

© Коллектив авторов, 2007

Л.В. Феклисова¹, Л.А. Галкина¹, С.П. Казакова¹, Е.А. Воропаева²,
В.А. Алешкин², С.С. Афанасьев²

ОБ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОРИГИНАЛЬНЫХ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПРОБИОТИКОВ ПОЛИБАКТЕРИНА И КИПАЦИДА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ АНГИНОЙ

¹ ГУ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского;

² ФГУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

Нормальная микрофлора характеризуется сбалансированным качественным и количественным составом микроорганизмов, свойственных каждому из биотопов человеческого организма. Пищеварительному тракту, имеющему обособленно важное значение в жизнедеятельности человека, посвящены многочисленные и многолетние наблюдения различных авторов и коллективов, позволившие сформировать позиции не только в части морфофункциональных характеристик нормофлоры, но и особенностей ее состояния в зависимости от влияния различных стрессогенных факторов [1, 2].

Однако в настоящее время единой точки зрения об особенностях микробиоты ротоглотки детей не имеется, хотя многими авторами подчеркивается ее принципиальная значимость. Вместе с тем нередко обнаруженные лабораторно в ротоглотке микроорганизмы при воспалительных процессах оцениваются как источники возникновения заболевания [3–6].

Проблема воспалительных заболеваний ротоглотки находится в центре внимания педиатров и отоларингологов, что определяется широким распространением данной патологии, преимущественно среди детей [7, 8]. Ведущие отечественные оториноларингологи определяют ангину как «самостоятельное общее заболевание одного или нескольких компонентов глоточного лимфоаденоидного кольца с более частым поражением паренхимы, лакунарного и фолликулярного аппарата небных миндалин» [9, 10]. В соответствии с Программой Союза педиатров «Острые респираторные заболевания у детей» и наряду с предложенными МКБ 10 терминами фарингит, тонзиллит, фаринготонзиллит допустимо использование диагноза «ангина» [11].

Основными возбудителями ангины считаются стрептококки, но одновременного углубленного качественно-количественного исследования состояния микробиоты слизистых оболочек ротоглотки не проводилось. Применение антибиотиков является неотъемлемым звеном в комплексной те-

рапии ангины [12–14]. Хорошо известны побочные эффекты системной антибактериальной терапии в виде развития дисбиотических нарушений. Представляется весьма актуальным совершенствование комплексного лечения ангины с учетом назначения не только антибиотиков, но и включения в схему терапии современных пробиотических препаратов.

Целью настоящего исследования явилось изучение состояния микробиоты слизистых оболочек ротоглотки при ангине и коррекция дисбиотических нарушений с использованием оригинальных отечественных пробиотиков Полибактерина и Кипацида.

Полибактерин – биологически активная добавка (изготовитель ООО «Алфарм», Москва), в состав которой входит мультипробиотическая композиция из 7 производственных штаммов бифидобактерий и лактобацилл в количестве не менее 10^8 КОЕ в 1 г (*Bifidobacterium bifidum* ЛВА-3, *B. longum* В379М, *B. breve* 79–119, *B. adolescentis* ГО-13, *Lactobacillus acidophilus* NK1, *L. plantarum* 8РА-3, *L. fermentum* 90-Т-4) (Р.У. № 002071. Р.643.10.2000).

Кипацид – биологически активная добавка (изготовитель ЗАО «Иммуно-Гем», Москва), в состав которой входят ацидофильные лактобациллы антагонистически активных штаммов НК, КЗШ24, 100аш в количестве не менее 10^8 КОЕ в 1 г, а также лизоцим с активностью 1700 ед/г (Р.У. №001979.Р.643.08.2000, ТУ 9383-001-18756307-99).

Исследования проведены в инфекционном отделении детской городской клинической больницы Св. Владимира. Под наблюдением находились 90 больных ангиной детей в возрасте от 3 до 14 лет с преобладанием пациентов школьного возраста (старше 7 лет – 70%).

Больные поступали в стационар в среднем на $3,92 \pm 2,68$ день от начала заболевания. На догоспитальном этапе каждый четвертый ребенок (24,4%) получал антибактериальные препараты: полусинтетические пенициллины или макролиды.

