------ مجلة علوم الرافدين، المجلد17، العدد9، خاص بعلوم الحياة، ص126-136، 2006 ------

مقاومة الجرثومة *Moraxella catarrhalis* للمضادات الحيوية في المرضى المصابين بأمراض الجهاز التنفسي

اسماعيل ابراهيم السنجري
الشركة العامة لصناعة الادوية والمستلزمات الطبية (NDI)

صبحي حسين الجبوري
كلية التمريض
جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2005/3/9 ؛ تاريخ القبول 2005/6/13)

الملخص

عزلت جرثومة *Moraxella catarrhalis* من القشع والمسحات المأخوذة من المرضى المصابين باخماج الجهاز التنفسي، استخدمت (54) سلالة لتحديد الحساسية تجاه (24) مضادا، و(17) سلالة لتحديد قيم التركيز المثبط الادنى (MIC) تجاه (11) مضاداً حيوياً. بينت الدراسة ان النسبة (92.6%) تنتج الأنزيم البيتا-لاكتاميز وله علاقة بازدياد المقاومة تجاه البنسلينات والسيفالوسبورينات الجيل الاول، اذ اظهرت النتائج اعلى نسبة مقاومة تجاه Cloxacillin، Penicillin G، Ampicillin و Amoxicillin تليها Cephalothin، Cephalexin و Ampiclox والحساسية المتوسطة Co-trimethoxazol، Erythromycin، Tetracycline في حين اظهرت السلالات حساسية عالية تجاه Tobramycin، Clarithromycin، Cefotaxim، Ceftrixon و Amoxi-clav وحساسية مطلقة (100%) تجاه الـ Neomycin، Norfloxacin، Ciprofloxacin، Azithromycin، Rifampicin، Gentamycin، Chloramphenicol، Nitrofurantion و Nalidixic acid واظهرت ان اعلى قيمة MIC للمضادات الحيوية Ampicillin و Amoxicillin وبنسبة (17.6%) و(5.8%) في التركيزين (4) و (1) مايكروغرام/مل على التوالي . وللمضاد Erythromycin (5.8%) في التركيز(0.5%) مايكروغرام/مل . واظهرت قيم MIC الاقل للـ Amoxi-clav، Ceftrixon، Cefotaxim، Clarithromycin، Azithromycin Co-trimethoxazol، Chloramphenical، Ciprofloxacin في التراكيز بين (0.03-0.015)مايكروغرام/مل وان أفضل المضادات الحيوية في العلاج هي تلك التي يخلط معها مادة مثبطة لانزيم بيتا-لاكتاميز مثل Amoxi-clav .

Antibiotics Resistance of *Moraxella catarrhalis* from Patients With Respiratory System Infections

Ismail I. Al-Sanjari
Nineavah Drug Industry (NDI)

Subhi H. Al-Jobury
College of Nursing
Mosul University

ABSTRACT

Moraxella catarrhalis was Isolated from sputum and swabs taken from patients with respiratory tract infections. 54 strains were used to determinate the susceptibility against (24) Antibiotics, and (17) strains for detecting minimum inhibitory concentration (MIC) values of (11) Antibiotics. Beta-Lactamase producing strains were (92.6%) which was correlated with resistance to penicillins and the first generation of cephalosporins. Results showed a high percentage of resistance for Cloxacillin, Penicillin G, Ampicillin and Amoxicllin and less to Cephalothin, Cephalexin, and Ampiclox and intermediate resistance to Erythromycin, Co-trimethoxazol and Tetracycline. High sensitivity against Tobramycin, Clarithromycin, Cefotaxim, Ceftrixon and Amoxi-clav. All strains showed absolute sensitivity (100%) to Neomycin, Norfloxacin, Ciprofloxacin, Azithromycin, Refampicin, Gentamycin, Chloramphenicol, Nitrufurantion and Nalidixic acid.

Results showed a high MIC values for Ampicillin and Amoxicillin which was (17.6%) and (5.8%) at a concentration (4) and (1) Mg/ml respectively. MIC values for Erythromycin was (5.8%) in (0.5) Mg/ml. Low MIC values for Azithromycin, Clarithromycin, Ceftrixon, Cefotaxim, Co-trimethoxazol, Ciprofloxacin Chloramphenicol and Amoxi-clav in (0.03-0.015) Mg/ml. Best antibiotics for treatment are those mixed with substance that inhibit Beta lactamase such as Amoxi-clav.

