

KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI (KOAİ) OLANLARIN BALGAMLARINDA MORAXELLA CATARRHALIS'İN SIKLIĞI

INCIDENCE OF MORAXELLA CATARRHALIS IN THE SPUTA OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASE

Masoumeh ASLANI MEHR*, Ayşe YÜCE*, Nuran YULUĞ*

Özet: Bu çalışmada balgam kültürü pozitif olup; akut alevlenme gösteren 29 KOAH'lı, 8 pnömoni ve 45 bronşitli olmak üzere toplam 82 akut alt solunum yolu enfeksiyonlu hasta değerlendirilmiştir. *M.catarrhalis* izolasyonu KOAH'lıların 9'unda (% 31) pnömonililerin 1'inde (% 12.5) saptanırken, akut bronşitlilerden izole edilememiştir. 29 KOAH'lı hastanın 2'sinde akut pnömoni gelişmiş olup bunlardan 1'inde *M.catarrhalis* saf halde, diğerinde ise *S.pneumoniae* ile birlikte izole edilmiştir. Tüm hastalar dikkate alındığında *M.catarrhalis* izolasyon oranı 10/82 (% 12.2)'dir. İzole edilen 10 izolattan 9'unun beta laktamaz ürettiği, penisilin ve ampisiline dirençli, test edilen diğer antibiyotiklere duyarlı olduğu saptanmıştır. Beta laktamaz üreten 9 izolattan 8'inin BRO₁, 1'inin BRO₂ tipi beta laktamaz enzimi taşıdığı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, *Moraxella catarrhalis*, Beta laktamaz üretimi.

Summary: In this study, we evaluated 82 patients with lower respiratory tract infections whose sputum cultures were positive for indicated pathogen. Of these, 29 had chronic obstructive lung disease (COLD) in acute exacerbation, 8 had acute pneumonia and 45 had acute bronchitis. *Moraxella catarrhalis* was isolated from the sputum cultures of 9 (31%), 1 (12%) and none (0%) in the above mentioned group of patients respectively. Two cases with COLD were developed acute pneumonia. *M.catarrhalis* was isolated as a pure culture in one of these patients, and *S.pneumoniae* in the other. Nine of 10 *M.catarrhalis* isolates were beta-lactamase positive and resistant to penicillin and ampicillin. Resistance pattern of these 9 strains suggested the presence of BRO₁ in 8 and BRO₂ in 1 isolate.

Key words: Chronic obstructive lung disease, *Moraxella catarrhalis*, Beta lactamase production.

* Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı İnciraltı, İzmir.

GİRİŞ

Üst solunum yollarında kommensal bir flora bakterisi olarak bilinen *M.catarrhalis*'in son yıllarda özellikle solunum yolu enfeksiyonlarında önemi ve sıklığı giderek artan bir patojen olduğu ortaya konmuştur (1-5). Öncelikle kronik bronşitin alevlenmesine neden olan *M.catarrhalis* suşlarının yaklaşık % 85'inde betalaktamaz aktivitesi saptandığı bildirilmektedir (1, 6-9). *M.catarrhalis*'e bağlı enfeksiyonlarda predispozan faktörler arasında pulmoner ağacın veya akciğer parankimasının temel hastalıkları özellikle kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) yer aldığından bu enfeksiyonlar için toplumlarda çok yüksek bir potansiyel olduğu gözlenmektedir (1, 7, 10).

