

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE'NİN MENENJİT DIŞI KLİNİK İZOLATLARINDA PENİSİLİN DİRENCİ İLE SEROTİP İLİŞKİSİ VE BAZI ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ*

Murat TELLİ, Mete EYİGÖR, Berna GÜLTEKİN, Neriman AYDIN

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, AYDIN

ÖZET

Beyin omurilik sıvısı dışındaki klinik örneklerden izole edilen 89 *Streptococcus pneumoniae* suşunda bazı antibiyotiklere direnç oranları disk difüzyon ve agar dilüsyon metodu ile CLSI kriterlerine göre, penisiline dirençli suşların serotipleri Chers-board metodu kullanılarak kapsül belirginleşmesi (quellung) reaksiyonu ile belirlenmiştir.

Oral penisilinler için geçerli kriterlere göre penisiline 12 (% 13) suş dirençli, 30 (% 34) suş orta duyarlı, 47 suş (% 53) duyarlı olarak saptanmıştır. Suşların 36'sı (% 40) eritromisine ve azitromisine, 32'si (% 36) tetrasikline, 27'si (% 30) klindamisine, biri levofloksasine dirençli bulunmuş, vankomisin, linezolid ve telitromisine direnç saptanmamıştır. 12'si penisiline dirençli suşlar olmak üzere 26 (% 29) suşta çoklu ilaç direnci ve bu suşların tamamında eritromisin, 25'inde klindamisin, 22'sinde tetrasiklin, 12'sinde penisilin, birinde levofloksasin direnci saptanmıştır.

Penisiline dirençli 12 suşun yedisi serotip 19, ikisi serotip 23, bireri serotip 6, 14 ve serotiplendirilmeyen olarak tanımlanmıştır.

Menenjit dışı infeksiyonlardan izole edilen suşlarımızda oral penisilinler için dirençli ve orta duyarlı suşların % 47 oranında bulunması antibiyotik direnç sürveyansının önemini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: çoklu ilaca direnç, penisilin direnci, serotip, *Streptococcus pneumoniae*

SUMMARY

Penicillin-resistance and Serotypes Relationship in *Streptococcus pneumoniae* Clinical Isolates and Resistance to some Antibiotics

The resistance rates to some antibiotics of 89 *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from clinical samples other than cerebrospinal fluid were detected with disk diffusion and agar dilution methods according to CLSI guidelines. Serotypes in penicillin-resistant strains detected via Chers-board method using quellung reaction.

According to oral penicillin criteria of CLSI, 12 (13 %) isolates were determined as resistant, 30 (34 %) isolates as intermediate resistant and 47 (53 %) isolates as susceptible. Resistance to erythromycin and azithromycin were 40 %, tetracycline 36 %, clindamycin 30 % and levofloxacin 1 %. No resistance to telithromycin, vancomycin or linezolid was found. Multidrug resistant strains (MDR) were 26 (29 %). All penicillin-resistant strains were also MDR. All 26 MDR strains were found as resistant to erythromycin, 25 strains to clindamycin, 22 strains to tetracycline, 12 strains to penicilin and one strain to levofloxacin.

Of the 12 penicillin-resistant strains, 7 were found to be serotype 19, 2 serotype 23, and one each of serotypes 6, 14 and non-typable.

The ratio (47 %) of penicilin resistant and moderately sensitive strains for oral penicillins in strains isolated from infections other than meningitis, indicates the importance of antibiotic resistance surveillance.

Keywords: multidrug resistance, penicillin-resistance, serotype, *Streptococcus pneumoniae*

İletişim adresi: Murat Telli. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, AYDIN

Tel.: (0256) 444 12 56/515, GSM: (0533) 616 00 53

e-posta: mutelli@hotmail.com

Alındığı tarih: 14.12.2009, revizyon kabulü: 13.02.2010

*Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (TPF-07024).

