------ مجلة علوم الرافدين، المجلد 16، العدد 9، خاص بعلوم الحياة، ص147-158، 2006 ------

دراسة عملية الالتصاق بامراضية جرثومة *Moraxella catarrhalis* لدى المصابين بأمراض الجهاز التنفسي

إسماعيل إبراهيم السنجري
الشركة العامة لصناعة الادوية والمستلزمات الطبية (NDI)

صبحي حسين خلف
كلية التمريض
جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2005/4/11 ؛ تاريخ القبول 2005/12/5)

الملخص

يتضمن البحث عزل وتشخيص جرثومة *Moraxella catarrhalis* من العينات السريرية للمرضى المصابين بأمراض الجهاز التنفسي وزرعها على الاوساط الزراعية الانتخابيــة وشخصــت الســلالات بالاختبارات الكيموحيوية ونظام API-NH استخدمت الخلايا الظهارية الفموية من الجهاز التنفسي العلوي للانسان والخلايا الظهارية للرغامي والرئة للفئران. اظهرت النتائج والتحليل الاحصائي ان عملية التصاق الجرثومة تختلف من سلالة الى اخرى، ويكون بشكل كثيف وبمعدلات عالية على الخلايا الظهارية الفموية للانسان للعينات المأخوذة من القشع ومسحات الحلق والانف بفروقات معنوية ($P<0.0001$) في حين يكون الالتصاق بشكل أقل للعينات المأخوذة من الأذن لمرضى التهاب الأذن الوسطى، ووجد أن الالتصاق لــه علاقة بامتلاك الجرثومة التراكيب البروتينية المنتشرة على السطح الخارجي لها والتي لهــا أهميــة فــي الالتصاق والأخير له علاقة بأحداث الاصابة المرضية أظهرت النتائج ان للجرثومة القابلية العالية علــى الالتصاق وتكوين المستوطنات الجرثومية على الخلايا الظهارية للرغامي وعلى جدران الاسناخ الرئويــة لرئة الفئران وظهر تأثير عملية الالتصاق سلبياً بالعوامل الكيميائية والفيزياوية التربســين والفورمــالين (0.4%) ودرجة الحرارة (70°) م وبشكل أقل بدرجة الحرارة (60°) م عن تلك غير المعاملة.

Study on Adherence of Pathogenicity of *Moraxella catarrhalis* in the Respiratory Tract of Patients

Ismail I. Alsanjry
Nineavah Drug Industry (NDI)

Soubhi H. Khalaf
Nursing College
Mosul University

ABSTRACT

The study was conducted to isolate *Moraxella catarrhalis* from clinical specimens of patients with respiratory tract infections and to diagnose the strains by biochemical tests and API-NH system. Oroepithelial cells from human buccal cavity as in vitro adherence, mice trachea and lung as *invivo* adherence were used. The result showed that there was significant difference ($P<0.0001$) in adherence from one strain to another.

The statistical analysis revealed that high levels adhesion rate of strains isolated from the sputum, throat, and nose in comparison to lower levels of strain from the ear with otitis media. It is found that the adherence has a correlation with the structural proteins on the outer surface of bacteria which may play a role in the adherence to be associated with occurrence of disease. Histopathological examination showed the high ability of *M. catarrhalis* to adhere and colonised to form bacterial aggregation on the epithelial cells of trachea and bronchoalveolar of mice. The influence adherence showed a negative result under physical and chemical factors; trypsin, formalin (0.4%) temp. at 70 C° and less than that at 60 C° compared with those non treatment.

المقدمة

عدت الجرثومة *Moraxella catarrhalis* في السنوات الأخيرة من الجراثيم الانتهازية والمرضية وتتواجد مع الجراثيم المتعايشة في القنوات الانفية والبلعومية في الجهاز التنفسي للانسان (Enright and Mckenzie, 1997; Wald, 1998) وتسبب عددا من الامراض التهاب القصبات الرئوية والتهاب الاذن الوسطى الحاد والتهاب الجيوب الانفية المزمن وغيرها من الامراض الاخرى (Forbes et., 1998; Fitzgerald et., 1999a) وسجلت حديثاً انها احد الجراثيم الثلاثة المهمة والمسببة لالتهاب الاذن الوسطى الحاد والجيوب الانفية بعد جرثومتي *S. Pneumonia* و *H. influenzae* عند الاطفال (Murphy and Sethi, 1992; Murphy, 1996).

