

ÖZGÜN ÇALIŞMA

SAĞLIKLI ÇOCUKLARDA *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*'NİN
NAZOFARENGEAL TAŞIYICILIĞI VE ÇOKLU ANTİBİYOTİK DİRENCİ

ORIGINAL ARTICLE

NASOPHARYNGEAL CARRIAGE OF *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* IN
HEALTHY CHILDREN AND MULTIDRUG RESISTANCE

**Müjgan BAYER¹, Gönül ASLAN¹, Gürol EMEKDAŞ¹
Necdet KUYUCU², Arzu KANIK³**

ÖZET: *Streptococcus pneumoniae*'nin nazofarengeal taşıyıcılığı toplumda dirençli suşların yayılması ve invazif hastalıkların gelişmesinde önemli bir rol oynar. Bu çalışmada sağlıklı okul çocuklarında nazofarengeal *S.pneumoniae* taşıyıcılık oranlarının tespit edilmesi, izolatların çeşitli antibakteriyel ajanlara karşı duyarlılığının saptanması ve penisiline dirençli pnömokok taşıyıcılığını etkileyen risk faktörlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya Nisan 2003-Mart 2004 tarihleri arasında Mersin ilinde rastgele seçilen üç ilköğretim okulunda eğitim gören 6-13 yaş arasındaki 1440 sağlıklı çocukta alınan nazofarengeal örnekler dahil edilmiştir. *S.pneumoniae*'nin izolasyonu ve tanımlanması geleneksel kültür yöntemleriyle yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri disk difüzyon yöntemiyle "Clinical Laboratory Standards Institute" önerilerine göre uygulanmış ve penisilin MİK değerleri E-test (AB Biodisk, Solna, İsveç) ile belirlenmiştir. Sağlıklı çocukların 201'inden (%13.9) *S.pneumoniae* izole edilmiş; izolatların %87.1'i (n:175) penisiline duyarlı bulunurken, %12'sinde (n:24) orta düzey, %1'inde (n:2) ise yüksek düzey penisilin direnci tespit edilmiştir. Trimetoprim-sülfametoksazol (TMP-SMX) ve makrolid direnç oranları sırayla %30 ve %4 olarak izlenmiştir. Eritromisin (E)'e dirençli sekiz suşun ikisinde indüklenebilir MLS_B (makrolid, linkozamid ve streptogramin) tipi, altısında ise M tipi (aktif pompa sistemine bağlı) direnç belirlenmiştir. Meropenem, vankomisin, seftriakson ve siprofloksasine karşı dirençli suş bulunmamıştır. *S.pneumoniae* izolatlarının %20'si tek ilaca (iki suş penisiline; 39 suş TMP-SMX'e), %8.9'u iki ilaca (16 suş penisilin+TMP-SMX'e; iki suş penisilin+E'e) ve %2.9'u üç ya da daha fazla ilaca (beş suş penisilin+E+TMP-SMX'e; bir suş TMP-SMX+ E+klaritromisin'e) dirençli olarak belirlenmiştir. Kalabalık aile yaşamı ve son iki ay içinde antibiyotik kullanımı, penisiline dirençli pnömokok taşıyıcılığı için risk faktörleri olarak belirlenmiştir (sırasıyla; p=0.009 ve p=0.001). Ülkemizde yapılan benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında, sonuçlarımız Mersin'de sağlıklı okul çocuklarında, nazofarengeal pnömokok taşıyıcılık oranının (%13.9) orta düzeyde olduğunu, buna karşın yüksek penisilin direnci gösteren *S.pneumoniae* oranının (%1) düşük olduğunu ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, yaşam koşullarının iyileştirilmesi ve antibiyotik kullanımının kısıtlanması, penisiline dirençli *S.pneumoniae* ve nazofarengeal taşıyıcılık oranlarını azaltacaktır.