GİRİŞ

Streptococcus pneumoniae akut bakteriyel sinüzit, akut otitis media, toplum kaynaklı pnömoni ve kronik bronşitin akut alevlenmesi gibi infeksiyonlara en sık neden olan etkenlerden biridir⁽¹⁹⁾. Penisiline direnç başta olmak üzere antibiyotiklere dirençli pnömokoklar 1980'lerden sonra tüm dünyada artan sıklıkta izole edilmeye başlanmıştır. Bazı Avrupa ve Latin Amerika ülkelerinde % 60, bazı Asya ülkelerinde % 80'lere varan oranlarda penisilin dirençli bildirilmektedir^(13,24). Ülkemizde yapılan çalışmalarda penisiline dirençli *S.pneumoniae* suşlarına bazı bölgelerde rastlanmaz iken, bazı bölgelerde bu oran % 11.5'e kadar çıkmaktadır^(15,29). Penisilin veya beta-laktamlara direnç pnömokoklarda bulunan yüksek moleküler ağırlıklı beş penisilin bağlayan proteinin (PBP1A, 1B, 2B, 2X ve 3) üç ya da dördünde oluşan değişikliklere bağlı gelişir⁽²⁷⁾. Pnömokoklarda beta-laktamaz varlığı veya ek düşük afiniteli PBP bildirilmiştir⁽³¹⁾.

Pnömokoklarda çoklu ilaç direnci (ÇİD), üç veya daha fazla farklı sınıf antibiyotiğe direnç olarak kabul edilmekte ve bu tip direnç penisiline dirençli suşlarda duyarlılara oranla daha sık görülmektedir⁽²⁾.

S.pneumoniae suşlarında penisilin direnci tüm dünyada 6, 19 ve 23 serotipleri ile ilişkili bulunmuştur^(2,27). Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise penisilin dirençli suşlarda en sık 6, 9, 14, 19 ve 23 serotipleri bulunmuştur^(10,21,29).

Çalışmamızda, klinik örneklerden izole edilen *S.pneumoniae* suşlarında penisilin direnç oranını, serotip ilişkisini ve çeşitli antibiyotiklere direnç durumlarını belirlemek amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Suşlar: Ocak 2007 ile Mayıs 2009 tarihleri arasında, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji laboratuvarında klinik örneklerden izole edilen 89 *S.pneumoniae* suşu çalışmaya alınmıştır. Suşların tanımlanmasında, optokin (5 µg) duyarlılığı, safrada erime deneyi ve kolo-

ni morfolojilerinden faydalanılmıştır. Suşlar izole edildikten sonra -80°C'de % 10 gliserin içeren süt kaymağı (skim milk) besiyerinde saklanmıştır.

Antibiyotik duyarlılığı: Suşların penisilin ve diğer antibiyotiklere (eritromisin, klindamisin, azitromisin, vankomisin, linezolid, tetrasiklin, telitromisin ve levofloksasin) duyarlılıkları için Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre disk difüzyon testi yapılmıştır. Penisilin duyarlılığını test etmek için oksasilin diski (1 µg), minimal inhibitör konsantrasyonlarını (MİK) belirlemek için agar dilüsyon metodu kullanılmıştır. Zon çaplarının ve MİK değerlerinin yorumlanmasında CLSI kılavuzlarına uyulmuştur^(5,6). Kalite kontrol suşu olarak *S.pneumoniae* ATCC 49619 suşu kullanılmıştır.