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı olanlarda *M.catarrhalis* en sık saptanan etkenlerden biri olduğundan, bu çalışmamızda KOA'lı hastalarda *M.catarrhalis* sıklığı, betalaktamaz aktivitesi ve antibakteriyel ajanlara duyarlılığının saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Mart 1992-Temmuz 1992 tarihleri arasında Dokuz Eylül Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına alt solunum yolu enfeksiyonu tanısı ile gönderilen balgam örnekleri gram boyası ile boyanarak hücresel kriterler ve bakteri dominansı yönünden incelenmiş, uygun örnekler kültüre alınmıştır. Balgam kültürleri pozitif bulunan bunun yanı sıra klinik ve radyolojik olarak akut alevlenme gösteren KOA'lı 29, akut pnömoni 8, ve akut bronşitli 45 olmak üzere toplam 82 hasta değerlendirmeye alınmıştır. Akut alevlenme gösteren KOA'lı hastaların 2'sinde pnömoni de saptanmıştır. *M.catarrhalis* dekolorizasyona dirençli olduğundan gram boyamasında dekolorizasyon işlemi 1/1 aseton, % 95'lik etanol karışımı ile 20sn'de gerçekleştirilmiştir (11). Kültür için $\times 10$ büyültmede her sahada 25'den fazla lökosit ve 10'dan az yassı epitel hücresi bulunan örneklerin pürülan kısımları alınarak % 5'lik kanlı agar, çikolata agar ve EMB agar besiyerlerine ekilmiş, kanlı ve çikolata besiyerleri % 5 - % 10 CO₂'li ortamda EMB agar normal atmosferde 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir (9, 10). İnkübasyon sonucunda oluşan kolonilerin morfolojik görünümü, gram özellikleri ve çeşitli biyokimyasal reaksiyonları incelenerek gri-beyaz renkli, kayan, gram (-) diplokok kolonilerden; katalaz ve oksidaz pozitif, glukoz, sükroz, maltoz ve galaktozdan asit oluşturmayan, nitratı redükte eden ve DNaz pozitif olanlar *M.catarrhalis* olarak değerlendirilmiştir. İzole edilen *M.catarrhalis* suşlarının betalaktamaz aktivitesi asidometrik yöntem ile (12), antibiyotik duyarlılık testi kuru disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. BRO beta laktamaz enzimlerin tiplendirmesi Luman ve arkadaşlarının (13) çalışmalarından yararlanılarak değerlendirilmiştir. Buna göre penisilin zon çapı 11.6 ± 4.8 , sefotaksim zon çapı 32.5 ± 4.6 olanların BRO₁, penisilin zon çapı 22.7 ± 2.5 , sefotaksim zon çapı 41.0 ± 2.7 olanların BRO₂ enzimine sahip olabileceği bildirilmektedir.

BULGULAR

Balgam kültüründen izole edilen mikroorganizmaların hastaların klinik tanılarına göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir. Verilere göre balgam kültürü pozitif bulunan 29 KOA'lı, 8 pnömoni ve 45 akut bronşitli olmak üzere toplam 82 hastadan 10/82 (% 12.2) oranında *M.catarrhalis* izole edilmiştir. Akut alevlenme gösteren KOA'lı ve pnömoni

hastalarda M.catarrhalis'in izolasyonu sırası ile 9/29 (% 31) ve 1/8 (% 12.5) iken akut bronşitli 45 hastadan M.catarrhalis izole edilememiştir. Klinik ve radyolojik bulgular, balgam kültürlerinden M.catarrhalis izole edilen KOAH'lı hastaların 2'sinde pnömoni de geliştiğini göstermiştir. Bunların birinde M.catarrhalis saf halde diğ erinde S.pneumoniae ile birlikte izole edilmiştir. Görüldüğü gibi M.catarrhalis KOAH'lı hastalarda 9 izolat ile en sık rastlanan mikroorganizmadır.

Tablo 1
Balgam Kültürlerinden İzole Edilen Mikroorganizmaların Klinik Tanıya Göre Dağılımı

İzole Edilen Bakteriler	KOAH (Akut Alevlenmeler) n = 29*			Pnömoni n = 10*			Akut Bronşit n = 45		
	Saf	Miks	Toplam	Saf	Miks	Toplam	Saf	Miks	Toplam
S.pneumoniae n = 14	2	2	4	2	2	4	5	2	7
S.aureus n = 13	3	1	4	2	1	3	5	1	6
P.aeruginosa n = 12	4	0	4	1	0	1	3	4	7
Klebsiella sp. n = 11	2	0	2	1	0	1	5	3	8
M.catarrhalis n = 10	5	4	9	1	2	3	0	0	0
AGBHS n = 9	0	1	1	0	0	0	7	1	8
Alfa Hemolitik streptokok n = 7	4	0	4	0	0	0	3	0	3
Koagülaz (-) stafilokok n = 2	1	0	1	0	0	0	1	0	1
** Diğer G (-) Bakteriler n = 13	3	0	3	0	0	0	7	3	10
C.albicans n = 7	2	0	2	0	1	1	2	2	4
Toplam izolat sayısı n = 98	26	8	34	6	4	10	38	16	54

* KOAH'lı olan iki hastada ayrıca pnömoni gelişmiştir. Bunların birinde M.catarrhalis, S.pneumoniae ile birlikte diğ erinde ise saf halde izole edilmiştir.

