

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE'DE PENİSİLİN DİRENCİ VE KLONAL İLİŞKİNİN İZLENMESİ

Burçin ŞENER

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA
bsdirican@yahoo.com

ÖZET

Toplum kaynaklı infeksiyonlarda önemli bir rol oynayan *Streptococcus pneumoniae* tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de son yıllarda artan antibiyotik direnç oranlarıyla gündeme gelmektedir. Türkiye'de özellikle penisiline orta direnç gösteren suşlar yoğunlukta olup, menenjit dışı infeksiyonlarda halen penisilinin iyi bir seçim olduğuna işaret etmektedir. Penisilin ve diğer antibiyotiklere dirençli pnömokokların artışı, başlıca, dirençli suşların klonal yayılımına veya horizontal yolla direnç genlerinin bakteriler arası aktarımına bağlıdır. Dirençli pnömokokların epidemiyolojisine yönelik çalışmalar serotiplendirme ve PFGE, BOX-PCR ve MLST gibi moleküler yöntemlere dayanmaktadır. Bu çalışmaların sonucunda günümüzde global yayılım gösteren dirençli 26 pnömokok klonu tanımlanmış ve bu klonların bir ülke içinde veya ülkeler arasında yayıldığı belirlenmiştir. Ülkemizde bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar bazı uluslararası klonlarla ilişkili dirençli pnömokok suşlarının varlığını göstermekteyse de dirençli suşların büyük çoğunluğunun genotipik heterojenlik gösterdiğini ve pnömokokal dirençten tek başına klonal yayılımın sorumlu olamayacağını vurgulamaktadır. Evrim sürecinde bakteriyel popülasyonların oldukça dinamik olduğu dikkate alındığında, dirençli pnömokokların moleküler epidemiyolojisinin sürekli izleniminin, hem kullanımda olan pnömokok aşularının etkinliğini hem de infeksiyon etkeni olarak saptanan pnömokok izolatlarının yayılım dinamiklerini ortaya çıkarması açılarından önem taşıdığı görülmektedir.

Anahtar sözcükler: moleküler epidemiyoloji, penisilin direnci, *Streptococcus pneumoniae*

SUMMARY

Penicillin Resistance in *Streptococcus pneumoniae*: Clonal Relatedness of Resistant Pneumococci

Streptococcus pneumoniae which is one of the major pathogens implicated in community acquired infections, has become a global concern since antibiotic resistant strains have been reported with increasing frequency worldwide. Penicillin still seems to be a good alternative for the treatment of non-meningeal infections in our country since penicillin resistance is exhibited mostly in the form of intermediate resistance in Turkey. The increase in antibiotic resistant pneumococci is usually attributed to clonal spread of resistant strains and horizontal spread of resistance genes to new lineages. The characterization of clones within a population of resistant pneumococci can be carried out by serotyping, and by molecular typing methods such as PFGE, BOX-PCR and MLST. Currently 26 international antibiotic resistant pneumococcal clones that have contributed to the increase in antimicrobial resistance worldwide have been defined. Although there are reports of presence of isolates related to some of these pandemic clones, the data obtained in Turkey reveal that resistant pneumococci exhibit genetic heterogeneity and clonal spread of resistant strains does not seem to be the sole mechanism responsible for the increase in antibiotic resistance in pneumococci in our country. Bacterial populations are known to be highly dynamic during evolution, thus continued genotypic surveillance of resistant pneumococci is necessary to follow the spread dynamics of pneumococci in a population and also to evaluate the effectiveness of pneumococcal vaccines in current use.

Keywords: molecular epidemiology, penicillin resistance, *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae başta solunum yolu infeksiyonları olmak üzere toplum kaynaklı infeksiyonlarda önemli rol oynayan ve antibiyotik dirençli izolatların giderek artmasıyla mikrobiyoloji gündeminde önemli yer tutan patojenlerden biridir. Penisilin kullanıma girdiği

1940'lı yıllardan 1990'lara kadar pnömokokkal infeksiyonların tedavisinde ilk seçenek antibiyotik olarak kullanılırken, ilerleyen yıllarda penisiline orta (MİK 0.1-1 µg/ml) ve yüksek (MİK ≥ 2 µg/ml) dirençli pnömokok izolatlarının giderek arttığının bildirilmesiyle birlikte bu infek-

siyonların tedavisinde güçlükler yaşanmaya başlamıştır⁽²⁾. Penisilinün yanı sıra sefalosporin direncinde de artış görülmesi invaziv pnömokok infeksiyonlarının; makrolid direncinin artması da özellikle solunum yolu infeksiyonlarının tedavisinde güçlükler yaratmaktadır.

