



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

# examen virologique des sécrétions nasopharyngées et examen cytobactériologique de l'expectoration

G. Dutau

Service de pneumologie et allergologie, hôpital des Enfants, 330, avenue de Grande-Bretagne, BP 3119, 31026 Toulouse cedex 3

Reçu le 17 septembre 1998 ; accepté le 20 octobre 1998

**L**es sécrétions nasopharyngées et bronchiques se prêtent à différents examens bactériologiques, virologiques et autres. Assez courants à l'hôpital, ils sont beaucoup moins utilisés en pédiatrie ambulatoire. Néanmoins, pour que leurs résultats soient interprétables et utiles au diagnostic, la technique de prélèvement doit être soigneuse. L'intérêt pratique de ces examens mérite également d'être précisé pour que les demandes soient justifiées.

Les infections respiratoires récidivantes, ORL et bronchiques, particulièrement fréquentes chez l'enfant d'âge préscolaire, s'intègrent le plus souvent dans le cadre de l'apprentissage immunitaire, inéluctable et physiologique [4]. Pour Kemp et Shelton [11], les enfants âgés de moins de 6 ans peuvent contracter jusqu'à dix rhinopharyngites par an sans présenter la moindre immunodéficiences. Dans un tel contexte, un nombre « acceptable » de bronchites ne devrait pas dépasser trois par an.

Par ailleurs, si une pneumopathie documentée par radiographie thoracique n'a aucune signification péjorative, deux pneumopathies (ou davantage) doivent faire déclencher des investigations complémentaires, surtout si la récurrence a lieu dans le même territoire [4]. Les principales causes locales ou générales des infections respiratoires récidivantes sont représentées sur le *tableau I*. Parmi les facteurs qui favorisent ces infections et leurs récurrences, on insiste sur la taille de la fratrie et la place dans celle-ci, des conditions socio-économiques déficientes, le séjour précoce en collectivité d'enfants et le tabagisme passif [4]. Récemment, plusieurs méta-analyses ont confirmé le lien de cause à effet entre le tabagisme passif, surtout maternel, et les infections respiratoires ORL [20] ou bronchiques [19].

## les sécrétions nasopharyngées et bronchiques

Chez l'enfant d'âge préscolaire, et même avant 10 ans, les infections respiratoires récidivantes sont

Tableau I. Principales causes locales ou générales des infections respiratoires récurrentes.

Causes d'infections récurrentes ± toux récurrente ou chronique	Éléments du diagnostic
Toux « équivalent » d'asthme	Anamnèse (sifflements nocturnes) EFR (augmentation des débits exp. après $\beta$ 2-stimulants)
Allergies respiratoires	Anamnèse : atopie personnelle et familiale Tests cutanés d'allergie et dosages d'IgE spécifiques
Dilatations bronchiques	Anamnèse : toux, expectoration, bronchites récurrentes Radiographie du thorax Examen tomодensitométrique
Mucoviscidose	Anamnèse : toux, diarrhée chronique Chlore sudoral > 50–60 mEq/L (moyenne de trois examens) Enquête génétique (mutation deltaF 508)
Corps étrangers bronchiques	Anamnèse (syndrome de pénétration) Asymétrie auscultatoire Radiographie du thorax (piégeage expiratoire de l'air) Scintigraphie pulmonaire Endoscopie bronchique (tube rigide)
Reflux gastroœsophagien	Anamnèse : toux posturale Radiographie : foyers pulmonaires récurrents Transit œsogastroduodénal pH-métrie : signes respiratoires corrélés Traitement d'épreuve antireflux
Troubles de la déglutition	Anamnèse : toux, suffocations aux repas Radiographie : foyers pulmonaires récurrents, pneumopathie interstitielle Étude de la déglutition en radio-cinéma Électromyographie des muscles de la déglutition
Fistule œsogastrique	Anamnèse : toux, suffocations aux repas Radiographie : foyers pulmonaires récurrents (LSG, LM)

beaucoup plus souvent des infections aiguës qui se répètent qu'une infection chronique focalisée. À cet égard, le diagnostic de « sinusite maxillaire chronique », souvent allégué, demeure exceptionnel avant 6 et même 10 ans.

