

NACIONALNO SPREMLJANJE ODPORNOSTI PRI SEVIH BAKTERIJE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* IZ DIHAL V SLOVENIJI V LETU 2003

NATION-WIDE SURVEILLANCE OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* STRAINS FROM RESPIRATORY TRACT, SLOVENIA, 2003

Helena Ribič¹, Iztok Štrumbelj², Tatjana Franko-Kancler³, Tjaša Žohar Čretnik⁴,
Ljudmila Sarjanovič⁵, Irena Grmek Košnik¹, Martina Kavčič⁶, Tatjana Harlander⁷

Prispelo: 7. 1. 2005 - Sprejeto: 3. 2. 2005

Izvirni znanstveni članek
UDK 616.9

Izveleček

Namen: Pri sevih bakterijske vrste *Haemophylus influenzae*, osamljenih iz dihal v letu 2003, so avtorji ugotavljali delež odpornih sevov.

Metode: V letu 2003 so v osmih slovenskih mikrobioloških laboratorijih iz kužnin dihal osamili 746 sevov *H. influenzae*. Vsem sevom so z metodo difuzije antibiotika v agarju z diski določili občutljivost za sedem do deset izbranih antibiotikov. Da bi določili tvorbo encimov laktamaz beta, so vse seve testirali s kromogenim nitrocefinskim testom.

Rezultati: Vsi sevi, ki so jih testirali z levofloksacinom, moksifloksacinom in cefotaksimom, so bili za našete antibiotike občutljivi. Proti ampicilinu je bilo odpornih 12,7 % sevov: encime laktamaze beta je tvorilo 12,3 % sevov, 0,4 % je bilo sevov BLNAR (angl.: beta-lactamase negative-ampicillin resistant). Proti amoksicilinu s klavulansko kislino je bilo odpornih 0,5 % sevov, proti cefakloru 0,8 %, proti trimetoprimu s sulfametoksazolom 13,3 %, proti tetraciklinu 0,9 %, proti azitomicinu 0,1 % in proti cefuroksimu 0,5 %. Ugotovili so velike razlike v odpornosti sevov med regijami in manjše razlike pri različno starih preiskovanih bolnikih.

Zaključek: Spremljanje odpornosti bakterij iz dihal je ključno za ugotavljanje prevalence odpornih sevov, določanje trendov odpornosti in je osnova za spremembe priporočil za izkustveno zdravljenje okužb dihal. V letu 2003 je v primerjavi z letom 2002 opaziti trend naraščanja odpornosti sevov *H. influenzae* proti ampicilinu.

Ključne besede: *Haemophylus influenzae*, antibiotiki, odpornost, dihal

Original scientific article
UDC 616.9

Abstract

Objective: The authors determined the rate of antimicrobial resistance of *Haemophylus influenzae* strains isolated from the respiratory tract.

Methods: In 2003, 746 *H. influenzae* strains were isolated from respiratory specimens in eight Slovene microbiological laboratories. The susceptibility of isolates to seven to ten antibiotics was tested by the disk susceptibility method, and the production of beta lactamase enzymes was determined using chromogenic nitrocephin.

Results: All the strains tested were susceptible to levofloxacin, moxifloxacin and cefotaxime. The rate of resistance to ampicillin was 12.7%: beta-lactamase enzyme was produced in 12.3% of strains, and 0.4% of strains were beta-lactamase negative-ampicillin resistant (BLNAR strains). The rate of resistance to amoxicillin and clavulanic acid was 0.5%, to cefaclor 0.8%, to trimethoprim-sulfamethoxazole 13.3%, to tetracycline 0.9%, to azitromycin 0.1% and to cefuroxime 0.5%. Notable differences in resistance rates were found between individual geographical areas and patient age groups.