تستوطن الجرثومة على سطوح الاغشية المخاطية للتجويف الفمي - البلعومي والانفي وتلتصق على الخلايا الظهارية وان اهم العوامل المهمة في تحديد الاستيطان هو الالتصاق (Adherence) الذي يعد خطوة اولى ومهمة في الامراضية لهذه الجرثومة لتسبب الاصابة والمرض (Ahmed et al., 1996; Gorter et al., 2000) ويساعد على الالتصاق تراكيب بروتينية متخصصة تنتشر على سطح الخلايا الجرثومية ومواد تدعى(Adhesine) مع مستقبلات مهمة على سطح خلايا المضيف والتي تشكل قفل ومفتاح (Beachey et al., 1981).ويعد التصاق الجرثومة M. catarrhalis احد الصفات المهمة

لاستيطانها في الجهاز التنفسي العلوي وفي امراضيتها (Murphy et al., 1997). اذ تمتلك عوامل ضراوة متعددة منها الشعيرات وتراكيب بروتينية منتشرة على الشعيرات وعلى الجدار الخارجي مشابهة لما موجودا في اجناس جرثومية مرضية مثل جنس Vibrio وNeisseria (Bootsma, 1999; Chen et al., 2000) ولكي تستوطن وتسبب الاصابة المرضية لابد من الالتصاق على الخلايا الظهارية وسطوح خلايا المضيف (Ahmed et al., 2000) ويهدف البحث الى دراسة قابلية التصاق الجرثومة على الخلايا الظهارية في الجهاز التنفسي والتعرف على تأثير بعض العوامل الكيميائية والفيزياوية على امراضية وطبيعة التصاق الجرثومة على الخلايا الظهارية في الجهاز التنفسي.

المواد وطرائق العمل

تنمية وعزل السلالات

عزلت السلالات الجرثومية من العينات السريرية القشع ومسحات الحلق والاذن وزرعها على الوسط الانتخابي الخاص (Vaneechoutte et al., 1998) شخصت السلالات بواسطة نظام API-NH من شركة BioMerirux (Bbarbe et al, 1994) حضر المعلق الجرثومي بعد تنمية الجرثومة على أكار الدم وحضنت بدرجة (37°) م ولمدة (18-24) ساعة (Fitzgerald et al., 1996).

اختبارات الالتصاق

الالتصاق على الخلايا الظهارية للانسان

جمعت الخلايا الظهارية من حلق الانسان (human buccal cavity) بواسطة مسحة قطنية معقمة غسلت ثلاث مرات بمحلول الفوسفات المنظم برقم هيدروجين (pH7.0) باستخدام جهاز الطرد المركزي (3000 xg) لمدة (5) دقائق ثم علق الراسب بالمحلول نفسه رشح كليا من خلال ورقة ترشيح (Whattman No. 1) حيث توزع الخلايا عشوائياً على سطح ورقة الترشيح ثم نقلت الخلايا الى شريحة زجاجية عن طريق ضغط الشريحة على سطح ورقة الترشيح. تركت لتجف لمدة (15) دقيقة ثم وضعت الشرائح الزجاجية في اطباق زجاجية معقمة فارغة. اضيف المعلق الجرثومي بتركيز (1.2×10^9) اعتمادا على مقياس ماكفر لاند (Mcfarland No. 4) بحجم (5) سم^3 حضنت بالحاضنة الهزازة لمدة ساعة واحدة بدرجة (37°) م. غسلت بمحلول الفوسفات المنظم اضيفت صبغة كيمزا (Giemsa) لمدة (30) دقيقة غسلت الشرائح بالماء المقطر وتركت لتجف تم احتساب عدد الجراثيم الملتصقة (50) خلية ظهارية وتم اهمال العدد اقل من (10) خلية جرثومية فما دون لكل خلية ظهارية وبشكل عشوائياً واحتساب معدل الخلايا الجرثومية الملتصقة واجري عليها التحليل الاحصائي اعتماداً على اختبار التحليل التبايني باتجاه واحد واستخدم اختبار Duncan واختبار Z-test (Steel and Torrie, 1980, Fitzgerald et al., 1999a).