Pnömokoklarda penisilin direnç mekanizması

Pnömokoklarda penisilin direnci penisilin bağlayan protein (PBP)'lerden bir veya daha fazlasında gelişen değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır⁽²⁸⁾. PBP'lerdeki bu değişiklik iki yolla gerçekleşmektedir: *i*) PBP genlerinde spontan kromozomal mutasyon, *ii*) dirençli başka bakterilerden gelen DNA segmentlerinin pnömokoklarda PBP'leri kodlayan DNA segmentlerinin arasına yerleşmesi, "mozaik gen" oluşumu. Direncin derecesi etkilenen PBP'lerin sayısına ve özgüllüğüne bağlıdır. Mutasyona uğrayan PBP2b ve PBP2x penisiline düşük afinite gösterir ve bakteride düşük düzey dirence yol açar. PBP2b ve/veya PBP2x varlığında bakteride PBP1a da varsa yüksek düzey direnç gelişmektedir. Benzer şekilde PBP2a, bakteride PBP2x varsa dirençte rol oynamaktadır^(7,28). Bu yüzden yüksek düzey direnç oluşması basamak tarzında gerçekleşmekte, zaman almaktadır.

Dirençli pnömokokların epidemiyolojisi

Pnömokoklarda penisilin direnci ilk kez 1945'de Erikson tarafından laboratuvar suşlarında gösterilmiş, dirençli ilk klinik izolatlar ise 1967'de Avustralya ve Papua Yeni Gine'den bildirilmiştir. Bunu 1977'de Güney Afrika'dan bildirilen çoklu dirençli pnömokok izolatları izlemiştir⁽²⁾. Çoklu dirençli izolatlar penisilinün yanı sıra makrolidler, kloramfenikol, tetrasiklinler, trimetoprim-sulfametoksazol gibi ajanların iki veya daha fazlasına da dirençlidirler. Günümüzde yüksek düzey penisilin direnci ABD'de % 34, Güney Afrika'da % 50, Avrupa'da İspanya'da % 50, Macaristan'da % 60 iken, Almanya ve Hollanda'da düşük düzeydedir^(9,22). Hong Kong, Kore gibi Uzak Doğu ülkelerinde ise direnç % 60'ları geçmekte ve bu izolatların büyük çoğunluğu çoklu direnç taşımaktadır⁽³⁸⁾.

Türkiye'de pnömokok direnciyle ilgili ilk çalışmalar 1980'lerin sonlarında başlamış ve

özellikle 1990'larda ivme kazanmıştır. Ülkemizde bu konu ile ilgili olarak yapılan çalışmaların bir bölümü tabloda izlenmektedir. Erdem ve Pahsa⁽¹¹⁾'nın Türkiye'de pnömokok direnciyle ilgili 1980-2005 yılları arasındaki çalışmaları değerlendirdikleri derlemelerinde de izlendiği gibi, ülkemizde pnömokoklarda penisilin direnci farklı bölgelerde değişkenlik göstermektedir. Penisilin dirençli izolatların büyük çoğunluğunu orta dirençli izolatlar oluşturmaktaysa da son çalışmalar yüksek düzey dirençli izolatların oranında da bir artış görüldüğüne işaret etmektedir⁽¹¹⁾.

Özellikle solunum yolu infeksiyonlarında beta-laktam ajanlara alternatif olarak kullanılan makrolidlere karşı pnömokokal direnç oranları incelendiğinde ülkemizde bu oranın % 2.1 ile % 23.9 arasında değiştiği ve bu direncin daha çok ribozomal metilasyona bağlı (*ermB* tipi direnç) olduğu görülmektedir^(12,15,34). Diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de pnömokoklarda kinolon direncine pek rastlanmamakta, ancak bazı çalışmalarda ve olgu raporlarında % 3'ü geçmeyen düzeylerde direnç bildirilmektedir^(14,36).

Pnömokoklarda serotiplerin dağılımı, popülasyonun yaşına ve coğrafi bölgeye göre farklılık göstermektedir. Pnömokoklarda yüksek düzey penisilin direnci ve çoklu direnç özellikle serogrup 6, 9, 14, 19 ve 23'de saptanırken, orta düzey penisilin direnci bu serogrupların yanı sıra diğer serogrup/serotipler ve serotiplendirilemeyen suşlarda da izlenmektedir^(2,10). Dirençli serotipler sıklıkla çocuklarda infeksiyona yolaçan serotipler arasındadır. Bunun nedeni olarak çocukların solunum yolu infeksiyonları nedeniyle daha sık antibiyotik kullanmaları öne sürülmektedir. Ülkemizde dirençli pnömokokların serotiplerine yönelik olarak yapılan çalışmaların sonuçları genellikle literatür ile uyumlu olup, 23 değerlikli aşı serotipleri ile paralellik göstermektedir^(1,5,13,14,21,23,31,33). Ancak bu bulgunun yanı sıra tiplendirilemeyen pnömokok suşlarına da rastlanmaktadır^(31,33,41).

