

Toplum Kökenli Pnömonilerden Soyutlanan Streptococcus pneumoniae Suşlarında Penisilin Direnci

Süheyla SÜRÜCÜOĞLU(*), Semra KURUTEPE(*), Hörü GAZİ(*),
Nuri ÖZKÜTÜK(*), Pınar ÇELİK(**), Beril ÖZBAKKALOĞLU(*)

(*) Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa

(**) Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa

ÖZET

Son yıllarda tüm dünyada penisilin ve çoğul dirençli pnömokokların artması, bu bakterilerin etken olduğu infeksiyonların tedavisinde sorunlara neden olmaktadır. Bu araştırmanın amacı Manisa Bölgesi'nde erişkin hastalarda toplumdan kazanılmış pnömoni etkeni olarak soyutlanan Streptococcus pneumoniae izolatlarında penisiline ve diğer antimikrobiyal maddelere direnç durumunu araştırmaktır. Çalışmada 145 suş incelemiş ve penisiline duyarlılık oksasilin disk difüzyon testi ve E-test yöntemi ile, diğer antibiyotiklere duyarlılık disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar pnömokoklarda penisiline orta düzeyde direncin %18.6, yüksek düzeyde direncin %1.4, çoğul direncin ise %4.8 oranında olduğunu göstermektedir. Bölgemizde rastlanan çoğul dirençlik fenotipinde, penisiline direncine daha çok makrolid ve trimetoprim/sulfametoksazole direncinin oranları eşlik etmektedir. Kinolonlara, vankomisine ve meropeneme direnç saptanmamıştır. Diğer antimikrobiyal maddelere direnç oranları, sırası ile, trimetoprim/sulfametoksazole %17.9, eritromisine %17.2, klindamisine %8.3, gentamisine %4.1, sefaklor %4.1, aztreonam %2.1, amoksisilin-klavulanata %1.4, kloramfenikole %0.7 ve seftriaksona %0.7 olarak bulunmuştur. Bölgemizde penisiline direnç oranının düşük bulunması nedeni ile toplum kökenli pnömokoksik pnömonilerin tedavisinde penisilin ilk seçenek olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Streptococcus pneumoniae, penisilin, antimikrobiyal direnç

SUMMARY

Penicillin Resistance of Streptococcus pneumoniae Strains Isolated from Community Acquired Pneumonia

The increasing frequency of penicillin and multidrug resistant pneumococci all over the world, has resulted in difficulties in the therapy of pneumococcal infections in recent years. The aim of this study is to investigate the rates of resistance to penicillin and other antimicrobial agents in Streptococcus pneumoniae strains isolated from adult patients with community acquired lower respiratory tract infections in Manisa. Seventy-five strains were assessed in the study and penicillin resistance was evaluated by using oxacillin disc diffusion test and E-test methods. Resistance rates to the other antimicrobial agents were investigated by disc diffusion method. We found the rates of intermediate resistance and high resistance to penicillin as 18.6% and 1.4%, respectively. The rate of multi drug resistance (MDR) was found as 4.8%. MDR phenotypes, encountered in our region are associated with macrolide and trimethoprim/sulfamethoxazole resistance as well as penicillin resistance. No strain was found to be resistant to ofloxacin, vancomycin or meropenem. The rates of resistance to trimethoprim-sulphamethoxazole, erythromycin, clindamicin, gentamicin, cefaclor, aztreonam, amoxicillin-clavulanate, chloramphenicol and ceftriaxone were found as 17.9%, 17.2%, 8.3%, 4.1%, 4.1%, 2.1%, 1.4%, 0.7% and 0.7%, respectively. As the rate of penicillin resistance was low in our region, it can be concluded that penicillin can be the first choice in the therapy of community acquired pneumococcal pneumoniae.

Key words: Streptococcus pneumoniae, penicillin, antimicrobial resistance

GİRİŞ

Streptococcus pneumoniae, kullanılan korunma yöntemlerine ve antimikrobiyal alanlardaki gelişmelere

karşın, halen tüm dünyada önemli oranda morbidite ve mortaliteye neden olan bir infeksiyon etkenidir. Çocuklarda ve erişkinlerde solunum yolu infeksi-

yonlarının yanı sıra menenjit, sepsis, endokardit gibi ciddi invazif infeksiyonlara da yol açabilmektedir (1). Toplum kökenli pnömonilerin %16-60'ından, nozokomiyal pnömonilerin ise %3-16'sından pnömokoklar sorumlu tutulmaktadır (2).