Serotipleme: *S.pneumoniae* suşlarının serotiplendirilmesi için "Chess-board metodu"⁽²⁵⁾ ve oniki havuzlu serotipleme kiti (Stantens Serum Institut, Denmark) kullanılmıştır. Kullanılan kit şu serotipleri içermektedir: 1, 2, 3, 4, 5, 6 (6A, 6B), 7 (7F, 7A, 7B, 7C), 8, 9 (9A, 9L, 9N, 9V), 10 (10F, 10A, 10B, 10C), 11 (11F, 11A, 11B, 11C), 12 (12F, 12A, 12B), 14, 15 (15A, 15B, 15C, 15F), 17 (17F, 17A), 18 (18A, 18B, 18C, 18F), 19 (19A, 19F, 19B, 19C), 20, 22 (22F, 22A), 23 (23F, 23A, 23B), 33 (33A, 33B, 33C, 33D, 33F). Kit içeriğindeki serotipler 7 ve 23 valanlı aşı serotiplerini içermektedir. Kapsül belirginleşme reaksiyonu (quellung) yöntemi aynı üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulanmıştır. Kısaca; suşların 18 saatlik inkübasyonundan sonra PBS içinde yaklaşık 4 McFarland bulanıklıkta bakteri süspansiyonu hazırlanmış, bu süspansiyondan bir damla lam üzerine konmuş, daha sonra 5 mikrolitre antiserum eklenmiştir. 10 dakika bekledikten sonra bu karışıma bir damla % 5'lik metilen mavisi ilave edilip lamelle kapatılmış, 100'lük objektifde immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta incelenmiştir. Bakteri kapsülünde belirginleşme görünümü pozitiflik olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 89 *S.pneumoniae* suşunun 57'si (% 64) solunum yolu (balgam, endo-

Tablo 1. 89 *S.pneumoniae* suşunun antibiyotik duyarlılık dağılımı.

Antibiyotikler	Duyarlı (%)	Orta duyarlı (%)	Dirençli (%)	MİK ₅₀ (mg/L)	MİK ₉₀ (mg/L)
Penisilin				0.06	2
Oral	47 (53)	30 (34)	12 (13)**		
Parenteral*	86 (97)	3 (3)	0		
Eritromisin	53 (60)	0	36 (40)	-	-
Klindamisin	62 (70)	0	27 (30)	-	-
Azitromisin	53 (60)	0	36 (40)	-	-
Tetrasiklin	57 (64)	0	32 (36)	-	-
Levofloksasin	88 (99)	0	1 (1)	-	-
Vankomisin	89 (100)	0	0	-	-
Linezolid	89 (100)	0	0	-	-
Telitromisin	89 (100)	0	0	-	-

* CLSI kılavuzunun menenjit dışı izolatlar için kabul edilen sınır değerlerine göre.

** 7 suş serotip 19, 2 suş serotip 23, birer suş serotip 6, 14 ve serotiplendirilmeyen.

- Belirlenmedi.

trakeal aspirat, bronkoalveoler lavaj), 13'ü (% 15) göz salgısı, 12'si (% 13) steril vücut sıvısı (kan, plevra), 6'sı (% 7) yara ve biri idrar örneklerinden izole edilmiştir. Suşlarda BOS izolati bulunmamaktadır.

Penisilin direncini belirlemede, CLSI (2009) M100-S19 kılavuzunda belirtilen "oral penisilin" MİK sınır değerleri (MİK $\geq$ 2 mg/L dirençli, MİK 0.125-1 mg/L orta duyarlı, MİK $\leq$ 0.06 mg/L duyarlı) kabul edilmiştir⁽⁶⁾. Buna göre test edilen 89 suşun 12'si (% 13) penisiline dirençli, 30'u (% 34) penisiline orta duyarlı, 47'si (% 53) penisiline duyarlı bulunmuştur. CLSI kılavuzunun "menenjit dışı izolatlar için parenteral penisilin" MİK sınır değerlerine (MİK $\geq$ 8 mg/L dirençli, MİK = 4 mg/L orta duyarlı, MİK $\leq$ 2 mg/L duyarlı) göre ise 86 suş (% 97) penisiline duyarlı, 3 suş (% 3) penisiline orta duyarlı iken penisiline dirençli suş bulunmamıştır. Penisilin için MİK₅₀ değeri 0.06 mg/L, MİK₉₀ değeri 2 mg/L olarak bulunmuştur. Penisiline dirençli toplam 12 pnömokok suşunun 7'si (% 58) serotip 19, 2'si serotip 23 (% 17) ve birer suş serotip 6, 14 ve serotiplendirilemeyen olarak belirlenmiştir. Pediatrik yaş grubundan gönderilen örneklerden izole edilen *S.pneumoniae* suşlarında (14 suş) penisiline direnç oranı % 14 (2 suş) bulunmuştur. Bu örneklerin tamamı solunum yolu örnekleri idi. Erişkin hasta örneklerinden izole edilen *S.pneumoniae* suşlarında (75 suş) penisiline direnç oranı % 13 (10 suş) bulunmuştur. Bu suşların 9'u solunum yolu örneklerinden 1'i invaziv örneklerden izole edilmiştir. *S.pneumoniae* suşlarında eritromisine ve azitromisine