Dirençli pnömokokların moleküler epidemiyolojisi

Penisilin dirençli pnömokok sıklığının

Tablo: Türkiye’de pnömokoklarda antibiyotik direnci ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda direnç oranları (%).

Araştırmacı	Yıl	Merkez	İzolat sayısı	Yöntem*	Penisilin OD**	Penisilin YD***	Sefotaksim	Eritromisin	Tetrasiklin	Trimetoprim-sulfametoksazol	Serotip
Berkiten ve Erkan-Krause ⁽⁴⁾	1987-94	İstanbul	59	DD	4.8	-	-	-	-	-	-
Tunçkanat ve ark. ⁽³⁹⁾	1990-92	Ankara	68	DD	26.4	7.3	-	-	-	-	-
Kocagöz ve ark. ⁽²³⁾	1992-95	Ankara	86	E-test	21.0	3.5	3.6	9.0	-	23.6	1,19,6,9,11
Şener ve Günalp ⁽³³⁾	1993-96	Ankara	143	AD	39.9	3.5	2.0	11.0	31.0	-	23,19,9,14,6
Gür ve ark. ⁽¹⁶⁾	1996-99	Türkiye	750	DD E-test	29.0	3	-	8.0	-	47.0	-
Gür ve ark. ⁽¹⁸⁾	1996-97	Türkiye	283	DD E-test	25.8	3.9	0	2.1	-	55.4	-
Eşel ve ark. ⁽¹³⁾	1997-2000	Kayseri	193	E-test	22.8	0	-	-	-	-	19,23,14,1
Zarakolu ve ark. ⁽⁴²⁾	1999-2000	Ankara	142	E-test	38.7	0.7	-	16.1	-	80.1	-
Yenişehirli ve Şener ⁽⁴¹⁾	1995-2001	Ankara	212	AD	41.5	7.1	2.3	13.7	18.9	-	19,23,9,6,14,15,1,20
Mamal Torun ve ark. ⁽²⁶⁾	1994-2000	İstanbul	200	DD E-test	25.0	5.5	-	20.0	12.0	28.0	-
İlki ve ark. ⁽²¹⁾	2000-01	İstanbul	92	E-test	34.8	1	1	9.8	-	31.5	19F,6B,3,23F,14,18C,5,7F
Biçmen ve Gülay ⁽⁵⁾	2001-02	İzmir	71	DD E-test	30.9	4.2	-	23.9	33.8	45.0	23,14,9V
Fırat ve ark. ⁽¹⁴⁾	2000-04	Malatya Kayseri Trabzon	72	DD E-test	8.3	0	0	2.8	-	26.4	23,19,14
Altun ve ark. ⁽¹⁾	1999-2002	Türkiye	539	E-test DD	26.5	3.0	0	10.1	12.6	26.6	1,6,9,14,19,23
Gür ve ark. ⁽¹⁷⁾ (E-Basket II Çalış. Gr.)	2002-03	Türkiye	260	DD MD	22.7	11.5	4.2 ^{OD}	17.3	21.5	-	-
Sievers ve SOAR Çalış. Gr. ⁽³⁶⁾	2004-06	Türkiye	301	E-test DD	24.6	7.6	-	15.6	16.9	43.2	-

*AD: agar difüzyon; DD: disk difüzyon; MD: mikrodifüzyon; **OD: orta direnç; ***YD: yüksek düzey direnç; -: çalışılmamış

tüm dünyada artmasından başlıca sorumlu olan mekanizmalar dirençli pnömokok klonlarının farklı coğrafi bölgelerde yayılımı ve PBP’leri değişikliğe uğramış olan pnömokokların antibiyotik baskısı altında popülasyonda seçilmesi olarak gösterilmektedir. Epidemiyolojik çalışmaların temel amacı bir enfeksiyon etkeninin kaynağını, yayılım yollarını saptamak ve bu yayılımı önlemek için gerekli bilgiyi sağlamaktır. Dirençli pnömokokların epidemiyolojisini açıklamaya çalışan ilk çalışmalar daha çok serotiplendirmeye yöneliktir. Ancak moleküler genetik çalışmalar aynı serotipte olan suşların farklı genetik yapıda olabileceklerini veya genetik olarak çok yakın olan suşların farklı serotipleri taşıyabileceğini göstermiştir^(8,10,27). Bu nedenle sadece serotiplendirme ile, aynı serotipte olan suşların aynı genetik aileden köken aldıkları belirlenmemektedir.