Pnömokoklar penisilin ile kolayca eradike edilebilirken, 1967 yılından sonra penisiline dirençli suşlar tanımlanmış ve 1980'li yıllardan sonra da pnömokok infeksiyonlarının tedavisinde sorunlar başlamıştır. Son 25 yıl içinde tüm dünyada birçok coğrafi bölgede yüksek direnç oranları bildirilmiştir. Direnç oranları ülkeden ülkeye hatta aynı ülkede bölgeden bölgeye değişiklikler göstermektedir. Özellikle İspanya'da %40, Güney Afrika'da %50 ve Macaristan'da %70'e varan penisilin direnci dikkat çekicidir (3-5). Ülkemizde ise orta düzeyde penisilin direncini %0-51, yüksek düzeyde penisilin direncini ise %0-17 arasında bildiren çalışmalar bulunmaktadır (6-12). Ayrıca son yıllarda izole edilen suşlarda penisilin ve diğer beta laktamlar dışında tetrasiklin, eritromisin, kloramfenikol, klindamisin, trimetoprim/sulfametoksazol ve streptomisin gibi antibiyotiklere de direnç sıklığının arttığından söz edilmektedir (13-17).

Dirençli pnömokok infeksiyonlarının tedavisinde yaşanan güçlükler nedeni ile dünyanın değişik merkezlerinde sürveyans çalışmaları başlatılmıştır. Bu çalışmaların sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilerek klinisyene bildirilmesi ve uygun tedavi yöntemlerinin ve aktif bağışıklama gerektiren risk gruplarının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Bu araştırmanın amacı Manisa Bölgesi'nde erişkin hastalarda toplumdan kazanılmış pnömoni etkeni olarak soyutlanan *S. pneumoniae* izolatlarında penisilin ve penisilin dışında tedavide alternatif olan diğer antimikrobiyal ajanlara direnç durumunu araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örneklerin incelenmesi ve pnömokokların izolasyonu (1, 18). Araştırmada 1999-2003 yılları arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Bakteriyoloji Laboratuvarı'na toplum kökenli pnömoni ön tanısı ile gönderilmiş olan balgam, endotraheal aspirat (ETA) ve bronkoalveoler lavaj sıvısı (BAL) gibi alt solunum yolu örnekleri incelemeye alınmıştır. Örneklerden öncelikle Gram boyalı direkt

mikroskopik inceleme yapılmış ve x10 büyütmele objektif ile her alanda 10'dan az epitel hücresi ve 25'den fazla polimorf nüveli lökosit görülen örnekler nitelikli kabul edilerek kültür için değerlendirilmeye alınmıştır.

Klinik örneklerden pnömokok izolasyonu için koyun kanlı agara ekim yapılmıştır. ETA ve BAL örneklerinin kültüründe kantitatif ekim yöntemleri kullanılmıştır. Kültür plakları 35°C'de, %5 CO₂'li ortamda 24 saat enkübe edilmiştir. Enkübasyon sonunda koyun kanlı agarda alfa hemoliz yapan ve Gram boyalı incelemesinde gram olumlu diplokok görünümünde olan kuşku kolonileri ileri incelemeye alınmıştır. Daha sonra katalaz testi uygulanmış ve katalaz olumsuz olan kolonilerin optokine duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Optokine duyarlı (zon çapı ≥ 14 mm) izolatlar *Streptococcus pneumoniae* olarak tanımlanmıştır. Nitelikli balgam örneğinde yoğun üreme gösteren veya ETA örneklerinde 105 CFU/ml'nin üzerinde, BAL örneklerinde ise 104 CFU/ml'nin üzerinde üreme gösteren pnömokoklar etken olarak kabul edilmiştir.

