

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**KONJUGE PNÖMOKOK AŞISI UYGULAMASI SONRASI
ÇOCUKLARDA İNVAZİV PNÖMOKOK HASTALIĞI SIKLIĞI, SEROTİP
DAĞILIMI VE ANTİBİYOTİK DİRENCİ**

Dr. Nihal EKİN

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Erdal İNCE**

**ANKARA
2020**

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN	
Adı, Soyadı : Dr. Nihal Ekin	Sınav tarihi: 30/01 / 2020
Anabilim/Bilim Dalı : Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Erdal İnce	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: Konjuge Pnömonokok Aşısı uygulananı Sonrası Çocuklarda İnvaiziv Pnömonokok Hastalığı Sıklığı, Serotip Dağılımı ve Antibiyotik Direnci	
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☒ 1 ☐ 2 ☐ 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak	
☒ Kabulüne	
☐ Reddine	
☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine	
☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

IV. AÇIKLAMALAR	
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız	

Jüri Başkanı
Unvanı, Adı, Soyadı
Prof. Dr. Erdal İnce
Pediatrik Enfeksiyon Bilim Dalı



Jüri Üyesi
Unvanı, Adı, Soyadı
Prof. Dr. Ergin Çiftçi
Pediatrik Enfeksiyon Bilim Dalı



Jüri Üyesi
Unvanı, Adı, Soyadı
Prof. Dr. Anıl Aktaş
Gazi Üniversitesi
Pediatrik Enfeksiyon Bilim Dalı



ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgisini ve deneyimlerini paylaşan, hekimlik mesleğine yaklaşımlarıyla örnek olan ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum, başta Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Saadet Arsan olmak üzere tüm öğretim üyelerine,

Tez süreci boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, çalışma ahlakı ve disiplinine hayranlık duyduğum, bu zorlu dönemde bana her zaman sabır ve anlayışla yaklaşan tez danışmanım ve değerli hocam Prof. Dr. Erdal İnce'ye,

Tez sürecimde bilgisini ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Halil Özdemir'e,

Asistanlık sürecinde tanıdığım için kendimi şanslı saydığım güzel dostlarım Ayten Guliyeva'ya, Berfin Bilgiç'e, Elif Keleştemur'a, Ferhan Taş'a, Merve Karaman'a, Özen Taş'a ve Şeyda Kesen'e,

Son olarak hayatım boyunca bana her zaman destek olan, beni yetiştiren aileme,

Yol arkadaşım olan Ferhat Dağ'a

Sonsuz teşekkür ve minnetle

Dr. Nihal EKİN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER	II
KISALTMALAR DİZİNİ.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
TABLolar DİZİNİ	VI
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Araştırmanın Amacı	3
1.2. Araştırmanın Hipotezi	3
1.3. Araştırmanın Önemi.....	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Tarihçe.....	5
2.2. Mikrobiyoloji.....	9
2.3. Anatomi ve Fizyoloji.....	10
2.4. Patogenez ve Virülans.....	13
2.4.1. Adherens, Kolonizasyon ve İnvazyon	15
2.4.2. Kapsül ve Fagositozdan Korunma	16
2.5. Pnömonok Enfeksiyonların Epidemiyolojisi ve Pnömonok Serotipleri.....	16
2.6. Pnömonoklarda Antibiyotik Direnci	20
2.7. KPA7 Sonrası Pnömonok Enfeksiyonu Epidemiyolojisinde, Pnömonok Serotiplerinde ve Antibiyotik Direncinde Görülen Değişiklikler.....	23
2.8. KPA13 Sonrası Pnömonok Enfeksiyonu Epidemiyolojisinde, Pnömonok Serotiplerinde ve Antibiyotik Direncinde Görülen Değişiklikler.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. Çalışmanın Hazırlık Aşamaları ve Çalışma Süresi	31
3.2. Çalışmaya Alınan Çocukların Özellikleri	31
3.3. Örneklerin Alınması ve Transferi	31
3.4. Kültürlerde <i>S. Pneumoniae</i> 'nin İdentifikasyonu	32
3.5. İzolatların Kapsüler Serotiplendirilmesi.....	33
3.6. Elde Edilen Pnömonok Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi	34
3.7. İstatistiksel Yöntemler.....	35
4. BULGULAR	36
4.1. Çalışmaya Katılan Çocukların Demografik Özellikleri.....	36
4.2. Pnömonok Enfeksiyonu Sıklığındaki Değişim ve Hastalık Tipleri	38
4.2.1. Pnömonok Enfeksiyonu Sıklığındaki Değişim	38

4.2.2. İnvaziv Pnömonokok Hastalık Tipleri	39
4.3. Elde Edilen Pnömonokok İzolatlarında Serotip Dağılımı	40
4.4. Elde Edilen İzolatlarda Antibiyotik Direnci.....	44
4.4.1. Elde Edilen İzolatlardaki Penisilin Direnci ve Duyarlılığı	44
4.4.2. Elde Edilen İzolatlardaki Sefalosporin (Seftriakson) Direnci ve Duyarlılığı	45
5. TARTIŞMA	45
5.1. İnvaziv Pnömonokok Hastalığı İnsidansı	49
5.2. Pnömonokok İzolatlarının Serotip Dağılımı ve KPA'nın Kapsama Oranları	52
5.3. KPA Sonrası Pnömonokok İzolatlarındaki Antibiyotik Direnç Oranları.....	57
6. SONUÇLAR.....	60
ÖZET	62
SUMMARY	64
KAYNAKLAR	67

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD: Amerika Birleşik Devletleri
AOM: Akut otitis media
AÜTF: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
BOS: Beyin omurilik sıvısı
CDC: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
CLSI: Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
DNA: Deoksiribonükleik asit
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
FDA: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Kurumu
EMA: Avrupa İlaç Kurumu
İPH: İnvaziv pnömokok hastalığı
KPA7: 7 bileşenli konjuge pnömokok aşısı
KPA10: 10 bileşenli konjuge pnömokok aşısı
KPA13: 13 bileşenli konjuge pnömokok aşısı
KPA15: 15 bileşenli konjuge pnömokok aşısı
KPA20: 20 bileşenli konjuge pnömokok aşısı
MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu
PAF: Plaketalet aktive edici faktör
PBP: Penisilin bağlayıcı protein
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
SSS: Santral sinir sistemi
UHY: Ulusal Hastalık Yüğü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Konjuge pnömokok aşısının global olarak kullanımı	8
Şekil 2.2. Balgamdan elde edilen gram yaymasında gram pozitif diplokoklar halinde görülen <i>S. pneumoniae</i>	9
Şekil 2.3. <i>S. Pneumoniae</i> kolonilerinin kanlı agar besi yerinde alfa hemolizi.....	10
Şekil 2.4. <i>S. Pneumoniae</i> ' nin hücre zarı, hücre duvarı ve kapsül yapısı	11
Şekil 3.1. Katalaz aktivitesi	32
Şekil 3.2. Optakin duyarlılık testi.....	33
Şekil 3.3. Kapsül Şişme Reaksiyonu	34
Şekil 3.4. E test ile penisilin MİK değerinin saptanması.....	35
Şekil 4.1. Çalışma süresince saptanan hastaların yaş dağılımı	36
Şekil 4.2. Çalışma süresince saptanan hastaların KPA ile aşılama durumları	37
Şekil 4.3. Çalışma süresince saptanan hastaların yaşlarına göre KPA ile aşılama durumları	37
Şekil 4.4. Beş yaş altı çocuklarda invaziv pnömokok hastalığı sıklığı	38
Şekil 4.5. Beş yaş altı çocukların tanıları	39
Şekil 4.6. Önceden sağlıklı olan tüm çocukların tanıları	39

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Danimarka ve Amerika pnömokok serotip sınıflandırması	13
Tablo 2.2. Pnömokokta virölans faktörleri ve etki mekanizmaları	14
Tablo 2.3. Pnömokok izolatlarının CLSI 2013'e göre penisilin ve sefalosporin (seftriakson/sefotaksim) duyarlılığı	22
Tablo 4.1. KPA7 ve KPA13 döneminde elde edilen serotiplerin dağılımı	40
Tablo 4.2. KPA7 döneminde aşı ve parsiyel/aşısız hastalarda serotip dağılımı	41
Tablo 4.3. KPA13 döneminde aşı ve parsiyel/aşısız hastalarda serotip dağılımı	42
Tablo 4.4. İzolatların serotip dağılımı.....	43
Tablo 4.5. 2009-2019 yılları arasında elde edilen izolatların aşı kapsama oranları ..	44
Tablo 4.6. Nonmeningeal enfeksiyona göre penisilin duyarlılığı	44
Tablo 4.7. Meningeal enfeksiyona göre penisilin duyarlılığı.....	45
Tablo 4.8. Nonmeningeal enfeksiyona göre parenteral seftriakson duyarlılığı.....	45
Tablo 4.9. Meningeal enfeksiyona göre parenteral seftriakson duyarlılığı	46
Tablo 4.10. KPA7 içeriğinde bulunan serotiplere göre aşı ve aşı dışı serotiplerde meningeal enfeksiyona göre antibiyotik duyarlılık durumu	46
Tablo 4.11. KPA13 içeriğinde bulunan serotiplere göre aşı ve aşı dışı serotiplerde meningeal enfeksiyona göre antibiyotik duyarlılık durumu	47
Tablo 4.12. Beş yaş altı çocuklarda meningeal enfeksiyona göre penisilin ve seftriakson direnç oranlarının yıllara göre değişimi.....	47

1. GİRİŞ

Streptococcus pneumoniae, yaygın aşılama programlarına rağmen, enfeksiyon hastalıkları ile ilişkili ölümlerin majör nedenlerinden olan bir bakteri olup, günümüz dünyasında önemli halk sağlığı sorunlarından biridir. Dünya Sağlık Örgütü'nün raporuna göre pnömokok aşılmasının yaygın olarak kullanıma girmesinden önce *S. Pneumoniae* ilişkili enfeksiyonlar her yıl 1,6 milyon kişinin ölüme neden olmuştur ve bu ölümlerin 0.7-1 milyonu 5 yaşından küçük çocuklardır (1). Pnömokoklar beş yaş altında görülen toplum kökenli pnömoni, sepsis, bakteriyemi, menenjit gibi invaziv hastalıkların ve bununla birlikte akut otitis media, akut sinüzitin de en sık görülen etkenidir. Osteomiyelit, septik artrit, endokardit, peritonit, perikardit ve beyin abselerinin de önemli nedenlerindendir.

S. pneumoniae, gram-pozitif, katalaz negatif, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerob, kapsüllü ve diplokok bir mikroorganizmadır. Pnömokokların kapsülleri fagositozu önleyerek virülansda önemli rol oynar. Pnömokokların polisakkarit yapıda farklı antijenik özelliklere dayanan 90'dan fazla kapsüler serotipi vardır. Doksanın üzerinde pnömokok serotipi olmasına karşın invaziv hastalıklar bunların 10-15'i ile oluşmaktadır ve serotip dağılımı yaşa, coğrafik bölgelere, sosyo-ekonomik duruma göre farklılık göstermektedir (2). 2005 yılında yapılan bir çalışmaya göre gelişmiş ülkelerde yaygın olarak 14, 6, 19, 18, 23, 9, 1, 7, 4 ve 5 serotipleri ile invaziv hastalık görülmüştür. Avrupa'daki serotipler ABD'nden bazı farklılıklar göstermektedir; 1, 5 ve 6A serotipleri daha sıktır (3). DSÖ konjuge pnömokok aşılarının, kullanılacağı hedef bölgedeki invaziv hastalıklardan izole edilen serotiplerin en az %60'ını kapsamasını önermektedir (4).

Pnömokok enfeksiyonlarının sıklığı ve ciddi hastalık tablolarına yol açması ve potansiyel antibiyotik direnç durumu nedeniyle 1980'li yıllarda konjuge pnömokok aşı çalışmaları başlamış, 7 bileşenli konjuge pnömokok aşısı, ABD'nde 2000 yılında lisans almıştır. 7 değerlikli aşı 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F ve 23F serotiplerinin polisakkaritleri ile difteri proteini olan CRM197'yi içermektedir. Bu serotipler ABD'nde 1978-1994 yılları arasında 6 yaşın altındaki çocuklarda bakteriyemilerin %86'sından, menenjitlerin %83'ünden ve AOM'nın %65'inden sorumludur (5). KPA7 uygulaması sonrasındaki izlemde invaziv pnömokok hastalığı epidemiyolojisinde önemli değişiklikler

gerçekleşmiştir. Pnömoni, menenjit, AOM ve penisilin dirençli pnömokok insidansında düşüş görülmüştür (6, 7, 8). CDC raporuna göre ABD'de 5 yaşın altındaki çocuklarda İPH'na neden olan tüm serotiplerin insidansında %77, aşı serotipleri ile oluşan İPH insidansında %98 oranında azalma saptanmıştır (9).

Pnömokok aşılmasında önemli problemlerden biri aşı ile önlenebilen serotipler azalırken, aşı dışı serotiplerin bunların yerini alma ihtimalidir. Nitekim KPA7'nin rutin uygulamaya girmesinden sonra izlemde aşı dışı serotiplere bağlı İPH sıklığında artış görülmüştür. CDC raporuna göre İPH izleminde, 1997-1998'de %17 olan KPA7 dışı serotiplerin, 2006-2007 yılları arasında %98'e arttığı görülmüştür. 2007 yılında ABD'de İPH'nda 5 yaşın altındaki çocuklarda saptanan en sık serotipler 3, 15B/C, 19A, 22F ve 33F'di (10, 11, 12, 13). ABD'de birçok bölgede yapılan çalışmalarda İPH'nın en yaygın nedeni olarak 19A bulunmuştur (14, 15).

Penisilin birçok pnömokokal enfeksiyonun tedavisinde geleneksel olarak kullanılan ilk seçenek antibiyotiktir. Pnömokoklarda penisilin direnci, hücre duvarında bulunan penisilin bağlayıcı proteinlerdeki (PBP) değişikliğe bağlı olarak ilaç afinitesinde azalmayla gerçekleşir. Aşılama programı ile invaziv pnömokok hastalığının sıklığında ve dirençli suşların oranında azalma olacağı öngörülmüştür. ABD'nde KPA7 sonrasında özellikle 2 yaş altında penisiline dirençli pnömokoklar %81 oranında azalmıştır. Ancak bununla birlikte penisiline dirençli 19A serotipinde ise %2'den %35'e yükselme gözlenmiştir (6).

İPH etkeni serotiplerin dağılımındaki değişimler ve 19A serotipi başta olmak üzere KPA7-dışı serotiplerin ön plana çıkması ve aşı dışı serotiplerde antibiyotik direnç oranının artış görülmesi, daha geniş bir serotip kapsamı gösteren bir aşının gereksinimi ortaya koymuştur (16). KPA13, 2010 yılında ABD'de 6 hafta-71 aylık çocuklarda kullanımı için lisans aldı. Bu aşı, KPA7 içinde bulunan yedi serotipe (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F) ilave olarak altı serotip daha içermektedir (1, 3, 5, 6A, 7F, 19A) ve KPA7 gibi toksik olmayan difteri toksoid proteini CRM197 ile konjuge edilmiştir. Ülkemizde Nisan 2011 tarihinden sonra KPA13 Ulusal Aşı Takviminin bir parçası olmuştur. Türkiye'de KPA13 uygulaması sonrası İPH epidemiyolojisi, serotip dağılımı,

antibiyotik direnci hakkında veriler kısıtlıdır, bu nedenle yaptığımız çalışmanın ülkemiz için yararlı olacağını düşünmekteyiz.

1.1. Araştırmanın Amacı

Konjuge pnömokok aşılması sonrası invaziv pnömokok hastalığının (İPH) görülme sıklığının yıllara göre değişiminin incelenmesi, aşılama sonrası invaziv hastalıkta gözlenen serotiplerin incelenmesi ve aşı dışı serotiplerin belirlenmesi, gözlenen serotiplerin antibiyotik direncinin belirlenmesi amacıyla araştırma planlanmıştır.

1.2. Araştırmanın Hipotezi

- Aşılama sonrasında da invaziv hastalığın en sık erken yaş grubunda (<5 yaş) görülmeye devam edeceği beklenmektedir.
- Aşılamanın rutin uygulamaya girmesinden sonra invaziv pnömokok hastalığının ve aşı içeriğinde bulunan serotiplere bağlı invaziv hastalıkların azalması beklenmektedir.
- Aşılamanın rutin uygulamaya girmesinden sonra invaziv pnömokok hastalığına yol açan serotiplerin aşı dışı serotipler lehine değişmesi beklenmektedir.
- Aşılamanın rutin uygulamaya girmesinden sonra antibiyotik direncinde azalma olması beklenmektedir

1.3. Araştırmanın Önemi

Yedi değerlikli konjuge pnömokok aşısı (KPA7) uygulamasından sonra İPH sıklığında ciddi düzeyde azalma olmasına rağmen zaman içinde aşı dışı serotiplerin oluşturduğu enfeksiyon sıklığında artma meydana gelmiştir. Bu artış hastalık sıklığının da zaman içinde artışına neden olmuştur. Bu nedenle kapsamı daha fazla olan aşı geliştirme çalışmaları yapılmıştır. KPA7 aşısının içinde yer almayan ancak KPA7 aşılması sonrası invaziv hastalıktan sıklıkla sorumlu olan 6 yeni serotipin aşıya ilavesi ile 13 değerlikli konjuge pnömokok aşısı (KPA13) ve bir diğer aşı firması tarafından ise 10 değerlikli konjuge pnömokok aşısı (KPA10) (3 yeni serotipin ilavesi ile) geliştirilmiştir. KPA13 aşısı geliştirildikten sonra ülkemizde KPA7 yerine KPA13 rutin olarak uygulanmaya başlanmıştır. Bir toplumda konjuge pnömokok aşılması sonrası görülen aşı içeriğinde yer almayan serotiplerinin bilinmesinin yeni geliştirilecek aşı etkinliğinin

belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Bizim ülkemizde KPA7 ile aşılama sonrası İPH sıklığının azaldığı kliniğimizde yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (131). KPA13 sonrası hastalık sıklığının ne durumda olduğunun bilinmesi toplumumuzda İPH'nin epidemiyolojisinde olan değişimi izlemek açısından büyük önem taşımaktadır. Ayrıca dünyada sürdürülen yeni çalışmalarla yakın gelecekte aşı içeriğine yeni serotipler eklenerek değeriği daha fazla olan aşilar geliştirilmeye çalışılmaktadır (ör: 20 değeriikli konjuge pnömokok aşısı (KPA20) gibi).

Konjuge pnömokok aşilarının içeriğinde yer alan serotipler antibiyotik direnci en yüksek olan serotiplerdir. Konjuge pnömokok aşılama sonrası görülen enfeksiyonlarda izole edilen serotiplerin antibiyotik direnç oranı düşük olduğundan aşılama sonrası pnömokok antibiyotik direncinde genel bir düşme olmuştur. Ancak zamanla daha önce az görülen serotiplerin artışı ile bu durum değışiklik gösterebilir. Pnömokoklarda görülen antibiyotik direnç oranındaki değışimler pnömokokların neden olduğ u hastalıklarda ampirik tedavi planlanması açısından önem taşıdığı için zaman içindeki değışikliklerin bilinmesi önemlidir.

KPA13'ün uygulanması sonrasında aşı içinde yer alan serotiplere karşı koruyuculuk tüm serotipler için aynı olmadığı ve aşılama yapılmasına rağmen aşıda yer alan belli serotiplerin halen hastalık yaptığı görölmüştür (115,138). Aşılama sonrası aşı içinde yer almasına rağmen hastalık yapan serotipler ülkelere göre değışiklik göstermektedir. Bizim ülkemizde aşılama sonrası böyle bir durum var mıdır, varsa bu serotip özel bir hastalık formuna yol açmakta mıdır? Bu durumun bilinmesi klinik olarak hasta değeriendirilmesi bakımından önemli olabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

Streptococcus pneumoniae mikrobiyoloji, immünoloji ve aşı bilimi alanının gelişmesinde önemli rol oynamış bir bakteridir. Bu konuya ait ilk bilgiler 1881 yılında Amerika’da George Sternberg ve Fransa’da Louis Pasteur tarafından yapılan iki bağımsız çalışma ile gösterilmiştir. Araştırmacılar insan tükürüğünü tavşanlara enjekte ettiler; Pasteur, kuduzdan ölen bir çocuğun tükürüğünü kullanırken, Sternberg kendi tükürüğünü kullandı. Tavşanlar septisemiden öldüler ve onların kanlarından diplokokları izole ettiler. Bu diplokokların hayvanlarda olası patojen olduğunu düşündüler ve Pasteur tarafından “*Microbe septicémique du saliva*” olarak, Sternberg tarafından “*Micrococcus pasteurii*” olarak isimlendirildi (17). Fraenkel tarafından 1886’ da bakterinin akciğer hastalığına neden olma eğilimi nedeniyle Pneumococcus olarak adlandırıldı. Pnömonokun insan hastalıklarına neden olmadaki rolü, 1960 yılında Avusturya’da Carl Friedlander’ın organizmaları lobar pnömoniden ölen hastalarda tanımladığında ortaya çıktı (17). 1974 yılına gelindiğinde ise, sıvı besiyerinde kok zincirleri şeklinde üreme özelliklerinden dolayı, günümüzde bilinen adıyla “*Streptococcus pneumoniae*” olarak anılmaya başlandı (2).

S. pneumoniae, ekstraselüler bakteriyal patojen özellikleri gösterilen ilk organizmadır. 1890 yılının başlarında Felix ve Georg Klemperer ölen pnömonokoklar ile bağışıklanan hayvanların sonraki pnömonokok enfeksiyonlarına karşı koruma sağladığını ve bağışıklı hayvanlardan alınan serum ile bu bağışıklığın başkalarına aktarılabilirdiğini göstermişlerdir. Bu gözlemler günümüzdeki humoral immünitenin temelini atmıştır. Neufeld Haendel tarafından 1910 yılında kapsül şişme ve aglütinasyon reaksiyonları tanımlanmıştır. Aglütinasyon gelişen pnömonokoklar serotip 1, 2, 3 olarak gruplandırılırken diğerleri serotip 4 olarak gruplandırılmıştır (2).

Yirminci yüzyılın başlarında Wright, Maynard, Lister ve arkadaşları Güney Afrika’da epidemik lobar pnömoni sorunu için pnömonokok aşısını ilk kez kullanmışlardır. Bu aşı uygulaması sonrasında pnömoni insidansında belirgin bir azalma görülmüştür (18, 19). Heidelberger ve Avery 1920’lerde yüzey kapsüller polisakkaritlerin serolojik reaktivitesini ve antijenik özelliğini kanıtladılar; bunlara karşı koruyucu antikolar geliştirilebileceğini gösterdiler. Felton, insanlarda kullanılmak üzere ilk saflaştırılmış

pnömokokal polisakkaritleri hazırladı ve 1937-1938 yılında Amerika'da bir hastanede pnömoni epidemisini yok etmek için tip 1 polisakkariti kullandı. Bütün bu çalışmalar değerlendirildiğinde spesifik bir bakteriyel polisakkarit antijenin epidemik insan enfeksiyonlarına karşı koruyucu olan humoral antikorların uyarılmasını sağlayabileceğini göstermiştir. MacLeod ve arkadaşları II. Dünya Savaşı döneminde 4 serotipi içeren pnömokok kapsüller materyali ile aşılanan askerlerde aşının içerdiği serotiplerin neden olduğu pnömoni insidansında azalma olduğunu, ancak aşının içermediği serotiplerle meydana gelen pnömonide ise azalmanın olmadığını göstermişlerdir (2).

S. pneumoniae, deoksiribonükleik asidin (DNA) keşfinde de temel bir rol oynamıştır. 1920 yılında Griffith yaptığı deneyle, kapsülsüz canlı pnömokoklar (mutant) ile birlikte ısı ile öldürülmüş kapsüllü pnömokokları farelere enjekte etmiş ve farelerde kapsüllü bakterilerin ortaya çıktığı göstermiştir. Bu deneyi transformasyon olarak adlandırmıştır. 1940'lara kadar açıklanamayan bu durumu Avery ve arkadaşları mutant bakterilerin ölü virülan organizmalardan DNA olarak kapsül ürettiklerini ve transformasyondan fenotipi kodlayan genetik materyal olan DNA'nın sorumlu olduğunu kanıtlamışlardır (2).

Felton'un 1940'larda ilk saflaştırılmış pnömokokal polisakkariti kullanmasından sonra aşı çalışmaları devam etmiştir. 23 serotipin saflaştırılmış kapsüller polisakkarit antijenlerini içeren inaktive bir aşı olan 23 değerlikli pnömokok polisakkarit aşısı (PPSV23) 1977 yılında lisans almıştır. Aşının içerdiği 23 serotip (1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F ve 33F) Amerika'da invaziv pnömokok hastalığına neden olan suşların %85-90'ını kapsamaktadır. Polisakkarit aşının etkilerini humoral immün sistem üzerinden oluşturur. Söz konusu aşılar T-hücrelerini uyaramamaları nedeniyle kalıcı immün yanıt oluşturamazlar. Bu sebeple 2 yaş altında kullanımı önerilmez (20).

Polisakkarit pnömokok aşılarının iki yaş altında etkisiz oluşu konjuge pnömokok aşılarının önemini gündeme getirmiştir. 1980'li yıllarda konjuge pnömokok aşı çalışmaları başlamış, bu aşılar da pnömokok polisakkarit antijeni bir protein molekülüne kovalen bağlarla konjuge edilir ve böylece polisakkarit antijenleri konjuge haline gelerek T-hücre bağımlı antijen haline gelip immünizasyonu sağlamaktadır. Şubat

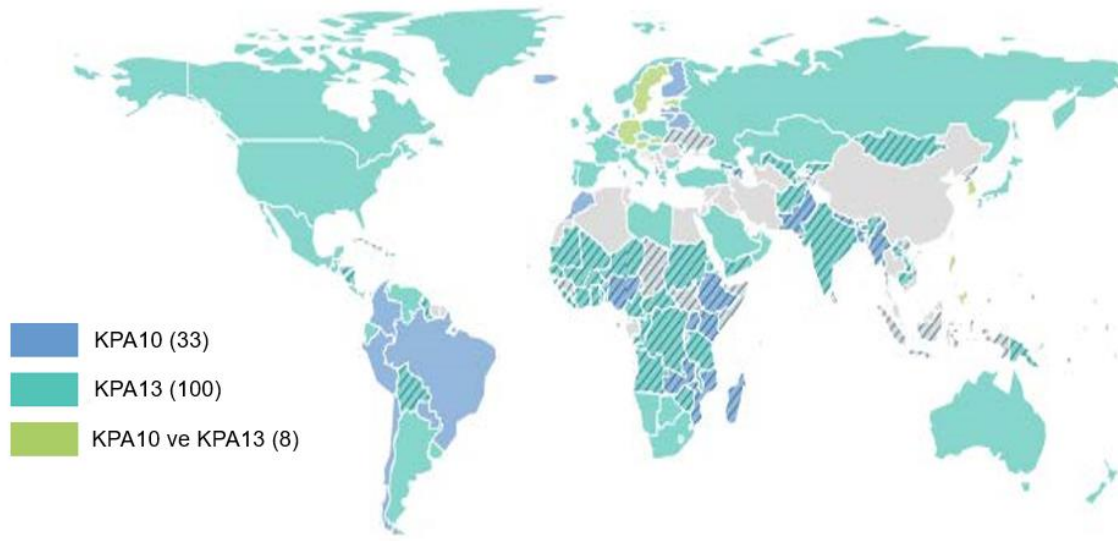
2000'de 7-değerlikli konjuge pnömokok aşısı (KPA7), bebek ve çocuklarda rutin aşılanmanın bir parçası olarak ABD'de lisans almıştır. KPA7: 7 pnömokok serotipini (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F) ve toksik olmayan difteri proteini olan CRM197'yi içerir. KPA7 Ekim 2005 tarihinden itibaren ülkemizde de ruhsat alarak kullanıma sunulmuştur. Sağlıklı bebekler için rutin önerilen uygulama şeması; 2, 4, 6. aylarda 3 aşı ve 12-15 aylar arasında tekrar olmak üzere toplam 4 defadır.

KPA7 uygulaması sonrası ilk dönemlerde ABD'de ve ülkemizde de İPH insidansında belirgin bir azalma görülmüştür. Ancak ilerleyen yıllarda KPA7'nin kapsamadığı serotiplerle ilişkili enfeksiyonlarda ve antibiyotik direncinde artış görülmüştür. Bu durum araştırmacıları aşı içeriğinin genişletilmesi için yeni çalışmalara yönlendirmiştir. Bunun sonucunda iki farklı üretici firma tarafından 2009 yılında 10 değerlikli konjuge pnömokok aşısı (KPA10) (Synflorix, GlaxoSmithKline), 2010'da 13 değerlikli konjuge pnömokok aşısı (KPA13) (Prevenar-13 ®, Pfizer) piyasaya sunulmuştur.