¹Zavod za zdravstveno varstvo Kranj, Gosposvetska 12, 4000 Kranj

²Zavod za zdravstveno varstvo Murska Sobota, Ulica arhitekta Novaka 2B, 9000 Murska Sobota

³Zavod za zdravstveno varstvo Maribor, Prvomajska 1, 2000 Maribor

⁴Zavod za zdravstveno varstvo Celje, Ipavčeva 18, 3000 Celje

⁵Zavod za zdravstveno varstvo Nova Gorica, Vipavska cesta 13, 5000 Nova Gorica

⁶Zavod za zdravstveno varstvo Koper, Verdijeva ulica 11, 6000 Koper

⁷Zavod za zdravstveno varstvo Novo Mesto, Mej vrti 5, 8000 Novo Mesto

Kontaktni naslov: e-pošta: helena.ribic@zzv-kr.si

Conclusions: Surveillance of antibiotic susceptibility of respiratory bacteria plays a key role in assessing the prevalence of resistance and in tracking changes in antimicrobial susceptibility. On the basis of these data, modifications to the empirical therapy guidelines are made. In 2003, resistance of *H. influenzae* strains to penicillin increased in comparison to the previous year.

Key words: *Haemophilus influenzae*, antibiotics, resistance, respiratory tract

UVOD

Nalezljive bolezni so eden najpogostejših vzrokov obolevnosti in umrljivosti. Velik delež med njimi pripada okužbam dihal (1). Poleg visoke obolevnosti in umrljivosti predstavljajo okužbe dihal, kot so pljučnica in akutno poslabšanje kronične obstruktivne pljučne bolezni, tudi veliko finančno breme za državo, zdravstvo in za posameznika (1).

Haemophilus influenzae je pomemben povzročitelj okužb zgornjih in spodnjih dihal. Pogosto povzroča akutno vnetje srednjega ušesa in obnosnih votlin, pljučnico ter akutno poslabšanje kronične obstruktivne pljučne bolezni (2, 3). Odpornost povzročiteljev okužb na protimikrobna zdravila je globalni zdravstveni problem z vse večjimi razsežnostmi (4). Podobno kot pri drugih okužbah je odpornost povzročiteljev okužb na dihalih povezana z večjo obolevnostjo, z neuspešnim in podaljšanim zdravljenjem in nenazadnje z višjimi stroški zdravljenja (1, 4, 5).

Spremljanje odpornosti povzročiteljev okužb na lokalni, regionalni in nacionalni ravni je potrebno, da ocenimo stanje, da zaznamo spremembe v odpornosti mikrobov v času ter kraju in pravočasno ustrezno ukrepamo (1, 6, 7). Medtem ko so podatki na nacionalni ravni potrebni za splošno oceno stanja in za spremljanje trendov, pa so lokalni in regionalni podatki nujni za preverjanje in morebitno spreminjanje priporočil za izkustveno zdravljenje okužb (1, 6, 7, 8, 9).

S spremljanjem odpornosti bakterije *H. influenzae* smo v Sloveniji na nacionalni ravni začeli leta 2002 (10). Pri tem sodeluje osem mikrobioloških laboratorijev, ki prejemajo vzorce iz ambulant in regionalnih bolnišnic devetih regij Slovenije: ljubljanske, mariborske, celjske, kranjske, novogoriške, kopske, novomeške, murskosoboške in deloma ravske.

Namen prispevka je prikazati rezultate spremljanja odpornosti sevov *H. influenzae* iz dihal v letu 2003 in ugotoviti morebitne spremembe v deležu odpornosti v primerjavi z letom 2002.

MATERIALI IN METODE

Analiza rezultatov spremljanja odpornosti sevov *H. influenzae* iz dihal je nadaljevanje spremljanja

odpornosti te bakterije na nacionalni ravni, ki smo ga začeli v letu 2002. Pri spremljanju odpornosti sodeluje osem mikrobioloških laboratorijev, ki preiskujejo vzorce iz ambulant in regionalnih bolnišnic vseh regij Slovenije. Regije smo imenovali po kraju laboratorija: Ljubljana - IVZ RS (LJ), Maribor (MB), Celje (CE), Kranj (KR), Nova Gorica (NG), Koper (KP), Novo Mesto (NM) in Murska Sobota (MS). Laboratorij v Mariboru prejema vzorce iz mariborske in ravske regije.

