

## EVALUATION DU RISQUE DE PORTAGE MANUEL ET NASAL DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* CHEZ LE PERSONNEL DE L'INSTITUT PASTEUR DE CÔTE D'IVOIRE (IPCI)

### Auteurs

Cablan M.A.<sup>1,2</sup>,  
Loukou Y.G.<sup>1,2</sup>,  
Krizo G.A.<sup>1,2</sup>,  
Nanga Y.Z.<sup>1,2</sup>,  
Lathro J.S.<sup>1,2</sup>,  
Kone-Dotia T.A.<sup>1,2</sup>,  
Tahou-Apété S.<sup>1,2</sup>,  
Djatchi R.A.<sup>1,5</sup>,  
Guessend N.<sup>3</sup>,  
Faye-Ketté H.<sup>3,4</sup>,  
Dosso M.<sup>3,4</sup>

### Services

1. Département de Bactériologie-Virologie de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix-Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

2. Laboratoire National de la Santé Publique, Abidjan, Côte d'Ivoire

3. Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

4. Département de Bactériologie-Virologie de l'UFR des Sciences Médicales, Université de Félix-Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

5. Centre de Recherche et de Diagnostic sur le Sida, Abidjan, Côte d'Ivoire

### Correspondance

Cablan Mian N'dedey Arsher  
E-mail : cablanmianarsher@yahoo.fr

### RESUME

Les infections à *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) posent un problème de santé publique. Ces infections à SARM sont précédées d'une période de portage par le malade ou par les agents en milieu de soins ou de diagnostic. Ce qui contribue à la circulation des SARM en milieu hospitalier.

En vue d'améliorer la prévention de la dynamique de transmission des SARM en milieu de diagnostic, nous avons entrepris de réaliser cette enquête dont l'objectif était de mettre en évidence la situation de portage par le personnel l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI).

Après avoir été soumis à un questionnaire portant sur des facteurs de risque de portage, les agents ont fait l'objet de prélèvements nasal et manuel par écouvillonnage. L'isolement des souches de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) été réalisé sur milieu de culture Chapman et l'identification à partir des caractères morphologiques, métaboliques et biochimiques. Les souches isolées ont fait l'objet d'un antibiogramme en milieu gélosé selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie version 2013.

Des 93 agents prélevés, il ressort une prévalence de portage nasal et manuel de SARM de 3,2% et 11,8%, respectivement. La recherche de corrélations possibles entre le portage de SARM et les facteurs de risque étudiés n'a montré aucune différence statistiquement significative. Par contre en ce qui concerne le sexe, un portage de SARM plus élevé chez les hommes 43%, par rapport à celui retrouvé chez les femmes 12,5% ( $p=0,045$ ) était observé. Les 37 souches de *S. aureus* testées aux 11 disques d'antibiotiques, ont montré une proportion variable de SARM exprimant des résistances à d'autres familles d'antibiotiques. La vancomycine restait l'antibiotique pour lequel aucune résistance n'avait été mise en évidence.

Ces niveaux de portage relativement faibles, suggèrent la poursuite de la surveillance du portage des SARM chez le personnel de l'IPCI en vue de mieux apprécier les facteurs de risque de ce portage.

**Mots-clés :** *Staphylococcus aureus*, Portage, IPCI.

### SUMMARY

*Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) infections have gradually become a public health issue. Whether by patients or health care agents, the long carrying period prior to the infection break out contributes to the spreading of the disease in and outside hospital facilities.*

*The main objective of this study was to contribute to the prevention of the transmission of those infections in health care environments by identifying the presence of MRSA in the Pasteur Institute of Côte d'Ivoire (PICI) staff.*

After answering a survey concerning transmission factors, the PICI agents were submitted to manual and nasal swabbing. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) strains were isolated using a Chapman culture medium, and identification was obtained from morphological, metabolic and biochemical characteristics. Antibiotic susceptibility of the isolated strains was evaluated using a gel medium as prescribed in the 2013 version of the “Comité de l’Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie” recommendations.

