

گزارش یک مورد کودک مبتلا به آرتریت سپتیک ناشی از کینگلا کینگا

جلال مردانه*؛ فوق لیسانس میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات میکروپزشناسی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز
دکتر گیتا اسلامی؛ استادیار میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
دکتر فاطمه فلاح؛ دانشیار میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
دکتر حسین گودرزی؛ دانشیار میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

خلاصه

هدف: کینگلا کینگا باسیل گرم منفی کوچکی است که جزء فلور طبیعی مجرای تنفسی فوقانی انسان بوده و در مواردی ایجاد آرتریت سپتیک بخصوص در کودکان می‌کند. گزارش حاضر راجع به یک مورد بسیار نادر آرتریت سپتیک ناشی از باکتری کینگلا کینگا می‌باشد که در بیمارستان امام حسین(ع) تهران انجام پذیرفت.

معرفی بیمار: بیمار پسر بچه ای ۸ ساله با سابقه ابتلا به تالاسمی مینور که با علائم تب بالا، درد، تورم و التهاب در مفصل زانو به مرکز درمانی مراجعه نمود. جهت تشخیص بیماری نمونه مایع مفصلی توسط پزشک متخصص از مفصل زانو آسپیره شد و سریعاً به محیطهای تربیتی کیس سوی براث و تایوگلیکولات براث انتقال داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد از نمونه لام تهیه و رنگ آمیزی گرم انجام شد. همچنین در محیطهای کشت باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی شامل بلاآگار، شکلات آگار، مک کانکی آگار کشت داده شد پلیتهای کشت در دمای ۳۷ °C به مدت ۲۴ ساعت انکوبه و کلونیهای ایجاد شده روی بلا آگار مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از تستهای تشخیصی جنس و گونه باکتری تعیین شد. در رنگ آمیزی گرم از کلونیهای تشکیل شده باسیلهای کوتاه گرم منفی متمایل به جفت شدن و تشکیل زنجیره های کوتاه مشاهده شد و نتایج تستهای تشخیصی کینگلا کینگا را تایید نمود. این باکتری به آنتی بیوتیکهای بتالاکتام حساس بود.

نتیجه گیری: کینگلا کینگا در موارد نادری به خصوص در افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف و کودکان کم سن ایجاد بیمار سیستمیک می‌کند بدلیل این سخت رشد بودن و مشکل کشت استفاده از محیط های کشت غنی شده برای تلقیح مایع مفصلی به داخل آنها با اهمیت است.

*مسئول مقاله، آدرس:

شیراز، میدان نمازی، بیمارستان نمازی،
مرکز تحقیقات میکروبیولوژی بالینی

E-mail:

jalalardaneh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۴/۴/۶

تاریخ پذیرش: ۸۴/۹/۱

واژه های کلیدی: آرتریت سپتیک، کینگلا کینگا، باسیل گرم منفی، رنگ آمیزی

مقدمه

موارد نادری به خصوص در کودکان ایجاد آرتریت سپتیک می‌کند [۱]. در گزارشی از Timsit در کشور فرانسه طی مطالعه‌ای گذشته‌نگر ۳ مورد، در مطالعه‌ای در کارولینا یک مورد و در گزارشی از مرکز کنترل بیماریهای آمریکا در مجموع ۷۵ مورد کینگلا کینگا گزارش شده است که فقط ۲۱ مورد آن از عفونت‌های مفصلی و استخوانی ایزوله شده بود [۲، ۳]. در این مقاله یک مورد کودک مبتلا به آرتریت سپتیک ناشی از کینگلا

کینگلا کینگا باسیل گرم منفی کوچک و سخت رشدی است که به عنوان فلور طبیعی در مجرای تنفسی فوقانی انسان زندگی می‌کند. در موارد نادری قادر به ایجاد عفونت‌های کلینیکی از جمله استئومیلیت، آندوکاردیت و آرتریت سپتیک می‌باشد. این باکتری قبلاً جزء گونه‌های موراکسلا طبقه‌بندی می‌شد اما اخیراً در جنس جداگانه‌ای به نام کینگلا قرار گرفته است [۱، ۲، ۳]. در