У 60% пациентов отмечалось отягощенное преморбидное состояние: хроническая патология ЛОР-

органов (38,9%), аллергические реакции в анамнезе (25,6%), хронический пиелонефрит (6,7%), 22,2% детей относились к группе часто болеющих.

В отделении совместно с ЛОР-врачами был установлен клинический диагноз: лакунарная ангина у 83 детей (92,2%), фолликулярная ангина у 7 пациентов (7,8%). Почти у $\frac{1}{3}$ детей (36,7%) с момента их поступления в стационар одновременно выявлены множественные гнойно-воспалительные очаги в виде паратонзиллита (8,9%), паратонзиллярного абсцесса (17,8%), стоматита (7,8%), отита (2,2%). Диагноз ангины ставили на основании характерной клинической картины, включавшей в себя лихорадку, интоксикацию, местный гнойно-воспалительный процесс в ротоглотке с поражением небных миндалин и увеличением регионарных лимфатических узлов.

В зависимости от вида проводимой терапии больные ангиной были распределены на 3 группы:

1-я (контрольная) состояла из 30 больных, получавших общепринятую в отделении терапию, включающую антибактериальные и симптоматические средства, в том числе жаропонижающие, антигистаминные;

2-я (основная) состояла из 30 пациентов, в которой детям до 7 лет наряду с общепринятой антибактериальной терапией (пенициллином или цефазолином) в схему лечения был включен Полибактерин в течение 5 дней по 1 таблетке 3 раза в день, а старше 7 лет – по 2 таблетки 2 раза в день; препарат назначали с первого дня поступления в стационар;

3-я (основная) состояла из 30 детей, в которой кроме общепринятой антибактериальной терапии (пенициллином или цефазолином) пациенты получали Кипацид в течение 5 дней по следующей схеме: 1 таблетка 4 раза в день в течение первых 2 дней, а затем – по 1 таблетке 3 раза в день еще в течение 3 дней; препарат назначали с первого дня поступления в стационар.

Сравниваемые группы были сопоставимы по степени тяжести, возрасту, отягощенности преморбидного статуса, срокам госпитализации, назначению антибактериальной терапии (табл. 1, 2).

Исследование микробиоты ротоглотки у 58 больных детей проводили дважды в лаборатории ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора: до назначения комплексной терапии (включая пробиотики) и через 6–7 дней после ее завершения.

Клинические проявления ангины характеризовались острым началом (100%) с повышения температуры тела (100%), интоксикации (92,2%), жалоб на боль в горле при глотании (86,7%), а также местного воспалительного процесса в ротоглотке: гиперемия слизистой оболочки (100%) и гипертрофии небных миндалин (100%). У всех детей имели место гнойные наложения на миндалинах (100%), определявшиеся как нагноившиеся фолликулы (7,8%) или гнойное содержимое в лакунах (92,2%) с различной степенью выраженности: от умеренных у 58 детей (64,4%) до массивных у 20 детей (22,2%) желто-серого цвета, рыхлых, легко снимающихся и растиравшихся шпателем, без кро-

Таблица 1

Сравнительная характеристика больных ангиной, получавших и не получавших Полибактерин

Признаки	Получавшие Полибактерин, n=30		Не получавшие Полибактерин, n=30		p
	абс	%	абс	%	
Возраст, годы:					
1–3	2	6,7	3	10,0	>0,05
3–7	6	20,0	4	13,3	>0,05
старше 7	22	73,3	23	76,7	>0,05
Отягощенный преморбидный фон	15	50,0	21	70,0	>0,05
Средняя степень тяжести ангины	30	100,0	30	100,0	>0,05
День болезни при поступлении в стационар	3,87±0,44		4,37±0,62		>0,05
Антибактериальная терапия в стационаре,					
в т.ч.: пенициллин	30	100,0	30	100,0	>0,05
цефазолин	16	53,3	18	60,0	>0,05
	14	46,7	12	40,0	>0,05

воточивости. Увеличенные подчелюстные лимфоузлы обнаружены у 98,9%, а сопровождавшиеся болезненностью у 42,2% детей. У детей с паратонзиллитом, паратонзиллярным абсцессом был выявлен тризм жевательных мышц (18,9%) и отек нёбной дужки на стороне поражения (26,7%).