Out of the 93 tested subjects 3.2 % was obtained for nasal carrying whereas manual carrying resulted in a 11.8%. The research pertaining possible correlations between MRSA carrying and the studied risk factors did not show any significant difference. However, a higher carrying prevalence was noticed in male subjects compared to female subjects (43% and 12,5% respectively,  $p=0,045$ ). 37 different *S. aureus* strains were each tested with 11 antibiotic disks and showed variable proportions of MRSA resistance to other antibiotic families. Vancomycin proved to be the only antibiotic preventing MRSA resistance.

The low carrying percentages obtained in this study suggest a continuation of MRSA carrying surveillance amongst PICI agents in order to have a better appreciation of risk factors concerning this rising health care issue.

**Keywords :** *Staphylococcus aureus*, carrying, IPCI

## INTRODUCTION

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), l’un des pathogènes les plus répandus, est une bactérie commensale de l’homme retrouvée au niveau de la peau et des muqueuses. La colonisation de la muqueuse nasale, la plus importante, est estimée à 30% dans la population générale (Wertheim 2005, Kluytmans 1997). *S. aureus* donne lieu à des infections cutanéomuqueuses qui peuvent être le point de départ de suppurations profondes ou d’infections générales tant au niveau communautaire qu’en milieu hospitalier (Wertheim 2005).

Le traitement des infections à *S. aureus* est devenu problématique avec notamment les souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) avec une résistance croisée aux autres bêta-lactamines et qui peut s’étendre à d’autres familles d’antibiotiques. Ce qui limite les options thérapeutiques pour les infections à SARM (Mostofsky 2011).

Les infections à *S. aureus* sont précédées d’une période de portage (Diekema 2001, Akoua-Koffi 2004) et les mécanismes conduisant à la colonisation nasale impliquent à la fois l’hôte et des facteurs liés aux bactéries. L’exposition répétée à *S. aureus* dans les environnements de soins de santé ou de diagnostic comme le laboratoire suggère l’hypothèse que les professionnels de santé pourraient être plus souvent colonisés et donc que cette activité professionnelle constituerait un facteur de risque pour le portage nasal de *S. aureus*, si les règles de bonnes pratiques de laboratoire et d’hygiène des mains ne sont pas appliquées. En outre, d’autres facteurs ont été décrits et susceptibles d’influencer le portage à *S. aureus* (Loren 2012).

L’objectif de cette étude était donc de déterminer le portage nasal et manuel des SARM chez le personnel de l’Institut Pasteur de Côte d’Ivoire au site de Cocody. Il s’agit spécifiquement d’estimer la prévalence de portage de *S. aureus* et SARM, d’identifier les facteurs associés au portage de *S. aureus* et de décrire les résistances observées concomitamment à celle à la méticilline.

## **MATERIEL ET METHODES**

### **Type et cadre d'étude**

Cette étude transversale exhaustive a été conduite à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire sur son site de Cocody, de Novembre 2013 à Janvier 2014.

L'isolement et l'identification des souches ont été réalisés à l'Unité de Bactériologie Clinique (UBC) et la détection de la méticillino-résistance et des profils de résistance à l'Unité des Antibiotiques, des Substances naturelles et de la Surveillance de la Résistance des Microorganismes aux anti-Infectieux (ASSURMI) de l'IPCI.

### **Population d'étude**

Ont été inclus dans cette étude, tous les agents de l'IPCI au site de Cocody présents, disponibles au moment de l'étude et ayant accepté de participer à l'enquête.

### **Recueil des données**

Sur la base d'un consentement éclairé, les agents de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire ont été soumis à un questionnaire anonyme portant sur leurs caractéristiques sociodémographiques, leurs antécédents cliniques et thérapeutiques, des habitudes de tabagisme et de consommation d'alcool, et des notions d'hygiène.

A la suite de l'administration du questionnaire, des prélèvements ont été recueillis chez les participants.

### **Prélèvements biologiques**

Au niveau nasal, le prélèvement a été obtenu en insérant sur une hauteur de 1 à 2 cm l'écouvillon stérile dans la narine antérieure droite de l'agent en effectuant 5 rotations complètes de l'écouvillon afin de recueillir les sécrétions.

Au niveau de la main fonctionnelle, un écouvillonnage des espaces interdigitaux et péri-unguéaux de la main fonctionnelle a été effectué.