** Enterobacter sp, E.coli, Citrobacter sp, Proteus sp, Acinetobacter sp, M. nonliquefaciens.

Hastaların sigara içme durumları Tablo 2'de gösterilmiştir. Görüldüğü gibi KOAH'lı hastaların % 79.3'ünde pnömoni hastaların % 75'inde ve akut bronşitli hastaların % 60'ında sigara içme alışkanlığı saptanmıştır. Her üç grupta da sigara içen hastaların sayısı sigara içmeyenlere göre daha fazla saptanmış ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (χ^2 testinde $p < 0.05$). Balgam kültürlerinden *M.catarrhalis* izole edilen 10 hastanın genel özellikleri Tablo 3'de verilmiştir. Tabloda gösterildiği gibi hastaların 7'sinde (% 70) sigara içme alışkanlığı saptanmış olup yaş ortalamaları 50.2'dir. Ayrıca bu hastaların 9'unda (% 90) temel kardiyopulmoner hastalıkların bulunduğu gözlenmiştir. İzole ettiğimiz 10 *M.catarrhalis* suşundan 5'i saf halde 2'si *S.pneumoniae*, 2'si *S.aureus* ve 1'i AGBHS ile miks halde saptanmıştır. *M.catarrhalis* izolatlarının betalaktamaz aktivitesi ve BRO enzimlerinin durumu Tablo 4'de, antibiyotik duyarlılıkları Tablo 5'de verilmiştir. Görüldüğü gibi izole edilen 10 izolattan 9'unun beta laktamaz ürettiği, penisilin ve ampiciline dirençli, test edilen diğer antibiyotiklere duyarlı olduğu saptanmıştır. Beta laktamaz üreten 9 izolattan 8'inin BRO₁, 1'inin BRO₂ tipi beta laktamaz enzimi taşıdığı düşünülmektedir. Beta laktamaz üretmeyen izolat tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur.

Tablo 2
Klinik Tanı ile Sigara İçme Alışkanlığı Arasındaki İlişki

Klinik Tanı	Sigara Alışkanlığı Olan Hastaların Sayısı		Sigara Alışkanlığı Olmayan Hastaların Sayısı	
	n	%	n	%
KOAH n = 29	23	79.3	6	20.7
Akut pnömoni n = 8	6	75	2	25
Akut bronşit n = 45	27	60.0	18	40.0
Toplam n = 82	56	68.3	26	31.7

Tablo 3
M.catarrhalis İzole Edilen 10 Olgunun Genel Özellikleri

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Yaş	50	63	62	65	63	48	52	56	23	20
Cinsiyet	K	E	K	K	E	E	E	K	K	E
Sigara	1 pkt./gün	30 yıl 5-10 / gün (bırakmış)	φ	φ	25 yıl 10 / gün	33 yıl 1 pkt./ gün	20 yıl 1 pkt./ gün	30 yıl 1-2 pkt./ gün	φ	10-15/gün
Klinik	KOAH + kalp hast.	KOAH	KOAH bronşektazi Astım	KOAH + K.larenjit	KOAH + Pnömoni	KOAH	KOAH	KOAH + Pnömoni	KOAH + Astım	Pnömoni
Kültür	M.cat.	M.cat.	M.cat. + S.aureus	M.cat.	M.cat.	M.cat.	M.cat. + AGBHS	M.cat. + S.pneu	M.cat. + S.pneu	M.cat. + S.aureus

pkt: paket.