المقدمة

تطورت المقاومة الجرثومية تجاه المضادات الحيوية منذ البدء باستخدامها والى يومنا هذا وخاصة في الجراثيم ذات الطبيعة الانتهازية (Wald, 1998) من هذه الجراثيم *Moraxella catarrhalis* التي اثارت اهتمام الباحثين لزيادة نسبة الحاملين لها واستيطانها الاغشية المخاطية للانسان Murphy et al., (1998) وامراضيتها المباشرة او غير مباشرة في الجهاز التنفسي العلوي والسفلي . (Fitzgerald et al., 1999; Coranglia and Fontana, 2000)

عدت جرثومة *M. catarrhalis* من الجراثيم الثلاثة المهمة بعد جرثومتي *S. pneumoniae* و *H. influenzae* المسببة لامراض الجهاز التنفسي وأثبتت الدراسات والبحوث ان هذه الجرثومة تسبب التهاب الاذن الوسطى الحاد عند الاطفال والرضع (Enright and Mckenzie, 1997) والتهاب الجيوب الانفية الحاد والمزمن عند البالغين (Wald, 1998) وذات الرئة والتهاب القصبات والبلعوم والحنجرة وامراض الانسداد الرئوي المزمن للانسان (Murphy and Sethi; 1992; Forbes et al., 1998) تمتلك الجرثومة *M.*

catarrhalis العديد من عوامل الضراوة المختلفة(Fitzgerald et al., 1999; McMichael, 2000) وتنتج معظم سلالاتها بنسبة(90%-98%) انزيم بيتا-لاكتاميز الذي يقوم بتكسير حلقة Beta-Lactam للمضادات الحيوية ويبطل عمل البنسلينات والسيفالوسبورينات (Ejlertsen and Skov, 1996; Critchley et al., 2000) وتبدي مقاومتها لعدد واسع من المضادات الحيوية ذات الاختيار الاول في المعالجة اهمها Penicillin, Ampicillin , Amoxicillin وقد ظهرت سلالات جديدة مقاومة في المستشفيات مع الاستخدام الواسع للمضادات الحيوية في مناطق مختلفة من العالم حيث اكتسبت سلالات الجرثومة صفة المقاومة لمضادات حيوية اخرى مثل مجموعة Macrolides , Tetracycline و Co-trimethoxazol وبعض الانواع الاخرى للجيل الاول والثاني للسيفالوسبورينات (Hol et al., 1994; Bootsma et al., 1999; Roberts, 2002) . ويهدف البحث الى الكشف عن انتاج البيتا-لاكتاميز ودراسة مقاومة الجرثومة للمضادات الحيوية الشائعة والمستعملة في العلاج لامراض الجهاز التنفسي .

المواد وطرائق العمل

تنمية وعزل السلالات

عزلت السلالات الجرثومية من العينات السريرية القشع ومسحات الحلق والاذن وزرعت على الوسط الانتخابي الخاص (Vaneechoutte et al., 1988; Singh et al., 1997) وشخصت السلالات بواسطة نظام API-NH من شركة Biomerieux (Barbe et al., 1994). تم الكشف عن السلالات المنتجة لانزيم Beta-Lactamase بالطريقة الايودية (Iodemetric Method) (Lennette et al., 1985) .

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

اختبرت حساسية السلالات الجرثومية *M. catarrhalis* لانواع مختلفة من المضادات الحيوية بطريقة الانتشار بالاقراص Kirby-Bauer Method (Vandepitte et al., 1991) على وسط اكارمولر-هنتون (Mueller-Hinton Agar) المجهز من قبل شركة Oxoid وحضر معلق من الجراثيم الفتية للسلالات وبتركيز(1×10^7) خلية/مل وقورنت مع الانبوب الاول من انابيب ماكفرلاند القياسية (McFarland No.1) حضنت بدرجة حرارة (37) لمدة (18-24) ساعة تم قياس منطقة التثبيط لكل قرص وقسمت السلالات الى ثلاث فئات هي الحساسة متوسطة الحساسية والمقاومة (Atlas et al., 1995).