Penisilin direncinin belirlenmesi. İzole edilen pnömokoklarda penisilin direncinin belirlenmesinde NCCLS tarafından önerilen oksasilin disk difüzyon test yöntemi kullanılmıştır. Duyarlılık testinde koyun kanlı Mueller Hinton agar kullanılmış ve besiyerleri 35°C'de, %5 CO₂'li ortamda 24 saat enkübe edilmiştir. Bu teste göre oksasilin (1 mg, Oxoid) diski ile 20 mm ve daha büyük zon çapı veren suşlar penisiline ve aynı zamanda diğer beta laktam antibiyotiklere de duyarlı kabul edilmiştir. Oksasiline dirençli izolatların % 15-20'si penisiline duyarlı olabileceğinden, bu izolatların penisilin MİK değerleri E-test (PDM Epsilometer, AB Biodisk, Sweden) yöntemi ile belirlenmiştir (19). MİK değerleri; 0.06 mg/ml'ye eşit veya düşük ise penisiline duyarlı, 0.1-1 mg/ml ise penisiline orta dirençli ve 2 mg/ml ve üzerinde ise penisiline yüksek düzeyde dirençli olarak tanımlanmıştır (20).

Penisilin dışında beta laktam antibiyotiklerden amoksisilin-klavulanat, sefaklor, seftriakson ve meropenem, monobaktamlardan aztreonam, kinolonlardan ofloksasine, aminoglikozidlerden gentamisine ve diğer grup antibiyotiklerden; kloramfenikol, klindamisin, trimetoprim/ sulfametoksazol ve vankomi-

sine direnç durumu NCCLS Standartlarına uygun olarak disk difüzyon tekniği ile araştırılmıştır. Penisilin ile birlikte beta laktam antibiyotikler dışında iki farklı gruptan antibiyotiğe birden direnç gösteren suşlar çoğul dirençli olarak kabul edilmiştir (16). Duyarlılık testlerinde kontrol olarak *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 suşu kullanılmıştır.

İstatistiksel değerlendirme. Verilerin değerlendirilmesi, bilgisayarda SPSS 10.0 programında ki-kare testi ve Mac Nemar testi kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR

1999-2003 tarihleri arasında erişkin hastalardan (yaş sınırı:16-90, ortalama yaş: 51.91±19.33) alınan alt solunum yolu örneklerinden 145'inde *S. pneumoniae* suşu etken olarak izole edilmiştir. İzole edilen pnömokokların 116'sı (%80.0) penisiline duyarlı, 27'si (%18.6) orta dirençli ve ikisi (%1.4) yüksek düzeyde dirençli olarak saptanmıştır. Toplam direnç oranı %20.0 olarak belirlenmiştir. Tablo 1'de izolatların test edilen antibiyotiklere direnç oranları gösterilmiştir.

Penisiline orta düzeyde direnç gösteren 27 izolatın 16'sında (%59.2) ve yüksek düzeyde direnç gösteren iki suşun ikisinde (%100.0) penisilin dışında test edilen antimikrobiyal ajanlardan en az birine direnç saptanmıştır (p<0.05, MacNemar testi). Penisiline dirençli 29 suştan yedisinde (%24.1) ÇİD saptanmıştır.

Tablo 1. Pnömokokların test edilen antibiyotiklere direnç oranları

Antibiyotik	Dirençli Pnömokok	
	Sayı	Yüzde
Penisilin	Orta düzeyde direnç	27 / 18.6
	Yüksek düzeyde direnç	2 / 1.4
Trimetoprim/sulfametoksazol	26	17.9
Eritromisin	25	17.2
Klindamisin	12	8.3
Gentamisin	6	4.1
Sefaklor	6	4.1
Aztreonam	3	2.1
Amoksisilin-klavulanat	2	1.4
Kloramfenikol	1	0.7
Seftriakson	1	0.7
Ofloksasin	-	-
Meropenem	-	-
Vankomisin	-	-

Tüm pnömokoklar içinde bu oran %4.8'dir. Test edilen suş sayısının yetersiz olması nedeni ile istatistiksel değerlendirme yapılmamıştır. Penisiline dirençli pnömokoklarda görülen direnç fenotipleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Penisiline dirençli pnömokoklarda görülen diğer direnç fenotipleri

Orta düzeyde dirençli suşlar (n:27)		Yüksek düzeyde dirençli suşlar (n:2)	
Direnç fenotipi	Sayı	Direnç fenotipi	Sayı
SXT	4	E+CRO	1
E+DA+SXT*	3	SXT+E*	1
CEC	2		
AMC	1		
E	1		
CEC+E	1		
E+SXT*	1		
E+DA*	1		
CEC+SXT	1		
CEC+SXT+AMC+GN*	1		