% 40, tetrasikline % 36, klindamisine % 30, levofloksasine % 1 direnç saptanmıştır. Vankomisin, linezolid ve telitromisine dirençli suş bulunmamıştır. *S.pneumoniae* suşlarının penisilin ve diğer antibiyotiklere direnç dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Suşların 26'sının (% 29) ve penisiline dirençli suşların tamamının ÇİD olduğu belirlenmiştir. Beş farklı ÇİD fenotipi saptanmış, bu fenotiplerdeki suş sayıları ve direnç saptanan antibiyotikler Tablo 2'de gösterilmiştir. ÇİD fenotipi gösteren suşların tamamında eritromisine direnç saptanmış ve bu suşlarda serotip 19 en sık görülen serotip olmuştur.

Tablo 2. 89 *S.pneumoniae* suşunda çoklu ilaç direnci.

Suş sayısı	Direnç saptanan antibiyotikler
14	Eritromisin, klindamisin, tetrasiklin
6	Penisilin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin
4	Penisilin, eritromisin, klindamisin
1	Penisilin, eritromisin, tetrasiklin
1	Penisilin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, levofloksasin

TARTIŞMA

Penisilin, *S.pneumoniae*'nin neden olduğu infeksiyonlarda ilk tercih edilen antibiyotiktir. Fakat son yıllarda penisiline artan direnç oranları ve diğer antibiyotiklere direnç ile olan birlikteliği önemli bir sorun olmaktadır⁽²²⁾. Tüm dünyada penisiline direnç oranı, hem ülkeler arasında hem de aynı ülke içerisinde farklı oranlarda bildirilmektedir^(4,20,29). Çalışmamızda pnömokok

suşlarında penisiline direnç oranı % 13 olarak bulunmuş, suşların % 34'ü orta duyarlı, % 53'ü ise penisiline duyarlı olarak saptanmıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda penisiline dirençli *S.pneumoniae* suşlarına bazı bölgelerde rastlanmaz iken bazı bölgelerde bu oran % 11.5'e kadar ulaşmakta, penisiline orta duyarlı suşlarda ise oran % 4.8 ile % 41 arasında değişmektedir^(3,26,29). Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ülke verileri ile benzerlik gösterse de yüksek olduğu düşünülmektedir. Hastanemizde, 2004-2006 yıllarında yapılan benzer bir çalışmada penisiline dirençli suş oranı % 1, orta duyarlı suş oranı % 35 olarak bulunmuş, pediatrik yaş grubunda penisiline dirençli suş bulunmamıştı⁽¹¹⁾. Bu çalışmamızda ise pediatrik yaş grubunda solunum yolu örneklerinde direnç oranı % 14 olarak saptanmıştır. Diğer antibiyotikler ile karşılaştırıldığında ise eritromisin ve levofloksasine dirençte önemli oranlarda değişme olmamış, tetrasiklin (% 15'den % 36) direnci artmıştır. Birimimizde yapılan bu iki çalışma karşılaştırıldığında penisilin ve tetrasiklin direnç oranlarının artışı dikkat çekicidir. Farklı ülkelerden yapılan çeşitli çalışmalarda ise penisiline duyarlı olmayan (orta duyarlı ve dirençli suşların toplamı) *S.pneumoniae* suşlarının oranı % 4.4 ile % 50 arasında değişmektedir^(7,17,20,22,23). Sonuçlarımız ile bu sonuçlar karşılaştırıldığında penisiline duyarlı olmayan *S.pneumoniae* suş oranımız (% 47) diğer ülkelerle benzer olmakla birlikte yüksek olan grupta yer almaktadır. Diğer ülkelerde ve ülkemizde penisiline direnç oranlarındaki geniş dağılım, bölgesel direnç takibinin önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda CLSI'nin 2008 kılavuzunda yayınladığı, menenjit dışı parenteral penisilin direnç sınır değerlerine göre ise penisiline dirençli suşa rastlanmaz iken orta duyarlı ve duyarlı suş oranı sırası ile % 3 ve % 97 olarak belirlenmiştir. Doğan ve ark.⁽⁹⁾, CLSI'nin yeni sınır değerlerine göre dirençli suş oranının menenjit dışı grup için % 6.1'den % 0.5'e düştüğünü, menenjit grubu için ise % 6.6'dan % 33.3'e yükseldiğini bildirmişlerdir. Imöhl ve ark.⁽¹⁶⁾ ise 2008 öncesi CLSI kılavuzuna göre % 1.2 olan penisilin direncini yeni kılavuza göre menenjit grubu için % 6.5, menenjit dışı grup için % 0 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda da 2008

