Fakat 1967'den sonra pnömokoklarda penisilin direncinin önem kazanmasıyla birlikte pnömokok enfeksiyonlarının tedavisi zorlaşmış ve mortalite oranı da artmıştır (Aydemir Ş ve ark.,2005). İspanya'da % 50, Güney Afrika'da % 50 ve Macaristan'da % 60'a varan penisilin dirençleri bildirilmiştir (Caputo GM ve ark.,1993; Linares J ve ark.,1992; Marton A,1992). Ülkemizde ise düşük düzeydeki direnç % 0-51 oranlarında bildirilirken, yüksek düzeydeki penisilin direncinin % 0-17 arasında olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Gür D ve ark.,2002 ; Kılıç D ve ark.,1996; Mamal Torun M ve ark.,2001).

Penisiline dirençli suşlar daha çok kreşlerde, okul çağı çocuk gruplarında, toplu yaşanan yerde kalanlarda ve düşkünlüğe yol açan hastalığı olanlarda görülmektedir. Bebek ve çocuklardaki dirençli suş taşıyıcılığı yetişkinlere göre daha sık görülmektedir. Çocuk yuvalarında dirençli pnömokok görülme ve yayılma nedenleri; ortamın kalabalık olması, kişiden kişiye yakın temasın olması ve yoğun antibiyotik kullanılmasıdır. Yoğun antibiyotik kullanımı çocuk yuvasında kalan çocuklarda, evde kalan çocuklardan daha sık görülmektedir. Bu ortamlarda kalan kişilerde bakterilerle karşılaşma olasılığının yüksek olması ve dirençli suşları birbirine aktarabilecek ortamı paylaşmaları direnç artışına zemin hazırlamaktadır (Öncül O ve ark.,2003 ; Gezici H,2002).

Özellikle solunum yolu enfeksiyonlarında beta-laktam ajanlara alternatif olarak kullanılan makrolidlere karşı pnömokokkal direnç oranları incelendiğinde ülkemizde bu oranın % 2,1 ile % 23,9 arasında değiştiği ve bu direncin daha çok ribozomal metilasyona bağlı olduğu görülmektedir (Eşel D ve ark.,2004 ; Gür D ve ark.,2001 ; Sener B ve ark.,2006). Diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de pnömokoklarda kinolon direncine pek rastlanmamakta, ancak bazı çalışmalarda ve olgu raporlarında % 3'ü geçmeyen düzeylerde direnç bildirilmektedir (Gülay Z ve ark.,2003 ; Soares S ve ark.,1993). Bizim çalışmamızda levofloksasin direnci %17,6 ofloksasin direnci ise %14,7 bulunmuştur.

Pnömokoklarda serotiplerin dağılımı, popülasyonun yaşına ve coğrafi bölgeye göre farklılık göstermektedir. Pnömokoklarda yüksek düzey penisilin direnci ve çoklu direnç özellikle serogrup 6, 9, 14, 19 ve 23'de saptanırken, düşük düzey penisilin direnci bu serogrupların yanısıra diğer serogrup/serotipler ve serotiplendirilemeyen suşlarda da izlenmektedir (Appelbaum PC,2002 ; Enright MC ve ark.,1998). Dirençli serotipler sıklıkla çocuklarda enfeksiyona yolaçan serotipler arasındadır. Bunun nedeni olarak çocukların solunum yolu enfeksiyonları nedeniyle daha sık antibiyotik kullanmaları akla gelmektedir. Ülkemizde dirençli pnömokokların serotiplerine yönelik olarak yapılan çalışmaların sonuçları genellikle literatür ile uyumlu olup, 23 değerlikli aşı serotipleri ile paralellik göstermektedir. Ancak bu bulgunun yanısıra tiplendirilemeyen pnömokok suşlarına da

rastlanmaktadır (Richter SSve ark.,2002 ; Sener B ve ark.,2004 ; Zarakolu P ve ark.,2003).

Penisilin ve diğer beta-laktam antibiyotikler

Penisilinler ve beta-laktam antibiyotikler, penisilin bağlayan protein (PBP) adı verilen ve hücre duvarı sentezinde rol alan enzimlere (transpeptidaz, karboksipeptidaz, transglükolaz) bağlanarak bunların fonksiyonlarını bozmaktadırlar. Böylece hücre duvarı sentezi engellenmiş olur. Penisilin veya beta-laktamlara direnç pnömokoklarda bulunan yüksek molekül ağırlıklı beş PBP'nin (1A, 1B, 2B, 2X ve 3) üç ya da dördünde oluşan değişikliklere bağlı olarak gelişmektedir. Bu proteinleri kodlayan genlerde meydana gelen bir dizi mutasyon bu değişiklikten sorumludur. Pnömokoklarda beta-laktamaz enzimi bugüne kadar gösterilmemiştir. Pnömokokların bu mutant genleri viridans streptoklardan aldığı düşünülmektedir (Markiewicz Z ve ark,1989).

Kinolonlar

Kinolonlar DNA sentezini engelleyerek etki gösterirler. Hedefleri DNA-giraz ve topoizomeraz IV enzimleri olup, DNA-enzim kompleksine bağlanarak topoizomerizasyonu engeller ve hücre ölümüne neden olmaktadır.

Pnömokoklarda kinolon direnci iki şekilde olabilmektedir:

- 1-Hedef bölgede modifikasyon,
- 2-İlacın hücre dışına pompalanması (active efflux).

Topoizomeraz IV'ün alt üniteleri olan ParC ve ParE ile DNA girazın alt üniteleri olan GyrA ve GyrB'yi kodlayan genlerde (*parC*, *parE*, *gyrA* ve *gyrB*) iki basamaklı kromozomal mutasyonlar oluşmaktadır. Topoizomeraz IV'te oluşan *parC* mutasyonu düşük düzey kinolon direncine neden olmaktadır (siprofloksasin MİK, 4-8 µg/mL). İkinci mutasyon *gyrA*'da olduğunda yüksek düzey direnç gelişmektedir (siprofloksasin MİK, 16-64 µg/mL). Gemifloksasin, gatifloksasin ve moksifloksasin

son kuşak kinolonların topoizomeraz IV üzerine etkileri diğer kinolonlara göre daha güçlüdür. *parC* alt ünitede oluşacak bir mutasyon, bu ilaçlara direnç için yeterli olmamaktadır (Fukuda H ve ark.,1999 ; Pestova E ve ark.,2000).

Pnömonoklarda kinolonların dışa atımdan sorumlu protein PmrA proteindir. Bu durumda ilaç hücre içinde yeterli konsantrasyona ulaşamaz. Bu mekanizmanın neden olduğu direnç düşük düzey bir dirençtir (MİK değerleri 2-4 kat artar) (Gill MJ ve ark.,1999).

Makrolidler

Pnömonoklarda makrolid direnci iki mekanizma aracılığı ile olmaktadır. 1-Hedef bölgede değişiklik, 2-İlacın hücre dışına pompalanması. Birinci mekanizmada *ermB* geni tarafından kodlanan ribozomal metilaz, 23S rRNA alt ünitede (50S rRNA'nın altüniti) makrolidlerin bağlanacağı bölgeyi modifiye etmektedir. Bu tür değişikliğe MLSB tipi direnç adı verilir, bu tür dirençte makrolid direnci ile birlikte klindamisine de çapraz direnç vardır (Shortridge VD,ve ark.,1999). İkinci mekanizma ise *mefE* geninin kodladığı ATP bağımlı dışa pompalama mekanizmasıdır. Bu durumda direncin seviyesi düşüktür ve klindamisin ve 16 üyeli makrolidler (josamisin ve rokitamisin) bu dirençten etkilenemezler (Sutcliffe J ve ark.,1996). Pnömonoklarda makrolid direnci çapraz bir dirençtir, örneğin eritromisine dirençli bulunan bir suş klaritromisin, roksitromisin ve azitromisine dirençli kabul edilmektedir (Barry AC ve ark.,1998).

Makrolid deriveleri olan ketolidlerin makrolidlere dirençli ve duyarlı olduğu pnömonoklara etkili olduğu bilinmektedir. Makrolidlerde bulunan ancak ketolidlerde bulunmayan L- cladinose molekülünün direnci indüklediği düşünülür (Bonneyoy A ve ark.,1997). Makrolidlere dirençli bakterilerde ketolidler tedavide alternatif ilaçlar gibi durmaktadırlar.

Trimetoprim/sulfametoksazol

Direnç dihidrofolat redüktaz enzimini kodlayan genlerde oluşan mutasyonlara bağlı olarak gelişir. Bu enzim TMP/SMZ'nin hedefi olan bir enzimdir.

Tetrasiklin

S. pneumoniae suşlarında tetrasiklin (doksisisiklin ve minosiklin) direncinden sorumlu olan Tet (M) adı verilen proteindir. Bu protein ribozomlara bağlanarak onların konformasyonunu değiştirir ve tetrasiklinler bu korunma sayesinde ribozoma bağlanamazlar ve protein sentezi engellenmektedir.

1.2.7.2 Korunma ve Kontrol

Çoğul dirençli pnömokoklara tüm dünyada her tarafında rastlanmakta ve tedavi rejimleri yeniden gözden geçirilmektedir.

Pnömokok kökenleri arasında antimikrobiyal direnç gelişimi pnömokokların sebep olduğu enfeksiyonlardaki artışa neden olmuştur. Bu bakterilere karşı korunmada aşılama gibi alternatif stratejilerin geliştirilmesine yol açmıştır. Pnömokokal aşı endikasyonları aşağıdaki şekilde belirtilmektedir (Cengiz, A.T., 1999).

A- Yetişkinler:

1. 65 yaş üzerindeki bireyler ya da kronik pulmoner, kardiyovasküler hastalığı, diyabeti, siroz hastalığı olanlar, alkol bağımlıları
2. İmmün sistemi baskılanmış olanlar: Asplenikler, Hodgkin ve non-Hodgkin lenfomalılar, nefrotik sendromlu olanlar
3. HIV enfeksiyonu olanlar

B- Çocuklar:

1. İki yaş üzerinde bulunan kronik hastalığı ya da asplenik ve orak hücreli anemisi olan çocuklar
2. HIV enfeksiyonu olan 2 yaş üzerindeki çocuklar

Günümüzde pnömokok enfeksiyonlarına karşı kullanılacak iki tip pnömokok aşısı bulunmaktadır. Bunlar polisakkarid pnömokok aşısı (PPV23) ve konjuge pnömokok aşısıdır (PCV7) (Pickering LK ve ark., 2006 ; World Health Organization, 2007).

Konjuge pnömokok aşısı: PCV7'de 7 serotipin pürifiye kapsül polisakkaridi difteri proteini CRM197 proteini ile birleştirilmiştir. PCV7, ilk kez 2000 yılında ABD'de ruhsat almış ve rutin aşı şemasına dâhil edilmiştir. PCV7'nin içerdiği serotipler ABD'de sık görülen ve antibiyotik direncinin en fazla olduğu 7 serotipi (4, 6B, 9V, 14, 19F, 23F, 18C) içermektedir (Pickering LK ve ark., 2006 ; World Health Organization, 2007).

Yapılan araştırmalar PCV7'nin menenjit, bakteriyemi ve bakteriyemik pnömoni gibi invaziv pnömokok enfeksiyonlarına karşı etkili olduğunu göstermiştir. Bunun yanında aşı pnömoni, otitis media ve sinüzit gibi mukozal enfeksiyonlara da etkili olmaktadır. Aşılama ile aşı serotiplerinin taşıyıcılığının, penisilin direncinin ve antibiyotik kullanımının azaldığı tespit edilmiştir. Çocukların aşılama ile yaşlılarda görülen pnömokok hastalıklarının da azaldığı gösterilmiş, aşının toplumsal immünite oluşturduğu kanıtlanmıştır. Aşı serotipleri ile oluşan enfeksiyon ve taşıyıcılıkta azalma olmasına karşın, aşı içeriğinde yer almayan pnömokok serotiplerinin (19A, 15, 22F, 33F ve 35 gibi) taşıyıcılığında ve invaziv hastalıklarında artış görülmektedir. PCV7, 18 ülkenin ulusal aşı takvimlerine girmiş, ülkemizin de içinde olduğu 70'den fazla ülkede ruhsat almıştır (Yalçın I ve ark., 2006).

Birçok ülkede ve ABD'de PCV7, 2, 4, 6 ve 12-15. aylarda olmak üzere 4 doz olarak yapılmaktadır. Aşı çocuk 6 haftalık olduğundan itibaren yapılabilir. Çok düşük doğum ağırlığı olan bebekler (<1500 g) gestasyon yaşına bakılmaksızın 6-8 haftalık olduklarında aşılanabilirler. PCV7 23 ay ve altındaki bütün çocuklara önerilmektedir. Yukarıda belirtilen aşı şemasına zamanında uyulamayan çocuklar da uygun biçimde aşılanabilirler. Daha önce aşılanmamış 7-11 aylık çocuklara en az iki ay arayla iki doz ve 12. ayda üçüncü doz yapılabilir. Daha önce aşılanmamış 12-23 aylık çocuklara en az iki ay arayla iki doz yapılabilir. invaziv pnömokok enfeksiyonu açısından risk altında olan 24-59 aylık bütün çocuklara da PCV7 yapılması önerilmektedir. Bu çocuklara 24 aylıkken ve ilk dozdan 3-5 yıl sonra PPV23 aşısı yapılmalıdır. İnvaziv pnömokok enfeksiyonu açısından risk altında olan 5 yaş ve üstünde olan çocuklara da PVC7 bir doz yapılabilir. Bu çocuklara 8 hafta sonra bir doz da PPV23 yapılmalıdır (Levine OS ve ark., 2006).

Polisakkarid pnömokok aşısı: Polisakkarid pnömokok aşısı ilk olarak 1977'de 14 serotipi içeren bir aşı olarak geliştirilmiş, daha sonra 1983'de 23 serotipi içeren aşı (PPV23) üretilmiştir. PPV23 toplam 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) içermektedir. Bu serotipler endüstrileşmiş ve gelişmekte olan ülkelerde görülen invaziv pnömokok enfeksiyonlarının % 90 kadarını kapsamaktadır. Aşının pnömokok bakteriyemisi için koruyuculuğu % 50-70 olup, bakteriyemi olmayan durumlara karşı pek koruyucu değildir. Ancak PPV23, kısa süreli immünite oluşturması, antijenle tekrar karşılaşıldığında anemnestik yanıt oluşmaması ve 2 yaşından küçüklerde yeterli antikor yanıtı oluşturmaması nedeniyle rutin aşılamada kullanılamamaktadır. Sadece 2 yaş üstü risk grubu çocuklara uygulanabilmektedir (Levine OS ve ark., 2006).

Aşılamadan önce veya aşı şemasının herhangi bir döneminde invaziv pnömokok enfeksiyonu geçiren çocuklara pnömokok aşısı yapılmasında sakınca yoktur (Pickering LK ve ark,2006 ; World Health Organization,2007).

Günümüzde ABD’de ve birkaç ülkede başarıyla uygulanan pnömokok konjuge aşuları sayesinde tüm yaş grupları için pnömokokal hastalık yükünün azaldığını ve antibiyotik direnç oranlarının azalması üzerinde etkili olduğunu gösteren sonuçlar bulunmaktadır (Whitney, C.G ve ark., 2003 ; McGee, L., 2007).

Altta yatan hastalığı olan 2-64 yaş arası bireyler ve 65 yaş üstü kişiler için 1983 yılından bu yana uygulanan 23 valanlı polisakkarit aşının (PPV) kullanılması önerilmektedir. Yetişkinlerde ve yaşlılarda invaziv pnömokokal hastalıkları azaltmada PPV’nin etkili olduğu gösterilmiş olsa bile immun sistemi ciddi baskılanmış kişilerde daha az etkili olduğu belirtilmiştir (McGee, L., 2007). Ayrıca 2 yaşın altındaki çocuklarda etkisiz olduğu gösterilen PPV’nin çocuklarda ve yetişkinlerdeki pnömokok taşıyıcılığı üzerine önemli bir etkisinin olmadığı da yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (McGee, L., 2007).

Zayıf immünojenik olması ve tüm hasta gruplarında etkili olmamasından dolayı PPV’nin polisakkarit-protein konjuge aşı geliştirme çalışmaları başlamıştır. ABD’de 2000 yılında, Avrupa birliğinde 2001 yılında lisans alan ve 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F gibi en sık izole edilen serotipleri içeren 7 valanlı konjuge aşı (PCV7) ABD’de ve diğer pek çok ülkede çocuklarda en yaygın uygulanan aşı olarak bilinmektedir. Yedi serotipi içeren aşı, ABD’de görülen serotiplerin %80’den fazlasını, Kanada, Afrika ve Avrupa’da ise %70-88 ‘ini kapsamaktadır. Ancak, Asya ve Latin Amerika ülkelerinde görülen invaziv pnömokok hastalıklarının %65’den azını kapsamaktadır. PCV7 aşısında bulunan 7 serotipin 5’i (6B, 9V, 14, 19F ve 23F) yüksek düzeyde antibiyotik dirençli serotiplerden olup 2’sinde (18C ve 4) direnç gelişimi nadir görülmektedir. Serotipler ve direnç arasındaki bu ilişkiden dolayı PCV7 aşısı dirençli suşların sebep olduğu hastalık insidansım ve toplumdaki dirençli pnömokokların sirkülasyonunu azaltmada önem taşımaktadır (Kyaw, M.H., ve ark., 2006). Küçük çocukların PCV7 ile aşılınmalarından sonra yetişkinlerin ve daha büyük yaştaki çocukların pnömokoklarla karşılaşma oranı düştüğünden pnömokokal hastalıklar ve dirençli pnömokokların yol açtığı enfeksiyon riskinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (Stephens, D.S ve ark., 2005).