روی محیط‌های جامد منفی بود. جهت شناسایی باکتری از تست‌های تشخیصی کاتالاز (منفی)، اکسیداز (مثبت)، احیاء نیترات (منفی)، تولید اندول (منفی) تخمیر گلوکز و مالتوز (مثبت) استفاده گردید. نتایج تست‌های تشخیصی باکتری کینگلا کینگا را تأیید نمود. جهت بررسی حساسیت آنتی-بیوتیکی از دیسک پنی سیلین روی محیط بلاد آگار استفاده شد که به این آنتی‌بیوتیک‌های حساسیت خوبی نشان داد اما به دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی اریترومایسین، جنتامایسین، سولفا-متوکسازول، کلیندامایسین، آمیکاسین، سفتری‌زوکسیم، سفتریاکسون و نالیدکسیک اسید حساسیت نشان داد. حال عمومی بیمار پس از بستری شدن و درمان دارویی با آنتی-بیوتیک‌های سفازولین و سفتریاکسون بهبود یافته و حال عمومی بیمار از نظر بالینی روبه بهبودی بود همچنین نمونه خون جهت انجام آزمایشات بیوشیمیائی و خون شناسی به آزمایشگاه ارسال گردید که نتایج آن تأیید کننده این موضوع بود. آزمایشات ثانویه باکتریولوژیک روی نمونه مایع مفصلی بیمار جهت ترخیص آن از بیمارستان منفی بود و با توجه به نتایج تست‌های آزمایشگاهی بیمار از بیمارستان مرخص گردید. تمام آزمایشات مربوط به مایع مفصلی در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی شهید بهشتی انجام شد.

بحث

کینگلا کینگا باسیل گرم منفی کوچک و سخت رشدی است که به عنون فلور طبیعی در مجرای اوروفارنکس وجود دارد. بندرت مواردی عفونت ناشی از این باکتری گزارش شده است. این باکتری از خون، بینی، زخمهای پوستی و آبسه‌های مجرای اشکی جدا گشته است [۱، ۸، ۹]. این باکتری ایجاد آرتریت سپتیک به‌خصوص در کودکان می‌کند. در گزارشی از ROBERT یک مورد آرتریت سپتیک ناشی از این باکتری در دختر بچه ای ۱۰ ماهه گزارش شد [۱۰]. در مطالعه‌ای دیگر روی آرتریت سپتیک یک مورد کینگلا از مفصل زانوی پسر بچه‌ای ۱۳ ساله جدا شد [۱۱].

مرکز کنترل بیماریها ۷۵ مورد کینگلا کینگا جدا شده از نمونه های کلینیکی مختلف را ذکر کرده، که فقط ۲۱ مورد آنها از عفونتهای استخوانی و مفصلی جدا گردیده بودند [۹]. موارد آرتریت سپتیک ناشی از کینگلا کینگا ممکن است خیلی بیشتر از آنچه تاکنون گزارش شده باشد. ۵ مورد آندوکاردیت ناشی از کینگلا کینگا گزارش شد [۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵].

کینگلا معرفی می‌شود که به بیمارستان امام حسین (ع) مراجعه نموده بود.

گزارش بیمار

بیمار پسر بچه‌ای ۸ ساله‌ای بود که با علائم تب بالا (38.5°C)، درد و تورم در مفصل زانوی راست خود و با سابقه مراجعه به دندانپزشکی به علت ضایعات دندانی و نیز ابتلا به تالاسمی مینور و عدم سابقه تروما به مرکز درمانی امام حسین (ع) تهران مراجعه نمود. پس از انجام معاینات پزشکی و مشکوک شدن به آرتریت سپتیک در بخش کودکان بیمارستان بستری گردید. در معاینه بیمار هیچگونه سوفل قلبی مشاهده نشد. جهت تشخیص بیماری عکس رادیوگرافی از مفصل زانوی بیمار تهیه گردید اما در تصویر نشانه‌هایی از گرفتاری مشاهده نشد. نمونه مایع مفصلی از مفصل زانوی راست آسپیره گردید و همراه با نمونه خون جهت آزمایشات مربوطه ارسال گردید. نمونه مایع مفصلی از نظر ظاهری رنگی کدر و دارای ویسکوزیته کم بود. داده‌های آزمایشگاهی تعداد لوکوسیت‌های خون محیطی را 5700 در میلی‌متر مکعب و سرعت رسوب گلبولهای قرمز با استفاده از روش وسترگین 49 میلی‌متر در ساعت نشان داد.