V raziskavo smo vključili 746 sevov *H. influenzae*, ki smo jih v sodelujočih laboratorijih osamili pri rednem delu. Identifikacijo sevov smo v laboratorijih izvajali po standardni metodi (11). Sevov nismo tipizirali. Občutljivost za izbrane antibiotike smo pri vseh izoliranih sevih določili z metodo difuzije antibiotika v agarju z diski po priporočilih ameriške komisije NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), pri nekaterih mejnih in nejasnih rezultatih pa smo uporabili kvantitativno metodo določanja minimalne inhibicijske koncentracije (MIK) z E-testi po navodilih proizvajalca (AB Biodisk, Solna, Švedska), (12, 13). Tvorbo encimov laktamaz beta smo pri vseh sevih določili s kromogenim nitrocefinskim testom (12). Nadzor kakovosti antibiograma smo redno izvajali s standardnimi kontrolnimi sevi *H. influenzae* ATCC 49247, ATCC 49766 in ATCC 10211 (13).

Vse seve z neobičajnim ali redkim fenotipom odpornosti smo v sodelujočih laboratorijih shranili na temperaturi -70°C.

REZULTATI

V letu 2003 smo osamili 746 sevov *H. influenzae*: 525 iz zgornjih dihal (363 iz nosu, 115 iz žrelnega predela, 47 iz ušesa) in 221 iz spodnjih dihal (144 iz izmečka, 75 iz aspiratov iz spodnjih dihal in 2 iz bronhoalveolarnega izpirka - BAL).

Največ sevov (318, 42,6 %) smo osamili pri otrocih, mlajših od 5 let. Pri preiskovanih, starih 5 do 14 let, je bilo osamljenih 141 sevov (18,9 %), pri 15 do 49 let 104 (13,9 %) sevov in pri preiskovanih, starih 50 let ali več, 183 sevov (24,5 %).

Odpornost sevov za testirane antibiotike po regijah prikazujemo v tabeli 1. Proti ampicilinu je bilo odpornih 12,7 % sevov. Delež odpornih sevov se je razlikoval

med regijami: od 0 % v kranjski regiji do 18,2 % v ljubljanski regiji (slika 1). Odpornost proti ampicilinu, ki napoveduje tudi odpornost proti amoksicilinu, je bila pri 12,3 % sevov posledica tvorbe encimov laktamaz beta in pri 0,4 % sevov najverjetneje posledica spremenjenih vezavnih beljakovin na površini bakterijske celice (12, 14, 15). To so t.i. sevi BLNAR, ki smo jih zaznali s testiranjem antibiotika cefaklora (14). Po navodilih NCCLS so vsi sevi BLNAR odporni ne le proti ampicilinu in amoksicilinu, temveč tudi proti kombinacijam penicilina z zaviralcem laktamaz beta (npr. amoksicilin s klavulansko kislino), ter proti cefalosporinom prve in druge generacije (cefaklor, cefuroksim) (12). Seve BLNAR smo osamili v novogoriški, koprski in v celjski regiji. Delež proti ampicilinu odpornih sevov se je razlikoval tudi med različno starimi bolniki (slika 2). Najvišji je bil

v starostni skupini otrok, starih 0 do 4 let, in sicer 14,8 %. Pri bolnikih, mlajših od 1 leta, je bil delež proti ampicilinu odpornih sevov 12,8 %, pri eno leto starih 16 %, pri dve leti starih 13,6 %, pri tri leta starih 12 % in pri štiri leta starih 19 %.