Her ne kadar konjuge aşıların etkili olduğu gösterilse de son yıllarda aşıda bulunmayan serotiplerin insidansında da artışlar gözlenmektedir. PCV7 aşılarla immunizasyon yoluyla aşıda bulunan serotiplerin nazofaringeal taşıyıcılığının azalmasına karşın aşıda bulunmayan serotiplerin ortaya çıkışı ve kolonizasyonu sonucunda pek çok olguda toplam pnömokokal kolonizasyon oranı değişmeden kalmaktadır (McGee, L., 2007).

Aşıda bulunmayan serotiplerden 1, 3, 5 ve 7F gibi farklı serotipleri içeren yeni konjuge aşı formülasyonları geliştirilmektedir. Yedi valanlı aşıda bulunan serotiplere ek olarak 1 ve 5 nolu serotiplerin eklenmesiyle 9 valanlı ve 11 valanlı aşılar geliştirilmiş bulunmaktadır (McGee, L., 2007).

Tablo 1.2. Pnömonokok aşıları ve içerdiği serotipler

Pnömonokok Aşıları	İçerdiği Serotipler
PPV23 (pnömokok polisakkarit aşısı) (Pneumo-23, Pneuvax II)	1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F
PCV7 (7-valanlı konjuge pnömokok aşısı) (Prennar, Wyeth)	4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F
10-valanlı konjuge pnömokok aşısı (Synflorix, GSK)	1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F, 23F
13-valanlı konjuge pnömokok aşısı (Wyeth)	1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 23F

Sağlık Bakanlığı, 2008'in Kasım ayından itibaren uygulanmaya başlanan yedi bileşenli konjuge pnömokok aşısını 2009 yılında aşı takvimine almıştır. Türkiye'de PPV23 ile PCV7 kullanılmaktadır. Bazı aşıların, bazı durumlarda çeşitli yan etkilerine rastlanmaktadır. Bunun dışında, PPV23 aşısının hamile kadınlardaki güvenilirliği araştırılmamıştır. Ayrıca, PPV uygulandığında alerjik tepki gösteren hastalarda PPV uygulamasına son verilir (Dinleyici EC ve ark., 2009).

İçerdiği serotiplerine bağlı olarak PCV7, nazofarengal pnömokok taşıyıcılığını önemli ölçüde azaltıp immüniteyi arttırırken aşı dışında kalan serotiplere bağlı kolonizasyonda artışa neden olmaktadır (Dinleyici EC ve ark., 2009).

Tablo 1.3. Sağlıklı çocuklarda konjuge pnömokok aşısı şeması (Arvas M, 2007)

Yaş (ay)	Primer doz	Rapeldoz
2-6	3 doz	12-15. ay: 1 doz
7-11	2 doz	12-15. ay: 1 doz
12-23	2 doz	
24-59	1 doz	

Tablo 1.4. Yüksek riskli çocuklarda aşılama (Arvas M, 2007)

Yaş önceki aşılama		Öneri
<23 ay	yok	tamdozPCV7
24-59 ay	4dozPCV7	2 yaşında PS23, (son doz PCV7'den 6-8 hafta sonra), 3-5yılsonra2.dozPs23
24-59 ay	1-3dozPCV7	1dozPCV7,2dozPS23(3-5 yıl ara ile)
24-59 ay	1dozPS23	2 doz PCV7 (6-8 hafta arayla) 2. dozPS23 (3-5 yıl sonra)
24-59 ay	yok	2dozPCV7,2dozPS23

Doz ve veriliş yolu

PCV7, intramuskuler olarak 0,5 ml uygulanır. Altı hafta üzerindeki bebeklere yapılabilir. Ayrı enjektör ile ve ayrı ekstremiteye uygulanmak koşulu ile diğer rutin çocukluk aşıları ile birlikte uygulanabilmektedir (Black S ve ark., 2000).

Yan etkileri

Aşının yan etki oranı oldukça düşüktür. Aşı yerinde duyarlılık, eritem ve endürasyon gibi lokal reaksiyonlar görülebilmektedir. Tekrarlayan PCV7 dozlarından sonra eritem dışında lokal reaksiyon artışı olmaz. Huzursuzluk en sık rastlanan sistemik reaksiyondur. Aşılananların %15-24' ünde 38°C ve üzerinde ateş

görülebilmektedir. Özellikle 2. aşı dozundan sonra ateş daha sık görülmektedir. Kaiser Permanente çalışmasında, rutin aşı yanında PCV7 uygulanan çocuklarda 38°C ve üzerinde ateş sıklığı kontrol aşısı (meningokok aşısı) yapılanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ancak, anlamlı farklılık aşının 4. dozundan sonra görülmez. PCV7 asısından sonraki 3 gün içinde febril konvülsiyon sıklığı yaklaşık 1/7000 dozdur (Black S ve ark., 2000).

Yaş ile PCV7 aşısı reaksiyonlarının arttığına dair veri yoktur. Aşının 7 ay-9 yaş grubu çocuklarda uygulanması sonrası 38°C ve üzerinde ateş sıklığı %6,8-36,7 olarak bildirilmektedir (Black S ve ark., 2000).

Tablo 1.5. Pnömonokok polisakkarit aşısı (PS23)'nın yapılması gereken yaş grupları (Arvas M, 2007)

>65 yaş bireyler
>2 yaş:
Kronik hastalıklar
Anatomik/fonksiyonel aspleni
İmmun yetmezlik
Yüksek riskli yerler (kreş,vb)

Aşının saklanması: Her iki aşı da 2-8°C'de saklanmalı, dondurulmamalıdır. Uygulamadan önce her iki tip aşı da iyice çalkalanmalıdır.

2. MATERİYAL VE METOD

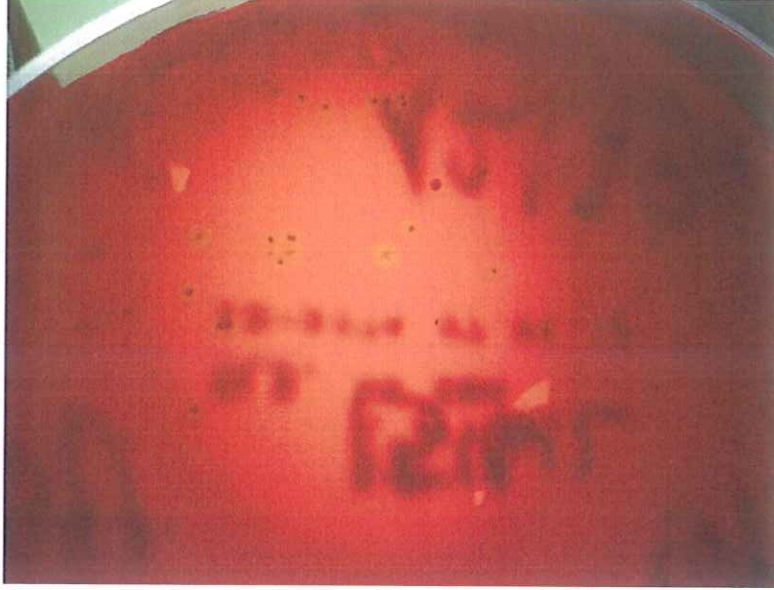
2.1 Örneklerin Toplanması

Nisan 2010 ile Kasım 2012 tarihleri arasında, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji laboratuvarında klinik örneklerden izole edilen 34 *S. pneumoniae* suşu çalışmaya alınmıştır. Çalışma, Afyon Kocatepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından verilen 12.10.2012 tarihli B.30.2.AKÜ.0.20. 05.04/ 49 sayılı onay ile yapılmıştır. Suşların tanımlanmasında, optokin (5 µg) duyarlılığı, safrada erime testi ve koloni morfolojilerinden faydalanılmıştır.

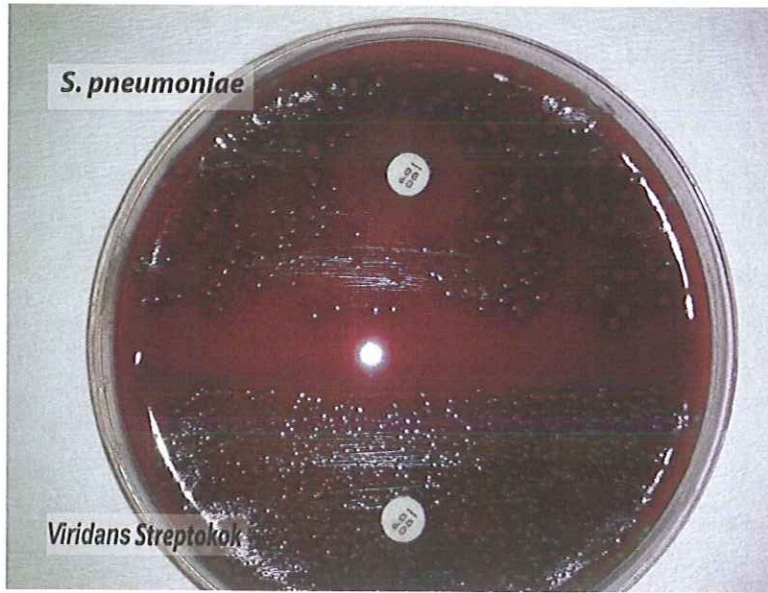
2.2 Optokin Duyarlılık Testi

Optokin duyarlılık testi için şüpheli alfa hemolitik kolonilerden öze ile alınarak kanlı agara pasajlanıp optokin diski yerleştirilmiştir. Plaklar, mikroaerofilik koşullarda, 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Takiben optokin diskinin çevresinde bir inhibisyon zonu oluşup oluşmadığı değerlendirilmiştir; 14 mm'den büyük inhibisyon zonu oluşturan alfa hemolitik koloniler, pnömokok; herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmayan alfa hemolitik streptokoklar ise viridans streptokok olarak tanımlanmıştır. Tanımlama sırasında Pneumolates agglutinasyon kitinden de (bioMérieux, Lyon, France) faydalanılmıştır.

Resim 2.1. α - hemoliz gösteren *S. pneumoniae* kolonileri



Resim 2.2, *S. pneumoniae*' nin optokin diski ile identifikasyonu



2.3 Safrada Erime Testi

Safrada erime testi, pnömokokları diğer streptokoklardan ayırmak için yapılan bir testtir. Pnömokoklar enterik ekolojiye (safraya) fazla duyarlıdırlar. Ortamda safra mevcudiyetinde pnömokok otolizineri (*alanin-muramyl-amidase*) aktive olur ve bakteri hücresi parçalanır (Cengiz A.T, 1999).

Bakteri kültürü üzerine safra eklenir, buyyonun optik geçirgenliğine bakılarak lizis aranır. Otolizise direnen pnömokokların yanlış negatif sonuçlarını engellemek için ve bakterinin otolizininin aktive etmek için buyyona *sodium deoxylate* eklenebilir (Cengiz A.T, 1999).

Pnömokok olduğundan şüphelenilen streptokok örneği iki ayrı buyyonda bolca üretilip pH sı 7,4-7,6 ya ayarlanıp, %10 luk *sodium deoxylate* solüsyonu eklenir. Bir tanesinin üzerine %9-11 lik öküz safrası (veya onun yerine ona eşdeğer olarak safra asiti olan *sodium taurocholate*) eklenir. Ardından 15 dakika etüvde bırakılır. Her iki tüp, optik okuyucuda veya göz ile bakılarak mukayese edilip, kontrol tüpüne kıyasla kültür sıvısının renginin açılıp açılmadığı kontrol edilir.

Safra ilave edilen buyyonda, kontrol tüpüne kıyasla renk açılması pozitif test sonucudur. Negatif kontrol olarak enterokok kullanılabilir.

Safrada erime testi için steril bir cam tüp içine 500 µl %0,85 steril NaCl konulup ardından taze kanlı agar pasajından alınan bakteri kolonileri ile 1 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Bakteri süspansiyonunun 250 µl'si başka bir steril cam tüpe aktarılıp, tüplerden birine 250 µl %0,85 NaCl, diğerine %2'lik deoksikolat (safra tuzları) ilave edilmiştir. Her iki tüp de hafifçe sallanıp 37°C'de 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüpler hücre lizisi yönünden değerlendirilip, bakteri süspansiyonunda şeffaflaşma veya bulanıklığın kaybolması pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir.

Laboratuvar çalışmaları sırasında standart kalite kontrol suşları olarak *S. pneumoniae* ATCC 49619 kullanılmıştır.

Suşlar izole edildikten sonra Cryobank (AES Chemunex, Fransa) saklama ortamında -80°C' de depolanmıştır.

2.4 Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Suşların penisilin ve diğer antibiyotiklere (vankomisin, tetrasiklin, levofloksasin, klindamisin, sulfametaksazol/trimetoprim, eritromisin, ofloksasin) duyarlılıkları için Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre disk difüzyon testi yapılmıştır. Penisilin duyarlılığını test etmek için oksasilin diski (1 µg), minimal inhibitör konsantrasyonlarını (MİK) belirlemek için E test metodu kullanılmıştır.

Disk difüzyon yönteminde belirli bir miktar antibiyotik emdirilmiş kâğıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakları yüzeyine yerleştirilmiştir. Böylelikle, diskteki antibiyotik agar içerisine yayılmış ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engellemiştir. Bunun sonucunda, disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı oluşmuştur. Bu alanın çapı ölçülerek “duyarlı”, “orta duyarlı” ve “dirençli” olacak şekilde duyarlılık kategorileri belirlenmiştir. Bu kategoriler ile ilgili sınır değerleri, her antimikrobik ajan için MİK ile korele edilerek ve erişilebilir serum düzeyleri göz önüne alınarak saptanır (Gülay Z, 1999).

Antibiyotiklerin etki gösterebilmeleri için enfeksiyon bölgesinde / kanda / serumda bakterilerin üremesini engellemek için gereken en düşük konsantrasyona MİK denir. MIC90 ise ortamdaki bakterilerin %90'ının üremesini durduran konsantrasyondur (Baker C N ve ark., 1991).

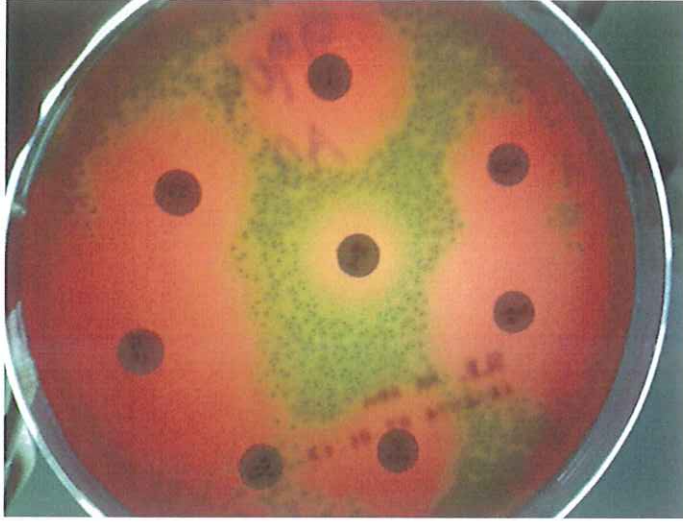
E test, antibiyotiklerin MİK değerlerinin ağarda belirlenebildiği kalitatif bir testtir. Antibiyotiğin farklı konsantrasyonları plastik bir şeride emdirilmiştir. Test edilecek mikroorganizmanın sürülmüş olduğu agar yüzeyine bu şerit yerleştirilip inkübasyondan sonrası antibiyotik tarafından oluşturulan damla şeklindeki inhibisyon zonunun şeritte kesiştiği noktadaki konsantrasyona göre antibiyotiklerin MİK değerleri tespit edilmiştir. Bu test dilüsyon testlerine göre çok daha kolay ve kısa sürede yapılabilen bir testtir (Baker C N ve ark., 1991).

Zon çaplarının ve MİK değerlerinin yorumlanmasında CLSI kılavuzlarına uyulmuştur (Clinical and Laboratory Standards Institute,2010) (Tablo 2.1).