الالتصاق على خلايا الرئة والرغامي للحيوانات المختبرية

استخدمت ذكور الفئران من السلالة البيضاء (Albino Strain) بعمر (6-8) اسابيع قتلت الفئران واجريت العملية التشريحية قطعت الرغامي من تحت العنق حقن (100) مايكروليتر من المعلق الجرثومي خلايا حية من السلالات الجرثومية من خلال الرغامي الى الرئة بواسطة آلة حقن (Ganula صغيرة نزعت الرئة والرغامي وحقنت في (10) م^3 من المحلول الملحي بدرجة (37°) م لمدة ساعة واحدة اخذ احدى الرئتين والرغامي كل على حدا ووضعت في 10% من محلول الفورمالين المثبت لاجراء المقاطع النسيجية(Luna, 1968)، اما الرئة الثانية سحبت منها السوائل التي بداخلها ثم نقلت الى هاون طرق معقم يحوي على (2) سم^3 من المحلول الملحي سحقت جيدا واجرى العد الحيوي (Kyd, et al., 1998, Murphy et al., 1998).

تأثير العوامل الكيميائية والفيزيائية:

التربسين: اخذ (1) سم^3 من المعلق الجرثومي واضيف له الحجم نفسه من محلول الفوسفات المنظم الحاوي على 8/ ملغم / سم^3 تربسين في انابيب اختبار معقمة وحضنت بدرجة حرارة (37°) م لمدة ساعة واحدة ثم غسلت مرتين بمحلول الفوسفات المنظم علقت بـ (1) سم^3 من المحلول نفسه لاجراء اختبار الالتصاق (Fitzgerald et al., 1997, 1999a).

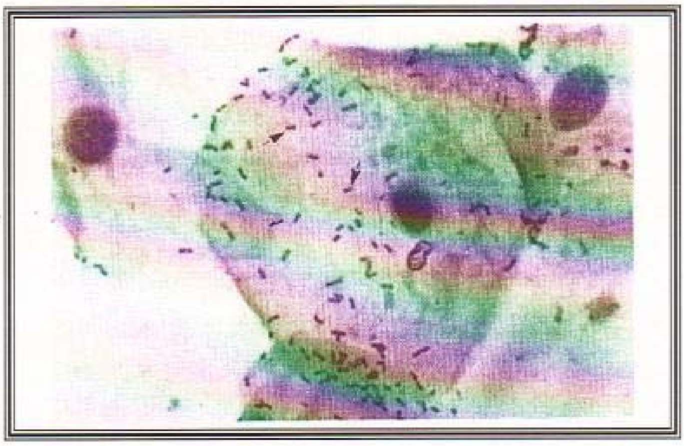
الفورمالين: اضيف (1) سم^3 من محلول الفورمالين بتركيز 0.4% (حجم/حجم) الى (1) سم^3 من المعلق الجرثومي ترك لمدة (30) دقيقة بدرجة حرارة المختبر ثم اجري عليه اختبار الالتصاق.

درجة الحرارة (60°)(70°) م:

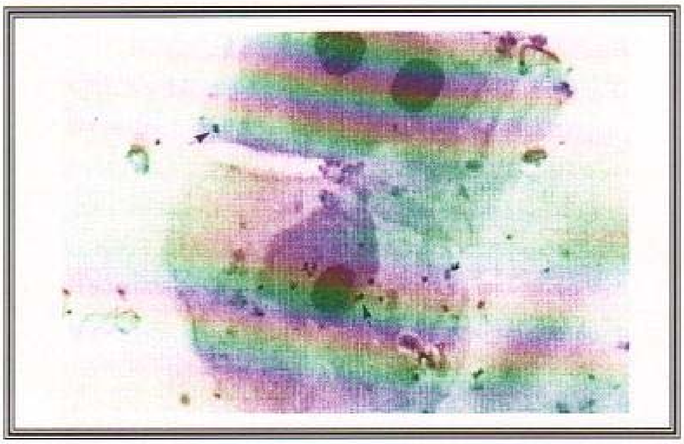
سخنت انابيب الاختبار الحاوية على المعلق الجرثومي في حمام مائي بدرجة حرارة (60°)(70°) م ولمدة ساعة واحدة مع استعمال انابيب بسيطرة وضعت في حاضنة بدرجة حرارة (37°) م اجري عليه اختبار الالتصاق (Fitzgerald et al., 1999a).