Proti cefakloru je bilo odpornih 6 (0,8 %) in intermediarnih 5 (0,7 %) sevov. Proti trimetoprimu s sulfametoksazolom je bilo odpornih 13,3 % sevov *H. influenzae*. Odstotek je skoraj enak kot v letu 2002, ko je bilo odpornih 13,2 % sevov. Proti azitromicinu je bil odporen samo en sev, osamljen v celjski regiji. Azitromicin napoveduje občutljivost oziroma odpornost za klaritromicin (15). Vsi testirani sevi so bili občutljivi za cefotaksim, moksifloksacin in levofloksacin. Cefotaksim napoveduje tudi občutljivost oziroma odpornost za ceftriakson (15).

Tabela 1. Število testiranih sevov in delež proti antibiotikom odpornih ter intermediarnih sevov *H. influenzae* po regijah v letu 2003.

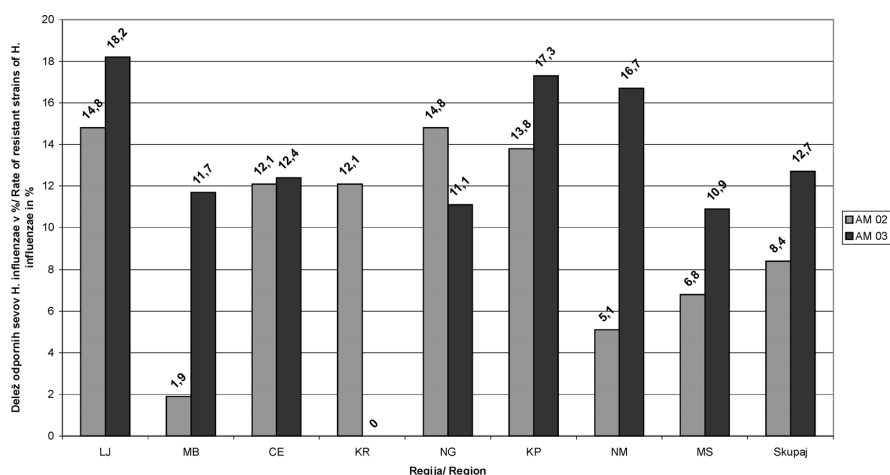
Table 1. Number of tested strains and proportion of antibiotic resistant and intermediately resistant strains of *H. influenzae* by regions, 2003.

	LJ			MB			CE			KR		
	N	"R" %	"I" %	N	"R" %	"I" %	N	"R" %	"I" %	N	"R" %	"I" %
ampicilin / ampicillin	33	18,2	0	205	11,7	0	153	12,4	0	17	0	0
amoksicilin/kla. amoxicillin/clav.	33	0	0	205	0	0	0	-	-	17	0	0
cefaklor / cefaclor	33	0	0	205	0	0	153	1,3	2,6	17	0	0
cefuroksim / cefuroxime	29	0	0	205	0	0	153	1,3	0	17	0	0
azitromicin / azitromycine	33	0	0	205	0	0	153	0,6	0	17	0	0
trimetoprim / sulfametoksazol trimethoprim / sulfamethoxazole	33	18,2	0	205	11,7	0	153	13,7	0	17	11,8	0
tetraciklin / tetracycline	33	0	6,1	205	0	0	153	0	0,6	17	0	0
cefotaksim / cefotaxime	29	0	0	205	0	0	129	0	0	17	0	0
levofloksacin / levofloxacin	25	0	0	107	0	0	129	0	0	6	0	0
moksifloksacin / moxifloxacin	25	0	0	107	0	0	128	0	0	6	0	0