Les prélèvements recueillis ont été acheminés sans délai à température ambiante à l'Unité de Bactériologie Clinique (UBC).

### **Identification des souches bactériennes**

Les écouvillons ont été placés dans du bouillon Cœur Cerveille (Bio-Rad, France), incubés pendant 2 heures à 37°C pour revivifier les bactéries, puis ont été ensemencés sur des géloses nutritives (Bio-Rad, France) et Chapman (Bio-Rad, France). Après incubation en atmosphère normale à la température de 37°C pendant 48h, les boîtes de Pétri ont été analysées à la recherche de colonies suspectes de *Staphylococcus*, c'est-à-dire acidifiant le mannitol sur la gélose Chapman.

Les colonies de bactéries se présentant sous la forme de cocci à Gram positif, immobiles, acidifiant le mannitol et produisant une catalase, une désoxyribonucléase, une staphylocoagulase libre ont été identifiées comme étant *Staphylococcus aureus*.

Les colonies de bactéries se présentant sous la forme de cocci à Gram positif, immobiles, acidifiant le mannitol et produisant une catalase, mais dépourvues de désoxyribonucléase, et de staphylocoagulase libre ont été identifiées comme étant *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN).

### Antibiogramme

La réalisation de l'antibiogramme a été faite selon la technique de diffusion des disques en milieu gélosé de Kirby Bauer suivant les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie version 2013 (CA-SFM 2013). Pour la détection phénotypique de la méticillino-résistance, l'antibiotique testé était la céfoxitine (30 µg). La lecture des boîtes d'antibiogramme s'est faite après 18-24 h d'incubation à 37° C, avec l'automate ADAGIO (BioRad, France).

**Tableau I:** Liste d'antibiotiques testés sur les souches de *Staphylococcus aureus* isolées

Familles d'antibiotiques	Antibiotiques	Charges
Bêta-lactamines	Céfoxitine	30 µg
	Kanamycine	30 µg
Aminosides	Tobramicine	10 µg
	Gentamycine	10 µg
Quinolones	Ciprofloxacine	5 µg
	Erythromycine	15 UI
Macrolides	Lincomycine	15 µg
	Pristinamycine	15 µg
Glycopeptides	Vancomycine	30 µg
	Téicoplanine	30 µg
Autres	Acide fusidique	10 µg

### Analyse statistique

Les caractéristiques de la population de l'étude ont été définies par une analyse descriptive en utilisant les logiciels Microsoft Excel 2007 et SPSS version 16. Les variables qualitatives à savoir, les caractéristiques sociodémographiques, les habitudes d'hygiène, l'absence ou la présence de *S. aureus* et de *SARM*, le site de prélèvement et enfin les phénotypes de résistance des souches vis-à-vis des antibiotiques testés, ont été comparées à l'aide du test de Chi<sup>2</sup> ou du test exact de Fisher le cas échéant, au seuil de significativité  $\alpha$  de 5%.

