

# Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Moraxella catarrhalis* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıklarının ve beta-laktamaz üretimlerinin izoelektrik odaklama yöntemi ile saptanması

## *Detection of antimicrobial susceptibilities and beta-lactamase production of Moraxella catarrhalis strains isolated from various clinical samples by isoelectric focusing*

Sinem Özdemir, Nevriye Gönüllü

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

İletişim / Correspondence: Nevriye Gönüllü Adres / Address : İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul Tel: 0212 4143000/22462 Fax: 0212 5861547 E-mail: nevrignonullu@yahoo.com

### ÖZET

Bu çalışmada, *Moraxella catarrhalis* kökenlerinin antibiyotiklere duyarlılık oranlarının saptanması ve BRO beta-laktamazların tanımlanması amaçlanmıştır. Çalışmamıza, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na gelen çeşitli klinik örneklerden (45 balgam, iki boğaz sürüntüsü, bir burun sürüntüsü, bir hemokültür ve bir endotraheal aspirat) izole edilen toplam 50 *M.catarrhalis* kökeni dahil edilmiştir. Suşların ampisilin, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, gentamisin ve siprofloksasine karşı duyarlılıkları, Clinical and Laboratory Standards Institute önerilerine göre agar dilüsyon yöntemi ile tespit edilmiştir. Beta-laktamaz enzimleri, izoelektrik odaklama yöntemi ile tiplendirilmiştir. *M.catarrhalis* suşlarının 47'sinde (%94), nitrocefın disk testi ile beta-laktamaz pozitifliği belirlenmiş; üç köken ise (%6) beta-laktamaz negatif bulunmuştur. Beta-laktamazların 41'i (%87.2) BRO-1, altısı (%12.8) BRO-2 olarak tiplendirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Moraxella catarrhalis*, antibiyotiklere duyarlılık, izoelektrik odaklama

### SUMMARY

In this study, we aimed to determine the prevalence of antimicrobial susceptibilities of *Moraxella catarrhalis* strains and the identification of BRO beta-lactamases. Our study included 50 *M.catarrhalis* strain isolated from various clinical samples (45 sputum, 2 throat smear, 1 nose leakage smear, 1 hemoculture, 1 endotracheal aspirate) in the Department of Microbiology and Clinical Microbiology of Cerrahpasa Faculty of Medicine. The antimicrobial susceptibilities of strains against ampicillin, cefuroxime, cefotaxime, ceftriaxone, erythromicine, clindamicine, tetracycline, gentamycin, ciprofloxacin were detected by the agar dilution method with the recommendations of Clinical and Laboratory Standards Institute. Moreover, beta-lactamases of *M.catarrhalis* strains were typed by isoelectric focusing method. Beta-lactamases positivity was detected in 47 (94%) of the *M.catarrhalis* strains by nitrocephin disc test. Three (6%) of the *M. catarrhalis* strains showed no beta-lactamases. 41 (87.2%) and six (12.8%) of the BRO beta-lactamases were identified as BRO-1 and BRO-2, respectively.

**Keywords:** *Moraxella catarrhalis*, antibiotic susceptibility, isoelectric focusing

### GİRİŞ

*Moraxella catarrhalis*, uzun bir süre normal boğaz kommensali olarak kabul edilmiştir. Ancak 1980'lerin başından itibaren önemli bir insan patojeni olarak kabul edilmeye başlanmıştır (1,2,3). Bakteri tarafından meydana getirilen en yaygın enfeksiyonlar, otitis media, sinüzit, akut bronşit ve kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOA)

olan hastalarda bronkopnömonidir (3). KOAH alevlenmelerinde ikinci, otitis media ve sinüzit vakalarında ise üçüncü en sık rastlanan patojendir (4). *M.catarrhalis* enfeksiyonlarında penisilinler tercih edilmekteyken, ilk olarak 1977 yılında beta-laktamaz üreten bir suş tanımlanmıştır (5). Beta-laktamaz enzimi bakteriyi beta-laktam antibiyotiklerden korumak dışında, enfeksiyona eşlik eden *Streptococcus pneumoniae* gibi solunum yo-