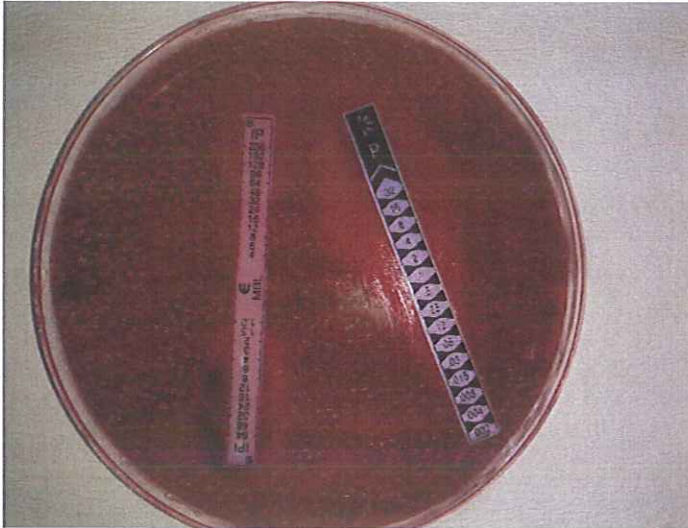
Tablo 2.1. CLSI 2010 Önerilerine Göre *S. pneumoniae* İçin Rapor Edilen Bazı Antibiyotiklerin Zon çapları ve MIC Değerleri

Antibiyotikler	Zon çapları (mm)			MİK Değerleri (µg/mL)		
	S	I	R	S	I	R
Vankomisin	≥17	-	-	≤1	-	-
Tetrasiklin	≥23	19-22	≤18	≤2	4	≥8
Levofloksasin	≥17	14-16	≤13	≤2	4	≥8
Klindamisin	≥19	16-18	≤15	≤0,25	0,5	≥1
Sulfametoksazol / Trimetoprim	≥19	16-18	≤15	≤0,5/9,5	1/19- 2/38	≥4/76
Oksasilin	≥20	-	-	-	-	-
Eritromisin	≥21	16-20	≤15	≤0,25	0,5	≥1
Meropenem	-	-	-	≤0,25	0,5	≥1
Penisilin (invaziv)	-	-	-	≤0,06	-	≥0,12
Penisilin (non-invaziv)	-	-	-	≤2	4	≥8
Ofloksasin	≥16	13-15	≤12	≤2	4	≥8
Seftriakson (invaziv)	-	-	-	≤0,5	1	≥2
Seftriakson (non-invaziv)	-	-	-	≤1	2	≥4
Sefotaksim (invaziv)	-	-	-	≤0,5	1	≥2
Sefotaksim (non-invaziv)	-	-	-	≤1	2	≥4

Resim 2.3. *S. pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç oranlarının disk difüzyon yöntemi ile tespiti



Resim 2.4. *S. pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç oranlarının E test yöntemi ile tespiti



2.5 Serotiplendirme

İzole edilen pnömokok suşları serotiplendirilmesi Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı kapsamındaki Ulusal Solunum Yolu Patogenleri Referans Laboratuvarı'nda proje kapsamında yapılmıştır. Burada öncelikle suş doğrulaması yapılmıştır. *S. pneumoniae* suşlarının serotiplendirilmesi için "Chess-board metodu" (Serensen UB,1993) ve oniki havuzlu serotipleme kiti (Stantens Serum Institut, Denmark) kullanılmıştır (Tablo 2.2).

Kullanılan kit şu serotipleri içermektedir: 1, 2, 3, 4, 5, 6 (6A, 6B), 7 (7F, 7A, 7B, 7C), 8, 9 (9A, 9L, 9N, 9V), 10 (10F, 10A, 10B, 10C), 11 (11F, 11A, 11B, 11C), 12 (12F, 12A, 12B), 14, 15 (15A, 15B, 15C, 15F), 17 (17F, 17A), 18 (18A, 18B, 18C, 18F), 19 (19A, 19F, 19B, 19C), 20, 22 (22F, 22A), 23 (23F, 23A, 23B), 33 (33A, 33B, 33C, 33D, 33F). Pnomokok suşlarının kapsüler polisakkarid antijenlerinin tiplendirilmesinde altın standart olan Quellung reaksiyonu, Danimarka Statens Serum Institut'den temin edilen spesifik antiserumlar ile üretici firmanın tarif ettiği şekilde yapılmıştır. Bunun için serotiplendirilecek suş %5 koyun kanlı agara pasajlanmıştır. Ardından mikroaerofilik ortamda, 37°C'de 18 saat inkübe edilip 0,5 ml %0,85'lik NaCl içeren steril cam tüpte; 1 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Temiz bir mikroskop lamına 3 µl pnomokokal havuz antiserumu, 3 µl bakteri süspansiyonu ve 3 µl %0,3'lük metilen mavisi ilave edilip karıştırılmıştır. Lamın üzerine temiz bir lamel kapatılıp immersion yağı damlatılmıştır. Oda ısısında 5 dakikalık inkübasyonu takiben ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ile incelenmiştir. Koyu zeminli bakteriyi çevreleyen şeffaf bir bölge (kapsül şişme reaksiyonu) görülen suşlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. Serotiplendirme işlemine sırayla pnomokokal grup, tip ve faktör antiserumları kullanılarak devam edilmiştir.

Resim 2.5. Kapsül şişme (Quellung) testi (http://meddic.jp/quellung_reaction)

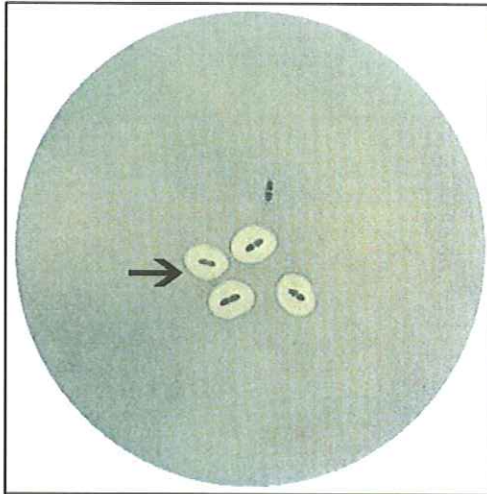


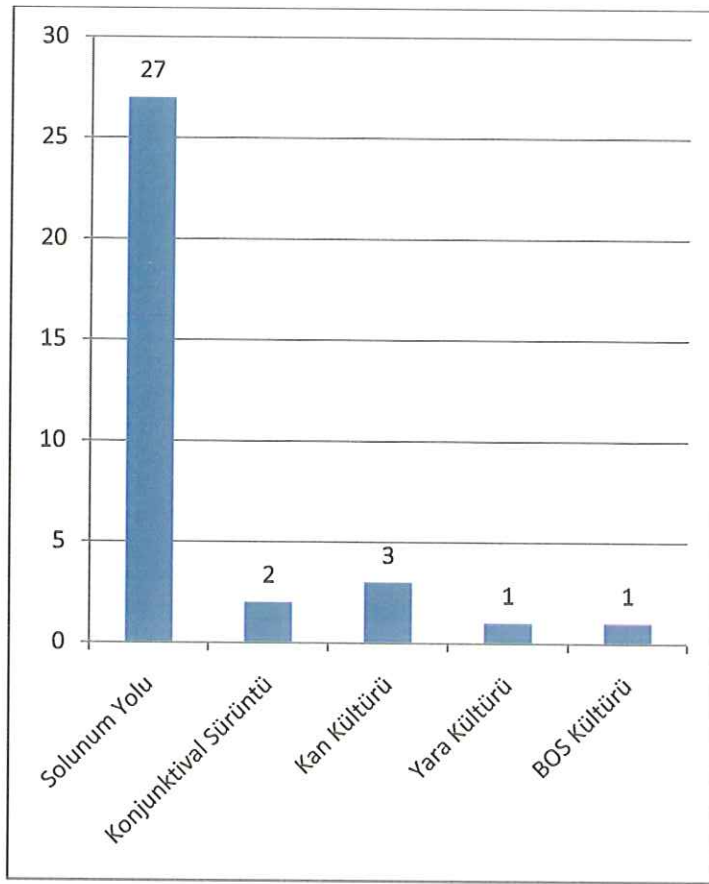
Table 2.2. Chess-board metodu

Pool	P	Q	R	S	T	Non-vaccine groups/types
A	1 (18F, 18A, 18B, 18C)	4	5	2		
B	19 (19F, 19A, 19B, 19C)	3	8			
C	7 (7F, 7A, 7B, 7C)				20	24 (24F, 24A, 24B) 31, 40
D			9 (9A, 9L, 9N, 9V)		11 (11F, 11A, 11B, 11C)	16 (16F, 16A) 36, 37
E			12 (12F, 12A, 12B)	10 (10F, 10A, 10B, 10C)	33 (33F, 33A, 33B, 33C, 33D)	21, 39
F				17 (17F, 17A)	22 (22F, 22A)	27 32 (32F, 32A) 41 (41F, 41A)
H	14	23 (23F, 23A, 23B)		15 (15F, 15A, 15B, 15C)		13 28 (28F, 28A)

3. BULGULAR

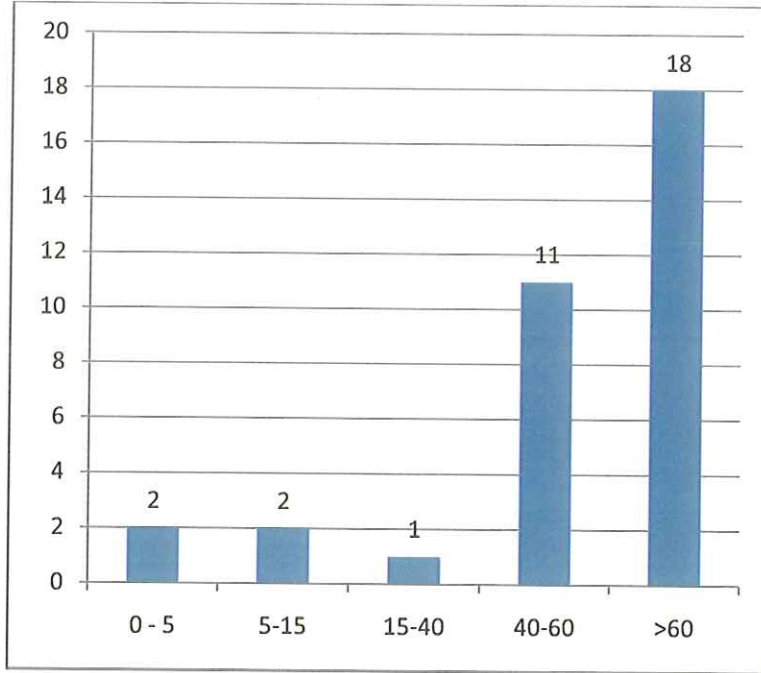
Çalışmaya alınan 34 *S. pneumoniae* suşunun 27'si (% 79,4) solunum yolu (balgam, endotrakeal aspirat, bronkoalveoler lavaj), 2'si (% 5,8) konjunktival sürüntü, 3'ü (% 8,8) kan, biri (% 2,9) yara ve biri (% 2,9) BOS örneklerinden izole edilmiştir (Grafik 3.1).

Grafik 3.1. Örnek tiplerinin dağılımı



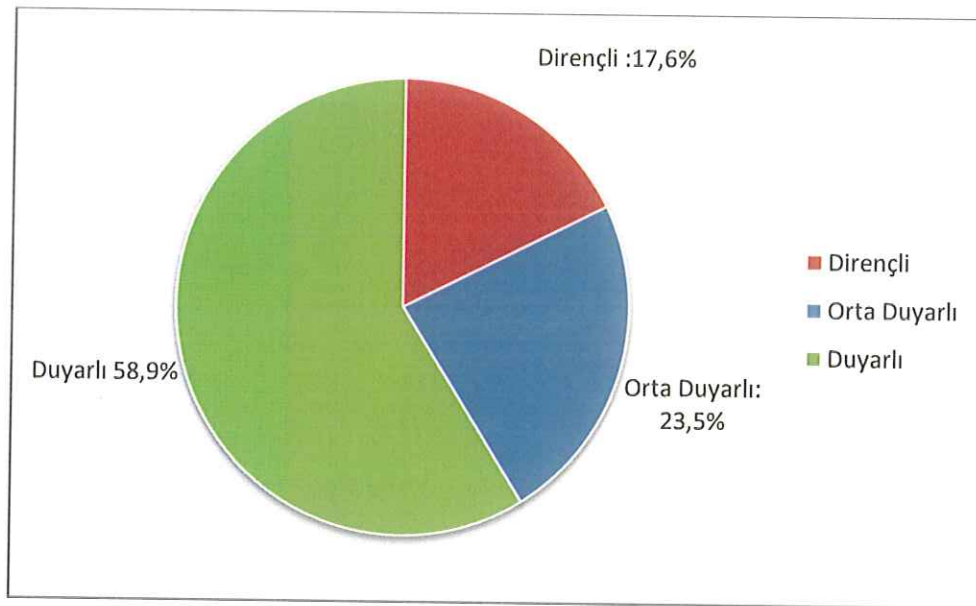
Örneklerin alındığı hastaların yaş dağılımı; 0-5 yaş arası 2, 5-15 yaş arası 2, 15-40 yaş arası 1, 40-60 yaş arası 11, 60 yaş üzeri 18 hasta şeklindedir (Grafik 3.2).

Grafik 3.2. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımı



Penisilin direncini belirlemede, CLSI (2010) M100-S20 kılavuzunda belirtilen non-invaziv MİK sınır değerleri (MİK \geq 8 mg/L dirençli, MİK 4 mg/L orta duyarlı, MİK \leq 2 mg/L duyarlı) kullanılmıştır. Buna göre invaziv olmayan 30 suşun 3'ü (% 10) penisiline dirençli, 8'i (% 26,6) penisiline orta duyarlı, 19'u (%63,3) duyarlı bulunmuştur. CLSI kılavuzunun invaziv MİK sınır değerlerine (MİK \geq 0,12 mg/L dirençli, MİK \leq 0,12 mg/L duyarlı) göre ise invaziv 4 suştan 3'ü dirençli, biri duyarlı olarak tespit edilmiştir. Toplam 34 suştan 6'sı (%17,6) penisiline dirençli, 8'i (%23,5) orta duyarlı, 20'si (%58,9) duyarlı bulunmuştur (Grafik 3.3).

Grafik 3.3. CLSI 2010 Önerilerine Göre *S. pneumoniae* suşlarının penisiline direnç durumları*



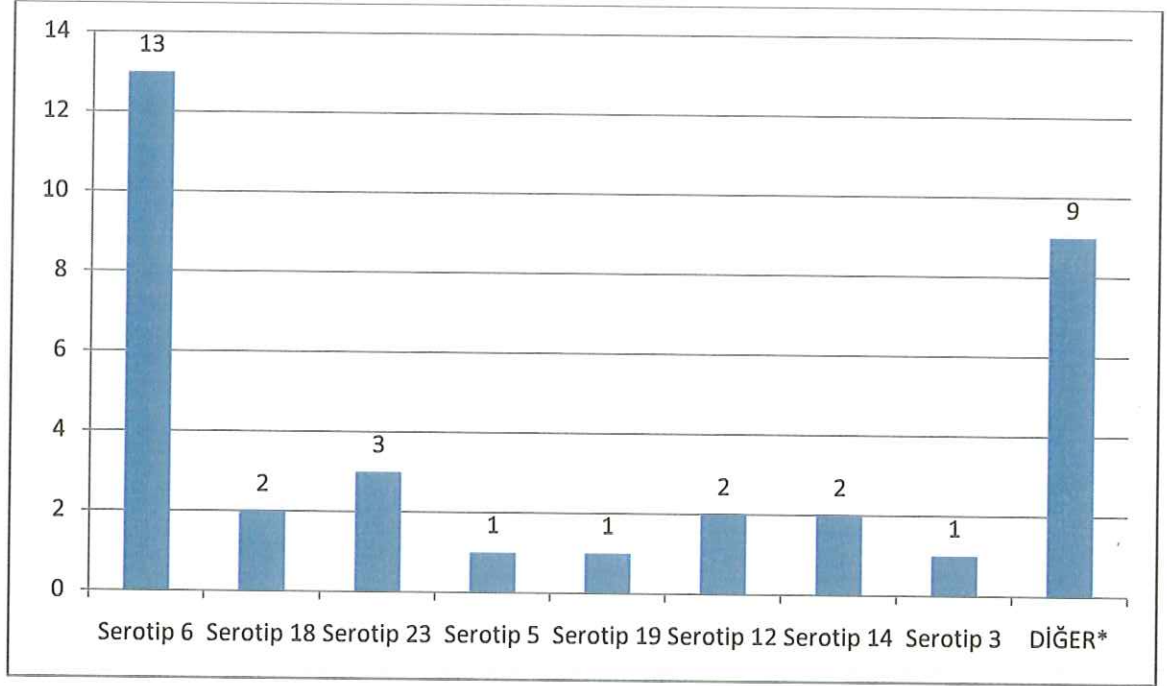
*: CLSI (2010) M100-S20 kılavuzunda belirtilen "oral penisilin" MİK ≥ 2 mg/L dirençli, MİK 0.12-1 mg/L orta duyarlı, MİK ≤ 0.06 mg/L duyarlı ; "menenjit dışı izolatlar için parenteral penisilin" MİK ≥ 8 mg/L dirençli, MİK = 4 mg/L orta duyarlı, MİK ≤ 2 mg/L duyarlı.

Çalışmaya alınan suşlardan en çok serotip 6 (n=13) tespit edilmiş olup bunu serotip 23 (n=3) izlemiştir. Diğer serotiplere göre dağılım ise serotip 18, serotip 12, serotip 14'ten 2'şer suş; serotip 5, serotip 19 ve serotip 3'ten ise birer suş şeklinde olmuştur. 9 suş pool düzeyinde serotiplendirilmiştir.

Penisiline dirençli toplam 6 pnömokok suşunun biri serotip 18 (%16,6), 4'ü serotip 6 (%66,8), biri de serotip 23 (%16,6) olarak belirlenmiştir. Pediatrik yaş grubundan gönderilen örneklerden izole edilen *S. pneumoniae* suşlarından (4 suş) penisiline dirençli örnek bulunamamıştır. Erişkin hasta örneklerinden izole edilen *S. pneumoniae* suşlarında (30 suş) penisiline direnç oranı % 20 (6 suş) bulunmuştur. Bu suşların 27'si solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir. *S. pneumoniae* suşlarında tetrasikline % 5,8 , levofloksasine % 17,6 , klindamisine % 38,2 , trimetoprim-sülfametoksazola %70,5 , oksasiline %38,2 , eritromisine %41,1 , ofloksasine %14,7 , seftriaksona %11,7 , sefotaksime %17,6 oranında direnç saptanmıştır. Vankomisine dirençli suş bulunmamıştır. *S. pneumoniae* suşlarının penisilin ve diğer

antibiyotiklere direnç dağılımı grafik 3.6'da verilmiştir.