* ÇİD izolatlar

CEC: Sefaklor, AMC: Amoksisilin-klavulanat, E: Eritromisin, DA: Klindamisin

SXT: Trimetoprim/sulfametoksazol, GN: Gentamisin, CRO: Seftriakson

TARTIŞMA

Pnömokoklar 1980'li yıllardan önce kültürde üretildiklerinde antibiyotik duyarlılık testi yapılmasına gereksinim duyulmayan ve penisilin ile kolaylıkla eradike edilebilen bakteriler olarak biliniyordu. 1978-87 yılları arasında CDC'ye (Center of Diseases Control) ulaşan ABD verileri 5000 invaziv pnömokok izolatının yalnızca bir tanesinde penisilin direnci bulunduğunu göstermekte iken, bu oran 1991'de 60 katlık bir artışla %1.3 düzeyine ulaşmıştır (21). Aradan geçen süre boyunca bölgesel farklılıklar olmakla birlikte ABD'de penisiline direnç oranları %28-44 arasında ve yüksek düzeyde direnç oranı %19 olarak bildirilmektedir (22). Avrupa'da 20 farklı merkezde yapılan geniş çaplı bir surveyans çalışmasına göre orta düzeyde direnç oranı %21, yüksek düzeyde direnç oranı ise %7 olarak belirlenmiştir (23). Dirençli izolatların daha çok İspanya, Yunanistan ve İngiltere'de bulunduğu vurgulanmıştır. Bangkok'ta yapılan bir araştırmada penisilin direnci %25, Avustralya'da orta düzeyde direnç %16.8, yüksek düzeyde direnç ise %8.6 olarak bildirilmektedir (24, 25).

Tüm dünyada giderek artış gösteren direnç sorunu nedeni ile ülkemizde de 1990'lı yılların başında bazı merkezlerde pnömokoklarda penisilin direnci araştırılmaya başlanmıştır. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde orta düzeyde direncin %24, yüksek düzeyde direncin %4 ve toplam penisilin direncinin %28 olduğu belirlenmiştir (26). Ülkemizde 1996-1999 yılları arasında izole edilen 750 pnömokok suşunda antimikrobiyal direncin incelendiği çok merkezli bir araştırmada orta düzeyde penisilin direnci %29, yüksek düzeyde direnç ise %3 olarak bulunmuştur. Penisilin direncine %47 oranında trimetoprim/sulfametoksazol, %8 eritromisin ve %5 kloramfenikol direncinin eşlik ettiği bildirilmiştir (27). Bu araştırmanın sonucuna göre de Manisa'da pnömoni etkeni olarak izole edilen pnömokoklarda orta düzeyde direnç %18.6, yüksek düzeyde direnç %1.4, toplam direnç ise %20.0 olarak bulunmuştur. Bu oranlar bölgemizde penisiline direnç sorununun endişe verici boyutlarda olmadığını düşündürmektedir. Ancak direncin güncel olarak taranması ve buna göre tedavi ilkelerinin belirlenmesi gereklidir.

Pnömokoklarda penisilin, sefalosporin ve diğer beta laktam antibiyotiklere direnç, bakteri hücre duvarında bulunan penisilin bağlayan proteinlerdeki (PBP) değişikliklere bağlıdır (19). PBP değişikliği, bu proteinleri kodlayan genler aracılığı ile gelişir. Direnç genleri diğer bakterilerden transformasyon yolu ile kazanılabilmektedir. Gen aktarımı sonucu çoklu direnç kazanımı da sık olmaktadır. Bu nedenle penisiline dirençli izolatların diğer antibiyotiklere de dirençli olabilecekleri göz ardı edilmemelidir. ABD'de yapılan bir sörveyans çalışmasında her bölgede penisilin direncinin diğer beta laktam antibiyotikler, makrolidler ve trimetoprim/sulfametoksazol ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (13). Makrolidlere dirençli suşlar diğer makrolidlere ve klindamisine de çapraz direnç geliştirebilmektedir (MLS tipi direnç). Benzer bir tarama programında da %33 oranında makrolid ve trimetoprim/sulfametoksazol direnci bulunmuştur (14). Penisilin direncinin önemli bir sorun olarak görüldüğü İspanya'da yapılan çok merkezli bir sörveyans çalışmasında da makrolidlere %35, sefotaksime %7, siprofloksasine %7 ve amoksisilin-klavulanata %5 oranlarında direnç bildirilmiştir (15). Ülkemizde yapılan çalışmalarda da bölgeler arasında farklı sonuçlar bildirilmekle birlikte

penisilin dışında en sık trimetoprim/sulfametoksazol ve eritromisin direnci bildirilmektedir (9, 12, 27). Gür ve ark (12) tarafından yapılan çok merkezli bir araştırmada azitromisin direnci taşıyan pnömokok izolatlarının hepsinin penisiline de dirençli olduğu ve trimetoprim-sulfametoksazol direncinin %50'den fazla olduğu bildirilmiştir.

