



T.C.
MALTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

1-5 YAŞ ARASI ÇOCUKLARDA
7 VALANLI KONJUGE PNÖMOKOK AŞISININ
NAZOFARENGEAL PNÖMOKOK TAŞIYICILIĞINA ETKİSİ

Dr. BURCU SEVERGE

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİMDALI

DANIŞMAN

Yard. Doç. Dr. TUĞBA ERENER ERCAN

İSTANBUL -2008



T.C.
MALTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

1-5 YAŞ ARASI ÇOCUKLARDA
7 VALANLI KONJUGE PNÖMOKOK AŞISININ
NAZOFARENGEAL PNÖMOKOK TAŞIYICILIĞINA ETKİSİ

Dr. BURCU SEVERGE

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİMDALİ

DANIŞMAN

Yard. Doç. Dr. TUĞBA ERENER ERCAN

İSTANBUL -2008

ÖNSÖZ

Türkiye Cumhuriyeti Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda, uzmanlık eğitimim süresince büyük katkıları olan, tez konumun belirlenmesi ve tamamlanması sırasında da yakın ilgi ve desteğini gördüğüm tez danışmanım Yard. Doç. Dr. Tuğba Erener Ercan ve eşi Yard. Doç. Dr. Rami Gökmen Ercan' a, Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Nüvit Altinkaya başta olmak üzere tüm hocalarıma, çalışma verilerinin elde edilmesi ve değerlendirilmesinde büyük emeği geçen Yard. Doç Dr. Aynur Eren Topkaya' ya teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<u>GİRİŞ</u>	1
<u>GENEL BİLGİLER</u>	3
<u>GEREÇ VE YÖNTEMLER</u>	30
<u>BULGULAR</u>	36
<u>TARTIŞMA VE SONUÇ</u>	42
<u>ÖZET</u>	51
<u>KAYNAKLAR</u>	55

GİRİŞ VE AMAÇ

Doğumdan hemen sonra çocukların nazofarenksi *S. Pneumoniae* gibi normal flora bakterileri dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar tarafından kolonize edilmektedir (1,2). Kolonizasyonu genelde patojenlerin yakın çevredeki bireylere yatay olarak yayılması izlemektedir, bu da toplum içinde patojen yayılımına neden olmaktadır (3, 4). Çocuklarda nazofarengial kolonizasyona katkıda bulunan risk faktörleri yaş, etnik köken, kalabalık ortam, çevresel faktörler ve sosyoekonomik değişkenleri kapsamaktadır. Ailenin büyüklüğü (kardeş sayısı) gelir, sigara ve antibiyotik kullanımı en sık incelenen çevresel özelliklerden bazılarıdır, burada kalabalık ortam ve gündüz bakım merkezlerinde kalmak pnömokokal suşların yayılmasındaki başlıca faktördür (3, 5).

Nazofarengial kolonizasyon genellikle semptomsuz olmakla birlikte bazı çocuklarda üst ve alt solunum yolları enfeksiyonlarına yol açabilir, nadir olarak akut otitis media, paranasal sinüzit, pnömoni, septisemi, bakteriyel menenjit ve beyin absesi gibi invaziv enfeksiyonlara ilerleyebilir. Ayrıca antibiyotiğe dirençli *S. Pneumoniae*'ye bağlı sınırlı sayıda merkezi sinir sistemi dışı enfeksiyon da bildirilmiştir. Bu enfeksiyonlar endokardit, perikardit, aortit, osteomyelit ve septik artriti kapsamaktadır. Küçük çocuklar, yaşlılar ve HIV ile enfekte hastalar gibi azalmış bağışıklık sistem fonksiyonu olan hastalar pnömokok kaynaklı hastalıklar açısından risk gruplarını oluşturmaktadır (6).

Ayrıca penisilin direnci Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Avrupa ve dünyanın geri kalanında son on yıl içerisinde artmış gibi görünmektedir (7-11), bu oran 2000 yılında ABD'de %45'e ulaşmıştır (12).

Dünya genelinde çeşitli bölgelerden artan direnç oranlarına rağmen, ABD'den en son veriler pnömokokal penisilin direnci prevalansında bir azalma ve/veya sabitlik öne sürmektedir (13,14). Bu azalma ya da sabitlik bebeklerin rutin immünizasyonunda 7 valent pnömokokal aşının (7v-PVC, Prevnar[®], Wyeth Pharmaceuticals Inc.) uygulamaya konması ile sadece immünize edilmiş çocuklarda değil ve fakat bir bütün olarak popülasyonda toplumsal bağışıklama etkisi ile pnömokokal direnci azaltmış

olabilir (15). Bu anlamda 7v-PVC'nin gerek pediyatrik taşıma izolatlarında gerekse yetişkin klinik izolatlarında ABD'de %85'den AB'de %60–71.7 ve Asya'da %55 civarında değişen yüksek kapsama oranları sağlayacağı öngörülmüştür (16).

7v-PCV, ticari olarak bulunabilen tek pnömokokal konjugat aşısı, serotip 4, 9V, 14, 19F ve 23F, 2 µg serotip 18C ve 4 µg serotip 6B içermektedir. Prevenar® 7 valent aşısı (Wyeth Pharmaceutical Inc.) Avrupa Birliği'ne üye 25 ülkenin 20'sinde ruhsatlandırılmıştır. 2003 yılında 20 ülkenin 13'ü bu aşının kullanımı ile ilgili ulusal tavsiyeler geliştirmiş ve uygulamaya koymuştur. Tavsiye edilen takvim genellikle yaşamın ikinci veya üçüncü ayından itibaren 1 ila 2 ay ara ile üç dozdur ve en az dokuz üye ülke bir yaşından sonra bir tekrar dozu önermiştir (17). Çoğu ülkede Prevenar'ın iki yaş altı çocuklar ve bazılarında 5 yaş altı çocuklarda kullanımı sınırlandırılmıştır.

7-valent Prevenar® aşısı ABD'de 1999'dan beri ruhsatlıdır. Evrensel bebek immünizasyon programı olarak sunulmasının ardından satış sonrası gözetim çalışmaları, aşılanmış bireylerde aşı serotipleri nedeniyle gerek invazif ve gerekse non-invazif hastalık insidansında büyük bir azalma göstermiştir fakat önemli bir “küme immünitesi”, yani ileri yaşta bağışıklanmamış bireylerde S. Pneumoniae ile ilgili hastalık insidansında önemli bir azalma da göstermiştir. Ayrıca penisiline dirençli S. Pneumoniae suşlarında azalma da gözlenmiştir.

Sanayileşmiş diğer ülkelere benzer şekilde Türk popülasyonundan elde edilen veriler S. Pneumoniae antibiyotik direncinde bir artış göstermektedir.

Prevenar®'ın başarısına dayanarak Dünya Sağlık Örgütü, bu aşının özellikle < 5 yaş çocukları arasında mortalite oranınının 1000 canlı doğumda 50'nin üzerinde olduğu ya da her yıl >50000 çocuğun öldüğü ülkelerde ulusal immünizasyon programlarına dahil edilmesinin bir öncelik olması gerektiğini düşünmektedir. (18)

Bizim çalışmamızın amacı; önemli ve ölümcül hastalıklara neden olan pnömokokların, nazofarengial taşıyıcılığını kolaylaştıran risk faktörlerini ortaya koymak, pnömokokların invaziv serotiplerine karşı geliştirilen 7v-PCV'nin, toplumda önemli bir yayılım yolu olan nazofarengial taşıyıcılık üzerine etkinliğini belirlemektir.

GENEL BİLGİLER

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE ENFEKSİYONLARININ ETKİSİ

Streptococcus Pneumoniae (pnömokok) insanda üst solunum yollarının normal florasının bir parçasıdır. Bakteri Moraksella cattarrhalis, Haemophilus influenzae Neisseria meningitides, Staphylococcus aureus ve çeşitli hemolitik streptokoklar ile birlikte yaşamın ilk yıllarından itibaren nazofarenkste kolonize olur. Genellikle bu kolonizasyon semptomsuzdur fakat zaman zaman üst, alt solunum yollarına ya da akut otitis media, paranasal sinüzit, pnömoni, septisemi, bakteriyel menenjit ve beyin absesine neden olan invaziv enfeksiyonlara ilerleyebilir. Ayrıca antibiyotiğe dirençli S.Pneumoniae'ye bağlı sınırlı sayıda merkezi sinir sistemi dışı enfeksiyonlar da bildirilmiştir. Bu enfeksiyonlar endokardit, perikardit, aortit, osteomyelit ve septik artriti kapsamaktadır. Küçük çocuklar, yaşlılar ve HIV enfekte hastalar gibi azalmış bağışıklık sistem fonksiyonu olan hastalar pnömokoklar tarafından meydana getirilen hastalıklar açısından risk gruplarını oluşturmaktadır (6). S. Pneumoniae hala HIV, malarya ve tüberküloz ile birlikte dünya genelindeki dört büyük ölümcül enfeksiyon hastalığından (19,20) birini temsil etmektedir.

Endüstriyel ve gelişen dünyada enfeksiyon prevalansı ve eğilimleri

S.Pneumoniae ile enfeksiyon, gelişmekte olan ya da gelişmiş herhangi bir ülkenin sağlık hizmetleri sistemi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Dünya Sağlık Örgütü'nün S. Pneumoniae enfeksiyonunun genel etkisine dair güncel bir tahmininde, pnömokok enfeksiyonundan ölen çocukların sayısı 1,6 milyon ölüme yükselirken, bazı bölgelerde bu çocukların %60'ının 5 yaş altında olduğu tahmin edilmektedir. Avrupa Birliği(AB) ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde S.Pneumoniae, yetişkinlerde rastlanan toplumda edinilmiş bakteriyel pnömoninin en sık rastlanan nedeni olarak kabul edilmektedir. Bu bölgelerde invaziv pnömokokal hastalığın yıllık insidansı 100.000 kişide 10 ile 100 kişi arasında değişmektedir (18).

Yoksul ve gelişmekte olan ülkelerde (kişi başı gayri safi milli geliri 1000 doların altında ya da Aşı ve İmmünizasyon Küresel Birliği desteğine uygun ülkeler) 2 yaşın altındaki

çocuklar invaziv pnömokokal hastalığa bağlanan ölümler arasında orantısız olarak temsil edilmektedir. Pnömokokal hastalık frekansı, nüfusa dayalı invaziv pnömokokal hastalık insidans hesapları, pnömokokal hastalık (yani pnömoni ve menenjit) ile ilişkili sendromlar ile morbidite ve mortalitede pnömokokal konjüгат aşilar ile ilişkilendirilebilecek azalmalar esas alınarak hesaplanmıştır. İnvaziv pnömokokal hastalık hesapları Afrika'nın gelişmekte olan ülkelerindeki insidansı 100.000 kişi başına 84 kişiden 554 kişiye çıkarmıştır (21-25). Düşük insidans hesapları, uygun tedavi ve bakıma erişimin daha kolay olduğu şehir bölgelerinden kaynaklanmaktadır. Beş yaşın altındaki çocuklarda invazif pnömokokal hastalık insidansı aynı bölgelerde yılda 111 ile 436/100.000 arasında değişmektedir (22,23). Beş farklı ülkeden kaynaklanan bu sonuçların Afrika'nın tüm gelişmekte olan ülkelerini temsil ettiği kabul edilecek olur ise, bu ülkelerde bulunan 115 Milyon çocuk arasında görülen toplam invaziv pnömokokal hastalık sayısı, yılda 128.000 ile 501.000 arasında olacaktır. Sanayileşmiş ülkelerde invaziv S.Pneumoniae'nin en yaygın göstergesi ampiyem ve/veya bakteriyemi ile birlikte seyreden pnömoni iken, gelişmekte olan ülkelerde non-bakteriyel pnömoni çocuklarda pnömoni ile ilgili ölümlerin çoğunluğunu oluşturmaktadır (21). Bu nedenle yukarıda anılan rakamlar, her yıl Afrika'nın gelişmekte olan ülkelerinde çocuklarda radyoloji ile teyit edilmiş 1 ila 4 milyon pnömoni olgusuna çıkartılabilir (26). Artan bilgilere rağmen pnömokokal hastalığın toplam yükünün hesaplanması zordur, özellikle gelişmiş ülkelerde optimal laboratuvar tesisleri ve antibiyotiklere erişim bir yandan tahmin edilen prevalansın düşük gösterilmesine neden olurken, diğer yandan bu ülkelerde enfeksiyon insidansını kolaylaştırmaktadır.

En sık izole edilen streptokokların tiplerine bakılacak olur ise, serotip 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F ve 23 F çocuklarda invaziv izolatların çoğunluğunu oluşturmaktadır. Bu tiplerden 6B, 9V, 14, 19A ve 19F sıklıkla penisiline dirençli bulunmuştur. Türkiye'de en son gözlemler, en sık izole edilen serotipler olarak serotip 6 (%11,5), 11 (%11,2), 19 (%10,6), 23 (%10,1), 19F (% 7,1), 22(% 6,3) ve 9'u (% 5,5) işaret etmektedir. Penisiline dirençli izolatların çoğunluğunu oluşturan serotipler 20, 23, 14, 6 ve 19 gibi görünmektedir (27,28). Sıklıkla aynı serotip birkaç günden birkaç aya varan uzamış sürelerle sürekli olarak taşınabilmektedir. Ancak çok sayıda serotip aynı nazofarenkste birlikte var olabilmekteyken, çevre ve mevsime göre varyasyonlar da bildirilmiştir. Erkekler kadınlara göre daha yaygın olarak etkilenmekteyken, Siyahlar Beyazlara göre daha sık etkilenmektedir (26). Orak hücre anemisi, aspleni, salgısal bağışıklık

yetmezlikleri, maligniteler ve kompleman eksiklikleri gibi kronik hastalıkları olan hastalarda enfeksiyonun sıklığı ve ciddiyeti artmaktadır.

Taramanın çerçevesi

Bundan sonraki bölümler *S.Pneumoniae*'nin mikrobiyolojik özellikleri ve pnömokokların virülans, kolonizasyon ve enfeksiyon ile doğrudan ilgili yapısal özellikleri hakkında bazı temel bilgiler sunacaktır. Kolonizasyonun dinamikleri ve mekanizmalarının yanı sıra, çocuklarda *S.Pneumoniae* enfeksiyonunun en sık klinikteki görülme şekilleri tarif edilecektir; otitis media, sinüzit, pnömoni ve menenjit. Yatkınlık ve direncin küresel, bölgesel ve ulusal eğilimleri sunulacaktır. Son olarak immünizasyonun güncel stratejileri ile *S.Pneumoniae* enfeksiyonuna karşı geliştirilmiş korumanın gelecekteki perspektifleri ile birlikte aşılamanın önemi ortaya konacaktır.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE'NİN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Kültivasyon, Tanımlama ve Serotipleme

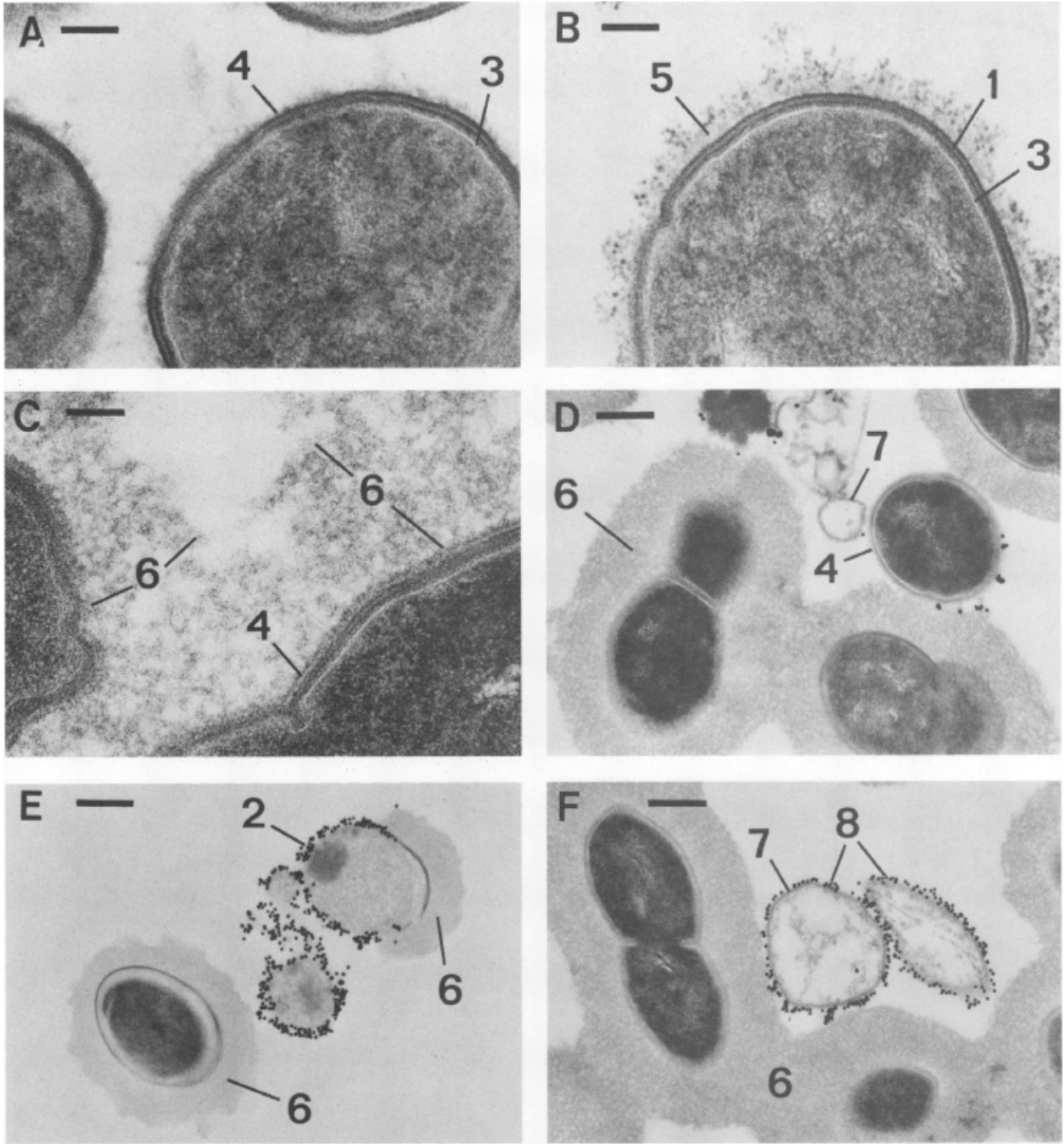
S.Pneumoniae Gram-pozitif, lanset şeklinde, kapsüllü bir koktur. Genellikle kok çiftleri (diplokoklar) olarak görülmekte, fakat tek başına veya zincirler halinde de ortaya çıkabilmektedir. Münferit hücrelerin çapı 0,5 ile 1.25 µm arasındadır. Kan agarı üzerinde kulture edildiğinde koloniler *S. Pneumoniae*'yi A grubu (β hemolitik) streptokoklardan ayırt eden karakteristik bir α hemoliz alanı oluşturmaktadır. Türe özgü kapsüler polisakkaritlerine dayanılarak neredeyse 100 serotipi tanımlanmıştır (29, 30). Bazı pnömokokal polisakkaritlerin antiserumları *E. coli*, grup B streptokoklar ve *H. Influenzae* tip B ile çapraz tepkimeye girmektedir. Ancak yalnızca düzgün kapsüllü suşlar insanda ciddi hastalığa neden olmaktadır. Virülans kısmen kapsül büyüklüğü ile ilgilidir, fakat aynı büyüklükte kapsüle sahip pnömokokal türlerin virülansı çok farklı olabilmektedir. Tamamıyla kapsüllü suşlar (örneğin tip 3) olağanüstü virülanttır. Katı ortam üzerinde pnömokoklar tamamlanmamış bir α-hemoliz alanı ile çevrili, pigmente olmayan, umbilikal koloniler oluşturmaktadır.

S.Pneumoniae otolizinin etkisi aracılığı ile hücreleri bozma ve parçalama entrensek-enzimatik yeteneğine sahip çok kırılğan bir bakteridir. Bu otolizinin fizyolojik rolü,

kültürün, durağan faza ulaştığında tüm kültürü öldüren karakteristik bir otolize uğramasına neden olmaktadır. Pnömonokların hemen hemen tüm klinik izolatları bu otolizini barındırmakta ve optimal koşullar altında üremenin başlamasından 18-24 saat sonra lizize uğramaktadır. Otoliz koloni morfolojisindeki değişiklikler ile uyumludur. Koloniler başlangıçta plato tipi morfoloji ile ortaya çıkmakta, daha sonra otoliz başladığında ise merkezde yıkılmaya başlamaktadır.

Pnömonokların tanıma ve ayırt etme ölçütleri safra veya optokin duyarlılığı, Gram-pozitif boyama ve hemolitik aktiviteye dayanmaktadır. Aerobik koşullar altında oksijen labil hemolizinin neden olduğu β - hemolize dönüşmektedirler. Pnömonoklar genellikle 5 mg'lık bir optokin diskin etrafında 16-mm'lik bir inhibisyon alanı oluşturmakta ve safra tuzları ile lizize uğramaktadır (örneğin deoksikolat).

S.Pneumoniae serotiplemeşi kapsüler polisakkarit yapıdaki farklılık zemininde 90 serotip saptarken, hassas moleküler biyoloji teknikleri 100 kadar serotipi ayırt edebilmektedir. Nazofarengial taşıma izolatları arasındaki serotip dağılımı ülke, yaş grupları ve incelenen popülasyona göre biraz farklılık göstermektedir. Avrupa ve ABD pek çok serotip için küçük farklarla benzer serotip dağılımı göstermektedir. Yunanistan'da 2 yaşından küçük çocuklar arasında en baskın serotipler 6B, 19F, 23F, 14 ve 18C'dir (31). Finlandiya'da serotip 6B, 23F, 19F, ve 6A en yaygın iken (32) Hollanda'da serotip 19F, 6B, 6A, 9V ve 23F, 3 yaşın altındaki çocuklarda en sık rastlanan serotiplerdir (3). Benzer şekilde ABD'de de serotip 6B, 14 19F ve 23 F yaygınken, Asya'da küçük farklılıklar bildirilmiştir.