النتائج والمناقشة

أظهرت اختبارات الالتصاق في التجربة الأولى على الخلايا الظهارية من التجويف الفمي للإنسان1- والتي تمثل الجهاز العلوي والتجربة الثانية الالتصاق على خلايا القصبة الهوائية والرئة للفار التي تمثل الجهاز التنفسي السفلي ان هناك تباين بين السلالات لجرثومة *M. catarrhalis* في الالتصاق على الخلايا الظهارية الفموية حيث أظهرت السلالة (MD-1) الالتصاق بشكل كثيف (الصورة 1) في حين أظهرت التصاق السلالة (MC-10) بشكل اقل (الصورة 2).



الصورة 1: صورة مجهرية توضح التصاق جرثومة *M. catarrhalis* السلالة (MD-1) علــى الخلايا الظهارية الفموية للانسان، الصبغة كيمزا، (1000x).



الصورة 2: صورة مجهرية توضح التصاق جرثومة *M. catarrhalis* السلالة (MC-10) على الخلايا الظهارية الفموية للانسان، الصبغة كميزا، (1000x).

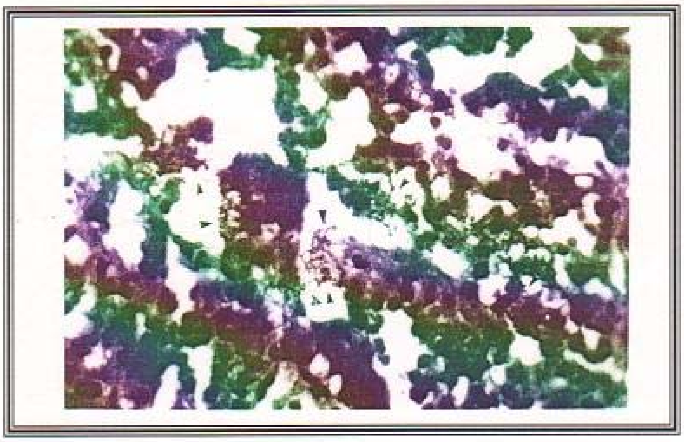
وبينت النتائج ان التصاق الجراثيم على الخلايا الظاهرية الفموية بالتحليل الاحصائي هي (96.16±2.16)، (63.10±2.21)و (60.54±2.23) جرثومـــة / خليـــة للســـلالات (MD-1)، (MD-181) و (MD-16) علىالتوالي في حين اظهرت ان معدل الالتصاق (17.32±0.85) وبشكل اقــل فـــي الســـلالة (MC-10) (الجدول 1).

الجدول 1: معدلات التصاق سلالات جرثومة *M. catarrhalis* على الخلايا الظهارية الفموية للانسان.

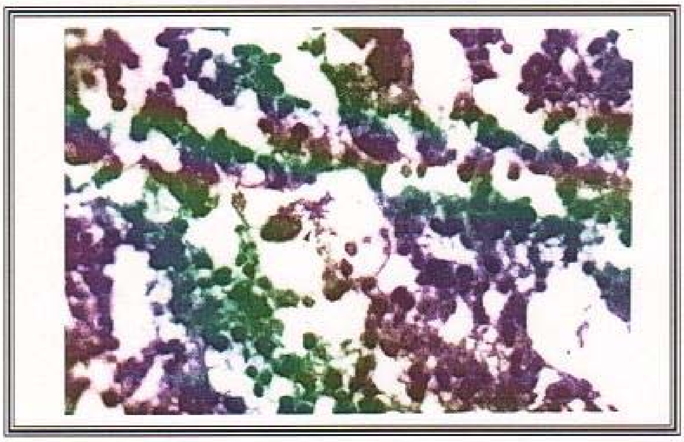
السلالة	عدد الخلايا الظهارية	الالتصاق (جرثومة/خلية)* (المعدل±الخطاء القياسي)	الانحراف القياسي
MD-1	50	2.16±69.16 أ	15.27
MD-181	50	2.21±63.10 ب	15.59
MD-16	50	2.24±60.54 ب	15.82
MD-10	50	0.85±17.32 ج	6.03

*معدل الالتصاق (عدد الجراثيم الملتصقة لكل خلية ظهارية، الحروف المختلفة عمودياً تعني وجود فروق معنوي عند مستوى $p \leq 0.05$).