При изучении показателей микробиоценоза слизистых оболочек нёбных миндалин и задней стенки глотки до назначения препаратов были установлены изменения в составе облигатной, добавочной и транзитной микрофлоры ротоглотки по сравнению с таковой у здоровых детей (нормативы здоровых детей определялись в той же лаборатории тем же исследователем). Было обнаружено умеренное снижение частоты высева α -гемолитического стрептококка (39 из 48 детей – 81,2%) и существенно реже (в 2 раза) выделение *Neisseria spp.* (25 из 58 детей – 43,1%, $p < 0,05$), очень редко определялись *Lactobacillus* (8 из 31 ребенка – 25,8%, $p < 0,05$), *Bifidobacterium* отсутствовали вообще. У 24% детей ассоциации облигатных микроорганизмов, обеспечивающих стабильность микробиоценоза ротоглотки, не были обнаружены. *Neisseria spp.* выявлялись только в ассоциации с α -гемолитическими стрептококками, в 4 случаях (6,9%) последние обнаруживались только в виде монокультуры. То есть наиболее стабильно персистирующими в ассоциации облигатных бактерий оказались α -гемолитические стрептококки.

Добавочная группа бактерий была представлена на *Staphylococcus spp.* (18 детей – 32,1%), в том числе *S. aureus* (9 детей – 15,5%) и

Corynebacterium spp. (3 ребенка – 5,2%), со степенью обсеменения, превышавшей таковой уровень у здоровых детей (*S. aureus* – $5,43 \pm 0,53$ против $2,1 \pm 0,21$ lg КОЕ/мл, $p < 0,001$).

Микрофлора транзитной группы характеризовалась отчетливой активацией, обусловленной как существенным повышением частоты выделения (25,9%), так и массивностью обсеменения. Энтеробактерии обнаруживались у 5 детей (8,6%), *S. fecalis* у одного ребенка (1,7%) со степенью колонизации до 7 lg КОЕ/мл и грибы рода *Candida* – у 10 детей (17,2%) в высокой степени контаминации (до 6 lg КОЕ/мл).

Особенностью являлось обнаружение монокультур бактерий добавочной (5 детей – 8,6%) и транзитной (2 детей – 3,4%) групп, а также их ассоциации (один ребенок – 1,7%). В целом добавочные и транзитные микробы в монокультуре обнаружены у 8 детей (13,8%). Монокультура β -гемолитического стрептококка выделена у 3 детей (5,2%), госпитализированных в первые 3 дня болезни и не получавших антибактериальные препараты. Выделение монокультур микробов, не свойственных для данного биотопа, позволяет рассматривать их в качестве вероятного этиологического агента. Кроме того, у 6,9% пациентов посевы были отрицательными.

Раздельный анализ показателей микробиоты в зависимости от ряда параметров свидетельствовал о том, что хронический тонзиллит, сопутствующие множественные гнойно-воспалительные очаги и поздняя госпитализация способствовали

Таблица 2

Сравнительная характеристика больных ангиной, получавших и не получавших Кипацид

Признаки	Получавшие Кипацид, n=30		Не получавшие Кипацид, n=30		p
	абс	%	абс	%	
Возраст, годы:					
до 7	8	26,7	7	23,3	>0,05
старше 7	22	73,3	23	76,7	>0,05
Отягощенный преморбидный фон	20	66,7	21	70,0	>0,05
Средняя степень тяжести ангины	30	100,0	30	100,0	>0,05
День болезни при поступлении в стационар	3,63±0,38		4,37±0,62		>0,05
Антибактериальная терапия в стационаре,					
в т.ч.: пенициллин	30	100,0	30	100,0	>0,05
цефазолин	16	53,3	18	60,0	>0,05
	14	46,7	12	40,0	>0,05

Таблица 3

Клиническая эффективность применения Полибактерина в терапии больных ангиной

Показатели	Получавшие Полибактерин n=30			Не получавшие Полибактерин n=30		
	кол-во детей		продолжи- тельность, дни	кол-во детей		продолжи- тельность, дни
	абс.	%		абс.	%	
Интоксикация	29	96,7	2,25±0,15***	28	93,3	3,14±0,21
Лихорадка	30	100	1,83±0,18***	30	100	3,53±0,26
Боль в горле	28	93,3	2,18±0,14*	25	83,3	2,72±0,18
Увеличение лимфоузлов	30	100	5,25±0,24***	30	100	7,34±0,27
Гиперемия ротоглотки	30	100	6,17±0,21***	30	100	8,1±0,22
Гипертрофия миндалин	30	100	6,46±0,35***	30	100	8,07±0,31
Наложения на миндалины	30	100	3,71±0,38*	30	100	4,93±0,29

* p<0,05; *** p<0,001.