Şekil 1. Pnömonokokal kapsüllerin ve farklı hücre duvarı ve plazma membranı komponentlerinin immünoelektron mikroskopi ile görüntülenmesi. Aşağıdaki yapılar mikrografiler üzerinde saptanabilmektedir= 1= Hücre duvarının peptidoglikan tabakası, 2= Kolin bağlayıcı protein tabakası (C-Ps), 3= Plazma membranı, 4= Ekstra tabaka, 5= Protein tabakası, 6= Kapsüler tabaka, 7= Plazma membranı, 8= F-antijeni.

Uyarılama: Sorensen et al., 1988. Ultrastructural localization of Capsules, Cell Wall Polysaccharide, Cell Wall Proteins, and F Antigen in Pneumococci.

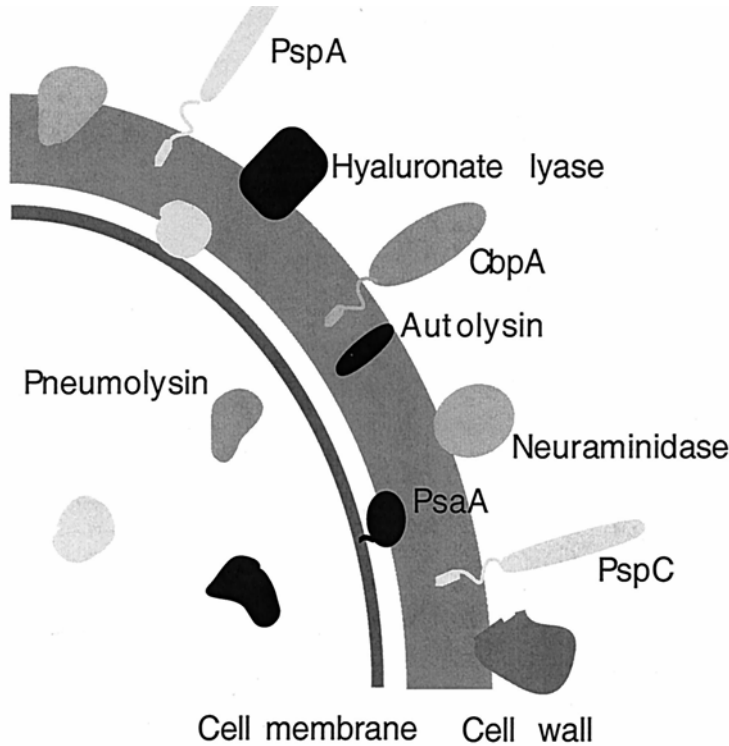
Hindistan'da serotip 6, 14, 19 ve 15 ve Vietnam'da serotip 19, 23, 14, 6 ve 18 bildirilmiştir. İnvaziv enfeksiyonların çoğuna yalnızca birkaç serotipin neden olduğu görülmektedir (33,34). Gündüz bakım evlerinde kalmak ya da üst solunum yolu enfeksiyonu gibi risk faktörlerine sahip çocuklar ile sağlıklı çocuklar arasında serotip dağılımı açısından önemli farklar bulunmamıştır (3,35). İnvazif hastalık homolog serotip ile nazofarengial kolonizasyondan kaynaklanmaktadır (36). Taşınan en yaygın serotiplerin 6B, 19F ve 23 F olduğu görülmektedir. Bu serotipler aynı zamanda daha invazif olarak görülen nadir, aşısız, kolonileşen 8, 38 ve 33F ile karşılaştırıldığında en az invaziv aktiviteyi göstermektedir. Yetişkinlerden izole edilen türlerin dağılımı, çocuklardan izole edilen türlere göre oldukça farklıdır. En önemli pediatrik serotipler 6A, 14, 19F ve 23F çocuklardaki enfeksiyonların neredeyse %60'ından sorumludur (37). Yetişkinlerde serotip 3, 19F ve 6A izolatların %31'inden sorumludur. Serotiplerin coğrafik dağılımı ve prevalansı küresel değişkenlik göstermektedir. Yirmi serotip Birleşik Devletler ve Avrupa'da bildirilen tüm enfeksiyonların yaklaşık %90'ından sorumlu iken, bu serotipleri içeren 23-valent aşısı, örneğin Asya'daki pnömokokal enfeksiyonların <%70'ine karşı ve pnömokokal enfeksiyonların <%50'sine karşı etkilidir (38).

Morfoloji ve yapı

Plazma membranı, hücre duvarı ve kapsül

Pnömokokların genel morfolojisi muhtelif görüntüleme tekniklerinin kullanıldığı çeşitli araştırmalar tarafından oldukça iyi bir şekilde tarif edilmiştir. Genel yapısal özellikler pnömokokal hücreleri, pnömokoklar tarafından yüzeye bırakılan ya da salınan bir dizi protein antijenini bir araya getiren bir polisakkarit kapsül tarafından tamamen sarılmış olarak göstermektedir. Başlıca üç büyük yüzey tabakası mevcuttur, bunlar plazma membranı, hücre duvarı ve kapsül olarak ayrılabilir. Hücre duvarı, polisakkarit kapsül, hücre duvarı, polisakkaritler ve proteinleri bağlayan üç katmanlı bir peptidoglikan omurgadan oluşmaktadır. Kapsül bu üç tabakanın en kalınıdır ve içyapıları tamamen örtmektedir (39). Polisakkarit hücre duvarı tüm pnömokokların ortak özelliğidir, ancak polisakkarit kimyasal yapı ve onun entrensek farklılıkları serotip ayırt etme ve tanımanın temelini oluşturmaktadır (40). Fosforikolin içeren bir teikoik asit, seçilmiş bir C polisakkarit (C-Ps) hücre duvarının peptidoglikan tabakasına kovalent bağ ile bağlanmıştır (41, 42). Bu kolin, insan hücreleri üzerinde yer alan kolin bağlayıcı

reseptörlere yüksek afinite göstermektedir, bu da *S. Pneumoniae* enfeksiyonu mekanizması açısından temel bir özelliktir (43). C-Ps tüm pnömokokların ortak özelliğidir ve bütün halindeki hücrelerin yüzeyleri ile izole hücre duvarlarının dış ve iç kısımlarında bulunabilmektedir (39). Hücrelerin sitoplazmasını kuşatan üç katmanlı hücre duvarı 16 ila 26 nm genişliğindedir ve plazma membranı ile yakından ilişkilidir. Serbest plazma membranları her biri 3 nm kalınlıkta olan (bozulmamış hücrelerde 5 nm) üç tabakadan oluşmaktadır ve asimettiktir (44). Kapsül uzun zamandan beri *S. Pneumoniae*'nin başlıca virulan unsuru olarak kabul edilmiştir. Kapsüllenmiş suşlar kapsüllenmemiş suşlar ile karşılaştırıldığında letal dozda %50'ye kadar farklılık göstermekte ve örtücü kapsülü bulunmayan suşlara göre birkaç kat daha virulan oldukları görülmektedir (45,46).



Şekil 2. *S. Pneumoniae*'nin virulan unsurların şematik olarak gösterilmesi.

Uyarılama: Jedrzejas, 2001. Pneumococcal Virulence Factors: Structure and Function.

Pili ve Yüzey Proteinleri

Her ne kadar *S.Pneumoniae* ilk olarak 19. yüzyılın sonlarına doğru tarif edilmiş olsa da, yüzeyindeki pililer henüz yeni keşfedilmiştir (47). Pililer bakteri yüzeyinden çıkan uzamış saç benzeri yapılardır. Bu tür pililer pek çok *S.Pneumoniae* suşunda tarif edilmiştir (48,49). Gerek Gram- negatif ve gerekse Gram-pozitif pililerin üst solunum yollarının kolonizasyonuna katkıda buldukları gösterilmiştir. Bu pililer invaziv enfeksiyon esnasında konakçı immün sistemi tarafından büyük miktarlarda tümör nekroz faktörünün (TNF) oluşturulmasını kolaylaştırmaktadır, bu da pnömokokal pililerin yalnızca bağlanma ve virülansa katkıda bulunmakla kalmadıklarını ve fakat konakçı enflamatuvar yanıtını da uyardıklarını ortaya koymaktadır. *Streptococcus Pneumoniae* pilusu ilk olarak bilinen yapıda bir klinik serotip olan T4’de keşfedilen r/rA patojenite adacığı tarafından kodlanmaktadır (47). Ancak tüm *S. Pneumoniae* izolatları bu genetik elementi içermemektedir. r/rA operonu aynı zamanda bir LPksTG motifi içeren üç yapısal proteini (RlrA, RlrB ve RlrC) ve üç sortazı (SrtB, SrtC ve SrtD) da kodlamaktadır (47,50). En son araştırmalar RrgA’nın pilusun başlıca adezyonu olarak hizmet ettiğini göstermiştir. Pilus RrgB omurgası yüzeyde yerleşmiş adeziv RrgA demetleri için bir taşıyıcı olarak hizmet etmektedir, bu da konakçı ile etkileşimi kolaylaştırmakta, konakçının immün yanıtını zayıflatmakta ve böylece bakteriyel istilaya katkıda bulunmaktadır (49).

Pnömokokun 500’den fazla yüzey proteini içerdiği tahmin edilmektedir (51). Bazıları membran ile ilişkili lipoproteinlerdir, diğerleri ise fiziksel olarak hücre duvarı ile ilişkilidir. Bu ikinci kategori beş penisilin bağlayıcı proteini (PBP), iki nöroaminidazı (NanA & NanB) ve bir IgA proteazı kapsamaktadır. Pnömokokal yüzey üzerindeki özgün bir protein grubu ise kolin bağlayıcı protein (CBP) ailesidir. On iki CBP kovalent olmayan bağlarla hücre duvarının kolin kısmına bağlanmakta ve muhtelif farklı fonksiyonel elementi bakteriyel yüzeye “tutturmak” için kullanılmaktadır. CBP’lerin tümü ortak bir C-terminal kolin bağlayıcı domeni paylaşırken, CBP’lerin N-terminalleri ayrıdır, bu da bunların fonksiyonlarının farklı olduğunu göstermektedir. CBP ailesi pnömokokal yüzey protein A (PspA), pnömokokal yüzey adezin A (PsaA), üç otolizin LytA, B ve C ile kolin bağlayıcı protein A (CbpA) gibi önemli virülans belirteçleri içermektedir. CBP proteinleri ailesinin dışında pnömokok yüzeyinde diğer proteinler ve enzimler de saptanmıştır. Bu proteinler fonksiyonları nedeniyle *S.Pneumoniae*

enfeksiyonuna karşı gelecekte potansiyel aşı adayları olarak da önerilmiştir= Hiyaluronat liyaz (Hyl) ve pnömölizin (Ply) (51).

S. Pneumoniae virülans faktörleri ve enfeksiyon mekanizmaları

Pnömokokal Yüzey Protein A –PspA

PspA, S. Pneumoniae'nin hücre duvarı üzerinde yerleşmiş değişken moleküler büyüklükte (67-99 kDa) bir yüzey proteindir (52) ve bugüne kadar keşfedilmiş her S. Pneumoniae suşunda bulunmaktadır (53). Büyük ölçüde sarmal, bükülü halka N-terminal ucu hücre duvarından çıkmakta ve muhtemelen kapsülün dışına taşmaktadır (54), bu da proteinin fonksiyonel kısmını ortaya koymaktadır. Diğer yandan C-terminalinin PspA'yı pnömokokal hücre yüzeyine bağladığı görülmektedir. Prolinden zengin bir domen dizgin görevi görmekte ve N-terminal fonksiyonel modülünün daha yüksek esnekliğine ve hareketliliğine izin vermektedir. PspA'nın pnömokoklar üzerinde komplement çökmesi ile etkileşim içinde olduğu ve böylece bakterinin konakçı immün sistemi tarafından opsonizasyonu ve arındırılmasını azalttığı gösterilmiştir (55). Aşı ile indüklenmiş insan PspA antikoru konakçı hücrelerinde PspA etkisi ile etkileşmektedir (56) ve bu nedenle PspA antikoru S. Pneumoniae'nin konakçı immün fonksiyonları ile etkileşme kabiliyetini nötralize veya telafi eden immüniteyi ortaya çıkarabilmektedir.

Pnömokokal yüzey adesi A -PsaA

PsaA S. Pneumoniae'nin virülansına katkıda bulunan bir diğer unsurdur; moleküler ağırlığı 37 kDa'dır ve 309 kalıntıdan oluşmaktadır (57). Farelerde S. Pneumoniae'ye karşı koruyucu özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir (58), zira pnömokokların PsaA-negatif mutantları virülan özelliklerini kaybetmektedir (57). PsaA'nın bakteri sitoplazması içerisine Mn^{2+} ve Zn^{2+} taşıdıklarına inanılmaktadır. Protein S. Pneumoniae'ye bakteriyel hücre membranı vasıtasıyla bağlanırken, boyutları (40 ks 40 ks 40 Å) muhtemelen hücre duvarından taşmasını önlemektedir (42). Ayrıca en son gözlemler edinilmiş PsaA antikoru konakçı farelerin sistemik S. Pneumoniae tehdidine karşı yeterince korunmadığını göstermektedir (59). Bu nedenle PsaA'nın S.

Pneumoniae virulansı üzerindeki rolü ve PsaA yönlendirilmiş antikorun potansiyel koruyucu etkisi halen araştırılmaktadır.

Otolizinler – LytA, B & C

Otolizinler bakteriyel organizmaların peptidoglikan omurgasını bozan, geniş dağılımı olan bir enzim grubunun üyeleridir. Bu hücre duvarı bozucu enzimlerin etkisi er ya da geç hücre lizisine neden olmaktadır. Otolizinler hücre zarfı üzerinde bulunmakta ve hücre büyümesi, turnover ve hücre bölünmesinde görev almaktadırlar (60,61). LytA amidaz en iyi karakterize edilen otolizindir ve S. Pneumoniae patojenitesinde rol oynamaktadır. LytA amidaz, polipeptidin N- ve C- terminal uçları ile ilişkili iki farklı domeninden oluşan 36 kDa bir proteindir. C-terminal ucu teikoik ve lipoteikoik asit kalıntılarının pnömokok yüzeyine bağlanmasından sorumluyken ki bu enzimin litik aktivitesi açısından temel bir adımdır, N-terminali pnömokokal peptidoglikan yapılaraya karşı litik aktiviteden sorumludur (62). LytA'nın pnömokokal virulans üzerindeki kesin rolü hala tartışılmakta iken, hücre duvarı komponentleri ve pnömolizin gibi bakteriyel virülans faktörleri dahil olmak üzere sitoplazmik bakteriyel proteinlerin salımının S. Pneumoniae patojenitesine katkıda bulunduğu öne sürülmektedir (63,64).

Pnömolizin - Ply

Ply otolizinin etkisi ile salınan bir sitoplazmik enzimdir. Bu nedenle Ply'in virülan özellikleri doğrudan otolizinin etkisine bağlıdır. Ply pnömokokların tüm klinik izolatları tarafından üretilen 53 kDa bir proteindir ve kok yüzeyinde bulunmamaktadır. Pnömolizinin sitotoksik etkileri doğrudan fagositi ve immün hücre fonksiyonunu inhibe edebilmekte, bu da konakçı enflamatuvar ve immün yanıtının baskılanmasına yol açmaktadır. Ply'in alveoler epitelyumyal hücreler ve pulmoner endotelyal hücreler ile etkileşimi pnömokokal pnömoni esnasında alveoler ödeme ve kanamaya neden olmaktadır. Ayrıca Ply'in etkisine bağlı olarak bronşiyal hücrelerin alt solunum yollarından mukus temizleme kabiliyeti azalmaktadır ki bu da yine pnömokokal enfeksiyonun daha da yayılmasını kolaylaştırmaktadır (51).

Kolin bağlayıcı protein A – CbpA

CbpA insan konvalesan faz antikoru ile tepkimeye girme yeteneği güçlü olan, yüzeyde bulunan bir proteindir. 663 aminoasitten oluşmaktadır ve 75 kDa moleküler kütleye sahiptir. PspA gibi CbpA'da üç bölgesi, bükülü halka bir yapı göstermektedir, teikoik ve lipoteikoik asit kalıntılarına bağlanmadan sorumlu N-terminal tekrar bölgesi, bir pralin bağ bölgesi ve bir N-terminal fonksiyonel modül. CbpA pnömokok virülansında temel bir rol oynamaktadır, zira pnömokokal hastalığın nazofarenksin kolonizasyonundan invazyona kadar olan gelişiminde etkili olduğuna inanılmaktadır. CbpA koline bağlanma tekrar bölgesi ve hücrelere N-terminal bölgesi bağlanmasını kullanarak teikoik asidin kolini ile konakçı hücre glikokonjüatları arasında köprüleme unsuru olarak görev yapmaktadır (65).

Hiyaluronat liyaz- Hyl

Hyl, PspA ya da pnömolizin ile birleştirilerek pnömokokal aşı veya ilaç hedefi için bir diğer alternatifi temsil edebilir, zira tam pnömokokal virülans açısından çok önemli olduğu düşünülmektedir (66,67). Hyl ekstraselüler matriks komponentlerinin çökmesi aracılığı ile doku invazyonunu kolaylaştıran bir hiyaluronidazdır (68). Hyl etkisinin neden olduğu artmış doku geçirgenliğinin, yara enfeksiyonları, pnömoni, bakteriyemi ve menenjitte rol oynadığı görülmektedir. Temel Hyl substratı, glukuronik asit ve glukosaminden oluşan bir polimerik substrat olan bir hiyaluronandır, bu da ya doğrudan ya da etkileşen substratlar aracılığı ile konakçı savunma mekanizmasından sorumlu iken, yara iyileşmesi ve enflamasyon gibi çeşitli başka biyolojik sürece de dahildir.

Nöraminidaz – Nan

NanA ve NanB *S. Pneumoniae* nöraminidaz enzimlerinin iki formudur. Nöroaminidaz konakçı glikolipileri ve gangliositlerinden siyalik asidi ayırmak suretiyle epitelyal hücrelere bağlanmayı kolaylaştırmaktadır (69), bu nedenle glikanlar üzerindeki etkisi ile kolonizasyonu kolaylaştırmaktadır. Pnömokok patojenitesi üzerindeki fonksiyonu hala tartışmalı olmasına rağmen, hayvan modelleri üzerindeki bazı ön gözlemler nöroaminidaz immünizasyonunun pnömokokal invazyondan koruyucu olabileceğini öne sürmüştür (70). Etkisi konakçı hücrelerin glikozilasyon paternleri ile etkileşmekte ve

konakçı hücre yüzeyinin daha fazlasını açığa çıkarmaktadır, bu da konakçı hücre reseptörlerini pnömokoklar ile etkileşim için ortaya çıkarmakta ve genel pnömokok bağlanmasını arttırmaktadır.

Yukarıda verilen bilgi özetlenecek olursa, polisakkaritler ile protein antijenlerinin karışımından oluşan aşılardan, olası tek-tip koruyucu komponentin yalnızca bir tek karışımına dayalı aşılardan karşılaştırıldığında *S. Pneumoniae* enfeksiyonlarına karşı daha gelişmiş koruma sağlamanın daha olası olduğu sonucuna varılabilir. Konjuge aşılardan polisakkaritleri protein taşıyıcılarla bağlamak suretiyle gelişimi aşının gücünü arttırmış ve bu tür konjugat karışımlar içerisinde bulunan serotipleri azaltmıştır, zira bu tür proteinler tüm serotiplerde bulunmaktadır. Ayrıca polisakkaritlerin bir protein ile kombinasyonu potansiyel olarak immünojeniteyi arttırabilmekte ve polisakkarit antijenlerine hafızayı güçlendirebilmektedir. Bu nedenle gelecekte araştırma doğrudan bu tür aşılardan gelişimi ve değerlendirmesine doğru yönlendirilmelidir.

ÇOCUKLARDA NAZOFARENĞİAL TAŞIMA VE PATOGENEZ

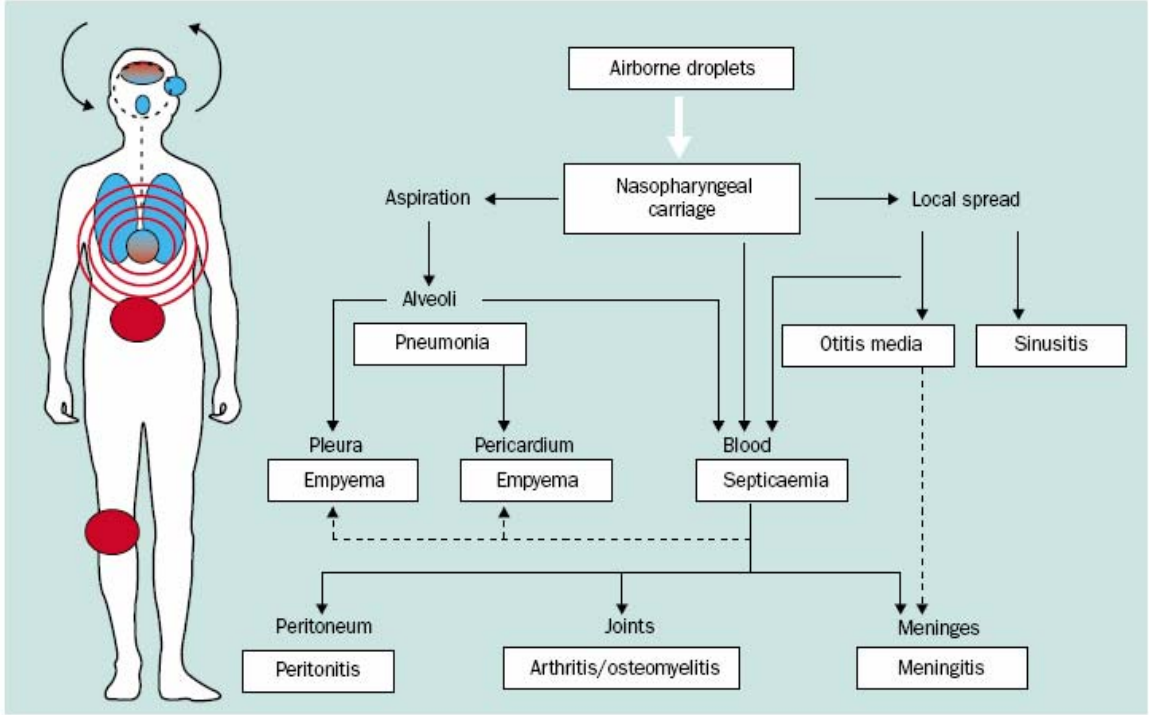
Çocuklarda *S. Pneumoniae* kolonizasyonunun dinamikleri

Doğumdan hemen sonra çocukların nazofarenksi *S. Pneumoniae* gibi normal flora bakterileri dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar tarafından kolonize edilmektedir (1, 2). Kolonizasyonu genelde patojenlerin yakın çevredeki bireylere yatay olarak yayılması izlemektedir, bu da toplum içinde yayılmasına neden olmaktadır (3, 4). Bakteriyel kazanım ve taşımının bildirilen oranları yaşa, coğrafik bölgeye, genetik geçmişe ve sosyoekonomik koşullara bağlıdır (3,71,72). Yerel immün yanıt, patojenlerin üst solunum yollarında dolaşımı üzerinde önemli bir düzenleyici rol oynamaktadır (73). Zayıf bir mukozal immün yanıt enfeksiyon ile sonuçlanan, kalıcı ve tekrarlayan kolonizasyona yol açabilmekteyken, diğer taraftan patojene canlı bir yerel immün yanıt kolonizasyonu ortadan kaldıracak ve yeniden kolonizasyonu önleyebilecektir (74, 75). Yenidoğanlarda mukozal immünite sistemik immüniteye göre daha erken olgunlaşmaktadır ve yaşamın 6. ayından itibaren görülmektedir (75). Çocukların tükürüğü *S. Pneumoniae* enfeksiyonuna yanıt olarak kapsüller polisakkaritler ve yüzey ile ilişkili proteinlere karşı yönelen IgG ve sekretuar IgA antikorları ihtiva

etmektedir (76). Türler arası rekabet nasofarengeal floranın yapısı ile etkileşmektedir. Ayrıca *S. Pneumoniae* *N. meningitidis*, *H. Influenzae* ve *M. catarrhalis* kolonizasyonu üzerine inhibitör bir etki oluşturur gibi görünmektedir ve *S. aureus* gibi başka bakterilerin üremesi ile de etkileşebilmektedir (75, 77, 78). Diğer taraftan farklı *S. Pneumoniae* serotipleri arasındaki rekabet daha az belgelendirilmiştir. Enfeksiyon hayvan modelleri serotip 6B suşu taşıyan farelerin daha az 23F pnömokok kolonizasyonu gösterdiğini ortaya koymuştur (79).