Günümüzde dirençli pnömokokların ge-

netik yakınlığını araştırmak amacıyla başvuru- lan yöntemler arasında PBP genlerinin PCR-RFLP profilleri, PFGE (pulsed field gel electrophoresis), MLST (multilocus sequence typing) sayılabilir. Bu yöntemler kullanılarak pek çok ülkede yapılan çalışmaların sonucunda bazı dirençli pnömokok suşlarının bir ülke içinde veya ülkeler hatta kıtalar arasında klonal olarak yayıldığı belirlenmiştir. Tüm bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar 1997 yılında kurulan “Pneumococcal Molecular Epidemiology Network (PMEN)” tarafından değerlendirilmektedir^(20,29). Bu değerlendirme sonucunda günümüzde global yayılım gösteren dirençli 26 pnömokok klonu tanımlanmıştır. Bu çalışmalar dirençli pnömokok popülasyonlarının oldukça dinamik olduğunu ve direncin ortaya çıkışında dirençli klonların yayılımı, direnç genlerinin kazanılması gibi genetik olayların önemli rol oynadığını göstermiştir.

PMEN'un çalışmaları sayesinde tanımlanan klonların antibiyotik direnç profilleri, serotipleri, BOX-PCR profilleri, PFGE paternleri ve MLST sonuçlarına göre allelik profilleri belirlenmiş durumdadır. Dünyanın çeşitli ülkelerinden yapılan çalışmalarda saptanan dirençli suşların belirlenen bu klonlara olan genetik yakınlığı aynı yöntemlerle araştırılmakta, aynı zamanda çalışılan bölgeye özgü farklı bir klon saptanıyorsa bu yeni klon da değerlendirilmeye üzere PMEN'e sunulmaktadır. PMEN'de bir klonun kabul edilmesi için bazı kriterler dikkate alınmaktadır: sözedilen klon ulusal veya uluslararası yayılım göstermelidir; klon o ülkede uzun süreli olarak saptanmalıdır; klon klinik kullanımdaki bir veya daha fazla antibiyotige dirençli olmalıdır; klonla ilgili bilgiler yayınlanmış olmalıdır; önerilen klonun bir temsilcisi, moleküler tiplendirme yapılarak daha önceden belirlenen klonlarla bir yakınlığının olmadığı gösterilebilmesi açısından PMEN'e gönderilmelidir^(20,29).

Penisilin dirençli pnömokokların moleküler tiplendirmesi amacıyla kullanılan yöntemlerden BOX-PCR, pnömokoklarda bulunan tekrarlayan BOX motiflerinin amplifikasyonuna dayalı bir yöntem olup, suşların genetik yakınlığını belirlemede kullanılmaktadır⁽⁴⁰⁾. Günümüzde bakterilerin moleküler tiplendirmesi amacıyla en sık kullanılan ve sonuçlarının tekrarlanabilirliği yüksek olan yöntem PFGE'dir. BOX-PCR ile karşılaştırıldığında ayırım gücü daha yüksek olan bu yöntem, DNA fragmanlarındaki değişiklikleri başarıyla göstermekte, suşlar arasındaki genetik yakınlığı ortaya koyabilmektedir⁽²⁵⁾. Ancak DNA fragmanlarındaki değişiklikler allelik profilin değişmesinden daha hızlı olmakta, bu nedenle suşların PFGE profillerine göre aynı klondan olup olmadıklarını saptamak güçlük göstermektedir^(10,29). Lokal epidemiyolojik çalışmalarda daha fazla kullanım yeri olan PFGE, majör uluslararası klonların karşılaştırılması söz konusu olduğunda yerini MLST yöntemine bırakmaktadır. PFGE paternleri \geq % 80 benzer olan suşlar MLST yöntemi ile incelenip, aynı genetik aileden gelip gelmedikleri ortaya konmaktadır⁽¹⁰⁾. MLST bir türün genetik değişkenliğini göstermede kullanı-

lan "multilocus enzyme electrophoresis (MLE-E)" yöntemine dayanmaktadır. MLST yönteminde pnömokoklarda bulunan yedi "house-keeping" genin (*aroE*, *gdh*, *gki*, *recP*, *spi*, *xpt*, *ddl*) sekans analizi ile bir veri tabanı oluşturulmuş ve bu veri tabanı internet ortamında kullanıma açılmıştır⁽¹⁹⁾. Bu karşılaştırma sonuçlarına göre suşların belirlenen klonlara yakınlıkları ve ayrımları görülebilmektedir.

