

Resistencia antimicrobiana y distribución de serotipos de *Streptococcus pneumoniae* aislados de infecciones invasivas en el Hospital de Niños de Santa Fe

Mayoral, C. * (1); Rossi, A. (2); Regueira, M. (3); Corso, A. (2); Pace, J.(3); Beltramino, J. C. (4); Bulletich, A. (1).

(1) Sección Bacteriología. Hospital de Niños "Ricardo Gutiérrez", Santa Fe.

(2) División Antimicrobianos. INEI. A.N.L.I.S. "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires.

(3) División Bacteriología Clínica. INEI. A.N.L.I.S. "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires.

(4) Servicio de Clínica Médica. Hospital de Niños "Ricardo Gutiérrez", Santa Fe.

Resumen

En la última década ha aumentado el número de aislamientos de *S. pneumoniae* resistentes a penicilina y a cefalosporinas de tercera generación, en todo el mundo.

En el Hospital de Niños de Santa Fe, dentro del marco del Proyecto Nacional Multicéntrico de Vigilancia Epidemiológica de *S. pneumoniae*, dirigido por el INEI. ANLIS "Dr. C. Malbrán", nos propusimos estudiar, entre julio de 1993-diciembre de 1999, la distribución de serotipos, su resistencia a penicilina y a cefotaxima de aislamientos a partir de 114 niños con infecciones invasivas y también la relación entre resistencia y serotipos con variables clínicas y epidemiológicas.

Las concentraciones inhibitorias mínimas de penicilina y cefotaxima, fueron realizadas por el método de dilución en agar. Para otros antimicrobianos, se empleó el método de difusión con discos, ambos, de acuerdo a las normas de NCCLS.

Las resistencias a penicilina y cefotaxima resultaron ser 29,35% y 18,5%, respectivamente. Si bien la resistencia a penicilina se observó más frecuentemente en neumonías que en meningitis y en niños menores de dos años que en mayores, no hubo asociación significativa entre ésta y alguna patología en particular, ni con estos grupos etáreos.

Los serotipos: 14,1, 6B, 9N y 7F fueron los más frecuentes en orden decreciente.

El 14 mostró asociación estadísticamente significativa con la resistencia a penicilina y con cefotaxima y no así con alguna determinada patología. Es de nuestro interés, continuar con la vigilancia epidemiológica de *S. pneumoniae*, especialmente de su resistencia, a fin de adecuar el tratamiento empírico de las infecciones invasivas producidas por este microorganismo.

Antimicrobial resistance and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolated from invasive infections in the Children's Hospital of Santa Fe

Summary

In the last ten years, the frequency of *S. pneumoniae* resistant to penicillin and third generation cephalosporins, has increased all over the world.

This study was performed in the Santa Fe Children's Hospital from July 1, 1993 to December 31, 1999, as part of the National Multicenter Epidemiological Surveillance Network of *S. pneumoniae* coordinated by the INEI- ANLIS "Dr. Carlos Malbrán". One hundred and fourteen children with pneumococcal invasive infections were studied. The serotype distribution and the resistance rate to penicillin and cefotaxime of the correspondent isolates were determined as well as their epidemiologic and clinical relation.

Minimal inhibitory concentrations of penicillin and cefotaxime were performed by the agar dilution method according to NCCLS guidelines. Other antimicrobial agents were tested by the NCCLS disk diffusion method. Resistance rates to pe-

* Dirección postal: Rivadavia 2441, (3000) Santa Fe, Argentina. Fax: 054 - 0342 - 4529028. E-mail: cmayoral@fcb.unl.edu.ar

Palabras clave: *Streptococcus pneumoniae*, resistencia, penicilina, cefotaxima, distribución de serotipos.

Key words: *Streptococcus pneumoniae*, resistance, penicillin, cefotaxime, serotype distribution.

nicillin and cefotaxime were 29.4% and 18.5%, respectively.

Penicillin resistance was more frequently observed in pneumococci isolated from patients with pneumonia than in those with meningitis and more frequently in infants than in older children. However, there was not found a significant association between penicillin-resistance and any particular pathology or any age group.

The most frequent serotypes, in decreasing order, were 14, 1, 6B, 9N, 7F. Type 14 showed a statistically significant correlation with penicillin-resistance but not with isolates from any special pathology.

We will continue with the surveillance of *S. pneumoniae*, mainly its resistance, in order to improve the schemes for the empirical treatment of pneumococcal invasive infections.

Introducción

Las primeras cepas de *Streptococcus pneumoniae* resistentes a penicilina (PEN) fueron comunicadas en Boston en 1965, en Nueva Guinea y Australia en 1967 y seguidamente en Sudáfrica, donde se aislaron cepas invasivas resistentes a PEN y a cloranfenicol (CLO), como también cepas multirresistentes. Patrones similares de resistencia han sido documentados en España (1) y Hungría (2).