تحديد التركيز المثبط الادنى (MIC)

حدد التركيز المثبط الادنى (Minimum Inhibitory Concentration–MIC) باستخدام طريقة العكارة Turbidity method حيث اضيف (0.8) سم^3 من المرق المغذي تربتكيز سويا (Trypticase soya broth) الى انابيب اختبار صغيرة عقمت بالموصدة بدرجة (121) م^5 ولمدة (15) دقيقة . حضر سلسلة من التخافيف المضاعفة (Two fold dilutions) لكل تركيز من المضادات الحيوية لينتج التراكيز (8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.06, 0.03, 0.015) مايكروغرام/مل وأضيف

(0.1) مل من كل تخفيف لكل انبوب باستثناء انبوب السيطرة اضيف له نفس الحجم من المحلول الملحي الفسيولوجي ثم أضيف (0.1) مل من المعلق الجرثومي للسلالات المدروسة بتركيز(3×10^8) خلية/مل مقارنة مع انبوب رقم (1) لمكفرلاند. رجت الانابيب جيدا وحضنت بدرجة (37) م^5 لمدة (18-24) ساعة . قرأت النتائج للانابيب التي حصل فيها عكارة كونها ايجابية النتيجة والتي لم تحصل فيها عكارة تكون سالبة(Atlas et al., 1995; Thornsberry et al., 1999b) .

النتائج والمناقشة

اجري اختبار الحساسية على (54) سلالة لجرثومة *M. catarrhalis* تجاه (24) مضادا. أظهرت النتائج ان اعلى نسبة مقاومة تجاه المضادات الحيوية Ampiclox, Ampicillin , Penicillin G, Amoxicillin, Cloxacillin (61.0%), (90.7%) (90.7%), (81.4%), (94.4%)على التوالي . اما الحساسية المتوسطة فكانت لكل من Tetracycline, Co-trimethoprim, Erythromycin, Cephalexin, Cephalothin بالنسب (24%), (16.6%), (9.2%), (7.4%), (7.4%) على التوالي في حين اظهرت السلالات الحساسية العالية تجاه المضادات الحيوية كانت Tobramycin, Clarithromycin, Cefotaxim, Ceftrixon وبالنسب (98.1%), (98.1%), (98.1%), (85.1%) على التوالي . وأظهرت السلالات الحساسية المطلقة (100%) تجاه Gentamycin, ,Norfloxacin ,Azithromycin ,Ciprofloxacin Chloramphenicol ,Nalidixic acid ,Neomyci ,Rifampicin ,Nitrofurantin . ان المقاومة العالية للسلالات تجاه مجموعة مضادات الـ Beta-lactam والتي تشمل البنسلينات ومشتقاتها والسيفالوسبورينات من الجيل الاول اتية بالدرجة الاولى من امتلاك هذه السلالات القدرة على انتاج انزيم البيتالاكتاميز وقد اظهرت النتائج في الدراسة ان 50 (92.6%) من السلالات منتجة لانزيم البيتالاكتاميز مما له اهمية في المقاومة العالية والمعروف عن الانزيم البيتالاكتاميز بانواعه BRO-3 (TEM-1), BRO-2, BRO-1 يقوم بفتح حلقة البيتالاكتام للمضاد الحيوي على الـ amides ,amidines وتحطيم الاواصر بين (C-N) ومن ثم يثبط فعالية المضاد الحيوي (Bedenic and Zagar, 1994; Cornaglia and Fontana, 2000) مما له اهمية في المقاومة العالية وقد اشارت الدراسات ان انتاج الانزيم يعطي صفة مميزة لهذه الجراثيم في مقاومتها لان إنتاجه ليس لتحمي نفسها ولتحدث المرض فقط وانما تسبب تأثير مرضي بصورة غير مباشرة إذ تقوم بحماية الجراثيم المرضية الاخرى المتعايشة معها التي ليس لها القدرة على انتاج هذا الانزيم واحداث الخمج مثل مرض ذات الرئة (Pneumonia) (Hol et al., 1994; Cornaglia and Fontana, 2000) . واظهرت الدراسات ان هناك نوعين من هذا الانزيم تقوم جراثيم *M. catarrhalis* بانتاج احدهما في السلالة اما النوع الاول BRO-1 أو BRO-2 وهما المسؤولان عن تحليل Cephalosporins, Amoxicilln, Penicillin وهناك نوع ثالث يسمى BRO-3 ينتج في السلالات الطافرة التي لاتنتج النوعين اعلاه