Grafik 3.4. *S.pneumoniae* suşlarının serotip dağılımı



*: Pool düzeyinde serotiplendirilmiş suşlar

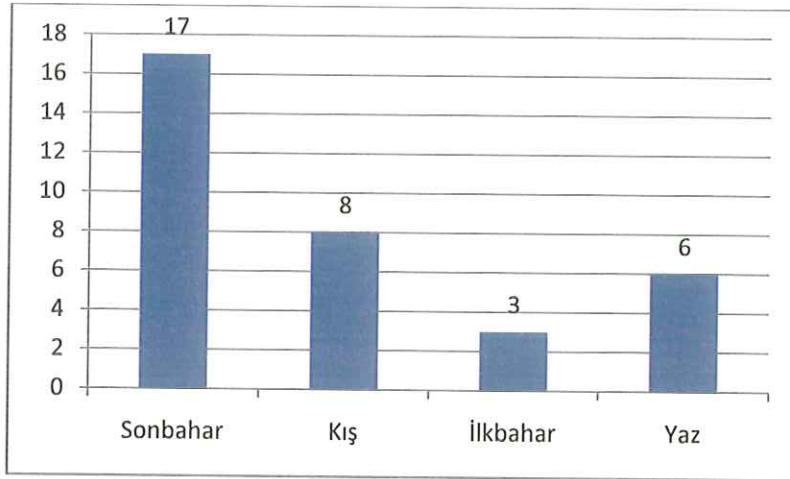
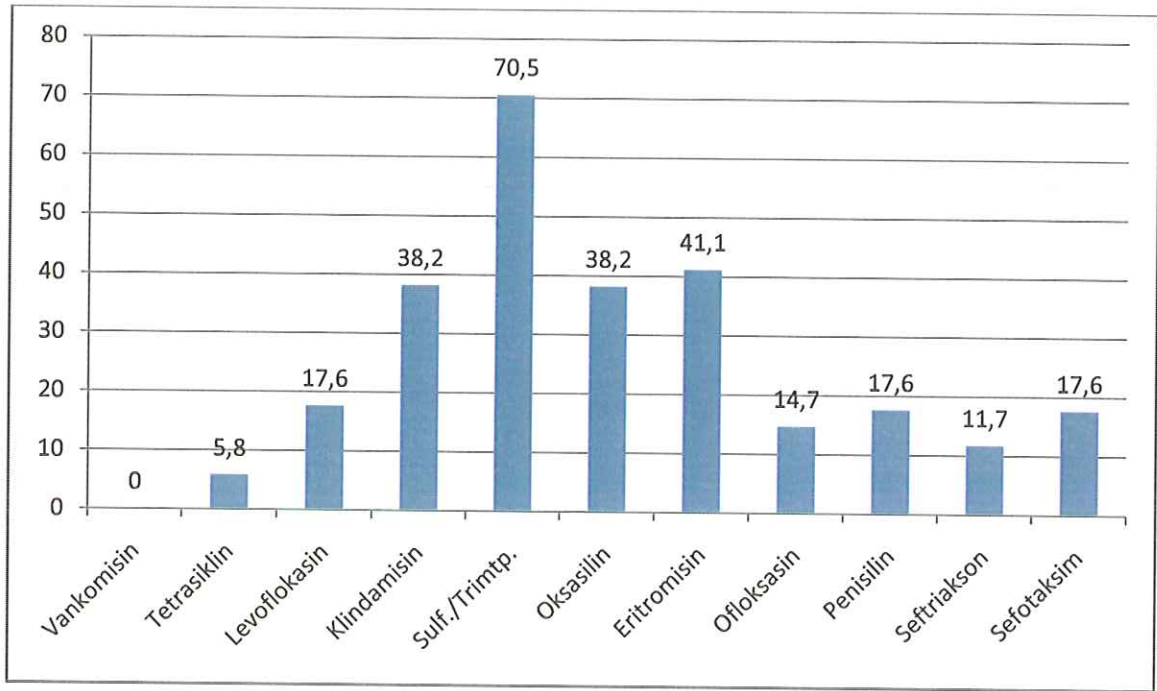
Üç ya da daha fazla antibiyotik grubuna karşı direnç olması “çoklu ilaç direnci” (ÇİD) olarak tanımlanmaktadır. Çalışmamızda 4 farklı direnç fenotipi tespit edilmiştir. Suşların 16’sının (% 47) ve penisiline orta ve yüksek düzeyde dirençli suşların tamamının ÇİD olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.1). Suşlar en çok sonbahar ve kış mevsimlerinde izole edilmiştir (Grafik 3.5).

Tablo 3.1. *S. pneumoniae* suşlarındaki çoklu ilaç direnci (ÇİD)

Suş Sayısı	Direnç Saptanan Antibiyotikler
2	Eritromisin, klindamisin, tetrasiklin
2	Penisilin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin
10	Penisilin, eritromisin, klindamisin
2	Penisilin, eritromisin, tetrasiklin

Çalışmamızda trimetoprim-sülfametoksazola %70,5 oranında direnç saptanırken kinolon grubundan levofloksasine % 17,6 oranında direnç bulunmuştur.

Grafik 3.5. Örneklerinin mevsimlere göre dağılımı

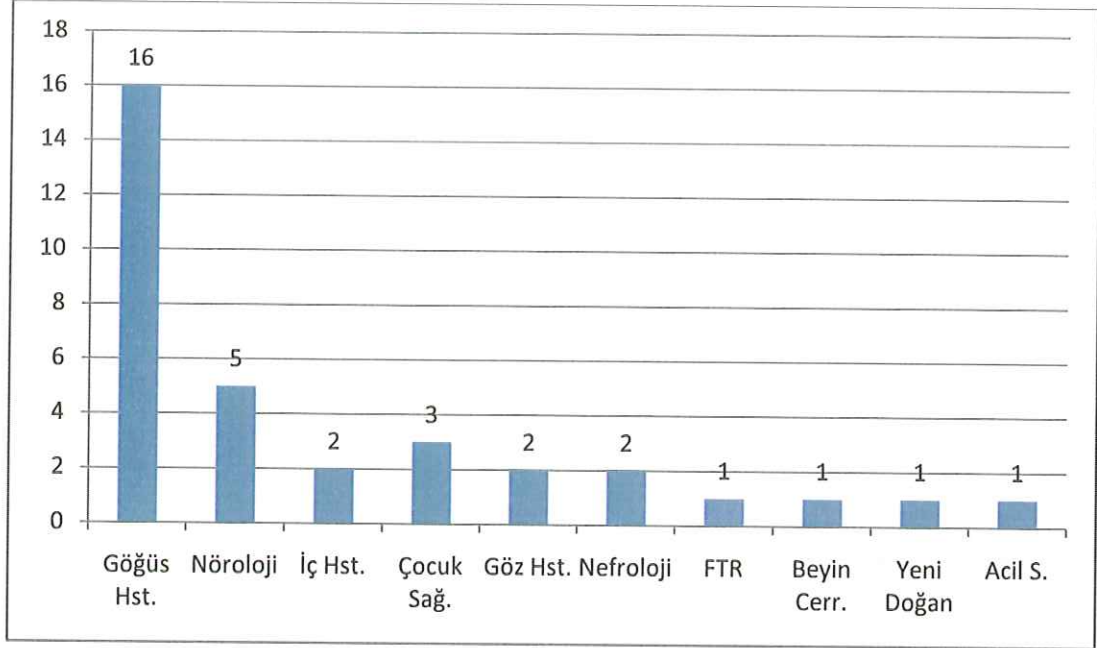
Grafik 3.6. *S. pneumoniae* izolatlarının antibiyotik direnç oranları (%)

Tablo 3.2. Penisiline direnç durumuna göre suşların eritromisin ve tetrasiklin direncinin karşılaştırılması

Penisilin duyarlılık sonucu (suş sayısı)	Eritromisin			Tetrasiklin		
	Duyarlı suş sayısı	Orta düzeyde duyarlı suş sayısı	Dirençli suş sayısı	Duyarlı suş sayısı	Orta düzeyde duyarlı suş sayısı	Dirençli suş sayısı
Duyarlı (20)	20	-	-	20	-	-
Düşük Düzeyde Dirençli (8)	6	-	2	8	-	-
Dirençli (6)	2	-	4	5	-	1

En çok *S. pneumoniae* suşu göğüs hastalıkları kliniğinden (n=16) izole edilirken bunu nöroloji kliniği (n=5) izlemiştir. Kliniklere göre suş dağılımı grafik 3.7'de görülmektedir.

Grafik 3.7. *S. pneumoniae* suşlarının klinik dağılımı



4. TARTIŞMA

S. pneumoniae kaynaklı hastalıklar dünyada bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Pnömonokoklar pnömoni, menenjit, sepsis gibi hayatı tehdit eden, ciddi mortalite ve morbiditeye yol açan invaziv enfeksiyonların ana sebebi olarak görülmektedir (O'Brien, K.L ve ark.,2003). Bugüne kadar 90'dan fazla pnömokok serotipi saptanmıştır. Bunların az bir kısmı insanlarda invaziv hastalıktan sorumlu tutulmaktadır. Serotip farklılığı, pnömokoklarda en önemli virulans faktörlerinden biri olan kapsüler polisakkarit farklılığından kaynaklanmaktadır (Brito, D.A ve ark.,2003). Dünyada yaygın olarak görülen serotipler tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1, Çeşitli ülkelerde izole edilen *S. pneumoniae* suşlarının serotipleri

Ülke	Serotip/serogrup
A.B.D.	6B, 14, 19F, 23F
A.B.D.	1, 5,6B, 6A, 14, 33F, 23F, 19 F
Hollanda	19F,6B,6A, 9V, 23F
Fransa	18C, 14, 6B, 19F, 19A, 9V, 23F, 1, 7F, 9A, 38
Fransa (PDSP)	6B, 14, 19A, 23F
Çekoslavya	3, 19F, 9V, 23F, 1, 14, 4
Danimarka	1, 4,6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F, 23F
Yunanistan	6B, 19F, 23F, 14, 18C
Finlandiya	6B, 23F, 19F,6A
Hindistan	6, 14, 19, 15
Vietnam	19, 23, 14,6, 18
Türkiye	23,19,14,11,19F,22,9 23B 6,14,1,3,18,7,4,5,6A, 6B,19A

Penisilin, *S. pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonlarda ilk tercih edilen antibiyotiktir. Fakat son yıllarda penisiline artan direnç oranları ve diğer antibiyotiklere direnç ile olan birlikteliği önemli bir sorun olmaktadır (Reinert RR ve ark.,2005). Tüm dünyada penisiline direnç oranı, hem ülkeler arasında hem de aynı ülke içerisinde farklı oranlarda bildirilmektedir (Borg MA ve ark.,2009).Ülkemizde

dirençli pnömokokların serotiplerine yönelik olarak yapılan çalışmaların sonuçları genellikle literatür ile uyumlu olup, 23 değerlikli aşı serotipleri ile paralellik göstermektedir. Ancak bu bulgunun yanısıra tiplendirilemeyen pnömokok suşlarına da rastlanmaktadır (Richter SS ve ark.,2002 ; Sener B ve ark.,2004 ; Zarakolu P ve ark.,2003).

Dünya genelinde penisilinlere karşı direnç geliştirmiş olan pnömokok izolatlarının serotip dağılımına bakıldığında çoğunluğunun 7, 9 ve 11 valanlı konjuge aşıda bulunan serogrup 2, 6, 9, 14 ve 19'a ait olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde ise serotip 6, 9, 15, 19 ve 23 en sık saptanan penisiline dirençli serotipler olarak bildirilmişlerdir (Ozalp, M ve ark.,2004). Ülkemizde izole edilen *S. pneumoniae* suşlarının serotipleri tablo 4.2'de görülmektedir.

Danimarka'da invaziv pnömokok enfeksiyonu geçiren 0-6 yaş çocuk hasta grubunda yapılan bir çalışmada serotip sıklığı 1, 4, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F, 23F olarak saptanmıştır (Kaltoft MS ve ark.,2000).

1996-1998 yılları arasında İspanya'da invaziv pnömokok enfeksiyonu geçiren 94 çocuk hastadan izole edilen suşların serotip dağılımlarının çoğu 19, 14 ve 6 olarak bulunmuştur (Diez-Domingo J ve ark.,2002).

1996-1998 yılları arasında Kanada'da 3650 invaziv pnömokok enfeksiyonu bildirilmiş; bunlardan 1354 izolat serotiplendirilmiştir. Serotiplerin çoğu 14, 6B, 4, 9V, 23F ve 19F olarak bulunmuştur (JettéLP, Delage G ve ark.,2001).

Ekim 1999-Kasım 2000 arasında Prymula ve ark.'nın invaziv pnömokok enfeksiyonu saptanan Çek çocuk hastalardan izole ettikleri suşların serotiplerini sıklıkla 6B, 9V, 14, 19F, 3, 23F olarak tespit etmişlerdir (Prymula R ve ark.,2004).

Portekizde 2003 yılında çocukların nazofarenkslerinden alınan 446 örnek ile yapılan bir çalışmada multiplex PCR yöntemiyle *S. pneumoniae* serotiplendirmesi yapılmıştır. 294 suşun tiplendirilmesi yapılmıştır. % 35,4 oranında serotip 6, %5,1 oranında serotip 18 tespit edilmiştir.

Mart 2012’de Moyo SJ ve ark. Tarafından yapılan çalışmaya göre Tanzanya’daki *S. pneumoniae* ‘nin nazofarengal taşıyıcılık durumu belirlenmeye çalışılmıştır. Bunun için Dar es Salaam kentindeki Muhimbili Ulusal Hastanesindeki çocuk sağlığı kliniğinde 5 yaş altı 300 sağlıklı çocuktan nazofarengal sürüntü örnekleri alınmıştır. Toplamda 105 örnekte (%35) *S. pneumoniae* yönünden pozitiflik bulunmuştur. Bu örneklerin 78’i (%67,8) penisiline duyarlı olmayan örneklerdir. 19 izolatta (%16,5) çoklu ilaç direnci tespit edilmiştir. En yaygın serotipler 19F (%21,7), 6B (%13), 9V (%12,2) ve 13 (%12,2) olarak bulunmuştur. (Moyo SJ ve ark.,2012).

Türkiye’de, pnömokok suşlarında penisilin direnci ilk kez 1992 yılında Tunçkanat ve ark. tarafından gösterilmiştir (Tunçkanat F ve ark.,1992).

Tablo 4.2. Ülkemizde izole edilen *S. pneumoniae* suşlarının serotiplere, örnek türüne ve yaşlara göre dağılımı

Araştırmacı	Bölge / Yıl	Örnek Türü	Yaş Grubu	Serotip
Kocagöz ve ark.	Ankara (1992-1995)	-	-	1,19,6,9,11
Kanra ve ark.	Ankara (1997)	-	-	19,6,16,9,23
Kanra ve ark.	Ankara (1998)	-	-	6A,14,19F,23F
Şener ve ark.	Ankara (1998)	İnvaziv	0-11	23,19,9,14,6
İlki ve ark.	İstanbul (2000-2001)	-	-	19F,6B,3,23F,14,18C,5,7F
Eşel ve ark.	Kayseri (2001)	İnvaziv	Çocuk+Yetişkin	19,23,14,1
Biçmen ve Gülay	İzmir (2001-2002)	-	-	23,14,9V
Eşel ve ark.	Kayseri (2002)	İnvaziv	Çocuk+Yetişkin	19, 1,6, 23, 3, 15, 4, 7
Yenişehirli ve ark.	Ankara (2003)	İnvaziv+Noninvaziv	Çocuk+Yetişkin	19, 23, 9,6, 14, 15, 1, 20
Pınar ve ark.	Ankara (2004)	İnvaziv+Noninvaziv	-	23B, 19A, 19F, 14, 6A, 9V
Gürol ve ark.	İstanbul (2004)	Noninvaziv	-	19F, 6B, 4, 14, 16F
Bayraktar ve ark.	Malatya (2005)	İnvaziv	-	19,23,18
Altun ve ark.	Ankara (2006)	İnvaziv+Noninvaziv	-	1,6, 9, 14, 19, 23
Yalçın ve ark.	İstanbul (2006)	İnvaziv	< 2	23, 19,6, 9, 1, 14, 18, 4
Fırat ve ark.	Malatya, Kayseri, Trabzon (2006)	İnvaziv+Noninvaziv	Çocuk+Yetişkin	23, 19, 14
Telli ve ark.	Aydın (2007-2009)	İnvaziv+Noninvaziv	-	19,23,6,14
Ozdemir B ve ark.	Ankara (2008)	-	-	11, 23, 19F, 22, 9, 19, 23B
Perçin ve ark.	Kayseri (2010)	Noninvaziv	Çocuk	1, 19, 3, 18, 6, 14, 7
Ceyhan ve ark.	Ankara (2010)	-	-	1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F/A, 8, 9V, 14, 18, 19A, 19F, 23F
Ceyhan ve ark.	Türkiye (2011)	-	-	19F, 6B, 4, 14, 19A,3, 23F, 1

Ülkemizde yapılan çalışmalarda penisiline dirençli *S. pneumoniae* suşlarına bazı bölgelerde rastlanmaz iken bazı bölgelerde bu oran % 11,5'e kadar ulaşmakta, penisiline orta duyarlı suşlar da ise oran % 4,8 ile % 41 arasında değişmektedir (Balaban N ve ark.,2007).