Tablo 4

İzole Edilen M.catarrhalis İzolatlarında Beta Laktamaz Aktivitesi, Penisilin ve Sefotaksim Zon çaplarına göre BRO Enzimlerinin Durumu

İzolatlar	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Penisilin zon çapı	15	12	15	13	31	14	11	23	14	9
Sefotaksim zon çapı	32	31	28	29	39	30	29	42	31	32
Beta-laktamaz üretimi	+	+	+	+	φ	+	+	+	+	+
BRO enzimlerinin tipi	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₁	φ	BRO ₁	BRO ₁	BRO ₂	BRO ₁	BRO ₁

Tablo 5

M.catarrhalis İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

	P	AMP	AMC	SAM	CİP	SXT	E	CEC	OFX	CTX
Duyarlı	1	1	10	10	10	10	10	10	10	10
Dirençli	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0

P : Penisilin.

AMP : Ampisilin.

AMC : Amoksisilin + Klavulanik asit.

SAM : Sulbaktam + ampisilin.

CİP : Siprofloksasin.

SXT : Trimetoprim + sulfametoksazol.

E : Eritromisin.

CEC : Sefaklor.

OFX : Ofloksasin.

CTX : Sefotaksim.

T A R T İ Ş M A

Alt solunum yolları enfeksiyonlarına zemin hazırlayan faktörlerden en önemlileri; ileri yaş, sigara kullanımı, temel kardiyopulmoner hastalıklar ve viral enfeksiyonlardır.

Yapılan değişik çalışmalarda kronik bronşitli ve KOAH'lı hastalarda alt solunum yolu enfeksiyonlarının morbidite ve sıklık açısından çok yüksek oranda bulunduğu ve bu hastalarda M.catarrhalis'in en sık izole edilen bakterilerden biri olduğu bildirilmektedir (1, 7-10).

Çalışmamızda balgam kültürü pozitif bulunan 29 KOAH'lı, 8 pnömoni ve 45 akut bronşitli olmak üzere toplam 82 hastadan 10/82 (% 12.2) oranında M.catarrhalis izole edilmiştir. Akut alevlenme gösteren 29 KOAH'lı hasta dikkate alındığında M.catarrhalis izolasyonu 9/29 (% 31) ve akut pnömoni 8 hastada 1/8 (% 12.5) iken, 45 akut bronşitli hastada M.catarrhalis izole edilememiştir. 29 KOAH'lı hastanın 2'sinde pnömoni geliştiği görülmüştür. Bunların birinde M.catarrhalis saf halde, diğerinde ise S.pneumoniae ile birlikte izole edilmiştir. Görüldüğü gibi M.catarrhalis öncelikle KOAH gibi temel kardiyopulmoner hastalığı bulunan kişilerden izole edilmiştir ve bu grupta en yaygın patojen olarak 5. sırada yer almıştır. Çalışmanın yapıldığı mevsim göz önüne alınırsa mikroorganizmanın mevsimsel dağılım göstermesine bağlı olarak bu oranın sonbahar ve kış aylarında daha da artacağı düşünülmektedir (5). Wright ve ark. (10) 1982-1988 yılları arasında M.catarrhalis ile oluşan 42 pnömoni olgusunu incelemiş ve bu hastaların % 98'inde çeşitli kardiyopulmoner hastalıklar saptamış, bunların 22'sinde (% 52.3) KOAH, 10'unda (% 23.8) KOAH + akciğer kanseri bulunduğunu bildirmiştir. Nicorta ve ark. (9) Aralık

1982 Temmuz 1983 arasındaki 8 aylık dönemde bir göğüs hastalıkları hastanesinde yatan 49 hastanın 52 balgam kültüründen 52 *M.catarrhalis* izolatu elde ettiğini ve bu mikroorganizmanın en çok görülen 3. patojen olduğunu açıklamıştır. Ayrıca bu hastaların % 83'ünde radyolojik bulgular ile kronik obstrüktif akciğer hastalığı bulunduğunu da bildirmiştir. Vaneechoutte ve ark. (4), çalıştığı hastanede *M.catarrhalis*'in en sık görülen 3. patojen olduğunu ve daha çok kronik bronşitin alevlendiği olgulardan izole edildiğini bildirmiş, ayrıca balgam örneklerinde orofaringeal kontaminasyonun düşünüldüğü kadar sık olmadığını da açıklamıştır.