Çocuklarda pnömokokal kolonizasyonun pik insidansının 3 yaşında %55 olduğu bildirilmiştir. İnsidans sonuçlarında düzenli bir artış 10 yaşında %8'lik sabit bir prevalans ile sonuçlanmaktadır (37). Diğer raporlar 20–24 ay arasındaki çocuklarda nazofarengeal taşımanın sıklığının 6 ayın altındaki çocuklarda %13'den, 19 aydan büyük çocuklarda %43'e yükseldiğini gözlemlemiştir (32).

Çocuklarda nazofarengeal kolonizasyona katkıda bulunan risk faktörleri yaş, etnik köken, kalabalık ortam, çevresel faktörler ve sosyoekonomik faktörleri kapsamaktadır. Ailenin büyüklüğü – kardeş sayısı – gelir, sigara ve antibiyotik kullanımı en sık incelenen çevresel özelliklerden bazılarıdır, burada kalabalık ortam ve gündüz bakım merkezlerinde kalmak pnömokokal suşların yayılmasındaki başlıca faktördür (3, 5). Sağlıklı çocuklar ile karşılaştırıldığında, HIV enfekte çocuklar ve orak hücre anemisi olanlar gibi özel risk gruplarında, kolonizasyon oranları arasında büyük farklılıklar yok gibi görünmektedir (80,81).



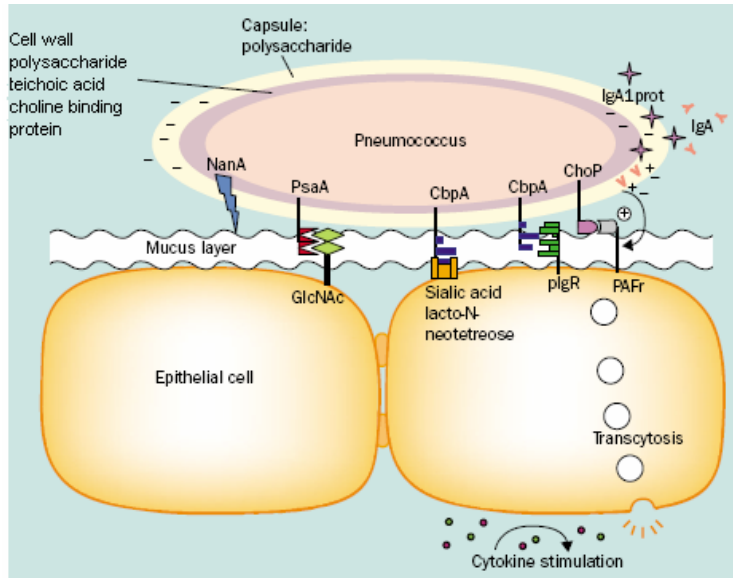
Şekil 3. S. Pneumoniae enfeksiyonunun patojenik yolu. Kaynak 2’den alınmıştır. Havayolu ve hematojenik yollardan enfekte olan organlar seçilmiştir.

Uyarılama: Bogaert et al., 2004. Streptococcus Pneumoniae colonization= the key to pneumococcal disease.

Kolonizasyon Mekanizmaları

Gram pozitif organizmalar tarafından meydana getirilen patogenezi, yukarıda tarif edildiği üzere spesifik, yüzeyde yer alan proteinler ve/veya enzimlerden kaynaklanmaktadır. Bu proteinlerin etki mekanizmaları her zaman çok iyi anlaşılamamıştır, fakat konakçı doku proteinleri ile doğrudan etkileşim ile bakteriyel yüzeyin konakçı savunma mekanizması tarafından örtülmesinin enfeksiyon sürecinde rol oynayan başlıca iki mekanizma olduğu düşünülmektedir. Geleneksel olarak S. Pneumoniae’nin polisakkarit kapsülünün nazofarenksin asemptomatik kolonizasyonundan invaziv enfeksiyona doğru gelişime katkıda bulunan başlıca virülans faktörü olduğu düşünülmektedir. Kapsül elementlerinin azalmış ekspresyonu antikorların pnömokokal yüzeye daha fazla erişimi ile sonuçlanmaktadır (82), bu da immün sistemden arındırmayı kolaylaştırmaktadır. Hücre duvarı, hücre duvarı ile ilişkili yüzey proteinleri ve enzimleri için bir bağlantı olarak hizmet etmektedir ve esasen

konakçı doku enflamatuar hücreleri tarafından sitokin üretimini stimüle etmek suretiyle pnömokokal enfeksiyon ile birlikte görülen enflamatuar yanıtın nedeni olarak kabul edilmektedir (83). Bu nedenle asemptomatik taşımadan invaziv hastalığa taşıma interlökin ve tümör nekroz faktörü gibi enflamatuar faktörlerin lokal oluşumunu gerektirmektedir (84). Tarif edilen invazyon mekanizmalarının en öne çıkan pnömokokal hücre duvarı kolinini ve konakçı epitelyal ve endotelial hücrelerinin stimülasyonundan sorumlu trombosit aktive edici faktör reseptörüne bağlanmayı kapsamaktadır. Bu reseptöre bağlanma pnömokokların intrenalizasyonunu indüklemekte ve solunum epitelyum ile vasküler endotelden göçü teşvik etmektedir, bu da bakteri invazyonu ile sonuçlanmaktadır (84,85). Ayrıca CbpA spesifik sitokin elementlerine artmış afinite göstermektedir – konakçı hücreleri aktive etmekte, bu da mukozal bariyerden göçü doğrudan arttırmaktadır. Kolonizasyon ve invazyona karşı etkin bir koruma geliştirerek, gelecekte aşılarda bakteriyel proteinlerin, gerek pnömolizin ve PspA gibi yüzey ile ilişkili proteinlerin, gerekse kolin bağlayıcı proteinlerin kesin rolünü göz önünde bulundurmalıdır.



Şekil 4. S. Pneumoniae ve epitel host hücreler arasındaki etkileşim. Neiramidase (NanA) mukusun viskozitesini azaltır ve epitel hücrelerdeki N-acetyl-glycosamine reseptörlerini açığa çıkartır, bu da pnömokokal yüzeyle etkileşime girer – PsaA gibi ilgili proteinler.

Uyarılama: Bogaert et al., 2004. Streptococcus Pneumoniae colonization: the key to pneumococcal disease.

Çocuklarda Streptococcus Pneumoniae İle İlgili Hastalıklar

Otitis Media

Orta kulağın enflamasyonu, çocukluk çağının en yaygın hastalığıdır ve ABD’de yılda yaklaşık bir tahminle 25 milyon çocuk doktoru ziyaretinden sorumludur. Otitis media efüzyonlu ve efüzyonsuz akut otitis media, kolesteatomlu ve kolesteatomsuz kronik süperlativ otitis media ve timpanik membran/orta kulak/mastoidin atelettazisi olarak ayrılmaktadır. Çocukların yaklaşık üçte ikisi 3 yaşından önce bir otitis media atağı geçirmektedir ve çocukların %50’si aynı zamana kadar iki veya daha fazla atak geçirmektedir. Bebekler ve küçük çocuklar en yüksek risk altındadırlar, zira 6 ile 13 ay arasında bir pik sürekli olarak literatürde bildirilmektedir. Otitis media kış ayları boyunca en yaygındır, zira pek çok atak üst solunum yolları enfeksiyonları ile ilişkilidir. Hastalığın klinik belirtileri otalji, ateş, işitme kaybı ve kırıklığı kapsarken, otere, iritabilite, letarji, anoreksiya, bulantı, kusma, diyare ve baş ağrısı daha az ortaya çıkmaktadır.

S. Pneumoniae otitis mediaya neden olan en yaygın saptanan bakteri iken (olguların %30-50’si), H. influenzae ve M. catarrhalis zaman zaman dahil olmaktadır (sırasıyla %20-30 ve %1-5). Hastalığın patofizyolojisi östaki tüpü disfonksiyonunu kapsamaktadır ve çocuğun üst solunum yolları enfeksiyonuna yatkınlığı ile artmaktadır. Asli görevleri orta kulağı nasofarenks sekresyonlarına korumak olmasına rağmen, östaki tüpleri, orta kulak boşluğunu nasofarenkse bağlamakta ve bakteriyel invazyonun doğal yolunu oluşturmaktadır. Yetişkinler ile karşılaştırıldığında çocuklarda östaki tüplerinin oluşumundaki anatomik farklılıklar ve nasofarenkste adenoidlerin varlığı ilave bir enfeksiyon kaynağı olarak rol oynayabilmekte ve çocukların hastalığa yatkınlığını arttırabilmektedir. Yaşları daha küçük olan çocuklar viral üst solunum yolları enfeksiyonlarına armış bir sıklıkta maruz kalmaktadırlar. Bu enfeksiyonlar östaki tüpü mukozasında ödeme yol açmakta, bu da artmış östaki tüpü disfonksiyonuna neden olmaktadır. Otitis media insidansındaki artışa katkıda bulunan risk faktörleri S. Pneumoniae enfeksiyonu risk faktörleri ile örtüşmektedir. Kalabalık bölgelerde yaşayan ve nikotine maruz kalan çocuklar artmış otitis media atakları insidansı göstermektedirler.

Geleneksel olarak tercih edilen antibiyotik amoksisilindir, zira en sık karşılaşılan bakteriye karşı genellikle etkilidir, oral ajanlara karşı en iyi farmakodinamik profile sahiptir ve uzun bir güvenlik kaydı ile beraber bulunmaktadır. Akut otitis medianın yaygın olarak verilen oral antibiyotikler ile tedavisinin etkinliği %80 ila 85'e ulaşmaktadır. Yüksek dozlarda amoksisilin (%80–90 mg/kg/ 24 saat) 10 günlük bir tedavide iyi tolere edilemektedir. Dirençli S. Pneumoniae açısından düşük riskli oldukları bilinen hastalar geleneksel 40-45 mg/kg/24 saat amoksisilin dozu ile tedavi edilebilmektedir. Dirençli S. Pneumoniae açısından göz önünde bulundurulması gereken risk faktörleri < 2 yaşında gereksiz antibiyotik maruziyeti ile gündüz bakım merkezlerinde bakımı kapsamaktadır. Tablo 1 çocuklarda akut otitis media tedavisi için önerileri göstermektedir.

Daha önceki ayda antibiyotik	İlk gün	Üçüncü gün klinik olarak tanımlanan tedavi başarısızlığı	On ila 28. günler arasında klinik olarak tanımlanan tedavi başarısızlığı
HAYIR	Yüksek doz amoksisilin (80-90 mg/kg/gün) veya geleneksel doz amoksisilin (40-45 mg/kg/24 saat)	Yüksek doz amoksisilin – klavulanat, Sefuroksim aksetil (30 mg/Kg/gün) veya Seftriakson (tek intramusküler enjeksiyon halinde 50 mg/Kg)	Gün 3 ile aynı
EVET	Yüksek doz amoksisilin (80-90 mg/kg/gün) Yüksek doz amoksisilin-klavulanat (80-90 mg/Kg/gün amoksisilin, 6,4 mg/Kg/gün klavulanat) ¹ veya Sefuroksim aksetil (30 mg/Kg/gün)	Seftriakson (tek intramusküler enjeksiyon halinde 50 mg/Kg, 3 gün boyunca her gün) ² Klindamisin (40 mg/Kg/gün) ³ veya Timpanosentez	Yüksek doz amoksisilin-klavulanat(80-90 mg/Kg/gün amoksisilin, 6,4 mg/Kg/gün klavulanat) Sefuroksim aksetil, Seftriakson (50 mg/Kg intramusküler olarak) veya Timpanosentez

Tablo 1. Çocuklarda akut otitis media tedavisi önerileri

¹Daha yeni formülasyon veya amoksisilin ile kombinasyon gerektirmektedir.

²Günde 3 doz verildiği takdirde Seftriakson'un AOM tedavisindeki başarısızlıklarda etkinliği belgelenmiştir.

³Klindamisin Haemophilus influenza veya Moraxella catarrhalis'e karşı etkili değildir.

Uyarılama: Kenna, 2001; Nelson. Textbook of Pediatrics. Behrman, Kliegman, Jenson (eds).

İnatçı kulak ağrısı ve/veya ateş gibi klinik iyileşmede eksiklikler tedavi başarısızlığının belirtileri olarak değerlendirilmelidir. ABD’de otitis medialis çocuklardan elde edilen 4400’den fazla pnömokokal izolatlar üzerinde yapılan bir çalışma izolatların %64’ünün penisiline duyarlı olduğunu bildirmiştir, %23’ü penisiline orta direnç göstermiş ve %13’ü ise yüksek direnç göstermiştir (86). Alternatif tedavi rejimleri oral sefuroksim aksetil, oral amoksisilin–klavulanat veya tek bir intramusküler seftriakson enjeksiyonunu kapsamaktayken, sefaklor ve sefiksim yukarıdaki ajanlara karşı etkili bulunmamıştır (87-89). Klindamisin ve azitromisin gibi diğer ajanlar pnömokokal otitis media tedavisindeki rollerini tayin etmek açısından yeterince değerlendirilmemiştir, fakat penisiline duyarlı olmayan suşların makrolitlere karşı duyarlı kalmaya devam etmeleri nedeniyle makrolitlerin akut otitis media tedavisinde etkin bir tedavi sağladığı görülmektedir (90).

Paranasal Sinüzit

Çocukluk çağı sinüziti kolaylıkla ortaya çıkabilmekte fakat kolaylıkla farkedilememektedir. Her viral rinit olgusu aynı zamanda bir viral rinosinüzit olgusudur. Hastalığın spektrumu kendinden sınırlı viral rinosinüzit, akut bakteriyel sinüzit, subakut bakteriyel sinüzit ve kronik sinüziti kapsamaktadır. Akut sinüzitli çocuklarda ortaya konan organizmalar genellikle akut otitis mediada görülenler ile aynıdır. *S. Pneumoniae*, *M. catarrhalis* ve *H. influenzae*. Maksiller ve etmoid sinüsler uterusda mevcuttur, ancak frontal sinüsler 1-2 yaşlarında gelişmekte fakat sfenoid sinüsler ile birlikte radiografilerde görülmeye 5 yaşında başlamaktadır. Ostianın her sinüs kavitesine açılan anatomik pozisyonu silier motiliteyi sinüs enfeksiyonlarının en önemli yönü haline getirmektedir. Diğer taraftan normal mukosilier taşımayı bozan faktörler sinüzit riskini arttırmaktadır. Bu gibi faktörler sigara içmeyi, soğuk ve kuru havayı, üst solunum yolları enfeksiyonlarını, alerjik riniti, gastroözofangeal reflüyü, immün yetmezliği ve silier diskinizeyi kapsamaktadır.

Baş ağrıları, yüz ağrıları, gerginlik ve yüzde ödem adolesanlarda ve yetişkinlerde ortaya çıkarken, çocuklardaki en yaygın belirtiler öksürük ve burun akıntısıdır. Boğaz ağrısı, kötü kokulu nefes, azalmış koku alma ve ateş de çocuklarda sinüzite eşlik edebilmektedir. Üst solunum yolları enfeksiyonu yaygın olduğundan ve genellikle 7 ila

10 günlük tedaviden sonra iyileştiğinden, bu semptomların sürmesi halinde sinüzit tanısı konmalıdır. Çocuğun 39°C'nin üzerinde ateşi olması halinde, pürülan burun akıntısı, baş ağrısı ve gözlerde şişme görülmesi durumunda akut sinüzit ortaya çıkabilmektedir. Subakut ya da kronik sinüzit 30 günden fazla öksürük ve burun akıntısı gibi semptomlarla tanımlanmaktadır.

Tedavi genellikle etkili antimikrobiyal tedaviden oluşmaktadır. Amoksisilin otitis media için de tarif edildiği gibi tercih edilen antibiyotiktir. β -laktamaz üreten bakterilerin (*H. influenzae* ve *M. catarrhalis*) yaygın olduğu bölgelerde amoksisilin- klavunat, makrolitler ve 2. 3. nesil sefalosporinler ile tedavi de göz önünde bulundurulmaktadır.

Pnömoni

Pnömonokokal pnömoni insidansındaki büyük düşüşe rağmen, özellikle gelişmiş ülkelerde, *S. Pneumoniae* akciğerlerin bakteriyel enfeksiyonlarının hala en yaygın sebebidir. Enfeksiyon yolu üst hava yolları ile nasofarenksten oluşmaktadır, bu da bir veya daha fazla lobda ya da lobların bazı kısımlarında ödeme yol açmaktadır.

Bebeklerde pnömonokokal pnömoni, tıkalı burun, huysuzluk ve iştahsızlık ile belirti vermekte, bunu ateş, huzursuzluk, endişe ve solunum sıkıntısı izlemektedir. Çocuklar ve adolesanlarda semptomlar yetişkinlerdekiyle aynıdır. Hafif bir üst solunum yolları enfeksiyonunu sıklıkla ürpermenin başlaması ve ardından ateş izlemektedir. Bu semptomlara halsizlik, hızlı soluma ve kuru verimsiz öksürük eşlik etmektedir. Pnömonokokal pnömoni sıklıkla bronşiolit, konjestif kalp yetmezliği, akut bronşiestazi alevlenmeleri ve pulmoner abse ile karıştırılmaktadır.

Parenteral penisilin G veya oral amoksisilin, en son kılavuzlara göre penisiline duyarlı pnömonokokal izolatlar için tercih edilen ajanlar olarak değerlendirilmektedir. Pnömoni penisiline dirençli bir *S. Pneumoniae* suşu tarafından meydana getirildi ise, o takdirde bir üçüncü nesil sefalosporin (sefotaksim 150 mg/kg/gün – seftriakson 75 mg/kg/gün) alternatif olarak değerlendirilmektedir. Amoksisilin, amoksisilin-klavulanat veya sefuroksim aksetil ile oral tedavi başlangıçta ayakta hasta idaresi açısından ya da alternatif olarak parenteral antibiyotik tedavisinin ardından tedavinin tamamlanması

açısından etkili olabilmektedir (91). Kritik derecede hasta olan hastalar için ya da immün sistemi tehdit edici durumlarda vankomisin de başlangıç tedavisi rejimi açısından düşünülebilmektedir.

Penisilin, sefalosporinler, karbapenemler, vankomisinler ve florokinolonların penisiline dirençli suşlar tarafından meydana getirilen enfeksiyonların tedavisindeki etkinliği muhtelif hayvan modelleri üzerinde araştırılmıştır. Bakterinin akciğerlerden temizlenmesinde ve mortalitenin azaltılmasında daha yüksek penisilin dozlarının alt dozlar üzerinde üstünlüğü söz konusudur. Sefotaksim ve seftriakson genellikle duyarlı suşlara veya penisiline orta derecede dirençli suşlarda etkiliyken (92, 93), seftriakson sefalosporine dirençli izolatların tedavisinde sefotaksime göre daha üstün görünmektedir (94). Son olarak vankomisin ve imipenemin sefalosporinler ve penisilinler ile karşılaştırıldığında en aktif ajanlar oldukları gösterilmiştir (95). Bu ajanların pnömokokal pnömonide antibiyotik tedavisi olarak kullanılması ile birlikte bu enfeksiyonlara bağlı komplikasyonlar nadir görülmektedir. Antibiyotik öncesi dönemin yüksek mortalite oranları, %20–50, belirgin bir şekilde azalmıştır ve bebeklik ve çocukluk çağı mortalite oranı artık %1'den az iken, uzun dönem morbidite düşüktür.

Menenjit

Bakteriyel menenjit bebeklerde ve daha büyük çocuklarda potansiyeli en yüksek ciddi enfeksiyonlardan biri olarak değerlendirilmektedir ve yüksek akut komplikasyon oranı ve kronik morbidite riski ile ilişkilidir. Ensefalit ile birlikte menenjit difüz enfeksiyonların en karakteristik örneklerindedir. Menenjit esasen meninkslerin tutulumunu ifade ederken, ensefalit beyin parenkiminin tutulumunu göstermektedir. 2 ay – 12 yaş arası çocuklarda bakteriyel menenjit genellikle *S. Pneumoniae*, *N. Meningitides* veya *H. İnfluenzae* nedeniyle ortaya çıkmaktadır. *H. influenzae* aşılarının yaygınlaşmasından önce 5 yaş altındaki çocuklar arasında bakteriyel menenjit olgularının yaklaşık %70'i *H. İnfluenzae*'ye bağlı olarak meydana gelmekteydi. Bu bakterilere karşı 2 aylık gibi erken bir dönemde evrensel immünizasyonun başlatılması *H. influenzae* menenjiti insidansında belirgin bir düşüşe yol açmıştır (96). Dolayısıyla bakteriyel menenjitin ortalama ortaya çıkma yaşı 1985'de 5 aydan 1995'de 25 yaşa

çıkıştır, bu nedenle bildirilen menenjit enfeksiyonlarının çoğu artık *S. Pneumoniae* veya *N. Meningitidis* ile ilişkilendirilebilmektedir (97).