Dünya çapında yayılımı ilk kez gösterilen dirençli pnömokok klonu İspanya^{23F-1}'dir. İspanya'da 1980'lerin başında tanımlanan bu klon penisilin, kloramfenikol ve tetrasikline (bazı suşlarda eritromisine de) dirençlidir. Bu klonun ABD, Güney Afrika, İngiltere, çeşitli Avrupa ülkeleri ve Uzak Doğu ülkelerinde de saptanması, klonun kıtalararası yayılımına işaret etmektedir^(20,30). Bu klonun serotip 19F, 14, 19A, 9N, 3 ve serogrup 6 varyantları dünyanın çeşitli bölgelerinden rapor edilmiştir^(20,43). ABD'de yapılan çalışmalar İspanya^{23F-1} klonunun 1990-1994 yılları arasında ABD'de izole edilen dirençli suşların % 40'ından sorumlu olduğunu, ancak bu suşların büyük çoğunluğunun eritromisine de dirençli olduğunu göstermiştir⁽⁸⁾. Bu klonda makrolid direncinin saptanması antibiyotik baskısı altında makrolid direnç genlerinin de seçildiğini göstermektedir. Görüldüğü gibi klonlar içinde serotip ve/veya antibiyotik direnç profili varyantları gelişebilmektedir. Bu durum doğal koşullarda pnömokokların sık transformasyona ve dolayısıyla genetik rekombinasyona uğraması ile ilişkili olup evrim sürecinde beklenen bir gelişmedir.

PMEN tarafından kabul edilen İspanya^{6B-2} klonu ilk kez 1980'lerin sonuna doğru İspanya'da saptanmış, takibeden yıllarda İzlanda'da çocuk olgulardan izole edilen dirençli pnömokokların % 75'ini oluşturduğu belirlenmiştir⁽³⁷⁾. Tayland ve Tayvan'da bu klonun *pbp* tek-lokus varyantlarının yoğun olarak saptanması bu klonun bir varyantının Güneydoğu Asya'da yayıldığına işaret etmektedir^(20,43). Dünyada yayılımı gösterilen bir diğer dirençli pnömokok klonu İspanya^{9V-3} olup, aynı zamanda hem Fransa'da hem İspanya'da tanımlanmıştır^(20,24). Avrupa, ABD, Güney Amerika ve Uzak Doğu'da yayılımı gösterilen bu klonun serotip 14, 9A ve sero-

grup 19 varyantları bulunmaktadır. Bu klonun bir özelliği *ddl* gen lokusunda allel 14 içeren varyantların penisiline duyarlı olmalarıdır. *ddl* gen lokusu *pbp2b* gen bölgesi ile çok yakın ilişki içerdedir. Bu bulgu ile ilgili olarak öne sürülen hipotez, penisilin duyarlı serotip 9V klonunun İspanya^{9V-3} klonunun öncüsü olduğu, rekombinasyonlarla mozaik *pbp2b* geninin geliştiği ve bu rekombinasyonel değişikliğin *ddl* gen lokusunda allel 1 - allel 14 değişikliğine yol açtığı yönündedir⁽⁴³⁾.

ABD’de 1994-2000 yılları arasında izole edilen dirençli pnömokokların % 75’inin İspanya^{23F-1}, Fransa^{9V-3}, İspanya^{6B-2}, Tennessee^{23F-4} ve Tayvan^{19F-14} klonlarıyla yakın ilişkili olduğu saptanmış ve direncin giderek artmasının nedeni olarak bu klonların toplum içindeki yayılımı öne sürülmüştür⁽³²⁾. İspanya’da 1981-2004 yılları arasında izole edilen çoklu dirençli İspanya¹⁴⁻⁵ klonuna ait suşların MLST ve *pbp* gen paternlerinin incelenmesi sonucunda, bu klonun makrolid ve tetrasiklin direnç genlerini kaybetmiş ancak bazı konjugatif transpozonlar içeren varyantlarının olduğu gösterilmiştir⁽²⁷⁾.