Ülkemizde 1993-1997 ve 1997-2000 yılları arasında yapılan 7 yıllık bir çalışmada pnömokoklardaki penisilin direnci, ilk 3 yıl için %12 olarak saptanırken sonraki 3 yıl için %31 bulunmuştur. Düşük düzeyde direnç %12'den %27'ye, yüksek düzey direnç ise %0'dan %4'e yükselmiştir. Bu sonuçlar ülkemiz içinde direnç artışı sorununun önemli hale gelmiş olduğunu göstermektedir (Öncül, O ve ark.,2003).

2002 yılında İstanbul'da Bakır ve ark. yaptıkları bir çalışmada çocuk klinikleri, kreşler ve okul çağı sağlıklı çocukların 1382 nazofarengeal örneğinde pnömokok taşıyıcılığı 118 çocukta (% 8,5) bulunmuş, bu suşların % 28,8'inde penisilin direnci saptanmıştır (Bakır M ve ark.,2002).

2006 yılında Fırat ve ark.'nın yaptığı çalışmada menenjitli hastalardan izole edilen 72 adet pnömokok suşu ile yapılan çalışmada penisilin direnci %8,3 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada 16 farklı serotipe rastlanmış, en çok serotip 23 tespit edilmiştir. Serotiplerin yaş gruplarına dağılımı incelendiğinde; serogrup 23'ün en fazla 17-60 yaş grubundan izole edildiği saptanmıştır (Fırat M. ve ark.,2006).

Kahramanmaraş'ta Zerife ve ark.'nın huzurevi ve çocuk yuvasında nazofarengeal sürüntü örnekleri ile yaptığı çalışmada 60 yaş üstü 95 yaşlıdan ve 0-12 yaş arası 71 çocuktan *S. pneumoniae* suşları elde edilmiştir. Huzurevindeki bireylerin %7'sinde, çocuk yuvasındaki çocukların %25'inde *S. pneumoniae* görülmüştür. Huzurevinden elde edilen suşların 2'sinde, çocuk yuvasından elde edilen suşların 4'ünde penisiline düşük düzeyde direnç bulunmuş ancak yüksek düzeyde direnç tespit edilmemiştir (Zerife O ve ark.,2012).

Çalışmamızda pnömokok suşlarında penisiline direnç oranı % 17,6 olarak bulunmuş, suşların % 23,5'i orta duyarlı, %58,9'u ise penisiline duyarlı olarak saptanmıştır. Özellikle penisiline orta duyarlı suşların sayısı dikkat çekicidir. Bu da penisilin direncinin artışının devam ettiğini düşündürmektedir.

Pnömonokların ülkemizdeki serotip dağılımına bakıldığında, Kocagöz ve ark. 1997 yılında izole ettikleri 86 suşun çoğunu sırasıyla 6, 1, 19, 11 ve 9 serotipleri olarak bulmuşlar; 16'sını tiplendirememişlerdir (Kocagoz S ve ark.,1997).

Kanra ve ark. 1998 yılında bir çalışmada 44 pnömokok suşunun çoğunu 6A, 14, 19F ve 23F; (Kanra G ve ark.,1998) Kocagöz ve ark. 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada 71 penisiline dirençli *S. pneumoniae* suşunun çoğunu 19 ve 23 serotipleri olarak saptamıştır (Kocagöz S ve ark.,2000). 2001'de Kayseri'de Eşel ve ark. yaptığı çalışmada ise 193 suşun çoğu tip 19, 1, 6, 23 ve 3 olarak bulmuştur (Eşel D ve ark.,2001).

Fırat ve ark.'nın yaptığı 72 suşun dahil edildiği çalışmada en sık tespit edilenler serogrup 23, 19 ve 14 olmuş, polisakkarit aşının suşların %94'ünü kapsadığı saptanmıştır (Fırat M ve ark., 2006).

Penisilin dirençli *S. pneumoniae* suşları ile Özalp ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da en çok rastlanan serotiplerin 19, 23, 6, 9 ve 15 olduğu bildirilmiştir (Ozalp, M ve ark.,2004). Pınar ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise, dirençli suşların serotip 23B, 19A, 19F, 14, 6A ve 9V olduğu tespit edilmiştir (Pınar A ve ark.,2004).

Mart 2006 – Aralık 2007 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi'nde yapılan çalışmada 29 çocuk ve 62 yetiştikten izole edilen *S. pneumoniae* suşlarında penisiline direnç %17,2 ve %12,7 olarak bulunmuştur. Vankomisin ve telitromisine karşı direnç saptanmazken, çocuk ve yetişkinlerde meropeneme % 3,4 ve % 6,3 , eritromisine % 51,7 ve % 30,2 , levofloksasine %10,3 ve %3,2 , klindamisine %31,0 ve % 15,9 , tetrasikline % 34,5 ve % 27,0 , trimetoprim/ sülfametoksazole % 62,1 ve % 36,5 şeklinde direnç bulunmuştur (Büyükçelik Ö, 2011).

İstanbul Üniversitesi Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda takipli 0-5 yaş arası 150 sağlıklı çocuktan alınan nazofarengeal sürüntü örnekleri ile yapılan çalışmada 42 (%28) *S. pneumoniae* suşu izole edilmiştir. Bu suşların 20'si

serogrup 19 (% 47), 7'si serogrup 6 (% 16), 5'i serogrup 23 (% 12), 4'ü serogrup 15 (% 9), 2'si serogrup 10 (% 4), 2'si serogrup 11 (% 4) ve 1'i serogrup 17 (% 2) olarak tiplendirilip, bir suş tiplendirilememiştir. En sık izole edilen suşlar serotip 19, 6 ve 23 olmuştur. Yüksek ve düşük düzey penisilin direnci ise sırasıyla % 4,7 ve % 69 olarak bulunmuştur. Eritromisin, klindamisin, trimetoprim-sulfametoksazol, tetrasiklin ve kloramfenikol direnç oranları ise sırasıyla % 76 (n=32), % 59 (n=25), % 73 (n=31), % 62 (n=26) ve % 9 (n=4) olarak bulunmuştur. Vankomisin, levofloksasin ve telitromisine direnç saptanmamıştır. En dirençli serogruplar yine serogrup 19, 6 ve 23 olarak tespit edilmiştir (Keküllüoğlu H, 2011).

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yapılan çalışmada Pevnar aşısının nazofarenkteki *S. pneumoniae* serotip değişimine ve penisilin direncine etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmaya 2 aylık sağlıklı aşılanmış 150 bebek dahil edilmiştir. Aynı bebeklerden KPA 7 ile bağışıklama sonrasında tekrar nazofarenks örnekleri alınmıştır. Aşılama öncesi ve sonrası sonuçlar karşılaştırıldığında aşı serotiplerinde azalma, aşı dışı serotiplerde artış olduğu ve nazofarenkte kolonize olan *S. pneumoniae* suşlarında penisilin direncinin artmış olduğu tespit edilmiştir. En yaygın olarak aşı dışı serotiplerden serotip 11, 15, 6A ve tiplendirilemeyen pnömokoklar görülmüştür. Artış görülen serotipler ise 6A daha çok olmak üzere serotip 15, 34, 10, 1 olarak bulunmuştur (Gürsoy B K, 2012).

Zonguldak'ta 2005-2011 yılları arasında izole edilen 46 *S. pneumoniae* suşunun dokuzunda (%19,5) oksasiline direnç saptanırken, penisiline karşı bir suшта (%2,1) düşük düzeyde direnç, iki suшта (%4,3) yüksek düzeyde direnç tespit edilmiştir. Diğer antibiyotik direnç oranları ise, eritromisine %19,5, levofloksasine %2,1, moksifloksasine %2,1 trimetoprim/sülfametoksazole %23,9, tetrasikline %17,3 olarak bulunmuştur. Vankomisine karşı direnç tespit edilmemiştir. Çalışmada 11 serotip tespit edilmiştir. Sıklık sırasıyla serotip 19 (n=9), serotip 8 (n=7), serotip 6 (n=4), serotip 23 (n=3) ve serotip 18 (n=3); serotip 7 (n=3), serotip 20 (n=2), serotip 14 (n=2), serotip 1 (n=1), serotip 4(n=1), serotip 15 (n=1) bulunmuştur. Altı suшта (%13) çoklu direnç bulunurken, bunların serotiplerinin 19 (n=3), 23 (n=2) ve 14 (n=1) olduğu görülmüştür (Sarı E N, 2011).

İstanbul Üniversitesi'nde çocuk ve yetişkinlerden alınan örneklerle yapılan çalışmada izole edilen 80 *S. pneumoniae* suşunun 62'si (%76) serotiplendirilmiş olup, çocuk yaş grubunda en sık serogrup 19 (n=3), yetişkin yaş grubunda en sık serogrup 3 (n=9) 'e rastlanmıştır. Yapılan çalışmada 19, 23, 9 ve 14 serogrupları antibiyotiklere en çok direnç gösteren serogruplar olarak bulunmuş olup 9 (%11) suşta çoğul direnç olduğu görülmüştür. Bu suşların serogrupları da 19, 23, 9, 6 ve 14 şeklindedir (Akgün D B, 2009).

Şubat 2007 - Mayıs 2007 tarihleri arasında Aydın ili Karacasu ilçesinde sağlık ocağına başvuran hastalardan alınan örneklerle yapılan çalışmada nazofarengeal örneklerden *S. pneumoniae* identifikasyonu ve antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. 180 erkek,180 kadın ve 90 çocuktan alınan örneklerin 6'sında *S. pneumoniae* tespit edilmiş olup, bunların 5'i erkek, 1'i kadından izole edilmiştir. İzole edilen *S. pneumoniae* suşlarının Amoksisilin + Klavulanik Asite % 100, Eritromisine % 85,7 oranlarında duyarlı; Ampisiline % 85,7 oranında orta derecede duyarlı; Polimiksine % 100 ve Kanamisine % 85,7 oranlarında dirençli oldukları tespit edilmiştir (Kum H, 2008).

Ankara bölgesinde sağlıklı 810 kişiden alınan nazofarengeal sürüntü örneklerinden 104 (%12,8)'ünde *S. pneumoniae*'ye rastlanmıştır. Serotiplendirme sonucunda ise serotip 19 (%15,3), 23(%10,5), 3(%9,7), 9(%9,7) ve 14(%8,7) tespit edilmiştir. Suşların %65,4'ünün penisiline duyarlı, %23,1'i orta duyarlı, %11,5'i ise yüksek düzeyde dirençli olduğu görülmüştür. Ayrıca vankomisin ve kloramfenikole karşı dirençli suş bulunamamıştır (Erdoğan B, 2006).

İzmir'de, Mart 2003 -Şubat 2004 tarihleri arasında yapılan çalışmada anaokulu, üniversite öğrenci yurdu, askeri kışla ve huzurevi gruplarının her birinden 216'şar kişi olmak üzere toplam 864 kişiden nazofarengeal örnekler alınmıştır. 98 (%11,3) kişiden *S. pneumoniae* izole edilmiştir. Her bir grup için sırasıyla %13,9, %7,4, %9,7, %14,4 olarak taşıyıcılık yüzdeleri bulunmuştur. Okul öncesi çocukluk yaş grubu ve 60 yaş üstünde taşıyıcılığın belirgin bir şekilde yüksek olduğu görülmüştür. İzole edilen *S. pneumoniae* suşlarının %38,8'inde düşük düzey penisilin direnci,

%50'sinde TMP-SMX direnci, %24,5'inde tetrasiklin direnci, %22,4'ünde eritromisin direnci ve %15,3'ünde klindamisin direnci olduğu görülürken yüksek düzey penisilin direncine rastlanmamıştır (Tarakçı H, 2004).

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Aralık 1999 ile Nisan 2003 tarihleri arasında yatan hastalardan kan, beyin omurilik sıvısı, asit, balgam ve plevral mai örneklerin alınmış ve 33 *S. pneumoniae* suşu izole edilmiştir. Suşların hiçbirinde yüksek penisilin direnci görülmezken, altı suшта (% 18,2) orta derecede penisilin direnci, 27 suшта (% 81,8) ise penisiline duyarlılık bulunmuştur. Bunun yanı sıra suşların vankomisin, seftriakson, levofloksasin ve kloramfenikol bakımından da duyarlı olduğu görülmüştür (Akalin Ş, 2003).

Ankara Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Gölbaşı ilçesine bağlı köylerde 0-2 yaş arası sağlıklı 564 çocuk üzerinde yapılan çalışmada %22,5 oranında taşıyıcılık tespit edilmiştir. İzole edilen suşlarda serotiplerden en sık 11, 23, 19F, 22, 9, 19 ve 23B görülmüştür. Penisilin duyarlılık durumu ise, %86,4 duyarlı, %8,5 düşük düzey dirençli, %5,1 ise yüksek dirençli olarak bulunmuştur. Penisiline dirençli serotiplerin 15, 11, 9, 10, 33, 23, 23B, 19B, 7C, 6B ve 3 olduğu görülmüştür. Çalışmada izole edilen *S. pneumoniae* suşlarının serotiplerini 7 ve 9 değerli pnömokok aşısının % 13,3 , 11 değerli pnömokok aşısının ise % 17,2 oranında kapsadığı belirlenmiştir (Özdemir B, 2003).

Çalışmamızda izole edilen suşların serotipleri çoğunlukla serotip 6 olup (%41,6) olup, bunu serotip 23 (12,5) izlemiştir. Bunların dışında serotip 18, serotip 5 serotip 19, serotip 12, serotip 14 ve serotip 3 tespit edilmiştir. Penisiline dirençli suşlarda görülen serotipler ise çoğunlukla serotip 6 (%62,5) olup, serotip 23 (%25), serotip 18 (%12,5) de görülmüştür. Çalışmamız bu yönleriyle Türkiye'de yapılmış diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Ancak serotip 6 olarak tiplendirilen suşların çokluğu dikkat çekmektedir.

İlk pnömokok aşısı 1977'de 14 değerlikli polisakkarit aşısı olarak üretilmiştir. Yaygın olarak kullanılan 23 değerlikli pnömokok aşısı (PPV23; Pnomovax, Pneumo23) ise 1983'te uygulamaya başlanmıştır. PPV23 polisakkarit bir aşı olup,

İPE (invaziv pnömokok enfeksiyonları) 'nin en sık (%88) nedenlerinden olan serotipleri içerir. Aşı erişkin pnömokokal bakteriyemi önlemede %50-70 etkilidir. İçerdiği polisakkarit kapsül antijenleri tek başına T hücre yanıtına yol açmadığından ancak 2 yaş üzeri çocuk ve erişkinlerde etkili koruyuculuk sağlar. Aşının hafıza hücre yanıtı da bulunmamaktadır. Aşı sonrası çocuklarda 3-5 yıl süren koruyucu antikor yanıtı erişkinlerde daha uzun süreli olabilmektedir (Black S ve ark., 2000).

Konjuge pnömokok aşuları taşıyıcı proteinleri sayesinde içerdiği kapsüller polisakkarit antijenlerine T hücre yanıtı erken bebeklik döneminde mümkün olabilmektedir. Bu nedenle İPE'nin en sık görüldüğü erken bebeklik döneminde (2 aydan itibaren) yapıldığında etkin koruyuculuk sağlayabilmektedir. Konjuge pnömokok aşularından dünyada halen en yaygın kullanımı 7 değerlikli (14,6B,19F,18C,23F,4 ve 9V serotipleri) konjuge pnömokok aşısıdır (PCV7; Prevenar, GSK) ve 2000 yılında ABD'de ulusal çocuk aşı programına dahil edilmiştir. Halen AB ülkelerinin büyük çoğunluğu başta olmak üzere birçok ülkede (70'den fazla ülkede ruhsat almıştır) rutin aşı uygulama programına alınmıştır. PCV7 6A,9A,9L,18B ve 18F serotipleri ile çapraz reaksiyon verir, antibiyotik kullanımını %5 azaltır, penisilin direncini %15-30 azaltır (Levine OS ve ark., 2006).

ABD'de 6 yaş altında bakteriyemi olgularının %88'i, menenjit olgularının %82'si, pnömokokal otit olgularının %70'i PCV7 içeriğindeki 7 serotipten birisi sorumlu gösterilmiştir. 2000 yılında rutin uygulamaya sokulan PCV7 (Prevenar) aşısından sonra yapılan sürveyans çalışmalarında İPE'nin 5 yaş altı çocuklarda %94, 5 yaş üzerinde %25 azaldığı görülmüştür. Aynı ülkede pnömonilerin %11, akut otit medianm (AOM) %7 azaldığı bildirilmiştir. Finlandiya'da aşı sonrasında aşı serotiplerine bağlı AOM'nin %57, herhangi bir serotipe bağlı AOM'nin %34, pnömoninin %20 azaldığı bildirilmektedir. Yine aşı sonrasında Gambiya'da pnömonilerin %37, çocuk ölümlerinin %16 azaldığı belirtilmektedir. Bir başka çalışmada PCV7 sonrası pnömokoklara bağlı AOM sıklığı %6- 20, tüm AOM sıklığı %6-9, tekrarlayan AOM sıklığı %10-26 azalırken, tiplendirilemeyen H.influenzae'ye bağlı AOM'nin %22 arttığı bildirilmiştir (Johnson AP ve ark., 2007).