İleti şekli muhtemelen solunum yolları aracılığı ile kişiden kişiye temastır. Başlıca menenjit riski genç yaşlarda spesifik patojenlere karşı immünite eksikliği iken, diğer riskler patojenik bakteri ile yeni kolonizasyon, gündüz bakım merkezlerinde bakım, okullar vs. kapsamaktadır. Erkek cinsiyet, siyah ırk, yoksulluk ve yaşamın ilk yarısında emzirmenin olmayışı gibi diğer demografik faktörler de ifade edilmiştir (98). *S. Pneumoniae* enfeksiyonuna bağlı menenjit insidansı yaklaşık 1–3/100.000 kişi olarak tahmin edilmekteyken, enfeksiyon, bebeklik ve çocukluk çağında daha yaygın olmakla birlikte, yaşamın herhangi bir diliminde de ortaya çıkabilmektedir (97).

Menenjite genellikle birkaç gün üst solunum yolları ve gastrointestinal semptomlar öncülük etmekte, bunu artan letarji ve iritabilite gibi santral sinir sistemi enfeksiyonunun non-spesifik bulguları izlemektedir. Ender olgularda ani bir başlangıcı izleyen hızlı gelişen bir şok belirtisi, yaygın intravasküler koagülasyon ve azalmış bilinç düzeyleri ortaya çıkabilmekte ve ilk 24 saat içerisinde ölüm ile sonuçlanabilmektedir. Ancak en belirgin menenjit bulgusu ise sistemik enfeksiyon ve meningeal iritasyondur.

Hastalığın ilk belirtisi genellikle terapötik yaklaşımı belirlemektedir. Bebeklerde ve çocuklarda menenjite tercih edilen tedavi şekli *S. Pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. Meningitidis*'in özellikle penisilin ve sefalosporinlere karşı duyarlılık profiline dayanmaktayken, antibiyotikler serebrospinal sıvıda bakterisidal düzeye ulaşmalıdır (99). B-laktamlara karşı *S. Pneumoniae*'ye direncin giderek artan sıklığı, üçüncü nesil sefalosporinler ile tedavide bir değişikliği gerekli kılmıştır (vankomisin ile birlikte seftriakson ve sefotaksim önerilmektedir) (100).

Komplike olmayan penisiline duyarlı *S. Pneumoniae* menenjit tedavisi 10–14 günlük üçüncü nesil bir sefalosporin veya intravenöz penisilin ile tamamlanmalıdır. İzolatın penisiline ve üçüncü nesil sefalosporine dirençli olması halinde, tedaviye vankomisin uygulaması eşlik etmelidir. Komplike olmayan *N. meningitidis* menenjiti 5–7 gün süre ile tedavi edilmekteyken, komplike olmayan *H. influenzae* menenjiti toplamda 7–10 gün süre ile tedavi edilmelidir. Kortikosteroidler, deksametason, IV de uygulanmaktadır, zira bakterilerin serebrospinal sıvı içerisinde süratle öldürülmeleri meningeal enfeksiyonu etkin bir biçimde sterilize etmekte ve sitokin aracılığı ile

oluşturulan enflamatuvar yanıtın kontrol edilmesine yardımcı olmaktadır (100). Akut bakteriyel menenjit semptomları gösteren 6 haftalıktan büyük çocuklara genellikle 2 gün süre ile 6 saatte bir 0.15 mg/kg/doz verilirken, 12 saatte bir 0,4 mg/kg/doz kullanılmaktadır. Her ne kadar bu sonuçların çoğu pnömokokal enfeksiyonlardan ziyade H. influenzae enfeksiyonundan kaynaklanıyor olsa da, kortikosteroid alanların klinik çalışmalarda düşük serebrospinal sıvı protein düzeyleri, daha az ateş ve kalıcı işitme kaybında azalma gibi bir dizi faydalar gösterdikleri bildirilmektedir (101).

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE YATKINLIĞI VE DİRENCİ

Antimikrobiyal direncin genel seyri

Antimikrobiyal ajanlara pnömokokal direncin tarihçesi pnömokokal enfeksiyonları tedavi etmek için ilk denemelerden olan optokin kullanımına kadar gitmektedir. İnsanda optokine dirençli ilk S. Pneumoniae suşu 1917 gibi erken bir tarihte izole edilmiştir, fakat optokin tedavisi de ciddi yan etkileri (görme kaybı) nedeniyle terk edilmiştir. Aynı şekilde bir diğer ajan olan sulfonamid de pnömokokal enfeksiyonları tedavi etmek amacıyla uygulamaya konmuş ve dirençli suşlar süratle bildirilmiştir (102).

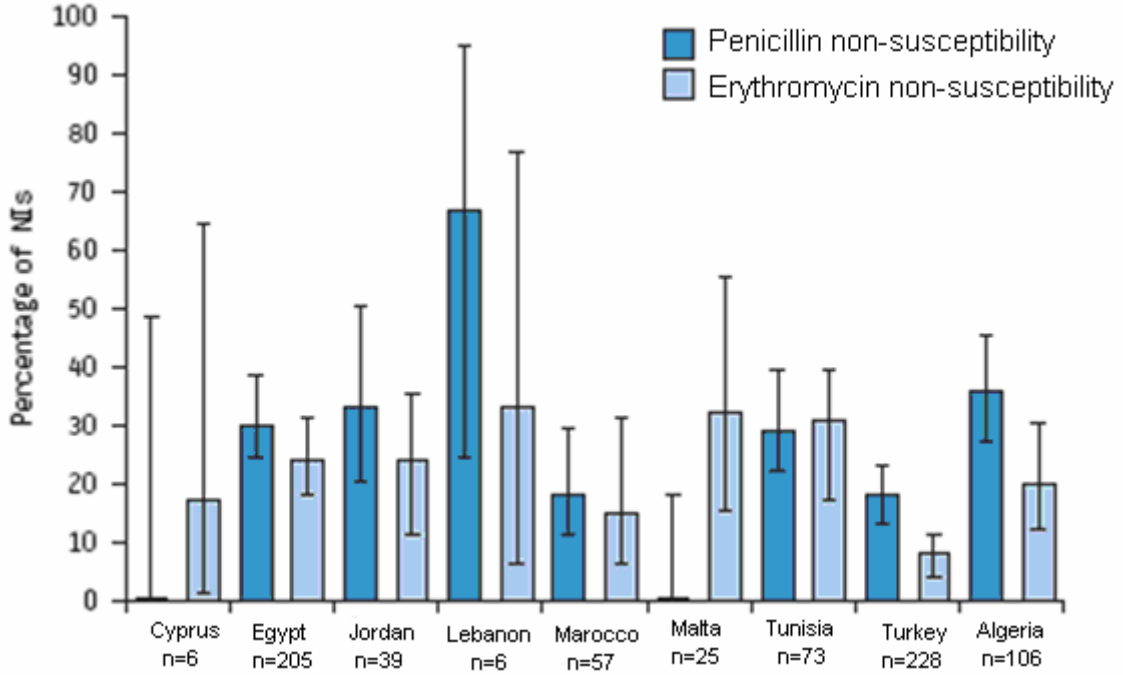
Penisiline dirençli terimi literatürde en yaygın haliyle ≥ 0.1 mg/ L penisiline ve 1 mg/L'ye kadar dirençli tüm suşlara uygulanmaktayken, minimal inhibitör konsantrasyonu (MIC) ≥ 2 mg/L olan tüm suşlar yüksek oranda dirençli suşlar olarak kategorize edilmektedir (103). Hastalardan izole edilen penisiline dirençli ilk pnömokokal mutantlar literatürde 1960'ların başlarında önce Avustralya'da, ardından Yeni Gine'de bildirilmiştir (104). Birkaç yıl içerisinde penisiline dirençli suşların dağılımı ile ilgili raporlar dünya geneline yayılmıştır (105). Ayrıca penisilin direnci ABD, Avrupa ve dünyanın geri kalanında son on yıl içerisinde artmış gibi görünmektedir (7-11), bu oran 2000 yılında ABD'de %45'e ulaşmıştır (12).

Antimikrobiyal direnç demografik özelliklere, özellikle de yaş ve çocuk bakım merkezlerinde ve yetimhaneler gibi diğer kalabalık yerlerde bakım gibi özelliklere göre değişiyor gibi görünmektedir. ABD'de S. Pneumoniae izole suşları arasında antimikrobiyal direnç eğilimleri ile ilgili en son raporlar eritromisin, penisilin ve

levoflaksine sırasıyla %29.3, %21.2 ve %0.9 direnç bildirmektedir (12). Avrupa'dan raporlar, yetimhaneler ve çocuk kreşleri gibi özel ortamlarda gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen raporlar penisiline duyarlı olmayan *S. Pneumoniae* suşlarını %36.2'ye yükseltirken, %11.8'inin penisiline tam olarak dirençli olduğu bildirilmektedir (106). Avrupa'daki daha yüksek duyarlı olmayan düzeyler Yunanistan ve İspanya'dan bildirilmiştir. Ulusal düzeyde *S. Pneumoniae* direnci üzerine Yunanistan'da gerçekleştirilen bir araştırma gündüz bakım merkezleri ve kreşlerde bakılan çocukların nasofarenkslerinden izole edilen 780 izolatu ve 89 yetişkinin *S. Pneumoniae* izolatını incelemiştir. Yıllara göre duyarlı olmama oranları < 6 yaş çocuklarda trimetoprim/sulfametoksazol için %44,2, penisilin için %34.7, eritromisin için %33.5, tetrasiklin için %26.4, sefuroksim için %25.1 ve seftriakson için %1.0 olarak verilmiştir. Yetişkinlerde bu oranlar trimetoprim/sulfametoksazol= %40.4, penisilin= %48.3, eritromisin= %48.3, tetrasiklin= %32.6, sefuroksim %46.1 ve seftriakson %5.6 olarak bildirilmiştir. Penisilin, sefuroksim ve seftriaksona yüksek düzeyde direnç pedyatrik taşıma izolatlarının %14.4, %23.3 ve %0.1'i için kaydedilmişken, yetişkinlerden elde edilen klinik izolatlarda ilgili oranlar %25.8, %38.2 ve %2.2 olarak bulunmuştur. İki antimikrobiyal ajanda direnç bildirilmemiştir= levofloksasin ve moksifloksasin (107). Aynı yüksek direnç oranları İspanya için de bildirilmiştir, orada < 4 yaş çocuklarda toplamda suşların %51.7'si penisiline dirençli bulunurken (> 4 yaş hastalarda %29), siprofloksasin MIC \geq 2 mg/L izolatların %2.4'ünde bulunmuştur (108).

Dünya genelinde çeşitli bölgelerden artan direnç oranlarına rağmen, ABD'den en son veriler pnömokokal penisilin direnci prevalansında bir azalma ve/veya sabitlik öne sürmektedir (13, 14). Bu azalma ya da sabitlik antimikrobiyal ajanların daha iyi ve daha uygun reçetelendirilmesi ve kullanımına ve ayrıca yetişkinlerde solunum yolları enfeksiyonları tedavisinde flukinolonların uygulanmasına, daha geleneksel ajanların ikame edilmesi ve ilişkili direnç oranlarının düşürülmesine bağlanabilir. Son olarak ve muhtemelen daha da önemli olarak bebeklerin rutin immünizasyonunda 7 valent pnömokokal aşının (7v-PVC, Prevenar[®], Wyeth Pharmaceuticals Inc.) uygulamaya konması sadece immünize edilmiş çocuklarda değil ve fakat bir bütün olarak popülasyonda toplumsal bağışıklama etkisi ile pnömokokal direnci azaltmış olabilir (15). Bu anlamda 7v-PVC'nin gerek pedyatrik taşıma izolatlarında gerekse yetişkin

klirik izolatlarında ABD’de %85’den AB’de %60-71.7 ve Asya’da %55 civarında değişen yüksek kapsama oranları sağlayacağı öngörölmüştür (16).



Şekil 5. Katılan ARMed merkezlerinden bildirilen izole edilmiş Streptococcus Pneumoniae’de penisiline ve eritromisine duyarlı olmama yüzdesi.

Uyarılama (109). Borg et al., 2006. Antibiotic resistance in the southeastern Mediterranean – preliminary results from the ARMed project.

Türkiye’de Streptococcus Pneumoniae Antimikrobiyal Direnci

Son zamanlarda Türk popölyasyonunda nasofarengeal taşıma ve antibiyotik direnci üzerine yeni veriler yayınlanmıştır. İki farklı çocuk kliniğine gelen 564 sağlıklı bebek üzerinde gerçekleştirilen bir çalışma yakın bir zamanda %22.5’lik genel bir pnömokokal taşıma oranı bildirmiştir. Pnömokokal taşıma oranı yaştan (> 2 ay) ve aynı ev içerisinde okula giden bir başka çocuğun varlığından büyük ölçüde etkilenmiştir. Bu çalışmada en sık izole edilen serotipler 11, 23, 19F, 22, 9, 19 ve 23B iken, 7, 11 ve 13v-PVC ile sağlanan koruma sırasıyla %51,2, %59,0 ve %59,0 olarak bulunmuştur (28).

Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Merkezi’nde gerçekleştirilen ve solunum yolları enfeksiyonu olan ve ayakta tedavi gören yaklaşık 90.000 hastayı

kapsayan bir erken dönem araştırması penisiline düşük düzeyde direnç %3.03 iken, penisiline yüksek düzeyde direnç bulunmadığını bildirmiştir. Eritromisin, tetrasiklin, sefuroksim, seftriakson ve trimetoprim-supfametoksasol direnci sırasıyla %13.9, %48.9, %10.5, %3.9 ve %21,9 olarak bulunmuştur (110).

Daha küçük, ancak daha homojen bir kentsel popülasyon üzerinde gerçekleştirilen bir başka, daha yeni araştırma %37,2'lik bir taşıma oranı saptamıştır. Orta ve yüksek penisilin direnci sırasıyla %33,9 ve %5.4 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada taşıma oranı oda sayısı ve çocuğun yaşı ile ters orantılı iken, penisilin direnci son iki ay içerisindeki antibiyotik kullanımı ile ilişkili bulunmuştur (111).

Beş farklı şehirde yürütülen bir başka çalışmada da benzer sonuçlar bildirilmiştir (orta ve yüksek penisilin direnci sırasıyla %24.6 %7.6), bu çalışma da yine şehirler arasında büyük varyasyon – %2.4 ile %36.9 arasında değişen orta ve %0 ile %23.8 arasında değişen yüksek direnç – göstermiştir (112).

Sanayileşmiş diğer ülkelere benzer şekilde Türk popülasyonundan elde edilen veriler *S. Pneumoniae* antibiyotik direncinde bir artış göstermektedir. Yayımlanan çalışmaların çoğu penisilin direncine atıfta bulunmaktadır, bu nedenle çalışmaları diğer antimikrobiyal ajanları kapsayacak şekilde genişletmeye ihtiyaç vardır.

S. Pneumoniae enfeksiyonlarına karşı güncel tedavi stratejileri ve aşılamanın önemi

Uluslararası piyasalarda *S. Pneumoniae* enfeksiyonlarına karşı profilaksi ve koruma sağlamak amacıyla halihazırda iki tür aşı pazarlanmaktadır. Bir 23–valent polisakkarit pnömokok aşısı (PVP) uzun yıllardır dünya genelinde mevcuttur ve 1980'den beri 22 AB ülkesinde ruhsatlandırılmıştır. Pnömomokal 7–valent polisakkarit – protein konjugat aşısı Prevenar[®], (Wyeth Pharmaceuticals Inc) dünya genelinde pek çok ülkede ruhsatlandırılmıştır, ABD'de 2000'den beri ve AB'de 2001'den beri.

Polisakkarit Pnömomokok Aşısı (PPV), iki yaşından büyük hastalarda invaziv pnömokokal hastalıklara karşı koruma sağlamaktadır (113). PPV'nin hedef popülasyonu, immün sistem bozukluğu olan hastalar, yani HIV enfeksiyonu olanlar ve yaşlılar, gibi pnömokokal enfeksiyon riski yüksek olan bireylerdir. 7v-PCV, halihazırda ticari olarak

bulunabilen tek pnömokokal konjugat aşısı, 0.5 ml doz içerisinde 2 µg polisakkarit serotip 4, 9V, 14, 19F ve 23F, 2 µg serotip 18C ve 4 µg serotip 6B içermektedir. Bu serotiplerin her biri toksik olmayan difteri CRM 197 proteinine konjugedir ve antikor yanıtını güçlendirmek amacıyla bir alüminyum fosfat üzerine absorbe edilmiştir. 7v-PVC bu serotiplere karşı korumanın yanı sıra 2 yaşından küçük hastalarda da endikedir ve invazif hastalığa karşı daha uzun süre kalıcı bir immünite sağlama özelliği ile karakterizedir (114). 7-valent Prevnar® aşısı ABD’de 1999’dan beri ruhsatlıdır. Evrensel bebek immünizasyon programı olarak sunulmasının ardından satış sonrası gözetim çalışmaları, aşılanmış bireylerde aşı serotipleri nedeniyle gerek invaziv ve gerekse non-invaziv hastalık insidansında büyük bir azalma göstermiştir. Fakat önemli bir “küme immünitesi”, yani ileri yaşta olan ve bağışıklanmamış bireylerde S. Pneumoniae ile ilgili hastalık insidansında önemli bir azalma da göstermiştir (115). Ayrıca penisiline dirençli S. Pneumoniae suşlarında azalma da gözlenmiştir.

23 valent PPV aşısı 1980’den itibaren 25 AB ülkesinin 22’sinde ruhsatlandırılmıştır. Avrupa’da aşı, Sanofi-Pastuer MSD ve Wyeth Pharmaceuticals Inc. tarafından üretilmektedir. Halihazırda bu aşının uygulanması ile ilgili ulusal tavsiyeler Portekiz dışında Avrupa Birliği’ne üye 25 ülkenin tümünde mevcuttur. PPV tavsiyeleri bulunan tüm ülkeler invazif pnömokokal hastalık riski yüksek grupları hedefleyen stratejileri uygulamaya koymuştur. En az dört ülke üç ila altı yıl sonra en azından antikor düzeyleri hızla düşenler gibi bazı gruplar için bir tekrar dozu önermiş olsa da, tavsiye edilen aşı takvimi genellikle tek dozdur. Üye ülkelerin çoğunda aşılama dalak disfonksiyonu, immünsüpresyonu, kronik pulmoner hastalığı (CPD), kronik kalp hastalığı ve kronik karaciğer hastalığı olan bireylerde önerilmekteyken, çoğu ülkede yaşlılar (> 65 yaş) için de aşılama önerisi bulunmaktadır. 23 valent PPV ile aşılanan diğer hedef gruplar koklear implantları olanlar, kronik böbrek hastalığı olanlar, kronik durumları olan yolcular, tekrarlayan pnömokokal enfeksiyonları olanlar ve Down sendromu olanlardır (17). Ülkelerin çoğu aşıyı ya ücretsiz olarak sağlamakta ya da masraflarını iade etmektedir.

Prevenar® 7 valent aşısı (Wyeth Pharmaceutical Inc.) Avrupa Birliği’ne üye 25 ülkenin 20’sinde ruhsatlandırılmıştır. 2003 yılında 20 ülkenin 13’ü bu aşının kullanımı ile ilgili ulusal tavsiyeler geliştirmiş ve uygulamaya koymuştur. Tavsiye edilen takvim genellikle yaşamın ikinci veya üçüncü ayından itibaren 1 ila 2 ay ara ile üç dozdur ve en

az dokuz üye ülke bir yaşından sonra bir tekrar dozu önermiştir (17). Çoğu ülkede Prevenar'ın iki yaş altı çocuklar ve bazılarında 5 yaş altı çocuklarda kullanımı sınırlandırılmıştır.

Birleşik Devletler'de bebeklikte 7v-PVC ile 3 doz immünizasyon ve 12-15 aylıkken bir tekrar dozu almış çocuklar radyolojik pnömonide %30.3'lük bir azalma göstermişlerdir. Gelişmekte olan ülkelere, konjüge pnömokokal aşının pnömoniye karşı etkinliği de belgelenmiştir ve %20 -%35 arasında değişmektedir (116). Prevenar®'ın başarısına dayanarak Dünya Sağlık Örgütü bu aşının özellikle < 5 yaş çocukları arasında mortalite oranınının 1000 canlı doğumda 50'nin üzerinde olduğu ya da her yıl >50000 çocuğun öldüğü ülkelerde ulusal immünizasyon programlarına dahil edilmesinin bir öncelik olması gerektiğini düşünmektedir (18).

Gelecekteki eğilimler ve yönelimler

Protein taşıyıcısı olarak H. Influenzae'nin protein D'sini kullanan ve Prevenar® plus serotipleri 1, 4 ve 7F içerisinde bulunan serotipleri içeren bir 10 valent aşının 2008'de ruhsatlandırılması beklenmektedir. Prevenar® ile aynı taşıyıcı proteine sahip ve 10-valent aşının içerisinde bulunanlara ek olarak 3, 6A ve 19A serotiplerini içeren bir 13-valent aşının 2010'dan önce sunulacağı öngörülmektedir. Ayrıca 20'den fazla konjüge aşı ile yaygın protein aşı formülasyonları erken gelişim aşamasında bulunmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yeni aşılar karşısındaki genel duruşu WHO kalite koşullarını taşımanın dışında tüm yeni aşılarının güvenli olması gerektiği ve tüm hedef popülasyonlarda ilgili hastalık üzerinde önemli bir etkisinin bulunması gerektiğini ifade etmektedir; bebekler ve küçük çocuklar için amaçlandıklarında ise ulusal çocukluk çağı immünizasyon programlarınının takvim ve zamanlaması içerisinde kolaylıkla adapte edilebilmeli; aynı anda yapılan diğer aşılara immün yanıt ile etkileşim içerisinde olmamalı; genel teknik sınırlamaları karşılayacak şekilde formüle edilmeli ve farklı pazarlar için uygun şekilde fiyatlandırılmalıdırlar.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Ekim 2007-Nisan 2008 tarihleri arasında Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yürütüldü. Çalışmaya, bu tarih aralığında Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran ve yaşları 12-59 ay arasında değişen, 7 valanlı konjuge pnömokok aşısı ile aşılanmış 138 sayıda olgu ve kontrol grubu olarak 109 sayıda aşısız olgu olmak üzere toplam 247 sağlıklı çocuk dahil edildi.

