

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΠΑΡΑΣΙΤΟΛΟΓΙΑΣ, ΖΩΟΝΟΣΩΝ
ΚΑΙ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ ΤΣΕΛΕΝΤΗΣ

ΟΡΟΤΥΠΙΑ ΚΑΙ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ
ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ

Διδακτορική διατριβή

ΣΟΦΙΑΣ ΜΑΡΑΚΗ
ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΟΥ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2006

Στο Μανώλη

Στη Βίρνα

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Όνοματεπώνυμο: Σοφία Μαράκη

Τόπος γέννησης: Αθήνα

Έτος γέννησης: 1956

Απολυτήριο Γυμνασίου: Β' Γυμνάσιο Θηλέων Αθηνών 1974

Πτυχίο Ιατρικής: Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης

Δεκέμβριος 1982

Υπηρεσία υπαίθρου: Αγροτικό Ιατρείο Μιαμούς Ηρακλείου Κρήτης

1983-1984

Ειδικότητα Μικροβιολογίας: Γενικό Λαϊκό Νοσοκομείο Αθηνών

Τίτλος ειδικότητας: Ιούλιος 1988

Σημερινή κατάσταση: Αναπληρώτρια Διευθύντρια ΕΣΥ στο Εργαστήριο Κλινικής

Μικροβιολογίας, Παρασιτολογίας, Ζωονόσων και Γεωγραφικής Ιατρικής Πα.Γ.Ν.Η.

Ευχαριστώ,

Τον Καθηγητή κ. Ιωάννη Τσελέντη για την ανάθεση του θέματος και την
επιστημονική καθοδήγηση.

Τα μέλη της τριμελούς επιτροπής Καθηγητή κ. Γεώργιο Σαμώνη και Αναπληρωτή
Καθηγητή κ. Αχιλλέα Γκίκα για τη βοήθεια στην πραγματοποίηση της μελέτης.

Τον Επιμελητή της Παιδοαιματολογικής Κλινικής κ. Ελπιδοφόρο Μανταδάκη για την
πολύτιμη συνεργασία του στη διόρθωση του κειμένου και στη στατιστική ανάλυση
των αποτελεσμάτων.

Τον Βιολόγο κ. Αλέξανδρο Γεωργιλαδάκη για τη συνεισφορά του στο ερευνητικό
μέρος της μελέτης και στη διόρθωση και επιμέλεια του κειμένου.

Τέλος ευχαριστώ όλους εκείνους που με τον τρόπο τους μου συμπαραστάθηκαν
επιστημονικά και ηθικά και με βοήθησαν στην ολοκλήρωση της διατριβής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
<hr/>	
1.1. ΙΣΤΟΡΙΑ.....	2
1.2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ.....	5
1.3. ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΗ ΔΟΜΗ.....	7
1.4. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ-ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ.....	10
1.5. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	12
1.6. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ.....	14
1.7. ΑΜΥΝΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ.....	16
1.8. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΔΙΑΘΕΤΟΥΝ ΣΕ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΙΚΗ ΛΟΙΜΩΞΗ.....	18
1.9. ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ.....	22
1.10. ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΝΤΟΧΗ.....	26
1.11. ΘΕΡΑΠΕΙΑ.....	33
1.12. ΠΡΟΛΗΨΗ.....	36
<hr/>	
2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	40
<hr/>	
2.1. ΥΛΙΚΟ.....	41
2.2. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ.....	41
2.3. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ.....	42
2.4. ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ.....	43

2.5 ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ.....	44
2.5.1. ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΙΑΧΥΣΗΣ ΤΩΝ ΔΙΣΚΩΝ.....	44
2.5.2. ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΡΑΙΩΣΕΩΝ ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΕ ΖΩΜΟ.....	45
2.5.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΑΠ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ Ε-TEST.....	45
2.6. ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ.....	47
2.7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	48
<hr/>	
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	49
<hr/>	
3.1. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ.....	50
3.2. ΟΡΟΤΥΠΙΑ.....	54
3.3. ΠΙΝΑΚΕΣ - ΕΙΚΟΝΕΣ.....	56
<hr/>	
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	74
<hr/>	
4.1. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	81
<hr/>	
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	82
<hr/>	

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αυξανόμενη συχνότητα εμφάνισης ανθεκτικών στην πενικιλίνη αλλά και πολυανθεκτικών στελεχών πνευμονιοκόκκου καθώς και η ταχεία διασπορά τους παγκοσμίως, προκαλούν έντονη ανησυχία. Η συχνότητα ανθεκτικών πνευμονιοκόκκων έχει ανομοιόμορφη γεωγραφική κατανομή και διαφέρει ανά χώρα αλλά και σε διαφορετικές περιοχές της ίδιας χώρας. Από μελέτες που έχουν γίνει στην Ελλάδα παρατηρούμε ότι τα ποσοστά αντοχής διαφέρουν, λόγω διαφορών στα κλινικά δείγματα, στις ηλικίες των ασθενών και στις μεθόδους ελέγχου της ευαισθησίας των στελεχών.

Στην παρούσα μελέτη έγινε οροτυπία και έλεγχος της ευαισθησίας στα αντιβιοτικά 450 κλινικών στελεχών *S. pneumoniae*, που απομονώθηκαν από ισάριθμα κλινικά δείγματα ασθενών (247 παιδιά και 203 ενήλικες) του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου κατά την περίοδο 1997-2005. Τα στελέχη αυτά απομονώθηκαν: 168 από δείγματα του ανώτερου αναπνευστικού, 77 από οφθαλμικό επίχρισμα, 73 από πτύελα, 43 από αίμα, 34 από ωτικό έκκριμα, 24 από βρογχικές εκκρίσεις και βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, 15 από πύο, 8 από εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY), 3 από πλευριτικό υγρό, 3 από κοιλικό υγρό, 1 από αρθρικό υγρό και 1 από αγγειακό καθετήρα.

Η οροτυπία έγινε με τη μέθοδο εξοιδήσεως του ελύτρου. Ο έλεγχος ευαισθησίας στην πενικιλίνη και σε άλλα 17 αντιβιοτικά έγινε με τη μέθοδο διάχυσης των δίσκων, η ελάχιστη ανασταλτική πυκνότητα (MIC) των αντιβιοτικών προσδιορίστηκε με τη μέθοδο του E-test και η ελάχιστη ανασταλτική πυκνότητα (MIC) της πενικιλίνης ελέγχθηκε επιπρόσθετα με τη μέθοδο αραιώσεων του αντιβιοτικού σε ζυμό.

Αντοχή στην πενικιλίνη παρουσίασε το 14,9% των στελεχών, ενώ το 19,3% αυτών παρουσίασε μέτρια ευαισθησία. Το ετήσιο ποσοστό των στελεχών με ενδιάμεση και υψηλού επιπέδου αντοχή στην πενικιλίνη αυξήθηκε από 17,1% το 1997 σε 28,5% το 2005. Υψηλότερα ποσοστά αντοχής (38,3%) εμφανίστηκαν το 2001.

Οι *in vitro* αντοχές στην κεφουροξίμη, κεφεπίμη, ιμιπενέμη, μεροπενέμη, ερυθρομυκίνη, κλαριθρομυκίνη, κλινδαμυκίνη, αζιθρομυκίνη, σπαρφλοξασίνη, μοξιφλοξασίνη, χλωραμφενικόλη, τετρακυκλίνη, και τριμεθοπρίμη/ σουλφαμεθοξαζόλη ήταν 22,9, 0,9, 1,8, 0,9, 30, 30, 10,7, 44,7, 0,2, 0,2, 6,4, 24,4 και 18,9%, αντίστοιχα. Μέτρια ευαισθησία στην κεφοταξίμη και κεφτριαζόνη παρουσίασαν τα 3,3 και 3,1% των στελεχών, αντίστοιχα. Όλα τα στελέχη ήταν ευαίσθητα στη λεβοφλοξασίνη και βανκομυκίνη.

Αναλύοντας την αντοχή των στελεχών σύμφωνα με την αντοχή τους στην πενικιλίνη βρέθηκε ότι τα ανθεκτικά στην πενικιλίνη στελέχη παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά αντοχής στα υπόλοιπα αντιβιοτικά, σε σύγκριση με τα ευαίσθητα στελέχη. Τα ποσοστά αντοχής στην πενικιλίνη αλλά και στις άλλες κατηγορίες αντιβιοτικών, στελεχών *S. pneumoniae* που απομονώθηκαν από κλινικά δείγματα παιδιών καθώς και από μη διεισδυτικές λοιμώξεις ήταν σημαντικά υψηλότερα, συγκρινόμενα με αυτά στελεχών που απομονώθηκαν από ενήλικες και διεισδυτικές λοιμώξεις.

Περίπου 30% των στελεχών (135/450) παρουσίασαν αντοχή σε τρία ή περισσότερα αντιβιοτικά, με συχνότερο φαινότυπο αντοχής στην πενικιλίνη, ερυθρομυκίνη, κλινδαμυκίνη, τετρακυκλίνη και τριμεθοπρίμη/σουλφαμεθοξαζόλη (19,3%).

Ορολογική τυποποίηση έγινε σε 406 (90,2%) στελέχη. Συχνότερες οροομάδες ήταν οι: 19, 14, 6, 3 και 9. Αναλύοντας την κατανομή των διεισδυτικών και μη διεισδυτικών στελεχών σε οροομάδες βρέθηκε ότι η οροομάδα 7 ήταν σημαντικά επικρατέτερη στα διεισδυτικά στελέχη.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι και στην περιοχή μας ο πνευμονιόκοκκος παρουσιάζει ψηλά ποσοστά αντοχής στα αντιβιοτικά. Η συνεχής παρακολούθηση της αντοχής, η σωστή χρήση των αντιβιοτικών καθώς και η πρόληψη των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων με τη χρήση κατάλληλου εμβολίου θα περιορίσει την περαιτέρω αύξηση της.

SUMMARY

The increasing incidence of penicillin resistance and multi-drug resistance in *Streptococcus pneumoniae* and its global spread is a cause of great concern.

Differences in resistance rates have been reported not only for various geographical areas, but also for different regions of the same country. Studies conducted in Greece report different rates of resistance to antibiotics, because of the different specimens examined, the different ages of the patients included and the various methods used for susceptibility testing.

The present study included 450 *S. pneumoniae* isolates recovered from clinical specimens submitted to the Laboratory of Clinical Microbiology, at the University Hospital of Heraklion, over a 9-year period (1997-2005). The origin of the strains was: upper respiratory tract (n=168), lower respiratory tract (n=97), ocular secretions (n=77), blood (n=43), middle ear (n=34), pus (n=15), cerebrospinal fluid (n=8), pleural fluid (n=3), synovial fluid (n=1) and other sites (n=4).

Serotyping was performed by the capsular swelling method with specific antisera. Susceptibility testing used the disk diffusion method described by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). The minimal inhibitory concentration (MIC) of penicillin was determined by the broth dilution method and the MICs of 18 antibiotics were determined by E- test.

Eighty-seven (19.3%) isolates showed intermediate resistance and 67 (14.9%) high level resistance to penicillin. The yearly percentage of isolates with intermediate and high level resistance to penicillin increased from 17.1% in 1997 to 28.5% in 2005, with the highest value (38.3%) observed in 2001.

The rates of resistance to cefuroxime, cefepime, imipenem, meropenem, erythromycin, clindamycin, azithromycin, sparfloxacin, moxifloxacin,

chloramphenicol, tetracycline and trimethoprim/sulfamethoxazole were 22.9, 0.9, 1.8, 0.9, 30, 30, 10.7, 44.7, 0.2, 0.2, 6.4, 24.4 and 18.9%, respectively. Almost 3% of the isolates were intermediately resistant to ceftriaxone and cefotaxime. Isolates were uniformly susceptible to levofloxacin and vancomycin.

Comparing the activity of penicillin with that of other β -lactams and additional antimicrobial agents, we found that resistance to these agents was significantly more common among penicillin-resistant strains than among penicillin-sensitive ones. Isolates not susceptible to penicillin were encountered significantly more often in children with localized infections than in adults with invasive disease.

Multi-drug resistance was present in 135 (30%) isolates. Of the multiresistant strains, 19.2% were resistant to penicillin, erythromycin, clindamycin, tetracycline and trimethoprim/sulfamethoxazole. Serotyping was performed in 406 (90.2%) isolates. The most prevalent serogroups were: 19, 14, 6, 3 and 9. Serogroup 7 was significantly more common in invasive isolates.

In conclusion, the results of the present study indicate the presence of increased penicillin resistance and multi-drug resistance among clinical isolates of *S. pneumoniae* in our region. Continuous surveillance of pneumococcal resistance, judicious use of antibiotics and prevention of pneumococcal disease through use of effective vaccines, will likely reduce the spread of antibiotic resistant pneumococci.

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1. ΙΣΤΟΡΙΑ

Ο πνευμονιόκοκκος αναγνωρίστηκε το 1881 ταυτόχρονα από τον Pasteur στη Γαλλία που τον ονόμασε *Microbe septicémique du salive* και από τον Sternberg στις ΗΠΑ που τον ονόμασε *Micrococcus pasteuri* (1, 2). Το 1886 χρησιμοποιήθηκε από τον Fraenkel ο όρος *pneumococcus* (πνευμονιόκοκκος) διότι ο μικροοργανισμός αναγνωρίστηκε ως το κυριότερο αίτιο της λοβώδους πνευμονίας (3). Το 1926 ονομάστηκε *Diplococcus* λόγω της εμφάνισης του στη χρώση κατά Gram παρασκευάσματος πτυέλων και τέλος το 1974 μετονομάστηκε σε *Streptococcus pneumoniae* λόγω της μορφολογίας του κατά την ανάπτυξή του σε υγρό θρεπτικό υλικό (4).

Ο *Streptococcus pneumoniae* ήταν ο πρώτος εξωκυττάριος μικροοργανισμός που ανακαλύφθηκε και περιγράφηκε η ικανότητά του να ανθίσταται στη φαγοκυττάρωση και να πολλαπλασιάζεται εξωκυττάρια. Στις αρχές της δεκαετίας του 1890 οι Felix και Klempner έδειξαν ότι η ανοσοποίηση με νεκρούς πνευμονιοκόκκους προστάτευε τα ζώα από επακόλουθες λοιμώξεις και επιπλέον η προστασία αυτή μπορούσε να μεταφερθεί με έγχυση ορού ανοσοποιημένων ποντικών σε επίνουσα ζώα (5).

Αργότερα οι ερευνητές έδειξαν ότι ορός από άτομα που ανέρρωσαν από πνευμονιοκοκκική πνευμονία παρέχει ιδίου βαθμού προστασία. Οι Neufeld και Rimpau απέδωσαν την ανοσία σε παρουσία παραγόντων στον ορό που διεκολύνουν τη φαγοκυττάρωση από τα λευκά αιμοσφαίρια, διαδικασία που ονομάστηκε οψονινοποίηση. Οι παρατηρήσεις αυτές απετέλεσαν τη βάση γι' αυτό που σήμερα ονομάζουμε χυμική ανοσία. Αναγνωρίστηκαν επίσης και οι διάφοροι ορότυποι μετά από παρατήρηση ότι η έγχυση νεκρών μικροοργανισμών σε κουνέλια διέγειρε την παραγωγή αντισωμάτων στον ορό που συγκολλούσαν και επέφεραν εξοίδηση του

ελύτρου μόνο στα στελέχη που είχαν χρησιμοποιηθεί για την ανοσοποίηση. Στις αρχές του 20^{ου} αιώνα αναγνωρίστηκαν 3 ορότυποι (1, 2, 3) ενώ οι υπόλοιποι αποτέλεσαν την ομάδα 4.

Την πρώτη δεκαετία του 20^{ου} αιώνα οι Maynard, Lister και Wright άρχισαν να εφαρμόζουν τις βασικές αρχές της χυμικής ανοσίας για την αντιμετώπιση της επιδημίας λοβώδους πνευμονίας που κάθε χρόνο προσέβαλλε αρκετούς Αφρικανούς μεταλλορύχους. Ο εμβολιασμός τους με νεκρούς πνευμονιοκκόκους προκάλεσε σημαντική μείωση του ποσοστού εμφάνισης της νόσου (6). Την δεκαετία του 1920 οι Heidelberg και Avery απέδειξαν ότι το αντίσωμα που προκαλεί ανοσία, αντιδρούσε με επιφανειακά πολυσακχαριδικά αντιγόνα.

Το 1938 ο Felton παρασκεύασε ένα κεκαθαρισμένο πνευμονιοκοκκικό πολυσακχαρίτη για ανοσοποίηση, που χρησιμοποιήθηκε στη Μασαχουσέτη για να αποτρέψει επιδημία πνευμονίας (7). Μετά από αυτή τη διαδικασία οι ερευνητές θεώρησαν ότι θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ένα πολυσακχαριδικό αντιγόνο ώστε να διεγείρει την παραγωγή αντισωμάτων που θα παρείχε ανοσία σε επιδημικές πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις. Αυτό αποδείχθηκε στο Β' Παγκόσμιο Πόλεμο, όταν ο εμβολιασμός στρατιωτών με υλικό του ελύτρου μείωσε σημαντικά την συχνότητα της πνευμονίας από τους ορότυπους αυτούς, αλλά όχι από άλλους ορότυπους (8).

Ο *Streptococcus pneumoniae* έπαιξε επίσης σημαντικό ρόλο στην ανακάλυψη του DNA. Πειράματα του Griffith την δεκαετία του 1920 έδειξαν ότι ενδοπεριτοναϊκή έγχυση σε ποντίκια ζωντανών πνευμονιοκκόκων χωρίς κάψα μαζί με νεκρά στελέχη πνευμονιοκκόκου με κάψα, οδηγούσε στην ανάπτυξη ζωντανών στελεχών με κάψα (9). Την διαδικασία αυτή ονόμασε μεταμόρφωση (transformation). Η παρατήρηση αυτή παρέμεινε ανεξήγητη μέχρι το 1940 όταν ο Avery και οι συνεργάτες του

απέδειξαν ότι το DNA είναι υπεύθυνο για τη μεταμόρφωση και ότι το γενετικό υλικό κωδικοποιεί τον φαινότυπο (10).

1.2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

Μορφολογία. Ο πνευμονιόκοκκος είναι Gram-θετικός κόκκος λογχοειδής διαμέτρου 0,5-1,25 μ. Διατάσσεται σε ζεύγη (διπλόκοκκος) και ενίοτε σε κοντές αλυσίδες. Είναι ακίνητο, μη σπορογόνο βακτήριο. Το κυτταρικό του τοίχωμα περιβάλλεται από παχύ έλυτρο. Η παρουσία του ελύτρου αποκαλύπτεται με δοκιμασία εξοιδήσεως του ελύτρου με την χρήση αντισωμάτων έναντι των πολυσακχαριδικών αντιγόνων. Στα παλαιότερα καλλιεργήματα το έλυτρο είναι λεπτότερο και ο διπλόκοκκος μπορεί να φανεί σαν Gram-αρνητικός (11).

Καλλιέργεια. Αναπτύσσεται εύκολα σε αιματούχο άγαρ και οι αποικίες του μετά από 24ωρη επώαση είναι γυαλιστερές, ημιδιαφανείς με επηρμένη περιφέρεια και κοίλο κέντρο. Η κοίλανση γίνεται εντονότερη αν το καλλιέργημα παραμείνει μια ακόμη μέρα στον πάγκο ή στον κλίβανο και οι αποικίες παίρνουν χαρακτηριστική μορφή σαν πιατάκια. Η διάμετρός τους είναι περίπου 1 mm και περιβάλλονται από ζώνη α-αιμόλυσης (πράσινη ζώνη). Όταν αναπτυχθεί σε σοκολατόχρωμο άγαρ το πράσινο χρώμα είναι εντονότερο και παράλληλα αρχίζει αποχρωματισμός του υλικού κάτω από την αποικία, που οφείλεται στην παραγωγή υπεροξειδάσης του υδρογόνου. Αναπτύσσεται σε ζωμό και προκαλεί ομοιόμορφη θόλωση.

Φυσιολογία – Μεταβολισμός. Οι πνευμονιόκοκκοι είναι αερόβια και δυνητικά αναερόβια μικρόβια. Η ανάπτυξή τους ευνοείται από την παρουσία CO₂ 5-10%. Παράγουν την α-αιμολυσίνη που διασπά την αιμοσφαιρίνη σε προϊόντα που προσδίδουν το πράσινο χρώμα γύρω από την αποικία σε αιματούχο άγαρ. Κατά την αναερόβια επώαση καλλιεργήματος πνευμονιοκόκκου παράγεται πνευμονολυσίνη που ευθύνεται για την β-αιμόλυση γύρω από τις αποικίες του μικροβίου. Είναι πολύ ευαίσθητο μικρόβιο. Σκοτώνεται στους 52⁰ C σε 15 min. Είναι ευαίσθητος στα

απολυμαντικά όπως: 1% sodium hypochlorite, 70% ethanol, 2% glutaraldehyde, formaldehyde. Διαλύεται από τα χολικά άλατα και είναι ευαίσθητος στην οπτοχίνη.

Ταυτοποίηση. Στο εργαστήριο ο πνευμονιόκοκκος ταυτοποιείται με 4 δοκιμασίες (12) :

1. α-αιμόλυση σε αιματούχο άγαρ.
2. παραγωγή καταλάσης: αρνητική.
3. ευαισθησία στην οπτοχίνη.
4. δοκιμασία διαλυτότητας στη χολή: θετική.

Λόγω της ύπαρξης μερικών στελεχών που παρουσιάζουν αντοχή στην οπτοχίνη, η ταυτοποίηση επιβεβαιώνεται με την δοκιμασία διαλυτότητας στη χολή (13).

1.3. ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΗ ΔΟΜΗ

Το κύτταρο του πνευμονιοκόκκου περιβάλλεται από λιποπολυσακχαριδική κυτταροπλασματική μεμβράνη, κυτταρικό τοίχωμα και πολυσακχαριδικό έλυτρο που χαρακτηρίζει το μικρόβιο και σχετίζεται με την παθογόνο του δράση και με την εμφάνιση των αποικιών. Οι αντιγονικές ουσίες βρίσκονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, στο κυτταρικό τοίχωμα και στο έλυτρο που αποτελεί και το ισχυρότερο αντιγόνο.

Η **κυτταροπλασματική μεμβράνη** αποτελείται κυρίως από φωσφολιπίδια και πρωτεΐνες. Τα φωσφολιπίδια διατάσσονται σε δύο στιβάδες, με τις υδρόφοβες ομάδες εσωτερικά και τις υδρόφιλες εξωτερικά (προς το κυτταρόπλασμα και προς το κυτταρικό τοίχωμα). Οι πρωτεΐνες κατανέμονται μεταξύ των μορίων των φωσφολιπιδίων.

Το **κυτταρικό τοίχωμα** αποτελείται από πεπτιδογλυκάνη, λιποτειχοϊκό οξύ (αντιγόνο Forssman), τειχοϊκό οξύ, και πρωτεΐνες συνδεδεμένες με χολίνη (CBPs).

Η πεπτιδογλυκάνη είναι ένα τεράστιο μόριο που αποτελείται από N-acetylmuramic acid και N-acetylglucosamine που συνδέονται μεταξύ τους εναλλάξ με 1,4 β-γλυκοσιδικό δεσμό. Με την καρβοξυλική ομάδα του N-ακετυλμουραμικού οξέος ενώνονται τετραπεπτιδικές αλυσίδες από τα αμινοξέα D-γλουταμινικό, D- και L-αλανίνη, και διαμινοπιμελικό οξύ ή λυσίνη.

Το τειχοϊκό οξύ είναι πολυμερές υδατάνθρακα και περιέχει φωσφοροχολίνη.

Συνδέεται με την πεπτιδογλυκάνη στην εξωτερική επιφάνεια του κυτταρικού τοιχώματος δημιουργώντας το **πολυσακχαρίδιο C**. Είναι το ίδιο για όλους τους πνευμονιοκόκκους. Είναι δηλαδή το αντιγόνο του είδους.

Στην επιφάνεια του κυτταρικού τοιχώματος εκφράζονται πολλές πρωτεΐνες.

Κυριότερες απ' αυτές είναι: η πρωτεΐνη A (PspA: pneumococcal surface protein A), η συνδεδεμένη με χολίνη πρωτεΐνη A (CbpA: choline-binding protein A), η PsaA (pneumococcal surface adhesin A), η υαλουρονική λυάση (Hyl), η πνευμολυσίνη και διάφορες αυτολυσίνες.