öncesi CLSI kılavuzu sınır değerlerine göre % 13 olan penisilin direnci yeni kılavuzun menenjit dışı parenteral sınır değerlerine göre % 0 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda menenjit izolatu olmadığı için bunlar için hesaplama yapılmamıştır. Çalışmamızda daha önceki çalışmalarla karşılaştırılabilir olması için CLSI 2009 menenjit dışı oral penisilin duyarlılık sınır değerleri referans alınmıştır. Penisiline karşı direnç artışını bildiren çalışmaların yanında azaldığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır ve bu sonuçlar konjuge aşılardan kullanılması ile açıklanmaktadır⁽²⁰⁾. Direnç oranlarındaki bölgesel ve yıllara bağlı bu değişiklikler, direnç sürveyansının yapılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Penisiline dirençli pnömokok suşlarında, farklı sınıf antibiyotiklere direnç birlikteliği duyarlı suşlara oranla daha sık görülmektedir⁽²⁾. Penisilin dirençli suşların ve bu suşların taşıdığı ortak direnç fenotiplerinin ortaya konması tedavi başarısı için önemlidir. Çalışmamızdaki tüm *S.pneumoniae* suşlarında ÇİD oranı % 29 olarak bulunmuştur. Penisiline dirençli tüm suşlar (% 100) ÇİD olarak belirlenmiştir. Penisiline orta duyarlı suşlar içinde bu oran % 40 (12 suş), penisiline duyarlı suşlar içinde ise % 4 (2 suş) olmuştur. Penisiline dirençli suşlardaki ÇİD oranındaki yükseklik, bu klonların yayılımı ile önemli bir direnç problemi olarak karşımıza çıkabilecektir. Amren-Madsen ve ark.⁽¹⁾ ÇİD *S.pneumoniae* suş oranını % 21-38 arasında bulmuşlar ve yıllar içinde artış görmüşlerdir. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda penisiline dirençli *S.pneumoniae* suşlarında ÇİD oranı % 24 ile % 100 arasında değişmektedir^(3,21,28). Çalışmamızda tüm *S.pneumoniae* suşlarında beş farklı ÇİD fenotipi ve en sık olarak eritromisin, klindamisin, tetrasiklin direnç birlikteliği görülmüştür. Dias ve ark.⁽⁷⁾ tüm pnömokok suşlarında ÇİD oranını % 8.6, en sık görülen ÇİD fenotipini penisilin, tetrasiklin, eritromisin ve klindamisin direnç birlikteliği ve bu ÇİD fenotipinde yaygın serotipleri ise 6, 14, 15, 19 ve 24 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda ise aynı ÇİD fenotipi ikinci sıklıkta bulunmuş ve ÇİD pnömokok suşlarında serotipler 6, 14, 19 ve 23 olarak belirlenmiştir. Bu bulgular pnömokok suşlarında ÇİD fenotiplerinin ve ilişkili serotiplerin bölgesel olarak farklılık gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda pnömokok suşlarında linezolid, vankomisin ve telitromisine direnç görülmemiştir. Dünyada ve ülkemizde de bu antibiyotiklere direnç henüz ciddi problem olarak karşımıza çıkmamaktadır^(8,12,21,28).