(Wallace et al., 1989) وقد وجد Richter وجماعة سنة (1999) ان نسبة انتاج الانزيمين من النوع BRO-1 والنوع BRO-2 ضمن السلالات المعروفة والموجبة لانتاجه (97.5%) و (2.5%) على التوالي وأشارت الدراسات ان النوع الأول يكون اكبر من حيث الكمية وأقوى في تحليل المضادات الحيوية من النوع الثاني الذي ينتج بكمية قليلة ويمتاز بضعف تفاعله اذ لوحظ ان انتاج نسبة النوع الاول (93.2%) في (55) سلالة بينما نسبة انتاج النوع الثاني كانت (5.1%) في (3) سلالات (Ejlertsen and Skov ,1996) . وبصورة عامة ان الانزيم بيتا-لاكتاميز يكون تاثيره اقل على المضادات الحيوية التي لايوجد في تركيبها الكيميائي حلقة البيتا-لاكتام وهذا لوحظ بشكل جلي في النتائج على السلالات متوسطة الحساسية والحساسية العالية والحساسية المطلقة تجاه المضادات الحيوية في الدراسة مثل مجموعة Co- Chloramphenicol ،trimethoxazol Aminoglycosides Quinolons فضلا على مجموعة السيفالوسبورينات وخاصة الجيل الثالث التي تكون واسعة الطيف Broad Spectrum باستثناء بعض السلالات المقاومة لها والتي تطورت فيها المقاومة لاسباب تتعلق بسوء استخدام المضاد الحيوي وتطور المقاومة لدى جزئيات العامل المسبب للمرض وراثيا او اصابة المريض بامراض مناعية .

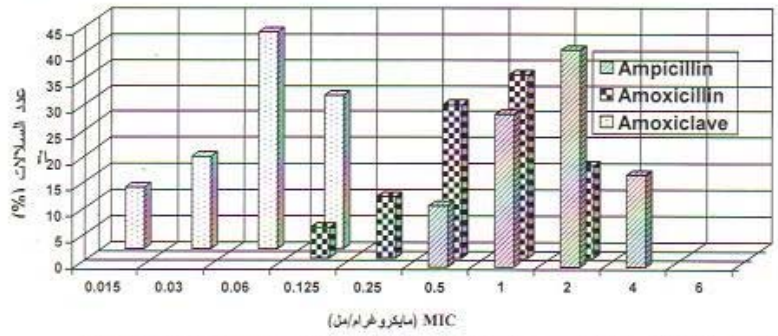
اظهرت النتائج تباينا ملحوظا في قيم MIC للمضادات الحيوية اذ وجد في (17) سلالة لجراثيم *M. catarrhalis* تجاه (11) مضادا حيويا ان اعلى قيمة MIC للمضاد الحيوي Ampicillin هي (17.6%) في التركيز (4) مايكروغرام/مل و Amoxicillin و (5.8%) في التركيز (1) مايكروغرام/مل و Erythromycin و(11.7%) في التركيز (0.5) مايكروغرام/مل في حين كانت اقل قيمة للـ MIC لـ Cefotaxim، Clarithromycin، Azithromycin، Chloramphenicol، Ciprofloxacin (5.8%) في التركيز (0.015) مايكروغرام/مل وقيمة MIC لـ Cefotrixon, Amoxi-clav هي (11.7%) في التركيز (0.015) و (0.03) مايكروغرام/مل على التوالي ، وقيمة MIC لـ Co-trimethoxazol (5.8%) في التركيز (1) مايكروغرام / مل وللـ Erythromycin كانت (11.7%) في التركيز (0.5) مايكروغرام / مل في حين اظهرت اقل قيمة للـ MIC لـ Cefotaxim، Clarithromycin، Azithromycin ، Chloramphenicol، Ciproflaxacin هي (5.8%) في التركيز (0.015) مايكروغرام/مل وقيمة MIC لـ Amoxi-clav و Cefotrixon هي(11.7%)في التركيز (0.015)و(0.03) مايكروغرام/مل على التوالي ، وقيمة MIC لـ Co-thrimethoxazol (5.8%) في التركيز (0.03) مايكروغرام/ مل (الجدول 1) . تعتمد قيمة MIC للمضادات الحيوية على نقطة التوقف break point التي حددت من قبل NCCLS سنة (1998) كاسس للحساسية والمقاومة ، ويعد الـ MIC من المقاييس العالمية الحديثة والاكثر استخداما في البحوث والدراسات للتعرف على الجراثيم المقاومة والحساسة تجاه انواع المضادات الحيوية ويعرف MIC هو اقل تركيز يثبط نمو الجرثومة (Koneman et al., 1997) .

الجدول 1:توزيع قيم MIC للمضادات الحيوية تجاه السلالات لجراثيم *M. catarrhalis* .