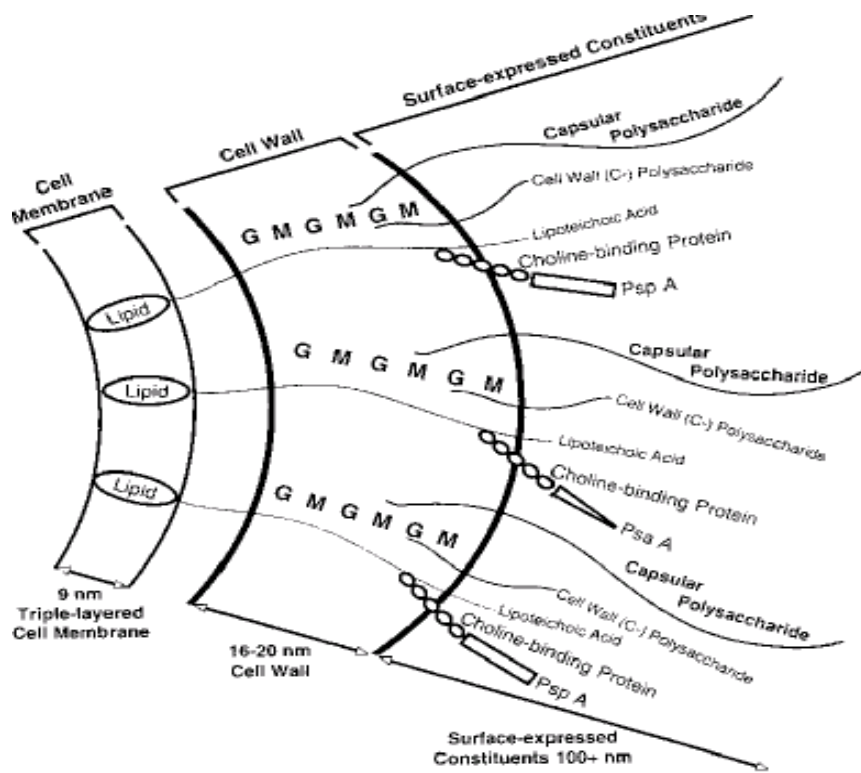
Άλλες αντιγονικές ουσίες του κυτταρικού τοιχώματος είναι οι εξής:

M-πρωτεΐνη. Είναι πρωτεΐνη του κυτταρικού τοιχώματος. Μοιάζει με την M-πρωτεΐνη των στρεπτοκόκκων της ομάδας A. Δεν σχετίζεται με την παθογόνο δράση του μικροβίου και τα αντισώματα προς αυτό δεν προστατεύουν από τη νόσο.

R-πρωτεΐνη. Έχει απομονωθεί από αδρές αποικίες πνευμονιοκόκκου. Η σύνθεσή της δεν έχει διευκρινισθεί αλλά αντιγονικά είναι παρόμοια με το C-πολυσακχαρίδιο.

Το έλυτρο περιβάλλει το κυτταρικό τοίχωμα και αποτελείται από γλυκουρονικό οξύ ενωμένο με αμινοσάκχαρα, που του προσδίδουν την αντιγονικότητα. (**Αντιγόνο ελύτρου ή SSS-ουσία (Specific Soluble Substance)**). Τα ολιγοσακχαρίδια συντίθενται στο κυτταρόπλασμα και πολυμερίζονται από τρανσφεράσες που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη. Οι πολυσακχαρίτες εν συνεχεία μεταφέρονται στην επιφάνεια του κυττάρου (14). Με βάση τις αντιγονικές διαφορές των πολυσακχαριτών της κάψας, ο πνευμονόκοκκος διακρίνεται σε 90 ορότυπους που διαφέρουν χημικά και δομικά και σε 40 οροομάδες. Κάθε ορότυπος έχει ιδιαίτερη δομή, ενώ οι ορότυποι της ίδιας οροομάδας έχουν την ίδια αλληλουχία ολιγοσακχαριδίων, συνδεδεμένων όμως διαφορετικά. Το έλυτρο έχει σχέση με την παθογόνο δράση του μικροβίου. Προστατεύει το μικρόβιο από την φαγοκυττάρωση και από τη δράση του συμπληρώματος.

Σχηματική παράσταση της κυτταρικής μεμβράνης, του κυτταρικού τοιχώματος και του ελίκτρου του *Streptococcus pneumoniae* (15)



1.4. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ-ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ

Ο *Streptococcus pneumoniae* είναι ένα παθογόνο μικρόβιο αποκλειστικά για τον άνθρωπο. Δε ζει στο περιβάλλον. Αποικίζει τον ρινοφάρυγγα του ανθρώπου, που αποτελεί τη δεξαμενή του μικροβίου. Το ποσοστό του αποικισμού για τους ενήλικες είναι 5-10%, ενώ στα παιδιά κυμαίνεται από 20-40% και μπορεί να φθάσει το 60% σε παιδιά που πηγαίνουν σε βρεφονηπιακούς σταθμούς (16, 17). Τα ποσοστά φορέας είναι αυξημένα κατά την διάρκεια του χειμώνα (18). Συνθήκες συνωστισμού ευνοούν την πιθανότητα και τη συχνότητα του αποικισμού. Η διάρκεια της μικροβιοφορέας εξαρτάται από την ηλικία και τον ορότυπο. Σε μελέτη που έγινε σε παιδιά βρέθηκαν αποικισμένα από τον 6^ο μήνα και η φορεία διήρκεσε 4 μήνες. Αντίθετα σε ενήλικες ο αποικισμός διαρκεί λιγότερο (2-4 βδομάδες) (19, 20). Τα ποσοστά φορέας κυμαίνονται από χώρα σε χώρα (21-27). Στην Ελλάδα είναι 31,9% (28). Στα στελέχη φορέας συχνότερα συναντώνται οι ορότυποι 1, 3, 6, 9, 14, 18, 19, 23 (23-25, 27-29).

Πριν από κάθε λοίμωξη προηγείται αποικισμός του ρινοφάρυγγα από το συγκεκριμένο στέλεχος. Η βακτηριαμία και η μηνιγγίτιδα αποτελούν τις διεισδυτικές μορφές της νόσου. Η συχνότητα της διεισδυτικής πνευμονιοκοκκικής νόσου είναι στις ΗΠΑ 15 περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους ανά έτος. Η συχνότητα αυτή ποικίλλει στις διάφορες χώρες και σε ορισμένες περιοχές μπορεί να είναι 10πλάσια (30, 31). Εξαρτάται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες αλλά κυρίως από την ηλικία. Οι πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις είναι συχνότερες σε νεογνά και βρέφη έως 2 ετών, στη συνέχεια το ποσοστό μειώνεται, ενώ αυξάνεται πάλι σε ενήλικες >65 ετών (32).

Στις ΗΠΑ η συχνότητα των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων είναι 160, 5 και 70 ανά 100.000 πληθυσμού σε παιδιά, ενήλικες και υπερήλικες (>65 ετών), αντίστοιχα (33). Αν και η συχνότητα των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων έχει σαφώς μειωθεί μετά την ανακάλυψη και την χρήση των αντιβιοτικών, η ηλικιακή κατανομή δεν έχει αλλάξει.

Η εποχή επίσης παίζει ρόλο στην εμφάνιση των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων, οι οποίες είναι συχνότερες από τον Νοέμβριο έως τον Απρίλιο με μέγιστη συχνότητα το Φεβρουάριο. Οι ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού ευνοούν τις πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις (34). Στα παιδιά αυξημένη συχνότητα λοιμώξεων από *Streptococcus pneumoniae* παρατηρήθηκε κατά την σχολική περίοδο.

Οι περισσότεροι ορότυποι του πνευμονιοκόκκου μπορούν να προκαλέσουν νόσο. Οι ορότυποι παρουσιάζουν διαφορετική κατανομή ανάλογα με την ηλικία. Στις ΗΠΑ 7 ορότυποι ευθύνονται για το 80% περίπου των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων σε παιδιά < 6 ετών (14, 6B, 19F, 18C, 23F, 4, 9V). Αυτοί περιέχονται και στο συζευγμένο 7-δύναμο εμβόλιο που κυκλοφορεί. Οι ίδιοι ορότυποι ευθύνονται για το 50% των λοιμώξεων σε άτομα >6 ετών. Στους ενήλικες συχνότεροι ορότυποι διεισδυτικών λοιμώξεων είναι οι 1, 3, 4, 7, 8, 9, 12, 14 (29).

Οι ορότυποι παρουσιάζουν διαφορετική συχνότητα σε διάφορες χώρες (35, 36). Αυτό μπορεί να αποδοθεί σε διάφορες κοινωνικοοικονομικές και κλιματολογικές συνθήκες.

1.5. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η παθογόνος δράση του πνευμονιοκόκκου σχετίζεται με δομικά στοιχεία του μικροβίου όπως το **έλυτρο**, που αποτελεί τον ισχυρότερο λοιμογόνο παράγοντα, στοιχεία του κυτταρικού του τοιχώματος καθώς και με ένζυμα και τοξίνες που παράγει.

Κυτταρικό τοίχωμα. Η πεπτιδογλυκάνη και οι πολυσακχαρίτες του κυτταρικού τοιχώματος συμβάλλουν στη φλεγμονώδη απάντηση του ξενιστή μέσω ενεργοποίησης της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος (37, 38). Εξ αιτίας της παραγωγής των κλασμάτων C3a και C5a του συμπληρώματος αυξάνεται η διαπερατότητα των αγγείων και επάγεται η χημειοταξία πολυμορφοκυττάρων στο σημείο της φλεγμονής. Τα στοιχεία του κυτταρικού τοιχώματος του μικροβίου προκαλούν επίσης την παραγωγή interleukin-1 από τα ανθρώπινα μονοκύτταρα, κυτοκίνης που παίζει βασικό ρόλο στη διαδικασία της φλεγμονής (39).

Πνευμονιοκοκκική πρωτεΐνη επιφάνειας A (PspA). Πρόκειται για διαμεμβρανική πρωτεΐνη MB κυμαινόμενου από 67-99 kDa (40). Το N-τελικό της άκρο εκτείνεται από το κυτταρικό τοίχωμα και προεξέχει της κάψας. Αναστέλλει την ενεργοποίηση του συμπληρώματος.

Πνευμονολυσίνη (Ply). Είναι μια πρωτεΐνη MB 53- kDa που παράγεται από όλα τα στελέχη του μικροβίου (41). Συντίθεται στο κυτταρόπλασμα και ελευθερώνεται προς τα έξω μετά από την λυτική δράση της αυτολυσίνης. Παίζει σπουδαίο ρόλο στην παθογένεια των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων. Η πνευμονολυσίνη συμβάλλει στη διαδικασία της φλεγμονής λόγω της ικανότητάς της να ενεργοποιεί το συμπλήρωμα και να προάγει την παραγωγή κυτοκινών.

Επίσης διασπά την συνέχεια του κροσσωτού επιθηλίου της αναπνευστικής οδού, διευκολύνοντας την είσοδο του μικροβίου στη συστηματική κυκλοφορία (42).

Αυτολυσίνη. Προκαλεί λύση του κυττάρου διασπώντας τους δεσμούς μεταξύ ακετυλομουραμικού οξέος και αλανίνης της πεπτιδογλυκάνης του κυτταρικού τοιχώματος (43). Η παραγωγή λυσοζύμης από τ' ανθρώπινα κύτταρα επάγει την παραγωγή αυτολυσίνης, και την καταστροφή του μικροβίου, εντείνοντας την φλεγμονή.

Η νευραμινιδάση. Διασπά το σιαλικό οξύ των γλυκοπρωτεϊνών και γλυκολιπιδίων που βρίσκονται στα κύτταρα του ξενιστή και πιθανόν να αποκαλύπτει μεγαλύτερο μέρος της επιφάνειας των κυττάρων του ξενιστή, εντείνοντας την προσκόλληση των μικροβίων και διευκολύνοντας τον αποικισμό (44).

IgA1 πρωτεάση. Διευκολύνει τον αποικισμό του μικροβίου αναστέλλοντας τη δράση της εκκριτικής IgA της βλέννης (45).

ΠΙΝΑΚΑΣ

Χαρακτηριστικά των λοιμογόνων παραγόντων του *Streptococcus pneumoniae*

ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΣ ΠΑΡΑΓΩΝ	ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ
Πολυσακχαρίτης ελύτρου	Εμποδίζει τη φαγοκυττάρωση Ενεργοποιεί το συμπλήρωμα
Πολυσακχαρίτης κυτταρικού τοιχώματος	Ενεργοποιεί το συμπλήρωμα
Πνευμολυσίνη	Κυτταροτοξική Ενεργοποιεί το συμπλήρωμα
Πνευμονιοκοκκική πρωτεΐνη επιφάνειας A (PspA)	Αναστέλλει την ενεργοποίηση του συμπληρώματος
Αυτολυσίνη	Απελευθερώνει την πνευμολυσίνη και στοιχεία του κυτταρικού τοιχώματος
Νευραμινιδάση	Πρόαγει τη διείσδυση στους ιστούς
IgA1-πρωτεάση	Αναστέλλει τη δράση της εκκριτικής IgA της βλέννης, διευκολύνοντας τον αποικισμό

1.6. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η προσκόλληση των μικροβίων και ο αποικισμός του ανώτερου αναπνευστικού αποτελεί το πρώτο βήμα για την πρόκληση νόσου. Ο πνευμονιόκοκκος προσκολλάται στους δισακχαριδικούς υποδοχείς (GlcNAcβ1-4Gal) των επιθηλιακών κυττάρων του ξενιστή (46, 47). Η παρουσία της IgA πρωτεάσης και της νευραμινιδάσης διευκολύνουν τον αποικισμό.

Μετά τον αποικισμό, λοίμωξη προκαλείται όταν τα βακτήρια διαφύγουν των αμυντικών μηχανισμών του ξενιστή και διεισδύσουν στους ιστούς. Αυτό συμβαίνει συχνότερα όταν οι πνευμονιόκοκκοι μεταφέρονται στα παραρρίνια, στην ευσταχιανή σάλπιγγα ή στους βρόγχους.

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η δράση των κροσσών του επιθηλίου και οι αμυντικοί μηχανισμοί του οργανισμού απομακρύνουν ταχύτατα τους πνευμονιοκόκκους. Αν όμως συνυπάρχει αλλεργία ή ιογενής λοίμωξη, το προκαλούμενο οίδημα αποφράσσει την ευσταχιανή σάλπιγγα και τα εγκλωβισμένα μικρόβια πολλαπλασιάζονται και προκαλούν λοίμωξη. Ομοίως, στον πνεύμονα βλάβη του κροσσωτού επιθηλίου ή αυξημένη παραγωγή βλέννης είτε χρόνια (λόγω καπνίσματος ή επαγγέλματος) είτε οξεία (λόγω γρίπης ή άλλης ιογενούς λοίμωξης), εμποδίζει την απομάκρυνση των εισπνευσθέντων μικροοργανισμών και οδηγεί σε λοίμωξη.

Ο πνευμονιόκοκκος προκαλεί νόσο λόγω της ικανότητάς του να διαφεύγει της φαγοκυττάρωσης και της ενδοκυττάριας μικροβιοκτονίας. Σ' αυτό βασικό ρόλο διαδραματίζει το πολυσακχαριδικό του έλυτρο. Αιτίες που πιθανόν συμβάλλουν στη διαφυγή της φαγοκυττάρωσης είναι α) η απουσία στα φαγοκύτταρα υποδοχέων που αναγνωρίζουν τους πολυσακχαρίτες του ελύτρου β) η παρουσία ηλεκτροχημικών

δυνάμεων που απωθούν τα φαγοκύτταρα και γ) η απόκρυψη των αντισωμάτων και του συμπληρώματος που εναποτίθενται στο κυτταρικό τοίχωμα του μικροβίου κάτω από το έλυτρο και καθίστανται απρόσιτα στα φαγοκύτταρα (15).

Τα μικρόβια πολλαπλασιάζονται στους ιστούς και διεγείρουν ισχυρή φλεγμονώδη απάντηση του ξενιστή με ενεργοποίηση της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος από τα συστατικά του ελύτρου και του κυτταρικού τοιχώματος, αλλά και της κλασσικής οδού από αντισώματα έναντι πολυσακχαριτών του κυτταρικού τοιχώματος (48, 49).

Η πνευμολυσίνη, οι πρωτεΐνες επιφανείας, και η αυτολυσίνη συντελούν επίσης στην παθογένεια των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων (50).

1.7. ΑΜΥΝΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ

- **ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ ΤΟΥ ΕΛΥΤΡΟΥ**

Ο αποικισμός οδηγεί σε ανοσολογική απάντηση του ξενιστή με παραγωγή ειδικών για τον ορότυπο αντισωμάτων μέσα σε 30 ημέρες από την εγκατάσταση του μικροβίου στο ρινοφάρυγγα (51). Ο τίτλος των αντισωμάτων είναι υψηλός, όμοιος με αυτόν που ακολουθεί μετά από λοίμωξη. Σε περιπτώσεις που δεν υπάρχουν παράγοντες που προδιαθέτουν σε λοίμωξη, τότε τα αντικαψιδικά αντισώματα που εμφανίζονται μετά τον αποικισμό δρουν προστατευτικά και δεν αναπτύσσεται λοίμωξη. Σε ενήλικες όμως με μειωμένους μηχανισμούς κάθαρσης του κατώτερου αναπνευστικού, η λοίμωξη εγκαθίσταται πριν την παραγωγή αντισωμάτων.

Τα άτομα που έχουν μειωμένη ικανότητα παραγωγής αντισωμάτων είναι ευαίσθητα εν όσω αποικίζονται. Έτσι εξηγείται η υψηλή συχνότητα πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων σε ασθενείς με πολλαπλόν μυέλωμα, HIV λοίμωξη και άλλες παθολογικές καταστάσεις.

Αντικαψιδικά αντισώματα παράγονται επίσης και κατά την 5^η έως την 8^η ημέρα της νόσου. Πριν την ανακάλυψη των αντιβιοτικών για την θεραπεία της πνευμονιοκοκκικής πνευμονίας χορηγούσαν ορό ο οποίος περιείχε ειδικά αντικαψιδικά αντισώματα. Τα αποτελέσματα αυτής της αγωγής ήταν μέτρια. Θα πρέπει όμως να επισημάνουμε ότι υπάρχουν ενήλικες οι οποίοι αν και αδυνατούν να παράγουν τέτοια αντισώματα, ζουν πολλά χρόνια χωρίς να αναπτύξουν λοίμωξη.

- **ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΩΝ**
- **ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ**
- **Ο ΣΠΛΗΝΑΣ**

Ο σπλήνας αποτελεί το κύριο όργανο στο οποίο γίνεται η κάθαρση του αίματος από τον πνευμονιόκοκκο. Η βραδεία διέλευση του αίματος μέσω του σπλήνα και η παρατεταμένη επαφή με τα κύτταρα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος στις χορδές του Billroth και στους κόλπους του σπλήνα επιτρέπουν την κάθαρση των μη οψονινοποιηθέντων σωματιδίων (52, 53). Γι αυτό παρατηρούνται θανατηφόρες πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις κυρίως σε σπληνεκτομηθέντες και σε άτομα με πλημμελή λειτουργία του σπλήνα.

1.8. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΔΙΑΘΕΤΟΥΝ ΣΕ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΙΚΗ ΛΟΙΜΩΞΗ

Ποικίλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την ανοσολογική άμυνα του ξενιστή, προδιαθέτουν σε πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις.

- Ανεπαρκής σχηματισμός αντισωμάτων, οποιασδήποτε αιτιολογίας, είτε συγγενής είτε επίκτητος, ασκεί μέγιστη επίδραση στην ευαισθησία έναντι των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων. Άτομα με συγγενή αγαμμασφαιριναιμία ή υπογαμμασφαιριναιμία ή ανεπάρκεια ορισμένων υποτάξεων IgG έχουν μεγάλο κίνδυνο ανάπτυξης πνευμονιοκοκκικής λοίμωξης (54). Ομοίως ο πνευμονιόκοκκος αποτελεί το συχνότερο παθογόνο σε άτομα με πολλαπλούν μυέλωμα, χρόνια λεμφογενή λευχαιμία, λέμφωμα και HIV λοίμωξη (55, 56). Με την πρόοδο της HIV λοίμωξης και την πτώση των CD4 λεμφοκυττάρων κάτω από 500/mm³ μειώνεται και η ικανότητα παραγωγής αντισωμάτων έναντι του πνευμονιοκόκκου. Έχει βρεθεί ότι η συχνότητα πνευμονιοκοκκικής βακτηριαιμίας σε πάσχοντες από HIV-λοίμωξη πλησιάζει το 10 τοις χιλίοις (57).
- Η συγγενής ή επίκτητη ανεπάρκεια στους παράγοντες C1, C2 και C4 του συμπληρώματος συνδέεται με αυξημένη ευαισθησία σε πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις (58).
- Η ουδετεροπενία ή η δυσλειτουργία των πολυμορφοκυττάρων προδιαθέτουν σε πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις (59).
- Επί λειτουργικής ή ανατομικής ασπληνίας αυξάνεται το ποσοστό των διεισδυτικών πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων στο 100πλάσιο. Σε παιδιά με δρεπανοκυτταρική αναιμία η δυσλειτουργία του σπλήνα σε συνδυασμό με τα

- Αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης πνευμονιοκοκκικής λοίμωξης έχουν τα βρέφη και οι ηλικιωμένοι. Η ευαισθησία των ηλικιωμένων στην πνευμονιοκοκκική πνευμονία οφείλεται σε πολλούς παράγοντες. Η έκπτωση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος οδηγεί σε μείωση της παραγωγής των ανοσοσφαιρινών, και σε εξασθενημένη απάντηση στον παράγοντα νέκρωσης όγκων και στην ιντερλευκίνη-1. Άλλοι παράγοντες που επίσης συμβάλλουν είναι η εξασθένηση του αντανακλαστικού του εμέτου, ο υποσιτισμός και η συνύπαρξη άλλων ασθενειών (15).
- Στον σακχαρώδη διαβήτη η προδιάθεση σε λοιμώξεις από *Streptococcus pneumoniae* οφείλεται στην μειωμένη χημειοταξία των πολυμορφοκυττάρων καθώς και στην μειωμένη φαγοκυτταρική τους ικανότητα, ειδικά όταν συνυπάρχει νεφρική ανεπάρκεια (61).
- Οι ιογενείς λοιμώξεις προδιαθέτουν σε πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις καθώς και νοσήματα που παρεμποδίζεται η πνευμονική κάθαρση, όπως στο άσθμα, στη χρόνια βρογχίτιδα, και στη χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (62).
- Χρόνια νοσήματα, αλκοολισμός, παρατεταμένη νοσηλεία, έκθεση στο κρύο, και κόπωση συμπεριλαμβάνονται στους παράγοντες που προδιαθέτουν σε πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις (63).
- Αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης πνευμονιοκοκκικής λοίμωξης έχουν άτομα, τα οποία διαβιούν σε συνθήκες μεγάλης έκθεσης στο μικρόβιο, όπως σε βρεφονηπιακούς σταθμούς, στρατώνες, φυλακές, και ιδρύματα.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΔΙΑΘΕΤΟΥΝ ΣΕ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΙΚΗ

ΛΟΙΜΩΞΗ

I. Ανεπαρκής παραγωγή αντισωμάτων

Πρωτοπαθής

- συγγενής αγαμμασφαιριναιμία
- επίκτητη υπογαμμασφαιριναιμία
- επιλεκτική ανεπάρκεια υποτάξεων IgG

Δευτεροπαθής

- πολλαπλούν μυέλωμα
- χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία
- λέμφωμα
- HIV-λοίμωξη

II. Ανεπαρκής παραγωγή συμπληρώματος

Ελάττωση ή απουσία των παραγόντων C1, C2 και C4

III. Ανεπαρκής αριθμός πολυμορφοκυττάρων

Πρωτοπαθής

- κυκλική ουδετεροπενία

Δευτεροπαθής

- φαρμακευτική ουδετεροπενία
- απλαστική αναιμία

IV. Μειωμένη λειτουργικότητα των πολυμορφοκυττάρων

Αλκοολισμός

Χρήση κορτικοστεροειδών

Νεφρική ανεπάρκεια

V. Ανεπαρκής κάθαρση του πνευμονιόκοκκου από το αίμα

Πρωτοπαθής

- συγγενής ασπληνία, υποσπληνία

Δευτεροπαθής

- σπληνεκτομή
- δρεπανοκυτταρική αναιμία

VI. Πολυπαραγοντικοί

Βρεφική και Τρίτη ηλικία
Χρήση κορτικοστεροειδών
Κακή θρέψη
Κίρρωση ήπατος
Νεφρική ανεπάρκεια
Σακχαρώδης διαβήτης
Αλκοολισμός
Παρατεταμένη νοσηλεία
Χρόνια κόπωση
Άγχος
Έκθεση στο ψύχος

VII. Συνθήκες μεγάλης έκθεσης στο μικρόβιο

Βρεφονηπιακοί σταθμοί
Στρατώνες
Φυλακές
Ιδρύματα

VIII. Προηγούμενες λοιμώξεις του αναπνευστικού

Γρίπη

IX. Φλεγμονώδεις καταστάσεις

Κάπνισμα
Άσθμα
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια

1.9. ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ

Ο *Streptococcus pneumoniae* είναι παθογόνο της κοινότητας και προκαλεί ποικίλλες λοιμώξεις. Συχνότερα προκαλεί μέση ωτίτιδα, παραρρινοκολπίτιδα, τραχειοβρογχίτιδα, πνευμονία, βακτηραιμία και μηνιγγίτιδα, και σπανιότερα επιπεφυκίτιδα, ενδοκαρδίτιδα, περικαρδίτιδα, οστεομυελίτιδα, περιτονίτιδα, εγκεφαλικό απόστημα.