lu patojenlerinin tedavisini engelleyerek, dolaylı yolla patojeniteyi artırmaktadır (6). Bu durum Hol ve ark. (7) tarafından doğrulanmıştır. Beta-laktamaz prevalansında en hızlı artışın saptandığı mikroorganizma *M.catarrhalis* olup, bugün için kökenlerin %90'ından fazlasında beta-laktamaz üretimi saptanmaktadır (8). *M.catarrhalis* suşlarında, klinik olarak önemli iki BRO beta-laktamaz geni bulunmaktadır. BRO-1 ve BRO-2 olarak adlandırılan bu iki genin aynı kromozomda yer aldığı ve aralarında sadece beş baz farkı olduğu tespit edilmiştir (6). *M.catarrhalis*'in beta-laktamazları izoelektrik odaklama (IEF) paternleri baz alınarak birbirlerinden ayrılmıştır (3). En yaygın patern, daha önce Ravasio tipi olarak adlandırılan BRO-1'dir (9). Hem Avrupa hemde Amerika'da beta-laktamaz üreten suşların yaklaşık %90'ında bulunmaktadır (10,11,12). Christensen ve ark. (13) tarafından yapılan bir çalışmaya göre de suşların yaklaşık %10'u daha önce 1908 rakamı ile adlandırılan ve farklı bir izoelektrik paternine sahip olan BRO-2 tipi enzimlerine sahiptir. Diğer olası üçüncü bir tip ise; sadece papain ile muamele edilmiş olan hücre ekstratlarından elde edilen ve izoelektrik jelde tespit edilebilen BRO-3 olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte Steingrube ve ark. (14), bunu farklı bir enzimden ziyade membrana bağlı bir prekürsör molekül olarak kabul etmişlerdir. BRO-1 beta-laktamaz içeren suşlardaki penisilin direnci, genellikle BRO-2 üreten suşlardan daha yüksek olmaktadır (15). *M.catarrhalis*'in bazı kökenleri, BRO-2 beta-laktamazların varlığı nedeniyle beta-laktamaz pozitif olmalarına rağmen ampisiline düşük direnç gösterebilmektedir. *M.catarrhalis* taşıyıcılığının yüksek olduğu çocuklarda, üst solunum yolu infeksiyonlarına daha sık rastlanıldığı için, *M.catarrhalis* kökenlerinin beta-laktamaz tiplendirilmesi önem taşımaktadır (5).

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *M.catarrhalis* kökenlerinin, çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılığının saptanması ve bu kökenlerin BRO-1 ve BRO-2 enzimlerinin izoelektrik odaklama yöntemi ile tanımlanması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Eylül 2005 ve Mart 2006 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na gelen çeşitli klinik örneklerden (45 balgam, iki boğaz sürüntüsü, bir burun sürüntüsü, bir hemokültür, bir ETA) izole edilen 50 *M.catarrhalis* kökeni incelenmiştir. Bakterileri tanımlamak amacı ile standard mikrobiyolojik yöntemler ve API NH sistemi kullanılmıştır.

İncelenen suşların ampisilin, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, eritromisin, tetrasiklin, siprofloksasin ve gentamisine karşı MİK değerleri Müller-Hinton agar besiyerinde inokulum replikatörleri kullanılarak agar dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Duyarlılık deneylerinde *E.coli* ATCC 25922 ve *S.aureus* ATCC 29213 standard kökenleri kullanılmıştır.