Anahtar sözcükler: *Streptococcus pneumoniae*, pnömokok, taşıyıcılık, penisilin, direnç, risk faktörü.

¹ Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin. (drgaslan@mersin.edu.tr)

² Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hastalıkları, Enfeksiyon Bilim Dalı, Mersin.

³ Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT: Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* plays an important role for the development of invasive disease and the spread of resistant strains within the community. The aims of this study were to determine the carriage rate of nasopharyngeal *S.pneumoniae* at healthy school children, to search the susceptibility of the strains to various antibiotics and to evaluate the risk factors for nasopharyngeal carriage of penicillin-resistant pneumococci. A total of 1440 healthy children (age range: 6-13 years old) attending to three primary schools which were chosen randomly in Mersin province (Mediterranean region of Turkey) were included to the study between April 2003 to March 2004. The isolation and identification of *S.pneumoniae* strains from nasopharyngeal samples were performed by conventional culture methods. Antibiotic sensitivity tests were done according to the Clinical Laboratory Standards Institute directions by disk diffusion method, and penisilin MIC values were detected by E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden). *S.pneumoniae* were isolated from 201 (13.9) of the children. The susceptibility rate of the isolates to penicilin was found as 87.1% (n:175), while 12% (n:24) of the strains yielded intermediate and 1% (n:2) yielded high resistance against penicilin. Overall percentages of resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMX) and macrolides were 30% and 4%, respectively. Two out of eight erythromycin (E) resistant strains showed inducible MLS_B (macrolide, lincosamide and streptogramin B) type while six showed M (due to active efflux system) type of resistance. Resistance to meropenem, vancomycin, ceftriaxone and ciprofloxacin were not detected. Of *S.pneumoniae* isolates, 20% were found resistant to only one antibiotic (two strains to penicilin; 39 strains to TMP-SMX), 8.9% to two antibiotics (16 strains to penicilin+TMP-SMX; two strains to penicilin+E) and 2.9% to three or more antibiotics (five strains to penicilin+E+TMP-SMX; one strain to TMP-SMX+E+claritromycin). Living in a crowded family (p=0.009) and use of antibiotics in the last two months (p=0.001) were considered as the risk factors for nasopharyngeal carriage of penicillin-resistant pneumococci. When comparing our data with the results of the other studies reported in Turkey, the nasopharyngeal carriage rate was moderate between healthy children in Mersin, nevertheless the rate of high level penicillin-resistant *S.pneumoniae* strains was quite low. As a result, improving the living conditions and restriction of antibiotic use could minimize the nasopharyngeal carriage and penicillin-resistant pneumococci.

Key words: *Streptococcus pneumoniae*, pneumococci, carriage, penicillin, resistance, risk factors.

GİRİŞ

Streptococcus pneumoniae sağlıklı çocukların nazofarenksinde kolonize olmaktadır¹. Nazofarenkste pnömokokların taşıyıcılığı bir çok enfeksiyonun (otitis media, sinüzit) gelişmesinde önemlidir. Özellikle sağlıklı çocuklarda taşıyıcılık, toplumda çeşitli enfeksiyonların etiyolojisinde önemli bir rol oynar². *S.pneumoniae*'nin taşıyıcılık oranı çocuklarda (%35) yetişkinlerden (%2-9) daha yüksektir³. İlk aylarda *S.pneumoniae* kolonizasyonu olan bebeklerde invazif enfeksiyon gelişme riski %15 olarak bildirilmektedir¹. Nazofarenksinde *S.pneumoniae* taşıyan bir çocuk, etrafındaki diğer çocuklar için de enfeksiyon riski oluşturmaktadır³.