Οξεία μέση ωτίτιδα. Ο *S. pneumoniae* μαζί με τον *H. influenzae* είναι τα συχνότερα αίτια της οξείας μέσης ωτίτιδας, με τρίτη τη *Branhamella catarrhalis* (64, 65). Ο πνευμονιόκοκκος αποτελεί και για τους ενήλικες το συχνότερο αίτιο ωτίτιδας. Η άποψη που επικρατεί για την παθογένεια της είναι ότι αποτελεί επιπλοκή προηγούμενης ιογενούς λοίμωξης του ανώτερου αναπνευστικού. Η ίωση οδηγεί σε αλλοίωση του αναπνευστικού επιθηλίου, οίδημα και απόφραξη της ευσταχιανής σάλπιγγας. Τα μικρόβια πολλαπλασιάζονται, προκαλείται έντονη φλεγμονώδης απάντηση και παραγωγή υγρού. Η κλινική εικόνα της ωτίτιδας περιλαμβάνει την οξεία εισβολή διαφόρων συμπτωμάτων όπως ωταλγία, ωτόρροια, ανησυχία, βήχα και σε μερικές περιπτώσεις πυρετό. Στις επιπλοκές της ωτίτιδας περιλαμβάνεται η μετάδοση σε παρακείμενους ιστούς και πρόκληση μαστοειδίτιδας. Η παραγωγή υγρού που παραμένει για μεγάλο χρονικό διάστημα είναι υπεύθυνο για τις υποτροπές της νόσου και για διαταραχές της ακοής. Άλλες πιο σπάνιες επιπλοκές είναι η μηνιγγίτιδα, το υποσκληρίδιο εμπύημα και το εγκεφαλικό απόστημα.

Παραρρινοκολπίτιδα. Η αιτιολογία της νόσου είναι η ίδια με αυτή της οξείας μέσης ωτίτιδας. Κυρίαρχο ρόλο διαδραματίζει ο *S. pneumoniae*, ενώ ορισμένες φορές έρχεται δεύτερος μετά τον *H. influenzae* (66). Προδιαθεσικοί παράγοντες της λοίμωξης είναι: ιογενείς λοιμώξεις, αλλεργία, πολύποδες, οδοντικές λοιμώξεις και

κυστική ίνωση. Επιπλοκές όπως η μηνιγγίτιδα, εγκεφαλικό απόστημα, υποσκληρίδιο εμπύημα, και θρόμβωση των φλεβωδών κόλπων, είναι σπάνιες.

Μηνιγγίτιδα. Είναι βαριά διεισδυτική λοίμωξη με υψηλή θνητότητα (67, 68). Ο *S. pneumoniae* είναι το συχνότερο αίτιο μηνιγγίτιδας των ενηλίκων. Σε πολλές χώρες όπου εφαρμόστηκαν προγράμματα μαζικού εμβολιασμού κατά του *H. influenzae* type b, ο *S. pneumoniae* αποτελεί το πρώτο αίτιο μηνιγγίτιδας. Η λοίμωξη προκαλείται είτε από επινέμηση των μηνίγγων από το μέσο ους ή τους παραρρινίους κόλπους, είτε με αιματογενή διασπορά μέσω του χοριοειδούς πλέγματος. Ο πνευμονιόκοκκος είναι επίσης κύριο αίτιο μηνιγγίτιδας μετά από κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις, μετά από χειρουργικές επεμβάσεις στο πρόσωπο και μετά από κατάγματα της βάσης του κρανίου. Κλινικά η πνευμονιοκοκκική μηνιγγίτιδα δε μπορεί να διακριθεί από τη μηνιγγίτιδα που οφείλεται σε άλλα παθογόνα. Αν το άτομο δεν έχει πάρει αντιβιοτική αγωγή η μικροσκοπική εξέταση της Gram χρώσης του ΕΝΥ αποκαλύπτει την ύπαρξη πνευμονιοκόκκων και η απομόνωσή του στην καλλιέργεια οδηγούν στη σωστή διάγνωση. Αιμορραγικό εξάνθημα παρατηρείται μόνο σε βαριές κεραυνοβόλες μορφές, κυρίως σε σπληνεκτομηθέντες.

Πνευμονία. Ο πνευμονιόκοκκος είναι το συχνότερο αίτιο πνευμονίας της κοινότητας. Η πνευμονιοκοκκική πνευμονία είναι λοβώδης πνευμονία με κλασσική κλινική εικόνα που χαρακτηρίζεται από οξεία εισβολή με υψηλό πυρετό με ρίγος, παραγωγικό βήχα, πυώδη ή αιματηρή απόχρεμψη, ταχυκαρδία, δύσπνοια ή/και κυάνωση. Πολλές φορές δεν παρατηρείται η κλασσική συμπτωματολογία και η νόσος εκδηλώνεται με υποξεία μορφή. Στα παιδιά μερικές φορές το μόνο σύμπτωμα της πνευμονίας είναι η ταχύπνοια ή άλλες φορές όταν η πύκνωση εντοπίζεται στον κάτω λοβό μπορεί να υπάρχει μόνο κοιλιακό άλγος. Η πλευριτική συλλογή είναι πολύ

συχνή (40%-50%) στην πορεία της πνευμονιοκοκκικής πνευμονίας ενώ σε 15%-30% των ασθενών η πνευμονία συνοδεύεται από βακτηραιμία (69, 70).

Ο παθογενετικός μηχανισμός ανάπτυξης της πνευμονιοκοκκικής πνευμονίας περιλαμβάνει την εισπνοή μικροβίων που φθάνουν στις κυψελίδες όπου πολλαπλασιάζονται και διεισδύουν στο επιθήλιο των κυψελίδων όπου διεγείρεται έντονη φλεγμονώδης αντίδραση με ενεργοποίηση της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος και την παραγωγή κυτοκινών. Αποτέλεσμα αυτών είναι η αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων και η παραγωγή εκκρίματος, το οποίο είναι αρχικά ορώδες και αργότερα πυώδες. Η κλινική διάγνωση της πνευμονίας τίθεται όταν η παραγωγή εξιδρώματος είναι αρκετή ώστε να προκαλέσει διαταραχές της ανταλλαγής αερίων και να εκφραστεί ακτινολογικά σαν πύκνωση.

Ο χρόνος επώασης είναι 1-3 ημέρες. Επιπλοκές της νόσου είναι το εμπύημα που αποτελεί την πιο συχνή επιπλοκή, βακτηραιμία, ενδοκαρδίτιδα και μηνιγγίτιδα. Στην πνευμονιοκοκκική πνευμονία, σε μικροσκοπική εξέταση της Gram χρώσης των πτυέλων παρατηρούνται Gram-θετικοί κόκκοι σε ζευγάρια. Η καλλιέργεια των πτυέλων επιβεβαιώνει τη διάγνωση εφ' όσον ο μικροοργανισμός αναπτυχθεί στην καλλιέργεια. Οι καλλιέργειες των πτυέλων είναι ποσοτικές και η καταλληλότητα του δείγματος αξιολογείται με μικροσκοπική εξέταση. Αν το δείγμα είναι καλής ποιότητας η διάγνωση μπορεί να βασιστεί στην εξέταση της Gram χρώσης.

Βακτηραιμία. Στους ενήλικες η βακτηραιμία σχετίζεται συνήθως με μηνιγγίτιδα, πνευμονία ή ωτίτιδα (71, 72). Η θνητότης φθάνει το 15-20%. Στα παιδιά όμως η βακτηραιμία εκδηλώνεται συνήθως χωρίς εστία και τα ποσοστά θνητότητας είναι <1%.

Άλλα σύνδρομα. 1. Αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα. Ο *S. pneumoniae* είναι το κύριο αίτιο της αυτόματης βακτηριακής περιτονίτιδας στα παιδιά, ενώ αντίθετα είναι πολύ σπάνια στους ενήλικες κυρίως σε πάσχοντες από κίρρωση ήπατος (73).

2. Ενδοκαρδίτιδα. Σπάνια κλινική συνδρομή που μερικές φορές συνοδεύεται από πυώδη περικαρδίτιδα (74).

3. Σηπτική αρθρίτιδα. Σπάνια σε φυσιολογικές αρθρώσεις και σε αρθρώσεις με προσθετική ή σαν επιπλοκή ρευματοειδούς αρθρίτιδας (75).

4. Οστεομυελίτιδα (76).

5. Επιπεφυκίτιδα. Είναι συνήθως αμφοτερόπλευρη και ο *S. pneumoniae* μαζί με τον *H. influenzae* αποτελούν τα συχνότερα αίτια (77).

6. Επισκληρίδιο και εγκεφαλικό απόστημα. Σπάνιες πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις.

7. Λοιμώξεις δέρματος και μαλακών μορίων Σπανιότατη πνευμονιοκοκκική λοίμωξη που έχει διαγνωσθεί σε άτομα με νοσήματα του συνδετικού ιστού (78).

1.10. ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΝΤΟΧΗ

Το αντιβιοτικό εκλογής για την θεραπεία πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων είναι η πενικιλίνη. Πνευμονιόκοκκος με μειωμένη ευαισθησία στην πενικιλίνη αναφέρθηκε από τους Hansmann και Bullen για πρώτη φορά το 1967 στην Αυστραλία (79). Αργότερα και για μια δεκαετία υπήρχαν σποραδικές αναφορές ανθεκτικών στην πενικιλίνη στελεχών (PRP). Το 1977 εμφανίστηκαν στη Ν. Αφρική πνευμονιόκοκκοι με υψηλού επιπέδου αντοχή στην πενικιλίνη και ταυτόχρονη αντοχή και σε άλλα αντιβιοτικά, σε ασθενείς με βακτηραιμία, μηνιγγίτιδα και πνευμονία (80). Στις επόμενες δεκαετίες τα PRP στελέχη εξαπλώθηκαν σε ολόκληρο τον κόσμο. Η πανδημική διασπορά PRP αλλά και η διασταυρούμενη αντοχή που παρουσιάζεται συχνά στα ανθεκτικά αυτά στελέχη και αφορά αντοχή στις β-λακτάμες αλλά και αντιβιοτικά άλλων κατηγοριών, αποτελεί ιδιαίτερα ανησυχητικό φαινόμενο (81).

Στους παράγοντες που έχουν συσχετισθεί με την φορεία ή με τη λοίμωξη από ανθεκτικούς πνευμονιοκόκκους περιλαμβάνονται η πρόσφατη ή συχνή χρήση αντιβιοτικών, η παιδική ηλικία, η διαβίωση σε περιοχές με υψηλή συχνότητα απομόνωσης ανθεκτικών στην πενικιλίνη στελεχών και οι παιδικοί σταθμοί (82). Επίσης αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ανθεκτικών στελεχών παρατηρείται κατά τους χειμερινούς μήνες, λόγω της συχνότερης χρήσης αντιβιοτικών. Στην εξάπλωση της αντοχής μπορεί να συμβάλει και ο αποικισμός των παιδιών με ανθεκτικά στελέχη. Τα παιδιά μεταδίδουν εύκολα αυτά τα στελέχη και ειδικά όταν είναι σε βρεφονηπιακούς σταθμούς κι έτσι αυξάνεται το ποσοστό της φορείας ή των λοιμώξεων από ανθεκτικούς πνευμονιοκόκκους.

Μεγαλύτερη αντοχή εμφανίζουν τα στελέχη που απομονώνονται από βλεννογόνους απ' όαυτά που απομονώνονται από στείρα βιολογικά υγρά όπως αίμα και ΕΝΥ.

Τα ποσοστά αντοχής του πνευμονιοκόκκου στην πενικιλλίνη κυμαίνονται από χώρα σε χώρα και αυξάνονται με την πάροδο του χρόνου. Οι Friedland και Klugman αναφέρουν ότι στην Αφρική το 45% των στελεχών πνευμονιοκόκκου που απομονώνονται από παιδιά είναι ανθεκτικά στην πενικιλλίνη (83).

Στην Ισπανία τα ποσοστά αντοχής στην πενικιλλίνη ανήλθαν σε 53,4% την περίοδο 1999-2000 (84, 85), στη Γαλλία 57,8% το 1998-2000 (86), ενώ υψηλά ποσοστά αντοχής στην πενικιλλίνη αναφέρονται επίσης στην Ουγγαρία (58%), Ιαπωνία (50,8%) Τουρκία (40%) και Ρουμανία (25%) (86-88). Στην Ιταλία τα ποσοστά αντοχής των πνευμονιοκόκκων στη πενικιλλίνη κυμαίνονται γύρω στο 15% ενώ στη Γερμανία, Σουηδία, Τσεχία, Ολλανδία και Ελβετία τα ποσοστά αντοχής είναι πολύ χαμηλά (85, 86, 89, 90).

Στις ΗΠΑ στέλεχος πνευμονιοκόκκου με ενδιάμεση ευαισθησία στην πενικιλλίνη (MIC=0,25 μg/ml) απομονώθηκε για πρώτη φορά από ασθενή με μηνιγγίτιδα το 1974 (91). Τη δεκαετία του 80 αναφέρονται ποσοστά αντοχής κυμαινόμενα από 3-5% (92).

Το 1991-1992 η αντοχή αυξήθηκε στο 17,8%, το 1994-1995 στο 23,6%, το 1997-1998 στο 29,5% και το 1998-2000 έφθασε το 37% (86, 93-95).

Το πρόγραμμα PROTEKT US σε μελέτη 10.103 στελεχών πνευμονιοκόκκου από λοιμώξεις του αναπνευστικού αναφέρει ποσοστό αντοχής στην πενικιλλίνη 38.9% κυμαινόμενο από 27,7% στις πολιτείες του ΒΔ τμήματος της χώρας, σε 50,4% στις πολιτείες του ΝΑ τμήματος (96).

Στην Ελλάδα τα ποσοστά αντοχής στην πενικιλλίνη διαφέρουν λόγω διαφορών στα κλινικά δείγματα που εξετάστηκαν, στην ηλικία των ασθενών και στη μέθοδο

ελέγχου της ευαισθησίας. Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται αναλυτικά τα ποσοστά αντοχής των πνευμονιοκόκκων στην πενικιλίνη από διάφορα νοσοκομεία της Ελλάδας.

	ΧΡΟΝΙΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟΣ	Εντόπιση λοίμωξης-Κλινικό δείγμα	Συχνότητα αντοχής στην πενικιλίνη (%)		
			A	ME	A+ME
ΠΑΡΑΣΧΑΚΗ (97)	1992-1995	Παιδιατρικές λοιμώξεις	-	10	
ΚΑΝΑΒΑΚΗ (98)	1994	Πνευμονία (ενήλικες)			14
ΚΟΥΠΠΑΡΗ (99)	1995-96	Παιδιατρικές λοιμώξεις	4	13,2	
ΣΥΡΟΓΙΑΝΝΟΠΟΥΛΟΣ (100)	1995-1996	Ρινοφαρυγγικό (φορεία παιδιών)	12	17	
ΦΩΤΟΠΟΥΛΟΥ (101)	1995-1997	Παιδιατρικές λοιμώξεις	6	20	
ΤΣΟΛΙΑ (102)	1997	Ρινοφαρυγγικό (φορεία παιδιών)	-	11,4	
ΚΟΥΠΠΑΡΗ (103)	1998	Παιδιατρικές λοιμώξεις	3,9	17,6	
ΚΑΝΕΛΛΟΠΟΥΛΟΥ (104)	1998-2001	Λοιμώξεις αναπνευστικού ενηλίκων	5,5	28	
ΧΑΤΖΗΠΑΝΑΓΙΩΤΟΥ (105)	1999-2000	Παιδιατρικές λοιμώξεις	13	-	
ΖΗΣΗΣ (36)	2001-2002	Διεισδυτικές παιδιατρικές λοιμώξεις	-	9,2	
ΖΗΣΗΣ (36)	2001-2002	Οξεία μέση ωτίτιδα	10,2	37,4	
ΚΑΝΑΒΑΚΗ (106)	1997-2003	Πνευμονία-Διεισδυτικές λοιμώξεις (ενήλικες)	5,3	13,1	
ΠΑΡΑΣΧΑΚΗ (107)	2001-2004	Παιδιατρικές λοιμώξεις + μικροβιοφορεία	12,9	31,8	44,6

Η αντοχή του πνευμονιοκόκκου στα β-λακταμικά αντιβιοτικά οφείλεται στη σύνθεση πενικιλινοδοσμευτικών πρωτεϊνών (PBPs) με μειωμένη συγγένεια για τ' αντιβιοτικά αυτά. Ο πνευμονιόκοκκος έχει 6 πενικιλινοδοσμευτικές πρωτεΐνες, τις

PBP 1a, PBP 1b, PBP 2a, PBP 2b, PBP 2x και PBP 3. Οι πενικιλινοδεσμευτικές πρωτεΐνες είναι ένζυμα (τρανσπεπτιδάσες) που καταλύουν την τρανσπεπτιδίωση της πεπτιδογλυκάνης στα τελικά στάδια της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος. Στα ευαίσθητα στελέχη πνευμονιοκόκκου, τα β-λακταμικά αντιβιοτικά αναγνωρίζουν τις πενικιλινοδεσμευτικές πρωτεΐνες για τις οποίες έχουν συγγένεια και τις δεσμεύουν, παρεμποδίζοντας έτσι τη λειτουργία τους. Αυτό οδηγεί σε αναστολή της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος, με συνέπεια την αναστολή ανάπτυξης ή τη λύση του μικροβιακού κυττάρου. Τα ανθεκτικά στελέχη διαφεύγουν της δράσης των β-λακταμικών αντιβιοτικών λόγω της μειωμένης συγγένειας που έχουν προς αυτά οι πενικιλινοδεσμευτικές πρωτεΐνες και δεν δεσμεύονται αποτελεσματικά από αυτές (108, 109).

Οι πενικιλινοδεσμευτικές πρωτεΐνες χαμηλής συγγένειας κωδικοποιούνται από *pbp* γονίδια με «μωσαϊκή» δομή, τα οποία έχουν προκύψει από γενετικούς ανασυνδυασμούς ανάμεσα στα *pbp* γονίδια των πνευμονιοκόκκων και τα ομόλογα γονίδια άλλων, συγγενών ειδών στρεπτοκόκκου. Ο βασικός μηχανισμός που οδηγεί σε δημιουργία μωσαϊκών γονιδίων αντοχής είναι η οριζόντια μεταφορά γενετικού υλικού μέσω γενετικής μεταμόρφωσης, ενώ η περαιτέρω εξάπλωση της αντοχής οφείλεται τόσο σε οριζόντια όσο και σε κλωνική διασπορά (108, 109).

Αντοχή στις κεφαλοσπορίνες 2^{ης} γενιάς παρατηρείται σε μεγάλο ποσοστό στελεχών ανθεκτικών στη πενικιλίνη. Η αντοχή στις κεφαλοσπορίνες οφείλεται σε μεταλλαγμένες πενικιλινοδεσμευτικές πρωτεΐνες, ειδικά στις PBP 2x και PBP 1a (110).

Η αντοχή και σε άλλες ομάδες αντιμικροβιακών είναι ευρέως διαδεδομένη σήμερα και αφορά αντοχή σε μακρολίδες, τετρακυκλίνες, χλωραμφενικόλη, τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη και κινολόνες.

Η αντοχή στην τετρακυκλίνη οφείλεται στην παραγωγή πρωτεϊνών στο κυτταρόπλασμα που προστατεύουν το ριβόσωμα από τη δράση της τετρακυκλίνης. Αυτές οι πρωτεΐνες κωδικοποιούνται από τα γονίδια *tet (M)* ή *tet (O)* (111, 112).

Η αντοχή στην χλωραμφενικόλη οφείλεται στην παραγωγή ακετυλοτρανσφεράσης που αδρανοποιεί το αντιβιοτικό μετά από ακετυλίωση (113, 114), ενώ η αντοχή στην κοτριμοξαζόλη οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου που κωδικοποιεί την DHPS (συνθετάση του διυδροπτεροϊκού οξέος) (115, 116).

Η αντοχή χαμηλού επιπέδου στις φλουοροκινολόνες οφείλεται σε σημειακή μετάλλαξη στο *parC* ή το *parE* γονίδιο με επακόλουθη μεταβολή της τοποϊσομεράσης IV και η υψηλού επιπέδου αντοχή οφείλεται σε ταυτόχρονη μετάλλαξη του *parC* και του *gyrA* (117-119).

Μεγαλύτερο όμως ενδιαφέρον έχει η αντοχή στις μακρολίδες που χρησιμοποιούνται ευρέως στη θεραπεία πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων, σε ασθενείς με αλλεργία στη πενικιλίνη ή σε έχοντες λοίμωξη από ανθεκτικό στην πενικιλίνη στέλεχος πνευμονιόκοκκου. Η αντοχή στην ερυθρομυκίνη ποικίλλει σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές από 0,7% μέχρι 80,3% σύμφωνα με το Alexander project (86). Η αντοχή στις μακρολίδες οφείλεται σε δύο μηχανισμούς:

- A. Μετατροπή στη θέση-στόχο του αντιμικροβιακού λόγω μεθυλίωσης ή μετάλλαξης, που εμποδίζει την δέσμευση του στο 23S ριβόσωμα. Είναι ο συνηθέστερος μηχανισμός και κωδικοποιείται από *erm* (erythromycin ribosome methylase) γονίδια και αφορά μακρολίδες, στρεπτογραμίνες και κλινδαμυκίνη (φαινότυπος MLS_B).
- B. Ύπαρξη αντλίας (efflux) που ωθεί το αντιβιοτικό ενεργητικά έξω από το κύτταρο. Η αντλία κωδικοποιείται από το γονίδιο *mefE* (φαινότυπος M) (120-122).

Σε πολλές χώρες παρατηρείται αύξηση του ποσοστού αντοχής στην ερυθρομυκίνη με την πάροδο του χρόνου (123-126).

Αντοχή σε μια κατηγορία αντιβιοτικών αυξάνει την πιθανότητα αντοχής και σε άλλες κατηγορίες.

Η ευαισθησία στα αντιβιοτικά καθορίζεται από τις ελάχιστες ανασταλτικές πυκνότητες (ΕΑΠ). Το Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ορίζει τα όρια ευαισθησίας και αντοχής (127). Τα στελέχη ορίζονται ως ευαίσθητα, μετρίως ευαίσθητα και ανθεκτικά. Τα ισχύοντα σήμερα όρια ευαισθησίας αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα. Στην περίπτωση της πενικιλίνης όταν δεν μπορούμε να μετρήσουμε ΕΑΠ, χρησιμοποιούμε δίσκο οξακιλλίνης 1μg στη μέθοδο διάχυσης των δίσκων που ελέγχει την ευαισθησία βάζοντας σαν όριο ζώνης αναστολής τα 20 mm. Στελέχη με ζώνη ≥ 20 mm θεωρούνται ευαίσθητα, ενώ αυτά που έχουν ζώνη < 20 mm είναι μη ευαίσθητα, αλλά σ' αυτή την περίπτωση απαιτείται προσδιορισμός της ΕΑΠ γιατί δεν μπορούμε να ξεχωρίσουμε αν το στέλεχος είναι μετρίως ευαίσθητο ή ανθεκτικό.

Η ΕΑΠ μπορεί εύκολα να καθοριστεί σε κλινικά εργαστήρια με την μέθοδο του E-test, χρησιμοποιώντας ταινίες με βαθμιδωτή συγκέντρωση αντιβιοτικού. Είναι εύκολη και αξιόπιστη μέθοδος και χρησιμοποιείται ευρύτατα (128).

ΠΙΝΑΚΑΣ. Ελάχιστες ανασταλτικές πυκνότητες αντιβιοτικών για τον *Streptococcus pneumoniae*

ANTIBIOTIKA	E*	ME*	A*
Penicillin	≤0.06	0.12-1	≥2
Cefuroxime	≤0.5	1	≥2
Cefotaxime (όχι μηνιγγίτιδα)	≤1	2	≥4
Cefotaxime (μηνιγγίτιδα)	≤0.5	1	≥2
Ceftriaxone (όχι μηνιγγίτιδα)	≤1	2	≥4
Ceftriaxone (μηνιγγίτιδα)	≤0.5	1	≥2
Cefepime (όχι μηνιγγίτιδα)	≤1	2	≥4
Cefepime (μηνιγγίτιδα)	≤0.5	1	≥2
Imipenem	≤0.12	0.25-0.5	≥1
Meropenem	≤0.25	0.5	≥1
Erythromycin	≤0.25	0.5	≥1
Clarithromycin	≤0.25	0.5	≥1
Clindamycin	≤0.25	0.5	≥1
Azithromycin	≤0.5	1	≥2
Levofloxacin	≤2	4	≥8
Sparfloxacin	≤0.5	1	≥2
Moxifloxacin	≤1	2	≥4
Chloramphenicol	≤4	-	≥8
Tetracycline	≤2	4	≥8
Trimethoprim/ sulfamethoxazole	≤0.5/9.5	1/19-2/38	≥4/76
Vancomycin	≤1	-	-

* μg/ml

1.11. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η θεραπεία των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων βασίζεται:

- Στη θέση και στην βαρύτητα της λοίμωξης.
- Στα δεδομένα του αντιβιογράμματος. Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί το ποσοστό των ανθεκτικών στην πενικιλίνη στελεχών που ταυτόχρονα εμφανίζουν αντοχή και σε άλλες ομάδες αντιβιοτικών όπως μακρολίδες, χλωραμφενικόλη, τετρακυκλίνη, κοτριμοξαζόλη (129, 130).
- Σε παράγοντες του ξενιστή όπως ηλικία, αλλεργία σε αντιβιοτικά, ανοσοκαταστολή, νεφρική ανεπάρκεια κ.ά.