KPA10, Ocak 2009 yılında EMEA tarafından onaylanmış ve ABD hariç birçok ülkede kullanım lisansı almıştır. KPA10, NTHi protein D (Non-Typeable Haemophilus Influenza Protein D), tetanoz ve difteri toksoidleri ile konjuge edilmiş 10 pnömokok serotipini (1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F ve 23F) ve bir alüminyum adjuvanı içerir. Protein D, 10 serotipten 8 tanesinde taşıyıcı protein olarak kullanılır. Diğer 2 serotipten, serotip 18C tetanoz toksoidine, serotip 19F'te difteri toksoidine taşıyıcı protein olarak bağlanmıştır. KPA10 için önerilen uygulama şekli, aşılanmamış çocukların 12 ay ile 5 yaşları arasında 2 doz verilmesidir. İlk ve ikinci doz arasında en az 2 ay ara olması gerekmektedir (21).

KPA13 ise FDA tarafından 2010 yılında onay almıştır ve KPA7'de bulunan 7 serotip ve 6 ek serotip (1, 3, 5, 6A, 7F ve 19A) içerir. KPA7 gibi toksik olmayan difteri toksoid proteini CRM197 ile konjuge edilmiştir. KPA13'ün 2-59 ay arasındaki tüm çocuklara ve 60-71 ay arasında pnömokok enfeksiyonları için risk grubunda olan tüm çocuklara uygulamasını önerilmiştir. Daha önceden KPA7 dozu almamış 2-59 ay arası çocuklarda, aşı 2.,4., 6.ayda aşı, 12 ve 15. aylarda tekrar dozu şeklinde uygulanması önerilmiştir. Dünya üzerinde KPA10 ve KPA13 kullananan ülkelerin dağılımı harita üzerinde belirtilmiştir. (Şekil 2.1, 22)

Türkiye’de Nisan 2011 tarihinden sonra KPA13 Ulusal Aşı Takviminin bir parçası olmuştur. KPA13 ülkemizde ilk olarak, 2., 4., 6. ve 12. aylarda 3+1 şeması şeklinde uygulanmıştır. Ancak ülkemiz Sağlık Bakanlığının Bağışıklama Danışma Kurulu önerileri ile 14 Mart 2019 tarihinde, KPA13’ün 01.01.2019 tarihinden itibaren doğan bebeklere 2., 4. ve 12. aylarda olmak üzere, 2+1 şemasıyla uygulanmasına karar verilmiştir. Mevcut aşı takvimimizde KPA aşılması başlamış olan 01.01.2019 tarihi öncesi doğumlu çocukların 3+1 şeması ile aşılması tamamlanacaktır.



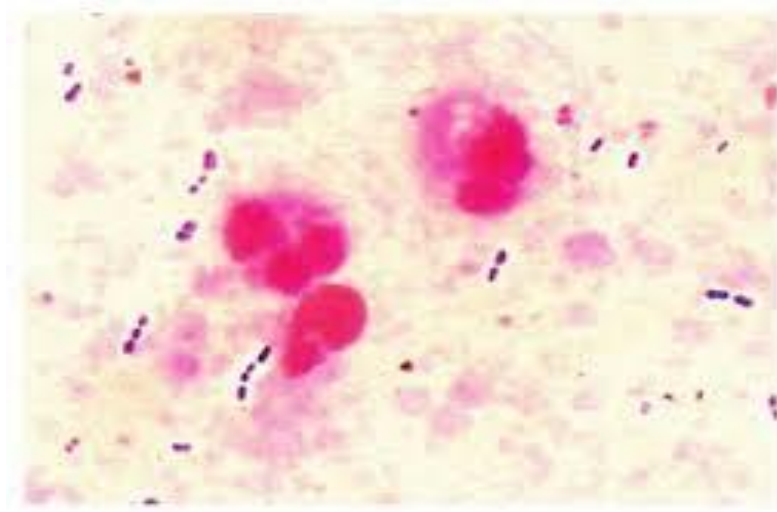
Şekil 2.1. Konjuge pnömokok aşısının global olarak kullanımı

Mevcut olan aşıların etkinliğinin değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalar devam ederken, aşı içeriğinin genişletilmesine yönelik araştırmalar da sürmektedir. 15 değerlikli konjuge pnömokok aşısı (KPA15), KPA13 içerisindeki serotiplere ek olarak 22F ve 33F serotiplerini içermektedir. KPA15’in alüminyum ile adjuvanlanmış ve adjuvan içermeyen iki farklı formunun sağlıklı infantlar üzerinde güvenilirliği ve immünojenitesini değerlendirilen çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların sonucunda KPA15 güvenli ve tolere edilebilir bulunmuş, KPA13 ile karşılaştırılabilir seviyelerde 15 aşı serotipine karşı immün yanıt oluşturmuştur. Ancak KPA15’in güvenlik ve immünojenitesinin değerlendirilmesi için daha fazla klinik çalışmaya gerek duyulmaktadır (23). Günümüzde 20 değerlikli (1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 23F, 8, 10A,

11A, 12F, 15B, 22F ve 33F) konjuge pnömokok aşısının erişkinlerde klinik etkinlik çalışmalarına başlanmıştır (24).

2.2. Mikrobiyoloji

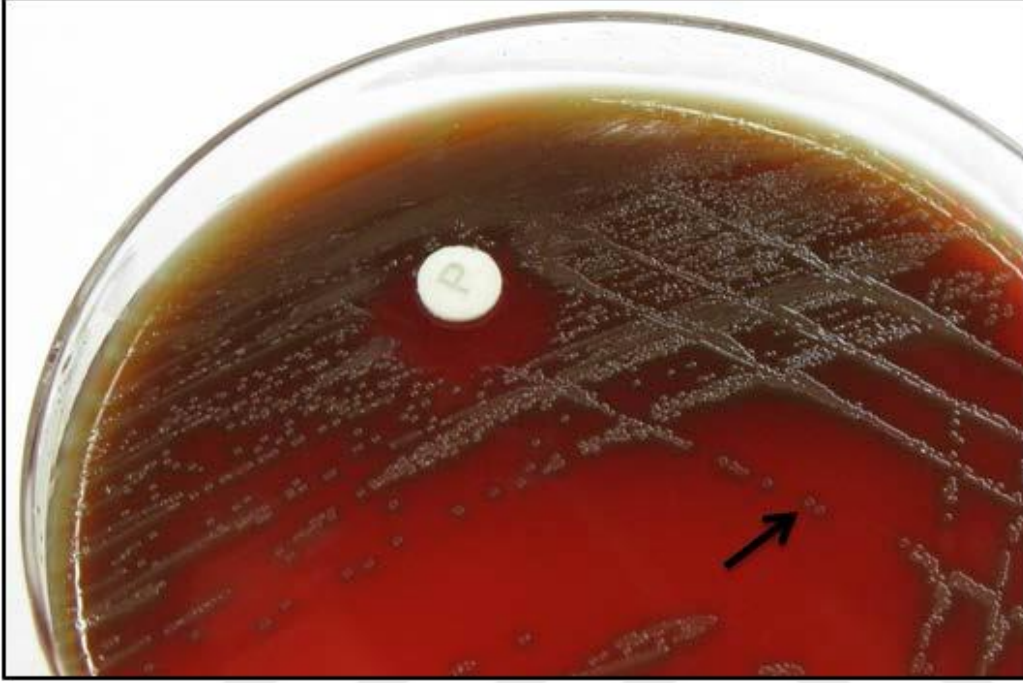
S. pneumoniae, *streptococcus* ailesi içinden, gram-pozitif, katalaz negatif, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerob bir mikroorganizmadır (2). 0.5-1.25 µm boyutunda birbirine bakan yüzleri düz diğer uçları sivri mum alevi veya lanset biçiminde ikili koklar (diplokok) veya değişik uzunlukta zincir yapmış şekilde görülebilen tipe özgü olarak kapsüllü ya da kapsülsüz bakterilerdir (Şekil 2. 1).



Şekil 2.2. Balgamdan elde edilen gram yaymasında gram pozitif diplokoklar halinde görülen *S. pneumoniae*

Pnömokoklar kan, serum, haben sıvısı gibi maddeler içeren zenginleştirilmiş besiyerlerinde %5-10 CO₂ varlığında 18-24 saatte, optimal üreme ısısı olan 37 °C' de ve pH 7,4-7,8 iken en iyi şekilde üremektedirler. Katalaz negatif olmasına rağmen oksijenli ortamda flavoenzimlerle H₂O₂ üretirler. Bu nedenle eritrosit gibi katalaz kaynağı varlığında daha iyi çoğalırlar. Dış kaynaklardan katalaz elde edilemezse de ortamdaki H₂O₂ birikimi üremelerini engeller. Pnömokoklar kanlı agar gibi katı besiyerlerinde 24-36 saatlik inkübasyon süresinin ardından içerdikleri pnömolizin (alfa hemolizin) ile hemoglobini yıkarak yeşil renkli koloniler oluştururlar. Bu özellik alfa hemoliz olarak tanımlanır (Şekil 2.2). Pnömokokların üremesi optokininin çok az miktarı ile inhibe olur ve safra tuzlarının %2 yoğunluğunda çözünürler (2, 25). Sonuç

olarak *S. pneumoniae*, mikrobiyoloji laboratuvarlarında 4 reaksiyon ile tanımlanır: Kanlı agarda alfa hemoliz yapması, katalaz negatifliği, optokine duyarlı olmaları ve safra tuzlarında çözünmeleri (2).

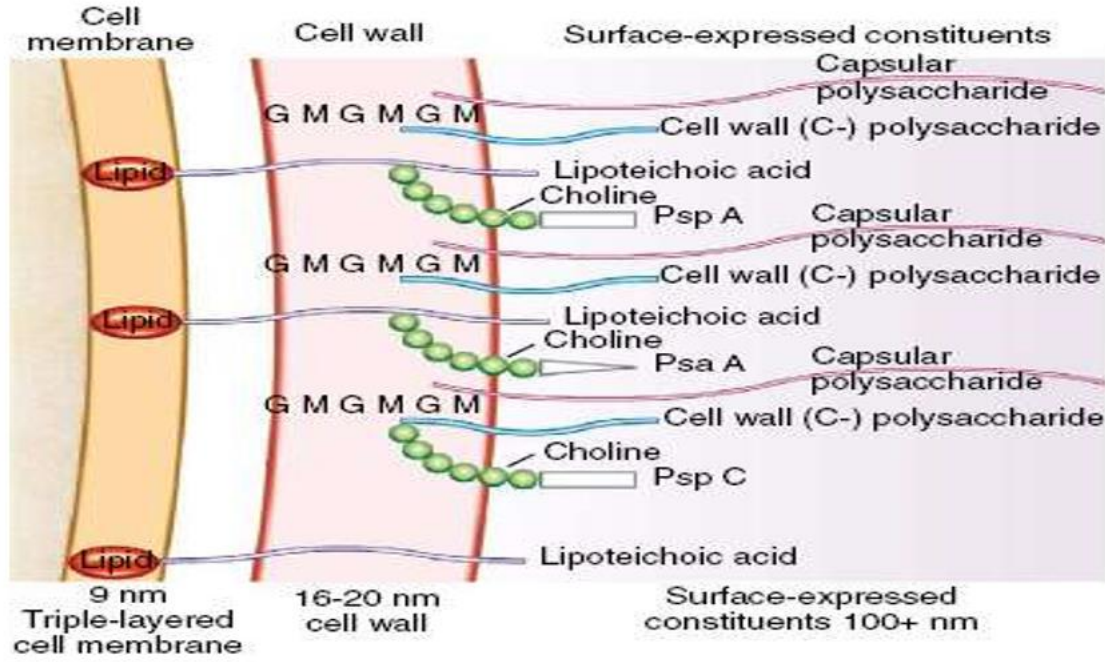


Şekil 2.3. *S. Pneumoniae* kolonilerinin kanlı agar besi yerinde alfa hemolizi

2.3. Anatomi ve Fizyoloji

Peptidoglikan ve teikoik asit pnömokok hücre duvarının temel bileşenlerini oluşturur (26). Peptidoglikan N-asetil-d-glukozamin ve N-asetilmuramik asit zincirlerinin ardına dizilmesiyle oluşur. Bu aminoasitlerden 4-6 tanesinin bir araya gelmesi ve lizinin eklenmesiyle kök peptidleri oluştururlar. Kök peptidler, pentaglisin köprüleri ile çapraz olarak bağlanırlar ve hücre duvarının dayanıklılığını artırır. Hücre duvarına negatif yük kazandıran teikoik asit, ribitol fosfat ve fosforilkolin içeren bir polisakkarittir. Bakteriyel duvarın en dış yüzeyinde peptidoglikana kovalent olarak bağlıdır ve kapsül içine doğru uzanır. Teikoik asit peptidoglikana sıkıca bağlanarak C polisakkariti oluşturur. C polisakkarit, tüm pnömokoklarda ve nadiren bazı viridans streptokoklarda bulunur. C polisakkarit, inflamatuvar süreçlerde kan akımında ortaya çıkan proteinlerle reaksiyona girer (akut faz reaktanları veya C-reaktif proteinler olarak adlandırılırlar) (2).

Neredeyse tüm klinik *S. pneumoniae* izolatları eksternal bir kapsüle sahiptir. Kapsülsüz izolatlar çoğunlukla konjuktivit salgılarında rastlanır (27). Kapsül, sitoplazmada sentezlenip polimerize hale getirilen tekrarlayan oligosakkaritlerden meydana gelir ve bakteriyel yüzeye hücre zarı transferazları ile taşınırlar. Bu polisakkaritlerin peptidoglikan ve C polisakkarite kovalent olarak bağlandığı için kapsül hücre duvarı polisakkaritinden güçlükle ayrılır (28), (Şekil 2. 3).



Şekil 2.4. *S. Pneumoniae*' nin hücre zarı, hücre duvarı ve kapsül yapısı

Kapsüler polisakkarit antijenik farklılıklarına göre *S. pneumoniae* için doksandan fazla serotip tanımlanmıştır. Kapsül üretimini kodlayan genler arasından bazıları polisakkaritler için spesifiktir, diğerleri ise neredeyse tüm pnömokoklarda ve hatta diğer streptokoklarda da bulunur (29). Pnömokoklar serolojik olarak; tipe özgül antiserumlarla aglütinasyon, tipe özgül antiserumlarla suda çözünür yapıdaki kapsüler polisakkaritlerin presipitasyonu, Kapsül şişme (Quellung) reaksiyonu olmak üzere üç şekilde tiplendirilir (2,30). Günümüzde pnömokokların tip tayininde en sık Quellung (kapsül şişme) reaksiyonu kullanılmaktadır. Bunun dışında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi nükleik asit amplifikasyon tesleride *S. pnemoniae*'nın belirlenmesinde kullanılmaktadır.

Amerikan numaralandırma sisteminde serotipler 1'den 91'e kadar izolasyon sıraları esas alınarak numaralandırılmıştır. Daha yaygın olarak kabul edilen Danimarka numaralandırma sistemi ise antijenik olarak ilişkili serotipleri içeren gruplara göre pnömokokları 46 serogruba ayırmaktadır. Örneğin Danimarka serogrup 19, 19F, 19A, 19B ve 19C (F harfi ilk saptananı temsil eder, daha sonra bulunanlar sırasıyla A, B, C diye devam eder) serotiplerini içerirken, Amerikan sisteminde bu serotipler sırasıyla 19, 57, 58 ve 59'dur (Tablo 2. 1). İnsanlarda daha sık hastalığa neden olan serotipler daha önce tanımlanmış ve küçük numaralar ile numaralandırılmış olduğundan, insanlardaki enfeksiyonlarda küçük numaralı serotipler daha sık olarak görülmektedir (2).



Tablo 2.1. Danimarka ve Amerika pnömokok serotip sınıflandırması

Danimarka Serotip Sınıflaması	Amerika Serotip Sınıflandırması
1	1
2	2
3	3
4	4
5	5
6A, 6B, 6C	6,26
7A,7B,7C,7F	7, 48, 50, 51
8	8
9N,9A,9L,9V	9, 33, 49, 68
10F, 10A, 10B, 10C	10, 34
11F, 11A, 11B, 11C, 11D	11, 43, 76, 53
12F, 12A, 12B	12, 83
13	13
14	14
15F, 15A, 15B, 15C	15, 30, 54, 77
16F,16A	16
17F, 17A	17, 78
18F, 18A, 18B, 18C	18, 44, 55, 56
19F,19A,19B,19C	19, 57, 58, 59
20	20
21	21
22F, 22A	22, 63
23F, 23A, 23B	23, 46, 64
24F, 24A, 24B	24, 65, 60
25F, 25A	25
27	27
28F, 28A	28, 79
29	29
31	31
32F, 32A	32, 67
33F, 33A, 33B, 33C, 33D	70, 40, 42, 39
34	41
35F, 35A, 35B, 35C	35, (47 =62), 66, 61
36	36
37	37
38	71
39	69
40	45
41F, 41A	38, 74
42	80
43	75
44	81
45	72
46	73
47F,47A	52, 84
48	82

2.4. Patogenez ve Virülans

Pnömokokal hastalık gelişimi için en önemli faktörler serotipin virülansı, tip spesifik humoral immünitenin olmaması ve viral solunum yolu hastalığının varlığıdır. S.

pneumoniae, sağlıklı çocukların nazofarenksinin normal florasının bir üyesidir. *S. pneumoniae* komşuluk yoluyla orta kulağı, sinüsleri ve akciğerleri enfekte edebilir, kan dolaşımına geçebilir, meninks veya diğer bölgelerde fokal enfeksiyon odağı oluşturabilir (31). Pnömonokokların bütün türleri eşit derecede invaziv değildir. Virülans ve invazivite potansiyeli üzerine kapsüldeki polisakkarit bileşeni ile polisakkaridin miktarının önemli etkisi vardır. Kapsül miktarı fazla olan suşların virülansı da daha fazla olacaktır (32). Bu nedenle bazı serotipler nadiren nazofarenkste izole edilir ve invaziv pnömonokok hastalığına neden olur. Birçok ülkede yapılan geniş kapsamlı araştırmalarda 1, 2, 7, 9, 14 ve 16 en fazla invaziv serotip olarak saptanmıştır. En az invaziv olanlar ise 3, 6, 15, 19 ve 23'tür (33, 34).

Pnömonokokların kapsülü dışında birçok protein yapı da hastalık patogenezinde rol oynar. *S. Pneumoniae* virülans faktörleri ve etki mekanizmaları tablo halinde aşağıda belirtilmiştir (Tablo 2.2) (35, 36).

Tablo 2.2. Pnömonokta virülans faktörleri ve etki mekanizmaları

Pnömonokokal yapı	Etki mekanizması
Kapsüler polisakkarid	Fagozitozu engelleme; Kompleman aktivasyonu
Hücre duvarı polisakkaridi	Sitokin salınımını uyarak ve güçlü kompleman aktivasyonu sağlayarak inflamasyonu stümile eder
Pnömolizin	Sitotoksisite Kompleman ve sitokin aktivasyonu
Pnömonokokkal yüzey proteini A	Bakteri yüzeyindeki kompleman birikimini ve aktivasyonunu engelleme ile fagositoz inhibisyonu
Pnömonokokkal yüzey proteini C	Kompleman bağlayıcı protein H ile fagozitoz inhibisyonu
Pnömonokokkal yüzey adhezin A	Adheransa aracılık eder
Otolizin	Bakterinin parçalanması; komponentlerin serbetleştirilmesi
Nöraminidaz	Muhtemelen adheransa aracılık eder

2.4.1. Adherens, Kolonizasyon ve İnvazyon

Pnömonokok enfeksiyonlarının gelişmesi için birinci basamak bakteriyel yapışma, diğer bir ifadeyle adherenstir. *S. Pneumoniae* platelet aktive edici faktör (PAF) gibi epitel hücre reseptörleri ve kolin bağlayıcı protein, yüzey antijen A gibi bakteriyel yüzey adhezinlerinin özgül etkileşimi ile faringeal hücrelere bağlanır. Pnömonokok, epitelyal hücrelerin yüzeyindeki PAF ile etkileşimin sonucu olarak invaziv hale gelir (37, 38). Epitel hücrelerindeki disakkarit GlcNAc β 1-4Gal veya asrasab-GM glikolipid içeren glikokonjugatlar diğer olası bağlanma bölgeleridir (39, 40). Bu sırada bakteri aynı zamanda hava yolu mukozal savunmasından kaçabilmek için salgısal IgA'ya spesifik proteaz üretir (2).

Pnömonokok enfeksiyonlarından korunmak ve sınırlandırmak için organizmanın en önemli iki savunma mekanizması, hava yolu silier epiteli ve dalaktır. Pnömonokok kolonize olduktan sonra hava yolu siliyer aktivitesinden kaçıp, alt solunum yollarına ulaşması gerekir. Bu evrede *S. pneumoniae'nin* tiyolle aktiflenmiş sitotoksini - pnömolizin- rol oynar. Pnömolizin sitoplazmik bir protein olup, sadece bakterinin lizisiyle açığa çıkar. Konak hücre membranlarına bağlanıp porlar oluşturarak membranı parçalar. Normal bir insanda akciğere ulaşan bakteri genellikle alveolar makrofajlar ve nötrofiller tarafından temizlenir. Alt solunum yolu epitelinin mikrobiyolojik (örneğin viral enfeksiyon), kimyasal (örneğin alkol veya kortikosteroidler) veya mekanik (örneğin aspirasyon veya kalp yetmezliğine sekonder sıvı birikimi) faktörlerle bütünlüğünün bozulması sonucunda pnömoni gelişir. Bakteriyel temizlenmenin gecikmesi mikroorganizmanın çoğalması ve dokuda inflamasyon gelişmesi ile sonuçlanır (20). Akciğerlerde bakterinin temizlenmesini sağlayan bir diğer faktör sürfaktandır. Sürfaktan protein A, bakteri yüzeyindeki karbonhidrat rezidülerini bağlayan lektin benzeri bir bölge ve ayrıca makrofaj üzerindeki reseptörleri bağlayan kollajen benzeri bir bölgeye sahiptir. Bu nedenle etki mekanizması olarak komplemana (C3b) benzer. Sürfaktan proteinleri ayrıca C3b ve antikor aracılı opsonizasyonu da artırır (41).

Pnömonokok enfeksiyonlarının patogeneğinde bakterilerin aşırı inflamatuvar yanıt oluşturması önemli bir rol oynamaktadır. Pnömolizinler komplemanı klasik yoldan aktive ederek inflamatuvar yanıt oluşumuna neden olurlar. Peptidoglikan ve teikoik asit

gibi hücre duvarı komponentleri ise komplemanı alternatif yoldan aktive ederek, interlökin-1 ve tümör nekrozis alfa gibi sitokinlerin salınımına neden olurlar (42). Bu sitokinlerin salınımı sonucunda akciğerlerde ve endotelial hücrelerde hasarlanma oluşur ve bakteri kan dolaşımına geçebilir. Pnömonokokların kan beyin bariyerini geçişi ise bakterinin sitokinler ile hasarlanmış endotelial hücrelerle etkileşimi ile açıklanabilir.

2.4.2. Kapsül ve Fagositozdan Korunma

Pnömonokok polisakkarit kapsülü sayesinde, kan dolaşımına girdiğinde nötrofillerin fagositozunu ve klasik kompleman aracılı bakterisidal aktiviteyi inhibe ederek organizmanın savunma mekanizmalarından korunur (20). İnsanda özellikle antikapsüler antikor yokluğu gibi önceden bağışıklık olmadığında fagositler pnömonokokların yok edilmesinde yetersiz kalır.

Kapsülün fagositozu önleme mekanizmaları: fagositik hücrelerde kapsüler polisakkaritleri tanıyan reseptörlerin yokluğu, fagositik hücrelere engel olan elektrokimyasal bir gücün varlığı, bakteri hücre duvarına tutunan kompleman (C3b) ve antikorun kapsül tarafından maskelenmesi, komplemanın aktive edilememesi şeklinde sıralanabilir.

2.5. Pnömonokok Enfeksiyonların Epidemiyolojisi ve Pnömonokok Serotipleri

Pnömonokokal enfeksiyon, dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün raporuna göre pnömonokok aşılmasının yaygın olarak kullanıma girmesinden önce *S. Pneumoniae* ilişkili enfeksiyonlar her yıl 1,6 milyon kişinin ölüme neden olmuştur ve bu ölümlerin 0.7-1 milyonu 5 yaşından küçük çocuklardır (1). Dünyada 5 yaş altında pnömoniden ölen çocuk sayısı (yenidoğan pnömonileri hariç tutulduğunda) 2000 yılında 1.446.299 (5 yaş altı ölümlerde pnömoni oranı %24) iken 2016 yılında 719.413'e (5 yaş altı ölümlerde pnömoni oranı %24) düşmüştür (157). Global olarak yapılan başka bir çalışmada 2015 yılında pnömonokok enfeksiyonlardan ölen çocukların sayısının 515.000 olduğu bildirilmiştir (158). Bu rakamsal değişimin en önemli nedeni pnömonokok aşılmasının yaygın kullanılmasıdır. Ülkemizde 2000 yılında 5 yaş altında pnömoniden ölen çocuk sayısı (yenidoğan pnömonileri hariç tutulduğunda) 3170 iken (5 yaş altı ölümlerde pnömoni oranı %11); 2016 yılında 519 çocuk pnömoniden ölmüştür (5 yaş altı ölümlerde pnömoni oranı %6)

(157). *S. pneumoniae*, 5 yaş altında görülen toplum kökenli pnömoni, sepsis, bakteriyemi, menenjit gibi invaziv hastalıkların ve bununla birlikte akut otitis media, akut sinüzitin de en sık görülen etkenidir (2). Osteomyelit, septik artrit, endokardit, peritonit, perikardit ve beyin abselerinin de önemli nedenlerindendir.

İnvaziv pnömokok hastalığı (İPH) en sık 5 yaş altı çocuklarda (özellikle iki yaşın altındaki çocuklarda) ve yaşlılık döneminde (65 yaş üzerinde) görülmektedir. ABD'nde 1998 yılında İPH insidansı 12 aydan küçük çocuklarda 100 binde 203 ve 12-24 ay arasında ise 100 binde 165 olarak tahmin edilmiştir. En yüksek insidans 6-11 ay arasındaki çocuklarda saptanmıştır (43).

KPA7'nin 2000 yılında ABD'nde lisans almasıyla beraber İPH insidansında dramatik şekilde azalma görülmüştür. ABD'de 1998-1999 yılları arasında 5 yaş altındaki çocuklarda İPH insidansı 100 binde 88,7'den, 2004'te 22,4'ya düşmüştür (44). Ocak 1990 ile Nisan 2008 arasındaki çalışmaların derlemesinde, Avrupa'da aşı öncesi dönemde çocuklarda İPH insidansı ortalama 31,1/100.000 ve pnömokok menenjit insidansı 7,5/100.000 olarak saptanmıştır. 2 yaş altı çocuklarda KPA7 sonrası İPH insidansı 32,5/100.000'den 23,4/100.000'e gerilediği gösterilmiştir (45). Fransa'da aşı öncesi dönem (1998-2002) ile 2005 senesi karşılaştırıldığında, özellikle 2 yaş altındaki çocuklarda, bakteriyemi insidansında %29 ve menenjitte ise %39 azalma görüldü (46). Almanya'da ise 2 yaş altındaki çocuklarda aşı serotiplerine bağlı İPH vakaları 2008 yılında %50 oranında azalmıştır (47). Bir diğer çalışma derlemesinde, çocuklarda aşı serotiplerini kapsayan İPH insidansında İspanya'da %39,9 (48), ABD'nde %99,1 (49), ortalama %90,1 azalma saptanmıştır (50).

Sağlık Bakanlığı tarafından 2004 yılında yapılan Ulusal Hastalık Yüğü (UHY) çalışmasında 5 yaş altı çocuklarda mortalite ve morbidite sebepleri arasında enfeksiyonların önemli yer tuttuğu saptanmıştır (51). Pnömokok enfeksiyonları ülkemizde de sadece invaziv hastalıklarla değil bunun yanında bakteriyemik olmayan pnömoni ve orta kulak iltihabına yol açarak sağlık sisteminde önemli bir hastalık yükü oluşturmaktadır (52). 2004 yılındaki UHY çalışmasında alt solunum yolu enfeksiyonları Türkiye'de tüm yaş gruplarında ölüme neden olan ilk 20 hastalık arasında %4,2 ile beşinci sıradayken bu oran 14 yaş altı ölümler arasında %14'e

yükselmektedir. 2014 yılı sağlık istatistikleri'ne göre, 2014 yılının son 6 ayında meydana gelen başlıca sağlık sorunları arasında, 0-6 yaş grubundaki üst ve alt (pnömoni vb.) solunum yolu enfeksiyonları oranı sırasıyla, %41,9 ve %10,1 idi (53).

Türkiye'de süveyans çalışmaları yeterli olmadığından, pnömokoka bağlı hastalık yükü ile ilgili toplumun tamamını yansıtan veriler bulunmamaktadır. Ülkemizde geçtiğimiz yıllarda İPH bildirimini etkin bir şekilde yapılmadığından epidemiyolojisi, morbidite ve mortalitesi hakkında bilgiler kısıtlıdır. Diğer ülkelerin verilerine göre yapılan tahmini bir hesaplama pnömokokla ilişkili olarak yılda 2500 bakteriyemi, 250000 pnömoni ve 2500000 kadar otitis media görülebileceği söylenebilir (54).