Gelişmekte olan ülkelerde enfeksiyonun tedavisinde ucuz ve etkin bir antibiyotik olan penisilin yıllardır kullanılmaktadır. Ancak son 20 yılda gittikçe artan penisilin ve diğer antibiyotiklere dirençten dolayı tedavi zorlaşmış ve

maliyeti artmıştır⁴. Ülkemizde farklı coğrafi bölgelerde yapılan, çeşitli yaş gruplarındaki sağlıklı çocuklarda *S.pneumoniae* taşıyıcılığı %8.5-37.2, penisilin dirençli *S.pneumoniae* taşıyıcılığı %2.7-7 arasında; orta düzey penisilin dirençli *S.pneumoniae* taşıyıcılığı ise %17.9-33.9 arasında rapor edilmektedir⁵⁻⁸. Ülkemizde farklı bölgeleri içine alan multidisipliner bir araştırmada, hastalık etkeni olarak izole edilen *S.pneumoniae* izolatlarında penisiline orta düzey direnç %25.8, yüksek düzey direnç ise %3.9 olarak bildirilmektedir⁹.

Bu çalışmada, Mersin'de sağlıklı okul çocuklarında *S.pneumoniae*'nin nazofarengeal taşıyıcılık oranlarının araştırılması, penisilin ve diğer antimikrobiyal ajanlara direnç oranlarının saptanması ve penisiline dirençli pnömokok taşıyıcılığını etkileyen risk faktörlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Nisan 2003 - Mart 2004 tarihleri arasında Mersin'de üç ilköğretim okulunda rastgele seçilen yaşları 6-13 arasında değişen 1440 sağlıklı çocuk dahil edildi. Çalışma protokolü, İl Sağlık Müdürlüğü ve ailelerin bilgisi ve izni dahilinde onayları alınarak yapıldı. Bütün çocuklar üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE) yönünden muayene edildi. Okuduğu okul, aile bireylerinin sayısı, yaşları, sigara içme alışkanlıkları, son üç aylık dönemde verilen antimikrobiyal ilaçların sayısı ve tipi sorgulandı.

Nazofarengeal örnekler tüm merkezlerde aynı araştırmacılar tarafından alındı. Örnekler eküvyonlu çubukla dil ve küçük dile değdirmeden nazofarenksten alındı ve hemen gentamisin (5µg/ml) içeren koyun kanlı agara ekildi. %5-10 CO₂'li ortamda 35°C'de 24-48 saat inkübasyondan sonra, *S.pneumoniae* izolatları, tipik koloni görünümü, alfa-hemoliz ve Gram boyama özelliklerine göre tanımlandı. Doğrulama testleri olarak optokin (5 µg BD BBL disk) duyarlılığı ve safrada erime testleri kullanıldı^{10,11}. Bütün izolatlar daha ileriki çalışmalar için -70°C'de kalp beyin infüzyon (BHI) buyyonu-gliserol stok solüsyonunda [%9.9 (vol/wt) gliserol, %3.33 (vol/wt) BHI buyyonu; ARUP Laboratuvarları Reagent Lab.] dondurularak saklandı. Dondurulan izolatlar çözöldüğünde %5'lik koyun kanlı Kolombia agara pasajları yapıldı ve 24 saat %5 CO₂'li ortamda 35°C'de inkübe edildi. İzolatlar çözöldüğünde saflık ve optokin duyarlılığı yönünden kontrol edildi.

Oksasilin (1 µg), trimetoprim/sülfametoksazol (TMP/SMX; 1.25/23.75 µg), eritromisin (E; 15 µg), meropenem (10 µg), siprofloksasin (CİP; 5 µg), seftriakson (CRO; 30 µg) ve vankomisin (VA; 30 µg) duyarlılık testleri Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile yapıldı. Kirby-Bauer disk difüzyon testleri Mueller-Hinton agara (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK) %5 defibrine koyun kanı (TMP-SMX için %5 defibrine at kanı kullanıldı) eklenerek yapıldı. NCCLS önerileri doğrultusunda penisilin direncinin değerlendirilmesi, dirençli ve orta düzey dirençli olarak yapıldı¹². Penisilin MİK değerleri E-test (AB Biodisk, Solna, İsveç) ile belirlendi. E-test %5'lik defibrine koyun kanlı Mueller-Hinton agarda yapıldı¹³. Suşlar

E-test sonuçlarına göre; NCCLS önerileri doğrultusunda duyarlı ($<0.06 \mu\text{g/ml}$), orta duyarlı ($0.1-1 \mu\text{g/ml}$) veya dirençli ($\geq 2 \mu\text{g/ml}$) olarak değerlendirildi¹². *S.pneumoniae* ATCC 49619 kontrol suşu olarak kullanıldı.