большой глубине дисбиоза. Последнее нашло отражение в повышении удельного веса энтеробактерий (15,0–18,8%) и грибов рода *Candida* (до 18,8–23,2%), значительно превышавших по частоте обнаружения и массивности обсеменения их уровень у здоровых детей. Микробиоту больных с множественными гнойными очагами дополнительно характеризовали высокая частота монокультур *S. aureus* (12,5%) или же отсутствие роста микробов (12,5%).

Таким образом, гнойно-воспалительный процесс при ангине сопровождается глубокими нарушениями колонизационной резистентности, что подтверждено наличием дисбиоза у 100% больных ангиной детей. Факторами риска развития дисбиоза и глубины его нарушений явилось наличие хронической патологии ЛОР-органов, множественных гнойно-воспалительных очагов, поздние сроки поступления и проведение антибактериальной терапии на догоспитальном этапе. Это служило основанием использовать пробиотические препараты для коррекции дисбиотических расстройств.

Включение в комплексную терапию больным ангиной нового отечественного пробиотика Полибактерина оказывало положительное влияние на динамику клинико-микробиологических показателей. В сравниваемых наблюдаемых группах больных к началу терапии отмечались равная частота встречаемости признаков интоксикации, повышения температуры тела, симптомов гнойно-воспалительного поражения ротоглотки (гиперемия слизистых оболочек, гипертрофия миндалин, гнойные наложения на небных миндалинах), уве-

личение и болезненность регионарных лимфатических узлов (табл. 3).



АНФ Ассоциация Производителей Фармацевтической продукции и изделий медицинского назначения

ПОЛИБАКТЕРИН®
60 таблеток по 0,45 ± 0,05 г
вакциногенная АКТИВНАЯ форма полибактерина

Разработан в ФГУН "Московский НИИ Эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора"

Главные симптомы дисбактериоза:

- аллергия, которая часто встречается у детей, более чувствительных к воздействию вредных факторов;
- ослабление иммунитета, нарушение общего развития;
- диарея и повышенное газообразование, отрыжка и изжога;
- неприятный запах изо рта, интоксикация, головная боль, слабость, повышение температуры;
- дискинезия желчевыводящих путей и кишечника;
- хронический гастро-дуоденит;
- урогенитальные проблемы;
- колит, нейродермит, бронхиальная астма.

«ПОЛИБАКТЕРИН» первый российский комплексный пробиотический препарат последнего поколения, в состав которого входит **композиция из семи производственных штаммов бифидобактерий и лактобацилл.**

**УНИКАЛЬНАЯ РАЗРАБОТКА
ОТЕЧЕСТВЕННЫХ УЧЕНЫХ!**

ПОЛИБАКТЕРИН®

Таблица 4

Клиническая эффективность применения Кипацида в терапии больных ангиной

Показатели	Получавшие Кипацид n=30			Не получавшие Кипацид n=30		
	кол-во детей		продолжи- тельность, дни	кол-во детей		продолжи- тельность, дни
	абс.	%		абс.	%	
Интоксикация	26	86,7	1,62±0,14***	28	93,3	3,14±0,21
Лихорадка	30	100	2,07±0,38**	30	100	3,53±0,26
Боль в горле	25	83,3	2,24±0,18	25	83,3	2,72±0,18
Увеличение лимфоузлов	30	100	5,38±0,27***	30	100	7,34±0,27
Гиперемия ротоглотки	30	100	6,33±0,24***	30	100	8,1±0,22
Гипертрофия миндалин	30	100	6,8±0,35**	30	100	8,07±0,31
Наложения на миндалины	30	100	3,10±0,21***	30	100	4,93±0,29

** p<0,01; *** p<0,001.

Анализ сопоставляемых данных показал, что у больных, получавших Полибактерин, по сравнению с контрольной группой, достоверно снижались сроки продолжительности периода лихорадочной реакции (1,83±0,18 против 3,53±0,26 дней, p<0,001), интоксикации (2,25±0,15 против 3,14±0,21 дней, p<0,001), раньше исчезали гиперемия слизистой оболочки (6,17±0,21 против 8,1±0,22 дней, p<0,001), гипертрофия небных миндалин (6,46±0,35 против 8,07±0,31 дней, p<0,001), налеты с небных миндалин (3,71±0,38 против 4,93±0,29 дней, p<0,05), сокращались размеры лимфоузлов шейной группы (5,25±0,24 против 7,34±0,27 дней, p<0,001) (табл. 3).