Dirençli pnömokokların serotip dağılımının, klonal yayılımının ve genetik yakınlıklarının sürekli monitorizasyonu, hem kullanımda olan pnömokok aşularının etkinliğini hem de toplumda infeksiyon etkeni olarak saptanan pnömokok izolatlarının serotip ve genotip profillerini açığa çıkarması açısından önem taşımaktadır. ABD’de 2000 yılından itibaren 7-valanlı konjuge pnömokok aşısının (PCV-7) kullanımıyla birlikte PCV-7 dışı serotiplerle (serotip 3, 7F, 15B/C, 19A, 22F, 33F ve 38) gelişen pnömokokal infeksiyonların prevalansında bir artış saptanmış, ancak bu izolatların MLST profillerinin büyük ölçüde stabil kaldığı izlenmiştir⁽³⁾. Bu bulgu doğrultusunda, ortaya çıkan yeni izolatların doğal evrim sürecinde kapsül genlerindeki değişikliğe bağlı olarak geliştikleri ileri sürülmektedir. Aynı çalışmada ABD’de PCV-7 kapsamında bulunmayan serotip 19A izolatlarındaki artışa dikkat çekilmektedir. Bu ve benzeri çalışmalar sürekli genotipik surveyansın önemini vurgulamaktadırlar.

Penisilin dirençli pnömokok suşlarının gittikçe artmakta olduğu ülkemizde dirençli suşla-

rın moleküler epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar henüz kısıtlı sayıdadır. Pınar ve ark.⁽³¹⁾’nın Hacettepe Üniversitesi hastanelerinde 1997-2001 yılları arasında klinik örneklerden izole edilen penisilin dirençli 77 pnömokok suşunu BOX-PCR ve *pbp* gen RFLP analizi ile değerlendirdikleri çalışmalarında İspanya^{9V-3} pandemik klonu ile ilişkili suşların olduğu ancak izolatların büyük çoğunluğunun genetik çeşitlilik gösterdiği, belli bir klonal yayılımın olmadığı vurgulanmıştır. Aynı ekibin 1996-2002 yıllarını kapsayan çalışmalarında penisilin dirençli 90 pnömokok izolatı PFGE yöntemi ile çalışılmış, takiben her PFGE paterninden örnek izolatlar MLST yöntemi ile de incelenmiştir. Bu çalışmanın verilerine göre PFGE paternlerinin 17 genetik kümede toplandığı, İspanya^{9V-3}, Portekiz^{19F-21} ve İspanya^{23F-1} klonları ile ilişkili suşlar olduğu ancak yine de genetik çeşitliliğin yüksek olduğu görülmüştür. Bu çalışmada saptanan bir diğer bulgu da daha önceden duyarlı olarak bilinen serotip 14, ST 230 klonunda ilk kez penisilin direnci saptanması ve izolatların yaklaşık % 10’unu oluşturan serotip 23B, ST 1349 klonunun gösterilmesidir⁽³⁵⁾. Altun ve ark.⁽¹⁾’nin 1999-2002 yıllarını kapsayan çok merkezli çalışmasında yüksek düzey penisilin direnci % 3, orta direnç % 26.5 olarak bulunurken, PFGE ile yapılan tiplendirme sonucunda beş adet belirgin PFGE paterni görülmüş ancak klonal bir yayılımın söz konusu olmadığı sonucuna varılmıştır. Biçmen ve ark.⁽⁶⁾ 1997-2001 yılları arasında izole edilen pnömokoklardan 20 adedinin *pbp* gen mutasyonlarını incelemişler ve bu izolatların büyük çoğunluğunun daha önce GenBank’da tanımlanan izolatlardan farklı sekanslara sahip olduklarını, büyük olasılıkla yeni rekombinasyonlarla ortaya çıktıklarını belirtmişlerdir.

Ülkemizde bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde dirençli izolatların bir kısmının uluslararası yayılım gösteren bazı klonlarla genetik yakınlığı olmakla beraber izolatların farklı klonlara ait olduğu ve bu nedenle ülkemizde pnömokoklarda görülen antibiyotik direncinden tek başına klonal yayılımın sorumlu olamayacağı sonucuna varılmaktadır.