Yalçın ve ark.nın yaptıkları çok merkezli bir çalışmada 2 yaşından küçük çocuklarda İPE nedeni olan suşların %56'sı (çapraz reaksiyon veren suşları da kapsadığında %82'si) PCV7 içeriğindeki suşlarla oluştuğu gösterilmiştir (Yalçın I ve ark., 2006).

ABD çalışmalarında PCV7'nin İPE'deki koruyucu etkinliği tam aşıllılarda %97,4, kısmi aşıllılarda %85,7, aşı dışı serotiplerde %50 kadardır (Cutts FT ve ark., 2005).

Aşının yan etki oranı oldukça düşüktür. Aşı yerinde duyarlılık, eritem ve endürasyon gibi lokal reaksiyonlar görülebilir. Tekrarlayan PCV7 dozlarından sonra eritem dışında lokal reaksiyon artışı olmaz. Huzursuzluk en sık rastlanan sistemik reaksiyondur. Aşılananların %15-24' ünde 38°C ve üzerinde ateş görülebilir. Özellikle 2. aşı dozundan sonra ateş daha sık görülmektedir. Kaiser Permanente çalışmasında, rutin aşı yanında PCV7 uygulanan çocuklarda 38°C ve üzerinde ateş sıklığı kontrol aşısı (meningokok aşısı) yapılanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ancak, anlamlı farklılık aşının 4. dozundan sonra görülmez. PCV7 asısından sonraki 3 gün içinde febril konvülsiyon sıklığı yaklaşık 1/7000 dozdur (Casal J, 2003).

Yaşa bağlı olarak PCV7 aşısı reaksiyonlarının arttığına dair veri yoktur. Aşının 7 ay-9 yaş grubu çocuklarda uygulanması sonrası 38°C ve üzerinde ateş sıklığı %6,8-36,7 olarak bildirilmektedir (Johnson AP ve ark., 2007).

Çalışmamızdaki suşlardan %38,2 (n=13) oranında serotip 6 ve %8,8 (n=3) oranında serotip 23 tespit edilmiştir. Diğer serotipler ise %5,8 (n=2) oranında serotip 18, serotip 12 ve serotip 14; %2,9 (n=1) oranında serotip 5, serotip 19 ve serotip 3 olarak bulunmuştur. Bu serotipler ve PPV23 ve PCV7 aşı içeriklerinde bulunmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Sonuç olarak hastanemizde klinik örneklerden izole edilen *S. pneumoniae* suşlarında penisiline duyarlı olmayan (dirençli ve orta duyarlı toplamı) suş oranı (% 41,1) ve penisiline dirençli suşlarda ÇİD oranı (% 50) oldukça yüksektir. Toplumdaki gereksiz ve aşırı antibiyotik kullanımı bu oranları arttıran faktörlerden biridir.
2. Antibiyotik sürveyansı ve serotip dağılımının belirlenmesi, ampirik tedavinin şekillenmesi ve dirençli serotiplerin takibi için gereklidir.
3. Aşı içeriklerindeki serotiplerin artırılması *S. pneumoniae* enfeksiyonlarından korunmada önemlidir.
4. Kullanımda olan pnömokok aşılarının zaman içerisinde pnömokok topluluğu üzerinde oluşturacağı baskıya bağlı olarak, enfeksiyon etkeni olarak ortaya çıkacak olan pnömokokların serotip ve genotiplerinde değişiklikler saptanabilir ve bunun yakından takibi pnömokokal enfeksiyonların epidemiyolojisi ve bu enfeksiyonlardan korunma açısından önem taşımaktadır.
5. Ülkemizde antibiyotik kullanımı ile ilgili yanlış ve bilinçsiz uygulamaların olması, kültür antibiyogramı yapılmadan antibiyotik verilmesi, toplu yaşanan yerlerde hijyen koşullarının iyi olmaması, düzenli olarak taşıyıcıların belirlenmemesi ve takip edilmemesi gibi nedenlerle direnç oranları giderek artmaktadır.
6. Bunu önlemek için epidemiyolojik çalışmalara hız verilmeli ve pnömokok direnci ile ilgili ulusal bir strateji geliştirilmelidir.
7. Dirençli pnömokokların yayılımını kontrol etmek için dünya çapında ekip işbirliği içinde multidisipliner bir yaklaşım gerekmektedir.

ÖZET

Klinik Örneklerden İzole Edilen *Streptococcus pneumoniae* Suşlarında Antibiyogram Direnci Ve İzolatların Serotiplendirilmesi

Streptococcus pneumoniae, sepsis ve menenjit gibi invaziv bakteriyel enfeksiyonlarının en önemli nedenlerinden biridir. Pnömonoklara karşı güçlü antimikrobiyal tedavi ve aşilar bulunmasına rağmen bu enfeksiyonlardan farklı yaş gruplarında ölüm oranları halen yüksektir. Türkiye'de invaziv enfeksiyonların çoğu serotip 1, 6, 19, ve 23 ile olmakta, izole edilen penisilin dirençli *S. pneumoniae* suşlarında ise serotip 19, 23, 14 ve 6 sıklıkla gözlenmektedir.

Çalışmada, Nisan 2010 - Kasım 2012 yılları Afyon Kocatepe Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında izole edilen 34 *S. pneumoniae* suşunun penisilin ve diğer sık kullanılan antibiyotiklere direnç oranları belirlenmiş ayrıca bu suşların serotiplendirilmesi yapılmıştır. Suşların identifikasyonu safrada erime ve optokin duyarlılık testleri ile, serotiplendirilmesi ise kapsül şişme (Quellung) (Pneumotest, Stantens Serum Institut, Denmark) testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm izolatların penisilin, sefotaksim, seftriakson ve vankomisin MİK değerleri CLSI kriterlerine göre E-test (AB Biodisk, Solna, İsveç) yöntemi ile; tetrasiklin, levofloksasin, klindamisin, oksasilin, ofloksasin, eritromisin, kloramfenikol ve trimetoprim-sulfametoksazola duyarlılık ise disk difüzyon yöntemi ile saptanmıştır. Kalite kontrol suşu olarak *S. pneumoniae* ATCC 49619 kullanılmıştır. Araştırılan 34 suşun 27'si (% 79,4) solunum yolu (balgam, endotrakeal aspirat, bronkoalveoler lavaj), 2'si (% 5,8) konjunktival sürüntü, 3'ü (% 8,8) kan, biri (% 2,9) yara ve biri (% 2,9) BOS örneklerinden izole edilmiş olup, örneklerin 31'i (% 91,1) erişkin hastalara aittir.

İnvaziv 4 izolatın 3'ü (%75), non-invaziv suşların ise (n=30) %10'u penisiline dirençli bulunmuş olup, çalışmamızda yüksek düzey penisilin direnci %17,6 ve orta düzey penisilin direnci %23,5 saptanmıştır. Suşların 16'sının (% 47) ve penisiline dirençli suşların tamamının çoklu ilaca dirençli olduğu belirlenmiştir. *S.*

pneumoniae suşlarında tetrasikline % 5,8 , levofloksasine % 17,6 , klindamisine % 38,2 , trimetoprim-sulfametoksazola %70,5 , eritromisine %41,1 , ofloksasine %14,7, seftriaksona %11,7 , sefotaksime %17,6 oranında direnç saptanmıştır. Vankomisine dirençli suş bulunmamıştır.

İzole edilen 34 *S. pneumoniae* suşunun 13'ünde serotip 6 (%38,2) saptanmış olup bunu serotip 23(n=3; % 8,8), serotip 18, serotip 12 ve serotip 14 ikişer suş (%5,8) ile; serotip 5, serotip 19 ve serotip 3 de birer suş ile takip etmiştir. Suşlardan dokuzu pool düzeyinde serotiplendirilmiştir. Penisiline dirençli suşların ise daha çok serotip 6A ve 23 olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, antibiyotik sürveyansı ve serotip dağılımının belirlenmesi, ampirik tedavinin şekillenmesi, dirençli serotiplerin takibi ve aşı içeriği uyumu açısından gereklidir. Çalışma bu hali ile bölgemizdeki ilk serotip verilerini içermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Streptococcus pneumoniae*, serotipleme, antimikrobiyal duyarlılık, penisilin direnci.

SUMMARY

Antibacterial Susceptibility And Serotyping Of *Streptococcus pneumoniae* Strains Isolated From Clinical Specimens

S. pneumoniae is one of the most important causes of invasive bacterial infections, including sepsis and meningitis. Despite the availability of potent antimicrobial therapies and vaccines for pneumococci, infections result in a high mortality rate among several different age groups. In Turkey, serogroups/serotypes 1, 6, 19, and 23 cause the majority of cases of invasive infections. Similarly, among the penicillin resistant *S. pneumoniae* isolates in Turkey and the most prevalent serogroups/serotypes are 19, 23, 14 and 6.

In this study, we aimed to determine the serotypes and resistance status of *S. pneumoniae* strains. This prospective study was conducted between April 2010 and November 2012 in Afyon Kocatepe University Hospital, Microbiology laboratory. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial susceptibilities to penicillin and other commonly used agents in 34 isolates recovered from clinical specimens from children and adults, and to determine the serotypes/serogroups related to resistance. Bile-solubility and optochin susceptibility tests were conducted to identify the strains. Serotyping was performed by Quellung reaction using Pneumotest (Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark). The minimal inhibitory concentration (MIC) of each isolate to penicillin, cefotaxime, ceftriaxone and vancomycin was determined using E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden) and interpreted according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) breakpoints. Susceptibility to tetracycline, levofloxacin, clindamycin, oxacilin, ofloxacin, erythromycin, chloramphenicol, and trimethoprim-sulfamethoxazole was determined using the disk-diffusion method and was similarly interpreted following CLSI criteria. *S. pneumoniae* ATCC 49619 was used as the quality control strain for antimicrobial susceptibility testing. Of the 34 strains identified, 27 (79,4%) were from respiratory tract, 2 (5,8%) isolates were from conjunctival swab, 3 (8,8%) were from

blood, 1 (2,9%) was from wound and 1(2,9) was from cerebrospinal fluid. 31 (%91,1) strains isolated from adult events.

A total of 34 strains, 6 (17,6%), penicillin-resistant, 8 (23,5%), moderately susceptible, and 20 (58,9%) were susceptible. Invasive 3 of the 4 strains found resistant and 1 strain was susceptible. Non-invasive strains, 3 of 30 (10%), penicillin-resistant, and 8 (26,6%) moderately susceptible to penicillin, and 19 (63,3%) were susceptible. 16 of 34 strains (47%) and all of penicillin-resistant strains were multiple drug resistant. 5,8% of *S. pneumoniae* strains found resistant to tetracycline, 17,6% to levofloxacin, 38,2% to clindamycin, 70,5% to trimethoprim-sulfamethoxazole, 38,2% to oxacilin, 41,1% to erythromycin, 14,7% to ofloxacin, 11,7% to ceftriaxone, %17,6 to cefotaxime. There is no strain found resistant to vancomycin.

The majority (n = 13; %38,2) belonged to serotype 6, followed by 23(n = 3;% 8,8). 2 strains of each serotype 18, 12 and 14, one strain of each serotype 5, 9 and 3 observed. 9 strains were serotyped pool level. Penicillin resistant strains were mostly from serotype 6A and 23.

As a result, determination of antibiotic surveillance and serotype distribution is required for formation of the empirical treatment of resistant serotypes follow-up and compliance with the contents of the vaccine. Study with this situation, includes first data about the serotypes in our region.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, serotyping, antimicrobial susceptibility, penicillin resistance.

KAYNAKLAR

- HACIMUSTAFAOĞLU M.(2012). Değişen Pediatrik Pnömoni Epidemiyolojisi Ve Etkenleri, ANKEM Derg;26(Ek 2):64-233
- LIBSON S, DAGAN R, GREENBERG D.(2005). Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* at the completion of successful antibiotic treatment of acute otitis media predisposes to early clinical recurrence, *J Infect Dis*;191(11):1869-75.
- CLARKE P, MURCHAN S, SMYTH EG, HUMPHREYS H.(2004). Antimicrobial susceptibility of invasive isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Ireland, *Clin Microbial Infect*;10(7):657-9.
- TANIR G, KARACAN C, TOPAL H, ÖZKAN Fİ.(2003).*Streptococcus pneumoniae*'nin çocukluk döneminde etken olduğu invazif enfeksiyonlar ve antibiyotiklere karşı direnç durumu, *Klinik Derg*;16(21):79-84.
- GOLDSMITH CE, MOORE JE, MURPHY PG.(1997).Pneumococcal resistance in the UK, *J Antimicrob Chemother*;40(SupplA):11-8.
- HANSMAN D, BULLEN MM.(1967): A resistant pneumococcus (letter), *Lancet*;2:264-5.
- AUSTRIAN R.(2004). *Streptococcus pneumoniae*, "Gor bach SL, Barlett JG, Blacklow NR (eds): Infectious Diseases, 3. baskı" kitabında s.1605-9, Lippincott Williams-Wilkins, Philadelphia.
- BUTLER JG.(2004). Epidemiology of pneumococcal disease, "Toumanen EI, Mitchell TJ, Morrison DA, Spratt BG (eds): The Pneumococcus" kitabında s.148-58, ASM Press, Washington D.C.

- CROOK DW, BRUEGGEMANN AB, SLEEMAN KL.(2004).Pneumococcal carriage, "Toumanen EI, Mitchell TJ, Morrison DA, Spratt BG (eds): The Pneumococcus" kitabında s.136-47, ASM Press, Washington D.C.
- DAGAN R, GREENBERG D, JACOBS MR.(2004).Pneumococcal infections," Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan SL (eds): Textbook of Pediatric Infectious Diseases, 5.baskı" kitabında, s.1204-58, Saunders Philadelphia.
- DIEZ-DOMINGO J, PEREİNOL, MO RANT A.(2002).Epidemiology of invasive Streptococcus pneumoniae infections in children in Spain 1996-1998, J Infect;45(3):139-43.
- GÜNAYDIN M.(2004).*Streptococcus pneumoniae*. Mikrobiyoloji, epidemiyoloji, patogenez ve risk faktörleri, "Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (eds): Önemli ve Sorunlu Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları" kitabında s.187-95, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara.
- KLIAN M.(2005).Streptococcus and Lactobacillus, "Borriello SP, Murray PR, Funke G (eds): Topley's Wilsons, Microbiology-Microbial Infections, 10. baskı" kitabında s.833-80, Hadder Arnold, London.
- LEHMAN DC, MAHON CR, SUVARNA K.(2007).Streptococcus, Enterococcus and other catalase negative Gram positive cocci, "Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G (eds): Diagnostic Microbiology, 3. baskı" kitabında s.382-408, Saunders-Elsevier, St.Louis.
- MURRAY PR, ROSENTHAL KS, PFALLER MA.(2005).Medical Microbiology, s.252, Elsevier-Mosby, Philadelphia.

- MUSHER DM.(2005). *Streptococcus pneumoniae*, "Mandel GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases, 6.baskı" kitabında s.2392-411, Elsevier, Churchill Livingstone, Philadelphia.
- RUOFF KL, WHILEY RA, BEIGHTON D.(2003). Streptococcus, "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): Manual of Clinical Microbiology, 8.baskı" kitabında s.405-21, ASM Press, Washington D.C.
- YOTHER J.(2004). Capsules, "Toumanen EI, Mitchell TJ, Morrison DA, Spratt BG (eds): The Pneumococcus" kitabında s.30-48, ASM Press, Washington D.C.
- MARKIEWICZ Z, TOMASZ A.(1989).Variation in penicillin-binding protein patterns of penicillin-resistant clinical isolates of pneumococci, J Clin Microbiol;27(3): 405-10.
- COFFEY TJ, DOWSON JG, DANIELS M.(1991).Horizontal transfer of multiple penicillin-binding protein genes and capsular biosynthetic genes in natural populations of *Streptococcus pneumoniae*, Mol Microbiol;5(9):2255-60.
- APPELBAUM PC.(2002).Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: implications for drug selection, Clin Infect Dis;34(12):1613-20.
- DOERN GV, HEILMANN KP, HUYNH HK, RHOMBERG PR, COFFMAN SL, BRUEGGEMANN AB.(2001).Antimicrobial resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States during 1999-2000, including a comparison of resistance rates since 1994-95, Antimicrob Agents Chemother;45(6):1721-9.

- JACOBS MR, FELMINGHAM D, APPELBAUM PC, GRUNEBERG RN.(2003).The Alexander Project Group: The Alexander Project 1998-2000: Susceptibility of pathogens isolated from community acquired respiratory tract infection to commonly used antimicrobial agents, J Antimicrob Chemo- ther 2003;**52(2)**:229-46.
- SONG JH, JUNG SI, KO KS.(2004).High prevalence of antimicrobial resistance among clinical *Streptococcus pneumoniae* isolates in Asia (an ANSORP study), Antimicrob Agents Chemother;**48(6)**:2101-7.
- ERDEM H, PAHSA A.(2005).Antibiotic resistance in pathogenic *Streptococcus pneumoniae* isolates in Turkey, J Chemother;**17(1)**:25-30.
- EŞEL D, BOZDOĞAN B, SÜMERKAN B, APPELBAUM PC.(2004). Makrolitlere dirençli *Streptococcus pneumoniae* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları ve direnç mekanizmaları, 3.Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı s.143, Ankara.
- GÜR D, GÜÇİZ B, HASÇELİK G.(2001).*Streptococcus pneumoniae* penicillin resistance in Turkey, J Chemother;**13(5)**:541-5.
- SENER B, MCGEE L, PMAR A, ESER O.(2006).Genomic backgrounds of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Ankara, Turkey: Identification of emerging new clones, Microb Drug Resist;**12(2)**:109-14.
- GÜLAY Z, BİÇMEN M, GÜR D.(2003).Resistance mechanisms to macrolide antibiotics in erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Turkey, 13th ECCMID, Abstracts p.376, Glasgow.
- SOARES S, KRISTINSSON KG, MUSSER JM, TOMASZ A.(1993).Evidence for the introduction of a multiresistant clone of serotype 6B

Streptococcus pneumoniae from Spain to Iceland in the late 1980s, *J Infect Dis*;168(1):158-63.