Ampisilin, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, tetrasiklin, gentamisin ve siprofloksasin duyarlılık testlerinin değerlendirilmesinde, Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) tarafından *Enterobacteriaceae* ailesi için belirlenen MİK sınır değerleri, eritromisin ve klindamisin duyarlılık testlerinin değerlendirilmesinde ise *Staphylococcus aureus* için belirlenen MİK sınır değerleri kullanılmıştır (16). *M.catarrhalis* olarak tanımlanan 50 suşta beta-laktamaz varlığı, nitrofein disk testi (Remel, Lenexa, Kansas, USA) ile araştırılmıştır. Kökenlerin salgıladıkları beta-laktamazların tiplendirilmesinde IEF yöntemi kullanılmıştır. IEF, Mathew ve arkadaşlarının yönteminden (17) modifiye edilmiş yöntem ile yapılmıştır (18). Bu amaçla triptik soy agarda (TSA) üremiş bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden 3-4 koloni alınarak 150 ml triptik soy buyyon içinde (TSB), 35°C'de etüvde 18 saat inkübe edilmiştir. 4000 rpm'de 30 dakika santrifujlenerek, üst sıvı atılmıştır. Bakteri çökeltisi 750 µl %1 glisin içinde süspanse edilmiş ve sonikatörde (Bandelin Sonorex) hücre duvarları parçalanarak beta-laktamaz enzimleri elde edilmiştir. Sonikatlar 14 000 rpm'de 4°C'de 30 dakika santrifuj edilmiş ve beta-lakta-

maz içeren üst sıvıları alınmıştır. Enzim ekstraktları amfolit (pH: 3-9, Sigma) içeren poliakrilamid jelde izoelektrik nokta tayini cihazında (Model 111 Mini IEF Cell, Biorad) 1. aşamada 15 dakika 100 V, 2. aşamada 15 dakika 200 V ve 3. aşamada 60 dakika 450 V'ta yürütülmüştür. Elektroforez işleminin sonunda, enzim bantlarının görüntülenmesi amacıyla jelin üzerine filtre kağıdına emdirilmiş nitrosefin çözeltisi (1.46 mg nitrosefin tozu, 250 µl dimetilsulfoksit ve 4.75 ml pH 7 fosfat buffer) temas ettirilmiştir. Kontrol olarak IEF Standard proteinleri (Biorad) ve TEM-1 (pI 5.4), TEM-8 (pI 5.9), SHV-3 (pI 7), CMY-1 (pI 8) ve CMY-2 (pI 9) kontrol suşları kullanılmıştır.

BRO-1 için 5.8, 6.4 ve 6.7, BRO-2 için ise 6.5 ve 7.5 izoelektrik noktaları tanımlanmıştır (15).

## BULGULAR

İzole edilen suşların 47'sinde (%94), nitrosefin disk testi ile beta-laktamaz varlığı saptanmıştır. Suşların 3'ünde (%6) ise beta-laktamaz varlığı saptanmamıştır.

47 *M.catarrhalis* suşununun 41'inde (%87.2) BRO-1, 6'sında (%12.8) BRO-2 enziminin varlığı bulunmuştur. Hiçbir kökende hem BRO-1 hemde BRO-2'ye rastlanmamıştır. Beta-laktamaz negatif olan suşlarda hiçbir bant görülmemiştir.

50 *M.catarrhalis* kökeninin çeşitli antibiyotiklere karşı MİK sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

*Enterobacteriaceae* ailesi ve *Staphylococcus aureus* için belirlenen CLSI MİK sınır değerlerine göre, 50 *M.catarrhalis* kökeninin ampisilin, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, eritromisin, tetrasiklin, gentamisin ve siprofloksasine karşı direnç saptanmamıştır. Suşların üçünde (%6) klindamisine karşı orta derecede duyarlılık tespit edilmiştir. *Haemophilus influenzae* için belirlenen MİK değerleri göz önünde alınırca, kökenlerin sadece ikisi (%4) ampisiline orta derecede duyarlı olduğu saptanmıştır.

## TARTIŞMA

*M.catarrhalis* suşlarındaki beta-laktamaz üretimi, beta-laktam antibiyotiklerin kullanımı ile artmıştır (19). İlk beta-laktamaz pozitif kökenler 1977 yılında İngiltere'de bildirilmiş ve o tarihten sonra hızla yayılmıştır (20).

Amerika'da 1987-1988 yıllarında kökenlerin %84.1'i beta-laktamaz üretirken, 1992-1993'te bu oran %92'ye, 1995'te %95.3'e yükselmiştir (21). Amerika ve İngiltere'deki bazı laboratuvarlarda beta-laktamaz üretiminin prevalansı %100'e ulaşmıştır (5). Bu sebepten dolayı penisilinlerin tedavide hiçbir rolü bulunmamakta ve bu enzimleri üreten kökenler bazı beta-laktamları inaktive ederek, karışık infeksiyonların tedavisinde başarısızlığa neden olmaktadır. *M.catarrhalis* suşlarının antibiyotiklere duyarlılık durumu, beta-laktamaz varlığı veya yokluğuna göre değerlendirilmelidir.