Les agents responsables de ces infections sont surtout des virus : virus respiratoire syncytial (VRS), rhinovirus (plus de deux cents types), virus parainfluenza et influenza, adénovirus, coronavirus, etc. Le VRS est surtout en cause chez le nourrisson ; un enfant contracte une nouvelle infection à VRS tous les 9 mois en moyenne [6]. Le rôle des rhinovirus, difficile à mettre en évidence, est probablement sous-estimé [6, 7]. À la faveur de ces infections virales, les bactéries commensales des voies aériennes supérieures peuvent proliférer et coloniser l'appareil respiratoire inférieur qui devrait être stérile, dans les conditions normales, chez l'individu sain et immunologiquement compétent. Il s'agit surtout de *Haemophilus influenzae*, *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*. Chez l'enfant d'âge présco-

laire, le rôle exact de *Mycoplasma pneumoniae* reste à préciser, mais il est certainement plus important qu'on ne le pense en général [9].

Quel que soit l'agent causal, virus ou mycoplasme, la conséquence immédiate est une nécrose cellulaire et de profondes altérations de la fonction mucociliaire, dont la normalisation peut prendre plusieurs semaines (ou mois). La nécrose et la desquamation cellulaires entraînent des modifications de l'aspect du mucus et de ses propriétés rhéologiques. La couleur jaunâtre des sécrétions, souvent qualifiées de « purulentes », traduit en fait plusieurs phénomènes : nécrose cellulaire, afflux de cellules pro-inflammatoires, en particulier de polynucléaires neutrophiles, colonisations bactériennes. La viscosité du mucus est augmentée et sa filance (élasticité) est diminuée. L'augmentation de la viscosité entrave un battement ciliaire déjà réduit par la réduction du nombre de cils. Ce milieu facilite l'adhérence des bactéries, leur pullulation et l'infection.

Dans ces conditions, le clinicien peut souhaiter utiliser de telles sécrétions à des fins diagnostiques.

## examen des sécrétions nasopharyngées

### rhinites purulentes

Devant une rhinite purulente, l'examen bactériologique des sécrétions nasales n'offre aucun intérêt. Les prescriptions doivent être simples: lavage nasal au sérum physiologique. Une rhinite croûteuse et des érosions narinaires font craindre un impétigo, ce qui peut nécessiter un prélèvement pour orienter l'antibiothérapie à la recherche de *Staphylococcus aureus* et/ou de streptocoques du groupe B. Dans le premier cas, l'antibiothérapie fait appel à l'acide fusidique ou à une synergistine et, dans le second cas, on aura recours aux macrolides. Dans tous les cas, deux fois par jour, il faut ramollir les croûtes (antiseptiques dilués ou pommades) et assurer l'antiseptie. Tout écoulement nasal (jetage antérieur) unilatéral, purulent, fétide, doit faire penser à un corps étranger des fosses nasales, et conduira à demander une rhinoscopie antérieure à un ORL qui fera l'extraction d'un éventuel corps étranger nasal. Avant l'âge de 6 ans, la sinusite maxillaire chronique n'existe pratiquement pas, sauf le cas particulier de certains déficits immunitaires humoraux. Au cours des otites récidivantes très fébriles, la mise en évidence d'un germe unique dans les sécrétions pharyngées, en quantité abondante, par exemple un pneumocoque, représente un argument étiologique dont il faut tenir compte dans la décision thérapeutique, aidée par l'antibiogramme. Toutefois, un portage sain est fréquent (pneumocoques, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*); l'interprétation du résultat tiendra compte du contexte clinique (enfant asymptomatique, peu ou très symptomatique).