APPELBAUM PC.(2002).Resistance among Streptococcus pneumoniae: implications for drug selection, *Clin Infect Dis*;34(12):1613-20.

ENRIGHT MC, SPRATT BG.(1998).A multilocus sequence typing scheme for Streptococcus pneumoniae: identification of clones associated with serious invasive disease, *Microbiology*;144(pt 11):3049-60.

RICHTER SS, HEILMANN KP, COFFMAN SL.(2002). The molecular epidemiology of penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae in the United States, 1994-2000, *Clin Infect Dis*;34(3):330-9.

SENER B, KOSEOGLU O.(2004).Comparative in-vitro activity of antiribosomal agents on penicillin-susceptible and-resistant Streptococcus pneumoniae in relation to the resistance genotypes, *Int J Antimicrob Agents*;24(1):39-42.

ZARAKOLU P, SÖYLETİR G, GÜR D, ÜNAL S.(2003).Antimicrobial resistance patterns of respiratory pathogens: a local report from Turkey, *Clin Microbiol Infect*;9(12):1257-8.

MARKIEWICZ Z, TOMASZ A.(1989).Variation in penicillin-binding protein patterns of penicillin-resistant clinical isolates of pneumococci, *J ClinMicrobiol*;27(3):405-10.

FUKUDA H, HIRAMATSU K.(1999).Primary targets of fluoroquinolones in Streptococcus pneumoniae, *Antimicrob Agents Chemother*;43(2):410-2.

PESTOVA E, BEYER R, CIANCÍOTTO NP, NOSKIN GA, PETERSON LR.(1999).Contribution of topoisomerase IV and DNA gyrase mutation

in *Streptococcus pneumoniae* to resistance to novel fluoroquinolones, *Antimicrob Agents Chemother*; **43(8)**:2000-4.

GILL MJ, BRENWALD NP, WISE R.(1999). Identification of an efflux pump gene, *pmrA*, associated with fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae*, *Antimicrob Agents Chemother*; **43 (1)**:187-9.

SHORTTRIDGE VD, DOERN GV, BRUEGGEMANN AB, BEYER JM, FLAMM RK.(1999).Prevalence of macrolide resistance mechanisms in *Streptococcus pneumoniae* isolates from a multicenter antibiotic resistance study conducted in the United States in 1994-1995, *Clin Infect Dis*; **19(5)**:1186-8.

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 an efflux system, *Antimicrob Agents Chemother*; **40(8)**:1817-24.

BARRY AC, FUCHS PC, BROWN SD.(1998).Antipneumococcal activities of a ketolide (HMR 3647), a streptogramin (quinupristin/dalfopristin), a macrolide (erythromycin), and a lincosamide (clindamycin), *Antimicrob Agents Chemother*; **42(4)**:945-6.

BONNEFOY A, GIRARD AM, AGOURIDAS C, CHALOT JF.(1997). Ketolides lack inducibility of MLS_B resistance phenotype, *J Antimicrob Chemother*; **40(1)**:85-90.

HARRIS M, CLARK J, COOTE N.(2011).British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011, *Thorax*; **66(Suppl2)**:ii1-23.

<http://dx.doi.org/10.1136/thoraxjnl-2011-200598> PMID:21903691

Health Policy and Clinical Effectiveness Department. Cincinnati Children's Hospital Medical Center. Community acquired pneumonia. www.cincinnatichildrens.org/svc/alpha/h/health-policy/ev-based/pneumonia.htm (Accessed on August 11, 2011).

FIGURE AE, SHAY DK, BRODER K.(2009).Prevention and control of seasonal influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), *MMWR Recomm Rep* 2009;**58**(RR-8):1-52.

PMCID:2821196

ZHOU F, KYAW MH, SHEFER A, WINSTON CA, NUORTI JP.(2007). Health care utilization for pneumonia in young children after routine pneumococcal conjugate vaccine use in the United States, *ArchPediatrAdolescMed*;**161**(12):1162-8.<http://dx.doi.org/10.1001/archpedi.161.12.1162> PMID:18056561

ÖNCÜL O, ERDEM H, ALTUNAY H, ÖZSOY MF, PAHSA A, ÇAVUŞLU Ş.(2003).Pnömonoklarda penisiline direnç tirendi, *Türk Mikrobiyol Cem Derg*;**33**(2):109-14.

AYDEMİR Ş, ŞAMLIOĞLU P, TÜNGER A, ÇİLLİ F, ÖZİNEL MA.(2005). *Streptococcus pneumoniae* kökenlerinde penisiline direnç, *Türk Mikrobiyol Cem Derg*;**35**(2):91-7.

CAPUTO GM, APPELBAUM PC, LIU HH.(1993). Infections due to penicillin resistant pneumococci. Clinical, epidemiologic and microbiologic features, *Arch Intern Med*; 153 (11) : 1301-10. <http://dx.doi.org/10.1001/archinte.1993.00410110013003> PMID:8507121

- LINARES J, PALLARES R, ALONSO T.(1992).Trends in antimicrobial resistance of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Bellvitge Hospital,Barcelona, Spain, *Clin Infect Dis* ; 15 (1) :99-105.
<http://dx.doi.org/10.1093/clinids/15.1.99> PMID:1617079
- MARTON A.(1992). Pneumococcal antimicrobial resistance: the problem in Hungary, *Clin Infect Dis*; 15 (1) : 106-11.
<http://dx.doi.org/10.1093/clinids/15.1.106> PMID:1617049
- GÜR D, ÖZALP M, SÜMERKAN B.(2002).Prevalance of antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* and *Streptococcus pyogenes*: results of a multicentre study in Turkey, *Int J Antimicrob Agents*;**19(3)**:207-11.
- KILIÇ D, ALTAY G.(1996). *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin duyarlılığı, *Mikrobiyol Bul*; **30(4)**:333-41.
- MAMAL TORUN M, BAHAR H, ALKAN E.(2001).*Streptococcus pneumoniae* kökenlerinde penisiline ve diğer antimikrobik maddelere direnç, *ANKEM Derg*;**15(1)**:109-13.
- GEZİCİ H.(2002).Trakya bölgesindeki huzurevi ve yetiştirme yurtlarında pnömokok taşıyıcılığı ve penisiline direnç durumunun araştırılması, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Edirne.
- KEITH ER, PODMORE RG, ANDERSON TP, MURDOCH DR.(2006). Characteristics of *Streptococcus pseudopneumoniae* isolated from purulent sputum samples, *J Clin Microbiol*;**44(3)**:923-7.
- BERKİTEN R.(2006).*Streptococcus pneumoniae*: Klasik Ve Moleküler Tanıda Karşılaşılan Sorunlar,*ANKEM Derg*;**20(3)**:180-186.

Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement, CLSI document M100-S20, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania (2010).

SERENSEN UB.(1993).Typing of pneumococci by using 12 pooled antisera, J Clin Microbiol;**31(8)**:2097- 100.

FIRAT M, ERSOY Y, EŞEL D, BAYRAKTAR M, ÇAYLAN R, DURMAZ R.(2006).Menenjitli Hastalardan İzole Edilen Pnömonokların Serotip Dağılımı Ve Antibiyotiklere Duyarlılıkları, Mikrobiyol Bült; **40**: 72-177

BORG MA, TIEMERSMA E, SCICLUNA E.(2009).Prevalence of penicillin and erythromycin resistance among invasive Streptococcus pneumoniae isolates reported by laboratories in the southern and eastern Mediterranean region, Clin Microbiol Infect;**15(3)**:232-7.

REINERT RR, REINERT S, VAN DER LINDEN M, CIL MY, AL-LAHHAM A, APPELBAUM P.(2005).Antimicrobial susceptibility of Streptococcus pneumoniae in eight European countries from 2001 to 2003, Antimicrobial Agents Chemother;**49(7)**:2903-13.

OTEO J, LÂZARO E, DE ABAJO FJ, BAQUERO F, CAMPOS J.(2004). Spanish Members of the European Antimicrobial Resistance Surveillance System: Trends in antimicrobial resistance in 1,968 invasive Streptococcus pneumoniae strains isolated in Spanish hospitals (2001 to 2003): decreasing penicillin resistance in children's isolates, J Clin Microbiol;**42(12)**: 5571-7.

ŞENER B.(2007).*Streptococcus pneumoniae*'de penisilin direnci ve klonal ilişkinin izlenmesi, ANKEM Derg;**21(Ek 2)**:171-7.

BALABAN N, MUMCUOĞLU İ, HAYIRLIOĞLU N, KARAHAN ZC, SULTAN N, BODUR H.(2007). Streptococcus pneumoniae suşlarının tedavide sık kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlılıkları, Türk Mikrobiyol Cem Derg;**37(3)**:147-51.

ŞENER B, TUNÇKANAT F, ULUSOY S.(2007). A survey of antibiotic resistance in Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae in Turkey, 2004-2005, J Antimicrob Chemother;**60(3)**:587-93.

ZERİFE O, MUSTAFA G, MURAT A, ALİ Ö, ARZU K.(2012). Kahramanmaraş'ta Huzurevi Ve Çocuk Yuvasında Kalan Bireylerde Pnömonok Taşıyıcılığı Ve Penisiline Direnç. ANKEM Derg;**26(1)**:10-15 doi:10.5222/ankem.2012.10

ORSOLYO D, FERENC R, EDIT H, ERZSEBET N, MARTA K, SEBASTIAN G.B. A. (2003). Antibiotic susceptibility and serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates from Hungary , *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* ;51, 887-893 DOI: 10.1093/jac/dkg171 Advance Access publication 13 March 2003

MOYO SJ, STEİNBAKK M, ABOUD S, MKOPI N, KASUBI M, BLOMBERG B, MANJI K, LYAMUYA EF, MASELLE SY, LANGELAND N.(2012).Penicillin resistance and serotype distribution of Streptococcus pneumoniae in nasopharyngeal carrier children under 5 years of age in Dar es Salaam, Tanzania. J Med Microbiol. 2012 Jul;**61(Pt 7)**:952-9. Epub 2012 Mar 22.

KOCAGOZ S, GUR D, UNAL S.(1997).Erişkin yaş hasta grubundan izole edilen Streptococcus pneumoniae suşlarının antimikrobiyal direnci ve serotip dağılımı, ANKEM;**11(2)**:96.

- KANRA G, ERDEM G, CEYHAN M, KLUGMAN KP, VASAS A.(1998). Serotypes and antibacterial susceptibility of pneumococci isolated from children with infections in Ankara in relation to proposed pneumococcal vaccine coverage, *Acta Paediatr Jpn*;40(5):437-40.
- KOCAGÖZ S, GUR D, ALTUN B.(2000).Epidemiology of penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* in Turkey, 40th ICAAC Abstracts, Toronto, Canada 2000;1813:115
- ESEL D, SUMERKAN B, KOCAGOZ S.(2001).Epidemiology of penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates in Kayseri,Turkey, *Clin Microbiol Infect*;7:548-52
- O'BRIEN, K.L., NOHYNEK, H.,CA, W.P.V.T. (2003) Report from a WHO Working Group: standard method for detecting upper respiratory carriage of *Streptococcus pneumoniae*. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 22 (2), 133-140.
- BRITO, D.A., RAMIREZ, M.,DE LENCASTRE, H. (2003) Serotyping *Streptococcus pneumoniae* by multiplex PCR. *J Clin Microbiol*, 41 (6), 2378-2384.
- OZALP, M., KANRA, G.,GUR, D. (2004) Distribution of serotypes and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in a children's hospital in Turkey. *Turk J Pediatr*, 46 (4), 329-332.
- TUNÇKANAT F, AKAN O, GÜR D, AKALIN HE.(1992).Penicilin resistance in *Streptococcus pneumoniae* strains, *Mikrobiyol Bült* 26:307.
- ÖNCÜL, O., ERDEM, H., ALTUNAY, H., ÖZSOY, F.M., PASHA, A., ÇAVUFİLU, F. (2003). Pnömonoklarda Penisilin Direnç Trendi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 33, 109-114.

BAKIR M, YAGCI A, AKBENLİOĞLU C, İLKİ A, ULGER N, SÖYLETİR G.(2002).Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* pharyngeal carriage among healthy Turkish infants and children, Eur J Pediatr; 161(3):165-6.

<http://dx.doi.org/10.1007/s00431-001-0886-4> PMID:11998917

M. FIRAT, Y. ERSOY, D. EŞEL, M. BAYRAKTAR, R. ÇAYLAN, R. DURMAZ.(2006).Menenjitli Hastalardan İzole Edilen Pnömonokların Serotip Dağılımı Ve Antibiyotiklere Duyarlılıkları. Mikrobiyol Bül; **40**: 169-177

PINAR A, KOSEOĞLU O, YENİŞEHİRLİ G, SENER B.(2004).Molecular epidemiology of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in a university hospital, Ankara, Turkey. Clin Microbiol Infect; **10**: 718-23.

KALTOFT MS, ZEUTHEN N, KONRADSEN HB.(2000).Epidemiology of invasive pneumococcal infections in children aged 0-6 years in Denmark: a 19- year nationwide surveillance study,Acta Pediatr Suppl;**89(435)**:3-10.

DIEZ-DOMINGO J, PEREIRO I, MORANT A.(2002).Epidemiology of invasive *Streptococcus pneumoniae* infections in children in Spain, 1996-1998, J Infect;**45(3)**:139-43.

JETTÉL P, DELAGE G, RINGUETTEL.(2001).Surveillance of invasive *Streptococcus pneumoniae* infection in the province of Quebec, Canada, from 1996 to 1998: Serotype distribution, antimicrobial susceptibility, and clinical characteristics, J Clin Microbiol;**39(2)**:733-7.

PRYMULA R,MOTLOVA J, KRIZ P.(2004).Comparison of *Streptococcus pneumoniae* serotypes causing acute otitis media invasive disease in young children in the Czech Republic, Indian J Med Res;**119**:168-70.

ESEL D, SUMERKAN B, KOCAGOZ S.(2001). Epidemiology of penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates in Kayseri, Turkey. Clin Microbiol Infect; 7: 548-52.

BÜYÜKÇELİK Ö; (2011), Klinik örneklerden izole edilen *Streptococcus pneumoniae* suşlarının direnç paterni, Yayınlanmış Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

KEKÜLLÜOĞLU H; (2011), 0-5 yaş arası sağlıklı çocuklarda *Streptococcus pneumoniae* taşıyıcılığı, serotip tayini ve antibiyotiklere direnç, Yayınlanmış Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi.

GÜRSOY B K; (2012), Yedi bileşenli konjuge pnömokok aşısının, nazofarenkadaki *Streptococcus pneumoniae* serotip değişimine ve penisilin direncine etkisi, Yayınlanmış Tıpta Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi.

SARI E N; (2011), Zonguldak ilindeki *Streptococcus pneumoniae* klinik izolatlarının fenotipik ve genotipik yöntemlerle epidemiyolojik değerlendirilmesi, Yayınlanmış Tıpta Uzmanlık Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi.

AKGÜN D B; (2009), *Streptococcus pneumoniae* serotip tayini ve antibiyotiklere direnç, Yayınlanmış Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi.

KUM H; (2008), Nazofaringeal örneklerden *streptococcus pneumoniae*'nin identifikasyonu ve antibiyotik direncinin araştırılması, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

ERDOĞAN B; (2006), Ankara yöresinde, nazofarinks kültürlerinden izole edilen "*Streptococcus pneumoniae*" suşlarının serotip dağılımının, antibiyotik direncinin ve toplumda pnömokok antikorlarının araştırılması, Yayınlanmış Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

TARAKÇI H; (2004), İzmir'de değişik yaş gruplarında nazofarengeal *Streptococcus pneumoniae* taşıyıcılığı ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılık durumu, Yayınlanmış Tıpta Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi.

AKALIN Ş;(2003), Pnömokoklarda penisilin ve diğer antibiyotiklere direnç, Yayınlanmış Tıpta Uzmanlık Tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi.

ÖZDEMİR B;(2003), 0-2 yaş sağlıklı çocuklarda nazofarinkste streptococcus pneumoniae taşıyıcılığı, Yayınlanmış Tıpta Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi.

GRAY BM, CONVERSE GM, DILLON HC. (1980). Epidemiologic studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: Acquisition, carriage and infection during the first 24 months of life, *J Infect Dis* **142**:923.

MUSHER DM.(2000).*Streptococcus pneumoniae*, "Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, Dolin R (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed." kitabında s. **2128**, Churchill Livingstone Inc, London.

TEELE DW.(1998).Pneumococcal infections, "Feigin RD, Cherry JD (eds): *Textbook of Pediatric Infectious Disease*, 4th ed." kitabında s. **1129**, W.B. Saunders Co., Philadelphia.