İstanbul hastanelerinde yapılan bir çalışmaya göre 5 yaş altı pnömokok menenjit insidansı 3-5/100000 olarak tahmin edilmiştir. Bu oran yaklaşık olarak her yıl 550 olguya denk gelmektedir (52). Yine İstanbul hastaneleri retrospektif süveyans çalışmasında 5 yaş ve altında sepsis insidansı 12,5-22,5/100000, 5 yaş üzerinde 0,03/100000 olarak hesaplanmıştır (52). Bu oran yaklaşık her yıl 2300 pnömokok sepsis olgusuna karşılık gelmekte olduğu ve pnömokok sepsisine bağlı olarak her yıl 5 yaş altında yaklaşık 100 çocuğun kaybedildiği hesaplanmıştır (55). Pnömokok enfeksiyonlarının ekonomik yükü hakkında 2017 yayınlanan bir çalışmada 5 yaş altında bakteriyemi hariç pnömokok enfeksiyonları için total maliyet 165 milyon Euro olarak belirtilmiştir (56). Tüm bu veriler birlikte değerlendirildiğinde pnömokok enfeksiyonlarının önemli oranda yaşam yılı ve ekonomik yüke neden olduğu görülmektedir.

Pnömokokların polisakkarit yapıda farklı antijenik özelliklere dayanan 90'dan fazla kapsüler serotipi vardır. Doksanın üzerinde pnömokok serotipi olmasına karşın invaziv hastalıklar bunların 10-15'i ile oluşturulmaktadır ve serotip dağılımı yaşa, coğrafik bölgelere, sosyo-ekonomik duruma göre farklılık göstermektedir. 2005 yılında yapılan bir çalışmaya göre gelişmiş ülkelerde yaygın olarak 14, 6, 19, 18, 23, 9, 1, 7, 4 ve 5 serotipleri ile invaziv hastalık görülmüştür. Avrupa'daki serotipler ABD'nden bazı farklılıklar göstermektedir; 1, 5 ve 6A serotipleri daha sıktır (3). 2010 yılında yayınlanan başka bir çalışmada ise global olarak en fazla görülen serotipler 1, 5, 6A, 6B, 14, 19F, 23F olarak saptanmıştır ve bu serotiplerin Afrika' da 300.000'den fazla,

Asya'da 200.000 ölümden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (57). DSÖ konjuge pnömokok aşılarının kullanılacağı hedef bölgedeki invaziv hastalıklardan izole edilen serotiplerin en az %60'ını aşının kapsamasını ve serotip 1, 5 ve 14'ü içermesini önermektedir (4).

ABD'nde 6 yaşın altında 3884 çocukla yapılan bir çalışmada kan ve BOS'ta en sık izole edilen serotipler KPA7'nin kapsadığı 14, 6B, 19F, 18C, 23F, 4 ve 9V serotipleridir. Bu serotipler aynı zamanda 6 yaşın üzerindeki İPH'larının %50'sini kapsamaktadır (5, 58). Serotip 1 ve 5 ABD'nde sınırlı yüzdede saptansa da Batı Avrupa ülkelerinde ve bazı gelişmekte olan ülkelerde daha sık görülmektedir (59, 60). Türkiye'de yapılan çalışmada en sık saptanan serotipler sırasıyla 19F, 6B, 4, 14, 19A, 3, 23F ve 1 olarak saptanmıştır (61). Yine Türkiye'de 2011 yılında yapılan diğer bir çalışmada, 202 izolatta en sık serotip 19F ve 6B olarak bulunmuştur (62). Kliniğimizde yapılan bir çalışmada ise en sık saptanan serotipler 19F, 23F ve 7 idi (131). İsrail'de yapılan çalışmada ise serotip 1, 5 ve 12F invaziv pnömokok hastalıklarında en sık saptanan serotiplerdir (63). 2006 yılında Batı Avrupa'da İPH insidansı için yapılan çalışmada, 2 yaş altı çocuklarda en sık saptanan serotipler 14, 6 ve 19 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada İPH'dan sorumlu olan serotiplerin %75,32'si (aynı serogruptaki serotipler arasında çapraz reaksiyon olması halinde) KPA7 tarafından kapsandığı gösterilmiştir (64).

ABD'nde KPA7 uygulanması ile İPH insidansında önemli bir azalma görülmüştür. Aşı serotipleri ile ilişkili İPH oranı 100 binde 78,9'dan 2,7'ye gerilerken, aşı dışı serotiplerde 16,3'ten 19,9'a arttığı gösterilmiştir. Aşı dışı serotipler tüm vakaların %17'sini oluştururken bu oranın 2004 yılında %88'e yükseldiği saptanmıştır (10). ABD'nde başka bir çalışmada aşının başlangıç döneminde İPH yol açan serotiplerin %82'si KPA7 kapsarken, 2005 yılında bu oranın %36'ya gerilediği saptanmıştır. Aynı şekilde bu dönem içerisinde 19A'nın tüm izolatlardaki oranı %2,5'tan %36'ya arttığı gösterilmiştir (65). Avrupa'da KPA7 uygulaması sonrası yapılan bir çalışmada İPH'larında en yaygın izole edilen aşı dışı serotipler olan 1, 19A, 3, 6A ve 7F olarak saptanmıştır (45). Yapılan tüm bu çalışmalarda aşı ile önlenebilen serotipler azalırken, aşı dışı serotiplerde özellikle 19A serotipinde artış olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle aşının içerdiği serotiplerin genişletilmesi gündeme gelmiştir.

2.6. Pnömonoklarda Antibiyotik Direnci

Pnömonoklar beta laktam antibiyotiklere duyarlı bakterilerdir. Penisilin birçok pnömonokal enfeksiyonun tedavisinde geleneksel olarak kullanılan ilk seçenek antibiyotiktir. Diğer kullanılan ajanlar geniş spektrumlu sefalosporinler, makrolidler, trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-STX), linkozamid, glikopeptidler, florokinolonlar ve ketolid grubu antibiyotiklerdir (66).

S. pneumoniae'da beta laktamaz enzimi bulunmamaktadır (67, 68). Beta laktamlar antibakteriyel etkinliğini, hücre duvarı sentezinde görev alan ve penisilin bağlayan protein (PBP) olarak bilinen bazı enzimlere (transpeptidaz, karboksipeptidaz ve transglikolaz) bağlanıp bunların çalışmasını engelleyerek gösterir (69).

Penisilin direnci, PBP'lerde oluşan değişikliklerle ilişkilidir. Bu değişiklikler PBP'yi kodlayan genlerdeki kromozomal mutasyonlar oluşması ya da dirençli olan farklı bir bakteri aracılığıyla mozaik gen gelişmesi ile meydana gelir. Bunun sonucunda affinitesi azalan ya da affinitesi düşük yeni PBP'ler oluşur. Dirençli suşlar resistansın derecesine göre değişen azalmış penisilin affinitesine sahip PBP içerirler (2).

PBP 1A, PBP 1B, PBP 2A, PBP 2B, PBP 2X ve PBP 3 olmak üzere dirençten sorumlu olan 6 adet penisilin bağlayan protein tanımlanmıştır. Penisilin direnci PBP 2B'deki, üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç ise PBP 1A ve PBP 2X'deki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Penisiline düşük düzeyde dirençten PBP 2B, yüksek düzeyde dirençten PBP 2X sorumludur (2).

İlk dirençli klinik izolat 1965 yılında Boston kentinde saptanmıştır. Bu bildiride 200 pnömonokok izolatı içerisinde penisilin MİK değeri 0,1-0,2 µg/ml olan iki suş bulunmuş ancak direncin önemine dikkat çekilmemiştir (70). Hansman ve arkadaşları 1967 yılında penisilin direnci olan ilk olguyu sunmuş ve direncin önemine dikkat çekmiştir. Penisilin MİK değeri 0,6 µg/ml olan ilk suş Avustralya'da, uzun süreli antibiyotik tedavisi alan hipogamaglobulinemili bir hastanın balgamından izole edilmiştir (71). Antibiyotiklere çoklu direnç gösteren ilk pnömonokok Jacops ve arkadaşları tarafından Güney Afrika'dan bildirilmiştir (72). İlk bildirinin ardından direnç sıklığının giderek arttığı saptanmıştır (73).

Dünya çapında, çoğu antibiyotiğe dirençli enfeksiyon, KPA7 aşısının içerdiği serotiplerin beşinden (6B, 9V, 14, 19F ve 23F) kaynaklanmaktadır (74). 1998'de, ABD'de invaziv pnömokok izolatlarının, %24'ü penisilinlere dirençli ve bu dirençli suşların %78'ini bu beş serotip oluşturmuştur (75). Yapılan bir tahmine göre ise konjuge pnömokok aşısı yokluğunda, penisiline duyarlı olmayan pnömokok suşlarının 2004 yılında %41'e ulaşabileceği hesaplanmıştır (76). Bu yüzden aşılama programı ile invaziv pnömokok hastalığının sıklığında ve dirençli suşların oranında azalma olacağı öngörülmüştür. Amerika'da yapılan bir çalışmada beş yaşın altındaki çocuklarda penisilin dirençli İPH oranları, 1996-1999 yılları arasında 100.000'de 25,9 ile 33,8 arasında değişirken, 2004 yılında 100.000'de 7,5'e düşmüştür. Antibiyotik dirençli enfeksiyon oranı en yüksek 2 yaş altında görülmüştür. Bu yaş grubunda, penisilin dirençli pnömokokların neden olduğu İPH oranı 1999'da 100.000'de 70,3 iken 2004'te 13,1'e azalmış ve %81 oranında düşüş görülmüştür (6).

ABD'nde, *S. pneumoniae* bağlı santral sinir sistemi (SSS) dışı enfeksiyonların oral penisilin tedavisinde %17 orta direnç ve %17 tam direnç saptanmıştır (75, 77). Parenteral penisilin tedavisinde ise %5 orta ve %2 tam direnç saptanmıştır (77). Menenjitli hastaların %35'inde penisilin direnci gözlenmiştir. Seftriakson için, SSS dışı enfeksiyonlarda %2 orta ve %1 tam direnç; SSS enfeksiyonları için %7 orta ve %3 tam direnç saptanmıştır (11). Dokuz Avrupa ülkesinde yapılan 15 çalışmanın derlemesinde İspanya'da yüksek penisilin direnci oranlarına (%49) dikkat çekilirken, antibiyotik kullanımı konusunda kısıtlayıcı bir politikaya sahip ülkeler- örneğin, Danimarka ve İsveç- düşük oranlar bildirmiştir (64). Antibiyotik kullanımının kontrolünün yeterli olmadığı Hong Kong, Kore ve Tayland'da direnç oranları daha da yüksektir (78).

Ülkemizde penisiline dirençli ilk pnömokoklar Tunçkanat ve arkadaşları tarafından 1992 yılında bildirilmiştir. Metisilin ile yapılan disk diffüzyon testinde çocuklarda orta direnç %45,8, yüksek direnç %33,4 oranında saptanırken agar dilüsyon yöntemiyle bu oranlar sırasıyla %33,4 ve %20,8 olarak bulunmuştur (79). Bu ilk çalışmadan sonra 1990-2000 yılları arasında yapılan çalışmalarda penisilin direnç oranı en düşük %9,7 ve en yüksek %54,1 saptanmıştır (79, 80). Yalçın ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, 2001-2004 yılları arasında saptanan 93 invaziv izolatın %39'unun duyarlı olmadığı bulunmuştur (61). 2011 yılında yapılan bir başka çalışmada ise 202 invaziv

izolatın %33,7'sinin penisiline duyarlı olmadığı saptanmıştır (62). Kliniğimizde 2013 yılında yapılan bir çalışmada 30 invaziv izolatın penisilin direnç oranı %42,4 olarak bulunmuştur (109).

S. pneumoniae'nin duyarlılığın test edilmesi için disk diffüzyonu, agar dilüsyon, broth dilüsyon, E testi ve ticari mikrodilüsyon sistemleri gibi çeşitli standardize yöntemler bulunmaktadır. Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) 2013 kriterlerine göre Penisilin ve seftriakson MİK değerleri Tablo 2.3'te belirtilmiştir (81).

Tablo 2.3. Pnömonokok izolatlarının CLSI 2013'e göre penisilin ve sefalosporin (seftriakson/sefotaksim) duyarlılığı

İlaç Kullanım Şekli ve Amacı	Duyarlı MİK, µgr/ml	Orta Düzeyde Dirençli MİK, µgr/ml	Dirençli MİK, µgr/ml
Penisilin (Oral)	≤0,06	0,12-1.0	≥2.0
Penisilin (İV)			
<i>Nonmeningeal</i>	≤2.0	4.0	≥8.0
<i>Meningeal</i>	≤0,06	---	≥0,12
Seftriakson/Sefotaksim			
<i>Nonmeningeal</i>	≤1.0	2.0	≥4.0
<i>Meningeal</i>	≤0,5	1.0	≥2.0

Penisiline dirençli pnömokok suşlarının çoğu diğer antibiyotiklere karşıda dirençlidir. Penisilin direnci, sefalosporin direnci ile doğrudan ilişkilidir. Penisiline göre seftriakson veya sefotaksim dirençli suşlar daha nadirdir (82). Meningeal enfeksiyonlarda, penisilin, seftriakson veya sefotaksim direnci olan suşların tedavisine vankomisin veya rifampin eklenmesi önerilmektedir (2).

Penisilin direncindeki artış pnömokoklarda giderek daha yaygın kullanılmaya başlanan diğer antibiyotiklere direnç geliştirme olasılığını artırmıştır (83). ABD'nde, tüm pnömokokların yaklaşık %25'inde makrolid, %10'unda klindamisin, %30'unda

trimetoprim-sulfometoksazol, %18'inde doksisisiklin ve %2'sinde kinolon direnci saptanmıştır (84).

Pnömonokların neden olduğu hastalıklar için etkili antibiyotik tedavisi olmasına karşın, antibiyotik dirençli suşların gelişmesi bu tedaviyi güçleştirmektedir. 2000 yılında KPA7'nin aşı programına girmesinden sonra 21. Yüzyılın ilk 10 yılında antibiyotik direnci gerilemiştir. Ancak penisiline dirençli 19A serotipinde ise %2'den %35'e yükselme gözlenmiştir (6). ABD'nde 5 yaşından küçük olan çocuklarda penisiline dirençli 19A izolatlarının oranı aşı öncesi %10 iken 2004'te %31'e yükselmiştir. Serogrup 15'te de aşı öncesi direnç görülmezken 2004'te %6'ya yükselmiştir (10). KPA7 aşı uygulamasıyla aşı serotiplerine bağlı enfeksiyon sıklığının azalmasıyla ilişkili olarak toplum genelinde antibiyotik direnç oranının azaldığı saptanırken, aşı dışı serotiplerin antibiyotik direnç oranının arttığı görülmüştür (16). Bu nedenle aşının içerdiği serotipler genişletilmiş, 2010 yılında ABD'nde 13-değerlikli konjuge pnömokok aşısı (KPA13) lisans almıştır. KPA13: 13 pnömokok serotipini (1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 23F) içerir (85). Türkiye'de Nisan 2011 tarihinden sonra KPA13 Ulusal Aşı Takviminin bir parçası olarak uygulanmaya başlanmıştır.

2.7. KPA7 Sonrası Pnömonokok Enfeksiyonu Epidemiyolojisinde, Pnömonokok Serotiplerinde ve Antibiyotik Direncinde Görülen Değişiklikler

Pnömonokok enfeksiyonlarının sıklığı ve ciddi hastalık tablolarına yol açması ve potansiyel antibiyotik direnç durumu aşı çalışmalarını başlatmıştır. Bu çalışmalar sonucunda ilk kez 1977 yılında ABD'nde polisakkarit aşı lisans almıştır. Günümüzde kapsüller polisakkarit antijenlerin saflaştırılması ile oluşturulan 23 değerlikli polisakkarit pnömokok aşısı kullanılmaktadır (20). Polisakkarit aşının etki mekanizması humoral immün yanıt üzerindendir. Ancak T bağımsız antijenlere karşı immün sistem yanıtı ikinci yaştan sonra gelişir. Bu nedenle polisakkarit aşılar bebek ve küçük çocuklarda koruyucu immün sistem yanıtını oluşturamaz. Bu aşının diğer dezavantajları, mukozal immüniteyi indüklememesi ve taşıyıcılık oranlarını etkilememesi ayrıca aşının hafıza hücre yanıtı da bulunmaması nedeniyle kısa süreli immün yanıt oluşturmaktadır. Bu nedenle bu aşının risk gruplarında tekrarlanması gerekmektedir. Polisakkaritler ile proteinlerin konjugasyonu T helper hücre yanıtını uyarır, infantlarda önemli bir immün yanıt oluşumunu sağlar ve aynı serotipe tekrar maruz kalındığında güçlendirilmiş

cevap gelişir. Bu yüzden 2 yaş altındaki çocuklarda pnömokok aşısının immün cevabını artırmak için kapsüler polisakkaritlere toksik olmayan difteri toksoid proteini olan CRM197 eklenerek konjuge aşı (Prevenar 7 ve Prevenar 13) geliştirildi. Bir başka üretici firma ise taşıyıcı protein olarak NTHi protein D (Non-Typeable Haemophilus Influenza Protein D), tetanoz toksoidi taşıyıcı proteini ve difteri toksoidi taşıyıcı proteinini kullanmıştır (Synflorix).

Yedi bileşenli konjuge pnömokok aşısı, ABD’nde 2000 yılında lisans aldı. Aşı 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F ve 23F serotiplerinin polisakkaritleri ile difteri proteini olan CRM197’yi içermektedir. Bu serotipler ABD’nde 1978-1994 yılları arasında 6 yaşın altındaki çocuklarda bakteriyemilerin %86’sından, menenjitlerin %83’ünden ve AOM’nın %65’inden sorumludur (5). Aşının etkinliği konusunda yapılan ilk çalışmalardan biri Kaliforniya’da sağlıklı çocuklar arasında yapılmıştır, buna göre tam aşılanmış grupta aşı serotiplerinin neden olduğu İPH’na karşı KPA7’nin etkinliği %97,4’tür (86). Finlandiya’da aşının AOM üzerine etkinliğini araştırılmış, AOM nedeniyle yapılan hastane başvurularının %15 oranında azaldığı saptanmıştır (87). KPA7 uygulaması sonrasındaki izlemde İPH epidemiyolojisinde önemli değişiklikler gerçekleşmiştir. Pnömoni, menenjit, AOM ve penisilin dirençli pnömokok insidansında düşüş görülmüştür (6, 7, 8). CDC raporuna göre ABD’de 5 yaşın altındaki çocuklarda İPH’na neden olan tüm serotiplerin insidansında %77, aşı serotipleri ile oluşan İPH insidansında %98 oranında azalma saptanmıştır (9).

Pnömokok aşılamaında önemli problemlerden biri aşı ile önlenebilen serotipler azalırken, aşı dışı serotiplerin bunların yerini alma ihtimalidir. Nitekim KPA7’nin rutin uygulamaya girmesinden sonra izlemde aşı dışı serotiplere bağlı İPH sıklığında artış görülmüştür. CDC raporuna göre İPH izleminde, 1997-1998’de %17 olan KPA7 dışı serotiplerin 2006-2007 yılları arasında %98’e artığı görülmüştür. 2007 yılında ABD’de 5 yaşın altındaki İPH’lı çocuklarda saptanan en sık serotipler 3, 15B/C, 19A, 22F ve 33F’di (10, 11, 12, 13). ABD’de birçok bölgede yapılan çalışmalarda İPH’nın en yaygın nedeni olarak 19A bulunmuştur. Sekiz çocuk hastanesinde retrospektif yapılan İPH çalışmasında, KPA7 dışı serotiplerde önemli artış izlenmiştir. 2007-2008’de 19A İPH izolatlarının %46’sında saptanmıştır. Serotip 1, 3 ve 7F toplamda %22’nden sorumlu olduğu görülmüştür (14). ABD’nde 2001-2007 yılları arasında yapılan başka bir

çalışmada, İPH neden olan serotiplerin %85'nin KPA7 dışı serotipler olduğu ve en yaygın olarak 19A 'nın (%28) görüldüğü bildirilmiştir (15).

Aşı kapsamının %80-90 olan Avrupa ülkelerindeki son izleme verileri, KPA7 serotiplerinin küçük çocuklarda İPH izolatlarından neredeyse tamamen kaybolduğu görülmüştür. Ancak bu veriler KPA7 dışı serotipler olan 1, 3, 6A, 6C, 7F ve 19A'nın arttığını göstermiştir (88). İngiltere'de KPA7 rutin kullanımı sonrasında yapılan çalışmada 2 yaş altında aşı serotiplerinin insidansının %98 oranında azaldığını saptanırken, aşı dışı serotiplerin %68 oranında arttığı görülmüştür. Bu çalışmada izole edilen aşı dışı serotipler yaygın olarak 7F, 19A, 22F idi (89). Benzer şekilde İspanya'da aşı uygulaması sonrası KPA7 serotiplerine bağlı enfeksiyonlarda azalmaya karşılık serotip 19A ve 7F ile enfeksiyonların arttığı ve tüm serotiplere bağlı İPH insidansında toplamda önemli bir değişiklik olmadığı saptanmıştır (90). Tayvan'da aşılama sonrası serotip 19A oranı %0,5'ten %11,5'e yükselmiştir (91). Hong Kong'da 19A serotipleri aşı öncesi görülmezken yaygın aşılama sonrası %12,9'a yükselmiştir (92). Bunun aksine ülkemizde yapılan çalışmalarda 19A serotipi ile ilişkili İPH nadir olarak görülmüştür (61,131,159). Örneğin kliniğimizde yapılan bir çalışmada sadece bir 1 hastada 19A izole edilmiş ve KPA7 uygulamasından sonrasında artış görülmemiştir (131).

Amerika Birleşik Devletleri'nde, 19A serotipinin neden olduğu İPH insidansı KPA7'nin rutin aşı takvimine girmesinden sonra artmıştır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, 19A serotipi ile antimikrobiyal direnç arasındaki önemli ilişki gösterilmiş ve 19A serotipine ve 19A izolatları arasında antibiyotik direncine bağlı olarak artan İPH oranlarının yeni klonal serotip 19A tiplerinden kaynaklandığını göstermiştir (93). 19A serotipi, KPA7'deki 19F serotipi ile aynı serogrupun bir üyesi olmasına rağmen, KPA7 ile indüklenen antikorlar, 19A serotipine karşı çapraz koruma sağlamamaktadır. KPA7'nin kullanımından bu yana 19A serotipinin ortaya çıkmasıyla ilgili üç görüş öne sürülmüştür. Birincisi, önceden var olan bir tek serotip 19A klonunun genişlemesi, bu klonun diğer 19A serotip klonlarına göre bir avantaja sahip olmasıdır. İkinci olarak, birden fazla yeni serotip 19A klonunun popülasyona girmiş olma olasılığıdır. Üçüncüsü, daha önce başka serotiplerle ilişkilendirilen başarılı klonlar, 19A serotipine rekombinasyonel bir geçiş yapmış olabilir (65).

KPA7 sonrası pnömokoklara bağı gizli bakteriyemi sıklığında azalma izlenmiştir. Bakteriyemi, 36 aydan küçük ateşli çocukların <%1'inde saptanmıştır (94, 95). Bununla birlikte yine aşı sonrasında pnömokoklara bağı pnömonilerde de önemli düşüşler olmuştur. İki yaşı altındaki çocuklarda pnömoniye bağı hastane yatışı %33 azalmıştır (8). Bununla birlikte, 2 yaş altındaki tüm pnömonilerde ise %43'lük bir düşüş saptanmıştır (96). Benzer şekilde CDC'den elde edilen verilere göre, 5 yaş altı çocuklarda pnömokokal menenjit insidansı 1996-1998 yılları arasında 100.000'de 4.7 iken, 2006- 2007 yılları arasında 1.7'ye düşmüştür. Bu düşüş temel olarak KPA7 ilişkili serotiplerin neden olduğu menenjitlerdeki azalmanın bir sonucudur. Ancak aynı zaman periyodunda KPA7 dışı serotiplerin neden olduğu menenjitlerin %78 oranında arttığı görülmüştür (12).

KPA7 döneminde ABD ve Avrupa'daki birçok bölge pnömokok ilişkili ampiyemde önemli artışlar bildirmiştir (97, 98, 99). ABD'de pnömokoka bağı ampiyemde 18 yaş altı hastalarda %70 artış görülmüştür ve en fazla artış 5 yaş altı çocuklarda olmuştur (100). Benzer şekilde komplike pnömoni ile hastaneye yatışlarda iki kat artış olduğunu belirtilmiştir (101). ABD'de yapılan bir çalışmada komplike pnömoniye neden olan serotiplerin esas olarak 1, 7F, 19A ve 3 olduğu görülmüştür (102). İspanya'da İPH olan çocuklar arasında yapılan bir çalışmada, serotip 1 'in %29,6 ampiyeme neden olduğu görülmüştür (103). Türkiye'de 2010-2012 yılları arasında ampiyemli çocuklarda yapılan bir çalışmada KPA7 dışı serotiplerden 1, 5, 3 saptanmıştır (104). Dünyadaki diğer bölgelere bakıldığında, Tayvan'da, Kore'de ve Avustralya'da pnömokoka bağı ampiyemlerde en yaygın serotipin 19A olduğu saptanmıştır (105, 106, 107). Bunun dışında yapılan pek çok çalışmada Serotip 19 ve 3'e bağı nekrotizan pnömonide, serotip 3 ve 8'e bağı bakteriyemide ve çoklu antibiyotik direnci olan 19A'ya bağı dirençli AOM ve mastoiditte artış görülmüştür. Bu incelemeler değerlendirildiğinde yeni konjuge pnömokok aşısının kapsamı gereken serotipler konusunda bilgi elde edilmiştir (108).

ABD'nde KPA7 sonrasında özellikle 2 yaş altında penisiline dirençli pnömokoklar %81 oranında azalmıştır. Ancak penisiline dirençli 19A serotipinde ise %2'den %35'e yükselme gözlenmiştir (6). Avrupa'da KPA7 uygulaması sonrası yapılan dört çalışmanın derlemesine göre 5 yaş altı çocuklarda ortalama penisilin direncinin %48'

den %29'a düştüğü, sefalosporin direncinin ise %10 oranında azaldığı bildirilmiştir. İspanya'da ve KPA7'nin rutin olarak uygulanmadığı Portekiz'de de penisilin direnç oranında düşme görülmüştür (45). ABD'nde 5 yaşından küçük olan çocuklarda penisiline dirençli 19A izolatlarının oranı aşı öncesi %10 iken 2004'te %31'e yükselmiştir. Serogrup 15'te de aşı öncesi direnç görülmezken 2004'te %6'ya yükselmiştir (10). Ülkemizde yapılan çalışmada, 2001-2004 yılları arasında saptanan 93 invaziv izolatın %39'unun duyarlı olmadığı bulunmuştur (61). 2011 yılında yapılan bir başka çalışmada ise 202 invaziv izolatın %33,7'sinin penisiline duyarlı olmadığı saptanmıştır (62). Kliniğimizde 2013 yılında yapılan bir çalışmada, aşılama sonrasında invaziv pnömokok hastalığının sıklığında anlamlı bir azalma saptanmıştır. KPA7 ile tam aşılanmış olan hastalarda aşı içeriğinde var olan serotiplerin neden olduğu İPH görülmemiştir. Ancak KPA7 döneminde İPH'nda izole edilen serotiplerin %81,8'i KPA13 tarafından kapsandığı belirtilmiştir. Penisilin direncinin aşı dışı serotiplerde, aşı serotiplerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır. KPA7 döneminde penisilin direnci %54,5 olarak belirtilmiştir. Penisilin direnci olan izolatlar içerisinde en sık 19F ve 23F serotipleri görülmüştür (109).

2.8. KPA13 Sonrası Pnömonokok Enfeksiyonu Epidemiyolojisinde, Pnömonokok Serotiplerinde ve Antibiyotik Direncinde Görülen Değişiklikler

İPH etkeni serotiplerin dağılımındaki değişimler ve 19A serotipi başta olmak üzere KPA7-dışı serotiplerin ön plana çıkması KPA7'den daha geniş bir serotip kapsamı gösteren bir aşının gereksinimi ortaya koymuştur. ABD'de KPA13'ün lisans almasından önce çocuklarda İPH vakalarının %95' den fazlası KPA7'nin kapsamadığı serotiplerden, özellikle de 19A, 7F, 3 ve 1 serotiplerinden kaynaklandığı görülmüştür (110).