يختلف مصدر وموقع السلالات المعزولة من العينات السريرية في الجهاز التنفسي حيث عزلت السلالة (MD-1) بشكل نقي من نموذج قشع من انثى بعمر (18) سنة مصابة بالتهاب الشعبي القصبي، والسلالة (DM-181) معزولة من قشع انثى بعمر (16) سنة مصابة بمرض ذات الرئة المزمن والسلالة (MB-16) عزلت من مسحة حلق لطفلة عمرها سنة واحدة مصابة بمرض ذات الرئة المزمن والسلالة (MB-16) عزلت من مسحة حلق لطفلة عمرها سنة واحدة مصابة بالتهاب الحنجرة والقصابات الحاد في حين عزلت السلالة (MC-10) من مسحة اذن لطفل عمره (3) سنوات مصاب بالتهاب الاذن الوسطى الحاد وهذه النتائج متفقة مع العديد من الدراسات اذ وجدت الدراسة لـ Murphy وجماعته سنة (1997) ان زيادة الالتصاق على الخلايا الظهارية يعكس النسبة العالية على الاستيطان لجرثومة *M. catarrhalis* على الخلايا الظهارية للجهاز التنفسي العلوي وله علاقة بامتلاكها التراكيب اللاصقة منها الشعيرات وهذا ما اكدته ايضاً دراسة Ahmed وجماعته سنة (1992) ووجد كل من Fitzgerald وجماعة سنة (1996) و kyd وجماعته سنة (1999) ان السلالات الجرثومية *M. catarrhalis* المعزولة من الحلق والقشع تمتلك على سطوحها الخارجية طبقة من الشعيرات في الوقت نفسه السلالات المعزولة من التهاب الاذن الوسطى الحاد لا تمتلك على سطوحها الشعيرات وهذا وجد في الدراسة الحالية كثافة عدد الجراثيم الملتصقة في السلالات (MD-1)(MD-181) و(MB-16) وقلة كثافة عدد الجراثيم للسلالة (MC-10)، وقد اظهر التحليل الاحصائي وجود فروقات معنوية بين معدلات الالتصاق لهذه السلالات باستخدام تحليل التباين (ANOVA) ($P<0.0001$) واختبار دنكن حيث ظهر التحليل ثلاثة مجاميع الاولى السلالة (MD-1) بمعدل (2.16±69.16) والمجموعة الثانية هما السلالتان (MD-181) و (MB-16) وبمعدل (2.21±63.10) و (2.24±60.54) على التوالي ولا تختلفان عن بعضهما ولكن يختلفان عن المجموعة الاولى والمجموعة الثانية والاخيرة المجموعة الثالثة هي السلالة (MD-1) (الصورة 3) في حين اظهر الالتصاق اقل للخلايا الجرثومية للسلالة (MD-10) (الصورة 4). واظهرت نتائج الالتصاق نفسها على الرغامي.



الصورة 3: توضح مقطع من رئة فار محقونة بجرثومة *M. catarrhalis* السلالة (MD-1) والتصاق الجرثومة على الخلايا الظهارية في جدران الاسناخ الرئوية، الصبغة كيمزا، (1000x).