Tüm dünyada ve ülkemizde penisilin dirençli pnömokoklarda en sık görülen serotipler 6, 9, 14, 19 ve 23'dür^(14,18,21,29,30). Çalışmamızda da, diğer çalışmalara benzer şekilde penisiline dirençli suşlarda görülen serotipler 6, 14, 19, 23 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda bulunan penisilin dirençli suşlardaki serotipler aşı serotiplerini içermektedir. Serotiplerin dağılımının takibi ve direnç oranlarının belirlenmesi aşılamanın dirençli suşlardaki serotip değişimine etkisini belirleme ve dirençli serotiplerin dağılımı açısından önemlidir.

Sonuç olarak hastanemizde klinik örneklerden izole edilen *S.pneumoniae* suşlarında penisiline duyarlı olmayan (dirençli ve orta duyarlı toplamı) suş oranı (% 47) ve penisiline dirençli suşlarda ÇİD oranı (% 100) yüksektir. Ancak parenteral penisilinler için menenjit dışı izolatlarda penisilin direnç oranı (% 3) düşüktür. Bu nedenle *S.pneumoniae* infeksiyonlarının tedavisinin de antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarına göre belirlenmesinin gerekli olduğu düşünülmektedir. Antibiyotik sürveyansı ve serotip dağılımının belirlenmesi, ampirik tedavinin şekillenmesi ve dirençli serotiplerin takibi için gereklidir.

Teşekkür: Kontrol suşu olarak kullanılan ATCC 49619'un temininde yardımı için Dr. Duygu Perçin'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Amrine-Madsen H, Van Eldere J, Mera RM et al: Temporal and spatial distribution of clonal complexes of *Streptococcus pneumoniae* isolates resistant to multiple classes of antibiotics in Belgium, 1997 to 2004, *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52(9):3216-20.
2. Appelbaum PC: Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: Implications for drug selection, *Clin Infect Dis* 2002;34(12):1613-20.
3. Balaban N, Mumcuoğlu İ, Hayırhoğlu N, Karahan ZC, Sultan N, Bodur H: *Streptococcus pneumoni-*

- ae suşlarının tedavide sık kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2007;37(3):147-51.
4. Borg MA, Tiemersma E, Scicluna E et al: Prevalence of penicillin and erythromycin resistance among invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates reported by laboratories in the southern and eastern Mediterranean region, *Clin Microbiol Infect* 2009;15(3):232-7.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard-Seven Edition, CLSI document M7-A7, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania (2006).
6. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement, CLSI document M100-S19, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania (2009).
7. Dias R, Louro D, Caniça M: Antimicrobial susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in Portugal over an 11-year period, *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(6):2098-105.
8. Dobay O, Rozgonyi F, Hajdú E, Nagy E, Knausz M, Amyes SGJ: Antibiotic susceptibility and serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates from Hungary, *Antimicrob Chemother* 2003;51(4):887-93.
9. Doğan O, Gülmez D, Haşçelik G: Effect of new breakpoints proposed by Clinical and Laboratory Standards Institute in 2008 for evaluating penicillin resistance of *Streptococcus pneumoniae* in a Turkish University Hospital, *Microb Drug Resist*, doi:10.1089/mdr.2009.0084.
10. Eşel D, Sümerkan B, Kocagöz S: Epidemiology of penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates in Kayseri, Turkey, *Clin Microbiol Infect* 2001;7(10):548-52.
11. Eyigör M, Gültekin B, Aydın N: Klinik örneklerden izole edilen *Streptococcus pneumoniae* kökenlerinin antibiyotik direnci, *ANKEM Derg* 2008;22(1):1-6.
12. Farrell DJ, Felmingham D, Shackcloth J et al: Non-susceptibility trends and serotype distributions among *Streptococcus pneumoniae* from community-acquired respiratory tract infections and from bacteraemias in the UK and Ireland, 1999 to 2007, *J Antimicrob Chemother* 2008;62 (Suppl 2):87-95.
13. Felmingham D, Reinert RR, Hirakata Y, Rodloff A:

- Increasing prevalence of antimicrobial resistance among isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the PROTEKT surveillance study, and comparative in vitro activity of the ketolide, telithromycin, J Antimicrob Chemother 2002;50(Supp 1):25-37.
14. Greenberg D, Speert DP, Mahenthiralingam E, Henry DA, Campbell ME, Scheifele DW: Emergence of penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* invasive clones in Canada, Clin Microbiol 2002;40(1):68-74.
 15. Gür D, Özalp M, Sümerkan B et al: Prevalence of antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* and *Streptococcus pyogenes*: results of a multicentre study in Turkey, Int J Antimicrob Agents 2002;19(3):207-11.
 16. Imöhl M, Reinert RR, van der Linden M: New penicillin susceptibility breakpoints for *Streptococcus pneumoniae* and their effects on susceptibility categorisation in Germany (1992-2008), Int J Antimicrob Agents 2009;34(3):271-3.
 17. Low DE, de Azavedo J, Weiss K et al: Antimicrobial resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Canada during 2000, Antimicrob Agents Chemother 2002;46(5):1295-301.
 18. Marchese A, Gualco L, Cochetti I 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;26(2):138-45.
 19. Musher DM: *Streptococcus pneumoniae*, "Mandell GL, Dolin R, Bennett JE (eds): Principles and Practice of Infectious Disease, 6. baskı" kitabında s.2005-392, Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia (2005).
 20. Oteo J, Lázaro E, de Abajo FJ, Baquero F, Campos J, Spanish Members of the European Antimicrobial Resistance Surveillance System: Trends in antimicrobial resistance in 1,968 invasive *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Spanish hospitals (2001 to 2003): decreasing penicillin resistance in children's isolates, J Clin Microbiol 2004;42(12): 5571-7.
 21. Pınar A, Köseoğlu O, Yenişehirli G, Şener B: Molecular epidemiology of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in a university hospital, Ankara, Turkey, Clin Microbiol Infect 2004;10(8):718-23.
 22. Reinert RR, Reinert S, van der Linden M, Cil MY, Al-Lahham A, Appelbaum P: Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in eight European countries from 2001 to 2003, Antimicrob Agents Chemother 2005;49(7):2903-13.
 23. Sadowy, E, Izdebski R, Skoczynska A, Grzesiowski P, Gniadkowski M, Hryniewicz W: Phenotypic and molecular analysis of penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* isolates in Poland, Antimicrob Agents Chemother 2007;51(1):40-7.
 24. Schito GC, Debbia EA, Marchese A: The evolving threat of antibiotic resistance in Europe: new data from the Alexander Project, J Antimicrob Chemother 2000;46(Suppl 3):3-9.
 25. Sørensen UB: Typing of pneumococci by using 12 pooled antisera, J Clin Microbiol 1993;31(8):2097-100.
 26. Şener B, Tunçkanat F, Ulusoy S et al: A survey of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* in Turkey, 2004-2005, J Antimicrob Chemother 2007;60(3):587-93.
 27. Sümerkan B: Direnç pnömokoklar, ANKEM Derg 2006;20(Ek 2):282-5.
 28. Sürücüoğlu S, Kurutepe S, Gazi H, Özkütük N, Çelik P, Özbakkaloğlu B: Toplum kökenli pnömönilerden soyutlanan *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin direnci, Türk Mikrobiyol Cem Derg 2004;34(3):151-6.
 29. Şener B: *Streptococcus pneumoniae*'de penisilin direnci ve klonal ilişkinin izlenmesi, ANKEM Derg 2007;21(Ek 2):171-7.
 30. Watanabe H, Asoh N, Hoshino K et al: Antimicrobial susceptibility and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* and molecular characterization of multidrug-resistant serotype 19F, 6B, and 23F pneumococci in Northern Thailand, J Clin Microbiol 2003;41(9):4178-83.
 31. Zapun A, Martel CC, Vernet T: Penicillin-binding proteins and beta-lactam resistance, FEMS Microbiol Rev 2008;32(2):361-85.