Makrolid dirençli izolatların fenotipleri, klindamisin ve eritromisin diskleri (Oxoid) kullanılarak çift disk metoduyla belirlendi¹⁴. Bu amaçla eritromisin ($15 \mu\text{g}$) ve klindamisin (2 mg) diskleri, diskler arasındaki mesafe $15-20 \text{ mm}$ olacak şekilde koyun kanlı agarı üzerine yerleştirildi. Her iki disk etrafında inhibisyon zonu oluşmaması *erm* metilazların sürekli olarak yapıldığı MLS direnci; eritromisin diski etrafında inhibisyon alanı bulunmaması ancak klindamisin zonunun E'e bakan tarafında düzleşmesi indüklenebilir tipte MLS direnci; buna karşın eritromisine dirençli olduğu halde klindamisin zonunda herhangi bir daralma görülmemesi makrolid direncinin aktif pompa sistemine bağlı olduğu (M tipi) biçiminde değerlendirildi.

Antibiyotik kullanımı ve kalabalık ailede yaşama faktörlerinin direnç ve duyarlılık durumuna etkisi χ^2 testi ile analiz edildi, lojistik regresyon ile odds oranları hesaplandı.

BULGULAR

Çalışmamızda sağlıklı 1440 okul çocuğunun 201'inde (%13.9) *S.pneumoniae* tespit edilmiştir. Pnömonokok taşıyıcılığının saptandığı çocukların ortalama yaşı 8.8 yıl, erkek/kız oranı 104/97 olarak belirlenmiştir. Pnömonokok izolatlarının %87.1'i (n:175) penisiline duyarlı bulunmuş; penisiline yüksek düzey direnç oranı %1 (n:2), orta düzey direnç oranı ise %12 (n:24) olarak saptanmıştır. Makrolidlere direnç oranı düşük bulunurken (%4; n:8), TMP/SMX'e direnç oldukça yüksektir (%30) (Tablo I). İzolatların hiçbirisinde meropenem, vankomisin, seftriakson

Tablo I. *S.pneumoniae* İzolatlarının Antibiyotiklere Direnç Oranı

	Dirençli <i>S.pneumoniae</i> sayı (%)
Oksasilin	2* (1)
TMP-SMX	61 (30)
Makrolidler	8** (4)

* Penisiline yüksek düzey dirençli izolatlardır.

** iki suшта MLS_B, altı suшта M tipi direnç saptanmıştır.

ve siprofloksasin direnci saptanmamıştır. Suşların %68'i (n:136) çalışılan tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuş, antibiyotik direnci saptanan 65 (%32) izolatın dağılımı Tablo II'de gösterilmiştir.

Pnömonokok taşıyıcısı olan çocuklarda antibiyotik kullanımı ve kalabalık aile yaşamı, penisilin direncini etkileyen risk faktörleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kardeş sayısının fazla olmasının direnç riskini 4.28 kat ($p=0.009$), son iki ay içinde antibiyotik kullanımının ise direnç riskini 85.74 kat artırdığı ($p=0.001$) belirlenmiştir.