## RÉSULTATS

Tableau II : Distribution du portage de *Staphylococcus aureus*

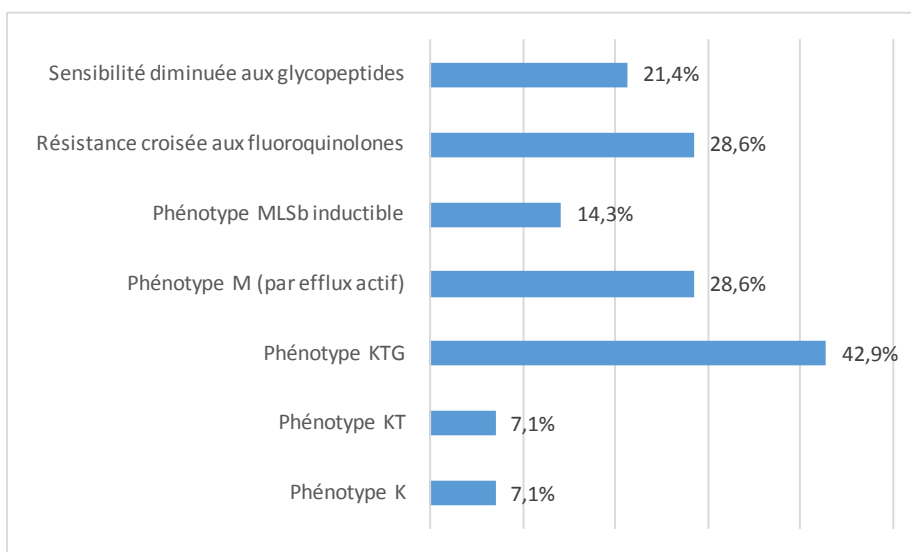
Caractéristiques socio-démographiques	Non porteurs N= 56	Porteurs N= 37	P* value	Total N=93
<b>Genre</b>			0,29	
Masculin	39 (65)	21 (35)		60
Féminin	17 (52)	16 (48)		33
<b>Tranches d'âge</b>			0,61	
21-30 ans	16 (53)	14 (47)		30
31-40 ans	27 (67)	13 (33)		40
41-50 ans	8 (53)	7 (47)		15
51-60 ans	5 (62)	3 (38)		8
<b>Type de personnel</b>			0,36	
Cadres	13 (62)	8 (38)		25
Techniques	13 (52)	12 (48)		25
Appui	3 (100)	0 (0)		3
Administrateur	5 (83)	1 (17)		6
Stagiaires/Doctorants	19 (56)	15 (44)		34
<b>Départements</b>			0,14	
Scientifiques	7 (47)	8 (53)		15
Techniques	39 (59)	27 (41)		66
Administratifs	10 (83)	2 (17)		12
<b>Ancienneté dans le poste</b>			0,64	
Moins de 5 ans	37 (58)	27 (42)		35
Plus de 5 ans	19 (66)	10 (34)		58
<b>Site de prélèvement</b>			0,12	
Main	70 (75)	23 (25)		93
Nez	79 (85)	14 (15)		93

\* P-value du test du Chi 2 ou du test exact de Fisher le cas échéant, comparant différentes catégories entre les porteurs et les non-porteurs de *S. aureus*

**Tableau III** : Répartition du portage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

Caractéristiques sociodémographiques	Porteurs de SASM N=26	Porteurs SARM N=11	P* value	Total N=37
<b>Genre</b>			0,045	
Masculin	12 (57)	9 (43)		21
Féminin	14 (87,5)	2 (12,5)		16
<b>Tranches d'âge</b>			0,52	
21-30 ans	10 (71)	4 (29)		14
31-40 ans	10 (77)	3 (23)		13
41-50 ans	5 (71)	2 (29)		7
51-60 ans	1 (33)	2 (67)		3
<b>Type de personnel</b>			0,88	
Cadres	6 (75)	2 (25)		8
Techniques	8 (67)	4 (33)		12
Appui	0 (0)	0 (0)		0
Administrateur	1 (100)	0 (0)		1
Stagiaires/Doctorants	10 (67)	5 (33)		15
<b>Département</b>			0,57	
Scientifiques	6 (75)	2 (25)		8
Techniques	18 (67)	9 (33)		27
Administration	2 (100)	0 (0)		2
<b>Ancienneté dans le poste</b>			0,67	
Moins de 5 ans	20 (74)	7 (26)		27
Plus de 5 ans	6 (60)	4 (40)		10
<b>Site de prélèvement</b>			0,19	
Main	12 (52)	11 (48)		23
Nez	11 (79)	3 (21)		14

\* P-value globale du test du Chi 2 ou du test exact de Fisher le cas échéant, comparant différentes catégories entre les porteurs et les non-porteurs de *S. aureus* résistant à la méticilline