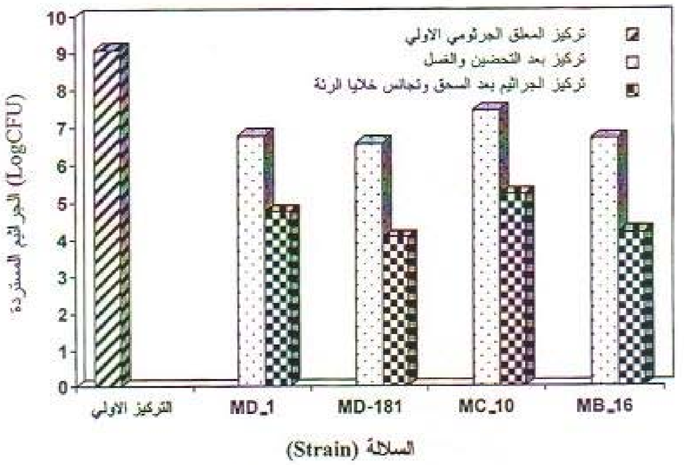


الصورة 4: توضح مقطع من رئة فــار محقونــة بجرثومــة *M. catarrhalis* الســلالة (MC-10) والتصاق الجرثومة على الخلايا الظهارية في جدران الاسناخ الرئوية، الصبغة كيمــزا، (1000x).

اظهرت نتائج العد الحيوي عند مقارنتها مع التركيز المعلق الاولى (1.2×10^9) جرثومة/سم^3 قبل المعاملة، اذ لوحظ انخفاض في العدد الحيوي للجراثيم المستردة بعد الالتصاق للسلالة (MD-1) وظهــر

($58x10^5$) وحدة جرثومية حية CFU / مل ثم تليها السلالة (MD-181) بالتخفيف ($36x10^3$) ثم السلالة (MB-16) بالتخيف ($48x10^3$) وحدة جرثومية / سم^3 بعد بعد التحضين وغسل الرئة.

بعد عملية سحق الرئة وتجانسها فقد اظهرت نتائج العدد الحيوي في السلالة ($51x10^5$) في حين اظهرت السلالة (MC-10) عدا حيوياً اعلى بالتجفيف ($16x10^4$) وهذا يؤكد التصاق الخلايا الجرثومية على جدران الاسناخ الرئوية والذي ظهر بشكل جراثيم مستردة اعلى في السلالة (MC-10) يكون فيها الالتصاق اقل (الشكل 1).



الشكل 1: العد الحيوي للجراثيم المستردة (CFU) للسلالات بعد عملية الالتصاق في رئة الفار.

هذه النتائج تعزز نتائج تجربة الالتصاق على الخلايا الظهارية الفموية لهذه السلالات وتتفق على ما توصلت اليه نتائج دراسة Kyd وجماعته سنة (2000) وايضاً ما تؤككده الدراسات ان التصاق الجراثيم على سطح الخلايا الظهارية والاغشية المخاطية بواسطة الشعرات والزوائد هي اول خطوة في الامراضية للعديد من الاصابة المرضية واحداث المرض (Bootsma, 1999; Fitzgerald et al., 1999b; Gorter et al., 2000).

وتشير الدراسات ان التصاق جرثومة *M. catarrhalis* على الخلايا الفموية البلعومية على السطوح الاغشية المخاطية من خلال الشعيرات المنتشرة على السطح الخارجي للجرثومة يقابلها مستقبلات على خلايا المضيف (Ahmed et al., 1996)، واشار Lafontaine وجماعته سنة (2000) الى ان جرثومة *M. catarrhalis* تمتلك البروتين Usp A_1 احد البروتينات الجدار الخارجي لسطح الخلية الجرثومية والذي له اهمية في التصاقها على الخلايا الظهارية والاغشية المخاطية للجهاز التنفسي فضلا عن البروتين الثاني Usp A_2 الذي له وظيفة مناعية للاجسام المضادة. كما اشار Fitzgerald وجماعته

سنة (1997) ان الجرثومة تمتلك ايضاً بروتين (200 KD) الذي يمثل الشعيرات على سطح الجرثومة وله اهمية في عملية التصاق الجرثومة.

هناك عوامل مسؤولة عن خطوة الالتصاق منها خاصة رهاب الماء وقوة فان دبروليز والشحنة الكهربائية السطحية (Shiono and Ike, 1999, Ahmed et al., 2000) وقد وجد Ahmed وجماعته سنة (2000) في دراسة على خاصية الشحنات السطحية لكل من الشحنة على سطح جرثومة *M. catarrhalis* والشحنة على الخلايا الظهارية وعلاقتها بالتصاق اذ وجد الباحث ان الشحنة لسطح الجرثومة هي سالبة (-) في حين الشحنات السائدة على سطح الخلايا الظهارية لبلعوم الانسان هي السالبة والموجبة واستنتج ان الجرثومة *M. catarrhalis* تلتصق بوضح على الشحنة الموجبة السائدة على الخلايا الظهارية للبلعوم وبذلك يعتقد ان الاطفال والوضع وكبار السن فوق 60 سنة تكون الشحنة السائدة على الخلايا الظهارية هي الشحنة الموجبة وهذا يؤيد النسبة العالية لانتشار الجرثومة *M. catarrhalis* واستيطانها في هذه الفئات العمرية.