### rhinites claires

La situation est bien différente devant un écoulement bilatéral clair au début d'une infection respiratoire manifestement d'origine virale (rhinite, conjonctivite, toux, jeune âge, contexte épidémique, séjour en collectivités d'enfants).

### mode de prélèvement

On aspire les sécrétions nasales antérieures avec une sonde reliée à un flacon de prélèvement. Un à deux millilitres sont nécessaires, à transmettre immédiatement au laboratoire de virologie pour la détection rapide d'antigènes viraux. Lorsqu'une culture est envi-



Figure 1. Kinésithérapie respiratoire. En fin d'accélération du flux expiratoire, on mobilise les sécrétions qu'on peut recueillir.

sagée (rarement sur un prélèvement nasal, presque systématiquement sur un échantillon de lavage bronchoalvéolaire), il faut utiliser un milieu de transport spécial et maintenir le prélèvement au froid [14].

### détection rapide des antigènes viraux

Les techniques de détection des antigènes viraux sont de deux types: immunofluorescence (IF) directe ou indirecte et techniques immunoenzymatiques (Elisa surtout) [14] (figure 1). Disponibles sous forme de trousses, elles s'appliquent tout particulièrement au VRS, aux virus grippaux A et B et aux virus parainfluenza 1, 2 et 3. Pour les adénovirus, ces techniques sont plus aléatoires. Pour les rhinovirus et les coronavirus, l'IF n'est pas utilisable car les sérotypes sont très nombreux. Par exemple, pour les rhinovirus qui sont fortement impliqués au cours des bronchiolites, les techniques de PCR sont utilisées [8].

### indications

Les infections respiratoires à VRS constituent l'indication majeure des techniques virologiques rapides. L'atteinte respiratoire étant diffuse, du nez aux voies aériennes distales, le prélèvement nasal est bien représentatif.

À l'hôpital, cet « examen rapide » est important pour préciser le diagnostic. En période d'épidémie confirmée, un tel prélèvement n'est pas nécessaire aux « urgences » où l'objectif est de savoir si le nourrisson peut être soigné à domicile ou, au contraire, s'il doit être hospitalisé. En revanche, chez les nourrissons hospitalisés, cet examen permet de différencier les bronchiolites VRS (+) et VRS (-) pour les isoler les uns des autres. Les mesures d'hygiène visant à diminuer le

risque de propagation du virus à l'intérieur de l'hôpital ainsi qu'à l'extérieur sont essentielles; elles sont à renforcer pour les patients VRS (+). L'intérêt de la distinction des sous-types A et B est controversée: certaines études montrent que le profil clinique des bronchiolites à VRS de type A est plus sévère que celui des bronchiolites de type B [13], et d'autres n'enregistrent aucune différence [12, 18].

En ville, la plupart des laboratoires sont à même de réaliser cette détection rapide. Toutefois, sa prescription en « pédiatrie ambulatoire » ne semble pas nécessaire sauf, à la rigueur, au début d'une « série d'événements respiratoires bas » pour préciser s'il s'agit bien du début de l'épidémie de bronchiolites à VRS. De fait, dans l'enquête multicentrique nationale sur les bronchiolites en pratique de ville, c'était un examen exceptionnellement demandé [1].

En présence d'une toux traînante, la détection rapide d'un adénovirus est aléatoire. En revanche, la sérologie peut être utile.

#### autres examens

Il est possible d'effectuer d'autres examens dans les sécrétions nasopharyngées, mais leur étude exhaustive sort du cadre de cette revue. Pour mémoire, on peut également doser les médiateurs de l'inflammation (ECP, cytokines, leucotriènes, histamine, IgE anti-VRS) dans les sécrétions nasales et les produits de lavage nasal [16]. L'étude cytologique du frottis nasal contribue à distinguer les rhinites allergiques des rhinites non allergiques et à détecter les exceptionnelles rhinites non allergiques à éosinophiles (syndrome NARES) de l'adolescent [10].