Kullanımda olan pnömokok aşularının za-

man içerisinde pnömokok topluluğu üzerinde oluşturacağı baskıya bağlı olarak, infeksiyon etkeni olarak ortaya çıkacak olan pnömokokların serotip ve genotiplerinde değişiklikler saptanabilir ve bunun yakından takibi pnömokokal infeksiyonların epidemiyolojisi ve bu infeksiyonlardan korunma açısından önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Altun B, Gür D, Kocagöz S, Haşçelik G, Ünal S: Molecular epidemiology of penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* strains in Turkey: A multicenter study, *Annals Microbiol* 2006;56(3):185-90.
2. Appelbaum PC: Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: implications for drug selection, *Clin Infect Dis* 2002;34(12):1613-20.
3. Beall B, McEllistrem MC, Gertz RE et al: Pre- and post-vaccination clonal compositions of invasive pneumococcal serotypes for isolates collected in the United States in 1999, 2001 and 2002, *J Clin Microbiol* 2006;44(3):999-1017.
4. Berkiten R, Erkan-Krause F: 1987-1996 yıllarında solunum yolu infeksiyonlarından izole edilen *Streptococcus pneumoniae* suşları, *Klimik Derg* 1999;12(1):9-12.
5. Biçmen M, Gülay Z: Antibiotic susceptibility patterns and molecular epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* in İzmir, Turkey, *Clin Microbiol Infect* 2003;9(Suppl 1):356.
6. Biçmen M, Gülay Z, Ramaswamy SV, Musher DM, Gür D: Analysis of mutations in the *pbp* genes of penicillin-non-susceptible pneumococci from Turkey, *Clin Microbiol Infect* 2006;12(2):150-5.
7. Coffey TJ, Dowson JG, Daniels M et al: Horizontal transfer of multiple penicillin-binding protein genes and capsular biosynthetic genes in natural populations of *Streptococcus pneumoniae*, *Mol Microbiol* 1991;5(9):2255-60.
8. Corso A, Severina EP, Petruk VF, Mauriz YR, Tomasz A: Molecular characterization of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates causing respiratory disease in the United States, *Microb Drug Resist* 1998;4(4):325-37.
9. Doern GV, Heilmann KP, Huynh HK, Rhomberg PR, Coffman SL, Brueggemann AB: Antimicrobial resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States during 1999-2000, including a comparison of resistance rates since 1994-95, *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(6):1721-9.
10. Enright MC, Spratt BG: A multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus pneumoniae*: identification of clones associated with serious invasive disease, *Microbiology* 1998;144(pt 11):3049-60.
11. Erdem H, Pahsa A: Antibiotic resistance in pathogenic *Streptococcus pneumoniae* isolates in Turkey, *J Chemother* 2005;17(1):25-30.
12. Eşel D, Bozdoğan B, Sümerkan B, Appelbaum PC: Makrolitlere dirençli *Streptococcus pneumoniae* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları ve direnç mekanizmaları, 3. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı s.143, Ankara (2004).
13. 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.
14. Frut M, Ersoy Y, Eşel D, Bayraktar M, Çaylan R, Durmaz R: Menenjitli hastalardan izole edilen pnömokokların serotip dağılımı ve antibiyotiklere duyarlılıkları, *Mikrobiyol Bül* 2006;40(3):169-77.
15. Gülay Z, Biçmen M, Gür D: Resistance mechanisms to macrolide antibiotics in erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Turkey, 13th ECCMID, Abstracts p.376, Glasgow (2003).
16. Gür D, Güçüz B, Haşçelik G et al: *Streptococcus pneumoniae* penicillin resistance in Turkey, *J Chemother* 2001;13(5):541-5.
17. Gür D, Mülazımoğlu L, Ünal S, E-Basket II Çalışma Grubu: Solunum yolu enfeksiyonu etkenleri *Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus pyogenes*'in telitromisin ve 11 antimikrobik ilaca in vitro duyarlılığı: E BASKETT II surveyans çalışmasının Türkiye sonuçları, *Mikrobiyol Bül* 2007; 41(1) (baskıda).
18. 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 multicenter study in Turkey, *Int J Antimicrob Agents* 2002;19(3):207-11.
19. <http://mlst.zoo.ox.ac.uk>
20. <http://www.sph.emory.edu/PMEN>
21. İlki A, Akbenlioğlu C, Yağcı A, Söyletir G, Bakır M: Solunum yolu infeksiyonu olan çocuklarda nazofarenkste *Streptococcus pneumoniae* kolonizasyon epidemiyolojisi, *Mikrobiyol Bül* 2004;38(1-2):1-7.
22. Jacobs MR, Felmingham D, Appelbaum PC, Gruneberg RN, The Alexander Project Group: The Alexander Project 1998-2000: Susceptibility of pathogens isolated from community acquired respiratory tract infection to commonly used antimicrobial agents, *J Antimicrob Chemother* 2003;52(2):229-46.
23. Kocagöz S, Gür D, Ünal S: Erişkin yaş hasta grubundan izole edilen *Streptococcus pneumoniae* suşlarının antimikrobiyal direnci ve serotip dağılımı, *ANKEM Derg* 1997;11(2):96.
24. Lefevre JC, Bertrand MA, Faucon G: Molecular analysis by pulsed-field gel electrophoresis of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* from Toulouse, France, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14(6):491-7.
25. Lefevre JC, Faucon G, Sicard AM, Gasc AM: DNA fingerprinting of *Streptococcus pneumoniae* strains by pulsed-field gel electrophoresis, *J Clin Microbiol* 1993;31(10):2724-8.
26. Mamal Torun M, Bahar H, Alkan E: *Streptococcus pneumoniae* kökenlerinde penisiline ve diğer antimikrobik