در گسترش مستقیم تهیه شده از نمونه مایع مفصلی تعداد زیادی گلبول سفید مشاهده گشت اما اسمیر نمونه از نظر باکتری منفی بود. همچنین هیچگونه کریستال و گلبول قرمزی مشاهده نشد. جهت تقویت رشد باکتری‌ها (بخصوص باکتری‌های سخت رشد) نمونه مایع مفصلی سریعاً به محیط ترانسپورت تریپتی کیس سوی‌براث انتقال داده شد و پس از انکوباسیون محیط در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت، از نمونه گسترش تهیه گردید و با رنگ آمیزی گرم مورد ارزیابی قرار گرفت. در گسترش مستقیم تهیه شده از TBS تعداد زیادی باسیل‌های گرم منفی کوچک (کوکوباسیل) که تمایل به جفت شدن و تشکیل زنجیره‌های کوتاه داشتند مشاهده شد. نمونه باکتری از روی محیط TSB برداشت نموده و روی محیط‌های بلاد آگار، شکلات آگار و مک کانکی آگار کشت داده شد و محیطها به مدت 24 ساعت در 37°C انکوبه گردید.

باکتری روی محیط بلاد آگار تشکیل کلونی‌های ریز و حساس با هاله‌ای ضعیف از همولیز بتا داد اما از نظر رشد روی محیط‌های مک کانکی و آگار ساده منفی بود. در رنگ آمیزی گرم از کلنی‌ها، باسیل‌های گرم منفی همانند آنچه در گسترش از TSB دیده شده بود، مشاهده گردید. نتیجه کشت نمونه خون

استافیلوکوک آرئوس مقاوم به متی‌سیلین مسئول ایجاد ۶٪ بیماری بود. در طول این تحقیق هیچ موردی از هموفیلوس آنفولانزا و کینگلا کینگا گزارش نشده است [۱۷]. با توجه به این-که آرتريت سپتیک ناشی از استافیلوکوک آرئوس شایع‌ترین موارد آرتريت سپتیک می‌باشد اما توجه به آرتريت عفونی ناشی از باکتری‌های غیر شایع نظیر کینگلا کینگا که به صورت نادر و موردی رخ می‌دهد و شناسایی عامل ایجاد کننده آن مشکل می‌باشد و نیاز به دقت بیشتر پزشکان و تکنسین‌های آزمایشگاه به چنین مواردی می‌باشد. در گزارش از مرکز پیشگیری و کنترل بیماری‌های آمریکا (CDC) در سال ۲۰۰۴ در مورد آرتريت سپتیک و استئومیلیت ناشی از کینگلا کینگا در مورد آرتريت سپتیک ناشی از این باکتری را در بررسی در کودکان ۱۷ تا ۲۱ ماهه ارائه داده و توجه هر چه بیشتر آزمایشگاه‌ها را به عفونت‌های ناشی از این باکتری در مواردی که در رنگ‌آمیزی مایع مفصلی ارگانسیم مشاهده نمی‌گردد و کشت اولیه مایع سینوویال روی محیط‌های جامد منفی می‌شود توصیه می‌کند [۶].