**Figure 1 :** Phénotypes de résistance des souches de SARM isolées

## DISCUSSION

Des 93 agents de l'IPCI concernés par l'étude, une prévalence de portage nasal de *S. aureus* de 15% a été estimée, parmi lesquels les porteurs de SARM représentaient 21% (3/14), soit une prévalence de portage nasal de SARM de 3,2%. Une étude similaire réalisée sur le personnel de santé participant à un symposium international en France avait rapporté 1,6% sur la population de l'étude (Saadatian-Elahi 2013). Le portage dans cette étude, reste toutefois inférieur à celui de 17,8% rapporté par Akoua dans son étude sur les professionnels de santé exerçant dans les centres hospitaliers universitaires de la ville d'Abidjan (Akoua-Koffi 2004). De nombreuses autres études estiment la prévalence du portage nasal de SARM à plus de 40% (Farley 2008, Cabrera 2010). Le niveau relativement bas du portage nasal rapporté dans la présente étude pourrait être lié, d'une part à des considérations techniques et d'autre part à la politique qualité en vigueur à l'IPCI. Techniquement, la méthode d'isolement utilisée, c'est-à-dire l'inoculation directe des écouvillons nasaux sur la gélose hypersélective de Chapman sans un enrichissement ou une revivification de plus longue durée, pourrait contribuer à réduire la fréquence d'isolement de ce germe. Sur le plan de la politique interne de l'institut, l'engagement de l'IPCI en démarche qualité en vue d'une accréditation, et de fait l'existence et l'utilisation des stations de lavage des mains accessibles à l'ensemble du personnel formé en hygiène et biosécurité, constitue une barrière efficace contre la diffusion des souches de SARM. Ce dernier argument pourrait être soutenu par la régression du portage observé en comparaison avec les données rapportées en 2006 par Aboli et qui fournissait un portage de près de 46,2% de SARM chez le personnel de l'IPCI (Aboli 2006).

Pour ce qui concerne le portage manuel, *S. aureus* était retrouvé chez 25% parmi lesquels les porteurs de SARM représentaient 48% (11/23) soit 11,8% de la population de l'étude. La main étant le principal vecteur de la contamination par les SARM, cela

laisse supposer d'une possible contamination des surfaces et du matériel de l'IPCI et donc participer à la diffusion des SARM.

La recherche de corrélations possibles entre le portage de SARM et différents facteurs de risque à savoir l'âge ( $p= 0,52$ ), la catégorie professionnelle ( $p= 0,88$ ), l'ancienneté au poste ( $p=0,57$ ) n'a montré aucune différence significative. Par contre, en ce qui concerne le sexe, un portage de SARM plus élevé chez les hommes que chez les femmes a été obtenu ( $p=0,045$ ). Le portage de SARM était en effet 43% des porteurs de *S. aureus* pour les hommes contre 12,5% pour les femmes ( $n=2$ ). Ce constat qui établit une synergie entre le genre masculin et le risque de portage de SARM a également été observé dans la plupart des études réalisées sur le portage de SARM (Saadatian-Elahi 2013, Farley 2008, Cabrera 2010). Cependant l'étude réalisée par Oslen a rapporté une prévalence du portage de SARM plus important chez les professionnels de santé du genre féminin (Olsen 2013).

La taille relativement faible des porteurs de SARM au cours de cette étude pourrait expliquer ces résultats. En effet, le petit nombre de porteurs de SARM dans notre étude n'a pas permis d'évaluer les facteurs de risque et d'étudier l'effet du respect des bonnes pratiques d'hygiène et de biosécurité sur le portage nasal ou manuel de SARM.

Cette même observation avait été faite dans l'étude de Saadatian qui avait obtenu 3 porteurs de SARM sur 176 agents de santé participant à son étude (Saadatian-Elahi 2013).

Des études prospectives devront être envisagées pour déterminer les possibles associations entre le portage nasal ou manuel de SARM et le respect des règles d'hygiène et de biosécurité.

Concernant l'antibiogramme, sur les 37 souches de *S. aureus* testées aux 11 disques d'antibiotiques, une proportion variable de SARM exprimait aussi des résistances à d'autres familles d'antibiotiques. La vancomycine restait l'antibiotique pour qui aucune résistance n'avait été mise en évidence. Ce même résultat avait été observé dans la série de Sharon (Sharon 2013). Par contre, Kejela (Kejela 2013), dans son étude sur le portage nasal des enfants et des prisonniers avait trouvé une sensibilité de 87,2% à la vancomycine sur les SARM isolés. Les pourcentages de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées au cours de cette étude étaient de 24,1% pour l'Erythromycine, 20,4% pour la Kanamycine, 13% pour la Ciprofloxacine, 7,4 % pour la Tétracycline et 14,8% pour l'acide fusidique. La majorité des isolats étaient sensibles à la Pristinamycine.