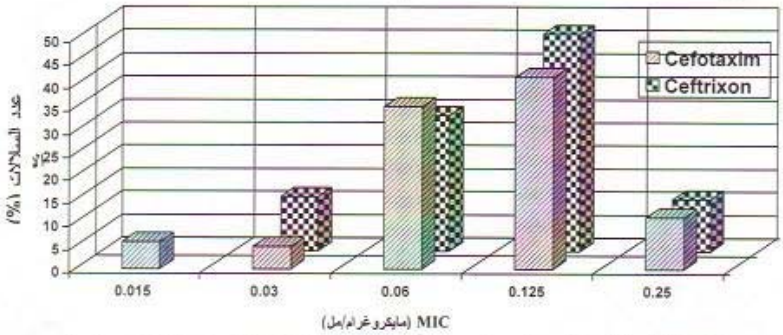
المضاد الحيوي	عدد السلالات	المدى	مايكروغرام/مل أدنى قيمة MIC (%)	مايكروغرام/مل اعلى قيمة MIC(%)
Ampicillin	17	≤ 0.015->8	(11.7) 0.5	(17.6) 4
Amoxicillin	17	≤ 0.015->8	(5.8) 0.06	(5.8) 1
Amoxi-clave	17	≤ 0.015->8	(11.7) 0.015	(29.4) 0.125
Cefotaxim	17	≤ 0.015->8	(5.8) 0.015	(11.2) 0.25
Cefotrixon	17	≤ 0.015->8	(11.7) 0.03	(11.2) 0.25
Erythromycin	17	≤ 0.015->8	(41.7) 0.06	(5.8) 0.5
Clarithromycin	17	≤ 0.015->8	(5.8) 0.015	(5.8) 0.25
Azithromycin	17	≤ 0.015->8	(5.8) 0.015	(11.7) 0.25
Co-Trimetho.	17	≤ 0.015->8	(5.8) 0.03	(17.6) 0.25
Chloramph.	17	≤ 0.015->8	(5.8) 0.015	(5.8) 0.25
Ciprofloxacin	17	≤ 0.015->8	(5.8) 0.015	(29.4) 0.125

يوجد عوامل تؤثر في قيم MIC اهمها انتاج بعض الانزيمات مثل انزيم البيتا-لاكتاميز الذي يحلل المضاد الحيوي ويوقف تأثير العلاج وبالاخص البنسلينات والسيفالوسبورينات الجيل الاول (Fung et al., 1992; Jones et al., 2000a; 2000b). وهذا ما ظهر في نتائج الدراسة الحالية اذ وجد في سلالات الجراثيم *M. catarrhalis* بنسبة (92.6%) وارتفاع قيمة MIC لـ Ampicillin و Amoxicillin أي اظهرت الجرثومة مقاومة مقارنة مع قيمة MIC لـ Amoxi-clav القليلة إذ يخلط مع المضاد الحيوي Amoxicillin الحامض Clavulanic acid المثبط لانزيم بيتا-لاكتاميز الذي يمنع انتاجه وبالتالي لا تؤثر على عمل المضاد الحيوي على الجرثومة وتظهر قيمة MIC قليلة أي يكون التأثير مباشر على الجرثومة في العلاج كما في الشكل (1) الذي يوضح تأثير انزيم البيتالاكتاميز على عمل المضاد الحيوي مقارنة عند تثبيط انتاجه في حين نلاحظ الحساسية عالية للمضادين Cefotaxim و Ceftrixon اللذين يقاومان انواع هذا الانزيم لانهما من صنف واسع الطيف على الجراثيم ومن الجيل الثالث (3rd generation) للسيفالوسبورينات الشكل (2) .

العوامل الأخرى التي تؤثر على قيمة MIC هو تركيز المعلق الجرثومي إذ تزداد بازدياد تركيز المعلق الجرثومي فضلا عن طبيعة الجدار الخلوي للجراثيم واحتوائه على التراكيب البروتينية مثل البورين (porins) (Collee et al., 1996; Koneman et al., 1997) كما ان بعض الجراثيم تمتلك العناصر الوراثية الناقلة مثل البلازميدات أو الترانسبوزونات (Kamme et al., 1986) وهذه العناصر تعمل على تطوير المقاومة لدى الجرثومة تجاه المضادات الحيوية وان النتائج التي تم الحصول عليها تتوافق مع نتائج الدراسات(Thornsberry et al., 1999a; 1999b; Thornsberry et al., 1997) .