از آنجائی که کینگلا کینگا باکتری سخت رشدی بوده جهت تقویت رشد آن نیاز به استفاده از محیط‌های ترانسپورت مغذی و انکوباسیون محیط‌های کشت جامد به مدت طولانی‌تر می‌باشد اما در بیشتر آزمایشگاه‌ها به دلیل عدم وجود امکانات لازم جهت مطالعه روی چنین باکتری‌های نادری عفونت‌های ناشی از این ارگانسیم به صورت ناشناخته باقی مانده و گزارشات به صورت منفی به پزشک ارائه می‌گردد. در گزارش دیگری از مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها (CDC) در سال ۲۰۰۴ جهت جداسازی کینگلا کینگا از نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه استفاده از محیط کشت ABCBs را به جای کشت نمونه‌ها به‌طور مستقیم روی محیط‌های جامد توصیه می‌شود [۷]. استفاده از محیط‌های کشت بسیار اختصاصی که مورد آزمایش هستند یا به مرحله بهره‌برداری رسیده‌اند بیشتر در مراکز تحقیقاتی بسیار پیشرفته صورت می‌پذیرد اما مثل بسیاری از مطالعات و نیز مطالعه ما با بهره‌گیری از محیط‌های ترانسپورت غنی شده اولیه نظیر BHI و TSB و یا تایوگلیولات براث جهت تلقیح اولیه مایع سینوویال و تقویت رشد باکتری و نیز کاهش اثر ضد باکتریایی این مایع با رقیق‌سازی فاکتورهای مهار کننده موجود در آن و اختصاص زمان بیشتری برای انکوباسیون این محیط‌ها می‌توان عفونت‌های ناشی از کینگلا کینگا و دیگر باکتری‌های سخت رشد را فراهم نمود. فراهم شدن عوامل زمینه‌سازی نظیر بدخیمی‌ها و یا ضعف سیستم ایمنی افراد را مستعد ابتلا به بیماری‌های مختلفی از

تشخیص اولیه باکتری به علت مشکل در رشد و جدا سازی آن ساده نیست. کینگلا کینگا همراه با باسیلهای گرم منفی سخت گیر مانند کاردیوباکتریوم هومینیس، گونه‌های هموفیلوس، ایکنلا و اکتینوباسیلوس اکتینوماستیم کومیتنس در ایجاد آندوکاردیت نقش دارند. بنابراین در کشت‌های خونی که کشت اولیه منفی است باید محیط به مدت طولانی‌تری انکوبه گردد. منشاء ارگانسیم در مورد گزارش شده توسط ما همانند بسیاری از گزارش‌های دیگر مشخص نبود. اما این باکتری به عنوان فلور طبیعی در فازوفارنکس وجود دارد. بیمار مورد مطالعه ما هیچ موردی از گرفتاری مجرای تنفسی فوقانی نشان ندارد و ممکن است این عفونت ناشی از باکتری می‌باشد.

از آنجا که کینگلا کینگا باکتری سخت رشدی است و تشخیص آن در نمونه‌های کلینیکی مختلف مشکل است باید توجه بیشتری به عفونت‌های ناشی از این باکتری صورت گیرد. این ارگانسیم به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، اریترومايسين، تتراسایکلین، تری متوپریم سولفامتوکسازول و کلرامفنیکل حساس است [۱۱، ۱۵، ۱۶]. پنی‌سیلین به عنوان آنتی بیوتیک انتخابی جهت درمان استفاده می‌شود. از آنجا که این باکتری روی محیط آگار ساده رشد نمی‌کند باید تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی را روی محیط بلاد آگار با پایه مولر هینتون انجام داد.