2010 yılında ABD'de KPA13 6 hafta-71 aylık çocuklarda kullanımı için lisans aldı. KPA13, KPA7 içinde bulunan yedi serotipe (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F) ilave olarak altı serotip daha içermektedir (1, 3, 5, 6A, 7F, 19A) ve KPA7 gibi toksik olmayan difteri toksoid proteini CRM197 ile konjuge edilmiştir. Aşının lisans almasından önce yapılan çalışmalarda KPA7 kadar immünojenik olduğu, KPA13'e özgü serotipler için karşılaştırılabilir düzeyde antikor meydana getirdiği gösterildi (111,112). Bu nedenle aşılama şemasının herhangi bir yerinden KPA13'e geçiş yapılabilir (113). KPA7'den

KPA13'e geçiş için Amerikan Pediatri Akademisi (AAP) nerileri řu şekildedir, KPA13 2-59 aylık tüm çocuklara ve İPH riskini artıran altta yatan nedeni olan 60-71 aylık çocuklara uygulanır, KPA7'nin dört dozu tamamlamış çocuklarda 14-59 aylık olanlara tek doz KPA13 nerilir (114).

ABD'de KPA13 kullanımından 3 yıl sonra yapılan bir çalışmada 19A ve 7F serotiplerinin neden olduğu İPH'da azalma olduğu ancak serotip 3 ile enfeksiyonda önemli bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (115). Yine ABD'de New York'ta yapılan bir çalışmaya göre KPA13 sonrası 5 yaş altı ocuklarda İPH insidansı %69 oranında azalmıştır. Bunların %82'sinin KPA13 içerdiği serotipler olduğu ve özellikle 19A serotipinde %80 oranında azalma tahmin edilmektedir (116). Benzer sonuçlar Alaska'dan da elde edilmiştir, KPA13 sonrası tüm İPH %56, KPA13 ilişkili İPH'da ise %84 oranında düşüş görülmüştür. Özellikle 19A, 7F ve 3 serotiplerinde azalma olmuştur. Ancak buna rağmen pnömokokal menenjit insidansında değişiklik görülmemiştir (117,118). Penisilin duyarlılık oranları benzer iken seftriakson direnci %13'ten %3'e gerilemiştir (119). Amerika'da Texas'da yapılan bir çalışmada ise aşı öncesi dönem ile KPA13 uygulaması sonrasındaki dönem karşılaştırıldığında pnömokokal menenjitlerdeki penisilin direncinde önemli bir azalma grldğu bildirilmiştir (120).

Avrupa lkelerinde de KPA13 sonrasında İPH insidansı, serotip dağılımı ve antimikrobiyal duyarlılık konusunda olumlu sonuçlar alınmıştır. İngiltere'de KPA7 ncesi ve KPA13 ncesi döneme göre tüm yaş gruplarında genel İPH görülme sıklığı sırasıyla %56 ve %32 azalmıştır. Ancak 5 yaş altındaki ocuklarda KPA13 dışı serotiplere bağlı İPH arttığına dair kanıtlar mevcuttur ve bu serotipler 8, 15A, 15B / C, 22F, 23B ve 24F'dir (121). Yine İngiltere'de yapılan 17 yıllık bir surveyans çalışmasında, 2016-2017 yıllarında görülen İPH'larının %40'tan daha fazlasında KPA13'n içermediği serotipler olan 8, 22F, 9N'in sorumlu olduğu bildirilmiştir (122).

Norveç'te yapılan bir çalışmada KPA13 sonrasında 7F ve 19A insidansında azalma saptanmış, ancak KPA13 dışı bir serotip olan 22F insidansı yüksek kalmıştır, ayrıca KPA13'n kapsamadığı serotiplerden 9N, 10A, 23A ve 33F'de artış görülmüştür. (123) Danimarka'da KPA13 sonrasında 2 yaş altı çocuklardaki İPH insidansı %71 azalmıştır

ve bunların %84'ü KPA13 ilişkili serotiplerdir. Ancak diğer yandan İPH %80'i KPA13 dışı serotiplere bağlı gelişmeye başlamıştır (124). Almanya'da buna benzer şekilde KPA13 dışı serotipler aşı öncesi dönemde %15,6 oranında iken aşı sonrasında %59,2'ye yükselmiştir. Almanya'da çocuklarda en çok artış gösteren KPA13 dışı serotipler 10A,12F, 23B, 24F, 38 idi (125). Fransa'da 2 yaş altındaki pnömokokal menenjitlerde KPA7 ilişkili vakalarda %90,6, KPA13'e bağlı olanlardaysa %67 azalma görülmüştür. KPA13 dışı serotiplerin oranı değişmedi ancak, bunların %67'sini 12F ve 24F serotipleri oluşturmuştur. Bu dönemde izolatların %39,5'u penisilin dirençli iken %88 sefotaksim/seftriakson duyarlı olduğu saptanmıştır (126,127).

İsrail'de KPA13'ün etkinliğini araştırma amacıyla Temmuz 2004 – Haziran 2013' de yapılan bir prospektif çalışmada KPA13'ün kapsadığı 5 serotiple (1, 3, 5, 7F, 19A) ilişkili 5 yaş altındaki İPH insidansında %70 oranında azalma saptanırken, İPH'a neden olan tüm serotiplerin insidansında total %63 oranında azalma bildirilmiştir. Ancak bununla birlikte KPA13 uygulaması sonrası aşı dışı serotiplerin neden olduğu İPH'da iki kat artış görülmüş, en yaygın olarak artış gösteren aşı dışı serotiplerin 12F, 15B/C ve 33F olduğu saptanmıştır (128). İlerleyen dönemde yine İsrail'de yapılan bir çalışmaya göre KPA13 uygulaması sonrasındaki pnömokokal menenjit insidansında anlamlı olmamakla birlikte %17 oranında azalma görülmüştür. Bu çalışmada KPA13 öncesi ve sonrası döneme karşılaştırıldığında penisilin dirençli izolat oranında %83 oranında azalma olduğu, 2010 yılından itibaren seftriakson dirençli izolat görülmediği bildirilmiştir (129).

Japonya'da 2010-2017 yılları arasında yapılan bir çalışmada çocuklarda KPA13 uygulaması sonrası aşı serotiplerinin neden olduğu İPH oranı %89'dan %12,1'e gerilediği görülmüştür. Aynı zamanda penisilin dirençli izolat oranlarında da azalma olmuştur. Ancak diğer ülkelerle benzer şekilde aşı dışı serotiplerin neden olduğu İPH oranında artış saptanmıştır. En sık saptanan aşı dışı serotipler 10A, 12F, 15A, 15B, 15C, 22F, 24F, 33F ve 35B'dir. Aynı zamanda bu serotiplerde 15A ve 35B haricinde penisilin direnci olduğu görülmüştür (130).

Ülkemizde çocuklarda İPH serotip dağılımı ve antibiyotik duyarlılığı konusunda çalışmalar yeterli değildir. KPA'ların uygulanmasından önce, 2001-2004 yılları

arasında yapılan bir çalışmada KPA7, KPA10 ve KPA13'ün serotip kapsama oranlarının sırasıyla %52, %74 ve %81 olduğunu bildirilmiştir. İzolatların %39 penisiline ve %14'ü seftriaksona duyarlı değildi (61). Sonrasında çocuklarda pnömokokal menenjit ile ilgili yapılan diğer iki çalışmada da benzer sonuçlar gösterilmiş ve en sık rastlanan serotipler, 1, 5, 6A/B, 19F ve 23F olmuştur. Kliniğimizde yapılan bir çalışmada KPA7 serotipleri ve KPA13 serotipleri, sırasıyla izolatların %27,8'ini ve %63,8'ini oluşturuyordu. KPA13 serotipleri, aşı öncesi dönemde İPH vakalarının %81,8'ini oluşturmuş ve KPA13 uygulanmasından sonraki 4 yıl içinde %56'ya düşmüştür. Bu çalışmadan elde edilen verilere göre penisilin direnç oranı (oral uygulama ve menenjit için parenteral uygulama) %48,5, menenjit dışı parenteral uygulama için penisilin direnç oranı %3,3'tür. Menenjit olan hastalarda seftriakson direnç oranları sırasıyla %9,1 olarak bulunmuştur (131).

KPA7 döneminde ABD ve Avrupa'daki birçok bölgede pnömokok ilişkili ampiyemde önemli artışlar bildirilmiştir (97, 98, 99). Amerika'da yapılan bir çalışmada KPA7 sonrası ampiyem oranı 100.000'de 3,6, KPA13 sonrası ise 100.000'de 2 olarak saptanmıştır. KPA13 sonrası en düşük ampiyem oranı 2 yaş altında görülürken, 2-4 yaş ile 5-17 yaş arasındaki oranlarda belirgin bir değişiklik olmamıştır (132). Benzer şekilde İskoçya ve İngiltere'de KPA13 sonrası ampiyem nedeniyle hastane başvurularında sırasıyla 0,78 ve 0,58 oranında bir azalma bildirilmiştir (134,135). Ancak ülkemizde KPA13 sonrası pnömokok ilişkili ampiyemlerin sıklığı ve serotip dağılımı ile ilgili çalışma henüz bulunmamaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Ekim 2009 ile Ekim 2019 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (AÜTF) Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, AÜTF Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, AÜTF Cebeci Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarı ve Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji Referans Merkez Laboratuvarı'nda retrospektif bir çalışma olarak yürütüldü.

3.1. Çalışmanın Hazırlık Aşamaları ve Çalışma Süresi

AÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Akademik Kurulu'nda 05 Haziran 2018 tarihinde gerekli onay alındı. 13 Mayıs 2019 tarihinde de çalışma için gerekli olan etik kurul onayı AÜTF Klinik Araştırmalar Değerlendirme Kurulu'ndan alındı. Çalışma 12 Kasım 2019 tarihinde tamamlandı.

3.2. Çalışmaya Alınan Çocukların Özellikleri

Çalışmaya 2009-2019 yılları arasında AÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genel Pediatri Polikliniği ve Acil Polikliniğine başvuran 0-18 yaş arasındaki çocuklardan İPH olanlar (menenjit, bakteriyemi, sepsis ve steril bölge kültürlerinde üreme olan hastalar) alınacaktır. Pnömoni ilişkili bakteriyemi ve ampiyem olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmaya alınan çocuklar yaşlarına göre 2 yaşından küçük olanlar, 2-5 yaş arası olanlar ve 5-18 yaş arası olanlar olmak üzere 3 gruba ayrılacaktır. Ayrıca konjuge pnömokok aşısı ile aşılanma durumuna göre tam aşı (≥3 doz), parsiyel aşı (1 veya 2 doz) ve aşısız (0 doz) gruplar oluşturulacaktır. KPA7 ve KPA13 aşılama dönemine göre de 2 grup olarak değerlendirilecektir. Hastalığın sıklığındaki değişim AÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genel Pediatri Polikliniği ve Acil Polikliniği'ne başvuran hasta sayısına göre belirlenecektir.

3.3. Örneklerin Alınması ve Transferi

İnvaziv pnömokok enfeksiyonu saptanan ve steril vücut sıvı (kan, bos, abse materyali, doku örneği, periton sıvısı v.b.) kültürlerinde üreme olan hastalardan elde edilen pnömokok izolatları AÜTF Cebeci Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan alınmış serotiplerinin belirlenmesi amacıyla T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel

Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Antibiyotik duyarlılık testleri AÜTF Cebeci Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

3.4. Kültürlerde *S. Pneumoniae*'nin İdentifikasyonu

AÜTF Cebeci Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na ulaştırılan steril vücut sıvısı (kan, bos, abse materyali, doku örneği, periton sıvısı v.b.) kültüründe üreyen şüpheli pnömokok kolonilerinin; gram morfolojik özellikleri, katalaz aktivitesi (Şekil 3.1), optokin duyarlılığı (5 µg ethylhydrocupreine içeren 6mm çaplı disk) (Şekil 3.2) ve safrada çözünme yeteneği araştırıldı (135). Optokin duyarlılık testi 14 mm ve üzeri olanlar duyarlı kabul edildi. Ayrıca optokin duyarlılık testi 12 ya da 13 mm olması halinde Becton Dickinson Phoenix otomatize bakteri tiplendirme sistemiyle pnömokok olup olmadığı kontrol edildi.



Şekil 3.1. Katalaz aktivitesi
(Köpüklenme katalaz pozitif olduğunu gösterir)



Şekil 3.2. Optakin duyarlılık testi
(Sağ tarafta optakine duyarlı *S. pneumoniae*, solda optakine dirençli *S. mitis*)

3.5. İzolatların Kapsüler Serotiplendirilmesi

Pnömonokok izolatları, daha önceden Sorensen ve arkadaşları tarafından tanımlanmış olan Quellung reaksiyonu ile serotiplendirildi (136). Serotiplendirme işlemi spesifik antiserumlar (Statens Serum Institute, Danimarka) kullanılarak yapıldı. Bunun için serotiplendirilecek izolat, koyun kanlı agara pasajlandı, mikraerofilik ortamda, 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Takiben 0.5 ml %0,85'lik NaCl içeren steril cam tüpte; McFarland 1 yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlandı. Temiz bir mikroskop lamına 3 mikrolitre pnömokokkal havuz antiserumu, 3 mikrolitre bakteri süspansiyonu ve üç mikrolitre %0,3'lük metilen mavisi ilave edilip karıştırıldı. Lamın üzerine temiz bir lamel kapatılıp immersion yağı damlatıldı. Oda ısısında 5 dakikalık inkübasyonu takiben ışık mikroskopunda immersion objektifi ile incelendi. Koyu zeminli bakteriyi çevreleyen şeffaf bir bölge (kapsül şişme reaksiyonu) varsa test pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 3.3). Serotiplendirme işlemine sırayla pnömokokkal grup, tip ve

faktör antiserumları kullanılarak devam edildi (135). Sadece bir hastada PCR yöntemi ile serotiplendirme yapıldı.

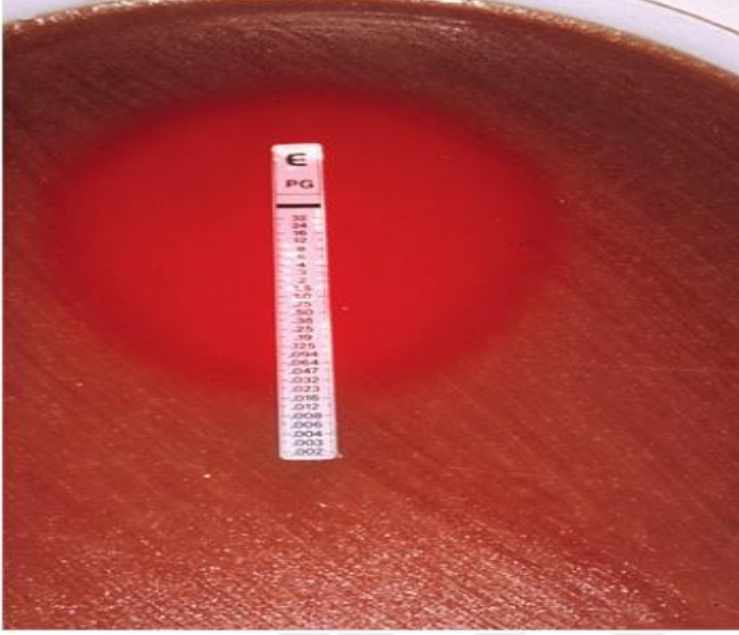


Şekil 3.3. Kapsül Şişme Reaksiyonu

3.6. Elde Edilen Pnömonokok Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

İzolatların antibiyotik duyarlılığının araştırılmasında E-test (bioMerieux, France) yöntemi uygulandı. CLSI kriterleri temel alınarak penisilin G ve seftriakson karşı oluşan MİK değerleri saptandı (Şekil 3.4). Bunun için öncelikle E-test stripleri (bioMerieux, France) oda ısısına getirildi. İnokulum yapılacak %5 koyun kanı içeren Muller Hinton Agar yüzeyinin tamamen kuru olmasına dikkat edildi. İzolatın 18-20 saatlik taze pasajlarından direk koloni süspansiyonu yöntemiyle McFarland 0.5 yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlandı. Takip eden 15 dk içinde %5 koyun kanlı Muller Hinton Agara ekim yapıldı. E-test stripleri plaklara yerleştirildi. Mikroaerofilik ortamda, 37°C'de 18-20 saat inkübe edildi. Test, CLSI'nın önerileri doğrultusunda değerlendirildi. Plaklarda eliptik inhibisyon zonunun varlığı araştırıldı. İnhibisyon zonunun E-test stripini kestiği nokta MİK değeri olarak kaydedildi. İnhibisyon zonunun stripi kestiği noktalar belirgin değilse ya da çift zon oluşmuşsa; test geçersiz kabul edilip tekrarlandı.

Antibiyotik duyarlılığın araştırılmasında; kalite kontrol suşu olarak *S. pneumoniae* ATCC 49619 kullanıldı (81).



Şekil 3.4. E test ile penisilin MİK değerinin saptanması

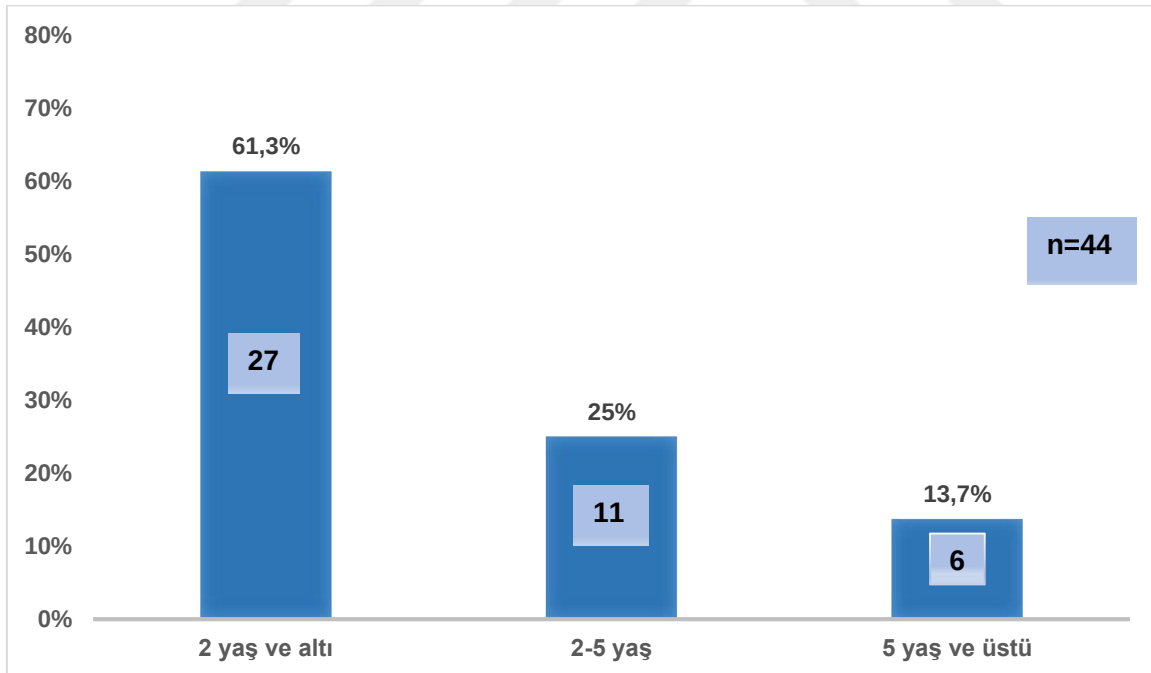
3.7. İstatistiksel Yöntemler

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Bioistatistik Anabilim Dalı'nda "Statistical Package for Social Sciences (SPSS 11.5)" bilgisayar programında yapıldı. Verilerin analizinde tanımlayıcı istatistikler dağılımı normal olan değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma, dağılımı normal olmayan değişkenler için ortanca (min – maks), nominal değişkenler ise vaka sayısı ve (%) olarak gösterildi. Grup sayısı iki olduğunda gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği t testi ile ortanca değerler yönünden farkın önemliliği Mann-Whitney testi ile araştırıldı. Nominal değişkenler Pearson Ki-Kare veya Fisher exact testi ile değerlendirildi. Sürekli değişkenler arasındaki ilişki araştırılırken dağılım normal olmadığında Spearman korelasyon testi ile normal olduğunda Pearson korelasyon testi ile değerlendirildi. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışmaya Katılan Çocukların Demografik Özellikleri

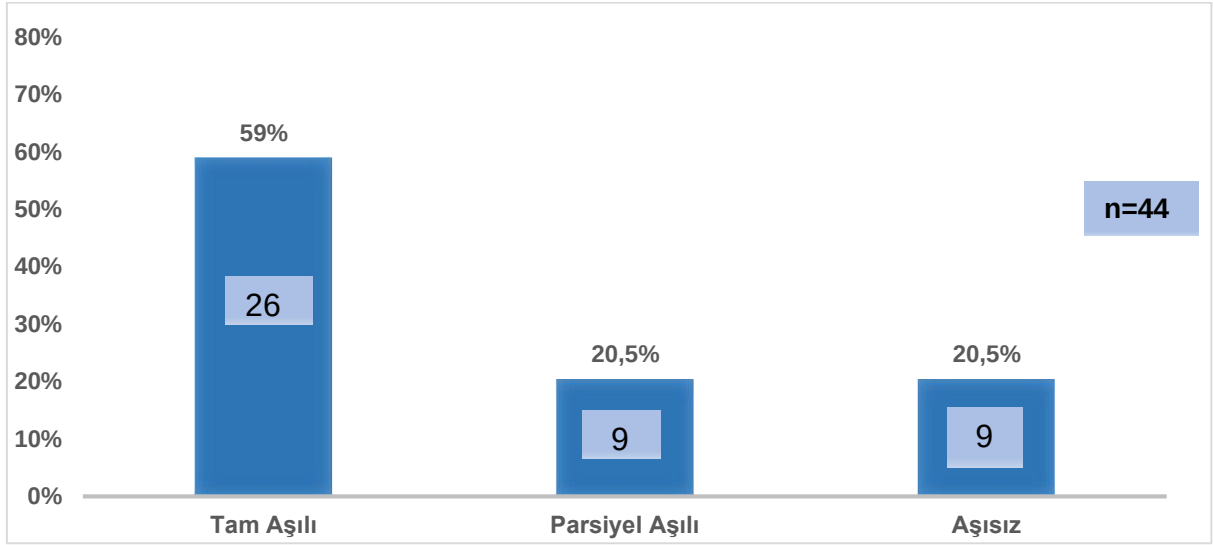
Çalışma süresince (Ekim 2009 - Ekim 2019 tarihleri arasında) toplam 50 çocuğa invaziv pnömokok hastalığı tanısı konuldu. Çocukların 29'u (%58) erkek, 21'i (%42) kız idi. Hastaların yaş ortalaması 40,7 ay, ortanca değeri 19 ay (min:1 ay- maks: 216 ay) olarak hesaplandı. Çalışma süresince saptanan 6 hastada invaziv pnömokok hastalığı için risk oluşturan (α_1 antitripsin eksikliği+siroz+asid, nefrotik sendrom+asid ve kemik iliği transplantasyonu, splenektomi, ekstrahepatik biliyer atrezi+siroz+asid, akut lenfoblastik lösemi) altta yatan hastalık bulunmaktaydı ve bu hastaların 4'ü 5 yaş üzerinde, 2 tanesi 2-5 yaş arasında idi. Bu hastalar dışında invaziv pnömokok hastalığı teşhisi konulan 6 hastada laboratuvaradaki teknik nedenler nedeniyle serotip ve antibiyotik direnci değerlendirilemedi. Önceden sağlıklı olan 44 hasta değerlendirildiğinde hastalardan 27 tanesi (%61,3) 2 yaş ve altında, 11 tanesi (%25) 2-5 yaş arasında, 6 tanesi (%13,7) 5 yaş üstündeydi. Hastaların %86,3'ü 5 yaş altında olduğu saptandı (Şekil 4.1).



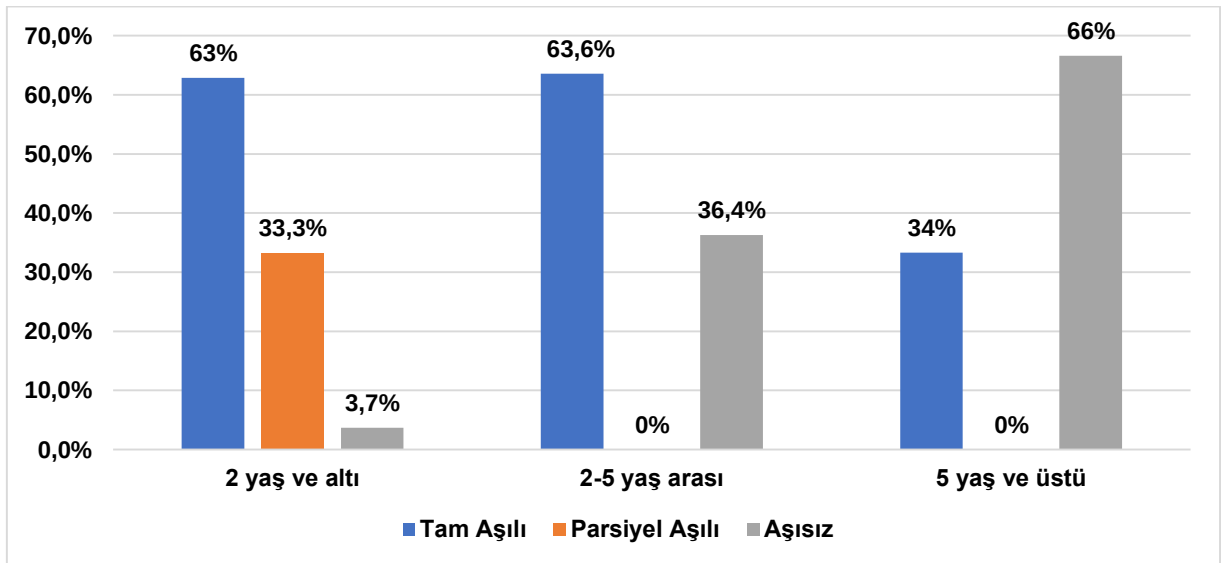
Şekil 4.1. Çalışma süresince saptanan hastaların yaş dağılımı

Önceden sağlıklı olan 44 çocuğun 26'sı (%59) KPA ile tam aşıliken, 9 (%20,5) çocuk parsiyel olarak aşılanmıştı. Geriye kalan 9 (%20,5) çocuk ise hiç aşılanmamıştı (Şekil 4.2). Aşılanma durumları yaşlara göre incelendiğinde; 2 yaş altındaki 17 (%63) çocuk

tam aşıllı, 9 (%33,3) çocuk parsiyel aşıllı ve sadece 1 (%3,7) tanesi (37 günlük) aşıllı değildi. İki beş yaş arası çocuklarda ise 7 (%63,6) tanesi tam aşıllı ve 4'ü (%36,4) aşısızdı. Bu yaş grubunda parsiyel olarak aşılanmış hasta yoktu. Beş yaşın üzerindeki 6 çocuğun 2 (%34) tanesi tam aşıllı ve 4'ü (%66) hiç aşılanmamıştı. Bu yaş grubunda da parsiyel olarak aşılanmış hasta yoktu (Şekil 4.3). Beş yaş altındaki çocuklar ayrıca değerlendirildiğinde, 38 hastanın 24'ü (%63,1) tam aşıllı, 9'u (%24) parsiyel aşıllı ve 5'i (%13) ise hiç aşılanmamıştı.