Tablo II. Dirençli Pnömonokok İzolatlarının Dağılımı

Antibiyotik	Tek ilaca dirençli sayı (%)	2 ilaca dirençli sayı (%)	≥3 ilaca dirençli sayı (%)
Penisilin	2		
TMP/SMX	39		
Penisilin+TMP/SMX		16	
Penisilin+Eritromisin		2	
Penisilin+Eritromisin+TMP/SMX			5
TMP/SMX+Eritromisin+Klaritromisin			1
Toplam	41 (20)	18 (8.9)	6 (2.9)

TARTIŞMA

Pnömonokok enfeksiyonları genellikle nazofarenks kolonizasyonu ile başlar ve nazofarengeal kolonizasyon da invazif hastalık oluşumu için önemli bir risk faktörüdür. Pnömonokok kolonizasyonu olan küçük çocuklarda akut orta kulak iltihabı gelişme oranı, kolonizasyon olmayan çocuklardan daha fazladır. Çocukların çoğunda epidemiyolojik ve sosyoekonomik faktörlere bağlı olarak hayatın ilk iki yılında *S.pneumoniae* kolonize olmaktadır¹⁵.

Ülkemizde hastalık etkeni olarak izole edilen *S.pneumoniae* suşlarında, penisilin ve diğer antibiyotiklere dirençle ilişkili pek çok çalışma bulunmasına rağmen, sağlıklı çocuklarda nazofarengeal pnömonokok taşıyıcılığı ve penisilin direnci ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Çiftçi ve arkadaşları⁷, 2 ay-12 yaş arası sağlıklı çocuklarda taşıyıcılığı %30, yüksek ve orta düzey penisilin direncini sırasıyla %2.7 ve %32.7 olarak bildirmişlerdir. Bakır ve arkadaşlarının⁵ çalışmasında, 6 ay-10 yaş arasındaki 1382 sağlıklı çocukta pnömonokok taşıyıcılık oranı %8.5, penisilin direnci ise %28.8 olarak rapor edilmiştir. Gazi ve arkadaşları⁸, 6-14 yaş arası çocuklarda taşıyıcılığı %23.4, yüksek düzey penisilin direncini %7, orta düzey penisilin direncini %17.9 olarak saptarken; Uzuner ve arkadaşları⁶ 9 gün-67 ay arası çocuklarda bu oranları sırasıyla %37.2, %5.4 ve %33.9 olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda saptanan taşıyıcılık oranı (%13.9) Uzuner⁶, Çiftçi⁷ ve Gazi⁸'nin sonuçlarından düşük, Bakır⁵'in bildirdiği orandan yüksektir. Buna karşın penisiline yüksek (%1) ve orta (%12) düzey dirençli suşlarımızın oranının, tüm bu araştırmacıların bildirdiği oranlardan düşük olduğu görülmüştür.

Pnömonokok taşıyıcılığı ve penisiline direnç oranları, ülkelere ve bölgelere göre farklılık göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nin farklı yerleşim bölgelerini kapsayan bir çalışmada¹⁶ pnömonokok taşıyıcılığı ve penisiline direnç oranları sırasıyla %14-24 ve %4-9 (yüksek düzey) iken; Rusya'da yapılan bir çalışmada¹⁷ sırasıyla %45-66 ve %7.5 (orta düzey) olarak bildirilmiştir. Orta ve yüksek düzey penisilin direnç oranları ile ilgili olarak Çin (sırasıyla %13.1 ve %1.2) ve Tayvan'da (sırasıyla %30 ve %41) yapılan çalışmalarda da oldukça farklı sonuçlar alınmıştır^{18,19}.

Pnömonokoklar ile nazofarengeal kolonizasyonun temel olarak yaşa bağlı olduğu bildirilmekle birlikte, diğer faktörlerin de kolonizasyonda etkili olduğu düşünülmektedir¹. Yapılan çalışmalarda çocuklardaki taşıyıcılık oranları; yaş, kardeş sayısı, kalabalık yaşam, sosyoekonomik düzey, aile üyelerinin sigara içme alışkanlığı, antibiyotik kullanımı, iklim, çevresel ve genetik faktörler ile ilişkili bulunmuştur^{7,20-23}. Çalışmamızda, Uzuner ve arkadaşlarının⁶ bulgularına benzer olarak, son iki ay içinde antibiyotik kullanımının penisiline dirençli *S.pneumoniae* taşıyıcılığı üzerinde etkili olduğu tespit edilmiş ($p=0.0001$); ayrıca aile bireylerinin sayısının da bir risk faktörü olduğu gözlenmiştir ($p=0.009$).