Yedi valanlı pnömokok aşısı olan PREVENAR® (Wyeth) ile tüm aşı dozları yaşlarına uygun olarak tamamlanmış ve son aşı dozundan en az 3 ay geçmiş olan olgular aşı grubuna dahil edildi. Aşılı olguların aşılamaları Amerikan Pediatri Akademisinin aşı şemasında (119) önerilen şekilde uygulandı. (Tablo 2) .

Muayene zamanı	İmmünizasyon öyküsü	Önerilen rejim
2-6 ay	0 doz	3 doz,2 ay arayla;12-15 ayda dördüncü doz
	1 doz	2 doz, 2 ay arayla;12-15 aylıkken dördüncü doz
	2 doz	1 doz, son dozu takiben 2 ay; 12-15 aylıkken dördüncü doz
7-11 ay	0 doz	2 doz, 2 ay arayla;12 aylıkken üçüncü doz
	7 aylıktan önce 1 veya 2 doz	7-11 aylıkken 1 doz,12-15 aylıkken tekrar dozu diğer doz(≥ 2 ay sonra)
12-23 ay	0 doz	2 doz, ≥ 2 ay arayla
	12 aylıktan önce 1 doz	2 doz, ≥ 2 ay arayla
	1 doz ≥ 12 aylık	1 doz, son dozu takiben ≥ 2 ay sonra
	12 aylıktan önce 2 veya 3 doz	1 doz, son dozu takiben ≥ 2 ay sonra
24-59 ay	hiç tamamlanmayan şema	1 doz, son dozu takiben ≥ 2 ay sonra

Tablo 2. Daha Önce İmmünize Olmayan ve Kısmen İmmünize Olan Çocuklarda "Catch-Up" İmmünizasyonu İçeren 7v-PCV7 Dozları İçin Aşı Şeması

Uyarılama: Red Book 2006, Enfeksiyon Hastalıkları Komite Raporu, 27.Baskı: 564.

Taşıyıcılık ve Penisilin Direnci İçin Risk Faktörlerinin Sorgulanması

Taşıyıcılık için suçlanan risk faktörleri aşıllı grup ve kontrol grubuna kabul edilen çocukların anne veya babalara yöneltilen bir anket* aracılığıyla sorgulandı.

*ANKET(Anne ve/veya babaya sorulacak sorular)

1-ADI-SOYADI:

2-DOĞUM TARİHİ –YAŞI:

3-PREVENAR AŞISI YAPILDI MI? YAPILDI İSE KAÇ DOZ? SON DOZ TARİHİ?

4-KAÇ AY ANNE SÜTÜ ALDI?

5-ÇOCUĞUNUZ KREŞE GİDİYOR MU YA DA KREŞE/OKULA GİDEN KARDEŞİ VAR MI?

6-EVDE KAÇ KİŞİ YAŞIYOR?

7-EVDE SİGARA İÇEN KİŞİ VAR MI?

8-SON 1 AY İÇİNDE ANTİBİYOTİK KULLANDI MI, KULLANDIYSA NE SEBEPLE KULLANDI?

1.Son 1 ay içinde antibiyotik kullanımı: Son 1 ay içinde en az bir kez antibiyotik kullanımı olarak tanımlandı.

2.Kalabalık evde yaşam: Çocuğun yaşadığı evde kendisi dahil 5 ve üzeri birey yaşaması olarak tanımlandı.

3.Kreşe gitme ve kreşe giden kardeş öyküsü: Altı yaşından küçük çocuklarda gündüz bakımevi, anaokulu gibi kurumlara devam etme ya da kardeşin bu gibi kurumlara gitmesi olarak tanımlandı.

4.Anne sütü ile beslenme: Bir yıl ve üzeri anne sütü ile beslenme olarak tanımlandı.

5.Evde sigara alışkanlığı olan birey varlığı: Çocuğun yaşadığı evde , miktarı ve düzeni ne olursa olsun, sigara alışkanlığı olan birey varlığı şeklinde tanımlandı.

Örnekleme sırasında akut solunum yolu enfeksiyonu geçiren veya antibiyotik kullanmakta olan olgular çalışmaya alınmadı.

Örneğin Alınması ve Kültürü

Polikliniğe başvuran sağlıklı çocuklardan kültür için, steril eküvyonlarla nazofenks sürüntüsü alındı. Nazofarengial sürüntü örnekleri Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniklerinde, tez yürütücüsü hekim tarafından alındı. Örnek alımı, steril eküvyon çubuğu burun deliğinden farenks duvarına kadar ilerletilip, 5 saniye beklendikten sonra geri çekilerek yapıldı.

Nazofarengial sürüntü örnekleri Carry-Blair transport besiyerinde mikrobiyoloji laboratuvarına iletildi. Laboratuvarda, örnekler çukulatamsı ve %5 koyun kanlı Müeller-Hinton agara azaltma yöntemiyle ekilerek, 18 saat 35 °C 'de inkübe edildi.

Üreme olan besiyerlerinde karakteristik pnömokok morfolojisi gösteren koloniler tek koloni olarak düşürüldükten sonra çoğaltılarak identifikasyon yapıldı. Mikroorganizmanın pnömokok olduğunun doğrulanması amacıyla optokin duyarlılık testi yapıldı.

Optokin Duyarlılık Testi

Optokin bir kinin derivativesidir. *S. pneumoniae*'nin üremesini çok düşük konsantrasyonlarda inhibe eder. Optokin duyarlılığı için 5 µg. ticari disk (Oxoid) kullanıldı. Duyarlılığı araştırılacak bakterinin üç-dört kolonisi %5 koyun kanı içeren Mueller-Hinton agara diffüz olarak ekilip orta kısmına bir optokin diski yerleştirildi. Ekim yapılan plak 35 °C ısıda 18-24 saat inkübasyonda bekletildikten sonra inhibisyon zon çapı \geq 16 mm olan suşlar *S. pneumoniae* olarak kabul edildi.

S. pneumoniae olarak saptanan suşlar antibiyotik duyarlılık deneyleri ve serotiplenmeleri yapılincaya kadar gliserinli Todd- Hewith broth stok besiyerinde -70 °C' de stoklandı.

Antibiyotik duyarlılık deneyleri yapılırken, tüm suşlarda penisilin ve seftriakson dışındaki tüm antibiyotikler için Kirby-Bauer disk difüzyon metodu kullanıldı. Penisilin ve seftriakson için E test yöntemiyle minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC) araştırıldı.

Kirby-Bauer Disk Difüzyon Metodu

Doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi ile 0.5 Macfarland olacak şekilde bakteri süspansiyonu hazırlandı. Yüzde 5 (%5) Koyun kanlı Mueller-Hinton agara inoküle edildi. Antibiyotik diskleri yerleştirildikten sonra 35°C 'de %5 CO₂ atmosfer koşullarında inkübe edildi. Zon çapları değerlendirilirken aşağıdaki tablo kullanıldı (Tablo 3).

ANTİBİYOTİKLER	ZON ÇAPLARI		
	R	I	S
Eritromisin	≤15	16-20	≥21
Trimetoprim/sulfametoksazol	≤15	16-18	≥19
Klindamisin	≤15	16-18	≥19
Ofloksasin	≤12	13-15	≥16
Tetrasiklin	≤18	19-22	≥23
Vankomisin			≥17
Rifampin	≤16	17-18	≥19
Kloramfenikol	≤20		≥21
Levofloksasin	≤13	14-16	≥17

Tablo 3. Disk difüzyon yöntemi için antibiyogram zon çapları

E- Test Yöntemi ile Pnömonokoklar için MIC Değerlerinin Saptanması

İzole edilen *S. pneumoniae* suşlarının penisilin ve seftriakson için MIC değerleri saptandı. MIC saptanmasında penisilin, seftriakson E test stripleri (Manufacturer= AB BIODISK, Sweden) kullanıldı.

Doğrudan koloni süspansiyonu yöntemiyle hazırlanan bakteri süspansiyonları, %5 koyun kanlı Mueller-Hinton agara inoküle edildi. E test stripleri altlarında hava kalmayacak şekilde agara yerleştirildi. Ekim yapılan plaklar 37 °C’ de 20-24 saat inkübe edildikten sonra sonuçlar Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) M100-S17 (2007) kriterlerine göre değerlendirildi. Üreme zonunun stripleri kestiği noktaya denk gelen antibiyotik konsantrasyonu minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) olarak değerlendirildi.

Penisilin için; MIC ≤ 0,06 µgr/ml olanlar duyarlı, MIC 0,1-1,0 µgr/ml olanlar orta derecede dirençli, MIC ≥ 2,0 µgr/ml olanlar yüksek düzey dirençli olarak kabul edildi. Seftriakson için; MIC ≤ 1 µgr/ml olanlar duyarlı, MIC ≥ 2 µgr/ml olanlar orta dirençli MIC ≥ 4 µgr/ml olanlar dirençli olarak kabul edildi.

Nazofarengial sürüntü örneklerinden izole edilen pnömokok suşlarında 7 valanlı pnömokok aşısının içerdiği 4, 6b, 9v, 14, 18c, 19f, 23f aşı tiplerinin varlığı araştırıldı. Bu amaçla, 4 ve 14 serotipleri için lam aglütinasyonu (Denka Seiken) uygulandı. Steril serum fizyolojik kullanılarak hazırlanan bakteri süspansiyonu ile eşit miktardaki antiserumlar lam üzerinde karıştırıldı. İki dakika içinde oluşan aglütinasyon reaksiyonu pozitif kabul edildi.

6b,9v,18c,19f,23f serogrupları için ise pnömokok antiserumları (Statens Serum Institut) kullanılarak kapsül şişme reaksiyonuna (Quellung) göre değerlendirme yapıldı. Bu yöntemler sonucu tiplendirilemeyen pnömokok suşları, aşı dışı tip olarak kabul edildi.

Kapsül Şişme Reaksiyonu

- 1.Örnek kültür lam üzerine damlatılır (1–4 µ/lt). Alternatif olarak kanlı agar örneğindeki koloniler fosfat tamponlu tuz solusyonu ile karışık halde bulunur.
- 2.Eşit düzeyde antiserum eklenir ve karıştırılır.
- 3.Hızlı bir şekilde bu karışımın üzeri kapatılır.
- 4.Karışım faz kontrast mikroskop altında değerlendirilir. Reaksiyon ilk yarım saat içinde değerlendirilir.
- 5.Kapsül görünür hale geldiğinde reaksiyon pozitif olarak değerlendirilir.

İstatistiksel Yöntemler

Araştırmamızdaki istatistiksel değerlendirmeler IBM uyumlu PC ile Tadpole Release 2.01 ve SPSS version 11.5 programları kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel değerlendirmelerde Fisher Exact testi, X^2 testi ve Pearson X^2 testi kullanılarak Yates düzeltmesi yapılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya 7 valanlı konjuge pnömokok aşısı ile aşılanmış 138 sağlıklı çocuk ile kontrol grubu olarak 109 aşısız (toplam 247) sağlıklı çocuk dahil edildi.

Çalışmaya alınan 247 sağlıklı çocuğun yaş ortalamaları 3.16 ± 1.16 olarak bulundu (yaş aralığı 1–4.9 yaş).

Yüz otuz sekiz aşılı olgunun 67 tanesi(%48,5) kız ve 71 tanesi (%51,5) erkekti. Aşılı olguların yaş ortalamaları $2,89 \pm 1,05$ (yaş aralığı 1,2-4,9 yaş) idi.

Kontrol grubunu oluşturan 109 aşısız olgunun 51 tanesi (%46,8) kız ve 58 tanesi (%53,2) erkekti. Aşısız olguların yaş ortalamaları $3,5 \pm 1,22$ (yaş aralığı 1–4,9 yaş) idi. Aşılı ve aşısız grupta istatistiksel olarak yaş farkı yoktu.

Son 1 ay içinde antibiyotik kullanan olgu sayısı, aşılı grupta 28 (%20), aşısız grupta 26 (%24) idi. En sık kullanılan antibiyotikler amoksisilin klavunat, 2. kuşak sefalosporin (sefuroksim aksetil), 3.kuşak sefalosporin (seftriakson) idi. En sık antibiyotik kullanım sebepleri tonsillit, akut üst solunum yolu enfeksiyonu, otit olarak sıralandı. Her iki grup arasında antibiyotik kullanım sıklığı açısından istatistiksel bir fark yoktu.

Aşılı 138 olgunun çoğu (65 tanesi; % 47) 2 yaşından itibaren tek doz aşılanmıştı. Tek doz aşı olanların aşılanma sırasındaki yaş ortalamaları $2,57 \pm 0,7$ (yaş aralığı: 2–4,33) idi.

Aşılı olgular içinde 1 doz aşı olanların sayısı 65 (% 47,1), 2 doz aşı olanların sayısı; 34 (% 24,6), 3 doz aşı olanların sayısı 25 (%18,1), 4 doz aşı olanların sayısı 14 (%10,1) olarak bulundu.

Aşılı olgularda son aşıdan sonraki en yakın örnek alınma zamanı ve en uzak örnek alınma zamanı sırasıyla, 3–36 ay idi. Ortalaması 11,3 ay olarak saptandı.

Aşılı grup ve kontrol grubuna kabul edilen çocuklarda taşıyıcılık için suçlanan risk faktörleri ile taşıyıcılık arası ilişkide, evde 5 ve üzeri kişi yaşaması hariç ($p=0,01$) sorgulanan diğer risk faktörleri için istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Toplam 247 olgunun 32 tanesinin nazofarenksinde pnömokok izole edildi (% 12,9). Stok besiyerinde - %70 C' de saklanan 32 suşun 2 tanesi çözdürme işlemi sonrasında kaybedildi. Toplam 30 pnömokok suşundan antibiyogram, E Test ve serotipleme işlemi yapıldı.

138 aşılı olgunun 14'ünde (% 10,1); 109 aşısız olgunun 18'inde (% 16) pnömokok izole edildi. Her 2 grup arasında üreme yüzdesi açısından istatistiksel fark bulunamadı.

Aşılı olguların 6'sında aşı dışı serotip (% 4,3) ve diğer 7'sinde aşı serotipi (% 5) üredi. Bu 7 aşı serotipinin 5'i 23F, 1'i 4 ve 1'i 6B olarak saptandı. Üreme olan 13 aşılı hastanın 4'ü 1 doz, 6'sı 2 doz, 3'ü 3 doz aşı olmuşlardı.

Aşısız olguların sadece 2'sinde (%1,8) aşı dışı serotip üretirken 15'inde (% 14) aşı serotipleri üredi. Aşısız olgularda üreyen aşı serotipi en sık serotip 19F (6/17=%35) ve ikinci sıklıkta serotip 4 ve 23F (3/17=%17) olarak bulundu. Tablo 4' de aşılı ve aşısız grupta serotiplerin ayrıntıları belirtilmiştir.

SP serotipleri	Aşılı Çocuklarda	Aşısız Çocuklarda	Toplam
Aşı serotipleri			
4	1	3	4
6b	1	2	3
9v	0	0	0
14	0	0	0
18c	0	1	1
19f	0	6	6
23f	5	3	8
Aşı dışı serotipler	6	2	8
Toplam	13	17	30

Tablo 4. Aşılı ve aşısız grupta serotip dağılımları

Aşılanmış çocuklarda aşı serotipi pnömokok üremesi aşılanmamış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulundu ($p=0,035$).

Aşı dışı serotip pnömokok üremesinde ise her 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,11$).

Üreme olan aşıli hastalardaki aşı dozları ve serotip dağılımları aşağıdaki tablo 5’de belirtilmiştir.

1.suş	1 doz	23f
2.suş	2 doz	Aşı dışı serotip
3.suş	2 doz	23f
4.suş	1 doz	4
5.suş	2 doz	23f
6.suş	2doz	23f
7.suş	1doz	23f
8.suş	3doz	Aşı dışı serotip
9.suş	2doz	Aşı dışı serotip
10.suş	2doz	Aşı dışı serotip
11.suş	1doz	Aşı dışı serotip
12.suş	3doz	6b
13.suş	3doz	Aşı dışı serotip

Tablo 5. Aşıli grupta uygulanan aşı dozları ve serotip dağılımları

Pnömokok üreyen aşıli olgularda son aşı dozundan örnek alınımına kadar geçen ortalama süre 15 ay ve üreme olmayan aşıli olgularda 11,2 ay olarak bulundu. Üreme saptanan ve saptanmayan aşıli olgular karşılaştırıldığında aşılardan örnek alınımına kadar geçen süre açısından istatistiksel bir fark saptanmadı ($p=0,15$).

Üreyen 30 pnömokok suşunun 4’ü penisiline hassas (% 13,3), 26 ‘sı penisiline dirençliydi (% 86,7). Penisiline dirençli olan 26 suştan 3’ünde (% 11,5) yüksek düzey direnç, 23’ünde (% 88,4) orta düzey direnç saptandı. Tablolar 6,7 ve 8’de ayrıntıları belirtilmiştir.

PENİSİLİN	≤0.06	0,12–1	>2
MİC	4	23	3

Tablo 6. Penisilin E-test için MİC aralıkları

SEFTRİAKSON	≤0,5	1	>2
MİC	30	0	0

Tablo 7. Seftriakson E-test için MİC aralıkları

	ARALIK	DİRENÇLİ	HASSAS
PENİSİLİN	0.012–2	26	4
SEFTRİAKSON	0.012–0.75	0	30

Tablo 8. Penisilin ve seftriakson için saptanan MİC aralıkları, saptanan dirençli ve hassas suş sayıları

Aşılı olgularda üreyen 13 pnömokok suşunun üçü (% 23) penisiline hassas, 10'u (%77) penisiline dirençli saptandı (orta düzey direnç). Aşılı olgularda yüksek düzey penisilin direnci saptanmadı. Orta düzey direnç gösteren izolatların % 50'si bir aşı tipi olan 23F serotipine aitti. Orta düzey direnç gösteren izolatların % 40'ını da aşı dışı serotipler oluşturmaktaydı.

13 aşılı suşun penisiline hassas olan 3'ünde son aşı dozu ile örnek alınması arasında geçen süre ortalaması 7.25 ay (3-9 ay), penisiline orta düzey dirençli 10'unda son aşı dozu ile örnek alınması arasında geçen süre ortalaması 13,4 ay olarak bulundu (8-36 ay).

Aşısız olgulardan izole edilen pnömokokların (17) biri (%6) penisiline hassas, 13' ü (%76) penisiline orta düzeyde dirençli saptandı. Aşısız olguların üçünde (%18) yüksek

düzy direnç saptandı. Aşısız grupta en sık penisilin direnci gösteren (orta ve yüksek düzey) serotip bir aşı serotipi olan 19F olarak izlendi. Aşısız olgularda üretilen 2 aşı dışı serotipte de orta düzey penisilin direnci gözlemlendi.

Sonuç olarak, penisiline yüksek düzey direnç gösteren 3 olgunun 3'ü de aşısızdı. Penisiline orta düzey direnç gösteren 23 olgudan 10'u aşıllı (%44), 13'ü aşısızdı (%56). Penisiline hassas olan 4 olgudan 3'ü aşıllı, 1'i aşısızdı.

Aşıllı çocuklarda penisilin direnci saptanan olgulardan sadece birinde son 1 ay içinde antibiyotik kullanım öyküsü mevcuttu. Aşısız çocuklarda ise penisilin direnci saptanan olgulardan 5'inde son 1 ay içinde antibiyotik kullanım öyküsü mevcuttu.

Toplamda penisiline yüksek düzey direnç gösteren 3 suşun 2 tanesinde 19F, 1 tanesinde 6B üretti. Penisiline duyarlı olan 4 suşun 3'ünde aşı dışı serotip, 1 tanesinde 6B saptandı. Penisiline orta düzeyde direnç gösteren 23 suştan 8 tanesinde (en sık) 23F, 5 tanesinde aşı dışı serotip, 4 tanesinde 19F, 4 tanesinde 4, 1 tanesinde 18C, 1 tanesinde 6B saptandı. Tablo 9 'da aşıllı ve aşısız grupta serotipleme nin ayrıntıları ve antibiyotik dirençleri belirtilmiştir.

Penisilin dirençleri	19f	6b	18c	23f	4	Aşı dışı serotip	Toplam
Penisiline hassas	-	1	-	-	-	3	4
Penisiline orta düzey dirençli	4	1	1	8	4	5	23
Penisiline yüksek düzey dirençli	2	1	-	-	-	-	3

Tablo 9. Serotiplere göre penisilin dirençleri

Penisilin dirençleri açısından aşıllı ve aşısız olgular arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p=0,29$).

Tüm pnömokok suşları seftriaksona, vankomisine, rifampisin ve kinolonlara duyarlı bulundu.

Diğer antibiyotiklerin -eritromisin, trimetoprim sülfametaksazol (TMP-SMX), klindamisin, tetrasiklin, kloramfenikol- direnç oranları sırasıyla %40, %73, %17, %33, %13 olarak bulundu.

Bu antibiyotiklerden eritromisin'e duyarlı olan 18 suşun (%60) 11'i aşılı, 7'si aşısız; dirençli olan 12 suşun (%40) 2'si aşılı, 10'u aşısızdı. Trimetoprim sülfametaksazol 'a duyarlı olan 8 (%27) suşun 4'ü aşılı, 4'ü aşısız; dirençli olan 22 suşun (%73) 9'u aşılı, 13'ü aşısızdı. Disk difüzyon yöntemi ile çalışılan antimikrobiyal duyarlılıkları Tablo 10'da belirtilmiştir.

Aşılı ve aşısız 2 grup arasında eritromisin ve TMP-SMX'e karşı saptanan direnç açısından anlamlı bir fark yoktu.

Çoklu ilaç direnci (3 veya daha fazla ilaca karşı direnç) tüm olgularımızdan elde edilen izolatların % 50'sinde izlendi. Aşılı olgularda üreyen izolatların 4'ünde (%31) ve aşısız olgularımızdan üretilen izolatların 11'inde (%65) çoklu ilaç direnci saptandı. Çoklu ilaç direncine en sık 19F ve 23F serotiplerinde rastlandı (4 izolat 23F ve 4 izolat 19F).