Şekil 4.2. Çalışma süresince saptanan hastaların KPA ile aşılanma durumları

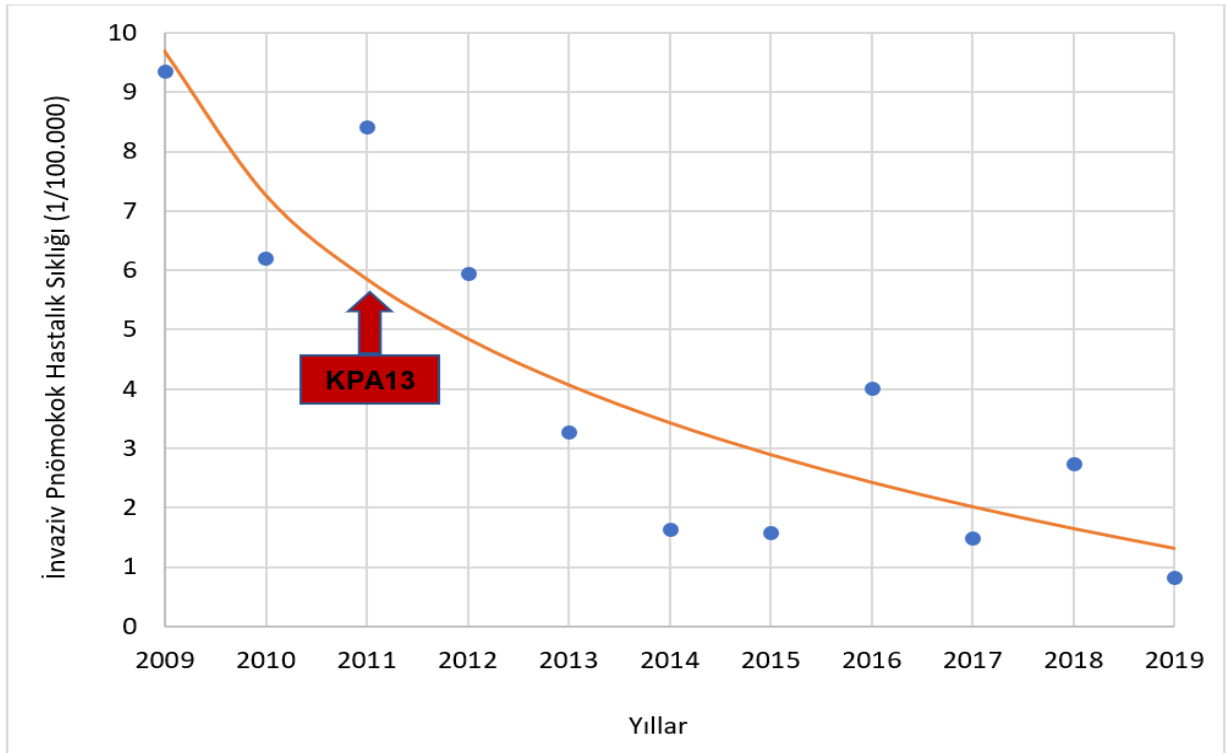


Şekil 4.3. Çalışma süresince saptanan hastaların yaşlarına göre KPA ile aşılanma durumları

4.2. Pnömonokok Enfeksiyonu Sıklığındaki Değişim ve Hastalık Tipleri

4.2.1. Pnömonokok Enfeksiyonu Sıklığındaki Değişim

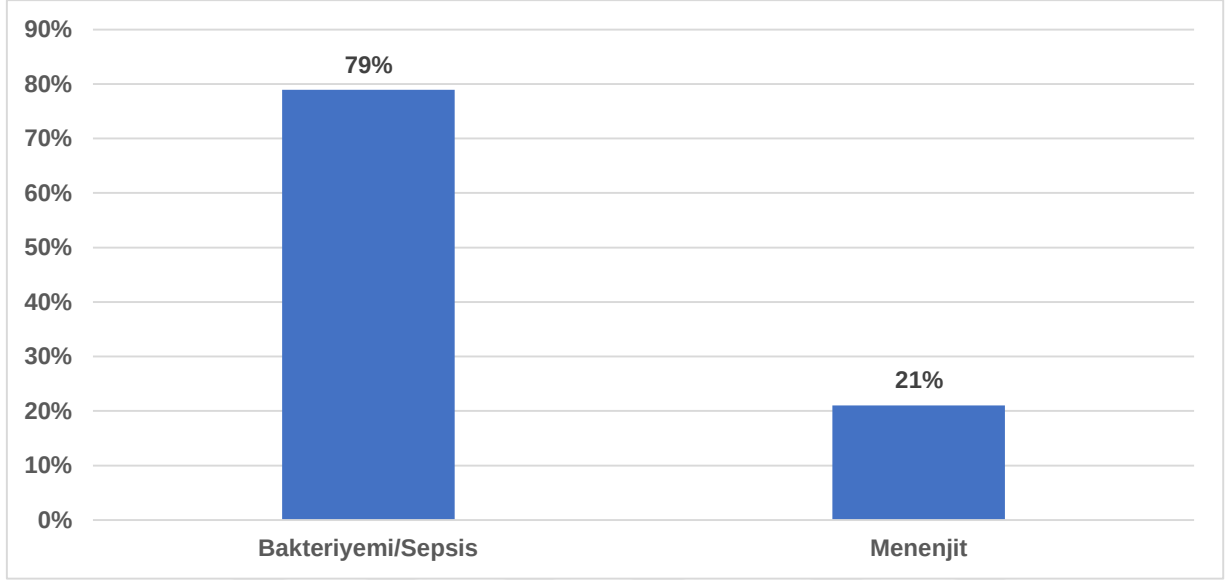
Çalışma Ekim 2009 - Ekim 2019 tarihleri arasında yapılmıştır. Ülkemizde KPA7 Kasım 2008 yılında ve KPA13 ise Nisan 2011 yılında rutin aşı takvimine alınmıştır. Bu nedenle çalışmada Ekim 2009-Nisan 2011 tarihleri arası KPA7 dönemi, Mayıs 2011-Ekim 2019 arası ise KPA13 dönemi olarak belirlenmiştir. Çalışma süresince 5 yaş altı sağlıklı çocuklarda yıllık invaziv pnömonokok hastalığı sıklığının, 2009 yılında 100.000 hastane başvurusunda 9,35'ten 2019'da 100.000 hastane başvurusunda 0,83'e anlamlı olarak azaldığı görülmüştür ($p < 0.001$), (Şekil 4.4). KPA7 döneminde 5 yaş altı sağlıklı çocuklarda İPH sıklığının ortanca değeri 100.000 hastane başvurusunda 8,41 iken (min: 6,2/100.000 hastane başvurusu- maks: 9,35/100.000 hastane başvurusu), KPA13 döneminde 100.000 hastane başvurusunda 2,2 (min: 0,83/100.000 hastane başvurusu- maks: 5,94/100.000 hastane başvurusu) olarak belirlenmiştir. KPA7 döneminde 5 yaş altı sağlıklı çocuklarda İPH sıklığının azalma hızı $7,99 \pm 1,61$ iken KPA13 dönemindeki azalma hızı $2,68 \pm 1,68$ olduğu bulunmuştur. Bu veriler göz önüne alındığında KPA13 döneminde 5 yaş altı sağlıklı çocuklarda İPH sıklığındaki azalma hızının anlamlı olarak daha fazla olduğu saptanmıştır ($p = 0.012$).



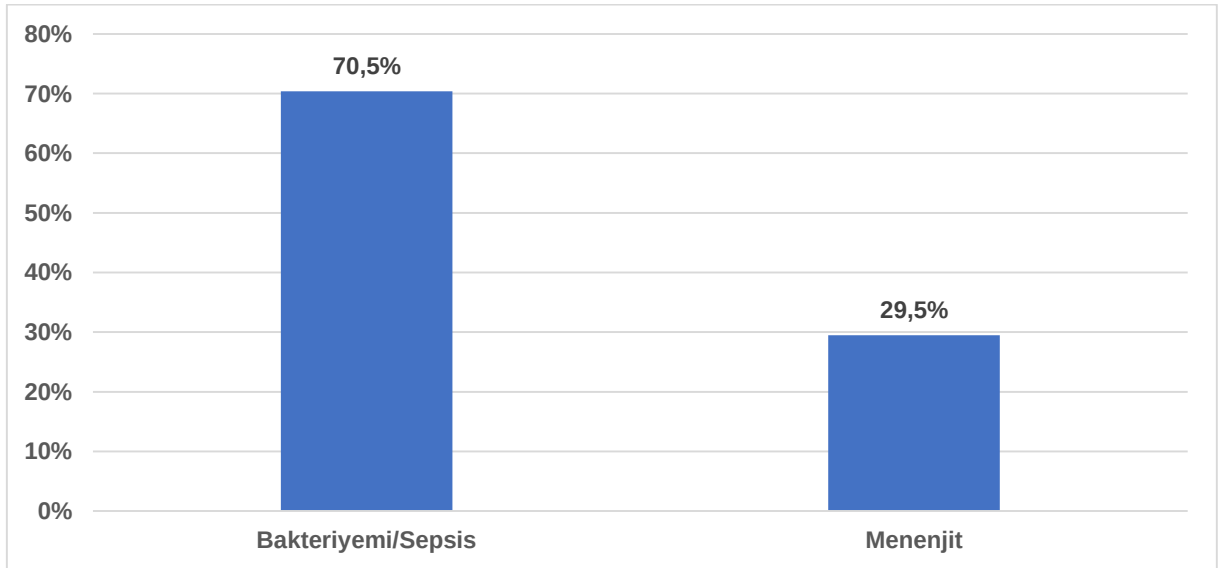
Şekil 4.4. Beş yaş altı çocuklarda invaziv pnömonokok hastalığı sıklığı

4.2.2. İnvaziv Pnömonokok Hastalık Tipleri

Beş yaş altındaki çocuklar hastalık tipine göre değerlendirildiğinde, 30 (%79) hasta gizli bakteriyemi/sepsis, 8 (%21) hasta pürülan menenjit tanısı almıştır (Şekil 4.5). Önceden sağlıklı olan 5 yaş üstü hastaların 5'i menenjit ve 1 tanesi bakteriyemi tanısı aldı. Tüm hastaların (44 hasta) tanıları Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Beş yaş altı çocukların tanıları
(Toplam: 38 hasta)



Şekil 4.6. Önceden sağlıklı olan tüm çocukların tanıları
(Toplam: 44 hasta)

4.3. Elde Edilen Pnömonokok İzolatlarında Serotip Dağılımı

Çalışma süresince elde edilen 50 pnömonokok izolatının 44 tanesinin serotip analizi yapılmıştır (41 tanesi kapsül şişme yöntemi, 3 tanesi PCR ile tanımlanmıştır). Ancak altta yatan hastalığı olan 6 hasta değerlendirilmeye alınmamıştır. Serotipleme analizleri, KPA7 ve KPA13'ün rutin uygulamaya girdiği tarihlere göre ayrılarak değerlendirilmiştir. Çalışma süresi boyunca KPA7 serotipleri ve KPA13 serotipleri sırasıyla %28,9 (11/38) ve %44,7 (17/38) oranında görülmüştür. KPA7 dönemindeki İPH'larda görülen KPA13 serotiplerinin oranı %81,8 (9/11) iken, KPA13 uygulaması sonrası 8 yıl içinde bu oran %29,6'ya (8/27) gerilemiştir. Çalışmamızdaki aşı dışı serotiplerin oranı ise KPA7 döneminde %54,5 (6/11), KPA13 döneminde %70,3 (19/27) olarak saptanmıştır (Tablo 4.1). Beş yaş altındaki hastalarda aşı dışı serotiplerin oranı ise KPA7 döneminde %60 (6/10), KPA13 döneminde %75 (18/24) olarak belirlenmiştir. Aşı dışı serotiplerin oranı zaman içinde artmıştır. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p= 0,557$).

Tablo 4.1. KPA7 ve KPA13 döneminde elde edilen serotiplerin dağılımı

Aşı Dönemi	Toplam İzolat Sayısı	Aşı Serotipi	Aşı Dışı Serotip
KPA7 Dönemi	11	5 (%45,5)	6 (%54,5)
KPA13 Dönemi	33	8 (%29,7)	19 (%70,3)
p değeri	-	-	0,490

Toplam 44 izolatın 11'i KPA7 döneminde, 33'ü KPA13 döneminde saptandı. KPA7 döneminde saptanan serotiplerin 5'i (%45,5) 7 bileşenli, 9'u (%81,8) 13 bileşenli aşı tarafından kapsamaktadır. Yani, KPA7 döneminde saptanan aşı dışı serotiplerin 4 tanesi KPA13 aşısı tarafından kapsanıyordu. Bu zaman diliminde görülen serotiplerden 2 (%18,1) tanesi hem KPA7 hem de KPA13 tarafından kapsanmıyordu. Ayrıca KPA7 döneminde görülen bu 2 aşı dışı serotip KPA15 ve KPA20'nin içeriğinde de yer almamaktadır. Aşı dışı serotip görülen hastaların tamamı 5 yaş altındaydı ve

bunların 3 tanesi tam aşı, diğer 3'ü parsiyel aşı/aşısız idi. Bu dönemde KPA ile tam aşılanmış hastaların hiçbirinde aşı içeriğinde yer alan serotiplere bağlı İPH görülmedi (Tablo 4.2).

KPA13 döneminde saptanan 33 izolatın 27' sinde serotip belirlendi. Bu 27 izolatın 8'i (%29,7) 13 bileşenli aşı tarafından kapsanmaktadır. Bu dönemde KPA13 tarafından kapsanmayan 19 (%70,3) serotip belirlenmiştir. KPA13 tarafından kapsanmayan bu serotiplerin 1 (%5,2) tanesi KPA15, 5 (%26,3) tanesi KPA20 tarafından kapsanmaktadır. KPA13 döneminde, 5 yaş altındaki 24 hastanın 6'sında (%25) izole edilen serotipler KPA13 tarafından kapsanmaktadır. Yine bu dönemde 5 yaş altındaki hastaların 18 (%75) tanesinde KPA13 dışı serotip belirlenmiş olup, bunların 1 (%5,5) tanesi KPA15, 5 (%27,7) tanesi KPA20 tarafından kapsanmaktadır. KPA13 dönemindeki çocukların 3'ü aşısızdı ve bunlardan izole edilen serotiplerin tamamı KPA13'ün içeriğinde yer almaktadır. Tam aşı 20 çocukta görülen serotiplerden 3'ü KPA13 kapsamında iken parsiyel aşı/aşısız çocuklarda görülen serotiplerin 5'i aşı kapsamında, 3'ü aşı kapsamında değildi (Tablo 4.2 ve Tablo 4.3). Tam aşı 3 çocukta İPH neden olan serotip 19F idi ve bu hastaların hepsi 5 yaş altındaydı. Parsiyel aşı/aşısız olan çocuklarda görülen KPA13 kapsamında olmayan 3 serotip, KPA15 ve KPA20 içeriğinde de yer almamaktaydı.

Tablo 4.2. KPA7 döneminde aşı ve parsiyel/aşısız hastalarda serotip dağılımı

KPA7 Dönemi (n:11)	Tam Aşılı (n:3)	Parsiyel Aşılı/Aşısız (n:8)	Toplam
Aşı serotipi	-	5	5
Aşı dışı serotip	3	3	6

Tablo 4.3. KPA13 döneminde aşıllı ve parsiyel/aşısız hastalarda serotip dağılımı

KPA13 Dönemi (n:27)	Tam Aşıllı (n:19)	Parsiyel Aşıllı/Aşısız (n:8)	Toplam
Aşı serotipi	3	5	8
Aşı dışı serotip	16	3	19

En sık saptanan serotipler, 19F (6 hasta), 23F (4 hasta) ve 7F (3 hasta), 31 (2 hasta) ve 24B (2 hasta) idi (Tablo 4.4). Çalışma süresinde sadece KPA7 döneminde 19A serotipinin etken olduğu bir hasta görüldü, menenjit tanısı kondu ve bu hasta KPA7 ile 3 doz aşılanmıştı. Altta yatan hastalığı olan 6 hastanın 2 tanesinde 6A, diğerlerinde 8, 23F,15B ve 3 serotipleri görüldü (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. İzolatların serotip dağılımı

Serotip	Önceden Sağlıklı çocuklarda (38)	Altta yatan hastalığı olan çocuklarda (6)
19F	6	
23F	4	1
7F	3	
31	2	
24B	2	
5	1	
18F	1	
14	1	
10	1	
6A	1	2
19A	1	
15F/A/B/C	1	
17F/A	1	
8	0	1
15F/A	1	
35B	1	
33F/A/B/C/D	1	
15B/C	1	
35A/B/C	1	
12B	1	
3	0	1
21	1	
15B	1	1
20	1	
16F	1	
24F	1	
15F/B	1	
11A	1	

Çalışma periyodu boyunca tüm hastalarda aşı kapsama oranları incelendiğinde KPA7'nin serotip kapsama oranı %28,9 (11/38), KPA13' ünse %44,7 (17/38) olarak belirlenmiştir. Bu süreçte KPA15'in serotip kapsama oranı %47,3(18/38), KPA20'ninse

%57,8 (22/38) olacağı saptanmıştır (Tablo 4.5). Yine çalışma dönemi boyunca 5 yaş altı hastalarda elde edilen izolatların aşı kapsama oranları, KPA7'nin %23,5 (8/34), KPA13'ün %41,1 (14/34), KPA15'in %44,1 (15/34) ve KPA20'nin %55,8 (19/34) olarak saptanmıştır.

Tablo 4.5. 2009-2019 yılları arasında elde edilen izolatların aşı kapsama oranları

Aşı Tipi	KPA7	KPA13	KPA15	KPA20
Aşı Kapsama Oranı	%28,9	%44,7	%47,3	%57,8

4.4. Elde Edilen İzolatlarda Antibiyotik Direnci

Önceden sağlıklı olan hastalardan elde edilen 44 izolattan ikisi PCR ile saptandığı için, 1 tanesi de laboratuvarındaki teknik nedenlerden dolayı antibiyotik duyarlılığı açısından incelenemedi. Geri kalan 41 izolat E-test yöntemi ile penisilin ve seftriakson için duyarlılıkları incelendi.

4.4.1. Elde Edilen İzolatlardaki Penisilin Direnci ve Duyarlılığı

MİK değerine göre nonmeningeal enfeksiyona ve meningeal enfeksiyona göre penisilin duyarlılıkları yaşlara göre Tablo 4.6 ve Tablo 4.7 gösterildi. Nonmeningeal enfeksiyona göre penisilin MİK değerleri incelendiğinde 41 hastadan elde edilen izolatların tümünün duyarlı olduğu bulundu. Meningeal enfeksiyona göre penisilin MİK değeri incelendiğinde 18 hastanın (%43,9) dirençli olduğu görüldü.

Tablo 4.6. Nonmeningeal enfeksiyona göre penisilin duyarlılığı

Yaş (İzolat sayısı)	Duyarlı n (%)	Dirençli n (%)
≤2yaş (25)	25 (100)	-
2-5yaş (11)	11 (100)	-
>5yaş (5)	5 (100)	-
Toplam	41 (100)	-

Tablo 4.7. Meningeal enfeksiyona göre penisilin duyarlılığı

Yaş (İzolat sayısı)	Duyarlı n (%)	Dirençli n (%)
≤2yaş (25)	15 (60)	10 (40)
2-5yaş (11)	7 (63,6)	4 (36,4)
>5yaş (5)	1 (20)	4 (80)
Toplam	23 (56)	18 (44)

4.4.2. Elde Edilen İzolatlardaki Sefalosporin (Seftriakson) Direnci ve Duyarlılığı

Seftriakson MİK değerine göre nonmeningeal ve meningeal enfeksiyona göre duyarlılıkları incelendiğinde; nonmeningeal olarak tüm izolatlar duyarlı bulundu. Meningeal enfeksiyona göre değerlendirildiğinde 4 izolatın dirençli ve 37'sinin duyarlı olduğu belirlendi (Tablo 4.8 ve 4.9). Bu dirençli izolatların MİK değeri 4 µgr/ml'nin altındaydı ve tedavide tek başına seftriakson kullanılmıştı. Sefalosporin direnci görülen 4 izolatın 2 tanesi hem KPA7 hem de KPA13 tarafından kapsanırken, diğer iki izolat aşı dışı serotiplerden oluşmaktadır.

Tablo 4.8. Nonmeningeal enfeksiyona göre parenteral seftriakson duyarlılığı

Yaş (İzolat sayısı)	Duyarlı n (%)	Dirençli n (%)
≤2yaş (25)	25 (100)	-
2-5yaş (11)	11 (100)	-
>5yaş (5)	5 (100)	-
Toplam	41 (100)	-

Tablo 4.9. Meningeal enfeksiyona göre parenteral seftriakson duyarlılığı

Yaş (İzolat sayısı)	Duyarlı n (%)	Dirençli n (%)
≤2yaş (25)	24 (96)	1 (4)
2-5yaş (11)	9 (81,8)	2 (18,2)
>5yaş (5)	4 (80)	1 (20)
Toplam	37 (90)	4 (9,75)

Hem serotip hem de antibiyotik duyarlılığı belirlenebilen 36 izolatın 10'u (%27,7) KPA7, 16'sı (%44,4) KPA13 tarafından kapsanmaktaydı. KPA7 tarafından kapsananlar penisilin (meningeal enfeksiyona göre) duyarlılıkları açısından değerlendirildiğinde, izolatların 7'si (%70) penisilin dirençli, KPA13 tarafından kapsananların 7'si (%43,7) penisilin dirençliydi (Tablo 4.10, Tablo 4.11). Penisilin direnci görülen izolatlar içerisinde en sık 19F (4 izolat) ve 23F (3 izolat) serotipleri belirlendi. Bu iki serotip hem KPA7 hem de KPA13 tarafından kapsanmakta olup penisilin dirençli izolatların %38,8'ini (7/18) oluşturmaktaydı. Aşı dışı serotiplerin penisilin direnç oranıysa %44,4 (8/18) olarak belirlendi ve en sık 24B'de (2 izolat) penisilin direnci görüldü. Ayrıca penisilin direnci görülen aşı dışı serotiplerin hepsi KPA13 döneminde saptanmıştır.

Tablo 4.10. KPA7 içeriğinde bulunan serotiplere göre aşı ve aşı dışı serotiplerde meningeal enfeksiyona göre antibiyotik duyarlılık durumu

KPA7	Aşı serotipi (n:10)		Aşı dışı serotip (n:26)	
Penisilin	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
	3	7	18	8
Sefalosporin	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
	8	2	24	2

Tablo 4.11. KPA13 içeriğinde bulunan serotiplere göre aşı ve aşı dışı serotiplerde meningeal enfeksiyona göre antibiyotik duyarlılık durumu

KPA13	Aşı serotipi (n:16)		Aşı dışı serotip (n:20)	
Penisilin	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
	9	7	12	8
Sefalosporin	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Dirençli
	14	2	18	2

On yıllık çalışma periyodumuzu, 2009-2014 ve 2015-2019 olarak iki döneme ayırıp, beş yaş altı çocuklardaki izolatların penisilin (meningeal enfeksiyona göre) direnç oranını değerlendirdiğimizde, sırasıyla %34,7 ve %46,1 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.12). Ancak bu yüzdesel değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,501$). Seftriakson (meningeal enfeksiyona göre) direnç oranına baktığımızda ise 2009-2014' de %8,6 iken 2015-2019 yılları arasında %7,6 olduğu saptanmış olup, istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p=1.000$), (Tablo 4.12). Çalışma süresi boyunca nonmeningeal enfeksiyona göre penisilin ve seftriakson direnci olan izolat belirlenmemiştir.

Tablo 4.12. Beş yaş altı çocuklarda meningeal enfeksiyona göre penisilin ve seftriakson direnç oranlarının yıllara göre değişimi

Yıllar	Penisilin Direnci	Seftriakson Direnci
2009-2014	%34,7 (8/14)	%8,6 (2/3)
2015-2019	%46,1 (6/14)	%7,6 (1/3)
p değeri	0,501	1.000

5. TARTIŞMA

Streptococcus pneumoniae, yaygın aşılama programlarına rağmen, enfeksiyon hastalıkları ile ilişkili ölümlerin majör nedenlerindendir. Dünya Sağlık Örgütü'nün raporuna göre pnömokok aşılmasının yaygın olarak kullanıma girmesinden önce *S. Pneumoniae* ilişkili enfeksiyonlar her yıl 5 yaş altında 1 milyondan fazla çocuğun ölümüne neden olmaktaydı (1). Aşılama programlarına rağmen ülkemizde de pnömokoklar çocukluk yaş grubunda önemli mortalite nedenlerinden olmaya devam etmektedir (51-55).

Pnömokoklar beta laktam antibiyotiklere duyarlı bakterilerdir ve penisilin ve 2. Kuşak sefalosporinler birçok pnömokokal enfeksiyonun tedavisinde ilk seçenek antibiyotik olarak kullanılmaktadır. Ancak yıllar içinde global olarak pnömokoklarda penisilinlere karşı direnç gelişmeye başlamıştır. Antibiyotik dirençli suşların ortaya çıkması öncelikle menenjit olmak üzere diğer pnömokok ilişkili enfeksiyonların tedavisinin etkin yapılamamasına neden olmuştur. Penisiline dirençli pnömokok suşlarının çoğu diğer antibiyotiklere karşıda dirençlidir. Penisilin direnci, sefalosporin direnci ile doğrudan ilişkilidir (82). Penisilin direncindeki artış pnömokoklarda giderek daha sık kullanılmaya başlanan diğer antibiyotiklere direnç geliştirme olasılığını artırmıştır (83). Dünyada ve ülkemizde özellikle 5 yaş altı çocuklarda mortalitenin önemli nedenlerinden biri olan pnömokok enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gelişimi önemli bir halk sağlığı problemidir.

Pnömokok enfeksiyonlarının sıklığı ve ciddi hastalık tablolarına yol açması ve potansiyel antibiyotik direnç durumu nedeniyle 1980'li yıllarda konjuge pnömokok aşı çalışmaları başlamıştır. Aşılama programı ile invaziv pnömokok hastalığının sıklığında ve dirençli suşların oranında azalma olacağı öngörülmüştür. İlk olarak 2000 yılında KPA7, ardından 2009'da KPA10 ve 2010'da KPA13 üretilmiş ve birçok ülkenin ulusal aşı takviminde yerlerini almışlardır. Tahmin edildiği gibi aşı uygulamalarından sonra İPH insidansında ve antibiyotik direncinde azalma görülmüştür. Ancak bu yüz güldürücü sonuçlarla birlikte devam eden çalışmalar aşı dışı serotiplerin arttığını ve bu serotiplerin antibiyotik direnç oranında artış olduğunu göstermiştir. Bu nedenle aşı içeriğinin genişletilmesine yönelik çalışmalar sonucunda KPA15 ve KPA20 geliştirilmiştir, ancak bu aşılardan etkinlikleri gelecekteki çalışmaların konusu olacaktır

(23,24). Bütüncül olarak bakıldığında, pnömokok aşılarının rutin olarak uygulandığı ülkelerde aşı sonrası pnömokok hastalıklarının epidemiyolojisinin izlenmesi önem taşımaktadır.

Türkiye’de KPA7 Ekim 2005 tarihinden itibaren ruhsat alarak kullanıma sunulmuş, Nisan 2011’den itibaren yerini KPA13’e bırakmıştır. Dünyanın diğer bölgelerinde olduğu gibi ülkemizde de rutin pnömokok aşılması sonrasında, İPH insidansında azalma, aşı kapsamındaki serotiplerin neden olduğu invaziv hastalıklarda azalma, aşı sonrası İPH neden olan serotiplerin aşı dışı serotipler lehine değişimi ve antibiyotik direnç oranlarında düşme olması beklenmektedir. Biz tez çalışmamızda, KPA13 uygulaması sonrası pnömokok epidemiyolojisindeki değişimleri ülkemizde ve diğer ülkelerde yapılan çalışmalarla karşılaştırma yaparak inceledik. Ülkemizde pnömokok aşılması sonrası epidemiyolojik verilerin kısıtlı olması nedeniyle tek merkezli olsa da çalışmamızın bu konuda yol gösterici olacağını düşünmekteyiz.

5.1. İnvaziv Pnömokok Hastalığı İnsidansı

İnvaziv pnömokok hastalığı (İPH) en sık 5 yaş altı çocuklarda (özellikle iki yaşın altındaki çocuklarda) ve yaşlılık döneminde (65 yaş üzerinde) görülmektedir. ABD’nde 1998 yılında İPH insidansı 12 aydan küçük çocuklarda 100 binde 203 ve 12-24 ay arasında ise 100 binde 165 olarak tahmin edilmiştir. En yüksek insidans 6-11 ay arasındaki çocuklarda saptanmıştır (43).

KPA7’nin 2000 yılında ABD’nde lisans almasıyla beraber İPH insidansında dramatik şekilde azalma görülmüştür. ABD’de 1998-1999 yılları arasında 5 yaş altındaki çocuklarda İPH insidansı 100 binde 88,7’den, 2004’te 22,4’ya düşmüştür (44). Ocak 1990 ile Nisan 2008 arasındaki çalışmaların derlemesinde, Avrupa’da aşı öncesi dönemde çocuklarda İPH insidansı ortalama 31,1/100.000 ve pnömokok menenjit insidansı 7,5/100.000 olarak saptanmıştır. 2 yaş altı çocuklarda KPA7 sonrası İPH insidansı 32,5/100.000’den 23,4/100.000’e gerilediği gösterilmiştir (45). Fransa’da aşı öncesi dönem (1998-2002) ile 2005 senesi karşılaştırıldığında, özellikle <2 yaş altındaki çocuklarda, bakteriyemi insidansında %29 ve menenjitde ise %39 azalma görüldü (46). Almanya’da ise <2 yaş altındaki çocuklarda aşı serotiplerine bağlı İPH vakaları 2008 yılında %50 oranında azalmıştır (47). Bir diğer çalışma derlemesinde,

çocuklarda aşı serotiplerini kapsayan İPH insidansında İspanya'da %39,9 (48), ABD'nde %99,1 (49), ortalama %90,1 azalma saptanmıştır (50).

2010 yılında ABD'de KPA13 6 hafta-71 aylık çocuklarda kullanımı için lisans aldı. ABD'de New York'ta yapılan bir çalışmaya göre KPA13 sonrası 5 yaş altı çocuklarda İPH insidansı %69 oranında azalmıştır. Bunların %82'sinin KPA13 içerdiği serotipler olduğu ve özellikle 19A serotipinde %80 oranında azalma tahmin edilmektedir (116). Benzer sonuçlar Alaska'dan da elde edilmiştir, KPA13 sonrası tüm İPH %56, KPA13 ilişkili İPH'da ise %84 oranında düşüş görülmüştür (117,118).