Bazı klinik çalışmalarda, *M.catarrhalis* ile infek-

Tablo 1. 50 *M.catarrhalis* kökenlerinin çeşitli antibiyotiklere karşı MİK dağılımı, MİK aralığı, MİK50 ve MİK90 değerleri

Antibiyotikler	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	MİK aralığı	MİK 50	MİK 90
Ampisilin	3	5	3	4	6	22	5	2	0,015-2	0,5	1
Sefuroksim							9	41	1-2	2	2
Sefotaksim		4	8	9	8	16	5		0,03-1	0,25	0,5
Seftriakson							50		1	1	1
Eritromisin		19	12	15	1	3			0,03-0,5	0,06	0,12
Klindamisin		3	4	5	25	10	2	1	0,03-2	0,25	0,5
Tetrasiklin			2	6	12	22	8		0,06-1	0,5	1
Gentamisin			3	16	19	7	5		0,06-1	0,25	0,5
Siprofloksasin		19	25	3	2		1		0,03-1	0,06	0,12

te hastalar amoksisiline başarılı bir şekilde tedavi edilmişlerdir. Ancak bu görüşün tam tersini savunan çalışmalar da vardır. Bu tartışmalara son vermek amacıyla, tüm *M.catarrhalis* suşlarının penisiline, ampisiline, amoksisiline ve piperasiline dirençli olduğu kabul edilmiştir (8).

Bandak ve ark. (22) tarafından yapılan ve 15 ülkeyi kapsayan bir çalışmada, 1486 *M.catarrhalis* suşunda ampisilin MİK<sub>90</sub> değeri 4 µg/ml olarak bulunurken, amoksisilin-klavulanat, sefaklor, lorakarbef, sefuroksim, azitromisin ve siprofloksasinin MİK<sub>90</sub> değerleri düşük seviyelerde tespit edilmiştir.

Kadry ve ark. (23) 2002 yılında yayınlanan çalışmalarında, 76 *M.catarrhalis* kökeninin 69'unun (%90.8) beta-laktamaz ürettiğini tespit etmişlerdir. IEF yöntemi ile kökenlerin 60'ının (%87) BRO-1, 9'unun (%13) ise BRO-2 ürettiği görülmüştür. Beta-laktamaz üreten 69 kökenin penisilin, ampisilin ve sefalotine dirençli olduğu tespit edilmiş, BRO-1 üreten suşlar BRO-2 üreten suşlara oranla daha dirençli bulunmuştur .

Tayvan'da 2002 yılında yapılan bir çalışmada, *M.catarrhalis* kökenlerinin çeşitli beta-laktamaz tiplerinin prevalansı incelenmiştir. 1993-1995 yılları arasında 12 büyük laboratuvarından toplanan 271 klinik *M.catarrhalis* suşunun 266'sı (%98.2) beta-laktamaz pozitif bulunmuştur. IEF yöntemi ile de kökenlerin %88'i BRO-1, %12'i ise BRO-2 enzimi ürettiğini bulunmuştur. BRO-1 üreten suşlar için ampisilinin MİK değeri beta-laktamaz negatif kökenlere göre 63 kat, BRO-2 üretenlere göre de 6.5 kat daha fazla bulunmuştur (24).

Ülkemizde Gazi ve ark. (25) *M.catarrhalis* suşlarında %82.5 oranında beta-laktamaz üretimi, suşların %7.5'ini trimetoprim-sulfametoksazole, %2.5'ini de eritromisin, azitromisin ve klindamisine dirençli olarak tespit etmişlerdir.