الشكل 1: توزيع MIC لمضادات مجموعة β-lactams تجاه سلالات جرثومة *M. catarrhalis*.



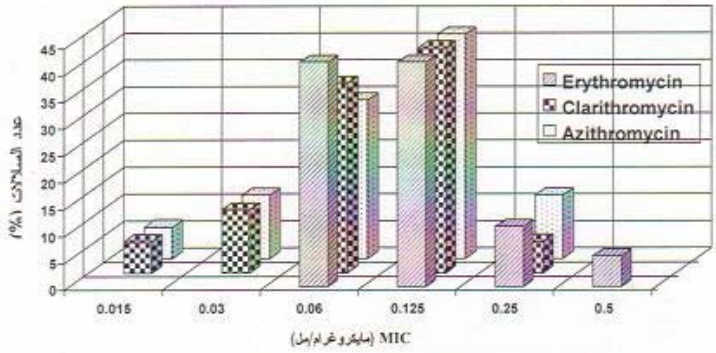
الشكل 2: توزيع MIC للمضادات الحيوية Cephalosporins – الجيل الثالث تجاه سلالات جرثومة *M. catarrhalis* .

حيث وجدوا نسبة انتاج البيتا–لاكتاميز (92-93%) وان الجرثومة لها مقاومة عالية تجاه Ampicillin و Amoxicillin وتكون ذات حساسية عالية تجاه Amoxi-clav وتتفق النتائج الحالية ايضا مع ما توصل اليه Saez-Nieto and Vazquez (1999) اذ وجدوا النسبة (98%) لانتاج انزيم البيتا–لاكتاميز والجرثومة تقاوم المضادات الحيوية من نوع Beta-lactams. وهذه النتائج تتفق ايضا مع نتائج الدراسات (Critchely et al., 2000; Jones et al., 2000a; 2000b) .

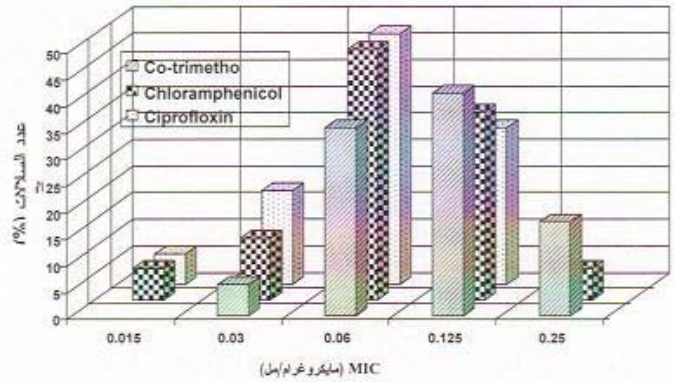
اظهرت النتائج ان قيمة MIC للمضادات الحيوية لمجموعة Macrolides الجديدة Clarithromycin واطئة وان الجراثيم ذات حساسية عالية باستثناء المضاد Erythromycin النسبة (5.8%) مايكروغرام/مل وظهور بعض السلالات مقاومة له بالنسبة (27.7%) في الشكل (3). وتفسير ذلك ان المضادين الجديدين هما من الاجيال الجديدة ولهما طيف واسع على انوع عديدة من الجراثيم وآلية عملهما تثبيط بناء البروتين والارتباط مع الوحدة الرايبوسومية 50S للجراثيم اثناء بناء البروتين (Hoppe and Johnson, 1998) مما يعكس الحساسية لجرثومة *M. catarrhelis* وهذا يتوافق مع ما وجد في بعض السلالات في دراسة (Saez–Nieto and Vazquez, 1999) ويعد هذا تطوراً في المقاومة لهذه

الجرثومة اذ وجد (Thornsbery et al., 1999a) بعض السلالات تقاوم Clarithromycin في التراكيز (2) ، (4) ملغم/لتر .

اظهرت النتائج قيمة MIC لـ Co-trimethoxazol، Chloramphenicol، Ciprofloxacin قليلة في التراكيز (0.03) ، (0.06) مايكروغرام/مل الشكل (4) . هذه المضادات لها طيف واسع التأثير على الجراثيم إذ يقوم الاول والثاني في تثبيط بناء البروتينات والانزيمات للجراثيم وبذلك ظهرت الجرثومة *M. catarrhelis* حساسة تجاههما الا انه وجدت بعض السلالات مقاومة للمضاد Co-trimethoxazol ونسبة المقاومة تتقارب مع النسبة (19.1%) التي وجدها كل من Barnett و Klein سنة (1995) عكس الحساسية المطلقة تجاه Ciprofloxacin، Chloramphenicol اللذان يعملان على تثبيط بناء الحامض النووي للجراثيم وهذه النتيجة تتفق مع الدراسات (Doern et al., 1999; Richter et al., 1999; Thornsberry et al., 1999a) .