اظهرت نتائج تأثير العوامل التربيسين الفورمالين 0.4% ودرجات الحرارة (60°) و (70°) م على طبيعة اللواصق السطحية للجرثومة مقارنة مع السلالتين MD-1 و MB-16 في حين ان تأثير سلبيا على التصاق السلالتين MD-181 و MC-10 وتبين ان الفورمالين (0.4%) له تأثيرا سلبياً على التصاق جميع السلالات واظهرت درجات الحرارة (60°) تأثيرا جزئيا في حين ظهر تأثير درجة الحرارة (70°) تأثيرا سلبيا قويا على التصاق جميع السلالات(الجدول 2).

الجدول 2: تأثير العوامل الكيميائية والحرارة على التصاق السلالات الجرثومية *M. catarrhalis* على الخلايا الظهارية الفموية للانسان.

السلالات	معدل الالتصاق ± الخطأ القياسي				
	غير المعاملة	التربيسين	فورمالين 0.4%	درجة الحرارة 60° م	درجة الحرارة 70° م
MD-1	2.4 ± 69.16 أب	2.4 ± 73.80 أب	0.2 ± 11.70 د-هـ	1.4 ± 18.80 د	0.0 ± 0.00 و
MB-16	2.2 ± 63.10 ب ج	3.8 ± 58.30 ج	1.4 ± 15.10 د	0.5 ± 17.80 د	0.0 ± 0.00 و
MC-10	0.8 ± 17.32 د	1.1 ± 14.10 د	0.0 ± 0.00 و	0.0 ± 0.00 و	0.0 ± 0.00 و
MD-181	2.2 ± 60.54 ب ج	1.1 ± 14.00 د	1.7 ± 3.40 و	1.2 ± 14.70 د	0.0 ± 0.00 و

معدل الالتصاق: عدد الجراثيم الملتصقة لكل خلية ظهارية.

الحروف المختلفة افقياً وعمودياً وتعني وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$).

عند معاملة السلالات مع التربسين حل الشعيرات التي هي عبارة عن تراكيب بروتينية وافقد قابلية الجرثومة على الالتصاق الا ان التصاق السلالتين MD-1 و MB-16 لم تتأثر بالتربسين بالرغم من ازالة الشعيرات وحلها بالانزيم وتفسير ذلك ان هاتين السلالتين تمتلك تراكيب كاربوهدراتية على السطح الخارجي للجرثومة تدعى التراكيب اشباه الاشواك Tack spicule-like structure لاتتأثر بالتربسين وهذا ما وجدته الدراسات الحديثة بواسطة المجهر الالكتروني النافذ (TEM) (Fitzgerald et al., 1996; Kyd et al., 1998; Fitzgerald et al., 1999b) . وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Fitagerald وجماعته سنة (1996) اذ وجد ان معاملة الجرثومة مع التربسين يعمل على ازالة الشعيرات (abolishing) من السطح الخارجي للجرثومة وايضاً تتفق مع اشار اليه Fitzgerald وجماعته سنة (1999b) بوجود علاقة وثيقة بين الشعرات المتمثلة (200 KD) ذات الطبيعة البروتينية والالتصاق اما درجة الحرارة (70°) م فان هذه المعاملة بالحرارة عملت على مسخ البروتينات (Denaturation) المتمثلة بالشعيرات وافقدت قابليتها على الالتصاق.

المصادر الاجنبية

Ahmed, K., 1992. Fimbriae of *Branhamella catarrhalis* as possible mediators of adherence to pharyngeal epithelial cells. APMIS، pp.1072-1066 :100.

Ahmed, K., Matsumoto, K., Rikitomi, N. and Nagatake, T., 1996. Attachment of *Meraxella catarrhalis* to pharyngeal epithelial cells is mediated by aglycosphingolipid receptor FEMS. Microbiol. Lett, 135: pp.305-309.