	NG			KP			NM			MS			Skupaj/ total		
	N	"R" %	"I" %	N	"R" %	"I" %	N	"R" %	"I" %	N	"R" %	"I" %	N	"R" %	"I" %
ampicilin / ampicillin	54	11,1	0	127	17,3	0	36	16,7	0	121	10,7	0	746	12,7	0
amoksicilin/kla. / amoxicillin/clav.	54	1,8	0	127	0,8	0	36	2,8	0	121	0	0	593	0,5	0
cefaklor / cefachlor	54	1,8	1,8	127	0,8	0	36	5,5	0	121	0	0	746	0,8	0,7
cefuroksim / cefuroxime	54	1,8	0	125	0,8	0	36	0	0	121	0	0	740	0,5	0
azitromicin / azitromycine	54	0	0	127	0	0	36	0	0	121	0	0	746	0,1	0
trimetoprim / sulfametoksazol	54	13	0	127	18,1	0	36	5,5	0	121	11,6	0	746	13,3	0
trimethoprim / sulfamethoxazole															
tetraciklin / tetracycline	54	0	0	125	2,4	2,4	36	11,1	13,9	121	0	0	744	0,9	1,5
cefotaksim / cefotaxime	54	0	0	125	0	0	36	0	0	121	0	0	716	0	0
levofloksacin / levofloxacin	53	0	0	53	0	0	23	0	0	52	0	0	448	0	0
moksifloksacin / moxifloxacin	53	0	0	58	0	0	23	0	0	52	0	0	452	0	0

Legenda / Legend:

LJ Ljubljana, MB Maribor, CE Celje, KR Kranj, NG Nova Gorica, KP Koper, NM Novo Mesto, MS Murska Sobota, N število testiranih sevov / number of tested strains, »R« % odstotek odpornih sevov / percent of resistant strains, »I« % odstotek intermediarnih sevov / percent of intermediately resistant strains, kla. klavulanska kislina / clavulanic acid.



Slika 1. Delež proti ampicilinu odpornih sevov *H. influenzae* po regijah v letih 2002 (testiranih 680 sevov) in 2003 (testiranih 746 sevov).

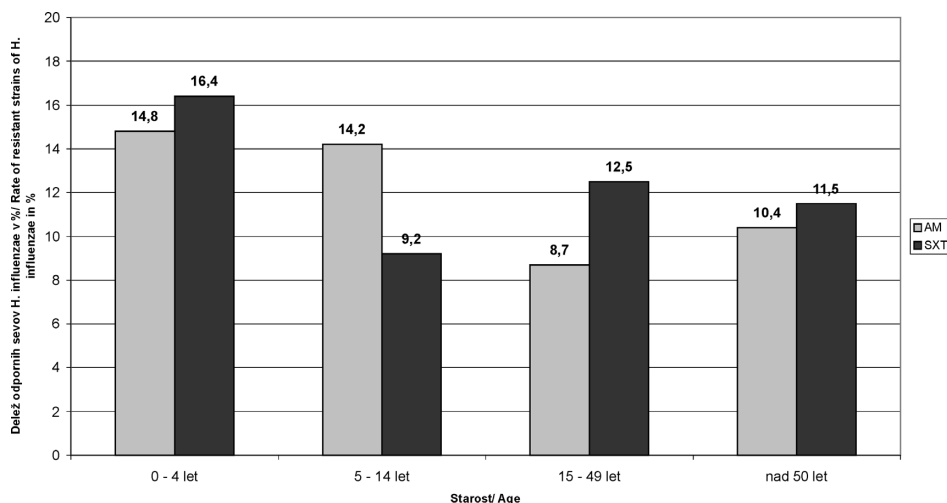
Figure 1. Percentage of *H. influenzae* strains resistant to ampicillin by region, in 2002 (680 strains tested) and 2003 (746 strains tested).

Legenda / Legend:

AM 02 ampicilin v letu 2002 / ampicillin in 2002,

AM 03 ampicilin v letu 2003 / ampicillin in 2003,

LJ Ljubljana, MB Maribor, CE Celje, KR Kranj, NG Nova Gorica, KP Koper, NM Novo Mesto, MS Murska Sobota.



Slika 2. Delež proti ampicilinu (amoksicilinu) in proti trimetoprimu s sulfametoksazolom odpornih sevov *H. influenzae* po starostnih skupinah v osmih regijah Slovenije v letu 2003.

Figure 2. Percentage of ampicillin (amoxicillin) - and trimethoprim-sulfamethoxazole-resistant strains of *H. influenzae*, by age groups, in eight regions in Slovenia, 2003.