Από άλλες ομάδες αντιβιοτικών, οι νεώτερες κινολόνες η λεβοφλοξασίνη, σπαρφλοξασίνη και μοξιφλοξασίνη έχουν καλή δράση έναντι του πνευμονιοκόκκου. Τα γλυκοπεπτίδια και κυρίως η βανκομυκίνη είναι ιδιαίτερα δραστική ακόμη και έναντι πολυανθεκτικών στελεχών πνευμονιοκόκκου και δεν έχει παρατηρηθεί αντοχή στο αντιβιοτικό αυτό.

Για την θεραπεία της πνευμονιοκοκκικής πνευμονίας σε ενήλικες με μέτριας βαρύτητας λοίμωξη από στελέχη ευαίσθητα στην πενικιλίνη, συνιστάται η αμοξικιλίνη από το στόμα 1 g/8ωρο ή η αμοξικιλίνη με κλαβουλανικό οξύ από το στόμα 1 g/8ωρο. Εναλλακτικά μπορούν να δοθούν κεφουροξίμη από το στόμα 750 mg/8-12ωρο, μακρολίδες, κετολίδες, ή κινολόνες. Για ανθεκτικά στην πενικιλίνη στελέχη η θεραπεία βασίζεται στο αποτέλεσμα του αντιβιογράμματος (131, 132). Σε σοβαρή πνευμονία αρχικά χορηγούνται ενδοφλέβια κεφτριαξόνη 1-2 g/24ωρο ή κεφοταξίμη 1 g/6ωρο ή ενδοφλέβια αμοξικιλίνη με κλαβουλανικό οξύ 2 g/8ωρο. Εναλλακτικά χορηγούνται IV ιμιπενέμη 500 mg/6ωρο ή IV μεροπενέμη 1 g/8ωρο ή IV 1 g/12ωρο ή μια από τις νεώτερες κινολόνες (133, 134).

Στην θεραπεία της οξείας μέσης ωτίτιδας χρησιμοποιείται η αμοξυκιλλίνη διότι έχει πολύ καλή δράση έναντι του *S. pneumoniae* που είναι το συχνότερο αίτιο βακτηριακής ωτίτιδας. Η αμοξυκιλλίνη χορηγείται σε δόση 40-45 mg/kg/24ωρο σε παιδιά >2 ετών, ενώ στους ενήλικες 2-3 g/24ωρο. Σε παιδί <2 ετών με οξεία μέση ωτίτιδα που πηγαίνει σε βρεφονηπιακό σταθμό, ή έχει πάρει αντιβιοτικά τον τελευταίο μήνα η χορηγούμενη δόση της αμοξυκιλλίνης διπλασιάζεται. Εναλλακτικά στην εμπειρική θεραπεία της ωτίτιδας χρησιμοποιούνται κεφαλοσπορίνες β' γενιάς από το στόμα (κεφουροξίμη, κεφακλόρη) καθώς επίσης και κλαριθρομυκίνη ή κλινδαμικίνη κυρίως όταν υπάρχει αλλεργία στην πενικιλίνη. Ασθενής με ωτίτιδα πρέπει να παρακολουθείται και να επανεκτιμάται σε 48 ώρες (135).

Η εμπειρική θεραπεία της παραρρινοκολπίτιδας είναι ίδια με αυτή της ωτίτιδας διότι η παθογένεια της λοίμωξης και τα αίτια είναι κοινά. Χορηγείται αμοξυκιλλίνη, αμοξυκιλλίνη/κλαβουλανικό οξύ ή κεφαλοσπορίνη β' γενιάς. Εναλλακτικά μπορεί να δοθεί κλαριθρομυκίνη ή κλινδαμικίνη και κινολόνες στους ενήλικες.

Σε ενήλικες με πνευμονιοκοκκική μηνιγγίτιδα από στέλεχος ευαίσθητο στην πενικιλίνη, χορηγούνται IV 12.000.000 – 24.000.000 μονάδες πενικιλίνης G, IV ημερησίως, χορηγούμενες σε 6 δόσεις. Στελέχη με μειωμένη ευαισθησία στη πενικιλίνη θεραπεύονται με 1-2 g κεφτριαξόνης IV ανά 12ωρο, εφ' όσον είναι ευαίσθητα σ' αυτές. Όταν το στέλεχος έχει μειωμένη ευαισθησία στις κεφαλοσπορίνες γ' γενιάς (κεφοταξίμη, κεφτριαξόνη) η χορηγούμενη θεραπεία περιλαμβάνει βανκομυκίνη (500-750 mg IV κάθε 6 ώρες) + κεφοταξίμη (2g IV κάθε 6-8 ώρες) ή κεφτριαξόνη (2g IV κάθε 12 ώρες). Εναλλακτικά θα μπορούσε να χορηγηθεί ριφαμικίνη σε συνδυασμό με βανκομυκίνη ή με κεφοταξίμη ή κεφτριαξόνη, διότι τα περισσότερα στελέχη πνευμονιοκόκκου είναι ευαίσθητα στη

ριφαμπικίνη και επιτυγχάνονται υψηλές συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο ΕΝΥ (136).

Σε ενδοκαρδίτιδα από πνευμονιόκοκκο χορηγείται πενικιλίνη G, IV σε υψηλές δόσεις (για στελέχη ευαίσθητα στην πενικιλίνη), κεφοταξίμη ή κεφτριαξόνη (για στελέχη μετρίως ευαίσθητα ή ανθεκτικά στην πενικιλίνη) ή βανκομυκίνη (για στελέχη ανθεκτικά στις κεφαλοσπορίνες γ' γενιάς) (137).

Σε οστεομυελίτιδα από πνευμονιόκοκκο χορηγείται πενικιλίνη G ή κεφοταξίμη ή κεφτριαξόνη. Για στελέχη ανθεκτικά στην πενικιλίνη χρησιμοποιείται κεφοταξίμη ή κεφτριαξόνη ή κλινδαμυκίνη. Δραστική επίσης είναι η βανκομυκίνη και η τεϊκοπλανίνη, η διείσδυσή τους όμως στα οστά είναι μικρή (138).

1.12. ΠΡΟΛΗΨΗ

Η ανάπτυξη αποτελεσματικού εμβολίου αποτελεί το καλύτερο μέτρο για την πρόληψη των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων. Η πρώτη προσπάθεια για την πρόληψη της πνευμονιοκοκκικής πνευμονίας έγινε στις αρχές του 20^{ου} αιώνα από τον Wright και τους συνεργάτες του, οι οποίοι εμβολίασαν με νεκρούς πνευμονιοκόκκους μεταλλορύχους στη Ν. Αφρική. Τα αποτελέσματα δεν ήταν και πολύ ενθαρρυντικά και η μετέπειτα ανακάλυψη και ευρεία χρήση της πενικιλίνης, μείωσε το ενδιαφέρον για την παραγωγή εμβολίου. Αργότερα μετά την εμφάνιση ανθεκτικών στην πενικιλίνη στελεχών και αφού διαπιστώθηκε ότι οι πολυσακχαρίτες της κάψας του πνευμονιοκόκκου έχουν αντιγονική δράση και μπορούν να προκαλέσουν την παραγωγή αντισωμάτων, αναζωπυρώθηκε το ενδιαφέρον για το εμβόλιο (139). Στα μέσα της δεκαετίας του 1970 παρασκευάστηκαν εμβόλια με συνδυασμό πολυσακχαριτών και το πρώτο πολυδύναμο εμβόλιο που κυκλοφόρησε στις ΗΠΑ ήταν ένα 14-δύναμο αντιπνευμονιοκοκκικό εμβόλιο που αργότερα το 1983 αντικαταστάθηκε από το 23-δύναμο πολυσακχαριδικό που κυκλοφορεί μέχρι σήμερα (140). Το εμβόλιο περιέχει 25 μg από καθένα από τα παρακάτω αντιγόνα: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F. Οι ορότυποι αυτοί ευθύνονται για το 90% περίπου των περιπτώσεων πνευμονίας και >90% των περιπτώσεων μηνιγγίτιδος και βακτηριαιμίας.

Μετά τον εμβολιασμό, σε ενήλικες ακόμη και σε ηλικιωμένα άτομα ο τίτλος των αντισωμάτων αυξάνεται σταδιακά και σε 2-3 εβδομάδες διπλασιάζεται σε ποσοστό >80% (141). Σε ανοσοκατασταλαμένους η ανοσολογική απάντηση είναι ασθενής και σε παιδιά μικρότερα των 2 ετών ασθενέστερη διότι οι ηλικίες αυτές δεν απαντούν καλά σε πολυσακχαριδικά αντιγόνα (142, 143). Οι ορότυποι 6A, 14, 19F, 23F δεν

προκαλούν καλή αντισωματική απάντηση στις μικρότερες των 5 ετών ηλικίες. Μετά τον εμβολιασμό υγιών ενηλίκων τα αντισώματα παραμένουν τουλάχιστον 5 χρόνια (144). Στα παιδιά ο τίτλος των αντισωμάτων υποχωρεί ταχύτερα (σε 3-5 χρόνια), ιδιαίτερα σε πάσχοντα από δρεπανοκυτταρική αναιμία ή σπληνεκτομηθέντα (145, 146).

Αυτό το απλό πολυσακχαριδικό εμβόλιο δεν μειώνει το ποσοστό αποικισμού του ρινοφάρυγγα.

Η αποτελεσματικότητα του 23-δύναμου πολυσακχαριδικού εμβολίου κυμαίνεται μεταξύ 56% και 81% ανάλογα με τις ηλικιακές ομάδες που μελετήθηκαν (147-149). Σε άτομα >65 χρόνων η αποτελεσματικότητα του εμβολίου ανέρχεται στο 75%-80%. Επίσης προφυλάσσει από διεισδυτικές πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις άτομα με σακχαρώδη διαβήτη, καρδιοπάθειες, χρόνια πνευμονοπάθεια και ανατομική ασπληνία.

Ο εμβολιασμός θεωρείται απαραίτητος (150):

1. Σε ηλικιωμένα άτομα >65 χρόνων.
2. Σε άτομα ανοσοεπαρκή 2-64 χρόνων με:
 - Χρόνιες καρδιοπάθειες
 - Χρόνιες πνευμονοπάθειες
 - Χρόνιες ηπατοπάθειες
 - Σακχαρώδη διαβήτη
 - Νεφρική ανεπάρκεια
 - Λειτουργική ή ανατομική ασπληνία
3. Σε ανοσοκατασταλμένους >2 χρόνων με:
 - HIV λοίμωξη
 - Λευχαιμία, λέμφωμα, πολλαπλό μυέλωμα

- Γενικευμένη κακοήθεια
- Μεταμόσχευση οργάνων-μυελού
- Λήψη ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων

Κύριο μειονέκτημα του 23-δύναμου πολυσακχαριδικού εμβολίου είναι ότι δεν καλύπτει τα μικρότερα των 2 ετών παιδιά, όπου οι πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις είναι συχνές. Αυτό συμβαίνει διότι οι πολυσακχαρίτες διεγείρουν τα ώριμα B-λεμφοκύτταρα για την παραγωγή αντισωμάτων. Διάφοροι ερευνητές ασχολούμενοι με το θέμα παρατήρησαν ότι ένα πολυσακχαριδικό αντιγόνο συνδεδεμένο με μια πρωτεΐνη που έχει αντιγονική δράση, εκλύει ανοσολογική απάντηση που ενεργοποιεί τα T-λεμφοκύτταρα, τα οποία αναγνωρίζουν την πρωτεΐνη-μεταφορέα και το πολυσακχαριδικό αντιγόνο και διεγείρουν τα B-λεμφοκύτταρα αφ' ενός σε πλασματοκύτταρα που παράγουν αντισώματα και αφ' ετέρου σε μνήμονα κύτταρα. Από το 2000 κυκλοφόρησε ένα 7-δύναμο συζευγμένο εμβόλιο κατά του πνευμονιοκόκκου. Περιέχει κεκαθαμένους πολυσακχαρίτες της κάψας των 7 συχνότερων ορότυπων του πνευμονιοκόκκου : 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F. Καθένας πολυσακχαρίτης συνδέεται με ένα πρωτεϊνικής φύσεως μη τοξικό παράγωγο της διφθεριτικής τοξίνης. Το συζευγμένο εμβόλιο είναι αποτελεσματικό από τη βρεφική ηλικία (151). Κι οι 7 ορότυποι είναι αντιγονικοί και διεγείρουν την παραγωγή αντισωμάτων ειδικών για κάθε ορότυπο. Καλύπτει το 88% των περιπτώσεων βακτηριαιμίας και μηνιγγίτιδας και το 71% των περιπτώσεων μέσης ωτίτιδας στις ΗΠΑ καθώς και το 71-86% των στελεχών πνευμονιοκόκκου που απομονώνονται από διεισδυτικές λοιμώξεις στην Ευρώπη (152-154). Το συζευγμένο εμβόλιο παρέχει μακροχρόνια προστασία λόγω της ανοσολογικής μνήμης και επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι προκαλεί μείωση της ρινοφαρυγγικής φορέας που

οδηγεί σε έμμεση προστασία λόγω μείωσης της μετάδοσης λοιμογόνων στελεχών σε επίνοσα άτομα (155).

Οι ενδείξεις χορήγησης του εμβολίου είναι:

1. Σε όλα τα παιδιά ηλικίας 2-23 μηνών
2. Σε παιδιά ηλικίας 24-59 μηνών με δρεπανοκυτταρική αναιμία, ασπληνία, HIV-λοίμωξη, σακχαρώδη διαβήτη, νεφρωσικό σύνδρομο και νεφρική ανεπάρκεια, καρδιοπάθειες, χρόνια πνευμονοπάθεια, ανοσοκαταστολή από νόσο, φάρμακα ή ακτινοβολία και μεταμοσχευθέντες.

Εκτός από τον εμβολιασμό προφυλακτικά έναντι των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων μπορούν να εφαρμοστούν γενικά μέτρα όπως:

- Βελτίωση των κοινωνικοοικονομικών συνθηκών
- Αλλαγή περιβαλλοντικών συνθηκών
- Αποφυγή συνωστισμού
- Εξάλειψη του καπνίσματος
- Διόρθωση ανατομικών ανωμαλιών που προδιαθέτουν σε πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις
- Χημειοπροφύλαξη σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία και σε ασθενείς με ασπληνία (ανατομική ή λειτουργική) (156).

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. ΥΛΙΚΟ

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 450 στελέχη *S. pneumoniae*, που απομονώθηκαν από ισάριθμα κλινικά δείγματα ασθενών του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου, κατά την περίοδο 1997-2005. Τα στελέχη αυτά απομονώθηκαν: 122 από ρινικές εκκρίσεις, 77 από οφθαλμικό επίχρισμα, 73 από πτύελα, 46 από φαρυγγικό έκκριμα, 43 από αίμα, 34 από ωτικό έκκριμα, 24 από βρογχικές εκκρίσεις και βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, 15 από πύο, 8 από εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY), 3 από πλευριτικό υγρό, 3 από κοιλιακό υγρό, 1 από αρθρικό υγρό και 1 από αγγειακό καθετήρα.

Χρησιμοποιήθηκε ένα στέλεχος από κάθε ασθενή.

2.2 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ

Τα δείγματα που στάλθηκαν για καλλιέργεια ήταν πτύελα, βρογχικές εκκρίσεις, ENY, αίμα, πλευριτικό υγρό, ωτικό έκκριμα, οφθαλμικό επίχρισμα, ρινικό έκκριμα, πύο αποστημάτων και εμπτυμάτων. Οι καλλιέργειες των κλινικών δειγμάτων έγιναν σε διάφορα θρεπτικά υλικά με βάση τα πρωτόκολλα του εργαστηρίου. Στις καλλιέργειες αίματος χρησιμοποιήθηκε το αυτοματοποιημένο σύστημα Bact/Alert και μετά από επώαση έγινε ανακαλλιέργεια του θετικού δείγματος σε αιματούχο και σοκολατόχρωμο άγαρ.

Το αιματούχο και το σοκολατόχρωμο άγαρ χρησιμοποιήθηκαν για την απομόνωση του πνευμονιοκόκκου. Μετά από 24ωρη επώαση στους 36⁰ C σε αερόβιες συνθήκες αναζητήθηκαν οι χαρακτηριστικές αποικίες, έγινε χρώση κατά Gram, και εφ' όσον επρόκειτο για Gram θετικούς λογχοειδείς διπλοκόκκους, γινόταν ανακαλλιέργεια σε

αιματούχο και σοκολατόχρωμο άγαρ. Από τις ανακαλλιέργειες γίνονταν και οι δοκιμασίες ταυτοποίησης του μικροβίου.

2.3 ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ

Στόχος μας ήταν να διαχωρίσουμε τους πνευμονιοκόκκους από τους άλλους πρασινίζοντες στρεπτοκόκκους με τους οποίους έχουν κοινούς χαρακτήρες (Gram θετικοί κόκκοι, δεν παράγουν καταλάση και προκαλούν α-αιμόλυση σε αιματούχο άγαρ). Οι δοκιμασίες ταυτοποίησης που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

1. **Καλλιέργεια σε σοκολατόχρωμο άγαρ.** Μετά από 24ωρη έως 48ωρη επώαση, παρατηρούμε εκτός από το πρασίνισμα και ξάσπρισμα στο υλικό κάτω από τις αποικίες ή και σε ολόκληρη την περιοχή σποράς.
2. **Δοκιμή ευαισθησίας στην οπτοχίνη.** Καλλιεργούμε το μικρόβιο στην επιφάνεια αιματούχου άγαρ. Στην περιοχή αυτή τοποθετούμε δισκίο 6 mm εμποτισμένο με οπτοχίνη (1:400). Μετά από 24ωρη επώαση παρατηρούμε ζώνη αναστολής ≥ 14 mm αν το μικρόβιο που εξετάζουμε είναι πνευμονιόκοκκος. Αν η ζώνη αναστολής είναι <14 mm οι πιθανότητες να είναι πνευμονιόκοκκος είναι πολύ λίγες και προχωρούμε σε περαιτέρω δοκιμασίες.
3. **Δοκιμασία διαλυτότητας στη χολή.** Εικοσιτετράωρο καλλιέργημα πνευμονιοκόκκου σε ζωμό διαυγάζεται αν σ' αυτό προστεθεί 1 ml ταυροχολικού νατρίου 10%.

2.4. ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Για την μελέτη της ευαισθησίας στα αντιβιοτικά και της ορολογικής τυποποίησης ήταν απαραίτητη η αποθήκευση των στελεχών. Τα στελέχη ανακαλλιεργήθηκαν σε 3 αιματούχα τρυβλία για 18 h σε θερμοκρασία 36⁰ C σε ατμόσφαιρα CO₂ 5%. Μετά από έλεγχο της καθαρότητας του καλλιεργήματος, το συγκεντρώσαμε με αποστειρωμένο στυλεό και έγινε εναιώρημα σε στείρο ζωμό Trypticase soy broth με 10% γλυκερόλη σε σωληνάρια βαθείας κατάψυξης, που μετά τοποθετήθηκαν στους -80⁰ C.

2.5. ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

2.5.1. ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΙΑΧΥΣΗΣ ΤΩΝ ΔΙΣΚΩΝ

Μ' αυτή τη μέθοδο έγινε αρχικά ο έλεγχος ευαισθησίας όλων των στελεχών στα ακόλουθα αντιβιοτικά: οξακιλλίνη, ερυθρομυκίνη, κλαριθρομυκίνη, κλινδαμυκίνη, χλωραμφενικόλη, τετρακυκλίνη, τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη, λεβοφλοξασίνη, σπαρφλοξασίνη, μοξιφλοξασίνη και βανκομυκίνη. Η τεχνική ενοφθαλμισμού, η φόρτιση των δίσκων και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων έγιναν σύμφωνα με τις οδηγίες του Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Παράλληλα με το εξεταζόμενο στέλεχος γινόταν και ποιοτικός έλεγχος με τον προσδιορισμό της ευαισθησίας με την μέθοδο διάχυσης των δίσκων, στα πρότυπα στελέχη *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 και ATCC 6305.

ΤΕΧΝΙΚΗ

Παίρνουμε 4-5 αποικίες καθαρού καλλιεργήματος και κάνουμε εναιώρημα σε δοκιμαστικό σωληνάριο με 3 ml φυσιολογικό ορό. Η θολρότητα του διαλύματος προσαρμόζεται στο 0.5 του πρότυπου θολοσιμετρικού διαλύματος της κλίμακας McFarland. Κατόπιν εμβαπτίζουμε στο σωληνάριο αποστειρωμένο βαμβακοφόρο στυλεό για την παραλαβή του καλλιεργήματος. Η περίσσεια του καλλιεργήματος αφαιρείται με πίεση και περιστροφή του στυλεού στο εσωτερικό τοίχωμα του σωληναρίου, πάνω από το εναιώρημα. Ακολούθως ο στυλεός σύρεται στην επιφάνεια τρυβλίου, με Mueller-Hinton άγαρ με 5% αίμα προβάτου, σε τρεις διευθύνσεις ώστε να επιτευχθεί ομοιόμορφη σπορά του υλικού. Μετά τον εμβολιασμό του υλικού τοποθετούμε τους δίσκους των αντιβιοτικών στη επιφάνεια του υλικού και βάζουμε το τρυβλίο για επώαση στους 35⁰ C σε ατμόσφαιρα CO₂ 5% για 20-24 ώρες. Η

ανάγνωση των αποτελεσμάτων γίνεται με μεγάλη ακρίβεια. Μετράμε ακριβώς τη διάμετρο της ζώνης αναστολής. Σαν όριο της ζώνης αναστολής θεωρείται το σημείο στο οποίο δεν παρατηρείται ορατή μικροβιακή ανάπτυξη. Η διάμετρος της ζώνης αναστολής για κάθε αντιβιοτικό ερμηνεύεται από το CLSI και το στέλεχος χαρακτηρίζεται ως ευαίσθητο, μετρίως ευαίσθητο ή ανθεκτικό.

2.5.2. ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΡΑΙΩΣΕΩΝ ΤΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΕ ΖΩΜΟ

Το μικροβιακό εναιώρημα εκτίθεται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αντιβιοτικού. Η μικρότερη συγκέντρωση αντιβιοτικού που δεν επιτρέπει την ορατή ανάπτυξη του μικροοργανισμού καλείται ελάχιστη ανασταλτική πυκνότητα του φαρμάκου (ΕΑΠ). Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε η μικρομέθοδος αραιώσεων των αντιβιοτικών σε ζωμό, για τον προσδιορισμό της ελάχιστης ανασταλτικής πυκνότητας της πενικιλίνης.

ΤΕΧΝΙΚΗ

Χρησιμοποιούνται στείρες πλάκες μικροτιτλοποίησης με 96 βυθίσματα που εμπεριέχουν υποδιπλάσιες συγκεντρώσεις αντιβιοτικού. Σε κάθε βύθισμα της πλάκας προστίθεται ποσότητα 100 μl εναιωρήματος του μικροβίου σε 10 ml ζωμού Mueller-Hinton με αιμολυμένο αίμα αλόγου (2-5%) με τελική πυκνότητα 5×10^5 CFU/ml. Μετά από επώαση 24 ωρών στους 36° C γίνεται η ανάγνωση των αποτελεσμάτων. Στα βοθρία που είναι θολά θεωρούμε ότι υπάρχει μικροβιακή ανάπτυξη. Η χαμηλότερη αραιώση του αντιβιοτικού που αναστέλλει την ανάπτυξη του μικροβίου αποτελεί την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση του αντιβιοτικού (ΕΑΠ).

2.5.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΑΠ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ Ε-TEST

Τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: πενικιλίνη, κεφουροξίμη, κεφοταξίμη, κεφτριαξόνη, κεφεπίμη, ιμιπενέμη, μεροπενέμη, ερυθρομυκίνη, κλαριθρομυκίνη, αζιθρομυκίνη, κλινδαμυκίνη, λεβοφλοξασίνη, σπαρφλοξασίνη, μοξιφλοξασίνη, τετρακυκλίνη, χλωραμφενικόλη, τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη και βανκομυκίνη.