Kanada'da KPA13 2010 yılında uygulanmaya başlanmış olup, 2010-2012 yılları arasında yapılan bir çalışmada 5 yaş altı çocuklarda İPH insidansı 2010 yılında 100.000'de 18 iken 2012'de 14,2'ye azaldığı bildirilmiştir (137). Ancak Kanada'da yapılan bir başka çalışmada, 2007-2017 yılları arasında tüm yaş gruplarına bakıldığında İPH insidansında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Diğer bir taraftan bu çalışmada KPA13 uygulaması sonrasındaki ilk 5 yılda (2010-2015 yılları arası) 1-4 yaş arası çocuklarda İPH insidansı %92 oranında azalmıştır. Ancak yine aynı çalışmada 1-4 yaş arası çocuklarda son yıllarda (2015-2017) KPA13 serotiplerinin oranında artış görülmüştür (138).

Avrupa ülkelerinde de KPA13 sonrasında İPH insidansı konusunda olumlu sonuçlar alınmıştır. İngiltere'de KPA7 öncesi ve KPA13 öncesi döneme göre tüm yaş gruplarında genel İPH görülme sıklığı sırasıyla %56 ve %32 azalmıştır (121). Norveç'te yapılan bir çalışmada İPH insidansı KPA7 uygulaması sonrası 100.000'de 15 iken KPA13 sonrasında 100.000'de 13'e gerilediği saptanmıştır. En fazla azalma ise 2 yaş altındaki İPH insidansında görülmüştür (123). Danimarka'da KPA13 sonrasında 2 yaş altı çocuklardaki İPH insidansı %71 azalmıştır ve bunların %84'ü KPA13 ilişkili serotiplerdir (124). Almanya'da 2012-2016 yılları arasında yapılan bir çalışmada İPH insidansı %48 iken KPA13 sonrası %26'ya gerilediği görülmüştür (139).

Hollanda'da KPA7 2006 yılında ulusal aşı programına dahil edilmiştir ve 2011 yılında yerini KPA10'a bırakmıştır. KPA7 uygulaması sonrasında 5 yaş altı çocuklarda İPH insidansında %69 oranından azalma görülmüştür. KPA10 uygulaması sonrası İPH

insidansında -erişkin yaş grubu ile değerlendirildiğinde- %30 oranında azalma görülmüştür (140). KPA10'un uygulandığı bir başka ülke Finlandiya'da ise bu aşının uygulanması sonrasında İPH'larında %79 oranında azalma görülmüştür (141).

Brezilya'da KPA10, Mart 2011'den beri ulusal aşı takviminde yer almaktadır. Burada KPA10 uygulaması sonrası yapılan bir çalışmada çocuklarda İPH nedeniyle hastane başvurusu 10.000'de 20'den 5'e düştüğü görülmüştür. Aynı zamanda bu çalışmaya göre KP10 sonrası çocuklarda İPH ilişkili mortalite ise 10.000'de 6,6'dan 10.000' de 2' ye gerilediği saptanmıştır (148).

İsrail'de KPA13'ün etkinliğini araştırma amacıyla Temmuz 2004 – Haziran 2013' de yapılan bir prospektif çalışmada KPA13'ün kapsadığı 5 serotiple (1, 3, 5, 7F, 19A) ilişkili 5 yaş altındaki İPH insidansında %70 oranında azalma saptanırken, İPH'a neden olan tüm serotiplerin insidansında total %63 oranında azalma bildirilmiştir (128).

Japonya'da 2010-2017 yılları arasında yapılan bir çalışmada çocuklarda KPA13 uygulaması sonrası aşı serotiplerinin neden olduğu İPH oranı %89'dan %12,1'e gerilediği görülmüştür (130).

Çalışmamız boyunca 5 yaş altı sağlıklı çocuklarda yıllık invaziv pnömokok hastalığı sıklığının, 2009 yılında 100.000 hastane başvurusunda 9,35'ten 2019'da 100.000 hastane başvurusunda 0,83'e anlamlı olarak azaldığı görülmüştür ($p < 0.001$). Bu azalma diğer ülkelerden elde edilen verilerle benzerdir.

Araştırmamızda KPA7 döneminde 5 yaş altı sağlıklı çocuklarda İPH sıklığının ortalama değeri 100.000 hastane başvurusunda 8,41 iken (min: 6,2/100.000 hastane başvurusu- maks: 9,35/100.000 hastane başvurusu), KPA13 döneminde 100.000 hastane başvurusunda 2,2 (min: 0,83/100.000 hastane başvurusu- maks: 5,94/100.000 hastane başvurusu) olarak belirlenmiştir. KPA13 dönemindeki 5 yaş altı sağlıklı çocuklarda İPH sıklığının azalma hızı, KPA7 dönemi ile karşılaştırıldığında, anlamlı olarak daha fazla olduğu belirlenmiştir ($p = 0.012$). Bizim çalışmamızda İPH insidansı hastaneye başvuru yapan hasta sayıları üzerinden belirlenmiştir. Bu nedenle toplumsal İPH insidansını ve bundaki değişimleri belirlemek için geniş çaplı

alışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak yine de ulaştığımız sonuçlar, çalışma bölgemizde KPA13 sonrası İPH insidansındaki azalmayı göstermesi bakımından önem arz etmektedir ve aşının önemini bir kez daha ortaya koymaktadır.

5.2. Pnömokok İzolatlarının Serotip Dağılımı ve KPA'nın Kapsama Oranları

Pnömokokların polisakkarit yapıda farklı antijenik özelliklere dayanan 90'dan fazla kapsüler serotipi vardır. Doksanın üzerinde pnömokok serotipi olmasına karşın invaziv hastalıklar bunların 10-15'i ile oluşturulmaktadır ve serotip dağılımı yaşa, coğrafik bölgelere, sosyo-ekonomik duruma göre farklılık göstermektedir (2).

ABD'nde KPA7 uygulanması ile İPH insidansında önemli bir azalma görülmüştür. Aşı serotipleri ile ilişkili İPH oranı 100 binde 78,9'dan 2,7'ye gerilerken, aşı dışı serotiplerde 16,3'ten 19,9'a arttığı gösterilmiştir. Aşı dışı serotipler tüm vakaların %17'sini oluştururken bu oranın 2004 yılında %88 yükseldiği saptanmıştır (10). ABD'nde başka bir çalışmada aşının başlangıç döneminde İPH'na yol açan serotiplerin %82'si KPA7 kapsarken, 2005 yılında bu oranın %36'ya gerilediği saptanmıştır. Aynı şekilde bu dönem içerisinde 19A'nın tüm izolatlardaki oranı %2,5'tan %36'ya artığı gösterilmiştir (65). ABD'nde 2001-2007 yılları arasında yapılan başka bir çalışmada, İPH'na neden olan serotiplerin %85'nin KPA7 dışı serotipler olduğu ve en yaygın olarak 19A 'nın (%28) görüldüğü bildirilmiştir (15). 2007 yılında ABD'de 5 yaşın altındaki İPH olan çocuklarda saptanan en sık serotipler 3, 15B/C, 19A, 22F ve 33F'di (10, 11, 12, 13).

Avrupa lkelerindeki verilere bakıldığında KPA7 serotiplerinin küçük ocuklarda İPH izolatlarından neredeyse tamamen kaybolduğu görülmüştür. Ancak bu veriler KPA7 dışı serotipler olan 1, 3, 6A, 6C, 7F ve 19A'nın arttığını göstermiştir (88). İngiltere'de KPA7 rutin kullanımı sonrasında yapılan çalışmada 2 yaş altında aşı serotiplerinin insidansının %98 oranında azaldığını saptanırken, aşı dışı serotiplerin %68 oranında arttığı görülmüştür. Bu çalışmada izole edilen aşı dışı serotipler yaygın olarak 7F, 19A, 22F idi (89).

ABD'de KPA13 kullanımından 3 yıl sonra yapılan bir çalışmada 19A ve 7F serotiplerinin neden olduğu İPH'da azalma olduğu ancak serotip 3 ile enfeksiyonda önemli bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (115). ABD'de KPA13 sonrası yapılan bir

çalışmada özellikle 19A serotipinde %80 oranında azalma tahmin edilmiştir (116). Yine ABD’de yapılan bir çalışmaya göre KPA13 uygulaması sonrası 23A, 15B/15C, 7C, 8 ve 31 gibi KPA13’ün içermediği serotiplerin neden olduğu İPH oranında artış görülmüştür (142). İlerleyen yıllarda ABD’de yapılan başka bir çalışmadaysa İPH’na neden olan en sık KPA13 dışı serotiplerin 22F, 12F ve 33F olduğu saptanmıştır (143).

Kanada’da da KPA7 uygulaması sonrası yapılan çalışmalarda, 5 yaş altı çocuklarda KPA7 dışı serotiplerde artış gözlenmiştir. Bu artış özellikle 19A ve 5 serotipinde önemli düzeyde olmuştur (144). KPA13’ün Kanada’da uygulanmasından sonra serotip 19A, 2012 yılında yaygın olarak izole edilen serotipler arasında olmakla birlikte, görülme sıklığı %19’dan %14’e düşmüştür (137). İlerleyen dönemlerde yine Kanada’da yapılan çalışmalarda aşı serotipi olmasına rağmen serotip 3’ün sıklıkla İPH’na neden olmaya devam ettiği, aşı dışı serotiplerdense 22F ve 33F’in görülme sıklığında artış olduğu bildirilmiştir (138, 145). Serotip 19A’nın görülme sıklığı ise KPA13 uygulaması sonrasındaki 8 yılda %66 oranında azalmıştır (138).

İngiltere’de KPA7 ve KPA13 öncesi döneme göre tüm yaş gruplarında genel İPH görülme sıklığı azalmakla birlikte 5 yaş altındaki çocuklarda KPA13 dışı serotiplere bağlı İPH arttığına dair kanıtlar mevcuttur ve bu serotipler 8, 15A, 15B / C, 22F, 23B ve 24F’dir (121). Yine İngiltere’de yapılan 17 yıllık bir surveyans çalışmasında, 2016-2017 yıllarında görülen İPH’larının %40’tan daha fazlasında KPA13’ün içermediği serotipler olan 8, 22F, 9N’in sorumlu olduğu bildirilmiştir (122). Yakın zamanda İngiltere’de yayınlanan başka bir çalışmada KPA13 uygulaması sonrası serotip 3 ve 19A’nın infantlarda neden olduğu İPH’larda azalma görülmediği, ayrıca aşı dışı serotiplerden 8, 12F, 24F’in insidansında artış bildirilmiştir (146).

Norveç’te yapılan bir çalışmada KPA13 sonrasında 7F ve 19A insidansında azalma saptanmış, ancak KPA13 dışı bir serotip olan 22F insidansı yüksek kalmıştır, ayrıca KPA13’ün kapsamadığı serotiplerden 9N, 10A, 23A ve 33F’de artış görülmüştür. (123) Danimarka’da KPA13 sonrasında 2 yaş altı çocuklardaki İPH insidansı %71 azalmıştır ve bunların %84’ü KPA13 ilişkili serotiplerdir. Ancak diğer yandan İPH %80’i KPA13 dışı serotiplere bağlı gelişmeye başlamıştır (124).

Almanya'da da benzer şekilde KPA13 dışı serotipler aşı öncesi dönemde %15,6 oranında iken aşı sonrasında %59,2 'ye yükseldi. Almanya'da çocuklarda en çok artış gösteren KPA13 dışı serotipler 10A,12F, 23B, 24F, 38 idi (125).

Hollanda'da yapılan bir çalışmada, 10 değerlikli pnömokok aşısı uygulaması sonrasında 5 yaş altı çocuklarda KPA10 içeriğindeki serotiplerle ilişkili İPH'larda %91 oranında azalma görülmüştür. Ancak KPA10 dışı serotiplerden 19A ve 3 insidansında artış görülmüştür. KPA10 uygulaması sonrası serotip 22F'le ilişkili İPH'larının insidansında değişiklik görülmemiştir ancak Hollanda'da en sık İPH'na neden olan dördüncü serotiptir (140).

İspanya'da yapılan bir çalışmada KPA13 uygulaması sonrası 15 yaş altı çocuklarda İPH görülme sıklığında %70 oranında azalma görüldüğü bildirilmiştir. Bu azalmanın özellikle 19A, 1 ve 7F serotiplerinin neden olduğu İPH'larında düşüşle ilişkilendirilmiştir. Ancak bu çalışmada serotip 3 ilişkili İPH insidansında değişim olmadığı saptanmıştır (147).

Brezilya'da 2005-2015 yılları arasında yapılan bir çalışmada KPA10'un serotip kapsama oranı %65 idi. İPH'larında en sık izole edilen serotip 14 olmuştur ancak KPA10 uygulamadan önceki dönem ile karşılaştırıldığında görülme sıklığı %37,4'ten %9,5'e gerilemiştir. Bu çalışmada KPA10 uygulaması sonrası KPA13'ün kapsadığı serotiplerin görülme yüzdesi %7'den %21'e yükseldiği bildirilmiştir. Özellikle 19A serotipinin neden olduğu İPH oranının arttığı belirlenmiştir (148).

İsrail'de yapılan bir prospektif çalışmada KPA13 uygulaması sonrası aşı dışı serotiplerin neden olduğu İPH'da iki kat artış görülmüş, en yaygın olarak artış gösteren aşı dışı serotiplerin 12F, 15B/C ve 33F olduğu saptanmıştır (128).

Hindistan gibi düşük gelirli, gelişmekte olan ülkelerde her gün 5 yaş altında 16,000 çocuk aşı ile önlenabilir pnömoni nedenlerinden ölmektedir. Burada aşılamanın hedefi 2030 yılında beş yaş altı mortalite oranının 1000 canlı doğumda 25'e düşürmektir (149). Hindistan'da KPA13 2017 yılından itibaren 5 yaş altı çocuklarda uygulanmaya başlanmıştır. Hindistan'da 2011-2015 yılları arasında yapılan bir çalışmaya göre 5 yaş

altı çocuklarda KPA10'un serotip kapsama oranı %68 iken %74'ü KPA13 tarafından kapsanmaktaydı. Yine bu çalışmada 5 yaş altı çocuklarda İPH'na neden olan en sık serotipler 14, 1, 5 ve 19F idi (150). Hindistan'da 2017 yılında yapılan başka bir çalışmada KPA13'ün serotip kapsama oranı %78,4 idi. Bu çalışmada 5 yaş altı İPH'na neden olan serotiplerin %21'i KPA13 içeriğinde yer almamaktaydı ve bunlar 10F, 9N, 11A, 20 ve 15B idi (151).

Arap Yarımadasında ve Mısır'da KPA öncesinde 5 yaş altı çocuklarda İPH neden olan en yaygın serotiplerin 14, 23F, 6B, 19F ve 6A olduğu görülmüştür. Bu çalışmada 5 yaş altı çocuklarda İPH neden olan serotiplerin KPA7 tarafından %61-69 oranında kapsanacağı belirtilmiştir (152). Suudi Arabistan'da KPA7 2009 yılında uygulanmaya başlamıştır ancak 2010'da KPA13 ulusal aşı takvimine girmiştir. Bu bölgede yapılan bir çalışmada KPA öncesi 5 yaş altı çocuklarda İPH insidansı 100.000'de 17,4 iken, KPA13 sonrası 100.000'de 2,5'a gerilediği saptanmıştır (153). Yine Suudi Arabistan'da 2005-2010 yılları arasında yapılan retrospektif bir çalışmada KPA7 serotip kapsama oranının %53, KPA13'ün ise %91 olduğu saptanmıştır (154).

KPA13'ün birçok ülkenin aşı takviminde yer almasından sonra farklı coğrafik bölgeleri içeren çalışmalar yapılmıştır. Bunlara bir örnek olarak 2019 yılında altı farklı ülkeden (Hong Kong, İsrail, Güney Afrika, Malawi, Gambia, ABD) elden edilen verilerle yapılan bir çalışmada, ülkeler arası değişmekle beraber, 5, 12F, 15B / C, 19A, 33F ve 35B / D serotiplerinin ikiden fazla ülkede yaygın olarak görüldüğü belirtilmiştir. Ayrıca Güney Afrika'da serotip 8'in, İsrail ve ABD'de ise serotip 33F'in İPH'a neden olan en sık KPA13 dışı serotipler olduğu saptanmıştır (155).

Ülkemizde KPA'larının uygulanmasından önce, 2001-2004 yılları arasında yapılan bir çalışmada KPA7, KPA10 ve KPA13'ün serotip kapsama oranlarının sırasıyla %52, %74 ve %81 olduğunu bildirilmiştir (61). Sonrasında çocuklarda pnömokokal menenjit ile ilgili yapılan diğer iki çalışmada da benzer sonuçlar gösterilmiş ve en sık rastlanan serotipler, 1, 5, 6A/B, 19F ve 23F olmuştur (62). Kliniğimizde yapılan bir çalışmada KPA13 serotipleri, aşı öncesi dönemde İPH vakalarının %81,8'ini oluşturmuş ve KPA13 uygulanmasından sonraki 4 yıl içinde %56'ya düşmüştür (131).

Çalışmamız süresince elde edilen 50 pnömokok izolatının 44 tanesinin serotip analizi yapılmıştır. Çalışmamızda en sık saptanan serotipler, 19F (6 hasta), 23F (4 hasta) ve 7F (3 hasta), 31 (2 hasta) ve 24B (2 hasta) idi ve bunlar tüm hastaların %29,5'ünü (13/44) oluşturmaktaydı. Bu serotiplerden 19F ve 23F hem KPA7 hem KPA13 içeriğinde yer almaktadır. Diğer bir deyişle bu serotipleri kapsayan konjuge aşılar ülkemizde en az 10 yıldır uygulanmaktadır. Bu bilgiler ışığında 19F, 23F ve 7F'in toplumda dolaşımı halen devam etmektedir. Ülkemizde menenjit etkenleriyle ilgili yapılan bir başka çalışmada da 19F ve 23F en sık izole edilen serotipler arasında yer almıştır (62). Bu bilgiler aşılama ya rağmen 19F ve 23F'in bizim toplumumuz için önde gelen serotipler olduğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda 19F saptanan 3 hastanın tam aşı ve 5 yaş altında olması bu serotipin invazyon yeteneğinin yüksek olduğunu veya aşının etkinliği ile ilgili bir sorun olabileceğini düşündürmektedir.

KPA7 uygulaması sonrasında ABD, Kanada ve Avrupa'nın birçok bölgesinde artış gösteren 19A serotipi, çalışmamız süresince sadece bir hastada izole edildi. KPA13 kullanımı sonrasında diğer ülkelerde yapılan araştırmalarda en sık izole edilen aşı dışı serotiplerden, 22F ve 33F çalışmamızda hiç izole edilmezken, serotip 8 altta yatan hastalığı mevcut bir hastamızda görülmüştür.

Araştırmamızdaki izolatların 11'i KPA7 döneminde, 33'ü KPA13 döneminde saptandı. KPA7 döneminde saptanan serotiplerin 5'i (%45,5) 7 bileşenli, 9'u (%81,8) 13 bileşenli aşı tarafından kapsanmaktadır. KPA13 döneminde serotipleri belirlenebilen 27 izolatın 8'i (%29,7) 13 bileşenli aşı tarafından kapsanmaktadır. Bu dönemde KPA13 tarafından kapsanmayan 19 (%70,3) serotip belirlenmiştir. KPA13 tarafından kapsanmayan bu serotiplerin 1 (%5,2) tanesi KPA15, 5 (%26,3) tanesi KPA20 tarafından kapsanmaktadır. Çalışma periyodunun tamamına bakıldığında tüm hastalarda aşı kapsama oranları incelendiğinde KPA7'nin serotip kapsama oranı %28,9 (11/38), KPA13' ünse %44,7 (17/38) olarak belirlenmiştir. Bu süreçte KPA15'in serotip kapsama oranı %47,3 (18/38), KPA20'ninse %57,8 (22/38) olacağı saptanmıştır (Tablo 4.5).

Çalışmamızda diğer ülkelerde yapılan çalışmaların sonuçları ile benzer şekilde aşı içeriğindeki serotiplerin görülme oranında azalma, aşı dışı serotiplerin oranında artış

saptanmıştır. Araştırmamızda aşı dışı serotiplerin görülme yüzdesi KPA7 ve KPA13 dönemi olarak değerlendirdiğimizde, beş yaş altındaki hastalarda aşı dışı serotiplerin oranı KPA7 döneminde %60 (6/10), KPA13 döneminde %75 (18/24) olarak belirlenmiştir. Bu yüzdesel fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p= 0,557$). Bunun nedeni çalışmamızdaki hasta sayısının kısıtlı olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Araştırmamızı diğer çalışmalardan ayıran ve hasta sayısını kısıtlayan bir başka özellikse pnömoni ilişkili bakteriyemi ve ampiyem olan hastaların çalışmaya dahil edilmemesidir.

5.3. KPA Sonrası Pnömonokok İzolatlarındaki Antibiyotik Direnç Oranları

Pnömonokların neden olduğu hastalıklar için etkili antibiyotik tedavisi olmasına karşın, antibiyotik dirençli suşların gelişmesi bu tedaviyi güçleştirmektedir. Dünya çapında, çoğu antibiyotiğe dirençli enfeksiyon, KPA7 aşısının içerdiği serotiplerin beşinden (6B, 9V, 14, 19F ve 23F) kaynaklanmaktadır (74). Bu nedenle aşılama programı ile invaziv pnömonokok hastalığının sıklığıyla birlikte dirençli suşların oranında azalma olacağı öngörülmüştür.

ABD’nde KPA7 sonrasında özellikle 2 yaş altında penisiline dirençli pnömonokoklar %81 oranında azalmıştır. Ancak penisiline dirençli 19A serotipinde ise %2’den %35’e yükselme gözlenmiştir (6). Yine ABD’nde 5 yaşından küçük olan çocuklarda penisiline dirençli 19A izolatlarının oranı aşı öncesi %10 iken 2004’te %31’e yükselmiştir. Serogrup 15’te de aşı öncesi direnç görülmezken 2004’te %6’ya yükselmiştir (10).

Amerika’da 8 hastanenin katıldığı bir çalışmada pnömonokokal menenjitlerde KPA13 uygulaması sonrası penisilin duyarlılık oranları benzer iken seftriakson direnci %13’ten %3’e gerilemiştir (119). Texas’da yapılan bir çalışmada ise aşı öncesi dönem ile KPA13 uygulaması sonrasındaki dönem karşılaştırıldığında pnömonokokal menenjitlerdeki penisilin direncinde önemli bir azalma görüldüğü bildirilmiştir (120).

Avrupa’da KPA7 uygulaması sonrası yapılan dört çalışmanın derlemesine göre 5 yaş altı çocuklarda ortalama penisilin direncinin %48’ den %29’a düştüğü, sefalosporin

direncinin ise %10 oranında azaldığı bildirilmiştir (45). İspanya'da yapılan bir çalışmada KPA13 uygulaması sonrası non meningeal ve meningeal penisilin dirençli izolatların oranının azaldığı ve bunun en önemli nedeninin dirençli 19A serotiplerinde olan düşüş olduğu belirtilmiştir (147).

İsrail'de yapılan bir çalışmaya göre KPA13 öncesi ve sonrası döneme karşılaştırıldığında penisilin dirençli izolat oranında %83 oranında azalma olduğu, 2010 yılından itibaren seftriakson dirençli izolat görülmediği bildirilmiştir (129). Suudi Arabistan'da yapılan bir çalışmada, 2005 yılında İPH'na neden olan izolatlar içinde penisilin direnci oranı %66,2 iken KPA uygulaması sonrasında bu oran %40,7'ye düşmüştür (153).

Hindistan'da 2011-2015 yılları arasında yapılan bir çalışmaya göre İPH neden olan izolatların penisilin direnç oranı %8, sefotaksim direnç oranı %1 olarak bulunmuş olup diğer Asya ülkelerine göre daha düşüktür (150, 156).

Hong Kong, İsrail, Güney Afrika, Malawi, Gambia ve ABD'de ortak olarak yapılan bir araştırmada KPA13 uygulaması sonrası penisilin direncinde azalma olduğu saptanmıştır. Ancak aşı dışı serotiplerin özellikle penisilin direnç oranlarında artış olduğu bildirilmiştir (155).

Ülkemizde KPA7'nin aşı takvimine girmeden önce yapılan bir çalışmada 93 invaziv izolatın %39'unun duyarlı olmadığı bulunmuştur (61). 2011 yılında yapılan bir başka çalışmada ise 202 invaziv izolatın %33,7'sinin penisiline duyarlı olmadığı saptanmıştır. Penisiline dirençli bu izolatların %77,8'i KPA7 ve %82,2'si KPA13 tarafından kapsandığı belirtilmiştir (62) Kliniğimizde Ekim 2009-Haziran 2013' de yapılan bir çalışmada KPA7 döneminde %56,5, KPA13 dönemindeyse %33,3 olarak bulunmuştur. Penisilin direncinin aşı dışı serotiplerde, aşı serotiplerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır Penisilin direnci olan izolatlar içerisinde en sık 19F ve 23F serotipleri görülmüştür (109).

Bizim çalışmamızda beş yaş altı çocuklarda tüm izolatların nonmeningeal enfeksiyona göre penisilin duyarlı olduğu bulundu. Beş yaş altı çocuklarda meningeal enfeksiyona

göre penisilin MİK değeri incelendiğinde izolatların %38,8'inin (14/36) dirençli olduğu belirlendi. Çalışmamızda penisilin dirençli izolatların %55,5'i (10/18) 2 yaş altında hastalar iken, ülkemizde yapılan başka bir çalışmada penisilin dirençli izolatların %66,2'si 2 yaş altındaki hastalardan oluşmaktaydı (62). Çalışmamızdaki izolat sayısı diğer çalışmaya göre daha azdır ancak KPA13 uygulama dönemindeki izolatları da içermektedir. Bu nedenle çalışmamızda 2 yaş altındaki hastalarda meningeal enfeksiyona penisilin direnç oranları daha düşük bulunmuştur. Ayrıca penisilin direnci görülen izolatlar içerisinde en sık 19F ve 23F serotipleri belirlenmiş olup ülkemizde yapılan önceki çalışmalarla benzer sonuçlar bulunmuştur (61,62).

Araştırmamızda, çalışma periyodumuzu, 2009-2014 ve 2015-2019 olarak iki döneme ayırıp, beş yaş altı çocuklardaki izolatların penisilin (meningeal enfeksiyona göre) direnç oranını değerlendirdiğimizde, sırasıyla %34,7 ve %46,1 olarak belirlenmiştir. Seftriakson (meningeal enfeksiyona göre) direnç oranına baktığımızda ise 2009-2014' de %8,6 iken 2015-2019 yılları arasında %7,6 olduğu saptanmıştır. Antibiyotik direnç oranlarında yıllara göre belirgin bir değişim görülmemektedir. Çalışmamızdan elde edilen bu sonuç ülkemizde son 10 yıl içinde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında belirgin bir farklılık göstermemektedir.

6. SONUÇLAR

1- Çalışma süresince toplam 50 çocuğa invaziv pnömokok hastalığı tanısı konuldu. Çocukların 29'u (%58) erkek, 21'i (%42) kız idi.

2- İPH en sık 5 yaş altı çocuklarda (%86,3) saptandı. Hastaların yaş dağılımına bakıldığında, 27 tanesi (%61,3) 2 yaş ve altında, 11 tanesi (%25) 2-5 yaş arasında, 6 tanesi (%13,7) 5 yaş üstündeydi.

3- Çalışma süresince 5 yaş altı sağlıklı çocuklarda yıllık invaziv pnömokok hastalığı sıklığının 100.000 hastane başvurusunda anlamlı olarak azaldığı görülmüştür.

4- KPA13 dönemindeki 5 yaş altı sağlıklı çocuklarda İPH sıklığının azalma hızı, KPA7 dönemi ile karşılaştırıldığında, anlamlı olarak daha fazla olduğu belirlenmiştir.

5- Beş yaş altındaki çocuklar hastalık tipine göre değerlendirildiğinde en sık (%79) gizli bakteriyemi/sepsis tanısı almıştır.

6- KPA7 döneminde İPH'larda görülen KPA13 serotiplerinin oranı %81,8 iken, KPA13 uygulaması sonrası 8 yıl içinde bu oran %29,6'ya gerilemiştir.

7- Beş yaş altındaki hastalarda aşı dışı serotiplerin oranının, KPA13 döneminde, KPA7 dönemine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

8- KPA7 döneminde saptanan serotiplerin %45,5 7 bileşenli, %81,8 13 bileşenli aşı tarafından kapsanmaktadır. Ayrıca KPA7 döneminde görülen 2 aşı dışı serotip KPA15 ve KPA20'nin içeriğinde de yer almamaktadır.

9- KPA13 döneminde saptanan izolatların %29,7'si 13 bileşenli aşı tarafından kapsanmaktadır. Bu dönemdeki serotiplerin %70,3'ü KPA13 tarafından kapsanmamaktadır. KPA13 tarafından kapsanmayan bu serotiplerin %5,2'si KPA15, %26,3'ü KPA20 tarafından kapsanmaktadır.

10- Çalışma dönemi boyunca 5 yaş altı hastalarda elde edilen izolatların aşı kapsama oranları, KPA7'nin %23,5, KPA13'ün %41,1, KPA15'in %44,1 ve KPA20'nin %55,8 olarak belirlenmiştir.