الشكل 3: توزيع MIC للمضادات الحيوية Macrolides تجاه سلالات جرثومة *M. catarrhalis* .



الشكل 4: توزيع MIC للمضادات الحيوية Co-trimethoprim ، Chloramphenicol و Ciprofloxacin تجاه سلالات جرثومة *M. catarrhalis* .

المصادر العربية

Atlas, R.M., Brown, A.E. and Parks, L.C., 1995. Experimental microbiology laboratory manual. McGraw-Hill Companies Mosby Company, St. Louis.pp.211-221.

Barbe, G., Babolat, M., Boeufgras, J.M., Monget, D. and Freney, J., 1994. Evaluation of API-NH a new 2-hour system for identification of Neisseria and Haemophilus species and *Moraxella catarrhalis* in a rotine clinical laboratory. J. Clin. Microbiol., 32(1): pp.187-189.

Barnett, E.D. and Klein, J.O., 1995. The problem of resistant bacteria for the management of acute otitis media. Antimicrobial Resistance in Pediatrics, 42(3): pp.509-517.

Bootsma, H.J., Van Dijk, H., Vaaterain, P., Verhoef, J. and Mooi, F.R., 1999. Genesis of BRO-B-Lactamase-producing *Moraxella catarrhalis*: a paradigm for the evolution of antibiotic resistance. Submitted Ch. 5: pp.85-102.

Collee, J.G., Marmion, B.P., Fraser, A.G. and Simmons, A., 1996. Mackie and McCartney practical medical microbiology. 14th ed. Churchill Livingstone, New York.

Cornaglia, G. and Fontana, R., 2000. Epidemiological survey of bacterial resistance in upper respiraotry tract infections in Italy. International Journal of Antimicrobial Agents, 16(3): pp.259-262.

Critchley, I.A., Thornsberry, C., Pizza, G., Jones, M., Hickey, M.L., Barth, A.L., Mendes, C., Rossi, F.F., Sader, H.S., Teixeira, L.M. and Sahm, D.F., 2000. Antimicrobial susceptibility of *S. pneumoniae*, *H. Influenzae* and *Moraxella catarrhalis* collected from five centers in Brazil. 1997-1998. Clin. Microbiol. Infect., 6: pp.178-184.

Doern, G.V., Jones, R.N., Pfaller, M.A. and Kagler, K., 1999. *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* from patients with community-A required respiratory infections: Antimicrobial susceptibility patterns from the sentry antimicrobial surveillance program (United States and Canada, 1997). Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43(2): pp.385-389.

Ejlertsen, T. and Skov, R., 1996. The ß-lactamase of *Moraxella (Branhammella) catarrhalis* isolated from Danish children. APMIS, 104: pp.557-562.

Enright, M.C. and Mckenzie, H., 1997. *Moraxella (Branhamella) catarrhalin*-clinical and molecular aspects of ordiscoverd pathogen. J. Med. Microbiol., 46: pp.360-371.

Fitzgerald, M., Mulcahy, R., Murphy, S., Keane, C., Coakley, D. and Scott, T., 1999. Transmission electron microscopy studies of *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 23: pp.57-66.

Forbes, B.A., Sahm, D.F., Wessfeld, A.S. and Trevino, E.A., 1998. Bailey and Scott's diagnostic microbiology 10th ed. Mosby New York.

Fung, C.P., Powell, M., Seymour, A., Yuan, M. and Williams, J.D., 1992. The antimicrobial susceptibility of *Moraxella catarrhalis* isolated in England Scotland in 1991. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 30: pp.47-55.

Hol, C., Van Dijke, E.M., Verduin, C.M., Verhoef, J. and Van Dijke, H., 1994. Experimental evidence for *Moraxella*-induced penicillin neutrolization in pneumococcal pneumonia. J. Infect. Dis., 170: pp.1613-1616.

Hoppe, H.L. and Johnson, C.E., 1998. Otitis media: Focus on antimicrobial resistance and new treatment options. Am. J. Health Syst. Pharm., 55: pp.1881-1897.