Η ερμηνεία αποτελεσμάτων έγινε σύμφωνα με τις υποδείξεις του Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

ΤΕΧΝΙΚΗ

Από 24ωρο καλλιέργημα του στελέχους σε αιματούχο άγαρ, φτιάχνουμε μικροβιακό εναιώρημα θολερότητας 0,5 της κλίμακας McFarland. Αν οι αποκίες του πνευμονιοκόκκου είναι βλενώδεις τότε το μικροβιακό εναιώρημα που παρασκευάζουμε είναι θολερότητας 1 της κλίμακας McFarland. Ενοφθαλμίζουμε το εναιώρημα σε μεγάλα τρυβλία (120x120 mm) με Mueller-Hinton άγαρ με 5% απινιδωμένο αίμα προβάτου. Ο ενοφθαλμισμός γίνεται με αποστειρωμένο στυλεό που τον έχουμε εμβαπτίσει στο εναιώρημα του μικροβίου. Εμβολιάζουμε το τρυβλίο σε τρεις διευθύνσεις ώστε να επιτευχθεί ομοιόμορφη σπορά του υλικού. Αφήνουμε τα τρυβλία για 10-15 λεπτά, ούτως ώστε η επιφάνειά τους να είναι εντελώς στεγνή. Ακολούθως τοποθετούμε πάνω στο εμβολιασμένο υλικό ταινίες που περιέχουν διαβάθμιση συγκεντρώσεων του αντιβιοτικού, οι οποίες αναγράφονται στην πάνω επιφάνεια των ταινιών. Επωάζουμε τα τρυβλία στους 35⁰ C σε ατμόσφαιρα CO₂ 5% για 20-24 ώρες. Ως ΕΑΠ λαμβάνεται η τιμή της κλίμακας στο σημείο όπου την τέμνει η έλλειψη από την αναστολή ανάπτυξης του μικροβίου.

2.6. ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ

Έγινε ορολογική τυποποίηση σε όλα τα στελέχη *S. pneumoniae* με τη μέθοδο εξοίδησης του ελύτρου (Quellung reaction). Όταν έρθει σε επαφή μικροβιακό εναιώρημα με ορό που περιέχει αντίσωμα έναντι του πολυσακχαριδικού αντιγόνου του ελύτρου, προκαλείται συνένωση του αντιγόνου με το ομόλογο αντίσωμα. Το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος σχηματίζει ίζημα στην περιφέρεια του κυττάρου και διαχωρίζεται σαφώς από το υπόλοιπο κύτταρο λόγω της διαφορετικής διαθλαστικής του ικανότητας. Επιπλέον παρατηρείται συγκόλληση των μικροβιακών κυττάρων.

ΤΕΧΝΙΚΗ

Μικροβιακό εναιώρημα σε θρεπτικό ζωμό με 5% ορό επωάζεται για 20 ώρες στους 36⁰ C. Παίρνουμε μια μικρή σταγόνα εναιωρήματος (1-4μ) και τη βάζουμε σε αντικειμενοφόρο πλάκα . Προσθέτουμε ίση ποσότητα αντιορού και αναμειγνύουμε. Τοποθετούμε καλυπτρίδα και μικροσκοπούμε σε μικροσκόπιο αντιθέτου φάσης χρησιμοποιώντας καταδυτικούς φακούς (μεγέθυνση x100). Αν η αντίδραση είναι θετική, το έλυτρο γίνεται ορατό λόγω της καθίζησης του ανοσοσυμπλέγματος και της αλλαγής στο διαθλαστικό τους δείκτη. Έτσι κατά τη μικροσκόπηση διακρίνουμε μια στεφάνη να περιβάλλει τα κύτταρα που είναι εντελώς διαφορετική από το υπόλοιπο κύτταρο.

2.7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση έγινε με μη παραμετρικές δοκιμασίες (Fisher's exact test, Kruskal-Wallis test). Το όριο σημαντικότητας τέθηκε στο 0,05, όπως συνηθίζεται.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

Η ευαισθησία στην πενικιλίνη εξετάστηκε με μέτρηση της ΕΑΠ με μικρομέθοδο και με το E-test. Βρέθηκε ότι 296/450 (65,8%) στελέχη πνευμονιοκόκκου ήταν ευαίσθητα στην πενικιλίνη (ΕΑΠ $\leq 0,06$ $\mu\text{g/ml}$), 87/450 (19,3%) ήταν μετρίως ευαίσθητα (ΕΑΠ 0,12-1 $\mu\text{g/ml}$) ενώ 67/450 (14,9%) ήταν ανθεκτικά (ΕΑΠ ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$). Τα μετρίως ευαίσθητα και ανθεκτικά στελέχη έδωσαν στο αντιβιογράμμα με δίσκο οξακιλλίνης (1 μg) διάμετρο < 20 mm.

Υψηλότερα ποσοστά ευαισθησίας παρατηρήθηκαν στις υπόλοιπες β -λακτάμες και καρβαπενέμες που εξετάστηκαν: κεφουροξίμη: 73,8%, ιμιπενέμη: 82%, κεφεπίμη: 89,3%, μεροπενέμη: 91,6%, κεφοταξίμη: 96,7 και κεφτριαξόνη: 96,9% (Πίνακας 1). Το ποσοστό των στελεχών με ενδιάμεση και υψηλού επιπέδου αντοχή στην πενικιλίνη αυξήθηκε από 17,1% το 1997 σε 28,5% το 2005. Υψηλότερα ποσοστά αντοχής (38,3%) εμφανίστηκαν το 2001 (Εικόνα 1).

Από τα 450 στελέχη που μελετήθηκαν, τα 55 προερχόταν από διεισδυτικές λοιμώξεις (μηνιγγίτιδα, σηψαιμία, αρθρίτιδα), και τα υπόλοιπα 395 από μη διεισδυτικές (λοιμώξεις αναπνευστικού, ωτίτιδες, οφθαλμικές λοιμώξεις). Τα ποσοστά αντοχής στην πενικιλίνη στελεχών που απομονώθηκαν από μη διεισδυτικές λοιμώξεις ήταν σημαντικά ψηλότερα, συγκρινόμενα με αυτά στελεχών που απομονώθηκαν από διεισδυτικές λοιμώξεις ($p=0,0022$) (Πίνακας 2-3).

Από τα 450 στελέχη, 247 απομονώθηκαν από παιδιά και 203 από ενήλικες. Τα στελέχη που προέρχονταν από παιδιά παρουσίασαν υψηλότερου βαθμού αντοχή στην πενικιλίνη και στις υπόλοιπες β -λακτάμες απ' αυτά ενηλίκων ($p=0,0020$) (Πίνακας 4-5).

Έγινε επίσης ανάλυση της αντοχής σε 17 αντιβιοτικά των μελετηθέντων στελεχών σύμφωνα με την ευαισθησία τους στην πενικιλίνη (Πίνακας 6). Βρέθηκε ότι τα ανθεκτικά και ενδιάμεσης ευαισθησίας στην πενικιλίνη στελέχη ήταν σημαντικά ανθεκτικότερα στις β-λακτάμες αλλά και σε άλλες ομάδες αντιβιοτικών εκτός από τις κινολόνες (σπαρφλοξασίνη και μοξιφλοξασίνη), απ' ότι τα ευαίσθητα στην πενικιλίνη στελέχη ($p < 0,0001$).

Όσον αφορά τις μακρολίδες, αναλυτικά τα ποσοστά αντοχής των στελεχών ήταν τα ακόλουθα: στην ερυθρομυκίνη και κλαριθρομυκίνη 30%, και στην αζιθρομυκίνη 44,7%. Στην εικόνα 2 παρατηρούμε την απότομη αύξηση των ποσοστών αντοχής στην ερυθρομυκίνη και κλαριθρομυκίνη από 7,1% το 1997 σε 13,3% το 1998, 31,6% το 1999 και 40,3% το 2000. Από το 2001 έως και το 2005 τα ποσοστά αντοχής κυμάνθηκαν από 30% έως 34%. Αντίθετα, στην αζιθρομυκίνη εμφανίστηκαν πολύ ψηλά ποσοστά αντοχής, που έφθασαν το 68,6% το 2000 (Εικόνα 2).

Από τις λινκοσαμίδες μελετήθηκε η κλινδαμυκίνη. Το 10,7% των στελεχών ήταν ανθεκτικά στην κλινδαμυκίνη. Τα ποσοστά αντοχής αυξήθηκαν σημαντικά από 2,4% το 1997 σε 10,5% το 1999 και 16,6% το 2005 (Εικόνα 3).

Από τα 135 στελέχη που ήταν ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη, τα 48 (35,5%) εμφάνισαν συγχρόνως αντοχή και στην κλινδαμυκίνη (φαινότυπος MLS_B). Από αυτά τα 46 παρουσίασαν υψηλού επιπέδου αντοχή στην ερυθρομυκίνη και αντοχή στην κλινδαμυκίνη με φαινότυπο ιδιοσυστασιακής αντίστασης (CR-constitutive resistance) και μόνο δύο στελέχη εμφάνισαν αντοχή στην ερυθρομυκίνη και επαγωγίμη αντοχή (IR-inducible resistance) στην κλινδαμυκίνη. Η επαγωγή έγινε εμφανής στο αντιβιογράμμα με τη μέθοδο διάχυσης των δίσκων.

Όσον αφορά τις κινολόνες παρατηρήθηκε πολύ υψηλή δραστηριότητα των αντιβιοτικών αυτών *in vitro*. Όλα τα στελέχη ήταν ευαίσθητα στη λεβοφλοξασίνη,

ενώ πολύ χαμηλά (0,2%) ήταν τα ποσοστά αντοχής στη σπαρφλοξασίνη και μοξιφλοξασίνη (Πίνακας 1).

Το ποσοστό αντοχής στην χλωραμφενικόλη ανήλθε στο 6,4%. Το 1997 παρατηρήθηκαν τα υψηλότερα ποσοστά αντοχής, που αργότερα από το 1998 έως το τέλος του 2005 μειώθηκαν σημαντικά (Εικόνα 4).

Υψηλά παρουσιάστηκαν και τα ποσοστά αντοχής στην τετρακυκλίνη (24,4%) με διακυμάνσεις από 13,3% έως 33,3% που εμφανίστηκε το 2003 (Εικόνα 5).

Στην τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη, 18,9% των στελεχών ήταν ανθεκτικά και 11,5% ήταν μετρίως ευαίσθητα. Τα ποσοστά αντοχής κυμάνθηκαν από 9% το 2000 έως 30,9% το 2002 (Εικόνα 6).

Τέλος, όλα τα στελέχη ήταν ευαίσθητα στην βανκομυκίνη.

Τριάντα τοις εκατό των στελεχών (135/450) παρουσίασαν αντοχή σε τρία ή περισσότερα αντιβιοτικά. Εκατόν είκοσι από τα 154 μη ευαίσθητα στην πενικιλίνη (μετρίως ευαίσθητα και ανθεκτικά) στελέχη εμφάνισαν πολυαντοχή. Οι φαινότυποι στα πολυανθεκτικά στελέχη ήταν 19 και αναφέρονται κατά σειρά συχνότητας στον πίνακα 7. Συχνότερος ήταν ο φαινότυπος αντοχής στην πενικιλίνη, ερυθρομυκίνη, κλινδαμυκίνη, τετρακυκλίνη και τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη (19,3%).

Ακολουθούν οι φαινότυποι αντοχής στην πενικιλίνη, ερυθρομυκίνη, τετρακυκλίνη και τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη (14%), πενικιλίνη, αζιθρομυκίνη, και τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη (11,1%) και πενικιλίνη, χλωραμφενικόλη, τετρακυκλίνη και τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη (10,4%).

Όσον αφορά την πενικιλίνη, οι τιμές της ΕΑΠ με την μικρομέθοδο αραιώσεων σε ζωμό διέφεραν σε 9 μόνο στελέχη από τις αντίστοιχες τιμές του E-test. Έτσι ενώ με το E-test χαρακτηρίστηκαν ως ανθεκτικά, με τη μέθοδο αραιώσεων σε ζωμό χαρακτηρίστηκαν ως μετρίως ευαίσθητα.

Όσον αφορά την τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη η μέτρηση της ΕΑΠ με το E-test κατέταξε ως μετρίως ευαίσθητα 41 στελέχη που είχαν καταταγεί ως ανθεκτικά με τη μέθοδο διάχυσης των δίσκων, ενώ για την τετρακυκλίνη, ανέδειξε ως μετρίως ευαίσθητα 17 στελέχη που χαρακτηρίστηκαν ως ανθεκτικά με τη μέθοδο διάχυσης των δίσκων. Όσον αφορά τα υπόλοιπα αντιβιοτικά η ταξινόμηση ήταν η ίδια και με τις δύο μεθόδους.

3.2. ΟΡΟΤΥΠΙΑ

Ορολογική τυποποίηση έγινε σε 406 (90,2%) στελέχη πνευμονιοκόκκου. Συνολικά βρέθηκαν 16 διαφορετικές οροομάδες. Η οροομάδα 19 ήταν κυρίαρχη έναντι των άλλων σε ποσοστό 25,1% (102 στελέχη). Ακολούθησαν οι οροομάδες 14 και 6 σε ποσοστό 11,8% (48 στελέχη σε καθεμία) και οι οροομάδες 9 και 23 σε ποσοστά 11,3% και 9,6%, αντίστοιχα. Μελετώντας τη συχνότητα των οροομάδων ανά έτος παρατηρούμε ότι κυριαρχεί η οροομάδα 19, εκτός από το 1997 και 2000 που εμφανίζεται συχνότερα η οροομάδα 23 και το 1998 η οροομάδα 9 (Πίνακας 8).

Συγκρίνοντας τις δύο χρονικές περιόδους 1997-2000 και 2001-2005 παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης των οροομάδων 14, 9, 19, 23, 3, 7, 1 ($p=0,0205$, $p=0,0259$, $p<0,0001$, $p=0,0019$, $p=0,0046$, $p=0,0027$, $p=0,0057$, αντίστοιχα) (Πίνακας 8).

Εάν εξετάσουμε τις οροομάδες των στελεχών που απομονώθηκαν από παιδιατρικές λοιμώξεις και αυτές στελεχών που απομονώθηκαν από λοιμώξεις ενηλίκων, παρατηρούμε ότι και στις δύο ομάδες κυριαρχεί η οροομάδα 19 (Πίνακας 9).

Εξετάζοντας τις οροομάδες των στελεχών που απομονώθηκαν από ασθενείς με διεισδυτικές πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις, επικρατέστερες βρέθηκαν οι οροομάδες 19, 9, και 7 στην ίδια συχνότητα, ενώ στα στελέχη που απομονώθηκαν από ασθενείς με μη διεισδυτικές λοιμώξεις η πιο συχνή οροομάδα ήταν η 19. Η οροομάδα 7 ήταν σημαντικά συχνότερη σε στελέχη που απομονώθηκαν από ασθενείς με διεισδυτικές λοιμώξεις ($p=0,0001$) (Πίνακας 10).

Εξετάζοντας τις οροομάδες των στελεχών σε σχέση με την αντοχή τους στην πενικιλίνη, ερυθρομυκίνη, και τετρακυκλίνη, πιο ανθεκτική ήταν η οροομάδα 19,

ενώ αν εξετάσουμε τις οροομάδες σε σχέση με την αντοχή των στελεχών στη χλωραμφενικόλη, πιο ανθεκτική ήταν η οροομάδα 23 (Πίνακες 11, 12). Η συχνότητα εμφάνισης των οροομάδων σε ευαίσθητα, μετρίως ευαίσθητα και ανθεκτικά στην πενικιλίνη στελέχη διαφέρει σημαντικά ($p=0,0494$). Αντίθετα δεν παρατηρείται σημαντική διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης των οροομάδων σε ευαίσθητα και ανθεκτικά στελέχη στην ερυθρομυκίνη, χλωραμφενικόλη και τετρακυκλίνη.

**ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΜΕΛΕΤΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΕ 18 ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ ΤΩΝ 450
ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΠΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΑΝ
ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟ 1997-2005**

ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΟ	MIC₅₀	MIC₉₀	ΕΥΡΟΣ	E%	A (ME)%
Penicillin	0,023	1,5	<0,016-6	65,8	14,9 (19,3)
Cefuroxime	0,016	3	<0,016-8	73,8	22,9 (3,3)
Cefotaxime	0,016	0,75	<0,016-2	96,7	(3,3)
Ceftriaxone	0,016	0,75	<0,016-2	96,9	(3,1)
Cefepime	0,047	1,5	0,006-3	89,3	0,9 (9,8)
Imipenem	0,016	0,25	<0,002-1	82	1,8 (16,2)
Meropenem	0,008	0,25	<0,002-1	91,6	0,9 (7,5)
Erythromycin	0,094	32	<0,016-≥256	70	30
Clarithromycin	0,047	48	<0,016-≥256	70	30
Clindamycin	0,125	6	0,016-≥256	89,3	10,7
Azithromycin	1	>256	<0,016-≥256	39,3	44,7 (16)
Levofloxacin	0,75	1,5	0,19-2	100	0,0
Sparfloxacin	0,25	0,5	0,047-≥32	97,1	0,2 (2,7)
Moxifloxacin	0,125	0,19	0,016-8	99,8	0,2
Chloramphenicol	1,5	3	0,125-24	93,6	6,4
Tetracycline	0,125	16	0,023-128	74,5	24,4 (1,1)
Trimethoprim- sulfamethoxazole	0,25	8	0,023-≥32	69,6	18,9 (11,5)
Vancomycin	0,38	0,5	0,125-0,75	100	0,0

**ΠΙΝΑΚΑΣ 2. ΜΕΛΕΤΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΕ 18 ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ 55
ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΠΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΑΝ
ΑΠΟ ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ**

ANTIBIOTIKO	E		ME		A	
	Αρ.	%	Αρ.	%	Αρ.	%
Penicillin	44	80	5	9,1	6	10,9
Cefuroxime	45	81,8	2	3,6	8	14,6
Cefotaxime	54	98,2	1	1,8	-	-
Ceftriaxone	54	98,2	1	1,8	-	-
Cefepime	50	90,9	4	7,3	1	1,8
Imipenem	50	90,9	4	7,3	1	1,8
Meropenem	53	96,4	1	1,8	1	1,8
Erythromycin	39	70,9	-	-	16	29,1
Clarithromycin	39	70,9	-	-	16	29,1
Clindamycin	53	96,4	-	-	2	3,6
Azithromycin	23	41,8	14	24,5	18	32,7
Levofloxacin	55	100	-	-	-	-
Sparfloxacin	54	98,2	1	1,8	-	-
Moxifloxacin	55	100	-	-	-	-
Chloramphenicol	53	96,4	-	-	2	3,6
Tetracycline	51	92,7	-	-	4	7,3
Trimethoprim-sulfamethoxazole	43	78,2	2	3,6	10	18,2
Vancomycin	55	100	-	-	-	-

**ΠΙΝΑΚΑΣ 3. ΜΕΛΕΤΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΕ 18 ANTIBIOTIKA 395
ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΠΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΑΝ
ΑΠΟ ΜΗ ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ**

ANTIBIOTIKO	E		ME		A	
	Αρ.	%	Αρ.	%	Αρ.	%
Penicillin	252	63,8	76	19,2	67	17
Cefuroxime	287	72,7	15	3,8	93	23,5
Cefotaxime	381	96,5	14	3,5	-	-
Ceftriaxone	382	96,7	13	3,3	-	-
Cefepime	352	89,1	40	10,1	3	0,8
Imipenem	319	80,7	69	17,5	7	1,8
Meropenem	359	90,9	33	8,3	3	0,8
Erythromycin	276	69,9	-	-	119	30,1
Clarithromycin	276	69,9	-	-	118	30,1
Clindamycin	349	88,3	-	-	46	11,6
Azithromycin	154	39	58	14,7	183	46,3
Levofloxacin	395	100	-	-	-	-
Sparfloxacin	383	97	11	2,8	1	0,2
Moxifloxacin	394	99,8	-	-	1	0,2
Chloramphenicol	368	93,2	-	-	27	6,8
Tetracycline	284	71,9	5	1,3	106	26,8
Trimethoprim-sulfamethoxazole	270	68,4	50	12,6	75	19
Vancomycin	395	100	-	-	-	-

**ΠΙΝΑΚΑΣ 4. ΜΕΛΕΤΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΕ 18 ANTIBIOTIKA 247
ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΠΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΑΝ
ΑΠΟ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ**

ANTIBIOTIKO	E		ME		A	
	Αρ.	%	Αρ.	%	Αρ.	%
Penicillin	147	59,5	56	22,7	44	17,8
Cefuroxime	166	67,2	13	5,3	68	27,5
Cefotaxime	238	96,4	9	3,6	-	-
Ceftriaxone	237	96	10	4	-	-
Cefepime	212	85,8	32	13	3	1,2
Imipenem	193	78,2	51	20,6	3	1,2
Meropenem	221	89,5	24	9,7	2	0,8
Erythromycin	163	66	-	-	84	34
Clarithromycin	163	66	-	-	84	34
Clindamycin	219	88,7	-	-	28	11,3
Azithromycin	88	35,6	38	15,4	121	49
Levofloxacin	247	100	-	-	-	-
Sparfloxacin	239	96,8	7	2,8	1	0,4
Moxifloxacin	246	99,6	-	-	1	0,4
Chloramphenicol	227	92	-	-	20	8
Tetracycline	173	70	3	1,2	71	28,8
Trimethoprim-sulfamethoxazole	160	64,8	29	11,7	58	23,5
Vancomycin	247	100	-	-	-	-

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. ΜΕΛΕΤΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ ΣΕ 18 ANTIBIOTIKA 203
ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΠΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΑΝ
ΑΠΟ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΕΝΗΛΙΚΩΝ

ANTIBIOTIKO	E		ME		A	
	Αρ.	%	Αρ.	%	Αρ.	%
Penicillin	149	73,4	31	15,3	23	11,3
Cefuroxime	166	81,8	2	1	35	17,2
Cefotaxime	197	97	6	3	-	-
Ceftriaxone	199	98	4	2	-	-
Cefepime	190	93,6	12	5,9	1	0,5
Imipenem	176	86,7	22	10,8	5	2,5
Meropenem	191	94,1	10	4,9	2	1
Erythromycin	152	74,9	-	-	51	25,1
Clarithromycin	152	74,9	-	-	51	25,1
Clindamycin	183	90,1	-	-	20	9,9
Azithromycin	89	43,8	34	16,8	80	39,4
Levofloxacin	203	100	-	-	-	-
Sparfloxacin	203	100	-	-	-	-
Moxifloxacin	203	100	-	-	-	-
Chloramphenicol	194	95,6	-	-	9	4,4
Tetracycline	162	79,8	2	1	39	19,2
Trimethoprim-sulfamethoxazole	153	75,4	23	11,3	27	13,3
Vancomycin	203	100	-	-	-	-

**ΠΙΝΑΚΑΣ 6. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΤΩΝ 450 ΣΤΕΛΕΧΩΝ
ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΣΕ 17 ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ, ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗΝ
ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΗ**

ANTIBIOTIKO	% των Pen ^E στελεχών (αρ. =296)			% των Pen ^{ME} στελεχών (αρ. =87)			% των Pen ^A στελεχών (αρ. =67)		
	E	ME	A	E	ME	A	E	ME	A
Cefuroxime	99,7	0,3	0	41,4	16,1	42,5	79,1	0	20,9
Cefotaxime	100	0	0	98,9	1,1	0	79,1	20,9	0
Ceftriaxone	100	0	0	98,9	1,1	0	80,6	19,4	0
Cefepime	100	0	0	93,1	6,9	0	37,3	56,7	6
Imipenem	100	0	0	75,9	24,1	0	10,4	77,6	12
Meropenem	100	0	0	97,7	2,3	0	46,2	47,8	6
Erythromycin	82,1	0	17,9	57,5	0	42,5	32,8	0	67,2
Clarithromycin	82,1	0	17,9	57,5	0	42,5	32,8	0	67,2
Clindamycin	97,3	0	2,7	73,6	0	26,4	74,6	0	25,4
Azithromycin	45,6	18,9	35,5	31	13,8	55,2	22,4	6	71,6
Levofloxacin	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Sparfloxacin	97,3	2,4	0,3	94,3	5,7	0	100	0	0
Moxifloxacin	99,7	0	0,3	100	0	0	100	0	0
Chloramphenicol	99,7	0	0,3	80,5	0	19,5	83,6	0	11,4
Tetracycline	93,6	0	6,4	48,3	4,6	47,1	23,9	1,5	74,6
Trimethoprim/ sulfamethoxazole	90.9	5.4	3.7	34.5	20.7	44.8	20.9	26.9	52.2
Vancomycin	100	0	0	100	0	0	100	0	0

**ΠΙΝΑΚΑΣ 7. ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΙ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΑ ΠΟΛΥΑΝΘΕΚΤΙΚΑ
ΣΤΕΛΕΧΗ**

ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΙ	ΑΡΙΘΜΟΣ
P, E, CM, TE, SXT	26
P, E, TE, SXT	19
P, AZ, SXT	15
P, C, TE, SXT	14
P, E, TE	13
P, AZ, C, TE, SXT	8
P, E, CM, TE	6
P, E, SXT	6
E, TE, SXT	6
P, E, CM, C, TE, SXT	5
E, CM, TE, SXT	4
E, CM, TE	4
P, E, CM, SXT	2
P, TE, SXT	2
P, AZ, TE	1
P, AZ, TE, SXT	1
P, AZ, SPAR	1
CM, AZ, SXT	1
P, SPAR, SXT	1

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. ΟΡΘΟΜΑΔΕΣ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΑΝΑ ΕΤΟΣ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ

ΟΡΘΟΜΑΔΑ	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	ΣΥΝΟΛΟ
14	5	6	6	11	7	2	3	4	4	48 (11,8%)
9	6	8	3	10	6	1	4	4	4	46 (11,3%)
19	-	6	6	10	27	18	13	13	9	102 (25,1%)
23	9	1	2	14	5	2	1	2	3	39 (9,6%)
6	1	3	4	8	11	4	4	5	8	48 (11,8%)
3	1	-	3	7	13	8	5	6	4	47 (11,6%)
7	6	2	4	2	1	-	1	2	-	18 (4,4%)
1	2	1	2	1	-	-	-	-	-	6 (1,5%)
4	3	-	-	-	-	-	-	1	1	5 (1,2%)
8	3	-	1	-	1	1	-	-	-	6 (1,5%)
11	1	1	1	-	2	1	-	1	2	9 (2,2%)
12	1	1	-	-	-	-	-	-	-	2 (0,5%)
18	2	1	-	-	1	1	-	2	-	7 (1,7%)
10	-	2	-	-	4	-	-	-	2	8 (2%)
15	-	3	1	-	4	-	-	2	2	12 (3%)
17	-	2	-	-	-	1	-	-	-	3 (0,7%)
ΣΥΝΟΛΟ	40	37	33	63	82	39	31	42	39	406

**ΠΙΝΑΚΑΣ 9. ΟΡΟΜΑΔΕΣ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΑΝ ΑΠΟ
ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΝΗΛΙΚΕΣ**

ΟΡΟΜΑΔΑ	ΕΝΗΛΙΚΕΣ	ΠΑΙΔΙΑ
14	18 (10%)	30 (13,2%)
9	26 (14,5%)	20 (8,8%)
19	44 (24,6%)	58 (25,5%)
23	13 (7,3%)	26 (11,5)
6	15 (8,4%)	33 (14,5%)
3	21 (11,7%)	26 (11,5%)
7	9 (5%)	9 (4%)
1	4 (2,2%)	2 (0,9%)
4	4 (2,2%)	1 (0,4%)
8	3 (1,7%)	3 (1,3%)
11	4 (2,2%)	5 (2,2%)
12	2 (1,1%)	-
18	4 (2,2%)	3 (1,3%)
10	2 (1,1%)	6 (2,6%)
15	7 (3,9%)	5 (2,2%)
17	3 (1,7%)	-
ΣΥΝΟΛΟ	179	227

**ΠΙΝΑΚΑΣ 10. ΟΡΟΟΜΑΔΕΣ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΟΥ ΑΠΟΜΟΝΩΘΗΚΑΝ ΑΠΟ
ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΗ ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ**

ΟΡΟΟΜΑΔΑ	ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΑ	ΜΗ ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΑ
14	8 (14,8%)	40 (11,4%)
9	9 (16,6%)	37 (10,5%)
19	9 (16,6%)	93 (26,4%)
23	4 (7,4%)	35 (9,9%)
6	3 (5,6%)	45 (12,8%)
3	3 (5,6%)	44 (12,5%)
7	9 (16,6%)	9 (2,6%)
1	2 (3,7%)	4 (1,1%)
4	2 (3,7%)	3 (0,8%)
8	-	6 (1,7%)
11	-	9 (2,6%)
12	-	2 (0,6%)
18	-	7 (2%)
10	2 (3,7%)	6 (1,7%)
15	2 (3,7%)	10 (2,8%)
17	1 (1,8%)	2 (0,6%)
ΣΥΝΟΛΟ	54	352

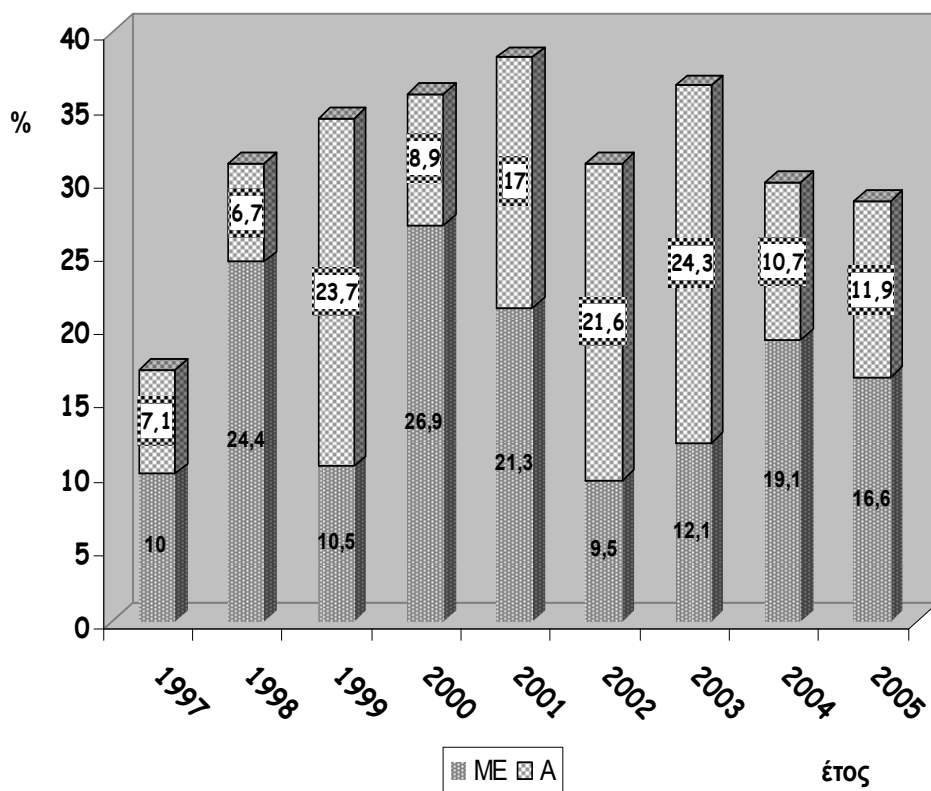
**ΠΙΝΑΚΑΣ 11. ΟΡΟΘΜΑΔΕΣ ΤΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΑΝΤΟΧΗ
ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΠΕΝΙΚΙΑΛΙΝΗ**

ΟΡΟΤΥΠΟΣ	ΠΕΝΙΚΙΑΛΙΝΗ					
	Ε		ΜΕ		Α	
	Αρ.	%	Αρ.	%	Αρ.	%
14	35/48	72,9	6/48	12,5	7/48	14,6
9	26/46	56,5	13/46	28,3	7/46	15,2
19	42/102	41,2	20/102	19,6	40/102	39,2
23	16/39	41	13/39	33,3	10/39	25,7
6	34/48	70,8	12/48	25	2/48	4,2
3	43/47	91,5	4/47	8,5		
7	18/18	100				
1	6/6	100				
4	5/5	100				
8	5/6	83,3	1/6	16,7		
11	8/9	88,9	1/9	11,1		
12	2/2	100				
18	6/7	85,7	1/7	19,3		
10	7/8	87,5	1/8	12,5		
15	9/12	75	3/12	25		
17	2/3	66,7	1/3	33,3		
ΣΥΝΟΛΟ	264/406	65	76/406	18,7	66/406	16,3

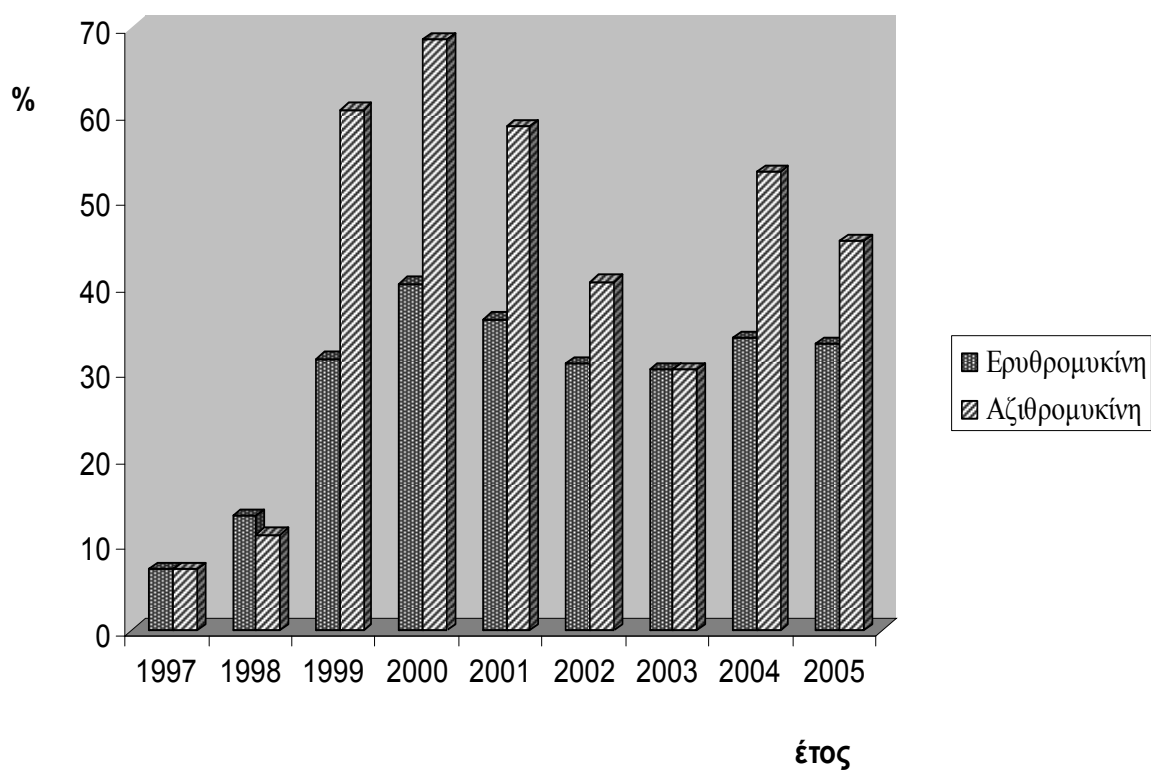
**ΠΙΝΑΚΑΣ 12. ΟΡΟΟΜΑΔΕΣ ΤΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΑΝΤΟΧΗ
ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΕΡΥΘΡΟΜΥΚΙΝΗ, ΧΛΩΡΑΜΦΕΝΙΚΟΛΗ ΚΑΙ
ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗ**

ΟΡΟΟΜΑΔΑ	ΕΡΥΘΡΟΜΥΚΙΝΗ		ΧΛΩΡΑΜΦΕΝΙΚΟΛΗ		ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗ		
	Ε	Α	Ε	Α	Ε	ΜΕ	Α
14	16	32	48		46		2
9	40	6	46		43	2	1
19	41	61	101	1	43		58
23	36	3	17	22	16	3	20
6	31	17	44	4	37		13
3	44	3	47		44		2
7	18		18		18		
1	6		6		6		
4	5		5		5		
8	6		6		6		
11	8	1	9		8		1
12	2		2		2		
18	7		7		7		
10	7	1	8		8		
15	10	2	12		11		1
17	3		3		3		
ΣΥΝΟΛΟ	280	126	379	27	303	5	98

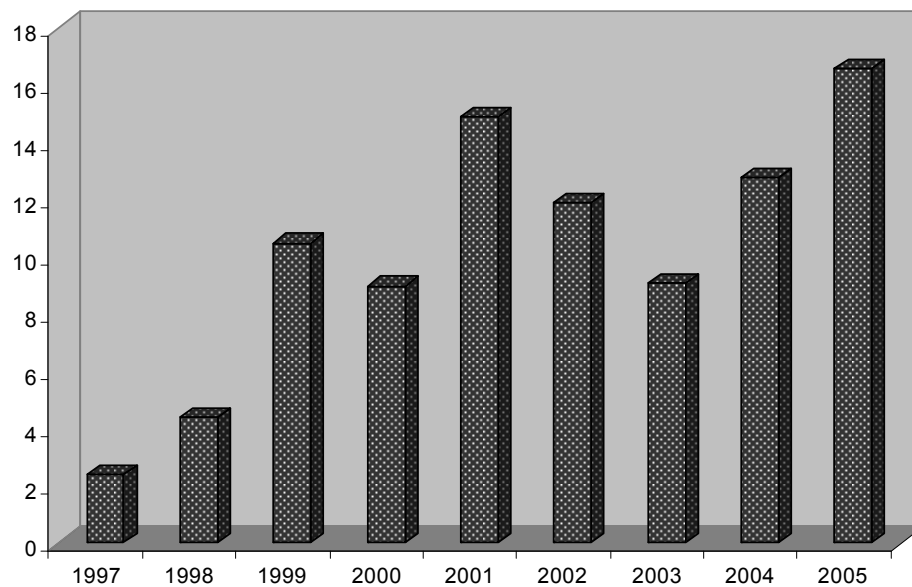
**ΕΙΚΟΝΑ 1. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΠΕΝΙΚΙΛΛΙΝΗ ΤΩΝ 450
ΚΑΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟ
1997-2005**



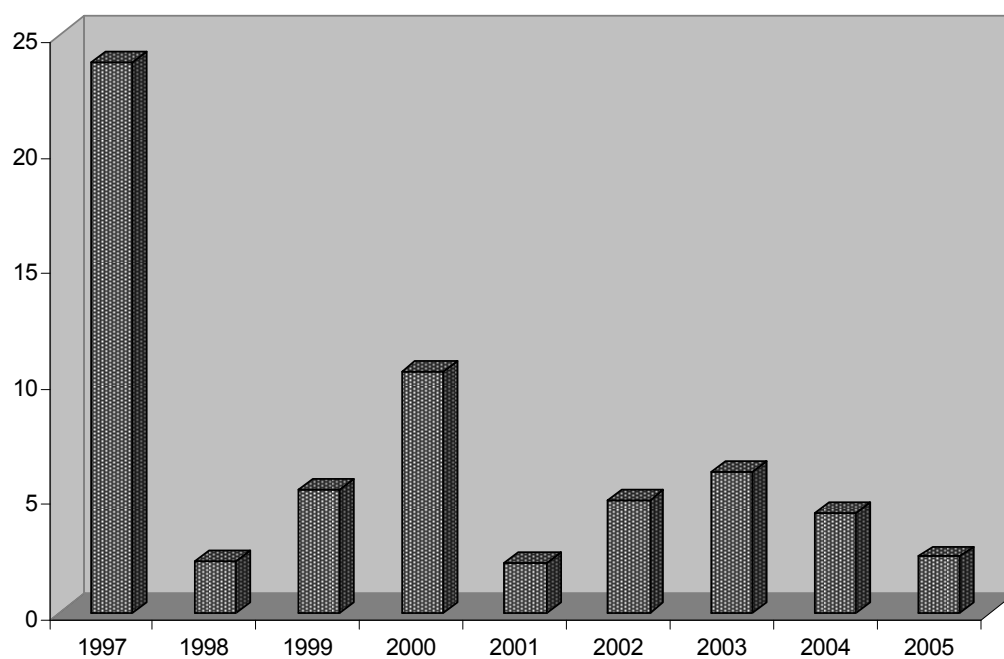
**ΕΙΚΟΝΑ 2. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΙΣ ΜΑΚΡΟΛΙΔΕΣ ΤΩΝ 450
ΚΑΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟ
1997-2005**



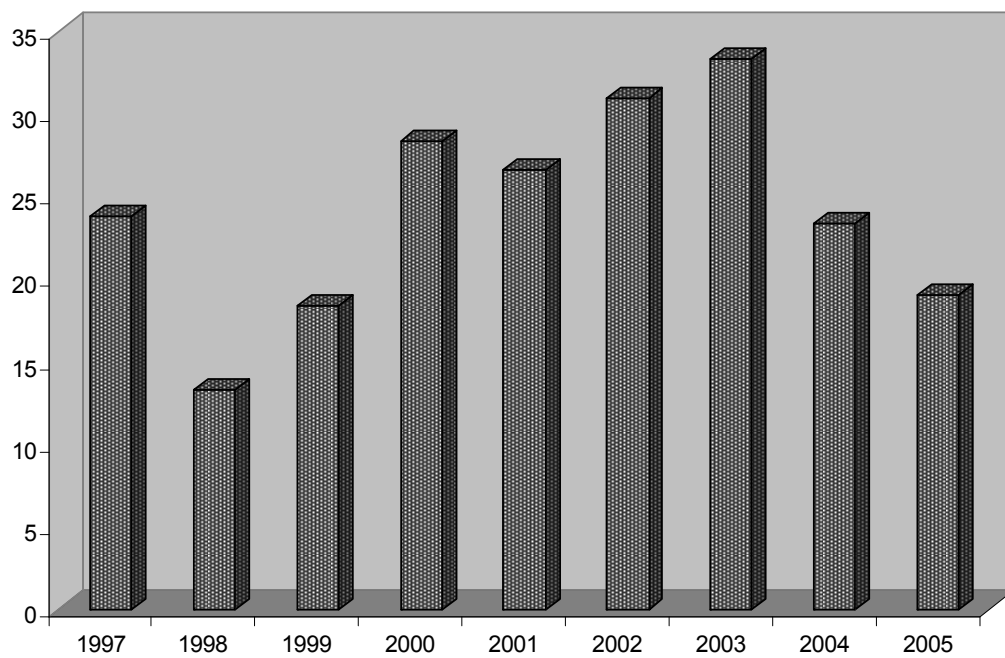
**ΕΙΚΟΝΑ 3. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΙΝΟΛΑΜΥΚΙΝΗ ΤΩΝ 450
ΚΑΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟ
1997-2005**



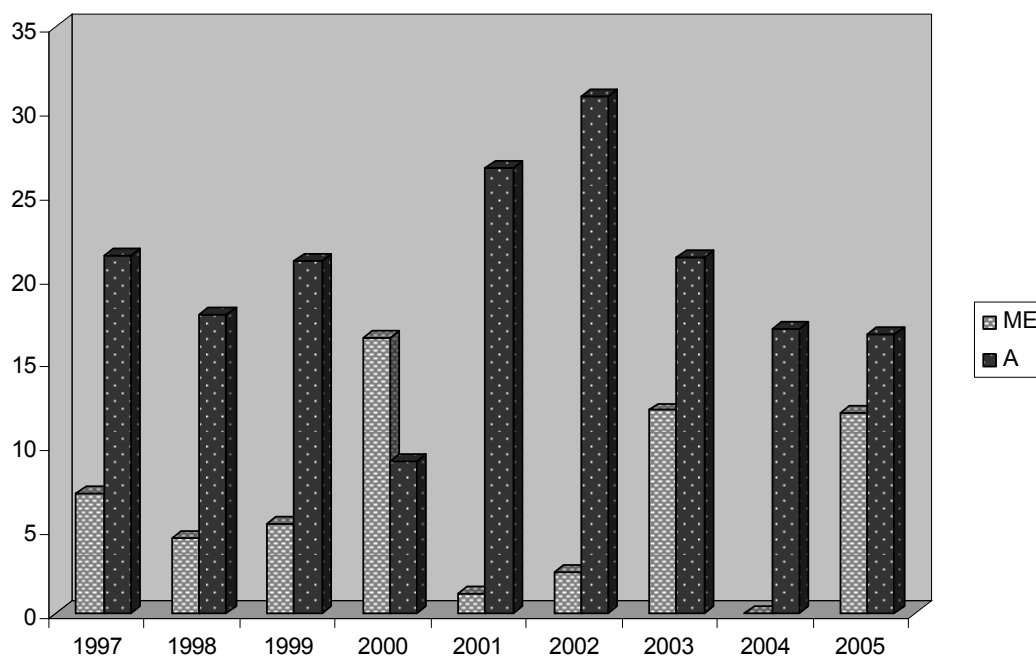
**ΕΙΚΟΝΑ 4. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗ ΧΛΩΡΑΜΦΕΝΙΚΟΛΗ ΤΩΝ 450
ΚΑΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟ
1997-2005**



**ΕΙΚΟΝΑ 5. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗ ΤΩΝ 450
ΚΑΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟ
1997-2005**



**ΕΙΚΟΝΑ 6. ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΑΝΤΟΧΗΣ ΣΤΗΝ ΤΡΙΜΕΘΟΠΡΙΜΗ-
ΣΟΥΛΦΑΜΕΘΟΞΑΖΟΛΗ ΤΩΝ 450 ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΣΤΕΛΕΧΩΝ
ΠΝΕΥΜΟΝΙΟΚΟΚΚΟΥ ΚΑΤΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΟΔΟ
1997-2005**



4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες το ενδιαφέρον των ερευνητών στρέφεται στα συνεχώς αυξανόμενα ποσοστά αντοχής του πνευμονιοκόκκου στα αντιβιοτικά. Αρχικά για τη θεραπεία πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων χρησιμοποιήθηκε η πενικιλίνη. Τη δεκαετία του 60 ερευνητές στη Βοστώνη μελέτησαν την ευαισθησία στην πενικιλίνη 200 στελεχών *S. pneumoniae* και βρήκαν 2 (1%) στελέχη με ενδιάμεση ευαισθησία (157).

Το 1967 ανακοινώθηκε στην Αυστραλία απομόνωση πνευμονιοκόκκου με μειωμένη ευαισθησία στην πενικιλίνη (MIC = 0,6 μg/ml) από πτύελα ασθενούς με υπογαμμασφαιριναιμία (79). Δέκα χρόνια αργότερα απομονώθηκαν από ασθενείς στη Ν. Αφρική στελέχη πνευμονιοκόκκου με υψηλού επιπέδου αντοχή στην πενικιλίνη (MIC = 4-6 μg/ml) (80). Στη συνέχεια ανθεκτικά στην πενικιλίνη στελέχη απομονώθηκαν σε ολόκληρο τον κόσμο και πολλές χώρες άρχισαν να αναφέρουν συνεχώς αυξανόμενα ποσοστά αντοχής.

Στην Ισπανία τα ποσοστά αντοχής στην πενικιλίνη αυξήθηκαν από 6% το 1979 σε 44% το 1990-1991 και σε 53,4% την περίοδο 1999-2000 (84, 85). Επίσης στη Γαλλία το ποσοστό αντοχής από 0,3% την περίοδο 1980-86 αυξήθηκε σε 12,5% την περίοδο 1987-89, σε 19% το 1990, και σε >50% το 1998-2000 (86), ενώ στην Ισλανδία το ποσοστό αυξήθηκε από 2,5% το 1989 σε 20% το 1994. Υψηλά ποσοστά αντοχής των πνευμονιοκόκκων στην πενικιλίνη αναφέρονται στην Ουγγαρία (58%), Ιαπωνία (50,8%) Τουρκία (40%) και Ρουμανία (25%) (86-88).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν τη διαχρονική αύξηση της αντοχής του πνευμονιοκόκκου στην πενικιλίνη από 17,1% (ανθεκτικά: 7,1%, μετρίως ευαίσθητα: 10%) το 1997, σε 28,5% (ανθεκτικά: 11,6%, μετρίως ευαίσθητα: 16,9%) το 2005. Στην Ελλάδα τα ποσοστά αντοχής διαφέρουν ανάλογα με την χρονική περίοδο, την προέλευση των στελεχών (διεισδυτικές ή μη διεισδυτικές

λοιμώξεις) και από τις διαφορετικές ηλικίες των ασθενών από τους οποίους προήλθαν τα στελέχη (παιδιά – ενήλικες). Σύμφωνα με το ερευνητικό πρόγραμμα Alexander το ποσοστό αντοχής του πνευμονιοκόκκου στην πενικιλίνη ήταν 22,1% (ανθεκτικά: 10%, μετρίως ευαίσθητα: 12,1%), κατά την περίοδο 1998-2000 (86).

Ο έλεγχος της ευαισθησίας στην πενικιλίνη με άμεσο προσδιορισμό των τιμών της ΕΑΠ έγινε παράλληλα με τη μέθοδο αραιώσεων του αντιβιοτικού σε ζωμό, που θεωρείται η μέθοδος αναφοράς, και με E-test. Οι τιμές των ΕΑΠ ήταν ταυτόσημες και με τις δύο μεθόδους για 441/450 στελέχη (98%). Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι παρόμοια με αυτά άλλων μελετών που κατέγραψαν ποσοστά συμφωνίας των δύο μεθόδων 96,4% και 92% (128, 158). Το E-test είναι αξιόπιστη και επαναλήψιμη μέθοδος που είναι εύκολο να εφαρμοστεί στην καθ' ημέραν πράξη.