	HASSAS	AZ HASSAS	DİRENÇLİ
ERİTROMİSİN	18	-	12
TMP-SMX	8	-	22
KLİNDAMİSİN	25	-	5
OFLOKSASİN	30	-	0
TETRASİKLİN	20	-	10
VANKOMİSİN	30	-	0
RİFAMPİSİN	30	-	0
KLORAMFENİKOL	26	-	4
LEVOFLOKSASİN	30	-	0

Tablo 10. Disk difüzyon metodu ile saptanan antibiyotik duyarlılıkları

TARTIŞMA VE SONUÇ

S. Pneumoniae, çocuklarda pnömoni, akut otitis media, sinüzit, bakteriyemi ve menenjitin en önde gelen etkenlerinden biridir. S. Pneumoniae, normalde insanların nazofarenksinde taşınmaktadır. Taşıyıcılık oranları özellikle çocuklarda yüksektir (117). Nazofarengial taşınma oranları sağlıklı erişkinlerde %5–30 (118,119), sağlıklı çocuklarda %20-50 arasında değişmektedir (118-120). Taşıyıcılığın artması ile ilgili risk faktörleri kış mevsimi, kalabalık ortamda yaşama ve kreşe gitmedir. Kolonizasyonun süreğenliği yaşa ve serotipe göre değişmektedir. Kolonizasyon süt çocuklarında ortalama 4 ay kadar sürebilir (121), erişkinlerde ise çok daha kısadır ve genellikle 2–4 hafta sürer (122) .

Nazofarengial kolonizasyon genellikle semptomsuz olmakla birlikte bazı çocuklarda üst ve alt solunum yolları enfeksiyonlarına yol açabilir, nadir olarak akut otitis media, paranasal sinüzit, pnömoni, septisemi, bakteriyel menenjit ve beyin absesi gibi invaziv enfeksiyonlara ilerleyebilir. Ayrıca antibiyotiğe dirençli S. Pneumoniae'ye bağlı sınırlı sayıda merkezi sinir sistemi dışı enfeksiyon da bildirilmiştir. Bu enfeksiyonlar endokardit, perikardit, aortit, osteomyelit ve septik artriti kapsamaktadır. Küçük çocuklar, yaşlılar ve HIV ile enfekte hastalar gibi azalmış bağışıklık sistem fonksiyonu olan hastalar pnömokok kaynaklı hastalıklar açısından risk gruplarını oluşturmaktadır (6).

Bu çalışmamızda, 7 valanlı pnömokok aşısının, aşı tipi pnömokok suşlarının nazofarengial taşıyıcılığı üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık. Sağlıklı Türk çocuklarında, nazofarengial pnömokok taşıyıcılığını ve serotip dağılımını gösteren çok az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Bakır ve ark.'nın (123) yaptığı ve sağlıklı Türk çocuklarında S. Pneumoniae nazofarengial taşıyıcılığının incelendiği bir çalışmada taşıyıcılık oranı % 8,5 bulunurken, Gazi ve arkadaşlarının (124) çalışmasında taşıyıcılık oranı %15,8 olarak saptanmıştır. Aslan ve ark.(27), Ozdemir ve ark (28) ile Uzun ve ark.(111)'nin yaptığı çalışmalarda ise bu oranlar sırasıyla % 13,9, % 22,5 ve % 37,2 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bu oran, çalışmaya alınan aşı ve aşısız tüm sağlıklı çocuklarda

yukarıdaki çalışmalara benzer şekilde % 12,9 bulundu. Aşılı olgularımızda nazofarengial taşıyıcılık oranı % 10 iken aşılı olmayan olgularda bu oran % 16 olarak saptandı. Aşılı ve aşısız olgularımızda pnömokok taşıyıcılığı açısından istatistiksel bir fark saptanmadı. Bu sonuç literatürdeki pek çok çalışma ile uyumlu idi.

Millar ve ark.'nın (125) konjuge pnömokok aşısının çocuklarda nazofarengial pnömokok taşıyıcılığı üzerine etkisini araştırdığı çalışmada, aşılı ve aşısız grupta taşıyıcılık benzer bulunmuştur (sırasıyla % 63.9 ve % 60.5). Frazao ve ark.'nın (126) yaptığı benzer bir çalışmada ise aşılı ve aşısız olgularda taşıyıcılık yine benzer oranlarda saptanmıştır (% 68).

S. pneumoniae 'nın nazofarenkste taşınmasında çeşitli risk faktörlerinin rol oynadığı öne sürülmüştür. Çocuklarda nazofarengial kolonizasyona katkıda bulunan risk faktörleri yaş, etnik köken, kreşe veya okula gitme, kalabalık ortam, sosyoekonomik düzey olarak sıralanabilir. Ailenin büyüklüğü (kardeş sayısı), gelir düzeyi, yuvaya gitme, sigara ve antibiyotik kullanımı en sık incelenen risk faktörlerinden bazılarıdır ve kalabalık ortam ile kreşe gitme pnömokokal suşların yayılmasındaki başlıca faktör olarak bildirilmiştir (3, 5). Gelişmiş ülkelerde yapılan çalışmalarda, kreşe gitmenin çocuklarda pnömokok taşıyıcılığı açısından en güçlü risk faktörü olduğu belirtilmiştir (127,128).

Greenberg ve ark.'nın (129) yaptığı bir çalışmada sigara dumanına maruz kalmanın çocuklarda, genel olarak pnömokok taşıyıcılık sıklığını ve 7- valanlı pnömokok aşısının kapsadığı pnömokok serotiplerinin taşıyıcılığını arttırdığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda sorguladığımız risk faktörlerinden kalabalık ev ortamında yaşama dışında kalan (bir yıldan daha kısa anne sütü alımı, kreşe gitme, okula giden kardeş öyküsü, evde sigara içilmesi, son 1 ayda antibiyotik kullanımı) değişkenlerin pnömokok taşıyıcılığı üzerinde anlamlı bir etki oluşturmadığı gözlemlendi.

PCV7 'nin nazofarengial pnömokok taşıyıcılığı üzerine etkilerinin değerlendirildiği Ghaffar ve ark.'nın (130) çalışmada, 278 sağlıklı çocukta nazofarengial *S. pneumoniae* taşıyıcılığı açısından risk faktörleri olabilecek kardeş sayısı, kreşe gitme, akut otitis media geçirme öyküsü ve son 1 ay içinde antibiyotik kullanımı sorgulanmış ve pnömokok taşıyıcılığı ile bu risk faktörleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Hill ve ark.'nın (131) Gambia'lı çocuklarda nazofarengial pnömokok taşıyıcılığını incelediği bir çalışmada, risk faktörleri ile taşıyıcılık arasında yine anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Konjuge pnömokok aşısının, aşının kapsadığı pnömokok serotiplerinin nazofarengial taşıyıcılığını azalttığı pek çok çalışma ile gösterilmiştir (132, 133, 134-139). Yine pek çok çalışmada, konjuge pnömokok aşısı ile aşılama sonrası aşı tipi pnömokokların yerini aşı dışı serotiplerin aldığı belirtilmiştir (132, 133, 137-140).

Ghaffar ve ark.'nın (130) ilk 2 yaştaki 278 sağlıklı çocukta, 7 valanlı konjuge pnömokok aşısının nazofarengial taşıyıcılık üzerine etkisini incelediği çalışmasında, rapel aşı dozu sonrası aşı tipi pnömokok taşıyıcılığının % 18'den % 9'a düştüğü saptanmıştır. En sık üreyen aşı serotipleri (% 86) ise 6B, 23F, 19F olarak izlenmiştir. Aynı çalışmada, rapel aşı dozu sonrası, aşı dışı serotip taşıyıcılığının azalmadığı hatta yüksek kaldığı gösterilmiştir.

Dagan ve ark.'nın (141) kreşe giden çocuklarda 9 valanlı pnömokok aşısının nazofarengial taşıyıcılık üzerine etkilerini araştırdığı çalışmasında, aşı grubunda aşı tipi pnömokok taşıyıcılığı % 17 saptanırken kontrol grubunda bu oran % 41 olarak saptanmıştır. Aşılı grupta tüm aşı serotiplerinden sadece serotip 19F'e karşı olan koruyuculuk daha az etkili olarak izlenmiştir. Konjuge pnömokok aşısı ile aşılanmış grupta, kontrol grubuna göre aşı dışı serotip taşıyıcılık oranı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Konjuge pnömokok aşısının, aşı tipi pnömokok taşıyıcılığına karşı koruyucu olduğu, aşılama sonrası kısa süre sonra yapılan yukarıda da sözü edilen çalışmalar gibi pek çok çalışma ile gösterilmiştir. Ancak aşının bu konudaki etkinliğinin aşılama sonrası 2-3 yıl sonrasında da devam edip etmediğine dair çok fazla veri yoktur.

Miller ve ark.'nın (125) 7- valanlı konjuge pnömokok aşısının rapel dozundan ortalama 2,7 ay sonra nazofarengial pnömokok taşıyıcılığı üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada da, aşı hastalarında aşı tipi pnömokok taşıyıcılığı kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır (sırasıyla % 10,3 ve % 17,1). Aşılı grupta en sık

rastlanan aşı serotipi 19F olmuştur. Bu çalışmada da benzer şekilde aşı dışı serotip taşıyıcılığı kontrol grubuna oranla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda, yukarıda sözü geçen çalışmalara benzer şekilde aşıli çocuklarda aşı tipi pnömokok taşıyıcılığı aşılammış kontrol grubuna oranla anlamlı şekilde düşük saptandı (aşılılarda % 5, kontrol grubunda % 14). Miller ve ark.'nın (125) çalışmasına benzer şekilde çalışmamızda, son aşı dozundan örnek alınımına kadar geçen ortalama süre 11,3 ay (3-36 ay arasında) idi. Bu durum aşılammadan uzun süre sonra da aşı tipi pnömokoklara karşı koruyuculuğun devam edebileceğini göstermektedir. Bu devam eden koruyucu etki çeşitli hipotezlerle açıklanabilir: Primer aşılammadan sonra yapılan rapel doz daha uzun süreli ve etkili bir bağışıklık cevabına yol açabilir veya bizim ülkemiz gibi pnömokok aşılammasının rutin uygulanmadığı ülkelerde aşı tipi pnömokokların nazofarengial taşıyıcılığının toplumda devam etmesi, aşıli çocuklarda bu serotiplerle tekrar karşılaşma sonucu aşı ile kazanılmış bağışıklık cevabı üzerine bir rapel etki yaparak koruyucu antikor konsantrasyonlarını etkili düzeyde tutmaya yardımcı olabilir (125).

Çalışmamızda, aşıli grupta en sık saptanan aşı tipi 23F idi. Yukarıdaki çalışmalardan farklı olarak aşıli çocukların hiçbirinde 19F üremedi. Aşısız çocuklardan oluşan kontrol grubunda ise en sık üreyen aşı tipi 19F olarak saptandı. Kolonize olan aşıli çocuklarda, serotipe özgün taşıyıcılıkta 19F'e karşı anlamlı bir azalma saptandı ($p=0,007$). Konjuge pnömokok aşısı ile 19F'e karşı etkili bir koruyuculuk sağlandığı gözlemlendi.

Dagan ve ark 'nın çalışmasında (141) ise 19F'e karşı daha az bir koruyucu etki gözlemlenmiştir. Ancak örneklem sayısı çok az olduğu için her bir serotipe karşı gelişen özgül koruyuculuk açısından değerlendirme yapmak mümkün olmadı.

Çalışmamızda yukarıda bahsedilen pek çok çalışmadan farklı olarak aşıli ve aşısız çocuklarda aşı dışı serotip üremesi açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Her ne kadar aşıli çocuklarda aşı dışı serotip üreme oranı aşısız çocuklara göre daha yüksek saptandıysa da (sırasıyla % 4,4 ve % 1,8) bu oran istatistiksel açıdan anlamlı değildi.

Aşılammış çocuklarda, nazofarenkste aşı serotiplerinin yerini aşı dışı serotiplerin aldığını gösteren pek çok çalışmada, bu değişikliğin konjuge pnömokok aşısının yaygın olarak uygulanması ile mümkün olacağı belirtilmiştir (130). Serotip değişikliğinin, aşı

dışı serotip taşıyan çocuklarla yoğun temas sonrası oluşabileceği veya nazofarenkste birden çok serotip taşınırken aşılama nedeniyle aşı tipi pnömokokların taşıyıcılığında azalma sonucu daha önce fark edilemeyen serotiplerin ortaya çıkması (‘unmasking phenomenon’) sonrası oluşabileceği şeklinde hipotezler öne sürülmektedir (141).

Ülkemizde pnömokok aşısı yaygın bir uygulamaya sahip değildir ve aşıları çocukların sayısı sınırlıdır. Bu nedenle öne sürülen hipotezlerin ülkemiz için geçerli olması henüz söz konusu değildir. Diğer pek çok çalışmadan farklı olarak çalışmamızda aşıları ve aşısız çocuklar arasında aşı dışı serotip taşıyıcılığı açısından anlamlı bir fark saptanamaması ülkemizdeki bu durum ile açıklanabilir. Ancak örneklem sayımızın azlığı da bu sonucu etkilemiş olabilir. Dolayısıyla, net bir sonuca varmak için ülkemizde yapılacak daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Dünyada giderek artan hızda izlenen pnömokoklarda antibiyotik direnci ilk kez 1960’ların ortalarında bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri’nde S.Pneumoniae suşları arasında antimikrobiyal direnç eğilimleri ile ilgili en son raporlar eritromisin, penisilin ve levoflaksine sırasıyla % 29,3, % 21,2 ve % 0,9 direnç bildirmektedir (12). Avrupa’dan bildirilen, yetimhaneler ve çocuk bakım evleri gibi özel ortamlarda gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen raporlarda penisiline duyarlı olmayan S. Pneumoniae suşları %36,2 olarak saptanırken, % 11,8’inin penisiline tam dirençli olduğu belirtilmektedir (107). Avrupa’da en yüksek oranda direnç düzeyleri Yunanistan ve İspanya’dan bildirilmiştir.

Türkiye’de pnömokoklardaki antibiyotik dirençleri ile ilgili çalışmalar 1980’lerin sonlarında başlamıştır ve o zamandan bu yana antibiyotik direnci giderek artış göstermiştir. İki bin beş yılı başlarında pnömokokların yaklaşık % 40’nda penisilin direnci saptanırken bunların beşte birinde yüksek düzeyde direnç gözlenmiştir. Ancak 1997–2000 arasında belli merkezlerde yapılan çalışmalarda, seftriakson direncine rastlanmamıştır. Diğer çalışmalarda eritromisin direnci % 4–19,4, kloramfenikol direnci % 2–10, klindamisin direnci % 2,5–13 ve tetrasiklin direnci %13–28,6 olarak bildirilmiştir. Türkiye’den yapılan çalışmalarda, değerlendirilen tüm izolatlar ripampisine ve kinolonlara duyarlı saptanmıştır (142).

Gür ve ark.'nın (143) pnömokoklarda antibiyotik direnç sıklığını araştırdığı çok merkezli çalışmada, % 25,8 izolatta orta düzey ve % 3,9 izolatta yüksek düzeyde direnç saptanmıştır. Trimetoprim-sulfametoksazol direnci ise % 55,4 olarak bildirilmiştir.

Yalçın ve ark.'nın (144), 2001–2004 yılları arasında invaziv pnömokok hastalığı yapan izolatların serotip dağılımı ve antibiyotik duyarlılığını incelediği çok merkezli çalışmada, % 39 oranında penisilin direnci saptanırken % 31'inde orta düzey ve % 8'inde yüksek düzey penisilin direncine rastlanmıştır. Penisiline dirençli suşlar da ağırlıklı olarak 6B, 23F ve 19F serotiplerine ait bulunmuştur. Eritromisin direnci % 22 ve trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMX) direnci ise % 25 olarak izlenmiştir. Tüm izolatların % 5,4'ünde çoklu ilaç direnci saptanmıştır.

Aslan ve ark.'larının (27) sağlıklı Türk çocuklarında S. Pneumonia taşıyıcılığını ve serotip dağılımını incelediği çalışmasında, penisilin direnci % 12,9 olarak saptanmıştır ve en sık penisilin direnci gösteren serotipler 20, 23, 14, 6, 19 olarak izlenmiştir. İzolatların % 11,9'unda orta düzeyde direnç ve % 1'inde yüksek düzeyde penisilin direnci gözlenmiştir.

Özdemir ve ark.'nın (28) benzer bir çalışmasında ise, penisilin direnci % 15,3 olarak bulunmuştur. Orta düzey penisilin direncine % 8,5 oranında rastlanırken yüksek düzey direnç % 6,8 olarak bildirilmiştir.

Uzuner ve ark.'nın (111) sağlıklı çocuklarda, penisiline dirençli S.pneumoniae'nın nazofarengeal taşıyıcılığını araştırdığı çalışmasında, çoklu ilaç direnci % 17,9 saptanırken % 33,9 hastada orta düzey ve % 5,4 hastada yüksek düzey penisilin direncine rastlanmıştır. Diğer antibiyotik dirençleri ise sırasıyla; Trimetoprim-sulfametoksazol % 45,6, tetrasiklin % 16,1; eritromisin % 16,1, klindamisin % 9,8 ve ofloksasin % 3,6 olarak saptanmıştır. Vankomisine direnç gözlenmemiştir. Ancak sözü edilen bu çalışmalara dâhil edilen çocuklar konjuge pnömokok aşısı ile aşılanmamış çocuklardır.

Pnömokoklardaki antibiyotik direnci çoğunlukla çocukluk çağında enfeksiyonlara yol açan belli sayıdaki serotipte görülmektedir. Şu anda uygulanmakta olan ve yakın dönemde kullanıma sunulacak olan diğer konjuge pnömokok aşıları bu serotipleri içermektedir. Sonuç olarak, konjuge pnömokok aşısı olan çocuklarda nazofarenkste, aşı

tipi pnömokok kolonizasyonunun azalması ile antibiyotiklere dirençli pnömokok taşıyıcılığının da azalması beklenmektedir.

Dagan ve ark.'nın (145) yuvaya giden çocuklarda, konjuge pnömokok aşısının antibiyotiğe dirençli pnömokok taşıyıcılığı üzerine etkilerini araştırdığı çalışmasında, 132 aşı ve 130 aşısız çocuk karşılaştırılmış, aşı ve aşısız çocuklarda aşı serotiplerinin taşıyıcılığında belirgin bir azalma saptanırken aşı dışı serotiplerde artış gözlenmiştir. Penisilin direnci % 36 olarak saptanırken antibiyotik direnci en sık olarak konjuge aşı içinde bulunan 5 serotipte saptanmıştır (6B, 9V, 14, 19F, 23F). Sonuç olarak da aşı ve aşısız çocuklarda, antibiyotiğe dirençli pnömokok taşıyıcılığında anlamlı bir azalma gözlenmiştir.

Ghaffar ve ark.'nın (130) daha önce de belirtilen çalışmasında, penisiline dirençli pnömokok taşıyan olgu sayısı, rapel aşı dozu sonrası % 16'dan % 9'a düşmüştür.

Ancak Frazao ve ark.'nın (126) konjuge pnömokok aşısının sağlıklı çocuklarda S. Pnemoniae taşıyıcılığı ve antibiyotik direnci üzerine etkisini araştırdığı daha önce de belirtilen çalışmasında, penisiline dirençli pnömokok taşıyıcılığı sıklığında aşı ve aşısız gruplarda fark saptanmamıştır. Genel olarak antibiyotik dirençleri açısından da 2 grup arasında fark izlenmemiştir. Her ne kadar aşı ve aşısız grupta, antibiyotiğe dirençli aşı serotipleri azalma göstermiş olsa da onların yerine geçen antibiyotiğe dirençli aşı dışı serotiplerin sıklığında artış görülmüştür. Sonuç olarak da antibiyotiğe dirençli pnömokok taşıyıcılığının azalmasında konjuge pnömokok aşısı kullanımı ile birlikte daha az antibiyotik tüketiminin gerekliliği vurgulanmıştır.

Volonakis ve ark.'nın (146) Atina'daki yuva çocuklarında S.pneumonia kolonizasyonunu ve direnç paternlerini araştırdığı çalışmasında, penisiline karşı duyarsızlığın 2000 yılında %20 iken 2003'de % 34.9'a ve eritromisine olan duyarsızlığın da bu sürede % 23'den % 30.5'e yükseldiği gözlemlenmiştir. Bu çalışmada, daha önce beta laktam antibiyotik kullanımının beta laktam ve/veya makrolidlere dirençli pnömokok taşıyıcılığı açısından risk faktörü olduğu belirtilmiştir.

Çalışmamızda, izole edilen pnömokoklarda penisilin direnci % 87 olarak saptandı. İzolatların % 10'u yüksek düzey gösterirken % 77'sinde orta düzey direnç saptandı.

Yukarıda da bahsedilen Türkiye’den bildirilen çalışmalara göre çalışmamızda penisilin direnç oranı 2–3 kat fazla bulunmuştur.

Aşılı olgularımızda ise yüksek düzey penisilin direncine rastlanmazken orta düzeyde direnç, aşılı olgularımızın % 77’sinde izlendi. Orta düzey direnç gösteren izolatların % 50’si bir aşı tipi olan 23F serotipine aitti. Orta düzey direnç gösteren izolatların % 40’ını da aşı dışı serotipler oluşturmaktaydı.

Aşısız olgularımızda, yüksek penisilin direnci saptanan 3 izolat (%18) aşı serotipi idi. Aşısız olgularımızın % 94’ünde penisilin direnci gözlemlendi. Aşısız grupta en sık penisilin direnci gösteren (orta ve yüksek düzey) serotip bir aşı serotipi olan 19F olarak saptandı. Aşısız olgularda üretilen 2 aşı dışı serotipte de orta düzey penisilin direnci gözlemlendi.

Aşılı ve aşısız olgularımızda son 1 ay içinde antibiyotik kullanım oranı çok yüksek değildi (sırasıyla % 20 ve % 24). Antibiyotik kullanımı açısından her 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı ve her 2 grupta da antibiyotik kullananlar ve kullanmayanlar arasında penisilin direnci saptanması açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Antibiyotik kullanmayanlarda dahi penisiline dirençli pnömokokların izole edilmesi, ülkemizde yoğun antibiyotik kullanımının söz konusu olduğu düşünülecek olursa dirençli pnömokok suşlarının toplumda var olduğunu ve bunların yakın temasla bireyden bireye kolaylıkla bulaşabildiği hipotezini akla getirebilir.