11- Çalışma süresince en sık saptanan serotipler, 19F, 23F, 7F, 31 ve 24B idi.

12- Sadece 1 hasta da serotip 19A İPH'na neden oldu.

13- Beş yaş altı çocuklarda izole edilen serotiplerin %38,8'i meningeal enfeksiyona göre penisiline, %8,3'ü meningeal enfeksiyona göre seftriakson dirençliydi.

14- Beş yaş altı çocuklarda Nonmeningeal enfeksiyona göre penisilin ve seftriakson MİK değerleri incelendiğinde tüm izolatların duyarlı olduğu bulundu.

15- KPA7 tarafından kapsanan izolatların %70'i, KPA13 tarafından kapsananların %43,7'si penisilin (meningeal enfeksiyona göre) dirençliydi.

16- Penisilin direnci görülen izolatlar içerisinde en sık 19F ve 23F serotipleri görüldü.

17- Aşı dışı serotiplerin penisilin direnç oranı %44,4 olarak belirlendi ve en sık 24B'de penisilin direnci görüldü.

18- Beş yaş altı çocuklardaki izolatların penisilin (meningeal enfeksiyona göre) direnç oranı, çalışmamızın ilk döneminde %34,7 iken 2. Döneminde %46,1 olarak saptanmıştır.

19- Çalışma periyodu sırasında meningeal enfeksiyona göre penisilin ve seftriakson direnç oranlarında belirgin bir değişim görülmedi.

ÖZET

Konjuge Pnömonokok Aşısı Uygulaması Sonrası Çocuklarda İnvaziv Pnömonokok Hastalığı Sıklığı, Serotip Dağılımı ve Antibiyotik Direnci

Streptococcus pneumoniae, yaygın aşılama programlarına rağmen, enfeksiyon hastalıkları ile ilişkili ölümlerin en önemli nedenlerindendir. İlk olarak 2000 yılında yedi bileşenli konjuge pnömokok aşısı (KPA), ardından 2009'da KPA10 ve 2010'da KPA13 üretilmiş ve birçok ülkenin ulusal aşı takviminde yerlerini almışlardır. Bu aşılardan uygulamalarından sonra tüm dünyada İPH insidansında ve antibiyotik direncinde azalma görülmüştür. Türkiye'de ilk olarak KPA7 Ekim 2005' de ruhsat almış, Nisan 2011 tarihinden sonra KPA13 Ulusal Aşı Takviminin bir parçası olmuştur. Dünyanın diğer bölgelerinde olduğu gibi Türkiye'de de aşı uygulaması sonrasında İPH insidansında azalma, aşı kapsamındaki serotiplerle ilişkili invaziv hastalıklarda azalma, İPH neden olan serotiplerin aşı dışı serotipler lehine değişimi ve antibiyotik direnç oranlarında düşme olması beklenmektedir. Bu çalışma, KPA13 uygulaması sonrası ülkemizdeki pnömokok epidemiyolojisindeki değişimleri belirlemek ve gelecekteki aşı çalışmalarına yol gösterici olması amacıyla yapılmıştır.

Çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (AÜTF) Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, AÜTF Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, AÜTF Cebeci Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı Ulusal Solunum Yolu Patojenleri Referans Laboratuvarı ve Ulusal Moleküler Mikrobiyoloji Referans Merkez Laboratuvarı'nda retrospektif olarak yürütüldü. Ekim 2009 ile Ekim 2019 tarihleri arasında AÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genel Pediatri Polikliniği ve Acil Polikliniğine başvuran 0-18 yaş arasındaki çocuklardan invaziv pnömokok hastalığı tanısı alanlar çalışmaya dahil edildi. Pnömonokok suşlarının penisilin ve sefotaksime karşı duyarlılığı E-test yöntemi ile Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterleri temel alınarak belirlendi. İzolatlar Quellung reaksiyonu veya PCR yöntemi ile serotiplendirildi.

Çalışma süresince 50 çocuğa invaziv pnömokok hastalığı tanısı konuldu. Altı hastada invaziv pnömokok hastalığı için risk oluşturan hastalık bulunmaktaydı. Bu hastalar dışında invaziv pnömokok hastalığı teşhisi konulan 6 hastada laboratuvarındaki teknik nedenler nedeniyle serotip ve antibiyotik direnci değerlendirilemedi. Sadece önceden sağlıklı olan hastalardan elde edilen verilerle hastalık yaş dağılımı, hastalık insidansı ve serotip analizleri belirlendi. Önceden sağlıklı olan 44 hasta değerlendirildiğinde hastalardan 27 tanesi (%61,3) 2 yaş ve altında, 11 tanesi (%25) 2-5 yaş arasında, 6 tanesi (%13,7) 5 yaş üstündeydi. Bu sonuçlar İPH'in halen 5 yaş altı çocuklarda daha yaygın olduğunu göstermektedir. Beş yaş altındaki çocuklar hastalık tipine göre değerlendirildiğinde, 30 (%79) hasta gizli bakteriyemi/sepsis, 8 (%21) hasta pürülan menenjit tanısı almıştır. Önceden sağlıklı olan 5 yaş üstü hastaların 5'i menenjit ve 1 tanesi bakteriyemi tanısı aldı.

Çalışma süresince 5 yaş altı sağlıklı çocuklarda yıllık invaziv pnömokok hastalığı sıklığının, 2009 yılında 100.000 hastane başvurusunda 9,35'ten 2019'da 100.000 hastane başvurusunda 0,83'e anlamlı olarak azaldığı görülmüştür ($p<0.001$). Bu sonuçlar rutin aşı uygulaması sonrası invaziv hastalıkların görülme sıklığının azalacağı hipotezimizi desteklemektedir.

Araştırmamızda serotipleme analizleri, KPA7 ve KPA13'ün rutin uygulamaya girdiği tarihlere göre ayrılarak değerlendirilmiştir. Çalışma süresi boyunca KPA7 serotipleri ve KPA13 serotipleri sırasıyla %28,9 (11/38) ve %44,7 (17/38) oranında görülmüştür. En sık saptanan serotipler, 19F (6 hasta), 23F (4 hasta) ve 7F (3 hasta), 31 (2 hasta) ve 24B (2 hasta) idi. KPA13 döneminde, tam aşılı 3 çocukta KPA13 kapsamında olan 19F serotipinin neden olduğu İPH görüldü. Çalışmamızdaki aşı dışı serotiplerin oranı ise KPA7 döneminde %54,5 (6/11), KPA13 döneminde %70,3 (19/27) olarak saptanmıştır. Aşı dışı serotiplerin oranı zaman içinde arttığı görüldü ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p = 0,557$).

Araştırmamızda KPA7 dönemindeki İPH'larda görülen KPA13 serotiplerinin oranı %81,8 (9/11) iken, KPA13 uygulaması sonrası 8 yıl içinde bu oran %29,6'ya (8/27) gerilemiştir. KPA7 döneminde saptanan serotiplerin 5'i (%45,5) 7 bileşenli, 9'u (%81,8) 13 bileşenli aşı tarafından kapsanmaktadır. Bu zaman diliminde görülen serotiplerden 2 (%18,1) tanesi hem KPA7 hem de KPA13 tarafından kapsanmıyordu. Ayrıca KPA7 döneminde görülen bu 2 aşı dışı serotip KPA15 ve KPA20'nin içeriğinde de yer almamaktadır. KPA13 döneminde saptanan izolatların 8'i (%29,7) 13 değerlikli aşı tarafından kapsanmaktadır. Bu dönemde KPA13 tarafından kapsanmayan 19 (%70,3) serotip belirlenmiştir. KPA13 tarafından kapsanmayan bu serotiplerin 1 (%5,2) tanesi KPA15, 5 (%26,3) tanesi KPA20 tarafından kapsanmaktadır.

Çalışma periyodu boyunca tüm hastalarda aşı kapsama oranları incelendiğinde KPA7'nin serotip kapsama oranı %28,9 (11/38), KPA13' ünse %44,7 (17/38) olarak belirlenmiştir. Bu süreçte KPA15'in serotip kapsama oranı %47,3(18/38), KPA20'ninse %57,8 (22/38) olacağı saptanmıştır.

Çalışmaya alınan 44 izolattan ikisi PCR ile saptandığı için, 1 tanesi de laboratuvardaki teknik nedenlerden dolayı antibiyotik duyarlılığı açısından incelenemedi. Nonmeningeal enfeksiyona göre penisilin ve seftriakson MİK değerleri incelendiğinde izolatların tümünün duyarlı olduğu bulundu. Meningeal enfeksiyona göre penisilin MİK değeri incelendiğinde 18 (%43,9) hastanın dirençli, seftriakson MİK değerine göre ise 4 (%9,75) hastanın dirençli olduğu belirlendi. KPA7 tarafından kapsananlar penisilin (meningeal enfeksiyona göre) duyarlılıkları açısından değerlendirildiğinde, izolatların 7'si (%70) penisilin dirençli, KPA13 tarafından kapsananların 7'si (%43,7) penisilin dirençliydi. Penisilin direnci görülen izolatlar içerisinde en sık 19F (4 izolat) ve 23F (3 izolat) serotipleri belirlendi. Aşı dışı serotiplerin penisilin direnç oranıysa %44,4 (8/18) olarak belirlendi. Çalışma periyodumuz 2009-2014 ve 2015-2019 olarak iki döneme ayrılıp beş yaş altı çocuklarda meningeal enfeksiyona göre penisilin ve seftriakson direnç oranları belirlendi. İki dönem arasında antibiyotik direnci açısından anlamlı bir fark bulunmadı.

Sonuç olarak, çalışmamız tek merkezli olsa bile, KPA13 uygulaması sonrası 5 yaş altı çocuklarda invaziv pnömokok hastalığının sıklığında azalma olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda aşı içeriğindeki serotiplerin oranı azalırken, aşı dışı serotiplerde artış olduğu belirlendi. Ancak diğer birçok ülkeden farklı olarak, aşı dışı serotiplerden 22F ve 33F'de artış izlenmedi. Çalışmamızda antibiyotik direnç oranlarında yıllara göre belirgin bir değişim görülmedi.

Anahtar Sözcükler: İnvaziv pnömokok hastalığı, konjuge pnömokok aşısı, pnömokok antibiyotik direnci, pnömokok serotip dağılımı, *Streptococcus pneumoniae*.

SUMMARY

Prevalence, Serotype Distribution and Antibiotic Resistance of Invasive Pneumococcal Disease After 13-Valent Pneumococcal Conjugated Vaccine

Streptococcus pneumoniae, despite widespread vaccination programs, is one of the most important causes of death associated with infectious diseases. Therefore, 7-Valent Pneumococcal Conjugated Vaccine (PCV7), 10-Valent Pneumococcal Conjugated Vaccine (PCV10) and 13-Valent Pneumococcal Conjugated Vaccine (PCV13), which were produced respectively in 2000, 2009 and 2010, have taken their places in national immunization programmes of many countries. After the vaccination there has been decrease in the incidence of Invasive Pneumococcal Disease (IPD) and antibiotic resistance worldwide. In Turkey, primarily PCV7 received certificate in October 2005 and lastly PCV13 became a part of our national immunization programme in April 2011. As in other parts of the world also in Turkey after vaccination, it is expected that there will be a decrease in the incidence of IPD, a reduction in invasive diseases associated with vaccine serotypes, change of serotypes causing IPD in favor of non-vaccine serotypes and a decline in antibiotic resistance rates. This study was conducted to determine the changes in the epidemiology of pneumococcus in our country after PCV13 and it aimed to guide future vaccine studies.

This study was conducted as a retrospective research project in collaboration of Department of Paediatrics, Department of Paediatric Infectious Diseases and Cebeci Hospital Microbiology Laboratory at Ankara University Medical School, and National Reference Microbiology Laboratory for Respiratory Pathogens, and Molecular Microbiology Reference Laboratory at Public Health Association Turkish Ministry of Health. The patients included the study were chosen among the children aged 0-18 years who applied Ankara University Medical School's Department of Paediatrics or Emergency Department in between October 2009- October 2019 and were diagnosed with invasive pneumococcal disease. The susceptibility of pneumococcal strains to penicillin and cefotaxime was determined by E-test method based on Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) criteria. The isolates were serotyped by Quellung reaction or PCR method.

During the ten-year period focused in the study, 50 children were diagnosed with invasive pneumococcal disease. Six of these children had underlying diseases that posed a risk for invasive pneumococcal disease. In 6 of the remaining 44 patients, serotype and antibiotic resistance could not be evaluated due to technical problems in the laboratory. Disease age distribution, disease incidence and serotype analysis were determined with the data obtained from previously healthy patients. Of the 44 previously healthy patients, 27 (61.3%) were under 2 years of age, 11 (25%) were between 2-5 years of age, and 6 (13.7%) were over 5 years of age. These results suggest that IPD is still more common in children under 5 years of age. Evaluation made according to type of disease showed that 30 (79%) of children under 5 years were diagnosed with occult bacteremia / sepsis and 8 (21%) had purulent meningitis. On the other hand, 5 of the previously healthy patients over 5 years of age were diagnosed with meningitis and 1 with bacteremia.

In 2009, the incidence of invasive pneumococcal disease among healthy children under 5 years of age was 9,35 for 100,000 hospital admissions, but it decreased

significantly to 0.83 in 2019 ($p < 0.001$). These results support our hypothesis that the incidence of invasive diseases will decrease after routine vaccination.

In our study, serotyping analyzes were evaluated according to the dates when the PCV7 and PCV13 were routinely applied. During the study period, the PCV7-serotypes and the PCV13-serotypes were 28.9% (11/38) and 44.7% (17/38), respectively. The most common serotypes were 19F (6 patients), 23F (4 patients) and 7F (3 patients), 31 (2 patients) and 24B (2 patients). In the PCV13 period, three fully vaccinated children had IPD caused by serotype 19F covered by PCV13. The rate of non-vaccine serotypes in our study was 54.5% (6/11) in the PCV7 period and 70.3% (19/27) in the PCV13 period. The proportion of non-vaccine serotypes increased over time, but this increase was not statistically significant ($p = 0.557$).

Our study showed that the rate of PCV13 serotypes seen in IPDs was 81.8% (9/11) in the PCV7 period, but it decreased to 29.6% (8/27) within 8 years after PCV13 vaccination. While 5 (45.5%) of the serotypes detected in the PCV7 period were covered by PCV7, 9 of them (81.8%) were covered by PCV13; but 2 (18.1%) of the serotypes seen in this time period were covered by neither PCV7 nor PCV13. In addition, these 2 non-vaccine serotypes seen in the PCV7 period are not included in the content of PCV15 and PCV20. Of the isolates detected in the PCV13 period, 8 (29.7%) were covered by 13 valent vaccines. In this period, 19 (70.3%) serotypes that not covered by PCV13 were detected. One (5.2%) of these serotypes was covered by PCV15 and 5 (26.3%) of them were covered by PCV20.

When the vaccine coverage rates were examined in all patients during the study period, serotype coverage rate of PCV7 was determined as 28.9% (11/38) and 44.7% (17/38) of PCV13. In this process, the serotype coverage rate for PCV15 was found to be 47.3% (18/38) and 57.8% (22/38) for PCV20.

In consequence of two isolates were detected by PCR method and one isolate exposed some technical problems in the laboratory, three of the 44 isolates that the study includes could not be examined for antibiotic susceptibility. Evaluation of penicillin and ceftriaxone MIC values according to non-meningeal infection showed that all of the isolates were susceptible to penicillin and ceftriaxone. When MIC values were evaluated according to meningeal infection, it was seen that 18 (43.9%) patients were resistant to penicillin and four (9.75%) patients were resistant to ceftriaxone. Penicillin susceptibility evaluation of isolates covered by vaccines according to meningeal infection indicated that seven (70%) of those covered by PCV7 and seven (43.7%) of those covered by PCV13 were resistant to penicillin. Among the isolates with penicillin resistance, the most common serotypes were 19F (4 isolates) and 23F (3 isolates). Penicillin resistance rate of non-vaccine serotypes was 44.4% (8/18). Our study period was divided into two periods as 2009-2014 and 2015-2019, and penicillin and ceftriaxone resistance rates were determined in children under five years of age according to meningeal infection. There was no significant difference in antibiotic resistance between the two periods.

In conclusion, even if it was a single-center study, it showed that the incidence of invasive pneumococcal disease decreased in children under 5 years of age after PCV13 vaccination. In our study, it was determined that the ratio of serotypes in vaccine content decreased while non-vaccine serotypes increased. However, unlike

many other countries, there was no increase in the non-vaccine serotypes 22F and 33F. In our study, no significant change in antibiotic resistance rates over the years was observed.

Key Words: *Streptococcus pneumoniae*, pneumococcal conjugate vaccine, invasive pneumococcal diseases serotype distribution, antibiotic resistance



KAYNAKLAR

1. World Health Organization (WHO). Pneumococcal conjugated vaccine for childhood immunization-WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec.* 2007; 82: 93–104.
2. Musher DM. *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, seventh edition. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 2010: 2623-2642.
3. Hausdorff WP, Feikie DR, Klugman KP. Epidemiological differences among pneumococcal serotypes. *Lancet Infect Dis.* 2005; 5: 83-93.
4. Meeting of the Immunization Strategic Advisory Group of Expert, November 2007-conclusions and recommendations. *Wkly Epidemiol Rec.* 2008; 83:1-15.
5. Butler JC, Breiman RF, Lipman HB, Hofmann J, Facklam RR. Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* infections among preschool children in the United States, 1978-1994: implications for development of a conjugate vaccine. *J Infect Dis.* 1995;171: 885-9.
6. Kyaw MH, Lynfield R, Schaffner W, Craig AS, Hadler J, Reingold A., Thomas AR, Harrison LH, Bennett NM, Farley MM, Facklam RR, Jorgensen JH, Besser J, Zell ER, Schuchat A, Whitney CG; Active Bacterial Core Surveillance of the Emerging Infections Program Network. Effect of introduction of the pneumococcal conjugate vaccine on drug resistant *Streptococcus pneumoniae*. *N Engl J Med.* 2006;354: 1455–63.
7. Grijalva CG, Poehling KA, Nuorti JP, Zhu Y, Martin SW, Edwards KM, Griffin MR. National impact of universal childhood immunization with pneumococcal conjugate vaccine on outpatient medical care visits in the United States. *Pediatrics* 2006; 118: 865–873.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Pneumonia hospitalizations among young children before and after introduction of pneumococcal conjugate vaccine – United States, 1997–2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2009; 58:1–4.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Invasive pneumococcal disease in children 5 years after conjugate vaccine introduction--eight states, 1998-2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2008;57: 144–148.

10. Hicks LA, Harrison LH, Flannery B, Hadler JL, Schaffner W, Craig AS, Jackson D, Thomas A, Beall B, Lynfield R, Reingold A, Farley MM, Whitney CG. Incidence of pneumococcal disease due to non-pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) serotypes in the United States during the era of widespread PCV7 vaccination, 1998-2004. *J Infect Dis* 2007; 196: 1346-1354.
11. Hsu HE, Shutt KA, Moore MR, Beall BW, Bennett NM, Craig AS, Farley MM, Jorgensen JH, Lexau CA, Petit S, Reingold A, Schaffner W, Thomas A, Whitney CG, Harrison LH. Effect of pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal meningitis. *N Engl J Med*. 2009; 360: 244-256.
12. Pilishvili T, Lexau C, Farley MM, Hadler J, Harrison LH, Bennett NM, Reingold A, Thomas A, Schaffner W, Craig AS, Smith PJ, Beall BW, Whitney CG, Moore MR; Active Bacterial Core Surveillance/Emerging Infections Program Network. Sustained reductions in invasive pneumococcal disease in the era of conjugate vaccine. *J Infect Dis* 2010; 201: 32–41.
13. Jacobs MR, Good CE, Bajaksouzian S, Windau AR. Emergence of *Streptococcus pneumoniae* serotypes 19A, 6C, and 22F and serogroup 15 in Cleveland, Ohio, in relation to introduction of the protein-conjugated pneumococcal vaccine. *Clin Infect Dis*. 2008; 47: 1388–1395.
14. Kaplan SL, Barson WJ, Lin PL, Stovall SH, Bradley JS, Tan TQ, Hoffman JA, Givner LB, Mason EO Jr. Serotype 19A is the most common serotype causing invasive pneumococcal infections in children. *Pediatrics*. 2010; 125: 429–436.
15. Hsu KK, Shea KM, Stevenson AE, Pelton SI; Massachusetts Department of Public Health, Changing serotypes causing childhood invasive pneumococcal disease: Massachusetts, 2001-2007. *Pediatr Infect Dis J*. 2010; 29:289-93.
16. Cohen R, Levy C, de La RF, Gelbert N, Wollner A, Fritzell B, Bonnet E, Tetelboum R, Varon E. Impact of pneumococcal conjugate vaccine and of reduction of antibiotic use on nasopharyngeal carriage of nonsusceptible pneumococci in children with acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25: 1001-1007.
17. Gray BM, Musher DM. The history of pneumococcal disease. In: Siber G, Klugman KP, Makela P, eds. *Pneumococcal Vaccines: The Impact of Conjugate Vaccine*. Washington DC: ASM Press, 2008: 3-17.

18. Heffron R. *Pneumonia with Special Reference to Pneumococcus Lobar Pneumonia*. New York: Commonwealth Fund; 1939 [reprinted by Harvard University Press, 1979].
19. Musher DM, Watson DA, Dominguez EA. Pneumococcal vaccination: Work to date and future prospects. *Am J Med Sci*.1990;300: 45-52.
20. Peter G, Klein JO. *Streptococcus pneumoniae*. In: Long SS, Pickering LK, Prober CG, eds. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone Elsevier, 2008: 725-733.
21. Palmu AA., Jokinen J, Borys D, Nieminen, H, Ruokokoski E, Siira L, Puumalainen T, Lommel P, Hezareh M, Moreira M, Schuerman L, Kilpi TM. Effectiveness of the ten-valent pneumococcal Haemophilus influenzae protein D conjugate vaccine (PHiD-CV10) against invasive pneumococcal disease: a cluster randomised trial. *Lancet*. 2013; 381: 214–222.
22. Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health International Vaccine Access Center (IVAC). View-hub report: Global vaccine introduction and Implementation, March 2018.
23. Greenberg D, Hoover PA, Vesikari T, Peltier C, Hurley DC, McFetridge RD, Dallas M, Hartzel J, Marchese RD, Collier BG, Stek JE, Abeygunawardana C, Winters MA, MacNair JE, Pujar NS, Musey L. Safety and immunogenicity of 15-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV15) in healthy infants. *Vaccine* 2018; 36: 6883-6891.
24. Thompson A, Lamberth E, Severs J, Scully I, Tarabar S, Ginis J, Jansen KU, Gruber WC, Scott DA, Watson W. Phase 1 trial of a 20 valent pneumococcal conjugate vaccine in healthy adults. *Vaccine* 2019; 37: 6201-6207.
25. Cengiz AT. *Streptococcus pneumoniae*. In: Ustaçelebi ğ, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 365-369.
26. Sorensen UB. Pneumococcal polysaccharide antigens: Capsules and Cpolysaccharide. An immunochemical study. *Dan Med Bull*. 1995; 42: 47-53.
27. Ertugrul N, Rodriguez-Barradas MC, Musher DM, Ryan MA, Aqin CS, Murphy SJ, Shayegani Y, Watson DA. BOX-polymerase chain reactionbased DNA analysis of nonserotypeable *Streptococcus pneumoniae* implicated in outbreaks of conjunctivitis. *J Infect Dis*. 1997; 176: 1401-1405.

28. Van Dam JE, Flier A, Snippe H. Immunogenicity and immunochemistry of *Streptococcus pneumoniae* capsular polysaccharides. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 1990; 58: 1-47.
29. Yother J, Bentley S, Hennessey J Jr. Genetics, biosynthesis and chemistry of pneumococcal capsular polysaccharides. In: Siber G, Klugman KP, Makela P, eds. *Pneumococcal Vaccines: The Impact Of Conjugate Vaccine*. Washington DC: ASM Press; 2008:33-46.
30. Austrian R. Pneumococcal polysaccharide vaccines. *Rev Infect Dis*. 1989; 11: 598-602.
31. Peter G, Klein JO. *Streptococcus pneumoniae*. In: Long SS, Pickering LK, Prober CG, eds. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone Elsevier, 2008: 725-733.
32. Musher DM, Johnson Jr B, Watson DA. Quantitative relationship between anticapsular antibody measured by enzyme-linked immunosorbent assay or radioimmunoassay and protection of mice against challenge with *Streptococcus pneumoniae* serotype 4. *Infect Immun*. 1990;58: 3871-3876.
33. Brueggemann AB, Griffiths DT, Meats E, Peto T, Crook DW, Spratt BG. Clonal relationships between invasive and carriage *Streptococcus pneumoniae* and serotype- and clone-specific differences in invasive disease potential. *J Infect Dis* 2003;187: 1424–1432.
34. Brueggemann AB, Peto TE, Crook DW, Butler JC, Kristinsson KG, Spratt BG. Temporal and geographic stability of the serogroup-specific invasive disease potential of *Streptococcus pneumoniae* in children. *J Infect Dis*. 2004 Oct 1; 190: 1203-11.
35. Boulnois GJ. Pneumococcal proteins and the pathogenesis of disease caused by *Streptococcus pneumoniae*. *J Gen Microbiol*. 1992; 138: 249-259.
36. Paton JC, Berry AM, Lock RA. Molecular analysis of putative pneumococcal virulence proteins. *Microb Drug Resist*. 1997; 3: 1-10.
37. Cundell DR, Pearce BJ, Sandros J, Naughton AM, Masure HR. Peptide permeases from *Streptococcus pneumoniae* affect adherence to eucaryotic cells. *Infect Immun*. 1995; 63: 493-498.
38. Fillon S, Soulis K, Rajasekaran S, Benedict-Hamilton H, Radin JN, Orihuela CJ, El Kasmi KC, Murti G, Kaushal D, Gaber MW, Weber JR, Murray PJ, Tuomanen EI. Platelet-activating factor receptor and innate immunity:

- uptake of gram-positive bacterial cell wall into host cells and cell-specific pathophysiology. *J Immunol.* 2006;177: 6182-6191.
39. Krivan H, Roberts D, Ginsberg V. Many pulmonary pathogenic bacteria bind specifically to the carbohydrate sequence GalNAc B1-4-Gal found in some glycolipids. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988;85: 6157-6161.
 40. Sundberg-Kovamees M, Holme T, Sjorgren A. Interaction of the C-polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* with the receptor asialo-GM. *Microb Pathog.* 1996;21: 223-234.
 41. Salyers AA, Whitt DD: Bacterial pathogenesis a molecular approach, p 322, 1st Ed, ASM Press, Washington DC (1994).
 42. Rodriguez-Barradas MC, Das TS, Watsan DA, Musher DM: Relative contribution of cell wall and capsular polysaccharides in activating alternative and classical complement pathways by *Streptococcus pneumoniae*, *Med Microbiol Lett* 2: 427 (1993).
 43. *Streptococcus pneumoniae*, 1998. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC 1999.
 44. Pai R, Moore MR, Pilishvili T, Gertz RE, Whitney CG, Beall B; Active Bacterial Core Surveillance Team. Postvaccine genetic structure of *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A from children in the United States. *J Infect Dis.* 2005; 192: 1988-95.
 45. Isaacman DJ, McIntosh ED, Reinert RR. Burden of invasive pneumococcal disease and serotype distribution among *Streptococcus pneumoniae* isolates in young children in Europe: impact of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and considerations for future conjugate vaccines. *Int J Infect Dis* 2010; 14: 197-209.
 46. Center KJ. Prevenar vaccination: review of the global data, 2006. *Vaccine* 2007; 25: 3085–9.
 47. Van der Linden M, Reinert R. Surveillance of IPD in children in Germany 2004–2008, before and after the introduction of the national immunization program for PCV7. 6th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases, 2008.
 48. Munoz-Almagro C, Jordan I, Gene A, Latorre C, Garcia-Garcia JJ, Pallares R. Emergence of invasive pneumococcal disease caused by nonvaccine serotypes in the era of 7-valent conjugate vaccine. *Clin Infect Dis.* 2008; 46: 174–82.