Köseoğlu ve ark. (26) tarafından yapılan bir çalışmada *M.catarrhalis* kökenlerinin beta-laktamaz pozitifliği %89, ampisilin direnci %18.8 olarak bulunurken, amoksisilin/klavulanat, sefazolin, sefaklor, azitromisin ve siprofloksasine direnç sap-

tanmamıştır. Aynı çalışmada izole edilen suşların 57'sinde (%89) nitrosefin disk testi ile beta-laktamaz varlığı saptanmıştır. Bu 57 kökende BRO beta-laktamaz varlığı restriksiyon enzim analizi ile de gösterilmiş, bunların 47'sinin (%73.4) BRO-1, 10'unun (%15.6) BRO-2 geni taşıdığı bulunmuştur, kökenlerin yedisinde ise (%11) BRO beta-laktamaz varlığı saptanmamıştır.

Çalışmamızda 50 *M.catarrhalis* kökeninde ampisilin, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, eritromisin, tetrasiklin, gentamisin ve siprofloksasine karşı direnç saptanmamıştır. Suşların üçünde (%6) klindamisine karşı orta derecede duyarlılık tespit edilmiştir. IEF ile tiplendirdiğimiz 47 *M.catarrhalis* suşunun 41'inde (%87.2) BRO-1, altısında BRO-2 (%12.7) beta-laktamaz enzimi tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ülkemizde yapılan çalışmaların sonuçlarıyla ve farklı ülkelerdeki benzer çalışmalarla uyumlu olarak bulunmuştur.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında nitrosefin disk testi ile beta-laktamaz tespiti kolaylığı bakımından çok tercih edilen bir yöntem olmasına rağmen, IEF ile BRO beta-laktamazların tiplendirilmesi güvenilir bir yöntem olarak kullanılmalıdır. Ayrıca, *M.catarrhalis*'in antibiyotik duyarlılığı ve BRO beta-laktamazların epidemiyolojisi ülke çapında yapılan çalışmalar ile izlenmelidir. *M.catarrhalis*'in izolasyon sıklığının ve antibakteriyel direnç oranlarının periyodik olarak belirlenmesi, epidemiyolojik açıdan veri toplanması, klinisyenlerin ampirik antibiyotik tedavi vermeleri gerektiğinde en uygun stratejiyi belirleyebilmele-ri açısından yararlı olacaktır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından, T-903/02062006 no'lu proje ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Morgan MG, McKenzie H, Enright MC, Bain M, Emmanuel FXS. Use of molecular methods to characterize *M.catarrhalis* strains in a suspected outbreak of nosocomial infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1992; 11:305-312.