### examen de l'expectoration

L'examen cyto bactériologique de l'expectoration (ECBE) est utile pour rechercher une infection bactérienne au cours des infections respiratoires basses, aiguës, récidivantes et chroniques.

#### méthodologie

Chez l'enfant sachant cracher présentant une bronchopathie chronique (mucoviscidose) ou fortement suspect d'en être atteint (bronchectasies), l'ECBE représente un examen important. Chez les nourrissons ou les enfants qui ne savent pas cracher, l'expectoration est prélevée au cours d'une séance de kinésithé-

rapie. La technique utilisée est l'accélération lente pour les petites voies aériennes, et l'accélération rapide pour les gros troncs. Ayant progressé jusque dans la trachée, les sécrétions sont ensuite mobilisées par une pression du cartilage cricoïde qui déclenche la toux. L'expectoration est alors recueillie par aspiration dans un tube gradué [2]. L'induction de l'expectoration par des nébulisations de sérum salé hypertonique, méthode en cours de validation, reste encore du domaine de la recherche clinique [15]. Dans tous les cas, une nébulisation préalable de  $\beta_2$ -agonistes permet d'obtenir plus facilement des sécrétions « profondes » [16].

#### critères de positivité et interprétation

Pour être validé, le prélèvement doit répondre à quatre critères [2, 14]:

- aspect macroscopique de crachat profond muco-purulent ou purulent: les prélèvements muqueux ou d'aspect salivaire seront récusés;
- nombre de cellules épithéliales buccales inférieur à dix par champ microscopique au grossissement de 100; plus de dix cellules buccales (à plus forte raison, plus de 25) évoque une contamination buccale ou, plus vraisemblablement, un prélèvement salivaire;
- nombre de polynucléaires neutrophiles (PNn) supérieur à 20 par champ microscopique au grossissement de 100;
- nombre de germes supérieur ou égal à  $10^6$ /mL au grossissement de 1 000 (« bactériologie quantitative »).

Lorsque les trois premiers critères sont réunis et que l'examen bactériologique quantitatif révèle un nombre de germes supérieur à  $10^6$  et même à  $10^5$  dans certaines conditions (culture pure, nourrisson), le clinicien possède alors des arguments forts en faveur d'une infection bactérienne [2] (figures 2 et 3). Cependant, les résultats de l'ECBE seront toujours confrontés aux données cliniques (âge, fièvre, état général, comportement alimentaire) et paracliniques (radiographie thoracique, CRP, numération formule sanguine).

#### intérêt pratique

L'ECBE peut être utile au cours des bronchopathies aiguës, subaiguës et chroniques du nourrisson et de l'enfant: bronchiolites, bronchites récidivantes avec toux et encombrement, « asthme intrinsèque », bronchectasies, mucoviscidose.

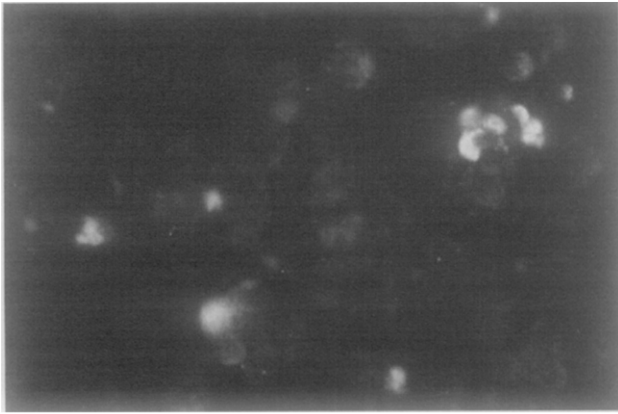


Figure 2. Immunofluorescence directe sur les sécrétions nasopharyngées au cours d'une bronchiolite. Le VRS donne une fluorescence cytoplasmique avec aspect souvent motelé.