Jones, M.E., Staples, A.M., Critchely, I., Thornsberry, C., Henze, P., Engler, D. and Sahm, D.F., 2000a. Benchmarking the in vitro of moxifloxecin and comparator against recent respiratory isolates from 377 medical centers through the United States. Antimicrobial agents and chemotherapy. 44(10): pp.2645-52.

Jones, M.E., Staples, A.M., Critchley, I., Thornsberry, C., Heinze, P., Engler, H.D. and Sahm, D.F., 2000b. Benchmarking the in vitro activity of moxifloxacin against recent isolates of *Streptococcus pnemoniae*, *Moraxella catarrhalis* and *Haemophilus influenzae*. A European multi-center study. Diagnostic Microbiology and Infections Disease. 37: pp.203-211.

Kamme, C., Eliasson, I., Kahl-Knutson, B. and Wang, M., 1986. Plasmid-mediated beta-lactamase in *branhamella catarrhalis*. Drugs, 31(3): pp.55-63.

Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R., Janda, W.M., Sommer, H.M. and Winn, W.C., 1997. Color atlas and text book of diagnostic microbiology. 4th ed. J.B. Lippincott Comp., Philadelphia.

Lennette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J. and Shadomy, H.J., 1985. Manual of clinical microbiology. 4th ed., American Society for Microbiology, Washington. pp.1005-1007

McMichael, J.C., 2000. Progress toward the development of vaccine to prevent *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* infections. Microbes and Infection, 2: pp.561-568.

Murphy, T.F. and Sethi, S., 1992. Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease. Am. Rev. Respir. Dis., 146: pp.1067-1083.

Murphy, T.F., Kyd, J.M., Jhon, A., Kirkham, C. and Dripps, M.W., 1998. Enhancement of pulmonary clearance of *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* following immunization with outer membrane protein CD in a mouse model. J. Intect. Dis., 178: pp.1667-1675.

National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1998. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing-Eighth Informational Supplement. Approved Standard M100-S8. NCCLS, Villanova, PA.

Richter, S.S., Brueggemann, A.B., Huynh, H.K., Rhomberg, P.R., Wingert, E.M., Flamm, R. and Doern, G.V., 1999. A 1997-1998 national surveillance study: *Moraxella catarrhalis* and *Haemophilus influenzae* antimicrobial resistance in 34 US institutions. International Journal of Antimicrobial Agents. 13: pp.99-107.

Roberts, M.C., 2002. Antibiotic toxicity, interactions and resistance development. Periodontology, Vol. 28: pp.280-297.

Saez-Nieto, J.A. and Vazquez, J.A., 1999. In vitro activities of ketolides HRM 3647 and HRM 3004 levoflaxacin and other quinolones and macrolides against Neisseria spp. and *Moraxella catarrhalis*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43(4): pp.983-984.

Singh, S., Cisera, K.M., Tuynidge, J.D. and Russell, E.D., 1997. Selection of optimum laboratory tests for the identification of *Moraxella catarrhalis*. Pathology, 29: pp.206-208.

Thornsberry, C., Jones, M.E., Hickey, M.L., Mauriz, Y., Kah, J. and Sahm, D.F., 1999a. Resistance surveillance of *Streprococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* isolated in the United States, 1997-1998. J. Antimicrob. Chemother., 44(6): pp.749-759.

Thornsberry, C., Ogilvie, P., Kahn, J. and Mauriz, Y., 1997. Surveillance of antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* in the United States in 1996-1997 respiratory season. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 29: pp.249-257.

Thornsberry, C., Ogilvie, P.T., Holley, H.P. and Sahm, D.F., 1999b. Survey susceptibilities of *Streptococcus pneumonia*, *Hamophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* isolates to 26 antimicrobial agents a prospective U.S. study. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43: pp.2612-2623.

Vandepitte, J., Engback, K., Piot, P. and Heuk, C., 1991. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. World Health Organization, Geneva.

Vaneechoutte, M., Verschraegen, G., Claeys, G. and Abeele, A.V., 1988. Selective medium for *Branhamella catarrhalis* with *acetazolamide* as a selective inhibitors of *Neisseria* spp. J. Clin. Micro. 26(12): pp.2544-2548.

Wald, E.R., 1998. Microbiology of acute and chronic sinusitis in children and adults. Am. J. Med. Sci., 316(1): pp.13-20.

Wallace, L.R. and Oldfield, E.C., 1990. *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* bacteremia. Arch. Intern. Med., 150: pp.1332-1334.