Son yıllarda pnömokok suşlarının penisilin dışındaki antibiyotiklere karşı direncinde de artışın olduğu ve penisiline dirençli suşların sıklıkla beta-laktam dışı antibiyotiklere de dirençli olduğu ifade edilmektedir^{14,24-26}. Ülkemizde sağlıklı pnömokok taşıyıcılarında yapılan çalışmalarda TMP/SMX direnci %5.4-85 arasında değişen çok geniş bir aralıkta bildirilmektedir⁵⁻⁸. Bizim çalışmamızda TMP/SMX direnci %30 olarak belirlenmiştir. Çiftçi ve arkadaşları⁷, pnömokok izolatlarında sefotaksim direncini %2.7; Bakır ve arkadaşları⁶⁵ siprofloksasin direncini %3; Uzuner ve arkadaşları⁶ ise ofloksasilin direncini %1.8 olarak rapor etmişlerdir. İzolatlarımızda antibiyotik direnç oranı (tek veya çok ilaca karşı) %32 (65/201) olarak tespit edilmiş; bu suşların %63'ünün (41/65) tek, %28'inin (18/65) iki ve %9'unun (6/65) üç veya daha fazla ilaca dirençli olduğu izlenmiştir (Tablo II). Çalışmamızda suşlarımızın tümü meropenem, vankomisin, seftriakson ve siprofloksasine duyarlı bulunmuştur.

Pnömoni, otit ve sinüzit tedavisinde diğer etiyolojik ajanlara da etkili oldukları için sıklıkla makrolid grubu antibiyotikler tercih edilmekte, bu durum da direnç gelişimini artırmaktadır. Şener ve arkadaşlarının²⁶ çalışmasında makrolid direnci %15 olarak bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda iki suшта MLS_B, altı suшта M tipi direnç olmak üzere toplam sekiz suшта (%4) eritromisin direnci belirlenmiştir. Bu oran ülkemizdeki diğer çalışmalarda⁵⁻⁸ %15-62 arasında saptanan makrolid direnç oranlarından düşük, Rusya'da yapılan çalışmanın¹⁷ oranına (%4.6) benzerdir.

Bu çalışmada, Mersin ili okullarındaki sağlıklı çocuklarda nazofarengeal pnömokok kolonizasyon oranı (%13.9) ile suşların yüksek düzey penisilin direnç oranının (%1) düşük olduğu ve kalabalık ailede yaşam ile antibiyotik kullanımının penisiline dirençli *S.pneumoniae* taşıyıcılığı için risk faktörleri olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, pnömokok sürveyansının yapılması, invazif hastalıklara neden olan dirençli izolatlar ile ilgili veri toplanmasına ve pnömokok enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak bölgesel rehberlerin oluşturulmasına katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. Gray BM, Converse GM 3rd, Dillon HC Jr. Epidemiologic studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: acquisition, carriage, and infection during the first 24 months of life. J Infect Dis 1980; 142: 923-33.
2. Smith T, Lehmann D, Montgomery J, Gratten M, Riley ID, Alpers MP. Acquisition and invasiveness of different serotypes of *Streptococcus pneumoniae* in young children. Epidemiol Infect 1993; 111: 27-39.