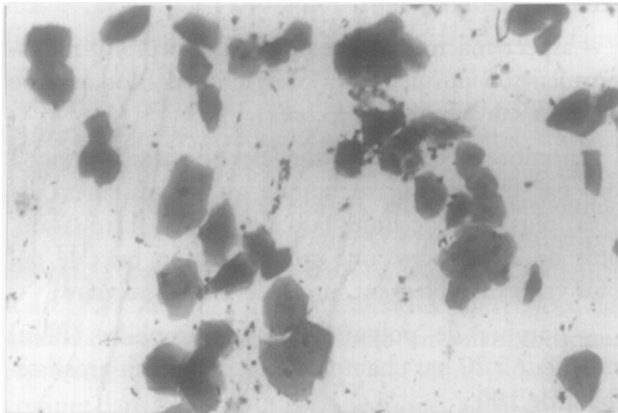


Figure 3. Prélèvement bronchique de mauvaise qualité. Au grossissement x 100: cellules épithéliales > 25/champ. Polynucléaires neutrophiles < 10/champ.

### bronchiolites

Les colonisations bronchiques bactériennes sont fréquentes au cours des bronchiolites assez sévères pour nécessiter une hospitalisation. Une enquête multicentrique nationale portant sur 205 nourrissons hospitalisés pour bronchiolite aiguë a révélé qu'un ou plusieurs germes étaient isolés dans 44 % des cas dans l'expectoration prélevée à la suite d'une séance de kinésithérapie à l'entrée et/ou au 3<sup>e</sup> jour. En pourcentage des ECBE, le germe le plus souvent rencontré est *H. influenzae*, (36 %) suivi par *M. catarrhalis* (17 %) et *S. pneumoniae* (16 %) [2]. Les deux paramètres les mieux corrélés avec un ECBE positif sont une CRP supérieure à 15 mg/L et une leucocytose à PNn significativement plus élevée [2]. D'autres études ont mon-

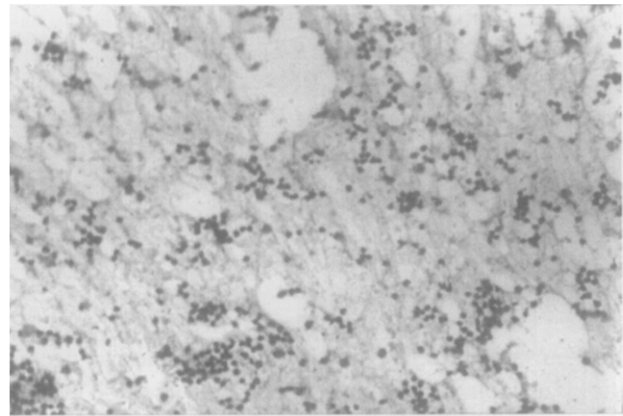


Figure 4. Prélèvement bronchique d'excellente qualité. Au grossissement x 100: cellules épithéliales < 10/champ. Polynucléaires neutrophiles > 25/champ.

tré que la décision thérapeutique dépendait aussi de la présence d'autres facteurs: âge inférieur à 3 mois; otite moyenne; image pulmonaire; difficultés d'alimentation; nécessité d'une assistance nutritionnelle par gavages et/ou perfusions. En milieu hospitalier, le cas échéant, l'ECBE pourrait conforter ou réorienter l'antibiothérapie « probabiliste » [2]. Par contre, en pédiatrie ambulatoire, l'ECBE ne semble pas avoir d'intérêt.

### bronchopathies subaiguës ou chroniques

Chez les nourrissons et les enfants d'âge préscolaire, exception faite de la mucoviscidose, l'ECBE peut contribuer au diagnostic de colonisation ou d'infection bronchique aux germes précités, en particulier *M. catarrhalis*, qu'il convient de rechercher devant une toux chronique, un encombrement bronchique persistant, des crises de dyspnée avec sibilances, un syndrome du lobe moyen, des poussées d'exacerbation sur dysplasie bronchopulmonaire [3].