Çalışmamızda 29 KOAH'lının 23'ünün (% 79.3), 8 pnömonilinin 6'sının (% 75), 45 akut bronşitlinin 27'sinin (% 60) balgam kültürlerinden *M.catarrhalis* izole edilen hastaların ise 7/10'unun (% 70) sigara içtiği ve yaş ortalamasının 50.2 olduğu saptanmıştır. Araştırmalar sigara içenlerde kronik bronşit ve amfizem olma riskinin, sigara içmeyenlere göre 10 kat daha fazla olduğunu ve bu riskin içilen sigara sayısı ile arttığını (14), *M.catarrhalis* enfeksiyonlarında predispozan faktörler arasında temel kardiyopulmoner hastalıkların yanısıra sigara içmek ve ileri yaşın da yer aldığını göstermektedir (1, 5, 8-10).

Di Giovanni ve ark. (3), *M.catarrhalis* izole ettikleri hastaların % 83'ünün 60 yaşın üstünde olduğunu ve % 71'inin sigara içtiğini, Write ve ark. (10) ise, balgam kültürlerinden *M.catarrhalis* izole edilen 42 pnömonili hastanın % 55'inin 65 yaş üstünde olduğunu, % 83'ünün sigara kullandığını bildirmektedir.

Bu çalışmada izole edilmiş olan 10 *M.catarrhalis* suşunun 5'i saf halde, 2'si *S.pneumoniae*, 2'si *S.aureus* ve 1'i AGBHS ile miks halde saptanmıştır. Pollard ve ark. (9) 1921 pozitif balgam kültüründe 220 (% 11.5) *M.catarrhalis* izole ettiğini, bunların 124'ünün (% 43.7) miks halde bulunduğunu; Hager ve ark. (16), 1976-1986 yılları arasında akciğer enfeksiyonlarından izole edilen 429 *M.catarrhalis* izolatının % 61.2'sini saf halde, % 38.8'inin *H.influenzae*, *S.pneumoniae*, gram negatif basiller, *S.aureus*, mayalar ve koagülaz negatif stafilokoklar ile birlikte bulunduğunu; Konishi ve ark. (17), 12'si akut bronşitli, 14'ü pnömonili, 14'ü kronik akciğer hastalığı olan toplam 40 hastadan *M.catarrhalis* izole ettiklerini, bu izolatların 17'sinin (% 42.5) saf halde, 23'ünün (% 57.5) *S.pneumoniae* ve *H.influenzae* ile birlikte bulunduğunu; Nicolas ve ark. (18), akut veya kronik akciğer enfeksiyonu olan toplam 40 hastanın 7'sinden (% 17.5) *M.catarrhalis* izole ettiğini ve izolatların hepsinin miks halde bulunduğunu bildirmişlerdir.

Tarafımızdan izole edilen *M.catarrhalis* suşlarının 9/10'unda (% 90) beta laktamaz aktivitesi bulunduğu, bu izolatların penisilin ve ampisiline dirençli, test edilen diğer antibiyotiklere duyarlı olduğu saptanmıştır. Beta laktamaz üretmeyen diğer suş ise tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. Wallace ve ark. (19), *M.catarrhalis* suşları arasında beta laktamaz üretimini ilk kez 1976'da saptamış, bu tarihten önce mikroorganizmanın tüm antibiyotiklere duyarlı olduğunu bildirmiştir. Ejlersen ve ark. (20), alt solunum yolu enfeksiyonu bulunan çocuklardan izole ettiği *M.catarrhalis* izolatlarında beta laktamaz aktivitesini araştırmış ve beta laktamaz üreten *M.catarrhalis* izolatlarının 1986'da % 55.6 iken 1989'da % 89.1'e yükseldiğini, böylece beta laktamaz prevalansının Avrupada da Amerika