Her ne kadar aşılı olgularımızda saptanan penisilin direnç oranı aşısız olgulara göre daha düşük bulunsa da her 2 grup arasında penisilin direnci açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Bu sonuç, yukarıda sözü edilen Frazao ve ark.’nın çalışması (126) ile benzerlik göstermektedir. Aşılı hastalarda üreyen aşı dışı serotiplerin de penisiline direnç göstermesi ve aşılı grupta sık olarak izole ettiğimiz 23F aşı serotipinin de genellikle antibiyotik direnci gösteren bir aşı serotipi olması bu sonucu doğrulmuş olabilir.

Frazao ve ark.’nın çalışmasında (126) da belirtildiği gibi antibiyotiğe dirençli pnömokok taşıyıcılığını azaltmak için sadece konjuge pnömokok aşı uygulaması tek başına yeterli değildir bunun yanında antibiyotik kullanımının da azaltılması gereklidir.

Çalışmamızda yüksek oranda saptadığımız penisilin direncinin yanı sıra yukarıda sözü edilen diğer çalışmalar da göz önüne alındığında, menenjit gibi ciddi pnömokok enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde penisilin güvenilir bir seçenek olmadığı anlaşılmaktadır.

Aşılı ve aşısız çocuklardan elde edilen tüm suşlar vankomisin, rifampisin, seftriakson ve kinolonlara duyarlı idi. Bu durum Türkiye’den bildirilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Çoklu ilaç direnci (3 veya daha fazla ilaç) aşılı olgularımızdan elde edilen izolatların 4’ünde (%31) ve aşısız olgularımızdan üretilen izolatların 11’inde (%65) saptandı. Genel olarak bakıldığında çoklu ilaç direnci % 50 izolatta izlendi. Bu oran da Türkiye verilerine göre yüksek olarak saptanmıştır.

Diğer antibiyotiklere olan dirençler değerlendirildiğinde, Çalışmamızda trimetoprim-sülfametaksazol (TMP-SMX), eritromisin, klindamisin ve tetrasiklin dirençleri sırasıyla % 73, % 40, % 17 ve % 33 olarak bulunmuştur. Bu değerler de Türkiye verilerine benzerlik göstermekle birlikte izolatlarımızda daha yüksek oranlarda direnç varlığını ortaya koymaktadır. Amerika, Kanada ve Rusya’dan yapılan çeşitli çalışmalarda, TMP-SMX direnci % 28 ile % 53.4 olarak bildirilmiştir (146–149).

Makrolid direnci çalışmamıza benzer şekilde İtalya (% 52.1) ve İspanya’da (% 34.5) da yüksek olarak bildirilmiştir (150,151).

Makrolidlere olan direncin artış gösterme olasılığı, bu ilacın da klinik kullanımının kısıtlanmasına yol açabilir.

Sonuç olarak bu çalışma, ülkemizde henüz rutin olarak uygulanmayan konjuge pnömokok aşının aşı tipi pnömokokların taşıyıcılığına karşı uzun süreli bir koruyucu etki sağladığını göstermiştir. Konjuge pnömokok aşısının rutin uygulanmasının ülkemiz çocuklarında, aşı tipi pnömokok taşıyıcılığının azalması ile invazif pnömokok hastalıklarının epidemiyolojisinde önemli bir etkisi olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda saptadığımız yüksek antibiyotik dirençleri göz önüne alındığında, antibiyotiğe dirençli pnömokok taşıyıcılığının azaltılmasında sadece aşı uygulamasının yeterli olmayacağı antibiyotiklerin sınırlı ve dikkatli bir şekilde kullanılmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

ÖZET

Doğumdan hemen sonra çocukların nazofarenksi *Streptococcus Pneumoniae* gibi normal flora bakterileri dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar tarafından kolonize edilmektedir. Kolonizasyonu genelde patojenlerin yakın çevredeki bireylere yatay olarak yayılması izlemektedir, bu da toplum içinde yayılmasına neden olmaktadır.

Nazofaregeal kolonizasyon genellikle semptomsuz olmakla birlikte bazı çocuklarda üst ve alt solunum yolları enfeksiyonlarına yol açabilir, nadir olarak akut otitis media, paranasal sinüzit, pnömoni, septisemi, bakteriyel menenjit ve beyin absesi gibi invaziv enfeksiyonlara ilerleyebilir.

Yedi valanlı konjuge pnömokok aşısı (7v-PCV), ticari olarak erişilebilen tek pnömokokal konjugat aşısıdır; serotip 4, 9V, 14, 19F ve 23F, 2 µg serotip 18C ve 4 µg serotip 6B içermektedir. Evrensel sütçocuğu aşılama programı olarak sunulmasının ardından satış sonrası gözetim çalışmaları, aşılanmış bireylerde aşı serotipleri nedeniyle gerek invaziv ve gerekse non-invaziv hastalık insidansında büyük bir azalma göstermiştir.

Dünya Sağlık Örgütü; bu aşının, özellikle 5 yaş altı çocuklar arasında mortalite oranının 1000 canlı doğumda 50'nin üzerinde olduğu ya da her yıl elli binden fazla çocuğun öldüğü ülkelerde ulusal aşılama programlarına dahil edilmesinin, bir öncelik olması gerektiğini düşünmektedir.

Bizim çalışmamızın amacı; önemli ve ölümcül hastalıklara neden olan pnömokokların, nazofarengial taşıyıcılığını kolaylaştıran risk faktörlerini ortaya koymak, pnömokokların invaziv serotiplerine karşı geliştirilen 7v-PCV'nin nazofarengial taşıyıcılık üzerine etkinliğini belirlemektir.

Çalışmamız, Ekim 2007-Nisan 2008 tarihleri arasında Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yürütüldü. Çalışmaya, bu tarih aralığında Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran ve yaşları 12–59 ay arasında değişen, 7 valanlı konjuge

pnömokok aşısı ile aşılanmış 138 sayıda olgu ile kontrol grubu olarak 109 sayıda aşısız olgu olmak üzere toplam 247 sağlıklı çocuk alındı.

Aşılı grup ve kontrol grubunda yer alan çocuklarda, taşıyıcılık ile ilişkilendirilen risk faktörleri, anne veya babalara yöneltilen bir anket aracılığıyla sorgulandı. Ankette anne sütü alma süresi, kalabalık ev ortamında yaşama, pnömokok aşılması, aşılı olgularda doz sayısı ve son doz zamanlaması, ailede sigara içme ile olgunun kreşe gitme öyküsü sorgulandı.

Polikliniğe başvuran sağlıklı çocuklardan kültür için, steril eküvyonlarla nazofenks sürüntüsü alındı.

Antibiyotik duyarlılık deneyleri yapılırken, tüm suşlarda penisilin ve seftriakson dışındaki antibiyotikler için Kirby-Bauer disk difüzyon metodu kullanıldı. Penisilin ve seftriakson için E test yöntemiyle minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC) araştırıldı.

Nazofarengial sürüntü örneklerinden izole edilen pnömokok suşlarında 7 valanlı pnömokok aşısının içerdiği 4, 6b, 9v, 14, 18c, 19f, 23f aşı tiplerinin varlığı araştırıldı. Kapsül şişme reaksiyonuna (Quellung) göre değerlendirme yapıldı.

Toplam 247 olgunun 32 tanesinin nazofarenksinde pnömokok izole edildi (%12,9). Yüz otuz sekiz aşılı olgunun 14'sinde (%10,1), 109 aşısız olgunun 18'inde (%16) pnömokok üredi. Her 2 grupta üreme yüzdesi açısından istatistiksel fark bulunamadı.

Kalabalık ev ortamında yaşamak hariç pnömokok taşıyıcılığı için suçlanan risk faktörleri ile pnömokok üremesi arasında istatistiksel bir ilişki saptanmadı.

Aşılanmış çocuklarda aşı serotipi pnömokok üremesi, aşılanmamış çocuklara oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük saptandı ($p=0,035$). Aşı dışı serotip pnömokok üremesinde ise her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. ($p=0,11$).

Üreyen 30 pnömokok suşunun 4'ü penisiline hassas (%13,3) , 26 'sı penisiline dirençliydi (%86,7). Penisiline dirençli olan 26 suşdan 3'ünde (%11,5) yüksek düzey direnç, 23'ünde (%88,4) orta düzey direnç saptandı.

Penisilin dirençleri açısından her 2 grup arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p=0,29$).

Tüm pnömokok suşları seftriaksona duyarlı idi.

SUMMARY

Soon after birth, the nasopharynx of children is colonized by a variety of microorganisms, including commensal bacteria such as *Streptococcus Pneumoniae*. Colonization is commonly followed by horizontal dissemination of the pathogens to individuals in the direct environment leading to spread within the community.

Usually, this colonization is without symptoms but occasionally it can progress to upper, lower respiratory tract or invasive infections causing, acute otitis media, paranasal sinusitis, pneumonia, septicemia, bacterial meningitis, and brain abscess.

Seven valent conjugate pneumococcal vaccine (7v-PCV), currently the only commercially available pneumococcal conjugate vaccine, contains 2 µg of polysaccharide serotypes 4, 9V, 14, 19F and 23F, 2 µg of serotype 18C and 4 µg of serotype 6B. Post marketing surveillance studies following its introduction as a universal infant immunization program has shown a large reduction in both invasive and non-invasive disease incidence due to vaccine serotypes in vaccinated individuals.

World Health Organization considers that it should be a priority to include this vaccine in national immunization programs, particularly in countries where the mortality rate among children aged < 5 years is above 50 in every 1000 live births or where more than 50.000 children die annually.

The aim of our study is to determine the risk factors which facilitate the nasopharyngeal colonization of pneumococci that cause important and lethal diseases and to detect the effect of 7v-PCV on the nasopharyngeal carriage of pneumococci which is an important spreading way in population.

Our study was performed between October 2007 and April 2008 at the Maltepe University, Medical Faculty, Department of Pediatrics. Our study included 247 healthy children admitted to our department in this period, at the age of 12–59 months. One hundred and thirty eight of them were vaccinated with seven valent conjugate pneumococcal vaccine and the 109 of children included in the control group were not vaccinated with a 7v-PCV.

The risk factors for *S. pneumoniae* colonization were evaluated by a questionnaire filled out by the parents before sampling.

The questionnaire consisted of questions regarding the time of breast feeding, number of people living in the same house, vaccination against pneumococci, number of the vaccination dose, the time since last vaccination and day care attendance

Nasopharyngeal swab samples were collected for culture from vaccinated children and control group. The Kirby-Bauer disc diffusion method was used for antibiotic susceptibilities except for penicilline and ceftriaxone. Minimum inhibition concentrations (MIC) were determined for penicillin and ceftriaxone by E test method.

The serotypes of 4, 6b, 9v, 14, 18c, 19f, 23f which are involved in the 7 valent conjugate pneumococcal vaccine were determined by Quellung reaction.

From 247 subjects involved in the study, pneumococci were isolated in 32 of them (%12.9). We isolated pneumococci in 14 of 138 vaccinated children (%10.1) and in 18 of (%16) 109 control subjects. There was no statistical difference in rates of isolation of pneumococci between the two groups.

Except for living in a crowded family, there was no statistical relationship between isolation of pneumococci from the nasopharynx and risk factors for pneumococcal carriage.

The rate of isolation of vaccine type pneumococci in vaccinated children was statistically lower than that of the unvaccinated control group ($p=0.035$). There was no statistical difference in rates of isolation of nonvaccine type serotypes between the 2 groups. ($p=0.11$)

Four of 30 isolated pneumococci (%13.3) were sensitive to penicillin while 26 of them (%86.7) were not sensitive. Of these 26 isolated serotypes resistant to penicillin, 3 showed high resistance and 23 (%88.4) showed intermediate resistance.

There were no statistical difference between 2 groups for penicillin resistance ($p=0.29$).

All pneumococci serotypes were sensitive to ceftriaxone.

KAYNAKLAR

- 1-Faden H, Duffy L, Wasielewski R, Wolf J, Krystofik D, Tung Y. Relationship between nasopharyngeal colonization and the development of otitis media in children. *J Infect Dis* 1997;175:1440–1445.
- 2-Hoge C, Reichler M, Dominguez E, al e. An epidemic of pneumococcal disease in an overcrowded, inadequately ventilated jail. *N Engl JMed* 1996;331:643–648.
- 3-Bogaert D, Engle M, Timmers-Reker A, al. e. Pneumococcal carriage in children in The Netherlands: a molecular epidemiological study. *J Clin Microbiol* 2001;39:3316–3320.
- 4-Givon-Lavi N, Fraser D, N P, Dagan R. Spread of *Streptococcus pneumoniae* and antibiotic-resistant *S. pneumoniae* from day-care center attendees to their younger siblings. *J Infect Dis* 2002;186:1608–1614.
- 5-Marchisio P, Claut L, Rognoni A, al e. Differences in nasopharyngeal bacterial flora in children with nonsevere recurrent acute otitis media and chronic otitis media with effusion: implications for management. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:262–268.
- 6-ACIP. Prevention of pneumococcal disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1997; 46:1-24.
- 7-Doern G, Pfaller M, Kugler K, Freeman J, Jones R. Prevalence of antimicrobial resistance among respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae* in North America: 1997 results from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Clin Infect Dis* 1988; 27:764-770.
- 8-Doern G, Heilmann K, Huynh H, Rhomberg P, Coffman S, Brueggemann A. Antimicrobial resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States during 1999-2000, including a comparison of resistance rates since 1994-1995. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;45:1721-1729.
- 9-Jenkins S, Farrell D, Patel M, Lavin B. Trends in anti-bacterial resistance among *Streptococcus pneumoniae* isolated in the USA, 2000–2003: PROTEKT US years 1–3. *J Infect* 2008;51:355-363.
- 10-Marchese A, Gualco L, Cochetti I, Montanari M, Speciale A, Musumeci S, et al. Antibiotic susceptibility and serotype distribution in *Streptococcus pneumoniae*

- circulating in Italy: results of the SEMPRES surveillance study (2000–2002). *Int J Antimicrob Agents* 2005;2005(26):138-145.
- 11-Hoban D, Doern G, Fluit A, Roussel-Delvallez M, Jones R. Worldwide prevalence of antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999. *Clin Infect Dis*. 2001;31:81-93.
- 12-Jenkins S, Brown S, Farrell D. Trends in antibacterial resistance among *Streptococcus pneumoniae* isolated in the USA: update from PROTEKT US Years 1-4. *Annals Clin Microb Antimicrob*. 2008;7:1-11.
- 13-Jenkins S, Farrell D, Patel M, Lavin B. Trends in anti-bacterial resistance among *Streptococcus pneumoniae* isolated in the USA, 2000–2003: PROTEKT US years 1–3. *J Infect* 2005;51:355-363.
- 14-Doern G, Richter S, Miller A, Miller N, Rice C, Heilmann K, et al. Antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae* in the United States: have we begun to turn the corner on resistance to certain antimicrobial classes? *Clin Infect Dis* 2005;41:139-148.
- 15-Kyaw MH, Lynfield R, Schaffner W, Craig AS, Hadler J, Reingold A, et al. Active Bacterial Core Surveillance of the Emerging Infections Program Network: Effect of introduction of the pneumococcal conjugate vaccine on drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *N Engl J Med* 2006;354:1455-1463.
- 16-Pelton S, Dagan R, Gaines B, et al. Pneumococcal conjugate vaccines: proceedings from an Interactive Symposium at the 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. *Vaccine*. 2003;21:1562-1571.
- 17-Pedogy R, Leino T, Nohynek H, Hellebrand W, Salmaso S, Ruutu P. Pneumococcal vaccination policy in Europe. *Euro Surveill*. 2005;10:564-572.
- 18-WHO. Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization - WHO position paper. Genève: World Health Organization; 2007.
- 19-Bridy-Pappas A, Margolis M, Center K, Isaacman D. *Streptococcus pneumoniae*: description of the pathogen, disease epidemiology, treatment, and prevention. *Pharmacotherapy*. 2005; 25:1193-212.
- 20-Fedson D, Scott J. The burden of pneumococcal disease among adults in developed and developing countries: what is and is not known. *Vaccine*. 1999;17(Suppl 1):S11-S8.
- 21-Cutts F, Zaman S, Enware G, Jaffar S, Levine OS, Okoko J, et al. Efficacy of nine-valent pneumococcal conjugate vaccine against pneumonia and invasive pneumococcal

- disease in Gambia: randomised, double - blind, placebo - controlled trial. *Lancet*. 2005;395:1139-46.
- 22-O'Dempsey T, McArdle T, Loyd-Evans N, Baldeh I, Lawrence B, Secka O, et al. Pneumococcal disease among children in a rural area of west Africa. *Paediatr Infect Dis J*. 1996;15.
- 23-Berkely J, Lowe B, Mwangi I, Williams T, Bauni E, Mwarubba S, et al. Bacteremia among children admitted to a rural hospital in Kenya. *N Engl J Med* 2005;352:39-47.
- 24-Campbell J, Kotloff K, Sow S, Tapia M, Keita M, al e. Invasive pneumococcal infections among hospitalised children in Bamako, Mali. *Paediatr Infect Dis J*. 2004;23:642-9.
- 25-Brent A, Ahmed I, Ndiritu M, Lewa P, Ngetsa C, Lowe B, et al. Incidence of clinically significant bacteraemia in children who present to hospital in Kenya: community - based observational study. *Lancet*. 2006;367:482-8.
- 26-Scot J. The preventable burden of pneumococcal disease in the developing world. *Vaccine*. 2007;25:2398-405.
- 27-Aslan G, Emekdas G, Bayer M, Sami M, Kuyucu N, Kanik A. Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* strains in the nasopharynx of healthy Turkish children. *Indian J Med Res*. 2007;125:582-7.
- 28-Ozdemir B, Beyazova U, Camurdan A, Sultan N, Ozkan S, Sahin F. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in healthy Turkish infants. *J Infect* 2008;56:332-339.
- 29-Henrichsen J. Typing of *Streptococcus pneumoniae*: past, present, and future. *Am J Med*. 1999;107:50-54.
- 30-Henrichsen J. Six newly recognised types of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol*. 1995;33:2759-2762.
- 31-Syrogianopoulos G, Grivea I, Davies T, Katopodis G, Appelbaum P, Beratis N. Antimicrobial use and colonization with erythromycin - resistant *Streptococcus pneumoniae* in Greece during the first 2 years of life. *Clin Infect Dis*. 2000;31:887-893.
- 32-Syrjanen R, Kilpi T, Kaijalainen T, Herva E, Takala A. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Finnish children younger than 2 years old. *J Infect Dis*. 2001;184:451-459.
- 33-Alexander J, Lock R, Peeters C, Poolman J, Andrew P, Mitchell T, et al. Immunization of mice with pneumolysin toxoid confers a significant degree of

- protection against at least nine serotypes of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun* 1994;62:5683–5688.
- 34-Crennell S, Garman E, Philippon C, Vasella A, Laver W, Vimr E, et al. The structures of *Salmonella typhimurium* LT2 neuraminidase and its complexes with three inhibitors at high resolution. *J Mol Biol*. 1999;259:264–280.
- 35-Syrjanen R, Kilpi T, Kaijalainen T, Herva E, Takala A. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Finnish children younger than 2 years old. *J Infect Dis* 2001;184:451–459.
- 36-Lloyd-Evans N, O'Dempsey T, Baldeh I, et al. Nasopharyngeal carriage of pneumococci in Gambian children and in their families. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:866–871.
- 37-Bogaert D, de Groot R, Hermans P. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis*. 2004;4:144-154.
- 38-Obaro S, Adegbola R. The pneumococcus: carriage, disease and conjugate vaccines. *J Med Microbiol* 2002;51:98–104.
- 39-Sorensen U, Blom J, Birch-Andersen A, Henrichsen J. Ultrastructural localization of Capsules, Cell Wall Polysaccharide, Cell wall Proteins, and F Antigen in Pneumococci. *Infection and Immunity* 1988;56:1890-1896.
- 40-DeVelasco E, Verheul A, Verhof J, Snippe H. *Streptococcus pneumoniae*: Virulence Factors, Pathogenesis, and Vaccines. *Microb Rev*. 1995;59:591-603.
- 41-Fischer H, Tomasz A. Peptidoglycan cross-linking and teichoic acid attachment in *Streptococcus pneumoniae*. *J Bacteriol*. 1985;163:46-54.
- 42-Tomasz A. Surface components of *Streptococcus pneumoniae*. *Rev Infect Dis*. 1981;3(2):190-211.
- 43-Roethlisberger P, Iida-Tanaka N, Hollemeyer K, Heinzle E, Ishizuka I, Fischer W. Unique poly(glycerophosphate) lipoteichoic acid and the glycolipids of a *Streptococcus* sp. closely related to *Streptococcus pneumoniae*. *Eur J Biochem*. 2000;267:5520-5530.
- 44-Tomasz A. The fine structure of *Diplococcus pneumoniae*. *J Cell Biol*. 1964;22:453-467.
- 45-Avery O, Dubos R. The protective action of a specific enzyme against type III pneumococcus infections in mice. *J Exp Med* 1931;54:73-89.
- 46-Watson D, Musher D. Interruption of capsule production in *Streptococcus pneumoniae* serotype 2 by insertion of transposon Tn916. *Infect Immun*. 1990;58:3135-3138.