### mucoviscidose

Chez les enfants et les adolescents atteints de mucoviscidose, l'ECBE fait partie de la surveillance régulière. Il est demandé soit systématiquement en moyenne une fois tous les 2 à 3 mois, soit à l'occasion d'une poussée d'exacerbation marquée par des « petits signes » tels que majoration de l'expectoration qui devient plus colorée, difficultés à évacuer les sécrétions au cours des séances de kinésithérapie, fléchissement de l'état général (perte d'appétit, stagnation du poids), apparition d'un état sub-fébrile, modification de l'image radiologique, etc. On considère comme positive une bactériologie quantitative montrant au moins  $10^6$  germes/mL.

**asthme et bronchites « sifflantes »**

Une étude effectuée par Seddon et al. [17] montre que certaines exacerbations de l'asthme pourraient s'associer à une infection à *M. catarrhalis*. Ils ont comparé l'examen bactériologique des sécrétions pharyngées postérieures de 20 enfants asthmatiques en crise, de 20 autres asthmatiques en état stable, et de 24 enfants normaux. Le pourcentage de colonisations à *M. catarrhalis* est significativement plus élevé chez les premiers (75 %) et les deuxièmes (70 %) que chez les témoins normaux (33 %) ( $p < 0,05$ ); la croissance du germe est également plus rapide chez les asthmatiques [17]. De même, le pourcentage de *H. influenzae* et de *S. pneumoniae* est beaucoup plus faible chez les normaux (4 %) que chez les asthmatiques en crise (10 %) ou en intercrise (20 %) [17].

En fait, le résultat brut de l'ECBE ne permet pas de faire la distinction entre « colonisation » et « infection bronchique ». Il convient de se baser sur les symptômes cliniques associés (toux, expectoration, otite) et sur le caractère pur ou très prédominant du germe isolé [21]. *M. catarrhalis* est plus souvent isolé en hiver qu'au printemps. Par ailleurs, si la fréquence des colonisations des voies aériennes supérieures est forte au cours des 2 premières années de vie (66 % à 1 an et 77,5 %

à 2 ans), elle est beaucoup plus élevée en période d'otite moyenne aiguë (62,7 %) que chez l'enfant asymptomatique (27 %) [5].

**conclusion**

Les sécrétions nasopharyngées et l'expectoration se prêtent à des examens bactériologiques et virologiques. Elles sont d'accès facile, mais, en particulier pour les sécrétions bronchiques, la technique de prélèvement doit respecter des critères précis, aspect de crachat « profond » et absence de contamination par les cellules buccales. À l'hôpital, ces examens peuvent guider le diagnostic (détection rapide des viroses en particulier à VRS), faciliter l'isolement des patients VRS (+) et VRS (-) au cours des bronchiolites aiguës, justifier (ou guider) certaines antibiothérapies. En pédiatrie ambulatoire, leur intérêt reste limité, sauf au début des épidémies de bronchiolite ou de grippe. En pratique allergologique, le frottis nasal nous paraît sous-utilisé au cours des rhinites saisonnières et surtout perannuelles. À l'avenir, l'intérêt du dosage des médiateurs de l'inflammation dans le liquide de lavage nasal mérite d'être mieux précisé.