Ahmed, K., Nakagawa, V., Martinez, G., Ichinose, A., Zheng, G.H., Akaki, M., Aikawa, M. and Nagatake, T., 2000. Attachment of *Moraxella catarrhalis* occurs to the positively charged domains of pharynged epithelial cells. Micropathog. 28(4): pp.203-209.

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 arotine clinical laboratory. J. Clin. Microbiol., 32(1): pp.187-9.

Beachey, E.H., 1981. Bacterial adherence: adhesion receptor interacting the attachment of bacteria to mucosal surfaces. J. Infect. Dis،. pp.345-143:325.

Bootsma, H.J., 1999. General introduction: Emergence of p-lactam- resistance in *Moraxella catarrhalis* a bla-bla tale about brol and bro 2. Chapter 1: pp.9-27.

Chen, D., Bamiak, V., Van Der Meid, K.R. and McMichael, J.C., 1999a. The level and bactericidal capacity of antibodies directed against the UspAl and UspA2 outer membrane proteins of *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* in adults and children. Infection and Immunity, 67(3): pp.1310-1316.

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

Fitzgerald, M., Mulcahy, R., Murphy, S., Keane, C., Coakley, D. and Scott, T., 1997. A 200 KDa protein is associated with haemagglutinating isolates of *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. FEMS Immunology and Medical Microbiology, pp.216-18:209.

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

Fitzgerald, M., Murphy, S., Mulcahy, R., Keane, C., CoAkley, D. and Scott, T., 1996. Haemagglutination properties of *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. British J. Biomedical Science, 53: pp.262-257

Fitzgerald, M., Murphy, S., Mulcahy, R., Keane, C., Coakley, D. and Scott, T., 1999a. Tissue culture adherence and haemagglutination characteristics of *Moraxella* (*Branhammella*) *catarrhelis*, FEMS. Immunology and Medical Microbiology. 24: pp.105-114.

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

Gorter, A.D., Hiemstra, P.S., Bentzmann, S., Wetering, S., Dankert. J. and Alphen, L., 2000. Stimulation of bacterial adherence by neutrophil detensins varies among bacterial species but not among host cell types. FEMS Immunology and Microbiology, 28 : pp.105-111.

Kyd, J.M., Cripps, A.W. and Murphy, T.F., 1998. Outer membrane antigen expression by *Moraxella catarrhalis* influences pulmonary clearance. Med. Microbiol., 47: pp.159-168.

Lafontaine, E.R., Cope, L.E., Aebi, C., Latimer, J.L., McCracken, G.H. and Hansen, E.J., 2000. The UspA protein a second type of UspA2 protein mediate adherence of *Moraxella catarrhalis* to human epithelial cells in vitro. J. Bacteriol. 182(5): pp.1364-1373.

Luna, L.G., 1968. Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. 3rd ed., New York, McGraw-Hill Book Company, pp.38-76.

Murphy, S., Fitzgerald, M., Mulcaphy, R., Keane, C., Coakley, D. and Scott, T., 1997. Studies on haem. Agglutination and serum resistance status of strains of *Moraxella catarrhalis* isolated from the elderly. Gerontology, 43: pp.277-282.

Murphy, T.F., 1996. *Branhamella catarrhalis*: epide miology surface antigenic structure, and immune response. Microbiol. Rev., 60: pp.79-267.

Murphy, T.F. and Sethi, S., 1992. Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease. Am. Rev. Respir. Dis., 1461: pp.1083-067.

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

Shiono, A. and Ike, Y., 1999. Isolation of Enterococcus faecalis clinical isolates that efficiently adhere to human bladder carcinoma. T24 cell and inhibition of adhesion by fibronectin trypsin treatment. Infect. Immun., 67(4): pp.1585-1592.

Steel, R.G. and Torrie, J.H., 1980. Principles and procedures statistics a biometrical approach. 2nd ed., McGraw-Hill, Inc., Singapore, 183 p.

Vaneechoutte, M., Verschraegen, G., Claeys, G. and Abeele, A.V., 1988. Selective medium for Branhamella catarrhalis with Acetazola mide 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.