seviyesine ulaştığını bildirmiştir. Davies ve Maesen (2), 1977'de balgam kültürlerinden % 5, 1980'de % 16, 1989'da % 26 M.catarrhalis izole ettiğini, bu izolatlarda beta laktamaz aktivitesinin 1980'de % 7 iken giderek yükseldiğini ve 1985'de % 63'e ulaştığını vurgulamaktadır. Deorn ve Tubert (12), Jorgensen ve ark. (21) ve Powell ve ark. (22) yaptıkları benzeri çalışmalarda M.catarrhalis suşları arasında beta laktamaz üretim oranını sırası ile % 78.4, % 84.1 ve % 80.1 olduğunu bildirmektedirler. M.catarrhalis'in vankomisin ve trimetoprim gibi küçük bir grup antibiyotige karşı doğal dirence sahip olduğu bildirilmiştir (19). Yapılan prospektif çalışmalar 1976'lara kadar bu mikroorganizmada kazanılmış direnç saptanmadığını ancak 1976'dan sonra, penisilin, ampisilin ve amoksisiline karşı, İspanya'da aminoglikozidlere ve trimetoprim-sulfametaksazole karşı direnç geliştiğini bildirmektedir (19, 24). Benzeri bir çalışmada M.catarrhalis suşlarının tamamının klindamisin ve trimetoprim-sulfametaksazolün serum konsantrasyonları ile inhibe olduğu açıklanmıştır (25).

İzole ettiğimiz M.catarrhalis izolatlarının BRO beta laktamaz enzimleri Lumen ve ark.'ın (13) yöntemi ile incelenmiş ve beta laktamaz üreten 9 izolatın 8'inin BRO₁, 1'inin BRO₂ tipi beta laktamaz enzimi taşımakta olduğu düşünülmüştür. Bu konuda yapılan değişik çalışmalarda beta laktamaz üreten M.catarrhalis suşlarının yaklaşık % 90'ında BRO₁, % 10'unda BRO₂ enziminin bulunduğu saptanmıştır (6, 19). Christensen ve ark. (26), 33 beta laktamaz üreten M.catarrhalis suşunun 28'inde (% 84.8) BRO₁, 2'sinde (% 6.1) BRO₂ ve 3'ünde (% 9.1) BRO₃ enzimi saptadıklarını, BRO₃ üreten suşların beta laktamaz üretimlerinin çok zayıf olmasına bağlı olarak normal elektroforez yöntemi ile saptanmasının mümkün olmadığını bildirmektedir.

Sonuç olarak, özellikle ileri yaşlarda ve KOAH, kronik bronşit gibi temel kardiopulmoner hastalığı olan kişilerde, M.catarrhalis'in önemli bir patojen olarak bulunacağının hatırlanması, bu örneklerin M.catarrhalis yönünden de incelenmesi, beta laktamaz aktivitesinin saptanması ve uygun antibiyotik sağaltımının başlanması tedavide de başarı oranını yükseltecektir.

KAYNAKLAR

1. Catlin BW: Branhamella catarrhalis: an organism gaining respect as a pathogen. Clin Microbial Rev 1990, 3: 293-320.
2. Davies BI, Maesen FP: The epidemiology of respiratory tract pathogens in Southern Netherlands. Eur Respir J 1988, 1: 415-420.
3. Di Giovanni C, Riley T, Hoyne GF, et al: Acute otitis media caused by Branhamella catarrhalis: epidemiological data from Western Australia. Epidem Infect 1987, 99, 445-453.
4. Vaneechoutte M, Verschagen G, Claeys G, et al: Respiratory tract carrier rates of Moraxella (Branhamella) catarrhalis in adults and children and interpretation of the isolation of M.catarrhalis from sputum. J Clin Microbiol 1990, 28: 2674-2680.
5. Sarrubbi FA, Myers JW, Williams JJ, et al: Respiratory infections caused by Branhamella catarrhalis. Am J Med 1990, 88 (Suppl 5A): 9s-14s.
6. Wallace RJ, Steingrube VA, Nash DR, et al: BRO Beta-Lactamases of Branhamella catarrhalis and Moraxella subgenus Moraxella, including evidence for chromosomal beta-lactamase transfer by conjugation in B.catarrhalis, M.nonliquefaciens, and M.lacunata. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1989, 33: 1845-1854.