**références**

- Cohen R, Golfier B, Bégue P, Labbé A, Bourrillon A, Dutau G. Bronchiolites aiguës (dossier dirigé par G Dutau). *Médecine & Enfance* 1996; 12: 485-514.
- Dutau G, Dabernat H, Astruc J, Bégue P, Grimpel E, Quinet G, et al. Surinfections bactériennes au cours des bronchiolites aiguës. Mythes ou réalités? *Médecine & Enfance* 1996; 16: 403-6.
- Dutau G, Prère MF, Lemozy J, Vézard Y, Micheau P, Glorieux I, et al. Colonisations et infections bronchiques à *Moraxella (Branhamella catarrhalis)* chez l'enfant. *Sem Hôp Paris* 1998; 74: 895-903.
- Dutau G. Infections respiratoires récurrentes de l'enfant d'âge scolaire. Paris: Phase V Édit; 1996.
- Faden H, Harabuchi Y, Hong JJ. Tonaxanda/Williamsville Pediatrics. Epidemiology of *Moraxella catarrhalis* in children during the first 2 years of life: relationship to otitis media. *J Infect Dis* 1994; 169: 1312-7.
- Freytmuth F, Quibrac M, Petitjean J, Daon F, Amiel ML. Les virus responsables d'infections respiratoires en pédiatrie. Bilan de 3 480 aspirations nasales réalisées chez l'enfant en une période de six ans. *Ann Pédiatr (Paris)* 1987; 34: 493-501.
- Freytmuth F, Vabret A, Brouard J, Duhamel JF, Guillois B, Petitjean J, et al. Épidémiologie de l'infection virale et asthme. *Rev Fr Allergol* 1998; 38: 319-25.
- Freytmuth F, Vabret A, Galareau-Salle F, Ferey J, Eugene G, Petitjean J, et al. Detection of respiratory syncytial virus, parainfluenza virus 3, adenovirus, rhinovirus in respiratory tract of infants by polymerase chain reaction and hybridation. *Clin Diagn Virol* 1997; 8: 31-40.
- Gaudelus J, Dieu-Osika S, Belasco C, Camard O, Sauvion S, Nathanson M. L'enfant et *Mycoplasma pneumoniae*. *Sem Hôp Paris* 1998; 74: 669-76.
- Jean R, Lellouch-Tubiana A, Brunet-Langot D, Scheinmann P, Pfister A. Nasal eosinophilia in children: its use in the nasal allergen provocation test. *Diagn Cytopathol* 1988; 4: 23-7.
- Kemp AS, Shelton MJ. Recurrent respiratory illness in the young child. *Austr Fam Phys* 1992; 21: 1122-4.
- Mc Intosh ED, De Silva LM, Oates RK. Clinical severity of respiratory syncytial virus group A and B infection in Sydney. *Austr Pediatr Infect Dis J* 1993; 12: 815-9.
- McConnochie KM, Hall CB, Walsh EE, Roghmann KJ. Variation in severity of respiratory syncytial virus infections with subtype. *J Pediatr* 1990; 117: 52-6.
- Peigue-Lafeuille H. Le diagnostic rapide des infections virales et bactériennes. In: Dutau G, Labbé A, éd. *Pneumologie de l'enfant*. Paris: Arnette-Blackwell; 1996. p. 421-6.
- Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992; 47: 25-9.

- |    |  |    |   |
|----|--|----|---|
| 16 | Scheinmann P, Pedersen S, Warner JO, de Blic J. Methods for assessment of airways inflammation: paediatrics. <i>Eur Respir J</i> 1998; 11 Suppl 26: 53s-8s.  | 19 | Strachan DP, Cook DG. Parental smoking and lower respiratory illness in infancy and early childhood. <i>Thorax</i> 1997; 52: 905-14.  |
| 17 | Seddon PC, Sunderland D, O'Halloran SM, Hart CA, Heaf DP. <i>Branhamella catarrhalis</i> colonization in pre-school asthmatics. <i>Pediatr Pulmonol</i> 1992; 13: 133-5.                                     | 20 | Strachan DP, Cook DG. Parental smoking, middle ear disease and adenotonsillectomy in children. <i>Thorax</i> 1998; 53: 50-6.  |
| 18 | Stark JM, Hossein Fatemi S, Amini SB, Huang YT. Occurrence of respiratory syncytial virus subtypes in hospitalized children in Cleveland, Ohio, from 1985 to 1988. <i>Pediatr Pulmonol</i> 1991; 11: 98-102. | 21 | Wood GM, Johnson BC, McCormack JG. <i>Moraxella catarrhalis</i> : pathogenic significance in respiratory tract infections treated by community practitioners. <i>Clin Infect Dis</i> 1996; 22: 632-6. |