در گزارش Timsits و همکاران در سال ۲۰۰۵ راجع به اپیدمیولوژی باکتریایی عفونت‌های مفصلی و استخوانی طی مطالعه‌ای گذشته نگر ۵۲ مورد استئومیلیت، ۵۲ مورد آرتريت و ۲۰ مورد استئوآرتريت در کودکان یک ماهه تا ۱۵ ساله بررسی شد [۵]. بیماران دارای علائم شایعی نظیر تب و درد بودند و در ۹۵٪ موارد عفونت به صورت تک‌موضعی بود. نتایج کشت باکتریایی فقط در ۲۹٪ از کل بیماران مثبت و باکتری‌های جدا شده شامل ۱۹ مورد استافیلوکوک (۱۴ مورد آرئوس)، ۱۰ مورد استرپتوکوک (چهار مورد پنو مونه)، ۳ مورد سالمونلا، ۳ مورد کینگلا کینگا و یک مورد موراکسلا بود [۵]. از آنجائی که این مطالعه به صورت گذشته‌نگر صورت گرفته و فرصت زمانی چند ساله جهت مطالعه وجود داشته موارد بیشتری از کینگلا کینگا و نیز باکتری‌های کمتر شایع در ایجاد آرتريت سپتیک ایزوله گشته است از نظر علائم کلینیکی بیماری نیز تب و درد علائم شایعی می‌باشند. گزارش مطالعه Goergens و همکارانش در سال ۲۰۰۵ نشان می‌دهد که در طی بررسی آنها روی ۴۷ مورد آرتريت سپتیک استافیلوکوک آرئوس به عنوان شایع‌ترین ارگانسیم (۳۹٪) معرفی شده است و در این میان نیز

بیشتری به این باکتری صورت گیرد. پزشکان و تکنسین‌های آزمایشگاه باید به عفونت‌های ناشی از این باکتری و نیز چگونگی جداسازی و تشخیص آن تسلط داشته باشند و در مواردی که در نمونه‌های کلینیکی به باسیل گرم منفی کوچک و سخت رشدی برخورد کردند باید به این باکتری مشکوک شوند. برای جداسازی اولیه باکتری بهتر است نمونه مایع مفصلی به محیط مایع غنی شده انتقال داده شود. چون این عمل سبب رقیق‌سازی فاکتورهای از بین برنده باکتری در مایع مفصلی شده و از طرف دیگر رشد و تکثیر باکتری را تقویت می‌کند. سپس از محیط مایع غنی شده روی محیط‌های جامد ساب کالچر انجام شود.

سیاسگزاری

از همکاری و مساعدت پزشکان متخصص و پرسنل بخش آزمایشگاه بیمارستان امام حسین (ع) تشکر و قدردانی می‌شود.

جمله آرتریت سپتیک می‌نماید. کینگلا کینگا کوکوباسیل گرم منفی است که به عنوان فلور طبیعی در غشای مخاطی تنفسی نقش ایفا می‌کند اما با فراهم شدن شرایط دسترسی این باکتری به خون و دیگر بافت‌های بدن حالت مهاجمی پیدا کرده و ایجاد بیماری از جمله آرتریت سپتیک می‌نماید. اگر چه موارد بیماری به صورت نادر گزارش می‌شود اما با آگاهی بیشتر پزشکان و تکنسین‌ها از این ارگانیزم و اختصاص دادن امکانات و زمان کافی جهت شناسایی آن، ممکن است موارد بیشتری از آرتریت سپتیک ناشی از این باکتری گزارش شود. امروزه بدلیل استفاده از واکسیناسیون جهت مقابله با هموفیلوس آنفولانزا موارد بیماری ناشی از آن بسیار کاهش یافته است ولی به‌جای آن عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی غیر شایع و سخت رشدی نظیر کینگلا کینگا در حال افزایش است [۱۸].

نتیجه‌گیری

از آنجایی که کینگلا کینگا در مواقعی که شرایط برای رشد و تکثیر آن فراهم شود می‌تواند ایجاد عفونت کند باید توجه

Archive of SID

Septic arthritis caused by *kingella kingae*; a case report

J Mardaneh* BS; Microbiologist, Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences

G Eslami, PhD; Assistant Professor of Microbiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences

F Fallah, PhD; Associate Professor of Microbiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences

H Goudarzi, PhD; Associate Professor of Microbiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences

*Correspondence author,
Address: Clinical Microbiology
Research center, Namazi
Hospital, Shiraz, IR Iran
E-mail:
jalalmardaneh@yahoo.com

Received: 25/6/05
Accepted: 20/11/05

Abstract

Objective: *Kingella kingae* is, a short gram-negative rod that is a normal part of the oral flora rarely causes septic arthritis. We report a case of documented arthritis caused by *kingella kingae* in Emam Hossein Hospital Tehran.