Bu araştırmada izole edilen suşlarda diğer antibiyotiklere direnç, bildirilen oranlardan daha düşük bulunmuştur. Bu farklılığın bölgelere ve hasta özelliklerine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ancak benzer şekilde trimetoprim/sulfametoksazol ve makrolid direncine daha sık rastlanmıştır. Her iki ilacında tüketimlerine paralel olarak direnç gelişimi daha sık olmaktadır.

Son yıllarda pnömokoklarda ÇİD olarak tanımlanan direnç fenotipinin artış göstermesi bu bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisini belirlemeye yönelik çalışmaların artmasına neden olmuştur. Etkinlikleri farklılıklar göstermekle birlikte kinolonların hemen her merkezde pnömokoklara etkili bulunması, ÇİD infeksiyonların tedavisinde iyi bir alternatif olacaklarını düşündürmektedir (16, 17, 22, 23). Ancak florokinolonların yoğun tüketimi ile bu ajanlara direnç gelişimi hızlanabileceğinden, kullanımlarının sınırlı tutulması önerilmektedir. Bu araştırmada izole edilen 145 pnömokok suşunda kinolon, vankomisin ve meropenem dirençli suş saptanmamıştır. Üçüncü kuşak sefalosporin direnci ve kloramfenikol direnci ise çok düşük oranlarda (%0.7) bulunmuştur. Ancak incelenen pnömokoklarda ÇİD sıklığı %4.8 olarak belirlenmiştir. Penisiline dirençli suşlarda ise ÇİD %24.1 oranındadır. Bölgemizde rastlanan ÇİD fenotipinde, penisilin direncine daha çok makrolid ve trimetoprim/sulfametoksazol direnci eşlik etmektedir (Tablo 2). Suş sayılarının düşük olması nedeni ile istatistiksel analiz yapılamasa da elde edilen veriler, penisiline dirençli suşlarda ÇİD olasılığının yüksek oranda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak bölgemizde etken olan pnömokoklarda penisilin ve diğer antimikrobiyal ajanlara direncin tehdit edici boyutlarda olmadığı görülmüştür. Bu nedenle pnömokokların etken olduğu alt solunum yolu infeksiyonlarının ampirik tedavisinde penisilinlerin kullanılmasının uygun olacağı düşünülmüştür. Ancak penisiline dirençli pnömokoklarda ÇİD'in bulu-

nabileceği düşünülerek duyarlılık testleri mutlaka uygulanmalı ve direnç izlemi güncel olarak sürdürülmelidir. Elde edilen sonuçların klinisyene bildirilmesi ile bu bakterilerin neden olduğu infeksiyonların tedavisine yön verilecektir.