En ce qui concerne les phénotypes de résistance obtenus, concernant les aminosides, le phénotype KTG a été retrouvé à 42,9%, pour les macrolides le phénotype M par efflux actif a été retrouvé à 28,6% et 14,8% présentaient un phénotype MLSb inducible. Quant aux quinolones, une résistance croisée était rapporté à 28,6% tandis que 21,4% des SARM présentaient une sensibilité diminuée aux glycopeptides. Tous ces résultats témoignent du caractère multi-résistant des SARM isolés au cours de cette étude. Des constats identiques ont été rapportés des isolats de Akoua-Koffi (Akoua-Koffi 2004) et Kejela (Kejela 2013).

## CONCLUSION

Les résultats obtenus montrent la présence de souches de SARM chez le personnel de l'IPCI à des niveaux relativement faibles. Ces résultats suggèrent la poursuite de la surveillance du portage nasal des SARM chez le personnel de l'IPCI en vue de mieux apprécier les facteurs de risque du portage. Par ailleurs, la recherche de la présence de niche de SARM dans l'environnement de l'institut devrait être envisagée.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs adressent leurs sincères remerciements aux autorités de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire ainsi qu'à l'ensemble du personnel de l'Institut pour leur contribution à cette étude.

## RÉFÉRENCES

- Akoua-Koffi C, Dje K, Touré R, Guessenn N, Acho B, Faye-Ketté H, Loukou YG, Dosso M. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among health care personnel in Abidjan, Cote d'Ivoire. *Med Trop (Mars)*. 2004; 64 (2) : 205-6.
- Aboli T. Portage nasal de bactéries résistantes à potentialité épidémique chez le personnel: cas de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Mémoire de CES de Bactériologie- Virologie Université de Cocody-Abidjan 2006
- Cabrera EC, Ramirez-Argamosa DT, Rodriguez RDM: Prevalence of community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from inmates of the Manila City Jail, characterization for SCCmec type and occurrence of Panton-Valentine leukocidin gene. *Philipp Sci Letters* 2010, 3:1-5.
- Diekema DJ, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clinical Infectious Diseases* 2001; 32 (Suppl 2) : 114-132.
- Farley JE, Ross T, Stamper P, Baucom S, Larson E, Carroll KC: Prevalence, risk factors, and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among newly arrested men in Baltimore, Maryland. *Am J Infect Control* 2008, 36:644-650.
- Kejela and Bacha Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among primary school children and prisoners in Jimma Town, Southwest Ethiopia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2013 12:11.
- Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10 : 505-20
- Loren G. Miller, Samantha J. Eells, Alexis R. Taylor, Michael Z. David, Nancy Ortiz, Diana Zychowski, Neha Kumar, Denise Cruz, Susan Boyle-Vavra, and Robert S. Daum.
- Staphylococcus aureus* Colonization Among Household Contacts of Patients With Skin Infections: Risk Factors, Strain Discordance, and Complex Ecology *Clin Infect Dis*. 2012
- Mostofsky E, Lipsitch M, and Regev-Yochay G. Is methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* replacing methicillin-susceptible *S. aureus*? *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 2199-2214
- Olsen K., Sangvik M., Simonsen G. S., Sollid J. U. E., Sundsfjord A., THUNE I., and Furberg A.-S. Prevalence and population structure of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in healthcare workers in a general population. The Tromsø Staph and Skin Study. *Epidemiol. Infect.* 2013, 141, 143-152. f Cambridge University Press 2012
- Saadatian-Elahi M, Tristan A, Laurent F, Rasigade J-P, Bouchiat C, et al. Basic Rules of Hygiene Protect Health Care and Lab Workers from Nasal Colonization by *Staphylococcus aureus*: An International Cross-Sectional Study. *PLoS ONE* 2013; 8(12): e82851. doi:10.1371/journal.pone.0082851
- Sharon R. R, Naba K. H, Hitesh K. Prevalence of Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* among healthcare workers at a Tertiary Care Hospital in Assam with Special Reference to MRSA. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 2013 February, Vol-7(2): 257-260
- Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 751-62