При изучении микробиоты отмечено положительное влияние Полибактерина на ее количественный и качественный состав: увеличилась частота обнаружения *Neisseria* в 2,6 раза (от 21,4% до 55,6%), исчезли микроорганизмы добавочной и транзитной групп (*S. aureus*, грибы рода *Candida* и энтеробактерии). Отсутствовали ранее выделяемые в монокультуре α- и β-гемолитические стрептококки, *S. fecalis*, *Corynebacterium*, *S. aureus* (см. рисунок).

При катamnестическом наблюдении 20 детей в течение 1 месяца после лечения Полибактерином период реконвалесценции протекал гладко, без осложнений, повторных случаев ангины не возникало.

Сравнительный анализ продолжительности клинических симптомов ангины у больных в рандомизированных группах, получавших и не получавших Кипацид, показал, что применение препарата способствовало достоверному сокращению сроков продолжительности интоксикации (1,62±0,14 против 3,14±0,21 дней, p<0,001), ли-

хорадки (2,07±0,38 против 3,53±0,26 дней, p<0,01), признаков воспалительного процесса в ротоглотке: гиперемии слизистых оболочек (6,33±0,24 против 8,1±0,22 дней, p<0,001), гипертрофии небных миндалин (6,8±0,356,9±0,37 против 8,07±0,31 дней, p<0,01) и налетов на них (3,10±0,21 против 4,93±0,29 дней, p<0,01). Быстрее сокращались размеры лимфоузлов шейной группы (5,38±0,27 против 7,34±0,27 дней, p<0,001) (табл. 4).

На фоне лечения Кипацидом увеличилась частота обнаружения *Neisseria* в 1,15 раза (от 45,5% до 52,4%), достоверно чаще регистрировались *Lactobacillus* (от 27,3% до 57,1%, p<0,05). Из представителей добавочной микрофлоры в 2,4 раза сократилось выделение *S. aureus* (от 22,7% до 9,5%). Реже встречались транзитные микроорганизмы – в 1,7 раза уменьшилась частота обнаружения грибов рода *Candida* (от 31,8% до 19%) и в 1,3 раза – энтеробактерий (от 18,2% до 14,3%). Не обнаруживались и ранее встречавшиеся монокультуры микроорганизмов (13,6% и 0) (см. рисунок).

Применяемые в комплексном лечении ангины у детей оригинальные отечественные пробиотические препараты Полибактерин и Кипацид хорошо переносились больными, ни в одном случае их использования не было отмечено аллергических или других отрицательных побочных реакций.

Таким образом, в составе детей, больных ангиной, чаще наблюдались школьники, имеющие в 60% отягощенное преморбидное состояние, в том числе наличие в анамнезе хронического тонзиллита (38,9%), и одновременно сопутствующие гнойно-воспалительные очаги инфекции (36,7%).

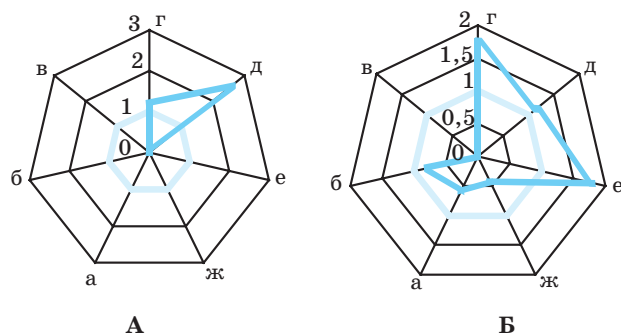


Рисунок. Динамика микробиоты ротоглотки у больных ангиной при лечении Полибактерином (А) и Кипацидом (Б). Окружность, принятая за 1, – первичные показатели до лечения, ломаная линия – показатели микрофлоры после лечения; а – *Candida*, б – энтеробактерии, в – монокультуры, г – стрептококк, д – нейссерии, е – монострептококк, ж – стафилококк; у больных, получавших Полибактерин, определение лактобацилл не проводилось.