3. Hendley JO, Sande MA, Stewart PM, Gwaltney JM Jr. Spread of *Streptococcus pneumoniae* in families. I. Carriage rates and distribution of types. J Infect Dis 1975;132: 55-61.
4. Friedland IR, Mc Cracken GH. Management of infections caused by antibiotic resistant *Streptococcus pneumoniae*. N Engl J Med 1995; 331: 337-82.
5. 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: 165-6.
6. Uzuner A, İlki A, Akman M, et al. Nasopharyngeal carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in healthy children. Turk J Pediatr 2007; 49: 370-8.
7. Ciftçi E, Doğru U, Aysev D, Ince E, Güriz H. Nasopharyngeal colonization with penicillin-resistance *Streptococcus pneumoniae* in Turkish children. Pediatr Int 2000; 42: 552-6.
8. Gazi H, Kurutepe S, Sürücüoğlu S, Teker A, Ozbakkaloglu B. Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens in the oropharynx of healthy school children in Turkey. Indian J Med Res 2004; 120: 489-94.
9. Gür D, Ozalp 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: 207-11.
10. Koneman EN, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC (eds). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 1992, 4th ed. JB Lippincott Company, Philadelphia.
11. Joklik WK, Willet HP, Amos B, Wilfert CM. *Streptococcus pneumoniae*, pp: 432-42. Zinsser Microbiology. 1992, 20th ed. Prentice-Hall International Inc. Appleton Lange, USA.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. Approved Standard. NCCLS Document M2-A6. 2004, 6th ed. CLSI/NCCLS, Pennsylvania.
13. Jorgensen JH, Howell AW, Maher LA. Quantitative antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* by using the E-test. J Clin Microbiol 1991; 29: 109-14.
14. Seppala H, Nissinen A, Yu Q, Huovinen P. Three different phenotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Finland. J Antimicrob Chemother 1993; 32: 885-91.
15. Raymond J, Le Thomas I, Moulin F, Commeau A, Gendrel D, Berche P. Sequential colonization by *Streptococcus pneumoniae* of healthy children living in an orphanage. J Infect Dis 2000;181: 1983-8.
16. 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: 856-65.
17. Stratchouski 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.
18. Wang H, Huebner R, Chen M, Klugman K. Antibiotic susceptibility patterns of *Streptococcus pneumoniae* in China and comparison of MICs by agar dilution and E-test methods. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 2633-6.
19. Chiou CC, Liu YC, Huang TS, et al. Extremely high prevalence of nasopharyngeal carriage of penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* among children in Kaohsiung, Taiwan. J Clin Microbiol 1998; 36: 1933-7.
20. Bogaert D, Groot R, Hermans PW. *Streptococcus pneumoniae* colonization: the key to pneumococcal disease. Lancet 2004; 4: 144-54.
21. Regev-Yohay G, Raz M, Shainberg B, et al. Independent risk factors for carriage of penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae*. Scand J Infect Dis 2003; 35: 219-22.

22. Cullotta AR, Kalter HD, Delgado J, et al. Antimicrobial susceptibilities and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolates from a low socioeconomic area in Lima, Peru. Clin Diagn Lab Immunol 2002; 9:1328-31.
23. Albanese AB, Roche CJ, Pass M, Whitney GC, McEllistrem CM, Harrison L. Geographic, demographic and seasonal differences in penicillin-resistance *Streptococcus pneumoniae*, Baltimore. Clin Infect Dis 2002; 34: 15-21.
24. Garau J. Treatment of drug-resistant pneumococcal pneumonia. Lancet 2002; 2: 404-15.
25. Marchisio P, Esposito S, Schito GC, Marchese A, Cavagna R, Principi N; Hercules Project Collaborative Group. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in healthy children: implications for the use of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine. Emerg Infect Dis 2002; 8: 479-84.
26. Şener B, Köseoğlu O, Fişenk İ, Haşcelik G, Günalp A. *Streptococcus pneumoniae* strains resistance to macrolide, lincosamide, streptogramin, oxazolidinone and ketolide. Mikrobiyol Bul 2002; 36: 125-31.