7. Cazzola M, Ariano R, Giola V, et al: Bacterial isolates in cigarette smoking patients with chronic bronchitis: Results from an Italian multicenter survey. *Clinical Therapeutics* 1990, Oct, 105-107.
8. Nicota B, Rivera M, Luman JI, et al: Branhamella catarrhalis as a lower respiratory tract pathogen in patients with chronic lung disease. *Arch Intern Med* 1986, 146: 890-893.
9. Pollard JA, Wallace RJ, Nash DR, et al: Incidence of Branhamella catarrhalis in the sputa of patients with chronic lung disease. *Durg.* 1986, 31 (Suppl. 3): 103-108.
10. Wright PW, Wallace RJ, Shepherd JR: A Descriptive study of 42 cases of Branhamella catarrhalis pneumonia. *Am J Med* 1990, 88 (Suppl 15A): 2s-8s.
11. Ainsworth SM, Nagy SB, Morgan LA, et al: Interpretation of Gram-stained sputa containing Moraxella (Branhamella) catarrhalis. *Clin Microbiol* 1990, 28: 2559-2560.
12. Doern GV, Tubert TA: Detection of beta-lactamase activity among clinical isolates of Branhamella catarrhalis with six different beta-lactamase assay. *J Clin Microbiol* 1987, 25 (8): 1380-1383.
13. Luman I, Wilson RW, Wallace RJ, et al: Disk Diffusion Susceptibility of Branhamella catarrhalis and relationship of beta-lactam zone size to beta-lactamase production. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1986, 30 (5): 774-776.
14. Higgins ITT: Epidemiology of bronchitis and emphysema. p. 1237-1246. In: Fishman AP, Pulmonary Diseases and Disorders. 2nd ed. 1988, McGraw-Hill, New York.
15. Marcy TW, Merrill WW: Cigarette smoking and respiratory tract infections. *Clin Chest Med* 1987, 8: 381-391.
16. Hager H, Verghese A, Alvarez S, et al: Branhamella catarrhalis respiratory infections. *Rev Infect Dis* 1987, 9 (6): 1140-1149.
17. Konishi M, Sawaki M, Mikasa K, et al: Clinical study of respiratory infection due to Branhamella catarrhalis using transtracheal aspiration. *Nippon Kyobu Shikkan Gokkai Zosshi* 1992, 30 (5): 886-891.
18. Nicolas GM, Helmy MF, El Said MK, et al: Branhamella catarrhalis and respiratory tract infection. *J Egypt Public Health Assoc* 1991, 66 (1-2): 79-95.
19. Wallace RJ, Nash DR, Steingrube VA: Antibiotic susceptibilities and drug resistance in Moraxella (Branhamella) catarrhalis. *Am J Med* 1990, 88 (Suppl 5A): 46s-50s.
20. Ejlersen T, Schonheydes HC, Thisted E: Beta-lactamase production in Branhamella catarrhalis isolated from lower respiratory tract sections in Danish children: An increasing problem. *Infection*, 1991, 19 (5): 328-330.
21. Jorgensen JH, Doern GV, Maher LA, et al: Antimicrobial resistance among respiratory isolates of Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, and Streptococcus pneumoniae in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1980, 17 (1): 24-29.
22. Powell M, McVey D, Kassim MH, et al: Antimicrobial susceptibility of Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae and Moraxella (Branhamella) catarrhalis isolated in the UK from sputa. *J Antimicrob Chemother* 1991, 28 (2): 249-259.
23. Nasrallah HA, Freed WJ, Rogol A, et al: Pathogenicity and beta-lactamase production by Branhamella (Neisseria) catarrhalis. *Lancet* 1977, 3: 1175.
24. Robledano L, Rivera MJ, Otal I, et al: R. Enzymatic modification of aminoglycoside antibiotics by Branhamella catarrhalis carrying an R factor plasmid. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1987, 6 (3): 137-143.
25. Doern GV, Siebers KG, Hallick LM, et al: Antibiotic susceptibility of beta-lactamase producing strains of Branhamella (Neisseria) catarrhalis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1980, 17 (1): 24-29.
26. Christensen JJ, Keinding J, Schumacher H, et al: Recognition of a new Branhamella catarrhalis beta-lactamase, BRO₃. *J Antimicrob Chemother* 1991, 28 (5): 774-775.