Микробиота слизистых оболочек ротоглотки у всех пациентов, больных ангиной, характеризовалась дисбиотическими нарушениями в виде снижения микробной массы облигатных микроорганизмов – *Neisseria*, *Lactobacillus*, реже стрептококков, роста добавочных (стафилококки) и транзитных микроорганизмов (энтеробактерии и грибы рода *Candida*). Выделение монокультур микробов, не свойственных данному биотопу (13,8%), а также изменение видового состава стрептококков с появлением β -гемолитического стрептококка (5,2%), позволяет рассмат-

ривать их в качестве вероятных этиологических источников гнойного поражения миндалин при ангине. Наиболее выраженные дисбиотические нарушения обнаружены у контингента больных: а) имевших в анамнезе хронический тонзиллит; б) имевших сопутствующие множественные гнойно-воспалительные очаги инфекции; в) поступавших в поздние сроки болезни и получавших антибактериальную терапию на догоспитальном этапе.

Выявленные дисбиотические расстройства в ротоглотке служили обоснованием к включению в комплексную терапию корригирующих пробиотических препаратов.

Применение оригинальных отечественных пробиотиков Полибактерина или Кипацида повышало результативность терапии, способствовало сокращению сроков продолжительности клинических проявлений и улучшению показателей микробиоты слизистой оболочки, обусловленных ростом массы постоянных микроорганизмов и снижением содержания условно-патогенных бактерий. С нашей точки зрения, нормализация показателей микробиоты происходила за счет восстановления частоты встречаемости микробной массы из представителей облигатной группы и их ассоциаций – стрептококков, нейссерий, лактобактерий и снижения количества до полного исчезновения добавочных и транзитных микроорганизмов. Полученные позитивные клинические и микробиологические данные позволяют рекомендовать включение пробиотических препаратов Полибактерина и Кипацида в комплексную терапию детей, больных ангиной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клинко-лабораторный синдром. М., 2007: 300.
2. Hunter Y., Madden Y. A review of the role of the gut microflora in irritable bowel syndrome and the effects of probiotics. Br. J. Nutr. 2002 (suppl 1): 67–72.
3. Koll-Klais P., Mandar R., Leibur E. et al. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. J. Oral Microbiol. Immunol. 2005; 20 (6): 354–361.
4. Феклисова Л.В. и др. Новые подходы к использованию пробиотиков в комплексном лечении ОРВИ у детей. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2001; 5: 31–34.
5. Шевелева С.А. Медико-биологические требования к пробиотическим продуктам и биологически активным добавкам к пище. Инфекционные болезни, 2004; 2 (3): 86–90.
6. Isolauri E., Kirjavainen P., Salminen S. Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation. Gut. 2002; 50 (suppl. 3): 54–59.
7. Богомильский М.Р., Чистякова В.Р. Детская оториноларингология. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001: 432.
8. Гаращенко Т.И. Тонзиллярная проблема в педиатрии. Рос. ринология. 1999; 1: 31–35.
9. Руководство по оториноларингологии. Под ред. И.Б. Солдатова. М.: Медицина, 1994: 608.
10. Цветков Э.А. Аденонозиллиты и их осложнения у детей. СПб.: ЭЛБИ СПб., 2003: 124.
11. Острые респираторные заболевания у детей: лечение и профилактика. Научно-практическая программа. Союз педиатров России. Международный фонд охраны здоровья матери и ребенка. М., 2002: 26–27.
12. Самсыгина Г.А. Инфекции респираторного тракта у детей раннего возраста. М.: Миклош, 2006: 279.
13. Paulo M.C. Pitrez, Jose L.B. Pitrez. Acute upper respiratory tract infections – outpatient diagnosis and treatment. J. de Pediatria. 2003; 79, Suppl. 1: 77–86.
14. Practice guidelines for the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis. Bisno AL. et al. Clin. Infect. Dis. 2002; 35: 113–125.