Case report: An eight- year-old boy referred to hospital with high fever, pain and swelling in knee joint. Past medical history revealed minor thalassemia.

Synovial fluid was aspirated from knee joint and transported to trypticase soy broth and thioglycollate broth mediums. Culture incubated in 37°C during 24 hours. The genus and species of bacteria determined by diagnostic tests. The gram staining showed plump gram-negative rods that tended to occur in pairs and short chains. Culture was positive for *kingella kingae*. It was sensitive to B-lactam antibiotics.

Conclusion: *Kingella kingae* rarely causes systemic disease in children and even when defense mechanisms are impaired. *Kingella kingae* is fastidious microbe and often difficult to culture. Therefore, it is important to use enriched medium to inoculate joint fluid.

Key Words: Septic arthritis, *Kingella kingae*, Gram stain, Gram negative bacillus

REFERENCES

1. Henriksen SD, Bovre K. *Moraxella kingii* sp.nov., a haemolytic, saccharolytic species of the genus *Moraxella*. J Gen Microbiol. 1968;51(3):377-85.
2. Henriksen SD, Bovre K. Transfer of *Moraxella kingii*, to the genus *kingella* gen. Nov in the family Neisseriaceae. Int . J. syst. Bacteriol. 1974; 24: 307.
3. Henriksen SD, Bovre K. Transfer of *Moraxella kingii*, to the genus *kingella* gen. Nov in the family Neisseriaceae. Int J Syst. Bacteriol. 1976; 26: 447-500.
4. Powell JM, Bass JW. Septic arthritis caused by *kingella kingae*. Am J Dis Child. 1983;137: 976-7.
5. Timsit S, Pannier S, Glorion C, et al. To describe bacteriologic epidemiology of bone and joint infections. Arch Pediatr. 2005;12(1):16-22.
6. Centers for Disease Control and Prevention: osteomyelitis/septic arthritis caused by *Kingella Kingae* among day care attendees-Minnesota 2003. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2004; 26;53(11):241-3.

7. Centers for Disease Control and Prevention(CDC): *Kingella Kingae* infections in children united states, June 2001-November 2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2004;53(11):244.
8. King EO. The identification of unusual pathogenic gram-negative bacteria (revised by R.E. Weaver RE, Tatum HW, Hollis DG) center of disease control, Atlanta, Ga. 1972.
9. Weaver RE, Hollis DG. Gram negative fermentative bacteria and *Francisella tularensis*. In Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Traunt JP. Manual of Clinical Microbiology. 3rd ed. Washington, D.C, American society for Microbiology. 1980 Pp: 242-262.
10. Gay RM, Lane TW, Keller DC. Septic Arthritis caused by *kingella kingea*. J Clinical Microbiology. 1983;17(1):168-9.
11. Davis JM, Peel MM. Osteomyelitis and septic arthritis caused by *kingella kinagae*. J Clin Pathol. 1982;35: 219-222.
12. Christensen CE, Emmanouilades GC. Bacterial endocarditis due to *Moraxella* new species I. N Eng J Med. 1967; 277: 803-4.
13. Geraci JE, Wilson WR. Symposium on infective endocarditis. III. Endocarditis due to gram negative bacteria: report of 56 causes. Mayo Clin. Proc. 1982; 57: 145-8.
14. Huhn P. *Moraxella* endocarditis in a patient with systemic lupus erythematosus. W. Va. Med. J. 1973; 69: 35-6.
15. Mirid Janian A, Berrett D. Infective endocarditis caused by *Moraxella kingae*. West J med. 1978; 129: 344-6.
16. Redfield DC, Overturf GD, Ewing N, et al. Bacteremia, arthritis and skin lesions due to *Kingella Kingae*. Arch Dis Child. 1980;55(5):411.
17. Goergens E, Mc Evoy A, Watson M, et al. Acute osteomyelitis and septic arthritis in children. J Pediat Child Health. 2005;41(1-2):59-62.
18. Kao HC, Huang YC, Chiu CH, et al. Acute hematogenous osteomyelitis and septic arthritis in children. J Microbiol Immunol Infect. 2003;36(4):260-5.