- maddelere direnç, ANKEM Derg 2001;15(1):109-13.
27. Marimon JM, Perez-Trallero E, Ercibengoa M, Gonzalez A, Fenoll A, Spanish Pneumococcal Infection Study Network: Molecular epidemiology and variants of the multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* Spain14-5 international clone among Spanish clinical isolates, *J Antimicrob Chemother* 2006;57(4):654-60.
 28. Markiewicz Z, Tomasz A: Variation in penicillin-binding protein patterns of penicillin-resistant clinical isolates of pneumococci, *J Clin Microbiol* 1989;27(3): 405-10.
 29. McGee L, McDougal L, Zhou J et al: Nomenclature of major antimicrobial-resistant clones of *Streptococcus pneumoniae* defined by the Pneumococcal Molecular Epidemiology Network, *J Clin Microbiol* 2001;39(7):2565-71.
 30. Munoz R, Coffey TJ, Daniels M et al: Intercontinental spread of a multiresistant clone of serotype 23F *Streptococcus pneumoniae*, *J Infect Dis* 1991;164(2):302-6.
 31. Pinar A, Koseoglu O, Yenisehirli G, Sener B: Molecular epidemiology of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in a university hospital, Ankara, Turkey, *Clin Microbiol Infect* 2004;10(8):718-23.
 32. Richter SS, Heilmann KP, Coffman SL et al: The molecular epidemiology of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 1994-2000, *Clin Infect Dis* 2002;34(3):330-9.
 33. Sener B, Gunalp A: Trends in antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in children in a Turkish hospital, *J Antimicrob Chemother* 1998;42(3):381-4.
 34. Sener B, Koseoglu O: Comparative in-vitro activity of antiribosomal agents on penicillin-susceptible and-resistant *Streptococcus pneumoniae* in relation to the resistance genotypes, *Int J Antimicrob Agents* 2004;24(1):39-42.
 35. Sener B, McGee L, Pinar A, Eser O: Genomic backgrounds of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Ankara, Turkey: Identification of emerging new clones, *Microb Drug Resist* 2006;12(2):109-14.
 36. Sievers J and SOAR Study Group: Antibacterial resistance among *Streptococcus pneumoniae* from ten countries in Africa and the Middle East: Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2004-2006, 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), Abstracts p.112, San Francisco (2006).
 37. Soares S, Kristinsson KG, Musser JM, Tomasz A: Evidence for the introduction of a multiresistant clone of serotype 6B *Streptococcus pneumoniae* from Spain to Iceland in the late 1980s, *J Infect Dis* 1993;168(1):158-63.
 38. Song JH, Jung SI, Ko KS et al: High prevalence of antimicrobial resistance among clinical *Streptococcus pneumoniae* isolates in Asia (an ANSORP study), *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(6):2101-7.
 39. Tunçkanat F, Akan Ö, Gür D, Akalın HE: *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin direnci, *Mikrobiyol Bül* 1992;26(4):307-13.
 40. van Belkum A, Sluijter M, de Groot R, Verbrugh H, Hermans PW: Novel BOX repeat PCR assay for high resolution typing of *Streptococcus pneumoniae* strains, *J Clin Microbiol* 1996;34(6):1176-9.
 41. Yenişehirli G, Şener B: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanelerinde izole edilen *Streptococcus pneumoniae* suşlarında antibiyotik direnci ve serotip dağılımı, *Mikrobiyol Bül* 2003;37(1):1-11.
 42. Zarakolu P, Söyletir G, Gür D, Ünal S: Antimicrobial resistance patterns of respiratory pathogens: a local report from Turkey, *Clin Microbiol Infect* 2003;9(12):1257-8.
 43. Zhou J, Enright MC, Spratt BG: Identification of the major Spanish clones of penicillin-resistant pneumococci via the internet using multilocus sequence typing, *J Clin Microbiol* 2000;38(3):977-86.