Legenda / Legend:

AM ampicilin / ampicillin

SXT trimetoprim s sulfametoksazolom / trimethoprim-sulfamethoxazole.

RAZPRAVLJANJE IN ZAKLJUČKI

Podobno kot v letu 2002 smo tudi v letu 2003 pri sevih *H. influenzae* iz dihal ugotovili pomembno visok delež odpornosti le proti dvema izmed desetih testiranih antibiotikov: proti ampicilinu (12,7 %) in proti trimetoprimu s sulfametoksazolom (13,3 %) (10).

Delež proti ampicilinu odpornih sevov *H. influenzae* je iz 8,4 % v letu 2002 porasel na 12,7 % v letu 2003 (10). Delež je porasel v petih regijah: mariborski, novomeški, murskosoboški, koprski in ljubljanski regiji. Z izjemo kranjske regije, kjer med 17 osamljenimi sevi niso osamili proti ampicilinu odpornega seva, je bil delež odpornih sevov v vseh regijah višji kot 10 %. Odpornost proti ampicilinu in amoksicilinu je bila pri večini sevov (12,3 %) posledica tvorbe encimov laktamaz beta, trije sevi (0,4 %) pa so bili najverjetneje BLNAR. Delež odpornosti proti AMC in cefuroksimu sta bila nizka (pod 1 %), večina odpornih sevov je bila BLNAR. Proti cefakloru je bilo odpornih 6 sevov (0,8 %). Med njimi so bili trije sevi BLNAR, trije pa so izločali laktamazo beta. Tako so sevi BLNAR v Sloveniji, kot tudi sicer v svetu, redki, a z vidika ambulantnega zdravljenja okužb dihal pomembni, ker so odporni na večino peroralnih betalaktamskih antibiotikov (13, 16, 17).

Najvišji delež proti ampicilinu odpornih sevov je bil v starostni skupini od 0 do 4 let (14,8 %) in le malo nižji pri otrocih, starih od 5 do 14 let (14,2 %). Na delež odpornih sevov vplivajo različni dejavniki, med katerimi so najpomembnejši: poraba antibiotikov in njim podobnih učinkovin, učinkovitost izvajanja ukrepov za preprečevanje okužb in naključni genetski dejavniki (18). Ocenjujemo, da je visok delež odpornosti pri otrocih predvsem posledica porabe antibiotikov.

Odpornost sevov *H. influenzae* proti trimetoprimu s sulfametoksazolom je bila v letu 2003 13,3 %, podobno kot v letu 2002 (13,2 %). Tudi delež proti tetraciklinu odpornih sevov je bil v letu 2003 podoben kot v 2002 (0,9 % in 1,0 %). Proti azitromicinu je bil odporen le en sev, osamljen v celjski regiji.

Rezultati so primerljivi z nekaterimi evropskimi državami. V Republiki Češki je bil delež proti ampicilinu odpornih sevov 11 %, na Madžarskem pa 17 % (7). Podoben rezultat so v letih 2000-2001 zabeležili v Veliki Britaniji, kjer je bil delež proti ampicilinu odpornih sevov 13,4 %, proti trimetoprimu s sulfametoksazolom pa 11,6 % (17). Delež sevov BLNAR, proti azitromicinu, cefotaksimu in kinolonom odpornih sevov je tudi v drugih evropskih državah nizek (7, 17, 19, 20, 21).

Vse seve z neobičajnim ali redkim fenotipom odpornosti smo v sodelujočih laboratorijih shranili in so na voljo

za nadaljnje preiskave. Po potrebi bomo lahko nadgradili ugotavljanje epidemiologije odpornosti ali pa ugotavljali pojav novih mehanizmov odpornosti.

Spremljanje odpornosti bakterij na regionalni in nacionalni ravni je ključno za ugotavljanje prevalece odpornih sevov, kar je osnova za pripravo ali spremembo priporočil za izkustveno zdravljenje okužb in priporočil za racionalno uporabo antibiotikov (4, 6, 8). Spremljanje odpornosti je potrebno tudi za pravočasno zaznavanje sprememb v odpornosti in za zgodnje zaznavanje pojavljanja novih oblik odpornosti. Zaradi navedenega je potrebno spremljanje odpornosti bakterijske vrste *Haemophilus influenzae* nadaljevati (4).