2. Karalus R, Campagnari A. *M.catarrhalis*. A review of an important human mucosal pathogen. *Microbes Infect* 2000; 2: 547-559.
3. Wallace RJ, Steingrube VA, Nash DR, Hollis DG, Flanagan C, Brown BA, Labidi A, Weaver RE. BRO  $\beta$ -lactamases of *B.catarrhalis* and *Moraxella* subgenus *Moraxella*, including evidence for chromosomal  $\beta$ -lactamase transfer by conjugation in *B.catarrhalis*, *M.nonliguefaciens*, and *M.lacunata*. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1845-1854.
4. Enright MC, McKenzie H. *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*-clinical and molecular aspects of a rediscovered pathogen. *J Med Microbiol* 1997; 46: 360-371.
5. Mc Gregor K, Chang BJ, Mee BJ, Riley TV. *Moraxella catarrhalis*. Clinical significance, antimicrobial susceptibility and BRO beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 7: 219-234.
6. Bootsma HJ, Dijk HV, Verhoef J, Fleer A, Mooi FT. Molecular characterization of the BRO beta-lactamase of *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 966-972.
7. Hol C, Van Dijke EE, Verduin CM, Verhoef J, Van Dijk H. Experimental evidence for *Moraxella*-induced penicillin neutralization in pneumococcal pneumonia. *J Infect Dis* 1994; 170: 1613-1616.
8. Verduin CM, Hol C, Fleer A, Dijk H, Belkum A. *Moraxella catarrhalis*: From emerging to established pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 125-144.
9. Farmer T, Reading C.  $\beta$ -lactamases of *Branhamella catarrhalis* and their inhibition by clavulanic acid. *Antimicrob Agents Chemother* 1982; 21: 506-508.
10. Fung CP, Yeo SF, Livermore DM. Susceptibility of *Moraxella catarrhalis* isolates to  $\beta$ -lactam antibiotics in relation to B-lactamase patterns. *J Antimicrob Chemother* 1994; 3: 215-222.
11. Nash DR, Wallace RJ, Steingrube VA, Shurin PA. Isoelectric focusing of beta-lactamases from sputum and middle ear isolates of *Branhamella catarrhalis* recovered in the United States. *Drugs* 1986; 31(Suppl 3): 47- 53.
12. Philippon A, Riou JY, Guibourdenche M, Stolongo F. Detection, distribution and inhibition of *Branhamella catarrhalis*  $\beta$ -lactamases. *Drugs* 1986; 31(Suppl 3): 64-69.
13. Christensen JJ, Keiding J, Suchomacher H, Bruun B. Recognition of a new *Branhamella catarrhalis*  $\beta$ -lactamase BRO-3. *J Antimicrob Chemother* 1991; 28: 774-775.
14. Steingrube VA, Wallace RJ, Beaulieu D. A membrane bound precursor  $\beta$ -lactamase in strains of *Moraxella catarrhalis* and *Moraxella nonliguefaciens* that produce periplasmic BRO-1 and BRO-2 B-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31: 237-244.
15. Richter SS, Winokur PL, Brueggemann AB. Molecular characterization of the beta-lactamases from clinical isolates of *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis* obtained from 24 US medical centers during 1994-1995 and 1997-1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 444-446.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Informational Supplement: M 100-516, Wayne, Pennsylvania, USA 2006.
17. Mathew M, Harris A, Marshall M, Ross G. The use of analytical isoelectric focusing for detection and identification of beta-lactamases. *J Gen Microbiol* 1975; 88: 169-178.
18. Bauernfeind A, Grimm H, Schweighart S. A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infection* 1990; 18: 294-298.
19. Peerbooms PG, Engelen MN, Stokman DA, van Benthem BH, van Weert ML, Bruisten SM, van Belkum A, Coutinho RA. Nasopharyngeal carriage of potential bacterial pathogens related to day care attendance, with special reference to the molecular epidemiology of *Haemophilus influenzae*. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2832-2836.
20. Luman I, Wilson RW, Wallace RJ, Nash DR. Disk diffusion susceptibility of *Branhamella catarrhalis* and relationship of  $\beta$ -lactam zone size to  $\beta$ -lactamase production. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30: 774-776.
21. Doern GV, Brueggemann AB, Pierce G, Hogan T, Holley HP, Rauch A. Prevalence of antimicrobial resistance among 723 outpatient clinical isolates of *M.catarrhalis* in the USA in 1994 and 1995: results of a 30-center National surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 2884-2886.
22. Bandak SI, Turnak MR, Allen LD, Bonzon LD, Preston DA, Bouchillon SK, Hoban DJ. Antibiotic susceptibilities among recent clinical isolates of *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* from fifteen countries. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 55-60.
23. Kadry AA, Elkhizzi NA, Shibl AM. Correlation between susceptibility and BRO type enzyme of *Moraxella catarrhalis* strains. *Intern Antimicrob Agents* 2002; 22: 532-536.
24. Fung CP, Lee SC, Liu PY, Jang TN, Wong FD, Kuo BI, Liu CY, Liu YC. Beta-lactam resistance and beta-lactamase isoforms of *Moraxella catarrhalis* isolates in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 1998; 97: 453-457.
25. Gazi H, Vural Ş, Sürücüoğlu S, Kurtepe S, Şakar A, Özbakkaloğlu B. Toplum kökenli alt solunum yolu enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis*'in in vitro antibiyotik duyarlılıkları. *Kocatepe Tıp Derg* 2006; 7: 57-66.
26. Köseoğlu Ö, Ergin A, Gürkan Aydın N, Haşçelik G. Taşıyıcı çocuklardan izole edilen *Moraxella catarrhalis* suşlarında BRO beta-laktamazların moleküler tiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bül* 2004; 38: 335-340.