KAYNAKLAR

1. Musher DM: *Streptococcus pneumoniae*. "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases", p2128, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).
2. Donowitz GR, Mandell GL: Acute pneumoniae. "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases", p717, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).
3. Linares J, Pallares R, Alonso T: Trends in antimicrobial resistance of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Bellvitge Hospital, Barcelona, Spain. *Clin Infect Dis* 15: 99 (1992).
4. Caputo GM, Appelbaum PC, Liu HH: Infections due to penicillin resistant pneumococci. *Arch Intern Med* 153: 1301 (1993).
5. Marton A: Pneumococcal antimicrobial resistance: The problem in Hungary. *Clin Infect Dis* 15: 106 (1992).
6. Gür D, Tunçkanat F, Şener B, Kanra G, Akalın HE: Penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Turkey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13: 440 (1994).
7. Kaygusuz A, Öngen B, Öksüz L, Gürler N, Töreci K: Sefprozilin *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Streptococcus pneumoniae* suşlarına in vitro etkisi. *ANKEM Derg* 13: 485 (1999).
8. Kılıç D, Altay G: *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin duyarlılığı. *Mikrobiyol Bült* 30: 333 (1996).
9. Mamal Torun M, Bahar H, Alkan E: *Streptococcus pneumoniae* kökenlerinde penisiline ve diğer antimikrobik maddelere direnç. *ANKEM Derg* 15: 109 (2001).
10. Öngen B, Kaygusuz A, Özalp M, Gürler N, Töreci K: Penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Istanbul, Turkey. *J Clin Microbiol Infect* 1: 150 (1995).
11. Tuncer İ, Fındık D, Ural O: *Streptococcus pneumoniae* suşlarının değişik antibiyotiklere direnci. *ANKEM Derg* 15: 25 (2001).
12. Gür D, Özalp M, Sümerkan B, et al: Prevalance of antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* and *Streptococcus pyogenes*: results of a multicentre study in Turkey. *Intern J Antimicrob Agents* 19: 207 (2002).
13. Thornsberry C, Sahn DF, Kelly LJ, et al: Regional trends in antimicrobial resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* in the United States: results from the TRUST Surveillance Program, 1999-2000. *Clin Infect Dis* 34Suppl 1: S4-S16 (2002).
14. Gotfried MH: Epidemiology of clinically diagnosed community-acquired pneumoniae in the primary care setting: results from the 1999-2000 respiratory surveillance program. *Am J Med* 111Suppl 9A: S25-S29 (2001).
15. Perez-Trallero E, Fernandez-Mazarrasa C, Garcia-Rey C, et al: Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 3334 (2001).
16. Brueggemann AB, Doern G: Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: patterns, mechanisms, interpreting the breakpoints. *Am J Manag Care* 6(23 Suppl): S1189-S1196 (2000).
17. Sahn DF, Jones ME, Hickey ML, Diakun DR, Mani S, Thornsberry C: Resistance surveillance of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* isolated in Asia and Europe, 1997-1998. *J Antimicrob Chemother* 45: 457 (2000).
18. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: Introduction to Microbiology. Part II. Guidelines for the collection, transport, processing, analysis, and reporting of cultures from specific specimen types. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, p 61, 4th Ed, Lippincott-Raven Co, Philadelphia (1992).
19. Sümerkan B: Antibiyotik duyarlılık testlerinde sorunlar: *Pneumococcus*. "Gür D, Söyletir G, Bal Ç, Dündar V, Sümerkan B, Köksal İ, Çiftçi U (eds): Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı" s: 38, İstanbul (1998).
20. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eleventh Informational Supplement, NCCLS Document M100-S11, Pennsylvania (2001).
21. Breiman RF, Butler JC, Tenover FC, Elliott JA, Facklam RR: Emergence of drug resistant pneumococcal infections in the United States. *JAMA* 271: 1831 (1994).
22. Thornsberry C, Ogilvie PT, Holley HP Jr, Sahn DF: Survey of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* isolates to 26 antimicrobial agents: a prospective U. S. study. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 2612 (1999).
23. Fluit AC, Schmitz FJ, Jones ME, Acar J, Gupta R,

Verhoef J: Antimicrobial resistance among community-acquired pneumoniae isolates in Europe: first results from the SENTRY antimicrobial surveillance program 1997. SENTRY Participants Group. *Int J Infect Dis* 3 : 153 (1999).

24. Chokephaibulkit K, Srfuengfung S, Mingbanjerd-suk J, et al: Evaluation of susceptibility status of invasive pneumococcal isolates to various antibiotics and risk factors associated with invasive penicillin-nonsusceptible pneumococcal infection: Bangkok 1997-1998. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 31: 498 (2000).

25. Turnidge JD, Bell JM, Collignon PJ: Rapidly emer-

ging antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Australia. Pneumococcal Study Group. *Med J Aust* 15: 152 (1999).

26. Sümerkan B: Pnömonoklarda penisilin direnci: Türkiye'deki durum. "Tümbay E, İnci R, Hilmioğlu Z (eds): 3. Antimikrobik Kemoterapi Günleri: Klinik-Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler" s: 21, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir (1997).

27. Gür D, Guciz B, Haşçelik G, et al: *Streptococcus pneumoniae* penicillin resistance in Turkey. *J Chemother* 13: 541 (2001).