Zahvala

Za seve *H. influenzae*, poslane iz Splošne bolnišnice »Dr. Franca Derganca« Nova Gorica, se zahvaljujemo dr. Jerneji Fišer.

Literatura

1. Finch RG. Introduction: standards of antimicrobial performance. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10 Suppl 2: 1-5.
2. Hoban DJ, Doern GV, Fluit AC, Roussel-Devallez M, Jones RN: Worldwide prevalence of antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* 2001; 32 Suppl 2: 81-93.
3. Richard Moxon E. *Haemophilus influenzae*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell eds. *Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4th ed. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2039-45.
4. WHO Global strategy for containment of antimicrobial resistance. WHO/CDS/CSR/DRS2001.2.
5. Bronzwaer S. European antimicrobial resistance surveillance as a part of a community strategy. Rijksuniversiteit Groningen: 2003.
6. Livermore DM, Macgowan AP, Wale MCJ. Surveillance of antimicrobial resistance. *BMJ* 1998; 317: 614-5.
7. Felmingham D, Feldman C, Hryniewicz W, Klugman K, Kohno S, Low DE et al. Surveillance of resistance in bacteria causing community-acquired respiratory tract infection. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8 Suppl 2: 12-42.
8. Čižman M, Beović B. Priročnik za ambulantno predpisovanje protimikrobnih zdravil. Ljubljana: Založba Arkadija; 2002: 7-43.
9. Jacobs MR, Bajaksouzian S, Zilles A, Lin G, Pankuch GA, and Appelbaum PC. Susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* to 10 oral antimicrobial agents based on pharmacodynamic parameters: 1997 U.S. surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1901-8.
10. Ribič H, Štrumbelj I, Franko-Kancler T. Spremljanje odpornosti proti antibiotikom pri sevih *Haemophilus influenzae* iz dihal v Sloveniji v letu 2002. *Zdr Vestn* 2004;73:563-8.
11. Campos JM. *Haemophilus*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. Washington: ASM, 1999: 604-13.
12. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard - Seventh Edition. NCCLS document M2-A7. NCCLS: Villanova, PA: 2000.
13. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth informational supplement. Document M100-S12. NCCLS: Villanova, PA: 2002.
14. Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 87-102.
15. Cornaglia G, Hryniewicz W, Jarlier V, Kahlmeter G, Mittermayer H, Strachounski L. et al. European recommendations for antimicrobial resistance surveillance. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 349-83.
16. Tomič V. Mikrobiološki vidiki okužb na spodnjih dihalih. In: Simpozij: Okužbe na spodnjih dihalih v ambulantni praksi. Brdo pri Kranju: Krka, 1999.
17. Karlowsky JA, Critchley IA, Blosser-Middleton RS, Karginova EA, Jones ME, Thornsberry C et al. Antimicrobial surveillance of *Haemophilus influenzae* in the United States during 2000-2001 leads to detection of clonal dissemination of a β -lactamase negative and ampicillin resistant strain. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1063-6.
18. Livermore DM. The need for new antibiotics. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10 Suppl 4: 1-9.
19. Jones ME, Blosser-Middleton RS, Critchley IA, Karlowsky JA, Thornsberry C, Sahm DF. In vitro susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis*: a European multicenter study during 2000-2001. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 590-9.
20. Zahnel GG, Karlowsky JA, Low DE, Hoban DJ. Antibiotic resistance in respiratory tract isolates of *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* from across Canada in 1997-1998. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 655-62.
21. Bandak SI, Turnak MR, Allen BS, Bolzon LD, Preston DA, Bouchillon SK et al. Antibiotic susceptibilities among recent clinical isolates of *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* from fifteen countries. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20(1): 55-60.