Για τα στελέχη που απομονώθηκαν από το εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ) και το αίμα τα ποσοστά αντοχής στην πενικιλίνη ήταν σημαντικά μικρότερα (20%, ανθεκτικά: 10,9%, μετρίως ευαίσθητα: 9,1%) απ' αυτά στελεχών που απομονώθηκαν από άλλα βιολογικά υγρά (36,2%, ανθεκτικά: 17%, μετρίως ευαίσθητα: 19,2%). Τα αποτελέσματα πρόσφατης μελέτης από την Αθήνα που συμπεριέλαβε παιδιά με διεισδυτικές πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις και παιδιά με οξεία μέση ωτίτιδα, δείχνουν ότι τα στελέχη που απομονώθηκαν από ασθενείς με διεισδυτικές λοιμώξεις είχαν μέτρια ευαισθησία στην πενικιλίνη σε ποσοστό 9,2%, ενώ τα στελέχη που απομονώθηκαν από το ωτικό έκκριμα είχαν πολύ ψηλά ποσοστά αντοχής (ανθεκτικά: 10,2%, μετρίως ευαίσθητα: 37,4%) (36).

Τα στελέχη που απομονώθηκαν από παιδιά με πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις εμφάνιζαν μεγαλύτερα ποσοστά αντοχής στην πενικιλίνη απ' αυτά ενηλίκων. Αυτό είναι σύνηθες και αποδίδεται στη μικρή ηλικία, τη συχνή κατανάλωση αντιβιοτικών και στην παρακολούθηση παιδικών σταθμών (97, 99, 103).

Η κλινική σημασία του ανθεκτικού στελέχους ποικίλλει ανάλογα με την εστία της λοίμωξης και την ικανότητα του αντιβιοτικού να διεισδύσει σε αυτή. Έχει αποδειχθεί η κλινική αποτελεσματικότητα μεγάλων δόσεων πενικιλίνης σε ασθενείς με πνευμονιοκοκκική πνευμονία από στέλεχος ανθεκτικό ή μετρίως ευαίσθητο στη πενικιλίνη ($MIC \leq 2\mu\text{g/ml}$) (159, 160). Αντίθετα, σε περιπτώσεις ωτίτιδας ή μηνιγγίτιδας η αντοχή παίζει σπουδαίο ρόλο, διότι λόγω της μικρής διείσδυσης της πενικιλίνης στις πάσχουσες περιοχές, δεν επιτυγχάνονται οι απαιτούμενες υψηλές συγκεντρώσεις του αντιβιοτικού, με επακόλουθη αποτυχία στη θεραπεία (159-161). Στις περιπτώσεις αυτές χορηγούνται κεφαλοσπορίνες τρίτης γενιάς (κεφτριαξόνη ή κεφοταξίμη), όπου τα ποσοστά αντοχής είναι ακόμη χαμηλά (36, 106). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης μόνο το 1,8% των διεισδυτικών στελεχών παρουσίασε μέτρια ευαισθησία στις τρίτης γενιάς κεφαλοσπορίνες, ποσοστό παρόμοιο με αυτά άλλων Ελληνικών μελετών, που αναφέρονται σε διεισδυτικές πνευμονιοκοκκικές λοιμώξεις παιδιών και ενηλίκων (36, 106)

Πολλοί μελετητές παρατήρησαν ότι τα ποσοστά αντοχής του *S. pneumoniae* σε άλλες κατηγορίες αντιβιοτικών είναι υψηλότερα στα ανθεκτικά απ' ότι στα ευαίσθητα στην πενικιλίνη στελέχη (106, 162). Το ίδιο ισχύει και με τα στελέχη που εξετάστηκαν στην μελέτη αυτή. Τα μη ευαίσθητα στην πενικιλίνη στελέχη παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά αντοχής στα άλλα αντιβιοτικά ($p < 0,001$) (με εξαίρεση τη σπαραφλοξασίνη και μοξιφλοξασίνη), απ' ότι τα ευαίσθητα στην πενικιλίνη.

Η αντοχή στην πενικιλίνη όταν συνοδεύεται από ταυτόχρονη αντοχή και σε άλλα αντιβιοτικά δημιουργεί ακόμη σοβαρότερο πρόβλημα. Το πρόβλημα αυτό υπάρχει σε πολλές χώρες μεταξύ των οποίων και στην Ελλάδα (97, 98, 101, 105,

163). Συνολικά 30% των στελεχών *S. pneumoniae* ήταν πολυανθεκτικά (εμφάνισαν αντοχή σε ≥ 3 αντιβιοτικά). Εκατόν είκοσι από τα 154 μη ευαίσθητα στην πενικιλίνη στελέχη (μετρίως ευαίσθητα και ανθεκτικά) εμφάνισαν πολυαντοχή. Ποσοστό 19,2% από τα πολυανθεκτικά στελέχη παρουσίασαν αντοχή σε 5 αντιβιοτικά: πενικιλίνη, ερυθρομυκίνη, κλινδαμυκίνη, τετρακυκλίνη και τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη. Η παρουσία πολυαντοχής στους ανθεκτικούς στην πενικιλίνη πνευμονιοκόκκους οφείλεται κυρίως στο ότι τα γονίδια που καθορίζουν την αντοχή για πολλά μη β-λακταμικά αντιβιοτικά διαφορετικών ομάδων εδράζονται συχνά σε κοινά μεταθετά στοιχεία (162).

Αντοχή του *S. pneumoniae* εμφανίζεται και σε άλλες ομάδες αντιβιοτικών όπως στις μακρολίδες, που χρησιμοποιούνται ευρέως στη θεραπευτική. Πνευμονιόκοκκος ανθεκτικός στις μακρολίδες πρωτοεμφανίστηκε το 1967 στη Β. Αμερική (164). Στις επόμενες δεκαετίες η αντοχή στις μακρολίδες εξαπλώθηκε ανά την υφήλιο. Η ευρεία κατανάλωση των μακρολιδών έχει οδηγήσει σε αυξανόμενη αντοχή του πνευμονιοκόκκου, που ποικίλλει σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές. Υψηλότερα επίπεδα αντοχής του πνευμονιοκόκκου στις μακρολίδες αναφέρονται σε χώρες της Ασίας όπως στην Κορέα και Ιαπωνία (>80%). Στην Ευρώπη, στην Ιταλία και Γαλλία αναφέρονται ποσοστά αντοχής στις μακρολίδες >40% (165). Στην παρούσα μελέτη η αντοχή στην ερυθρομυκίνη ήταν 30%. Παρόμοια είναι τα ποσοστά που αναφέρονται σε άλλες πρόσφατες μελέτες στον Ελληνικό χώρο (36, 106, 107).

Από τα 135 στελέχη που ήταν ανθεκτικά στη ερυθρομυκίνη, τα 48 (35,6%) παρουσίασαν αντοχή συγχρόνως και στην κλινδαμυκίνη (φαινότυπο MLS_B), ενώ 87 (64,4%) είχαν χαμηλού επιπέδου αντοχή στην ερυθρομυκίνη και ευαισθησία στην κλινδαμυκίνη (φαινότυπο M).

Σε μελέτη που έγινε στην Ελλάδα σε στελέχη ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη που απομονώθηκαν από κλινικά δείγματα παιδιών, βρέθηκε ότι η αντοχή στην ερυθρομυκίνη οφειλόταν κυρίως σε ενεργητική απέκκριση του αντιβιοτικού (φαινότυπος M) (166). Σε σύγκριση των στελεχών αυτών με Αγγλικά στελέχη ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη βρέθηκε ότι η πλειοψηφία των Ελληνικών στελεχών ορότυπου 14 εμφάνιζαν ταυτόσημους ηλεκτροφορητικούς τύπους με τα Αγγλικά στελέχη του ίδιου ορότυπου, γεγονός που οδήγησε στην υπόθεση ότι μπορεί να συνέβη κλωνική διασπορά από χώρα σε χώρα (166). Αυτό αργότερα επιβεβαιώθηκε από τα αποτελέσματα μελετών από την Ελλάδα και από άλλες Ευρωπαϊκές χώρες (107, 167, 168).

Όσον αφορά την αντοχή σε άλλα αντιβιοτικά, 25,5% των στελεχών ήταν ανθεκτικά στην τετρακυκλίνη, 30,4% στην τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη και 6,4% στη γλωραμφενικόλη. Αντίθετα, όλα τα στελέχη ήταν ευαίσθητα στη λεβοφλοξασίνη ενώ πολύ χαμηλά ποσοστά αντοχής (0,2%) παρατηρήθηκαν στη μοξιφλοξασίνη και στη σπαρφλοξασίνη. Οι νεώτερες φλουοροκινολόνες χρησιμοποιούνται τελευταία ευρέως για την αντιμετώπιση αναπνευστικών λοιμώξεων της κοινότητας. Η κατάχρησή τους όμως οδήγησε στην εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών (163). Γι' αυτό συστήνεται ο περιορισμός της χρήσης τους στην εμπειρική θεραπεία πνευμονιοκοκκικής πνευμονίας σε ενήλικες, όταν υπάρχει υποψία ότι το στέλεχος είναι ανθεκτικό (169). Ευτυχώς τα ποσοστά αντοχής του πνευμονιοκόκκου στις φλουοροκινολόνες είναι πολύ χαμηλά σε πολλές χώρες της Ευρώπης, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας (165). Αντίθετα, στο Χονγκ-Κόνγκ, στην Ιρλανδία και ωρισμένες περιοχές της Ισπανίας, η αντοχή του πνευμονιοκόκκου στις φλουοροκινολόνες έφθασε τα επίπεδα του 17,8%, 15,2%, και 5%, αντίστοιχα (170-172).

Από τα στελέχη που μελετήθηκαν κανένα δεν παρουσίασε ανοχή στην βανκομυκίνη όπως και σε όλες τις μελέτες που έχουν μέχρι τώρα ανακοινωθεί.

Όσο αφορά την οροτυπία, όπως δείχνουν και άλλες μελέτες ένας σχετικά περιορισμένος αριθμός οροτύπων είναι υπεύθυνος για την πλειονότητα των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων. Στην παρούσα μελέτη οι οροομάδες 19, 14, 6, 3, 9, 23 ήταν οι επικρατέστερες που συμπεριέλαβαν το 81% των 406 οροτυποποιηθέντων στελεχών. Οι οροομάδες 19, 23, 9, 6 και 14 αναδείχθηκαν ως πιο συχνές ανάμεσα στα ανθεκτικά στην πενικιλίνη στελέχη. Οι ίδιες οροομάδες με την ίδια ή διαφορετική σειρά βρέθηκαν και σε άλλες μελέτες από τον Ελληνικό χώρο αλλά και από το εξωτερικό να επικρατούν στα μετρίως ευαίσθητα και ανθεκτικά στην πενικιλίνη στελέχη (89,101, 103, 105, 173). Οι οροομάδες αυτές περιλαμβάνονται στο 23-δύναμο πολυσακχαριδικό εμβόλιο και στο 7-δύναμο συζευγμένο εμβόλιο. Ο Hausdorff και οι συνεργάτες του ανέλυσαν την κατανομή των οροτύπων στελεχών πνευμονιοκόκκου που προκαλούν διεισδυτικές λοιμώξεις (174). Η ανάλυση έδειξε ότι οι οροομάδες 4, 6, 14, 18, 19, 23 ήταν οι συχνότερες, υπεύθυνες για το 70-88% των διεισδυτικών λοιμώξεων σε παιδιά στην Ευρώπη, Β. Αμερική, Ωκεανία και Αφρική και για >65% των διεισδυτικών λοιμώξεων στη Λατινική Αμερική και Ασία. (174). Ποσοστό 65% των οροομάδων που προκάλεσαν διεισδυτικές λοιμώξεις περιλαμβάνονται στο 7-δύναμο συζευγμένο εμβόλιο που πρόσφατα κυκλοφορεί στην Κρήτη. Παρόμοια ποσοστά κάλυψης (66% και 69,2%) αναφέρονται σε μελέτες που αφορούν την επιδημιολογία διεισδυτικών παιδιατρικών πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων στην Αθήνα (35, 36).

4.1. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αναδεικνύουν το πρόβλημα που υπάρχει στην περιοχή μας αναφορικά με τα υψηλά ποσοστά αντοχής του πνευμονιοκόκκου όχι μόνο στην πενικιλίνη αλλά και σε άλλες ομάδες αντιβιοτικών. Η αντιμετώπισή του απαιτεί συνεχή παρακολούθηση της διαχρονικής εξέλιξης της αντοχής, περιορισμό στη χρήση των αντιβιοτικών και πρόληψη των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων που προκαλούνται από ανθεκτικά στελέχη με κατάλληλα εμβόλια.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Sternberg GM. A final form of septicemia in the rabbit, produced by the subcutaneous injection of human saliva. An experimental research. Natl Board of Health Bull 1881;2:781-783.
2. Pasteur L. Note sur la maladie nouvelle provoquée par la salive d' un enfant mort de la rage. Comptes Rendus 1881;92:159-165.
3. Fraenkel A. Weitere Beitrage zur Lehre von den Micrococcen der genuinen fibrinosen Pneumonie. Zeitschrift für Klinische Medicin 1886b;11:437-458.
4. Deibel RH, Seeley HW Jr. Family II : *Streptococcaceae*. Fam. nov. In : Buchanan RE, Gibbons NE, eds. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Baltimore. Williams & Wilkins, 1974;490-517.
5. Klemperer G, Klemperer F. Versuche über Immunisierung and Heilung bei der Pneumokokkeninfection. Berl Klin Wochenschr 1891;28:833-835, 869-875.
6. Wright AE, Parry Morgan W, Colebrook L, Dodgson RW. Prophylactic inoculation against pneumococcal infections, and on the results which have achieved by it. Lancet 1914;1:1-10, 87-95.
7. Smillie WG, Wornock GH, White HJ. A study of a type I pneumococcus epidemic at the State Hospital of Worcester. Mass. Am J Public Health 1938;28:293-302.
8. MacLeod CM, Hodges RG, Heidelberger M, Bernhard WG. Prevention of pneumococcal pneumonia by immunization by specific capsular polysaccharides. J Exp Med 1945;82:445-465.
9. Griffith F. The significance of pneumococcal types. J Hyg 1928;27:113-159.

10. Avery OT, MacLeod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. *J Exp Med* 1944;79:137-157.
11. Ruoff KL, Whaley RA, Bighton D. Streptococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Tenover JC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th edition. 2003;405-421. ASM. Washington DC.
12. Αρσένη Α. Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διάγνωση. *Streptococcus pneumoniae* (Πνευμονιόκοκκος). Τόμος 1. σελ. 144-154.
13. Munoz R, Fenoll A, Vicioso D, Csal J. Optochin resistant variants of *Streptococcus pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;13:6-66.
14. van Dam JEG, Fleer A, Snippe H. Immunogenicity and immunochemistry of *Streptococcus pneumoniae* capsular polysaccharides. *Antonie van Leeuwenhoek* 1990;58:1-47.
15. Musher DM. *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and practice of infectious diseases*. Churchill Livingstone, New York, 2000;2128-2147.
16. Christenson B, Sylvan SP, Noreen B. Carriage of multiresistant *Streptococcus pneumoniae* among children attending day-care centres in Stockholm area. *Scand J Infect Dis* 1997;29:555-558.
17. Henderson FW, Gilligan PH, Wait K, Goff DA. Nasopharyngeal carriage of antibiotic-resistant pneumococci in children in group day care. *J Infect Dis* 1988;157:256-263.
18. Marchisio P, Gironi S, Esposito S, Schito GC, Mannelli S, Principi N, Ascianus Project Collaborative Group. Seasonal variations in nasopharyngeal

- carriage of respiratory pathogens in healthy Italian children attending day-care centres or schools. *J Med Microbiol* 2001;50:1095-1099.
19. Gray BM, Dillon HC Jr. Epidemiological studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: Antibody to types 3, 6, 14, and 23 in the first two years of life. *J Infect Dis* 1988;158:948-955.
 20. Ekdahl K, Ahlinder I, Hansson H, Melander E, Molstad S, Soderstrom M, Persson K. Duration of nasopharyngeal carriage of penicillin-resistance *Streptococcus pneumoniae*: Experience from the South Swedish intervention project. *Clin Infect Dis* 1997;25:1113-1117.
 21. Sung RY, Ling JM, Oppenheimer SJ, Crook DW, Lau JT, Cheng AF. Carriage of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* in healthy Chinese and Vietnamese children in Hong Kong. *Acta Paediatr* 1995;84:1262-1267.
 22. Leibovitz E, Dragomir C, Sfartz S, Porat N, Yagupsky P, Jica S, Florescu L, Dagan R. Nasopharyngeal carriage of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in institutionalized HIV-infected and HIV-negative children in northeastern Romania. *Int J Infect Dis* 1999;3:211-215.
 23. Schettini F Jr, Miragliotta G, Carucci A, Mosca A, Del Vecchio GC, Laforgia N, De Mattia D. Nasopharyngeal colonization of *Streptococcus pneumoniae* in healthy children: percentage of carriers, serotypes distribution and antibiotic resistance. *Minerva Paediatr* 2003;55:439-445.
 24. Ochoa TJ, Rupa R, Guerra H, Hernandez H, Chaparro E, Tamariz J, Wanger A, Mason EO Jr. Penicillin resistance and serotypes/serogroups of *Streptococcus pneumoniae* in nasopharyngeal carrier children younger than 2 years in Lima, Peru. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;52:59-64.

25. Lo WT, Wang CC, Yu CM, Chu ML. Rate of nasopharyngeal carriage, antimicrobial resistance and serotype of *Streptococcus pneumoniae* among children in northern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2003;36:175-181.
26. Bogaert D, Engellen MN, Timmers-Reker AJM, Elzenaar KP, Peerbooms PGH, Coutinho RA, Groot R, Hermans PWM. Pneumococcal carriage in children in the Netherlands: a molecular epidemiological study. *J Clin Microbiol* 2001;33:16-3320.
27. Bayraktar MR, Durmaz B, Kalcioğlu MT, Durmaz R, Cizmeci Z, Aktas E. Nasopharyngeal carriage, antimicrobial susceptibility, serotype distribution and clonal relatedness of *Streptococcus pneumoniae* isolates in healthy children in Malatya, Turkey. *Int J Antimicrob Agents* 2005;26:241-246.
28. Syrogiannopoulos GA, Katopodis GD, Grivea IN, Beratis NG. Antimicrobial use and serotype distribution of nasopharyngeal *Streptococcus pneumoniae* isolates recovered from Greek children younger than 2 years old. *Clin Infect Dis* 2002;35:1178-1182.
29. Hausdorff WP, Feikin DR, Klugman KP. Epidemiological differences among pneumococcal serotypes. *The Lancet* 2005;5:83-93.
30. Torzillo P, Hanna J, Morey F, Gratten M, Dixon J, Erlich J. Invasive pneumococcal disease in central Australia. *Med J Aust* 1995;162:182-186.
31. Davidson M, Parkinson AJ, Bulkow LR, Fitzgerald MA, Petrs HV, Parks DJ. The epidemiology of invasive pneumococcal disease in Alaska, 1986-1990- ethnic differences and opportunities for prevention. *J Infect Dis* 1994;170:368-376.

32. Burman LA, Norrby R, Trollfors B. Invasive pneumococcal infections: Incidence, predisposing factors, and prognosis. *Rev Infect Dis* 1985;7:133-142.
33. Breiman RF, Spika JS, Navarro VJ, Darden PM, Darby CP. Pneumococcal bacteremia in Charleston Country, South Carolina: A decade later. *Arch Intern Med* 1990;150:1401-1405.
34. Kim P, Musher DM, Glezen WP, Rodriguez-Barradas MC, Nahm WK, Wright CE. Association of invasive pneumococcal disease with season, atmospheric conditions, air pollution, and the isolation of respiratory viruses. *Clin Infect Dis* 1996;22:100-106.
35. Syriopoulou V, Daikos GL, Soulis K, Michos A, Alexandrou H, Pavlopoulou I, Pagali IPA, Hajichristodoulou C, Theodoridou M. Epidemiology of invasive childhood pneumococcal infections in Greece. *Acta Paediatr* 2000;89 (Suppl): 30-34.
36. Zisis NP, Syriopoulou V, Kafetzis D, Daikos GL, Tsilimingaki A, Galanakis E, Tsangaropoulou I. Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive infections and acute otitis media in children. *Eur J Paediatr* 2004;163:364-368.
37. Tuomanen E, Liu H, Hengstler B, Zak O, Tomasz A. The induction of meningeal inflammation by components of the pneumococcal cell wall. *J Infect Dis* 1985;151:859-868.
38. Tuomanen E, Rich R, Zak O. Induction of pulmonary inflammation by components of the pneumococcal cell surface. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:869-874.

39. Riesenfeld-Ors I, Wolpe S, Garcia-Bustos JF, Hoffmann MK, Tuomanen E. Production of interleukin-1 but not tumor necrosis factor by human monocytes stimulated with pneumococcal cell surface components. *Infect Immun* 1989;57:1890-1893.
40. Jedrzejewski MJ. Pneumococcal virulence factors: structure and function. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001;65:187-207.
41. Paton JC, Berry AM, Lock RA, Hansman D, Manning PA. Cloning and expression in *Escherichia coli* of the *Streptococcus pneumoniae* gene encoding pneumolysin. *Infect Immun* 1986;54:50-55.
42. Rayner CFJ, Jackson AD, Rutman A. Interaction of pneumolysin-sufficient and-deficient isogenic variants of *Streptococcus pneumoniae* with human respiratory mucosa. *Infect Immun* 1995;63:422-427.
43. Tomasz A. Building and breaking of bonds in the cell wall of bacteria-the role of autolysin. In: Nombela C (ed.) *Microbial cell wall and autolysins*. 1984;3-12. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands.
44. O' Toole RD, Goode L, Howe C. Neuraminidase activity in bacterial meningitis. *J Clin Invest* 1971;50:979-985.
45. Kornfeld SJ, Plaut AG. Secretory immunity and bacterial IgA proteases. *Rev Infect Dis* 1981;3:521-534.
46. Sundberg-Kovamees M, Holme T, Sjorgren A. Interaction of the C-polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* with the receptor asialo-GM₁. *Microb Pathog* 1996;21:223-234.
47. Krivan HC, Roberts DD, Ginsberg V. Many pulmonary pathogenic bacteria bind specifically to the carbohydrate sequence GalNAc β 1-4Gal found in some glycolipids. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:6157-6161.

48. Winkelstein JA, Bocchini JA Jr, Schiffman G. The role of the capsular polysaccharide in the activation of the alternative pathway by the pneumococcus. *J Immunol* 1976;116:367-370.
49. Rodriguez-Barradas MC, Das TS, Watson DA, Musher DM. Relative contribution of cell wall and capsular polysaccharides in activating alternative and classical complement pathways by *Streptococcus pneumoniae*. *Med Microbiol Lett* 1993;2:427-435.
50. Boulnois GJ. Pneumococcal proteins and the pathogenesis of disease caused by *Streptococcus pneumoniae*. *J Gen Microbiol* 1992;138:249-259.
51. Musher DM, Groover JE, Rowland JM, Watson DA, Struewing JB, Baughn RE, Mufson MA. Antibody to capsular polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae*: Prevalence, persistence and response to revaccination. *Clin Infect Dis* 1993;17:66-73.
52. Wara DW. Host defense against *Streptococcus pneumoniae*: The role of the spleen. *Rev Infect Dis* 1981;3:299-309.
53. Schutze GE, Mason EO Jr, Barson WJ, Kim KS, Wald ER, Givner LB, Tan TQ, Bradley JS, Yogev R, Kaplan SL. Invasive pneumococcal infections in children with asplenia. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:278-282.
54. Umetsu DT, Ambrosino DM, Quinti I, Siber GR, Geha RS. Recurrent sinopulmonary infection and impaired antibody response to bacterial capsular polysaccharide antigen in children with selective IgG subclass deficiency. *N Engl J Med* 1985;313:1247-1251.
55. Savage DG, Lindenbaum J, Garrett TJ. Biphasic pattern of bacterial infection in multiple myeloma. *Ann Intern Med* 1982;96:47-50.