- 47-Barocchi M, Ries J, Zogaj X, Hemsley C, Albiger B, Kanth A, et al. A pneumococcal pilus influences virulence and host inflammatory responses. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(8):2857-2892.
- 48-Aguiar S, Serrano I, Pinto F, Melo-Cristino J, Ramirez M. The presence of the pilus locus is a clonal property among pneumococcal invasive isolates. *BMC Microbiol*. 2008;8:41-48.
- 49-Hilleringmann M, Giusti F, Baudner B, Masignani V, Covacci A, Rappuoli R, et al. Pneumococcal pili are composed of protofilaments exposing adhesive clusters of Rrg A. *Plos Pathog*. 2008;4(3):e1000026.
- 50-Hava D, Camili A. Large-scale identification of serotype 4 *Streptococcus pneumoniae* virulence factors. *Mol Microbiol* 2002;45:1389-1406.
- 51-Jedrzejak M. Pneumococcal Virulence Factors: Structure and Function. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2001;65:187-207.
- 52-McDaniel L, Scott G, Kearney J, Briles D. Monoclonal antibodies against protease-sensitive pneumococcal antigens can protect mice from fatal infection with *Streptococcus pneumoniae*. *J Exp Med*. 1984;160:386-397.
- 53-Crain M, II Waltman W, Turner J, Yother J, Talkington D, McDaniel S, et al. Pneumococcal surface protein A (PspA) is serologically highly variable and is expressed by all clinically important capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun*. 1990;58:3293-3299.
- 54-Yother J, Briles D. Structural properties and evolutionary relationships of PspA, a surface protein of *Streptococcus pneumoniae*, as revealed by sequence analysis. *J Bacteriol*. 1992;174:601-609.
- 55-Briles D, Hollingshead S, Swialto E, Brooks-Walter A, Szalai A, Virolainen A, et al. PspA and PsC: their potential for use as pneumococcal vaccines. *Microb Drug Resist*. 1997;3:401-408.
- 56-Ochs MM BW, Briles DE, Hicks B, Jurkuvenas A, Lau P, Ren B, Millar A. Vaccine-induced human antibodies to PspA augment complement C3 deposition on *Streptococcus pneumoniae*. *Mircob Pathog*. 2008;44:204-214.
- 57-Berry A, Paton J. Sequence heterogeneity of PsaA, a 37 -Kda putative adhesin essential for virulence of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun*. 1996;64:5255-5262.

- 58-Talkington D, Brown B, Tharpe J, Koenig A, A R. Protection of mice against fatal pneumococcal challenge by immunization with pneumococcal surface adhesin (PsaA). *Microb Pathog.* 1996;21:17-22.
- 59-Gor D, Ding X, Briles D, Jacobs M, Greenspan N. Relationship between surface accessibility for PpmA, PsaA, and PspA and antibody-mediated immunity to systemic infection by *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun.* 2005;73:1304-1312.
- 60-Rogers H, Perkins H, Ward J. Formation of cell wall polymers In: Nombela C, editor. *Microbial cell wall and membranes*. London, UK: Chapman & Hall Ltd; 1980: 437-460.
- 61-Tomasz A. Building and breaking of bonds in the cell wall of bacteria - the role of autolysin. In: Nombela C, editor. *Microbial cell wall and autolysins*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishers; 1984:3-12.
- 62-Tomasz A. DNA uptake during genetic transformation and the growing zone of the cell envelope. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1971;68:1848-1852.
- 63-Johnson M. Cellular location of pneumolysin. *FEMS Microbiol Lett.* 1977;2:243-245.
- 64-Mitchell T, Alexander JE, Morgan P, Andrew P. Molecular analysis of virulence factors of *Streptococcus Pneumoniae*. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser.* 1997;26:62-71.
- 65-Rosenow C, Ryan J, Weiser J, Johnson S, Fontan P, Ortqvist A, et al. Contribution of novel choline - binding proteins to adherence, colonization and immunogenicity of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol.* 1997;25:819-829.
- 66-Berry A, Paton J. Additive attenuation of virulence of *Streptococcus pneumoniae* by mutation of the genes encoding pneumolysin and other putative pneumococcal virulence proteins *Infect Immun.* 2000;68:133-140.
- 67-Boulnois G, Mitchel T, Saunders K, Owen R, Canvin J, Shepherd A, et al. Analysis of some putative protein virulence factors of *Streptococcus pneumoniae* In: Dunny G, Cleary P, McKay L, editors. *Genetics and molecular biology of streptococci latococci, and enterococci* Washington, DC: American Society for Microbiology; 1991: 83-87.
- 68-Duran - Reynals F. Studies on a certain spreading factor existing in bacteria and its significance for bacterial invasiveness. *J Exp Med.* 1933;58:161-181.
- 69-Krivan H, Roberts D, Ginsburg V. Many pulmonary pathogenic bacteria bind specifically to the carbohydrate sequence Gal-Nac β 1-4Gal found in some glycolipids. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988;85:6157-6161.

- 70-Bulnois G. Pneumococcal proteins and the pathogenesis of disease caused by *Streptococcus pneumoniae*. *J Gen Microbiol*. 1992;138:249-259.
- 71-Principi N, Marchisio P, Schito G, Mannelli S. Risk factors for carriage of respiratory pathogens in the nasopharynx of healthy children. Ascanius Project Collaborative Group. *Pediatr Infect Dis J*. 1999;18:517-523.
- 72-El Ahmer O, Essery S, Saadi A, al e. The effect of cigarette smoke on adherence of respiratory pathogens to buccal epithelial cells. *FEMS Immunol Med Microbiol Mol Biol Rev*. 1999;23:27-36.
- 73-Garcia-Rodriguez J, Fresnadillo Martinez M. Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. *J Antimicrob Chemother*. 2002;50:59-74.
- 74-Harabuchi Y, Faden H, Yamanaka N, Duffy L, Wolf J, Krystofik D. Nasopharyngeal colonization with nontypeable *Haemophilus influenzae* and recurrent otitis media. *J Infect Dis* 1994;170:862-866.
- 75-Ghaffar F, Friedland I, McCracke GJ. Dynamics of nasopharyngeal colonization by *Streptococcus pneumoniae*. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:638-646.
- 76-Simell B, Korkeila M, Pursiainen H, Kilpi T, Kayhty H. Pneumococcal carriage and otitis media induce salivary antibodies to pneumococcal surface adhesin a, pneumolysin, and pneumococcal surface protein a in children. *J Infect Dis* 1996;183:887-896.
- 77-Faden H, Stanievich J, Brodsky L, Bernstein J, Ogra P. Changes in nasopharyngeal flora during otitis media of childhood. *Pediatr Infect Dis J* 1990;9:623-666.
- 78-Uehara Y, Kikuchi K, Nakamura T, al e. Inhibition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization of oral cavities in newborns by viridans group streptococci. *Clin Infect Dis* 1999;32:1399-1407.
- 79-Lipsitch M, Dykes J, Johnson S, al e. Competition among *Streptococcus pneumoniae* for intranasal colonization in a mouse model. *Vaccine* 2000;18:2895-2901.
- 80-American Academy of Pediatrics Technical report: prevention of pneumococcal infections, including the use of pneumococcal conjugate and polysaccharide vaccines and antibiotic prophylaxis. Committee on Infectious Diseases. *Pediatrics* 2000;106:367-376.
- 81-Polack F, Flayhart D, Zahurak M, Dick J, Willoughby R. Colonization by *Streptococcus pneumoniae* in human immunodeficiency virus infected children. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19: 608-612.

- 82-Magee A, Yother J. Requirement for capsule in colonization by *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun* 2001;69:3755–3761.
- 83-Bruyn G, van Furth R. Pneumococcal polysaccharide vaccines: indications, efficacy and recommendations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991;10:897–910.
- 84-Tuomanen E. The biology of pneumococcal infection. *Pediatr Res* 1997;42:253–258.
- 85-McCullers J, Rehg J. Lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of a mouse model and the role of platelet-activating factor receptor. *J Infect Dis* 2002;186:341–350.
- 86-Mason EJ, Lamberth L, Kershaw N, Prosser B, editors. *S. pneumoniae* antibiotic susceptibility in the United States: 1996–1997. 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy American Society for Microbiology; Washington, D.C.1997:117-118.
- 87-Dyk J, Terespolsky S, Meyer C, van Niekerk C, Klugman K. Penetration of cefpodoxime into middle ear fluid in pediatric patients with acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16:79–81.
- 88-Barnett E, Teele DW, Klein J, Cabral H, Kharasch S, Group at GBOMS. Comparison of ceftriaxone and trimethoprim-sulfamethoxazole for acute otitis media. *Pediatrics* 1997;99:23–28.
- 89-Green S, Rothrock S. Single-dose intramuscular ceftriaxone for acute otitis media in children. *Pediatrics* 1993;91:23–30.
- 90-Dahiya R, Speck M. Hydrogen peroxide formation by lactobacilli and its effect on *Staphylococcus aureus*. *J Dairy Sci*. 1968;51:1068–1072.
- 91-Peter G. The child with pneumonia: Diagnostic and therapeutic considerations. *Pediatr Infect Dis J*. 1988;7:453-461.
- 92-Azoulay-Dupuis E, Vallee E, Veber B, Bedos JP, Bauchet J, Pocidalo J-J. In vivo efficacy of a new fluoroquinolone, sparfloxacin, against penicillin-susceptible, and -resistant and multiresistant strains of *Streptococcus pneumoniae* in a mouse model of pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36:2698–2703.
- 93-Gavaldà J, Capdevila J, Almirante B, Otero J, Ruiz I, Laguarda M, et al. Treatment of experimental pneumonia due to penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in immunocompetent rats. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997;41:795–801.
- 94-Sauve C, Azoulay-Dupuis E, Moine P, Darras-Joly C, Rieux V, Carbon C, et al. Efficacies of cefotaxime and ceftriaxone in a mouse model of pneumonia induced by

- two penicillin- and cephalosporin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996 40:2829–2834.
- 95-Tateda K, Takashima K, Miyazaki H, Matsumoto T, Hatori T, Yamaguchi K. Noncompromised penicillin-resistant pneumococcal pneumonia CBA/J mouse model and comparative efficacy of antibiotics in this model. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996; 40:1520–1525.
- 96-Blazer L, Berant M, Alon U. Bacterial meningitis: Effect of antibiotic treatment on cerebrospinal fluid. *J Clin Pathol*. 1993;80:386.
- 97-Baraff L, Lee S, Schinger D. Outcomes of bacterial meningitis in children: A meta-analysis. *Paediatr Infect Dis J*. 1993;12:389.
- 98-Kilpi T, Antilla M, Kallio M, et al. Severity of childhood bacterial meningitis and duration of illness before diagnosis. *Lancet*. 1991;338:406.
- 99-Talan D, Guterman J, Overturf G, et al. Analysis of emergency department management of suspected bacterial meningitis. *Ann Emerg Med*. 1989;18:856.
- 100-Feigin R, McCracken G, Kellin J. Diagnosis and management of meningitis. *Paediatr Infect Dis J*. 1992;11:785.
- 101-Prober G. Central Nervous System Infections: Acute Bacterial Meningitis Beyond the Neonatal Period. In: Berhman, Kliegman, Jenson, editors. *Textbook of Paediatrics*. 16 ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 2000: 751-761.
- 102-Williamson R, Tomasz A. Inhibition of cell wall synthesis and acylation of the penicillin-binding proteins during prolonged exposure of growing *Streptococcus pneumoniae* to benzylpenicillin. *Eur J Biochem*. 1985;151:475-483.
- 103-Klugman K. Pneumococcal Resistance to Antibiotics. *Clin Microbiol Rev*. 1990;3(2):171-196.
- 104-Kislak J, Razavi L, Daly A, Finland M. Susceptibility of pneumococci to nine antibiotics. *Am J Med Sci*. 1965;250:261-268.
- 105-Applebaum P. World-wide development of antibiotic resistance in pneumococci. *Eur J Clin Microbiol* 1987;6:367-377.
- 106-Sulikowska A, Grzesiowski P, Sadowy E, Fiett J, Hryniewicz W. Characteristics of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* Isolated from the Nasopharynxes of Asymptomatic Children and Molecular Analysis of *S. pneumoniae* and *H. influenzae* Strain replacement in the Nasopharynx. *J Clin Microbiol*. 2004;42:3942-3949.

- 107-Poulakou G, Katsarolis I, Matthaiopoulou I, Tsiordas S, Kanavaki S, Hatzaki D, et al. Nationwide surveillance of *Streptococcus pneumoniae* in Greece: patterns of resistance and serotype epidemiology. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;30:87-92.
- 108-Oteo J, Cruchaga S, Campos J, Saeza-Nieto J, Baquero F, (EARSS). Antibiotic resistance in 622 *Streptococcus pneumoniae* isolated from blood and cerebrospinal fluid in 33 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003;21:12-19.
- 109-Borg M, Scicluna E, De Kraker M, Van de Sande-Bruisna N, Tiermersma E, Gur D. Antibiotic resistance in the southeastern Mediterranean - preliminary results from the ARMed project. *Eurosurveillance*. 2006;11:639-648.
- 110-Yurdakul A, Calisir H, Atasever M, Ordulu L, Ogretensoy M. Resistance to penicillin among the *Streptococcus pneumoniae* in Turkey. *Europ Resp J*. 2001;18:436.
- 111-Uzuner A, Ilki A, Akman M, Gundoglu E, Erbolukbas R, Kokacya O, et al. Nasopharyngeal carriage of penicillin - resistant *Streptococcus pneumoniae* in healthy children. *Turk J Ped*. 2007;49:370-378.
- 112-Sener B, Tunckanat F, Ulusoy S, Tunger A, Soyletir G, Mulazimoglu L, et al. A survey of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* in Turkey, 2004-2005. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60:587-593.
- 113-Jackson L, Neuzi K, Yu O, Benson P, Barlow W, Adams A. Effectiveness of pneumococcal polysaccharide vaccine in older adults. *N Engl J Med* 2003; 348:1474-755.
- 114-Poehling K, Lafleur B, Szilagyi P, et al. Population-based Impact of Pneumococcal Conjugate Vaccine in young Children. *Pediatrics*. 2004;114:755-761.
- 115-Black S, Shinefield H, Baxter R, Austiran R, Bracken L, Hansen J, et al. Post licensure surveillance for pneumococcal invasive disease after use of heptavalent pneumococcal vaccine in Northern California Kaiser Permanente. *Paediatr Infect Dis J*. 2004;23:485-489.
- 116-World Health Organization Pneumonia Vaccine Trial Investigators' Group. Standardization of interpretation of chest radiographs for the diagnosis of pneumonia in children. Geneva, WHO, 2001.
- 117-Musher DM. *Streptococcus pneumoniae*. In *Principles and Practice of Infectious Diseases*, Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE, Dolin R(eds) Churchill Livingstone Inc, 1995:1181-1826.

- 118-Musher DM. Streptococcus pneumoniae. In Principles and Practice of Infectious Diseases, Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE, Dolin R, eds. Churchill Livingstone, 2000:2128-2144.
- 119-Peter G, Klein JO. Streptococcus pneumoniae. In: Logg SS, Pickering LK, Prober CG, eds. Principles and practice of pediatric infectious diseases, 2nd ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone, 2002:739-746.
- 120-Ghaffar F, Friedland IR, McCracken GH. Dynamics of nasopharyngeal colonization by Streptococcus pneumoniae. Ped. Inf. Dis. 1999;18:638-646.
- 121-Gray BM, Dillon HC Jr. Epidemiological studies of Streptococcus pneumoniae in infants: antibody to types 3,6,14 and 23 in the first two years of life. Journal Infectious Diseases 1988;158:948-955.
- 122-Ekdahl K, Ahlinder I, Hansson H, et al. Duration of nasopharyngeal carriage of penicillin resistant Streptococcus pneumoniae: experiences from the South Swedish pneumococcal intervention Project. Clinical Infectious Diseases 1997;25:1113–1117.
- 123-Bakır M, Yağcı A, Akbenlioğlu C, İlki A, Ülger N, Söyletir G. Epidemiology of Streptococcus pneumoniae pharyngeal carriage among healthy Turkish infants and children. Eur J Pediatr 2002; 161: 165–166.
- 124-Gazi H, Kurutepe S, Surutepe S, Teker A, Ozbakkaloğlu B. Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens in the oropharynx of healthy school children in Turkey. Indian J Med Res 2004; 120: 489–494.
- 125-Millar E., O'Brien K., Watt J., Bronsdon M., Dallas J. Effect of Community-Wide Conjugate Pneumococcal Vaccine Use in Infancy on Nasopharyngeal Carriage through 3 Years of Age : A Cross –Sectional Study in a High-Risk Population. Clinical Infectious Diseases 2006;43:8–15.
- 126-Frazao N., Brito-Avo A., Simas C., Saldanha J., Mato R., Nunes S., Effect of the seven-valent conjugate pneumococcal vaccine on carriage and drug resistance of streptococcus pneumoniae in healthy children attending day-care centers in Lisbon. Pediatric Infectious Diseases J 2005;24:243–252.
- 127-Regev –Yochay G, Raz M, Dagan R et al. Nasopharyngeal carriage of streptococcus pneumoniae by adults and children in community and family settings. Clin Infect Dis. 2004;38: 632- 639.
- 128-Yakupsky P, Porat N, Fraser D, et al. Acquisition, carriage and transmission of pneumococci with decreased antibiotic susceptibility in young children attending a day care facility in southern Israel. J Infect Dis. 1998; 177:1003–1012.

- 129-Greenberg D, Lavi-Givon N, Broides Arnon, Blancovich I, Peled N, Dagan R. The contribution of smoking and exposure to tobacco smoke to streptococcus pneumoniae and haemophilus influenzae carriage in children and their mothers Clin Infect Dis. 2006;42:897–903.
- 130-Ghaffar F.,Barton T.,Lozano J.,Muniz L.,Hicks P. Effect of the 7-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine on Nazopharyngeal Colonization by Streptococcus pneumoniae in First 2 Years of Life. Clinical Infectious Diseases 2004;39:930-938.
- 131-Hill PC, Akisanya A, Sankareh K, Cheung YB, Saaka M, Lahai G, Greenwood BM, Adegbola RA. Nasopharyngeal carriage of streptococcus pneumoniae in Gambian villagers. Clin Infect Dis. 2006;43:673–679.
- 132-Obaro SK, Adegbola RA, Banya WA, Greenwood BM. Carriage of pneumococci after pneumococcal vaccination. Lancet 1996;348:271-272.
- 133-Mbelle N, Huebner RE, Wasaas AD, Kimura A, Chang I, Klugman KP. Immunogenicity and impact on nasopharyngeal carriage of a nonavalent pneumococcal conjugate vaccine. J Infect Dis 1999;180:1171-1176.
- 134-Dagan R, Fraser D. Conjugate pneumococcal vaccine and antibiotic-resistant streptococcus pneumoniae: herd immunity and reduction of atitis morbidity. Pediatr Infect Dis J 2000;19 :79–88.
- 135-Dagan R. Melamed R, Muallem M, et al.Reduction of nasopharyngeal carriage of pneumococci during the second year of life by a heptavalent conjugate pneumococcal vaccine. J Infect Dis 1996: 174,1271-1278.
- 136-Dagan R. Muallem M., Melamed R,Leroy O. Reduction of pneumococcal nasopharyngeal carriage in early infancy after immunization with tetravalent pneumococcal vaccines conjugated to either tetanus toxoid or diphtherias toxoid . Pediatr Infect Dis J 1997;16:1060-1064.
- 137-Kristinsson KG, Sigurdardottir ST, Gudnason T, et al. Effect of vaccination with octavalent protein conjugated pneumococcal conjugate vaccines on pneumococcal carriage in infants (abstract G-5). In: Abstracts of the 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, DC: American Society of America, 1997:193.
- 138-Edwards KM, Wandling G, Palmer P, Decker MD. Carriage of pneumococci among infants immunized with a 9-valent pneumococcal conjugate vaccine at 2,4, and 6 months of age (abstract 44). In: Programs and abstracts of the 37th Annual Meeting

of the Infectious Diseases Society of America. Alexandria, VA: Infectious Diseases Society of America, 1999:966.

139-Dagan R, Zamir O, Tirosh N, et al. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in toddlers vaccinated during infancy with an 11-valent pneumococcal vaccine conjugated to diphtheria and tetanus toxoids. In: Programs and abstracts of the 40th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, DC: American Society for Microbiology, 2000:236

140-Obaro SK, Adegbola RA, Chang I, et al. Safety and immunogenicity of a nonvalent pneumococcal vaccine conjugate to CRM 197 administered simultaneously but in a separate syringe with diphtheria, tetanus and pertussis vaccines in Gambian infants. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19:463–469.

141-Dagan R, Givon-Lavi N, Zamir O, et al. Reduction of nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* after administration of a 9-valent pneumococcal conjugate vaccine to toddlers attending day care centers. *Journal Infection Diseases* 2002;185:929–936.

142-Erdem H, Pahsa A. Antibiotic resistance in pathogenic *Streptococcus pneumoniae* isolates in Turkey. *J Chemother* 2005 17:25–30.

143-Gür D, Özalp M, Sümerkan B, Kaygusuz A, Töreci K, et al. Prevalence of antimicrobial resistance in *Haemophilus Influenza*, *Streptococcus Pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* and *Streptococcus pyogenes*: results of a multicentre study in Turkey, 2002 *Intern J Antimicrob Agents* 19:207–211.

144-Yalçın I, Gürler N, Alhan E, Yaman A, Turgut M, Celik U, Akçakaya N, Camcioğlu Y, Diren S, Yildirim B. Serotype distribution and antibiotic susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* disease isolates from children in Turkey, 2001–2004. *Eur J Pediatr*. 2006;165:654-657.

145-Dagan R, Givon-Lavi N, Zamir O, et al. Effect of a nonvalent conjugate vaccine on carriage of antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in day-care centers *Pediatric Infection Diseases Journal*, 2003;22:532-539.

146-Volonakis K, Souli M, Kapaskelis A, Basiaka F, Grammelis V. Evolution of resistance patterns and identification of risk factors for *Streptococcus pneumoniae* colonisation in day care centre attendees in Athens, Greece. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2006;28:297-301.

147-Samore MH, Magill MK, Alder CS, et al. High rates of multiple antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* from healthy children living in isolated rural

communities: association with cephalosporin use and intrafamilial transmission. *Pediatrics* 2001;108:856-865.

148-Finkelstein JA, Huang SS, Daniel J et al. Antibiotic resistant *Streptococcus pneumoniae* in the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine era: predictors of carriage in a multicomunity center. *Pediatrics* 2003;112:862-869.

149-Kellner JD, Ford-Jones L, members of Toronto Child Care Center Study Group. *Streptococcus pneumoniae* carriage in children attending 59 Canadian child care centers. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1999; 153: 495-502.

150-Stratchounski LS, Kretchikova OI, Kozlov RS, et al. Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolated from healthy children in day care centers: results of a multicenter study in Russia. *Pediatr Inf Dis J* 2000; 19:196-200.

151-Marchisio P, Esposito S, Schiro GC, et al. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in healthy children: implications for the use of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine. *Emerging Inf Dis* 2002;8:479-484.

152-Perez-Trallero E, Garcia de la Fuente C, Garcia-Rey C, et al. Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. Geographical and ecologic analysis of resistance, co resistance, and coupled resistance to antimicrobials in respiratory pathogenic bacteria in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1965-1972.