- TODD J. (2000).Pneumococcal infections, "Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM (eds): *Nelson Textbook of Pediatrics*, 16th ed." kitabında s. 799, W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- DOMINGUEZ A, SALLERAS L, CARDENOSA N.(2002). The epidemiology of invasive *Streptococcus pneumoniae* disease in Catalonia (Spain). A hospital-based study, *Vaccine* 2002; **20**: 2989-94.
- İLKİ A, SAĞIROĞLU P, ELGÖRMÜŞ N, HASDEMİR U, SÖYLETİR. (2006) *Streptococcus pneumoniae* ve *Haemophilus influenzae*'de antimikrobiyal duyarlılık profili: üç yıllık izlem, 7. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Program ve özet kitabı s.245, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No:54, İstanbul.
- NOSKIN GA.(2006).Contemporary Diagnostic and Management of Antimicrobial Resistant Bacteria, Handbooks in Health Care Co, Newtown Pennsylvania.
- FRASER D, GIVON-LAVI N, BILENKO N, DAGAN R.(2001).A decade (1989-1998) of pediatric invasive pneumococcal disease in 2 populations residing in 1 geographic location: Implications for vaccine choice, *Clin Infect Dis* 2001; **33**: 421-7.
- FRITZELL B.(2002).Epidemiology of invasive pneumococcal disease in Europe, *Curr Ther Res Clin Exp*, 2002; **63**: A3-9.
- HEDLUND J, SÖRBERG M, HENRIQUES NORMARK B, KRONVALL G.(2003).Capsular types and antibiotic susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* among children in Sweden, *Scand J Infect Dis*; **35**: 452-8.

- CAN E, KESER M, HATİPOĞLU N.(2006).Streptococcus pneumoniae serotip 20 menenjit vakası, Çocuk İnfeksiyon Hast Derg 2006;**1**: 55-7.
- YALÇIN I, GÜRLER N, ALHAN E.(2006). Serotype distribution and antibiotic susceptibility of invasive Streptococcus pneumoniae diseases isolates from children in Turkey, 2001-2004, J Pediat Eur 2006; **165**: 654-7.
- BOGAERT D, DE GROOT R, HERMANS PWM.(2004).Streptococcus pneumoniae colonization:the key to pneumococcal disease Lancet Infect Dis 2004; **4**: 144-54.
- HEDLUND J, SÖRBERG M, HENRIQUES NORMARK B, KRONVALL G.(2003).Capsular types and antibiotic susceptibility of invasive Streptococcus pneumoniae among children in Sweden, Scand J Infect Dis 2003; **35**: 452-8.
- LINERAS L, ARDANUY C, PALLERES R, FENOLL A.(2010). Changes in antimicrobial resistance, serotypes and genotypes in streptococcus pneumoniae over a 30 year period, Clin Microbiol Infect 2010; **16**: 402-10.
- IMÖHL M, LINDEN VAN DER M, MUTSCHER C, REINNERT R R.(2010). Serotype distribution of invasive pneumococcal disease during the first 60 days of life, Vaccine; **28**: 4758-62.
- YALÇIN I, GÜRLER N, ALHAN E.(2006).Serotype distribution and antibiotic susceptibility of invasive Streptococcus pneumoniae diseases isolates from children in Turkey, 2001-2004, J Pediat Eur; **165**: 654-7.
- COFFEY, T.J., ENRİGH, M.C., DANIELS, M., MORONA, J.K., MORONA, R., HRYNIEWICZ, W. (1998) Recombinational exchanges at the capsular polysaccharide biosynthetic locus lead to frequent serotype

changes among natural isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol*, **27** (1), 73-83.

JIANG, S.M., WANG, L., REEVES, P.R. (2001) Molecular characterization of *Streptococcus pneumoniae* type 4, 6B, 8, and 18C capsular polysaccharide gene clusters. *Infect Immun*, **69** (3), 1244-1255.

WATSON, D.A., MUSER, M.D., JACOBSON, J.W., VE VERHOEF, J. (1993) A Brief History of the Pneumococcus in Biomedical Research: A Panoply of Scientific Discovery. *Clinical Infectious Disease*, **17**: 913-924.

CENGİZ, A.T. (1999). *Streptococcus Pneumoniae*. Ş. Ustaçelebi (Ed.). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* (s.365-369). Ankara: Güneş Kitabevi.

WHITNEY, C.G., FARLEY, M.M., HADLER, J., HARRISON, L.H., BENNETT, N.M., LYNFIELD, R. (2003) Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. *N Engl J Med*, **348** (18), 1737-1746.

MCGEE, L. (2007) The coming of age of niche vaccines? Effect of vaccines on resistance profiles in *Streptococcus pneumoniae*. *Curr Opin Microbiol*, **10** (5), 473- 478.

KYAW, M.H., LYNFIELD, R., SCHAFFNER, W., CRAIG, A.S., HADLER, J., REINGOLD, A. (2006) Effect of introduction of the pneumococcal conjugate vaccine on drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *N Engl J Med*, **354** (14), 1455-1463.

STEPHENS, D.S., ZUGHAIER, S.M., WHITNEY, C.G., BAUGHMAN, W.S., BARKER, L., GAY, K.(2005). Incidence of macrolide resistance in *Streptococcus pneumoniae* after introduction of the pneumococcal

conjugate vaccine: population- based assessment. *Lancet*, **365 (9462)**, 855-863.

BLACK S, SHINEFIELD H, FIREMAN B.(2000). Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. *Pediatr Infect DisJ*; **19**:187-195.

BAKER C N, STOCKER SA, CULVER DH, THORNSBERRY CP.(1991).: Comparison of E-test to agar dilution, broth microdiiution, and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria, *J Clin Microbiol* **29**: 533.

GÜLAY Z.(1999). Antimikrobiyal ilaçlara direnç. In: Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (editörler). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara. Güneş Kitabevi. 1999, 91-108.

CAN E, KESER M, HATİPOĞLU N, SOMER A, SALMAN N, YALÇIN I, GÜRLER N.(2006).Streptococcus pneumoniae serotip 20 menenjit vakası , *Çocuk infek Hast Derg*; **1**:55-7.

COFFEY, T.J., ENRIGHT, M.C., DANIELS, M., MORONA, J.K., MORONA, R., HRYNIEWICZ, W. (1998) Recombinational exchanges at the capsular polysaccharide biosynthetic locus lead to frequent serotype changes among natural isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol*, **27 (1)**, 73-83.

JIANG, S.M., WANG, L.,REEVES, P.R. (2001) Molecular characterization of *Streptococcus pneumoniae* type 4, 6B, 8, and 18C capsular polysaccharide gene clusters. *Infect Immun*, **69 (3)**, 1244-1255.

- MUSHER, D.M. (2000). Streptococcus pneumoniae. Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practices of Infectious Diseases (s.2392-2407). Philadelphia, Pennsylvania: Churchill Livingstone Inc.
- KATHRYN LR.(1995). Streptococcus. Manuel of Clinical Microbiology 6th edition (Eds: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH)'da, Washington D., ASM PRESS, 299-307.
- KOBAYASHI GS, PFALLER MA, ROSENTHAL KE.(1994). Streptococcus and Related gram positive bacteria. Medical Microbiology, 2nd edition London, Mosby-Year Book Inc, 180-198.
- HENRICHSEN, J. (1999) Typing of Streptococcus pneumoniae: Past, Present, and Future. The American Journal of Medicine, 107 (1A), 50S-54S.
- MERA, R.M., MILLER, L.A., DANIELS, J.J., WEIL, J.G., WHITE, A.R. (2005) Increasing prevalence of multidrug-resistant Streptococcus pneumoniae in the United States over a 10-year period: Alexander Project. Diagn Microbiol Infect Dis, **51** (3), 195-200.
- JACOBS, M.R. (1996) Increasing importance of antibiotic-resistant Streptococcus pneumoniae in acute otitis media. Pediatr Infect Dis J, **15** (10), 940-943.
- SÜMERKAN, B. (2002). Streptococcus pneumoniae. A.W. Topçu, G. Söyletir ve M. Doğanay (Ed.). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi (s.1493-1497). İstanbul: Nobel tıp kitabevleri 36.
- TUOMANEN, E.I., AUSTRİAN, R.,MASURE, H.R. (1995) Pathogenesis of pneumococcal infection. N Engl J Med, **332** (19), 1280-1284.

- TÜNGER Ö. (2000). *Streptococcus pneumoniae* İnfeksiyonlarının Patogenezi. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, **30**, 49-55.
- HEATH PT.(2000).Epidemiology and bacteriology of bacterial pneumonias. Paediatr Respir Rev;**1**:4-7.
- BRIDY-PAPPAS AE, MARGOLIS MB, CENTER KJ, ISAACMAN DJ.(2005). *Streptococcus pneumoniae*: Description of the pathogen, disease epidemiology, treatment, and prevention. Pharmacotherapy 2005;**25**:1193-212.
- PIKIS A, CAMPOS JM, RODRÍGUEZWJ, KEITH JM.(2001).Optochin resistance in *Streptococcus pneumoniae*: mechanism, significance, and clinical implications, J Infect Dis;**184**(5):582-90.
- BARIŞ C.(2004). Solunum yolu örneklerinde *S. pneumoniae* 'nin saptanmasında optokin disk duyarlılığı, safrada erime ve PCR yöntemlerinin yeri (Uzmanlık Tezi), İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul.
- JEHL F, CHOMARAT M, WEBER M, GÉRARD A.(2003).De l'antibiogramme à la prescription, BioMerieux yayını s.58, Marcy L'Étoile-France.
- KEARNS AM, WHEELER J, FREEMAN R, SEIDERS PR.(2000). Pneumolysin detection identifies atypical isolates of *Streptococcus pneumoniae*, J Clin Microbiol;**38**(3):1309-10.
- YALÇIN I, GÜRLER N, ALHAN E.(2006).Serotype distribution and antibiotic susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* disease isolates from children in Turkey, 2001-2004. Eur J Pediatr; **165**:654-7.

- LEVINE OS, O'BRIEN KL, KNOLL M, ADEGBOLA RA.(2006).
Pneumococcal vaccination in developing countries. *Lancet* **2**; 367:9526.
- CARVALHO MG, STEIGERWALT AG, THOMPSON T, JACKSON D,
FACKLAM RR.(2003).Confirmation of nontypeable *Streptococcus*
pneumoniae like organisms isolated from outbreaks of epidemic
conjunctivitis as *Streptococcus pneumoniae*, *J Clin Microbiol*; **4(9)**:4415-
7.
- CHANDLER LJ, REISNER BS, WOODS GL, JAFRI AK.(2000) Comparison
of four methods for identifying *Streptococcus pneumoniae*, *Diagn*
Microbiol Infect Dis **37(4)**:285-7.
- DOWSON CG.(2004).What is a pneumococcus, “Tuomanen EI, Mitchell TJ,
Morrison DA, Spratt BG(eds): *The Pneumococcus*” kitabında s.3-14,
ASM, Washington.
- HANAGE WP, KAIJALAINEN T, HERVA E, SAUKKORIPI A, SYRJANEN
R, SPRATT BG.(2005).Using multilocus sequence data to define the
pneumococcus, *J Bacteriol* **187(17)**:6223-30.
- HEEG C, FRANKEN C, LINDEN M, AL-LAHHAM A, REINERT RR.(2005).
Phenotypic and genotypic characterisation of ‘atypical’ *Streptococcus*
pneumoniae isolates by MLST, 15th European Congress of Clinical
Microbiology and Infectious Diseases, p.1134-01-225, Copenhagen.
- KAIJALAINEN T, RINTAMAKI S, HERVA E, LEINONEN M.(2002).
Evaluation of genetechnological and conventional methods in the
identification of *Streptococcus pneumoniae*, *J Microbiol Methods*
51(1):111-8.

- KAWAMURA Y, WHILEY RA, SHU SE, EZAKIT, HARDIE JM.(1999). Genetic approaches to the identification of the mitis group within the genus *Streptococcus*, *Microbiology* **145(Sep)**:2605-13.
- KEARNS AM, WHEELERJ, FREEMANR, SEIDERS PR.(2000). Pneumolysin detection identifies atypical isolates of *Streptococcus pneumoniae*, *J Clin Microbiol* **38(3)**:1309-10.
- KO KS, OH WS, PECK KR, LEE JH, LEE NY, SONG JH.(2005). Phenotypic and genotypic discrepancy of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from Asian countries, *Immunol Medical Microbiol* **45(1)**:63-70.
- LLULL D, LOPEZ R, GARCIA E.(2006). Characteristic signatures of the *IytA* gene provide a basis for rapid and reliable diagnosis of *Streptococcus pneumoniae* infections, *J Clin Microbiol* **44(4)**:1250-6.
- MARTIN-GALIANO AJ, BALSALOBRE L, FENOLL A, DE LA CAMPA AG.(2003). Genetic characterization of optochin-susceptible viridans group streptococci, *Antimicrobial Agents Chemother* **47(10)**:3187-94.
- MESSMER TO, SIMPSON JS, STINSONA, WONG B, CARLONE GM, FACKLAM RR.(2004). Comparison of four polymerase chain reaction assays for specificity in the identification of *Streptococcus pneumoniae*, *Diagn Microbiol Infect Dis* **49(4)**:249-54.
- NEELEMAN C, KLAASSEN CHW, KLOMBERG DM, DE VALK HA, MOUTON JW.(2004). Pneumolysin is a key factor in misidentification of macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* and a putative virulence factor of *S. mitis* and other streptococci, *J Clin Microbiol* **42(9)**:4355-7.

- PIKIS A, CAMPOS JM, RODRIGUEZ WJ, KEITH JM.(2001).Optochin resistance in *Streptococcus pneumoniae*: mechanism, significance, and clinical implications, *J Infect Dis* **184(5)**:582-90.
- RINTAMAKI S, SAUKKORIPI A, SALO P, TAKALA A, LEINONEN M.(2002).Detection of *Streptococcus pneumoniae* DNA by using polymerase chain reaction and microwell hybridization with Europium-labelled probes, *J Microbiol* 2002;**50(3)**:313-8.
- SEKI M, YAMASHITA Y, TORIGOE H, TSUDA H, SATO S, MAENO M.(2005).Loop- mediated isothermal amplification method targeting the *lytA* gene for detection of *Streptococcus pneumoniae*, *J Clin Microbiol* **43(4)**: 1581-6.
- SUZUKI N, SEKI M, NAKANO Y, KIYOURA Y, MAENO M, YAMASHITA Y.(2005).Discrimination of *Streptococcus pneumoniae* from viridans group streptococci by genomic subtractive hybridization, *J Clin Microbiol* **43(9)**:4528-34.
- VERHELST R, KAIJALAINEN T, DE BAERE T.(2003).Comparison of five genotypic techniques for identification of optochin resistant pneumococcus-like isolates, *J Clin Microbiol* **41(8)**:3521-5.
- WHALAN RH, FUNNELL SG, BOWLER LD, HUDSON MJ, ROBINSON A, DOWSON CG.(2006).Distribution and genetic diversity of the ABC transporter lipoproteins PiuA and PiaA within *Streptococcus pneumoniae* and related streptococci, *J Bacteriol* **188(3)**:1031-8.
- WHATMORE AM, EFSTRATIOU A, PICKERILL A.(2000).Genetic relationships between clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus oralis*, and *Streptococcus mitis*: characterization of "atypical" pneumococci and organisms allied to *S.mitis* harboring *S.*

pneumoniae virulence factor- encoding genes, *Infect Immun* 68(3):1374-82.

WINN W, ALLEN S, JANDA W, KONEMAN E, PROCOP G, SCHRECKENBERGER P, WOODS G.(2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Gram-Positive Cocci Part II: Streptococci, Enterococci, and the 'Streptococcus-Like' Bacteria*, 6.baskı, s.672-764, Lippincott Williams Wilkins, Philadelphia.

BLACK S, SHINEFIELD H, FIREMAN B.(2000). Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. *Pediatr Infect DisJ* 2000; **19**:187-195.

YALÇIN I, GÜRLER N, ALHAN E.(2006). Serotype distribution and antibiotic susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* disease isolates from children in Turkey, 2001-2004. *Eur J Pediatr* 2006; **165**:654-7.

LEVINE OS, O'BRIEN KL, KNOLL M, ADEGBOLA RA.(2006). Pneumococcal vaccination in developing countries. *Lancet* **367**:9526.

CUTTS FT, ZAMAN SM, ENWERE G.(2005). Efficacy of nine-valent pneumococcal conjugate vaccine against pneumonia and invasive pneumococcal disease in The Gambia: randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* **365**:1139-46.

JOHNSON AP, WAIGHT P, ANDREWS N. (2007). Morbidity and mortality of pneumococcal meningitis and serotypes of causative strains prior to introduction of the 7-valent conjugant pneumococcal vaccine in England. *J Infect* **55**:394-9.

CASAL J, TARRAGO D.(2003). Immunity to *Streptococcus pneumoniae*: Factors affecting production and efficacy. *Curr Opin Infect Dis*;16:219-24.

DİNLEYİCİ EC, YARGİC ZA.(2009).Current knowledge about an investigational13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV-13).*Expert Rev Vaccines*; 8: 977-986.

KAYSER F.H. (2005). *Color Atlas of Medical Microbiology*.Thieme:241

ARVAS M.(2007). Konjuge Pnömonokok Aşısı, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Aşılarla Güncel Yaklaşım, Sempozyum Dizisi No;59:35-38

Microvision Biochemical Tests.

Erişim:[<http://www.mesacc.edu/~johnson/labtools/Dbiochem/opto.html>].

Erişim Tarihi: 08.01.2012

Meddic.jp. Erişim:[http://meddic.jp/quellung_reaction].

Erişim Tarihi: 08.01.2012