56. Cunningham-Rundles C. Clinical and immunologic analyses of 103 patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 1989;9:22-23.
57. Janoff EN, O' Brien J, Thompson P, Ehret J, Meiklejohn G, Duvall G, Douglas JM Jr. *Streptococcus pneumoniae* colonization, bacteremia, and immune response among persons with human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1993;167:49-56.
58. Figueroa JE, Densen P. Infectious diseases associated with complement deficiencies. *Clin Microbiol Rev* 1991;4:359-395.
59. Anderson DC, Schmalstieg FC, Finegold MJ The severe and moderate phenotypes of heritable Mac-1, LFA-1 deficiency. Their quantitative definition and relation to leucocyte dysfunction and clinical features. *J Infect Dis* 1985;152:668-689.
60. Adamkiewicz TV, Sarnaik S, Buchanan GR, Iyer RV, Miller ST, Pegelow CH, Rogers ZR, Vichinsky E, Elliott J, Facklam RR, O'Brien KL, Schwartz B, Van Beneden CA, Cannon MJ, Eckman JR, Keyserling H, Sullivan K, Wong WY, Wang WC. Invasive pneumococcal infections in children with sickle cell disease in the era of penicillin prophylaxis, antibiotic resistance, and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccination. *J Pediatr* 2003;143:438-444.
61. Thomsen RW, Hundborg HH, Lervang HH, Johnsen SP, Schonheyder HC, Sorensen HT. Risk of community-acquired pneumococcal bacteremia in patients with diabetes: a population-based case-control study. *Diabetes Care* 2004;27:1143-1147.

62. Jones EE, Alford PL, Reingold AL. Predisposition to invasive pneumococcal illness following parainfluenza type 3 virus infections in chimpanzees. *J Am Vet Med Assoc* 1998;185:1351-1353.
63. Young CL, MacGregor RR. Alcohol and host defences: Infectious consequences. *Infect Med* 1989;6:163-175.
64. Syrjanen RK, Auranen KJ, Leino TM, Kilpi TM, Makela PH. Pneumococcal acute otitis media in relation to pneumococcal nasopharyngeal carriage. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:801-806.
65. McEllistrem MC, Adams JM, Patel K, Mendelsohn AB, Kaplan SL, Bradley JS, Schutze GE, Kim KS, Mason EO, Wald ER. Acute otitis media due to penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* before and after the introduction of the pneumococcal conjugate vaccine. *Clin Infect Dis* 2005; 40:1738-1744.
66. Ilki A, Ulger N, Inanli O, Ozer E, Arikan C, Bakir M, Soyletir G. Microbiology of sinusitis and the predictive value of throat culture for the aetiology of sinusitis. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:407-410.
67. Casado-Flores J, Aristegni J, de Liria CR, Martinon JM, Fernandez C; Spanish pneumococcal meningitis study group. Clinical data and factors associated with poor outcome in pneumococcal meningitis. *Eur J Pediatr* 2005;24:1-5.
68. Saha SK, Darmstadt GL, Yamanaka N, Billal DS, Nasreen T, Islam M, Hamer DH. Rapid diagnosis of pneumococcal meningitis: implications for treatment and measuring disease burden. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:1093-1098.
69. Bonnard P, Lescure FX, Douadi Y, Schmit JL, Jounieaux V, Laurans G, Eb F, Ducroix JP. Community-acquired bacteraemic pneumococcal pneumonia in

- adults: effect of diminished penicillin susceptibility on clinical outcome. *J Infect* 2005;51:69-76.
70. Shariatzadch MR, Huang JQ, Tyrrell GJ, Johnson MM, Marrie TJ. Bacteraemic pneumococcal pneumonia: a prospective study in Edmonton and neighboring municipalities. *Medicine (Baltimore)* 2005;84:147-161.
71. Chi RC, Jackson LA, Neuzil KM. Characteristics and outcomes of older adults with community-acquired pneumococcal bacteremia. *J Am Geriatr Soc* 2006;54:115-120.
72. Kumashi P, Girgawy E, Tarrand JJ, Rolston KV, Raad II, Safdar A. *Streptococcus pneumoniae* bacteremia in patients with cancer: disease characteristics and outcomes in the era of escalating drug resistance (1998-2002). *Medicine (Baltimore)* 2005;84:303-312.
73. Nunns D, Harkett R, Oppenheimer CA. Puerperal primary pneumococcal peritonitis. *J Obstet Gynecol* 1998;18:395-396.
74. Givner LB, Mason EO Jr, Tan tq, Barson WJ, Schutze GE, Wald ER, Bradley JS, Hoffman J, Yogev R, Kaplan SL. Pneumococcal endocarditis in children. *Clin Infect Dis* 2004;38:1273-1278.
75. Baraboutis I, Skoutelis A. *Streptococcus pneumoniae* septic arthritis in adults. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:1037-1039.
76. Kalouche I, Ghanem I, Kharrat K, Dagher F. Osteomyelitis of the rib due to *Streptococcus pneumoniae*: a very rare condition in children. *J Pediatr Orthop B* 2005;14:55-60.
77. Medeiros MI, Neme SN, da Silva P, Silva JO, Carneiro AM, Carloni MC, Brandileone MC. *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* as

- etiological agents of conjunctivitis outbreaks in the region of Ribeirao Preto, SP, Brasil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1998;40:7-9.
78. Newman N, Dagan R, Reuveni H, Cohen Z, Melamed R, Greenberg D. Superficial skin infections caused by *Streptococcus pneumoniae* in children. Pediatr Infect Dis J 2005;24:937-939.
79. Hansmann D, Bullen MM. A resistant pneumococcus. Lancet 1967;2:264-265.
80. Tomasz A. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Clin Infect Dis 1997;24 (Suppl I):S85-S88.
81. Appelbaum PC. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*. An overview. Clin Infect Dis 1992;15:77-83.
82. Kristinsson KG. Effect of antimicrobial use and other risk factors on antimicrobial resistance in pneumococci. Microb Drug Res 1997;3:117-123.
83. Friedland IR, Klugman KP. Antibiotic-resistant pneumococcal disease in South African children. Am J Dis Child 1992;146:920-923.
84. Linares J, Pallares R, Alonso T, Perez JL, Ayats J, Guidol F, Viladrich PF, Martin R. Trends in antimicrobial resistance of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Bellvitge Hospital, Barcelona, Spain (1979-1990). Clin Infect Dis 1992;15: 99-105.
85. Schito AM, Schito GC, Debbia E, Russo G, Linares J, Cercenado E, Bouza E. Antibacterial resistance in *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* from Italy and Spain: data from the PROTEKT surveillance study, 1999-2000. J Chemother 2003;15:226-234.
86. Jacobs MR, Felmingham D, Appelbaum PC, Gruneberg PC, and the Alexander Project Group. The Alexander Project 1998-2000: susceptibility of pathogens isolated from community-acquired respiratory tract infection to

- commonly used antimicrobial agents. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:229-246.
87. Marton A. Pneumococcal antimicrobial resistance: the problem in Hungary. *Clin Infect Dis* 1992;15:106-111.
88. Cur D, Tunckanat F, Sener B, Kanva G, Akalin HE. Penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Turkey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13:440-441.
89. Hedlund J, Sorberg M, Henriques Normark B, Kronvall G. Capsular types, and antibiotic susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* among children in Sweden. *Scand J Infect Dis* 2003 ;35:452-458.
90. Wust J, Huf E, Kayser FH. Antimicrobial susceptibilities and serotypes of invasive *Streptococcus pneumoniae* strains in Switzerland. *J Clin Microbiol* 1995;33:3159-3163.
91. Naraqui S, Kirkpatrick GP, Kabins S. Relapsing pneumococcal meningitis. Isolation of an organism with decreased susceptibility to penicillin G. *J Pediatr* 1974;85:671-673.
92. Spika JS, Facklam BD, Plikaytis BD, Oxtoby MJ, and the Pneumococcal Surveillance Working Group. Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 1979-1987. *J Infect Dis* 1991;163:1273-1278.
93. Thornsberry C, Brown SD, Yee YC, Bouchillon SK, Marler JK, Rich T. Increasing penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *Suppl Infect Med* 1993;93:15-24.
94. Doern GV, Brueggmann A, Holley HP Jr, Rauch AM. Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* recovered from outpatients in the

- United States during the winter months of 1994 to 1995: results of a 30-center national surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1208-1213.
95. Doern GV, Brueggmann A, Haynh H, Wingert E, Rhomberg P. Antimicrobial resistance with *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 1997-98. *Emerg Infect Dis* 1999;5:757-765.
96. Doern GV, Brown SD. Antimicrobial susceptibility among community-acquired respiratory tract pathogens in the USA: data from PROTEKT US 2000-2001. *J Infect* 2004;48:56-65.
97. Paraskakis I, Lebessi E, Legakis NJ, Skandami V, Kafetzis DA. Resistance pattern of *Streptococcus pneumoniae* in children during a four-year period in Greece. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;17:864-866.
98. Kanavaki S, Karabela S, Marinis E, Legakis NJ. Antibiotic resistance of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Greece. *J Clin Microbiol* 1994;32:3056-3058
99. Κουπάρη Γ, Ζαφειροπούλου Α., Τσολιά Μ, Τσιρέπα Μ, Αποστολόπουλος Ν, Δεληγιάννη Β, Καφετζής Δ. Οροτυπία και αντοχή πνευμονιοκόκκων από παιδιατρικές λοιμώξεις. Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας 1997;42:827-834.
100. Syrogiannopoulos GA, Grivea IN, Beratis NG, Spiliopoulou AE, Fasola EL, Bajaksouzian S, Appelbaum PC, Jacobs MR. Resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* from carriers attending day-care centers in southwestern Greece. *Clin Infect Dis* 1997;25:188-194
101. Fotopoulou N, Tsiplakou S, Maniatis AN, Pangali A, Kouppari G, Legakis NJ, Tassios PT. Gradual increase in the minimum inhibitory concentration of

- penicillin among both susceptible and resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates from Greek children during 1995-1997. Int J Antimicrob Agents 1999;11:53-57
102. Tsolia M, Kouppari G, Zaphiropoulou A, Gavrioli S, Tsirepa M, Kafetzis D, Karpathios T. Prevalence of resistance of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from carriers attending day care centers in the area of Athens. Microb Drug Resist 1999;5:271-278.
103. Kouppari G, Zaphiropoulou A, Tsolia M, Apostolopoulos N, Deliyianni V, Kafetzis D. Serotyping and antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* from pediatric infections in central Greece. Clin Microbiol Infect 1998;695-700.
104. Κανελλοπούλου Μ, Σκαρμούτσου Ν, Μαρτσούκου Μ, Χαραλαμποπούλου Α, Μυλωνά Ε, Φωτοπούλου Ι, Παπαφράγκας Ε. Έλεγχος ευαισθησίας στα αντιβιοτικά στελεχών *S. pneumoniae* που απομονώθηκαν από πτύελα-βρογχικές εκκρίσεις ενηλίκων ασθενών (1998-2001). Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας 2002;47:319-325.
105. Chatzipanagiotou S, Papavasileiou E, Panagea T, Makri A, Paraskaki I, Nicolaou C, Ioannidis A, Legakis NJ. Penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae* isolated from infected children in Athens, Greece: resistance patterns, serotypes and penicillin-binding protein 2B mutation characterization by PCR. Int J Antimicrob Agents 2002;20:147-149.
106. Kanavaki S, Mantadakis E, Karabela S, Anatoliotaki M, Makarona M, Moraitou H, Pefanis A, Samonis G. Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolates in Athens, Greece. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005;24:693-696.

107. Paraskakis I, Kafetzis DA, Chrisakis A, Papavasiliou H, Kirikou H, Pangalis A, Tzouvelekis LS, Athanasiou T, Legakis NJ. Serotypes and antimicrobial susceptibilities of 1033 pneumococci isolated from children in Greece during 2001-2004. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:490-493.
108. Grebe, T., and R. Hakenbeck. Penicillin-binding proteins 2b and 2x of *Streptococcus pneumoniae* are primary resistance determinants for different classes of β -lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996;40:829-834.
109. Coffey TJ, Dowson CG, Daniels M, Spratt BG. Genetics and molecular biology of β -lactam-resistant pneumococci. *Microb Drug Res* 1995;1:29-34.
110. McDougal LK, Rassheed JK, Biddle JW, Tenover FC. Identification of multiple clones of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:2282-2288.
111. Widdowson CA, Klugman KP. The molecular mechanisms of tetracycline resistance in pneumococcus. *Microb Drug Res* 1998;4:79-84.
112. Montanari MP, Cochetti I, Mingola M, Varaldo PE. Phenotypic and molecular characterization of tetracycline- and erythromycin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:2236-2241.
113. Widdowson CA, Adrian PV, Klugman KP. Acquisition of chloramphenicol resistance by the linearization and integration of the entire staphylococcal plasmid pC194 into the chromosome of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:2236-2241.

114. Schwarz S, Spies U, Cardoso M. Cloning of a plasmid-encoded chloramphenicol acetyltransferase gene from *Staphylococcus intermedius*. J Gen Microbiol 1991;137:977-981.
115. Adrian PV, Klugman KP. Mutations in the dihydrofolate reductase gene of trimethoprim-resistant isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:2406-2413.
116. Maskell JP, Sefton AM, Hall LMC. Mechanism of sulfonamide resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:2121-2126.
117. Pan XS, Ambler J, Mehtar S, Fisher LM. Involvement of topoisomerase IV and DNA gyrase as ciprofloxacin targets in *S. pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1996;40:2321-2326.
118. Weigel LM, Anderson GJ, Facklam RR, Tenover FC. Genetic analysis of mutations contributing to fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:3517-3523.
119. Chen DK, McGeer A, de Azavedo JC, Low DE. Decreased susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to fluoroquinolones in Canada. Canadian Bacterial Surveillance Network. N Engl J Med 1999;341:233-239.
120. Tait-Kamradt A, Clancy J, Cronan M, Dib-Hajj F, Wondrack L, Yuan W, Sutcliffe J. *MefE* is necessary for the erythromycin-resistant M phenotype in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:2251-2255.
121. Tait-Kamradt A, Davies T, Appelbaum PC, Depardieu F, Courvalin P, Petitpas J, Wondrack L, Walker A, Jacobs MR, Sutcliffe J. Two new

- mechanisms of macrolide resistance in clinical strains of *Streptococcus pneumoniae* from eastern Europe and north America. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:3395-3401.
122. Waites K, Johnson C, Gray B, Edwards K, Crain M, Benjamin W, Jr. Use of clindamycin disks to detect macrolide resistance mediated by *ermB* and *mefE* in *Streptococcus pneumoniae* isolates from adults and children. *J Clin Microbiol* 2000;38:1731-1734.
123. Doern GV, Heilmann KP, Huynh HK, Rhomberg PR, Coffman SL, Bruegemann AB. Antimicrobial resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States during 1999-2000, including a comparison of resistance rates since 1994-95. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1721-1729.
124. Hyde TB, Gay K, Stephens DS, Vugia DJ, Pass M, Johnson S, Barrett N L, Schaffner W, Cieslak PR, Maupin PS, Zell ER, Jorgensen JH, Facklam RR, Whitney CG. Active Bacterial Core Surveillance/Emerging Infections Program Network. Macrolide resistance among invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates. *JAMA* 2001;286:1857-1862.
125. Schmitz FJ, Perdikouli M, Beek A, Verhoef J, Fluit AC. Molecular surveillance of macrolide, tetracycline and quinolone resistance mechanisms in 1191 clinical European *Streptococcus pneumoniae* isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2001;18:433-436.
126. Felmingham D, Reinert RR, Hirakata Y, Rodloff A. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the PROTEKT surveillance study, and comparative in vitro activity of the ketolide, telithromycin. *J Antimicrob Chemother* 2002;50 (Suppl. S1):25-37.

127. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; fifteenth informational supplement, M100-S15, Wayne, PA. 2005.
128. Fred C, Tenover FC, Baker CN, Swenson JM. Evaluation of commercial methods for determining antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*. J Clin Microbiol 1996;34:10-14.
129. Jacobs MR, Koornhof HJ, Robins-Browne RM, Stevenson CM, Vermaak ZA, Freiman I, Miller GB, Witcomb MA, Isaacson M, Ward JI, Austrian R. Emergence of multiply resistant pneumococci. N Engl J Med 1978;299:735
130. Lynch JP, Zhanel GG. Escalation of antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae*: implications for therapy. Sem Respir Crit Care Med 2005;26:575-616.
131. Peterson LR. Penicillins for treatment of pneumococcal pneumonia: does in vitro resistance really matter? Clin Infect Dis 2006;42:224-233.
132. Heffelfinger JD, Dowell SF, Jorgensen JH, Klugman KP, Marby LR, Musher DM, Plouffe JF, Rakowsky A, Schuchat A, Whitney CG. Management of community-acquired pneumonia in the era of pneumococcal resistance: a report from the drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* therapeutic working group. Arch Intern Med 2000;160:1399-1408.
133. Waterer GW. Optimal antibiotic treatment in severe pneumococcal pneumonia-time for real answers. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005;24:691-692.
134. Aspa J, Rajas O, Rodriguez de Castro F, Blanquer J, Zalacain R, Fenoll A, de Celis R, Vargas A, Rodriguez Salvanes F, Espana PR, Rello J, Torres A, and the Pneumococcal Pneumonia in Spain Study Group. Drug-resistant

- pneumococcal pneumonia: clinical relevance and related factors. Clin Infect Dis 2004;38:787-798.
135. Pelton SI. Otitis media: re-evaluation of diagnosis and treatment in the era of antimicrobial resistance, pneumococcal conjugate vaccine, and evolving morbidity. Pediatr Clin North Am 2005;52:711-728.
136. Cottagnoud PH, Tauber MG. New therapies for pneumococcal meningitis. Expert Opin Investig Drugs 2004;13:393-401.
137. Martinez E, Miro JM, Almirante B, Aguado JM, Fernandez-Viladrich P, Fernandez-Guerrero ML, Villanueva JL, Dronda F, Moreno-Torrico A, Montejo M, Linares P, Gatell JM; Spanish pneumococcal endocarditis study group. Effect of penicillin resistance of *Streptococcus pneumoniae* on the presentation, prognosis, and treatment of pneumococcal endocarditis in adults. Clin Infect Dis 2002;35:130-139.
138. Kutas LM, Duggan JM, Kauffman CA. Pneumococcal vertebral osteomyelitis. Clin Infect Dis 1995;20:286-290.
139. Austrian R. Some variations on the pneumococcus and on the current status of pneumococcal disease and its prevention. Rev Infect Dis 1981; 3(suppl)S1
140. Fedson DS, Musher DM, Eskola J. Pneumococcal vaccine. In : Plotkin SA, Orenstein WA, eds. Vaccines. 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders;1998.
141. Musher DM, Luchi M, Watson DA, Hamilton R, Baughn RE. Pneumococcal polysaccharide vaccine in young adults and older bronchitics: determination of IgG responses by ELISA and the effect of absorption of serum with non type-specific cell wall polysaccharide. J Infect Di 1990;161:728-735.
142. Rodriguez-Barradas MC, Musher DM, Lahart C, Lacke C, Groover J, Watson D, Baughn R, Cate T, Crofoot G. Antibody to capsular polysaccharides of

- Streptococcus pneumoniae* after vaccination of human immunodeficiency virus-infected subjects with 23-valent pneumococcal vaccine. J Infect Dis 1992;165:553-556.
143. Douglas RM, Paton JC, Hansman DJ. Antibody response to pneumococcal vaccination in children younger than five years of age. J Infect Dis 1983;148:131-137.
144. Mufson MA, Krause HE, Schiffman G, Hughey DF. Pneumococcal antibody levels one decade after immunization of healthy adults. Am J Med Sci 1987;293:279-289.
145. Giebink GS, Le CT, Schiffman G. Decline of serum antibody in splenectomized children after vaccination with pneumococcal capsular polysaccharides. J Pediatr 1984;105:576-584.
146. Weintrub PS, Schiffman G, Addiego JE Jr, Matthey KK, Vichinsky E, Johnson R, Lubin B, Menzer WC, Ammann AJ. Long-term follow-up and booster immunization with polyvalent pneumococcal polysaccharide in patients with sickle cell anemia. J Pediatr 1984;105:261-263.
147. Shapiro ED, Clemens JD. A controlled evaluation of the protective efficacy of pneumococcal vaccine for patients at high risk of serious pneumococcal infections. Ann Intern Med 1984;101:325-330.
148. Shapiro ED, Berg AT, Austrian R, Schroeder D, Parcels V, Margolis A, Adair RK, Clemens JD. The protective efficacy of polyvalent pneumococcal polysaccharide vaccine. N Engl Med 1991;325:1453-1460.
149. Sims RV, Steinmann WC, McConville JH, King LR, Zwick WC, Schwartz JS. The clinical effectiveness of pneumococcal vaccine in the elderly. Ann Intern Med 1988;108:653-657.

150. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of pneumococcal disease. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1997;46:1-18.
151. Robins JC, Schneerson R. Polysaccharide-protein conjugates: A new generation of vaccines. J Infect Dis 1990;161:821-832.
152. Black SB, Shinefield HR, 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.
153. Black SB, Shinefield HR, Ling S, Hansen J, Fireman B, Spring D, Noyes J, Lewis E, Ray P, Lee L, Hackell J. Effectiveness of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children younger than 5 years of age for prevention of pneumonia. Pediatr Infect Dis J 2002;21:810-816.
154. Kaplan SL, Mason EO Jr, Wald ER, Schutze GE, Bradley JS, Tan TQ, Hoffman JA, Givner LB, Yogev R, Barson WJ. Decrease of invasive pneumococcal infections in children among 8 children's hospitals in the United States after the introduction of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine. Pediatrics 2004;113:443-449.
155. Dagan R, Fraser D. Conjugate pneumococcal vaccine and antibiotic resistant *Streptococcus pneumoniae*: herd immunity and reduction of otitis morbidity. Pediatr Infect Dis J 2000;19(Suppl.):S79-S87.
156. Gaston MH, Verter JI, Woods G, Pegelow C, Kelleher J, Presburg G, Zarkowsky H, Vichinsky E, Iyer R, Lobel JS et al. Prophylaxis with oral

- penicillin in children with sickle cell anemia. N Engl J Med 1986;314:1593-1599.
157. Kislak JW, Razavi LMB, Daly AK, Finland M. Susceptibility of pneumococci to nine antibiotics. Am J Med Sci 1965;250:261-268.
158. Mohd Nasir MD, Parasakthi N. Comparison of susceptibility test methods to detect penicillin susceptibility in *Streptococcus pneumoniae* isolates. Malays J Pathol 2004;26:29-33.
159. Bradley JS, Kaplan SL, Klugman KP, Leggiadro RJ. Consensus: management of infections in children caused by *Streptococcus pneumoniae* with decreased susceptibility to penicillin. Pediatr Infect Dis J 1995;14:1037-1041.
160. Leggiadro RJ. Penicillin-non susceptible pneumococcus. Int J Antimicrob Agents 2000;14:123-127.
161. Gehanno P, N' Guyen L, Derriennic M, Pichon F, Goehrs JM, Berche P. Pathogens isolated during treatment failures in otitis. Pediatr Infect Dis J 1998;17:885-890.
162. Κουπάρη Γ, Τζουβελέκης ΛΣ, Τζελέπη Ε. Αντοχή του πνευμονιοκόκκου στα β-λακταμικά αντιβιοτικά. Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας 1998;43:22-33.
163. Appelbaum PC. Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: implications for drug selection. Clin Infect Dis 2002;34:1613-1620.
164. Dixon JMS. Pneumococcus resistant to erythromycin and lincomycin. Lancet 1967;1:573.
165. Reinert RR, Reinert S, van der Linden M, Cil MY, Al-Lahham A, Appelbaum P. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in

- eight European countries from 2001 to 2003. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:2903-2913.
166. Fotopoulou N, Tassios PT, Beste DV, Ioannidou S, Lawrence ER, Papaparaskevas J, George RC, Legakis NJ. A common clone of erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Greece and the UK. *Clin Microbiol Infect Dis* 2003;9:924-929.
167. Amezaga MR, Carter PE, Cash P, MacKenzie H. Molecular epidemiology of erythromycin resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates from blood and noninvasive sites. *J Clin Microbiol* 2002;40:3313-3318.
168. Monaco M, Camilli R, D'Ambrosio F, Del Grosso M, Pantosti A. Evolution of erythromycin resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Italy. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:256-259.
169. Mandell LA, Bartlett JG, Dowell SF, File TM Jr, Musher DM, Whitney C. Update of practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in immunocompetent adults. *Clin Infect Dis* 2003;37:1405-1433.
170. Ho PL, Yung RW, Tsang DN, Que TL, Ho M, Seto WH, Ng TK, Yam WC, Ng WW. Increasing resistance of *Streptococcus pneumoniae* to fluoroquinolones: results of Hong Kong multicentre study in 2000. *J Antimicrob Chemother* 2001;48:659-665.
171. Goldsmith CE, Moore JE, Murphy PG, Ambler JE. Increased incidence of ciprofloxacin resistance in penicillin-resistant pneumococci in Northern Ireland. *J Antimicrob Chemother* 1998;41:420-421.
172. Garcia-Rey C, Aquilar L, Baquero F. Influences of different factors on prevalence of ciprofloxacin resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:3481-3482.

173. Cartwright K. Pneumococcal disease in western Europe: burden of disease, antibiotic resistance and management. *Eur J Pediatr* 2002;161:188-195.
174. Hausdorff WP, Bryant J, Paradiso PR, Siber GR. Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: implications for conjugate vaccine formulation and use, part I. *Clin Infect Dis* 2000;30:100-121.