49. Centers for Disease Control and Prevention. Invasive pneumococcal disease in children 5 years after conjugate vaccine introduction – eight states, 1998–2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2008; 57: 144–8.
50. Myint TT, Madhava H, Balmer P, Christopoulou D, Attal S, Menegas D, Sprenger R, Bonnet E. The impact of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on invasive pneumococcal disease: a literature review. *Adv. Ther.* 2013; 30: 127-51.
51. National burden of disease study, ministry of health (T.C. Sağlık Bakanlığı, Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi, Başkanlığı, Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü, Başkent Üniveristesi, Ulusal Hastalık Yüğü ve Maliyet Etkinlik projesi) 2004.
52. Bakır M. Türkiye’de Pnömokok Problemi. *Çocuk Enf Derg* 2010; 4: 20-2.
53. Başara BB, Güler C, Yentür GK. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2014. Sentez Matbaacılık ve Yayıncılık, Ankara: Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü Sağlık Bakanlığı; 2015.
54. Ceyhan M. Konjuge pnömokok aşılarda son gelişmeler: 13-valanlı konjuge pnömokok aşısı. *Çocuk Enf Derg.* 2011; 5: 68-73.
55. Turel O, McIntosh EDG, Bakır M. Cost-effectiveness of 7-valent pneoumococcal conjugate vaccine (PCV) including herd protection in Turkey. *Value in Health* 2008; 11:436.
56. Ceyhan M. Economic burden of pneumococcal infections in children under 5 years of age. *Hum Vaccin Immunother.* 2018; 14: 106–110.
57. Johnson HL, Deloria-Knoll M, Levine OS, Stoszek SK, Freimanis Hance L, Reithinger R, Muenz LR, O'Brien KL. Systematic Evaluation of Serotypes Causing Invasive Pneumococcal Disease among Children Under Five: The Pneumococcal Global Serotype Project. *PLoS Medicine* 2010; 7: e1000348.
58. Butler JC. Epidemiology of pneumococcal serotypes and conjugate vaccine formulations. *Microb Drug Resist* 1997;3: 125-9.
59. Kalin M. Pneumococcal serotypes and their clinical relevance. *Thorax* 1998;53: 159-62.
60. Hausdorff WP, Bryant J, Paradiso PR, and Siber GR. Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: implications for conjugate vaccine formulation and use, part I. *Clin Infect Dis.* 2000;30: 100-21.
61. Yalçın I, Gürler N, Alhan E, Yaman A, Turgut M, Celik U, Akçakaya N, Camcioğlu Y, Diren S, Yildirim B. Serotype distribution and antibiotic

- susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* disease isolates from children in Turkey, 2001–2004. *Eur J Pediatr*. 2006; 165: 654–657.
62. Ceyhan M, Gurler N, Yaman A, Ozturk C, Oksuz L, Ozkan S, Keser M, Salman N, Alhan E, Esel D, Gultekin M, Camcioglu Y, Gul M, Sorguc Y, Aydemir S, Gunaydin M, Yakupogullari Y, Kizirgil A. Serotypes of *Streptococcus pneumoniae* Isolates from Children with Invasive Pneumococcal Disease in Turkey: Baseline Evaluation of the Introduction of the Pneumococcal Conjugate Vaccine Nationwide. *Clin Vaccine Immunol*, 2011;18: 1028–1030.
63. Shouval DS, Greenberg D, Givon-Lavi N, Porat N, Dagan R. Site-specific disease potential of individual *Streptococcus pneumoniae* serotypes in pediatric invasive disease, acute otitis media and acute conjunctivitis. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25: 602-607.
64. Jefferson T, Ferroni E, Curtale F, Giorgi Rossi P, Borgia P. *Streptococcus pneumoniae* in western Europe: serotype distribution and incidence in children less than 2 years old. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 405-10.
65. Moore MR, Gertz RE Jr, Woodbury RL, Barkocy-Gallagher GA, Schaffner W, Lexau C, Gershman K, Reingold A, Farley M, Harrison LH, Hadler JL, Bennett NM, Thomas AR, McGee L, Pilishvili T, Brueggemann AB, Whitney CG, Jorgensen JH, Beall B. Population snapshot of emergent *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in the United States, 2005. *J Infect Dis* 2008; 197: 1016-1027.
66. Sümerkan B. *Streptococcus pneumoniae*. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, eds. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008: 2051-2056.
67. Berkiten R. Türkiye’de *Streptococcus pneumoniae*: Antibiyotiklere direnç, eritromisin direnç fenotipleri ve serotip dağılımı. *ANKEM Derg.* 2006; 20: 114-124.
68. Gürler N. Pnömonokok infeksiyonlarında mikrobiyoloji ve direnç. *ANKEM Derg.* 2008; 22: 238-251.
69. Sümerkan B. Dirençli pnömonokoklar. *ANKEM Derg.* 2006; 20 (Ek 2): 282-285.
70. Kislak JW, Razavi LMB, Daly AK, Finland M. Susceptibility of pneumococci to nine antibiotics. *Am J Med Sci.* 1965;250: 261-268.
71. Hansman D, Bullen MN. A resistant pneumococcus. *Lancet* 1967; 2: 264-265.

72. Jacobs MR, Koornhof HJ, Robbins –Browne RM, et al. Emergence of multiply resistant pneumococci. *N Eng J Med* 1978; 299:735-740.
73. Appelbaum PC. Epidemiology and in vitro susceptibility of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Pediatr Infect Dis J*. 1996; 15:932-939.
74. Schrag SJ, Beall B, Dowell SF. Limiting the spread of resistant pneumococci: biological and epidemiologic evidence for the effectiveness of alternative interventions. *Clin Microbiol Rev* 2000;13: 588-60.
75. Whitney CG, Farley MM, Hadler J, Harrison LH, Lexau C, Reingold A, Lefkowitz L, Cieslak PR, Cetron M, Zell ER, Jorgensen JH, Schuchat A; Active Bacterial Core Surveillance Program of the Emerging Infections Program Network. Increasing prevalence of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *N Engl J Med*. 2000;343: 1917-1924.
76. McCormick AW, Whitney CG, Farley MM, Lynfield R, Harrison LH, Bennett NM, Schaffner W, Reingold A, Hadler J, Cieslak P, Samore MH, Lipsitch M. Geographic diversity and temporal trends of antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *Nat Med*. 2003;9: 424-430.
77. Sahm DF, Brown NP, Draghi DC, Evangelista AT, Yee YC, Thornsberry C. Tracking resistance among bacterial respiratory tract pathogens: Summary of findings of the TRUST Surveillance Initiative, 2001-2005. *Postgrad Med*. 2008; 120: 8-15.
78. Overweg K, Bogaert D, Sluijter M, Yother J, Dankert J, de Groot R, Hermans PW. Genetic relatedness within serotypes of penicillin-susceptible *Streptococcus pneumoniae* isolates. *J Clin Microbiol*. 2000;38: 4548-4553.
79. Tunçkanat F, Akan Ö, Gür D, Akalın HE. *Streptococcus pneumoniae* suşlarında penisilin direnci. *Mikrobiyol Bül* 1992; 26: 307-313.
80. Akıncı A, Birengel S, Azap A, Balık İ, Tekeli E. Pnömonoklarda penisilin direncinin E testi ile araştırılması. XXVI-II. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Antalya, Özet no: 12-178, 4-9 Ekim 1998.
81. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
82. Figueiredo AM, Connor JD, Severin A, Vaz Pato MV, Tomasz A. A pneumococcal clinical isolate with high-level resistance to cefotaxime and ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36: 886–889.

83. Karlowsky JA, Thornsberry C, Jones ME, Evangelista AT, Critchley IA, Sahm DF; TRUST Surveillance Program. Factors associated with relative rates of antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae* in the United States: Results from the TRUST Surveillance Program (1998-2002). *Clin Infect Dis*. 2003;36: 963-970.
84. Doern GV, Richter SS, Miller A, Miller N, Rice C, Heilmann K, Beekmann S. Antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae* in the United States: Have we begun to turn the corner on resistance to certain antimicrobial classes? *Clin Infect Dis*. 2005;41: 139-148.
85. Nuorti JP, Whitney CG; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of pneumococcal disease infants and children- use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine – recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports / Centers for Disease Control 2010; 59: 1-18.
86. Black S, Shinefield H, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen JR, Elvin L, Ensor KM, Hackell J, Siber G, Malinoski F, Madore D, Chang I, Kohberger R, Watson W, Austrian R, Edwards K. Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. Northern California Kaiser Permanente Vaccine Study Center Group. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19: 187–195.
87. Fireman B, Black SB, Shinefield HR, Lee J, Lewis E, Ray P. Impact of the pneumococcal conjugate vaccine on otitis media. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22: 10-16.
88. Weil-Olivier C, van der Linden M, de Schutter I, Dagan R, Mantovani L. Prevention of pneumococcal diseases in the post-seven valent vaccine era: A European perspective. *BMC Infect Dis*. 2012; 12: 207.
89. Miller E, Andrews NJ, Waight PA, Slack MP, George RC. Herd immunity and serotype replacement 4 years after seven valent pneumococcal conjugate vaccination in England and Wales: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2011;11: 760-8.
90. Guevara M, Barricarte A, Gil-Setas A, García-Irure JJ, Beristain X, Torroba L, Petit A, Polo Vigas ME, Aguinaga A, Castilla J. Changing epidemiology of invasive pneumococcal disease following increased coverage with the

- heptavalent conjugate vaccine in Navarre, Spain. *Clinica Microbiology and Infection* 2009; 15: 1013-9.
91. Lu CY, Huang LM. How many is enough? Will conjugated pneumococcal vaccines with more serotypes and fewer doses work better? *J Formos Med Assoc* 2011; 110: 67-9.
 92. Ho PL, Chiu SS, Ang I, Lau YL. Serotypes and antimicrobial susceptibilities of invasive *Streptococcus pneumoniae* before and after introduction of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine, Hong Kong, 1995-2009. *Vaccine* 2011; 29: 3270-5.
 93. Pai R, Moore MR, Pilishvili T, Gertz RE, Whitney CG, Beall B. Postvaccine genetic structure of *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A from children in the United State, *J Infect Dis* ,2005; 192: 1988-95.
 94. Stoll ML, Rubin LG. Incidence of occult bacteremia among highly febrile young children in the era of the pneumococcal conjugate vaccine: a study from a Children's Hospital Emergency Department and Urgent Care Center. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004;158: 671–675.
 95. Benito-Fernandez J, Mintegi S, Pocheville-Gurutzeta I, Sánchez Etxaniz J, Gómez Cortés B, Hernández Almaraz JL. Pneumococcal bacteremia in febrile infants presenting to the emergency department 8 years after the introduction of pneumococcal conjugate vaccine in the Basque Country of Spain. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29: 1142–1144.
 96. Griffin MR, Zhu Y, Moore MR, Whitney CG, Grijalva CG. U.S. hospitalizations for pneumonia after a decade of pneumococcal vaccination. *N Engl J Med*. 2013;369: 155–163.
 97. Obando I, Munoz-Almagro C, Arroyo LA, Tarrago D, Sanchez-Tatay D, Moreno-Perez D, Dhillon SS, Esteva C, Hernandez-Bou S, Garcia-Garcia JJ, Hausdorff WP, Brueggemann AB. Pediatric parapneumonic empyema, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2008;14: 1390–1397.
 98. Byington CL, Korgenski K, Daly J, Ampofo K, Pavia A, Mason EO. Impact of the pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal parapneumonic empyema. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25: 250– 254.
 99. Hendrickson DJ, Blumberg DA, Joad JP, Jhavar S, McDonald RJ. Five-fold increase in pediatric parapneumonic empyema since introduction of pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27: 1030–1032.

100. Li ST, Tancredi DJ. Empyema hospitalizations increased in US children despite pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatrics*. 2010;125: 26–33.
101. Grijalva CG, Nuorti JP, Zhu Y, Griffin MR. Increasing incidence of empyema complicating childhood community-acquired pneumonia in the United States. *Clin Infect Dis* 2010;50: 805–813.
102. Ampofo K, Pavia AT, Chris S, Hersh AL, Bender JM, Blaschke AJ, Weng HY, Korgenski KE, Daly J, Mason EO, Byington CL. The changing epidemiology of invasive pneumococcal disease at a tertiary children's hospital through the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine era: a case for continuous surveillance. *Pediatr Infect Dis J*. 2012 Mar; 31(3):228-34.
103. Obando I, Arroyo LA, Sánchez-Tatay D, Moreno D, Hausdorff WP, Brueggemann AB. Molecular typing of pneumococci causing parapneumonic empyema in Spanish children using multilocus sequence typing directly on pleural fluid samples. *Pediatr Infect Dis J*. 2006; 25: 962-3.
104. Ceyhan M, Ozsurekci Y, Gürler N, Ozkan S, Sensoy G, Belet N, Hacimustafaoglu M, Celebi S, Keser M, Dinleyici EC, Alhan E, Baki A, Oner AF, Uzun H, Kurugol Z, Aycan AE, Gurbuz V, Karadag Oncel E, Celik M, Ozkaya Parlakay A. Distribution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes that cause parapneumonic empyema in Turkey. *Clin Vaccine Immunol*. 2013; 20: 972-6.
105. Lai CY, Huang LM, Lee PY, Lu CY, Shao PL, Chang LY. Comparison of invasive pneumococcal disease caused by serotype 19A and non-19A pneumococci in children: more empyema in serotype 19A invasive pneumococcal disease. *J Microbiol Immunol Infect*. 2014; 47:23-7.
106. Lee JH, Kim SH, Lee J, Choi EH, Lee HJ Diagnosis of pneumococcal empyema using immunochromatographic test on pleural fluid and serotype distribution in Korean children. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012; 72:119-24.
107. Strachan RE et al., Australian Research Network in Empyema. Bacterial causes of empyema in children, Australia, 2007-2009. *Emerg Infect Dis*. 2011 Oct; 17(10):1839-45.
108. Peters TR and Abramson JS. *Streptococcus pneumoniae*. In: Kliegman RM, Stanton BF, St. Geme JW, Behrman RE, eds. Nelson Textbook of Pediatrics, 19th edition. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2011;175: 910-914.

109. Caner Yıldız, Erdal İnce. Konjuge Pnömonokok Aşı Uygulaması Sonrası İnvaziv Pnömonokok Hastalığı Sıklığı, Serotip Dağılımı, Antibiyotik Direnci. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Tez Çalışması, 2013.
110. Long SS, Pickering LK, Prober CG, eds. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone Elsevier, 2017: 3716-3718.
111. Esposito S, Tansey S, Thompson A, Razmpour A, Liang J, Jones TR, Ferrera G, Maida A, Bona G, Sabatini C, Pugni L, Emini EA, Gruber WC, Scott DA, Principi N. Safety and immunogenicity of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine compared to those of a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine given as a three-dose series with routine vaccines in healthy infants and toddlers. *Clin Vaccine Immunol.* 2010;17: 1017–1026.
112. Kieninger DM, Kueper K, Steul K, Juergens C, Ahlers N, Baker S, Jansen KU, Devlin C, Gruber WC, Emini EA, Scott DA; 006 study group. Safety, tolerability, and immunologic noninferiority of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine compared to a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine given with routine pediatric vaccinations in Germany. *Vaccine.* 2010;28: 4192–4203.
113. Paradiso PR. Advances in pneumococcal disease prevention: 13-valent pneumococcal conjugate vaccine for infants and children. *Clin Infect Dis.* 2011; 52: 1241-7.
114. Grijalva CG, Pelton SI. A second-generation pneumococcal conjugate vaccine for prevention of pneumococcal diseases in children. *Curr Opin Pediatr.* 2011; 23: 98-104.
115. Moore MR, Link-Gelles R, Schaffner W, Lynfield R, Lexau C, Bennett NM, Petit S, Zansky SM, Harrison LH, Reingold A, Miller L, Scherzinger K, Thomas A, Farley MM, Zell ER, Taylor TH Jr, Pondo T, Rodgers L, McGee L, Beall B, Jorgensen JH, Whitney CG. Effect of use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in children on invasive pneumococcal disease in children and adults in the USA: analysis of multisite, population-based surveillance. *Lancet Infect Dis.* 2015;15: 301-9.
116. Farnham AC, Zimmerman CM, Papadouka V, Konty KJ, Zucker JR, Nattanmai GV, Jose S, Rosen JB. Invasive pneumococcal disease following the

- introduction of 13-valent conjugate vaccine in children in New York City from 2007 to 2012. *JAMA Pediatr.* 2015;169: 646-52.
117. Bruce MG, Singleton R, Bulkow L, Rudolph K, Zulz T, Gounder P, Hurlburt D, Bruden D, Hennessy T. Impact of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) on invasive pneumococcal disease and carriage in Alaska. *Vaccine* 2015; 33: 4813-9.
 118. Iroh Tam PY, Madoff LC, Coombes B, Pelton SI. Invasive pneumococcal disease after implementation of 13-valent conjugate vaccine. *Pediatrics* 2014; 134: 210-7.
 119. Olarte L, Barson WJ, Barson RM, Lin PL, Romero JR, Tan TQ, Givner LB, Bradley JS, Hoffman JA, Hultén KG, Mason EO, Kaplan SL. Impact of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal meningitis in US children. *Clin Infect Dis* 2015; 61: 767-75.
 120. Claudia L. Gaviria-Agudelo, Alejandro Jordan-Villegas, Carla Garcia, George H. McCracken Jr. The Effect of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine on the Serotype Distribution and Antibiotic Resistance Profiles in Children With Invasive Pneumococcal Disease. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2017 ;6: 253-259.
 121. Waight PA, Andrews NJ, Ladhani SN, Sheppard CL, Slack MP, Miller E. Effect of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on invasive pneumococcal disease in England and Wales 4 years after its introduction: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* 2015; 15: 535-43.
 122. Ladhani SN, Collins S, Djennad A, Sheppard CL, Borrow R, Fry NK, Andrews NJ, Miller E, Ramsay ME. Rapid increase in non-vaccine serotypes causing invasive pneumococcal disease in England and Wales, 2000-17: a prospective national observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2018 ;18: 441-451.
 123. Steens A, Bergsaker MA, Aaberge IS, Ronning K, Vestrheim DF. Prompt effect of replacing the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine with the 13-valent vaccine on the epidemiology of invasive pneumococcal disease in Norway. *Vaccine.* 2013; 31: 6232–8.
 124. Harboe ZB, Dalby T, Weinberger DM, Benfield T, Mølbak K, Slotved HC, Suppli CH, Konradsen HB, Valentiner-Branth P. Impact of 13-valent pneumococcal conjugate vaccination in invasive pneumococcal disease incidence and mortality. *Clin Infect Dis.* 2014; 59: 1066-73.

125. Van der Linden M, Falkenhorst G, Perniciaro S, Imöhl M. Effects of infant pneumococcal conjugate vaccination on serotype distribution in invasive pneumococcal disease among children and adults in Germany. *PLoS One* 2015; 10: e0131494.
126. Chapoutot AG, Dessein R, Guilluy O, Lagrée M, Wallet F, Varon E, Martinot A, Dubos F. Impact of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on the incidence of pneumococcal meningitis in children. *Epidemiol Infect.* 2016; 144: 607-11.
127. Levy C, Varon E, Picard C, Béchet S, Martinot A, Bonacorsi S, Cohen R. Trends of pneumococcal meningitis in children after introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in France. *Pediatr Infect Dis J.* 2014; 33: 1216-21.
128. Ben-Shimol S, Greenberg D, Givon-Lavi N, Schlesinger Y, Somekh E, Aviner S, Miron D, Dagan R. Early impact of sequential introduction of 7-valent and 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on IPD in Israeli children <5 years: an active prospective nationwide surveillance. *Vaccine.* 2014; 32: 3452–3459.
129. Ben-Shimol S, Givon-Lavi N, Greenberg D, Stein M, Megged O, Bar-Yochai A, Negari S, Dagan R, On Behalf Of The Israel Bacteremia And Meningitis Active Surveillance Group. Impact of pneumococcal conjugate vaccines introduction on antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* meningitis in children aged 5 years or younger, Israel, 2004 to 2016. *Euro Surveill.* 2018; 23: e1800081.
130. Ubukata K, Takata M, Morozumi M, Chiba N, Wajima T, Hanada S, Shouji M, Sakuma M, Iwata S; Invasive Pneumococcal Diseases Surveillance Study Group. Effects of Pneumoccal Conjugate Vaccine on Genotypic Penicillin Resistance and Serotype Changes, Japan, 2010-2017. *Emerg Infect Dis.* 2018; 24: 2010-2020.
131. Özdemir H, Yıldız C, Nar Ötgün S, Erkol H, Karbuz A, Aldemir Kocabaş B, Tural Kara T, Gözalan A, Durmaz R, Çiftçi E, Aysev D, İnce E The effects of pneumococcal conjugate vaccine (PCV7 and PCV13) on Turkish children with invasive pneumococcal disease: a single center experience. *Arch Argent Pediatr.* 2017; 115: 316-322.
132. Andrew D. Wiese, MPH, Marie R. Griffin, MD, MPH, Yuwei Zhu, MD, MS, Edward F. Mitchel, Jr., MS, and Carlos G. Grijalva, MD, MPH Changes in

- Empyema among U.S. Children in the Pneumococcal Conjugate Vaccine Era *Vaccine*. 2016; 34: 6243–6249.
133. Nath S, Thomas M, Spencer D, Turner S. Has the incidence of empyema in Scottish children continued to increase beyond 2005? *Arch Dis Child*. 2015; 100: 255-8.
 134. Saxena S, Atchison C, Cecil E, Sharland M, Koshy E, Bottle A. Additive impact of pneumococcal conjugate vaccines on pneumonia and empyema hospital admissions in England. *J Infect*. 2015; 71: 428-36.
 135. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis. Laboratory Methods for the Diagnosis of Meningitis Caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*. 2nd Edition, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 2011. Chapter 8. Identification and Characterization of *Streptococcus pneumoniae*. <http://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt08-id-characterization-streppneumo.html> (erişim tarihi: 30.05.2013).
 136. Sorensen UB. Typing of pneumococci by using 12 pooled antisera. *J Clin Microbiol*. 1993; 31: 2097-100.
 137. Demczuk WH, Martin I, Griffith A, Lefebvre B, McGeer A, Lovgren M, Tyrrell GJ, Desai S, Sherrard L, Adam H, Gilmour M, Zhanel GG; Toronto Bacterial Diseases Network; Canadian Public Health Laboratory Network. Serotype distribution of invasive *Streptococcus pneumoniae* in Canada after the introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine, 2010-2012. *Can J Microbiol*. 2013; 59: 778-88.
 138. Wijayasri S, Hillier K, Lim GH, Harris TM, Wilson SE, Deeks SL. The shifting epidemiology and serotype distribution of invasive pneumococcal disease in Ontario, Canada, 2007-2017. *PLoS One*. 2019 13;14: e0226353.
 139. Weinberger R, von Kries R, van der Linden M, Rieck T, Siedler A, Falkenhorst, Invasive pneumococcal disease in children under 16 years of age: Incomplete rebound in incidence after the maximum effect of PCV13 in 2012/13 in Germany. *G.Vaccine*. 2018 25; 36: 572-577.
 140. Vestjens SMT, Sanders EAM, Vlamincx BJ, de Melker HE, van der Ende A, Knol MJ. Twelve years of pneumococcal conjugate vaccination in the Netherlands: Impact on incidence and clinical outcomes of invasive pneumococcal disease. *Vaccine*. 2019 8;37:6558-6565.

141. Rinta-Kokko H, Palmu AA, Auranen K, Nuorti JP, Toropainen M, Siira L, Virtanen MJ, Nohynek H, Jokinen J. Long-term impact of 10 valent pneumococcal conjugate vaccination on invasive pneumococcal disease among children in Finland. *Vaccine*. 2018 5; 36: 1934-1940.
142. Mendes RE, Costello AJ, Jacobs MR, Biek D, Critchley IA, Jones RN. Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of USA *Streptococcus pneumoniae* isolates collected prior to and post introduction of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014; 80: 19-25.
143. Evelyn Balsells, Laurence Guillot, Harish Nair ve Moe H. Kyaw. Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in children in the post-PCV era: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2017; 12: e0177113.
144. Bettinger JA, Scheifele DW, Kellner JD, Halperin SA, Vaudry W, Law B, Tyrrell G; Canadian Immunization Monitoring Program, Active (IMPACT). The effect of routine vaccination on invasive pneumococcal infections in Canadian children, Immunization Monitoring Program, Active 2000–2007. *Vaccine* 2010 25; 28: 2130-6.
145. Golden AR, Adam HJ, Zhanel GG; Canadian Antimicrobial Resistance Alliance (CARA). Invasive *Streptococcus pneumoniae* in Canada, 2011-2014: Characterization of new candidate 15-valent pneumococcal conjugate vaccine serotypes 22F and 33F. *Vaccine*. 2016 17;34:2527-30.
146. Kandasamy R, Voysey M, Collins S, Berbers G, Robinson H, Noel I, Hughes H, Ndimah S, Gould K, Fry N, Sheppard C, Ladhani S, Snape MD, Hinds J, Pollard AJ. Persistent circulation of vaccine serotypes and serotype replacement after five years of UK infant immunisation with PCV13. *J Infect Dis*. 2019 20; 20: 1-10.
147. Picazo JJ, Ruiz-Contreras J, Casado-Flores J, Negreira S, Baquero-Artigao F, Hernández-Sampelayo T, Otheo E, Amo MD, Méndez C; Heracles Study Group. Impact of 13-valent pneumococcal conjugate vaccination on invasive pneumococcal disease in children under 15 years old in Madrid, Spain, 2007 to 2016: The HERACLES clinical surveillance study. *Vaccine*. 2019 10;37: 2200-2207.

148. Berezin EN, Jarovsky D, Cardoso MRA, Mantese OC. Invasive pneumococcal disease among hospitalized children in Brazil before and after the introduction of a pneumococcal conjugate vaccine. *Vaccine*. 2019; 38: S264-410.
149. Singh Z. Sustainable development goals: Challenges and opportunities. *Indian J Public Health*. 2016; 60: 247-248.
150. Manoharan A, Manchanda V, Balasubramanian S, Lalwani S, Modak M, Bai S, Vijayan A, Shet A, Nagaraj S, Karande S, Nataraj G, Yewale VN, Joshi SA, Iyer RN, Santosham M, Kahn GD, Knoll MD; Alliance for Surveillance of Invasive Pneumococci (ASIP) Study Group. Invasive pneumococcal disease in children aged younger than 5 years in India: a surveillance study. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17: 305-312.
151. Singh J, Sundaresan S, Manoharan A, Shet A. Serotype distribution and antimicrobial susceptibility pattern in children ≤ 5 years with invasive pneumococcal disease in India- A systematic review. *Vaccine*. 2017 16; 35: 4501-4509.
152. Shibl A., Memish Z., and Pelton S. Epidemiology of invasive pneumococcal disease in the Arabian Peninsula and Egypt. *Int J Antimicrob Agent* 2009; 33:410.
153. Almazrou Y, Shibl AM, Alkhlaif R, Pirçon JY, Anis S, Kandeil W, Hausdorff WP. Epidemiology of invasive pneumococcal disease in Saudi Arabian children younger than 5 years of age. *J Epidemiol Glob Health*. 2016 ;6: 95-104.
154. Shibl AM, Memish ZA, Al-Kattan KM. Antibiotic resistance and serotype distribution of invasive pneumococcal diseases before and after introduction of pneumococcal conjugate vaccine in the Kingdom of Saudi Arabia (KSA). *Vaccine* 2012; 30: 32–36.
155. Stephanie W Lo, Rebecca A Gladstone, Andries J van Tonder, John A Lees, Mignon du Plessis, Rachel Benisty, Noga Givon-Lavi, Paulina A Hawkins, Jennifer E Cornick, Brenda Kwambana-Adams, Pierra Y Law, Pak Leung Ho, Martin Antonio, Dean B Everett, Ron Dagan, Anne von Gottberg, Keith P Klugman, Lesley McGee, Robert F Breiman, Stephen D Bentley, The Global Pneumococcal Sequencing Consortium Pneumococcal lineages associated with serotype replacement and antibiotic resistance in childhood invasive pneumococcal disease in the post-PCV13 era: an international whole-genome sequencing study. *Lancet Infect Dis*. 2019; 19: 759–69.

156. Kim SH, Song JH, Chung DR, Thamlikitkul V, Yang Y, Wang H, Lu M, So TM, Hsueh PR, Yasin RM, Carlos CC, Pham HV, Lalitha MK, Shimono N, Perera J, Shibl AM, Baek JY, Kang CI, Ko KS, Peck KR; ANSORP Study Group. Changing trends in antimicrobial resistance and serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates in Asian countries: an Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP) study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56:1418-26.
157. Estimates of Child cause of death, Acute Respiratory Infection 2018. Last update: February 2018 [http:// data.unicef.org/ resources/ dataset/ symptoms-pneumonia-careseeking/](http://data.unicef.org/resources/dataset/symptoms-pneumonia-careseeking/). Erişim tarihi: 10.10.2019.
158. Wahl B, O'Brien KL, Greenbaum A, Majumder A, Liu L, Chu Y, Lukšić I, Nair H, McAllister DA, Campbell H, Rudan I, Black R, Knoll MD. Burden of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenza* type b disease in children in the era of conjugate vaccines: global, regional, and national estimates for 2000-15. *Lancet Glob Health*. 2018; 6: 744-757.
159. Ceyhan M, Ozsurekci Y, Gürler N, Öksüz L, Aydemir S, Ozkan S, Yuksekkaya S, Keser Emiroglu M, Gültekin M, Yaman A, Kiremitci A, Yanık K, Karli A, Ozcinar H, Aydın F, Bayramoglu G, Zer Y, Gulay Z, Gayyurhan ED, Gül M, Özakin C, Gündüğüoğlu H, Perçin D, Akpolat N, Ozturk C, Camcioğlu Y, Karadağ Öncel E, Çelik M, Şanal L, Uslu H. Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* in children with invasive diseases in Turkey: 2008-2014. *Hum Vaccin Immunother*. 2016; 12: 308-13.