En los últimos 10 años, estas cepas resistentes han proliferado a tal grado que se encuentran distribuidas en todo el mundo (3,4,5). También ha habido numerosos informes sobre fracasos terapéuticos en el tratamiento de infecciones invasivas por *S. pneumoniae* con ceftriaxona (CRO) y cefotaxima (CTX) (6,7,8,9,10).

Dentro del marco del Proyecto Nacional de Vigilancia Epidemiológica de *S. pneumoniae* (11), coordinado por el INEI - ANLIS "Dr. Carlos Malbrán", nos propusimos estudiar la distribución de serotipos y la resistencia a PEN y CTX de *S. pneumoniae* aislados de infecciones invasivas en el Hospital de Niños de Santa Fe, en el período comprendido entre julio de 1993 y diciembre de 1999. También se analizó, en los 6 años y medio de estudio, la correlación entre: resistencia a penicilina y serotipos; resistencia a penicilina y patología; resistencia a penicilina y edad; serotipos y patología y las características clínicas de los pacientes con infecciones invasivas debidas *S. pneumoniae* a que presentaron resistencia a PEN y a CTX.

Materiales y Métodos

Se estudiaron 114 cepas de *S. pneumoniae*, aisladas de pacientes pediátricos cuyas edades estaban comprendidas entre 28 días y 13 años de edad, internados en el Hospital por: neumonía (n=63), meningitis (n=37), sepsis (n=6), artritis (n=2), peritonitis (n=4), y otras patologías (n=2). La media de la edad de los niños fue de 14 meses; 85 de ellos (74.5 %) eran menores de 2 años. Los aislamientos provenían de cultivos de sangre (n=65), líquido cefalorraquídeo (n=36), líquido pleural (n=20), punción de cadera (n=2) y líquido peritoneal (n=3). Se recolectaron dos muestras de hemocultivos por cada paciente. En una ficha epidemiológica se registraron los datos de edad, nutrición, terapia con antibióticos beta-lactámicos en los tres meses anteriores al aislamiento de *S. pneumoniae*, internaciones previas

y enfermedad subyacente.

En el servicio de Bacteriología de dicho Hospital se identificó *S. pneumoniae* con la prueba de sensibilidad a la optoquina y la de solubilidad en desoxicolato de sodio al 10% y se realizaron pruebas de sensibilidad por el método de difusión por disco de oxacilina (OXA) 1 µg, eritromicina (ERY) 15 µg, rifampicina (RIF) 5 µg, trimetoprima-sulfametoxazol (TMS) 1,25/23,75 µg, CLO 30 µg, y vancomicina (VAN) 30 µg según recomendaciones del NCCLS (12,13). Diámetros de inhibición menores o iguales a 19 mm alrededor del disco de OXA fueron considerados indicativos de probable sensibilidad intermedia o resistencia a penicilina [Concentración inhibitoria mínima (CIM) = 0,1-1 ó > 1mg/l, respectivamente]. Diámetros mayores de 20 mm, fueron interpretados como indicadores de sensibilidad a PEN (CIM ≤ 0.06 mg/l).

Se utilizó a *S. pneumoniae* ATCC 49619 como cepa de referencia.

De las 114 cepas aisladas en el Hospital de Santa Fe, 92 fueron enviadas al INEI-ANLIS "Dr. Carlos Malbrán" donde se realizó la serotipificación, utilizando la Reacción de Neufeld-Quellung (14) y las CIM, siguiendo las recomendaciones antes mencionadas.

El análisis estadístico de los resultados se realizó con el programa EPIINFO 6. Para las variables cualitativas se utilizó el test de *chi-cuadrado* con corrección de Yates. Como medida de asociación se usó *odds ratio* (OR) con un intervalo de confianza (CI) de 95%.

Resultados

En la Tabla 1 se presenta la resistencia de *S. pneumoniae* a PEN y a CTX. Se obtuvieron valores de 29,4% y 18,5% para la suma de las cepas resistentes y de sensibilidad intermedia con PEN y CTX respectivamente.

En 87 de los 92 aislamientos hubo correlación entre el método de "screening" con discos de OXA y la CIM de PEN (datos no mostrados).

La distribución de serotipos según el diagnóstico clínico y la resistencia a PEN se muestra en la Tabla 2.

Los 92 aislamientos serotipificados, correspondieron a 18 serotipos diferentes. La mayoría de ellos (92,4 %) estaban incluidos en la vacuna polisacárida 23-valente. También se aislaron cepas de los serotipos 15, 18 y 33 y dos no pudieron ser tipificadas por el esquema de Sørensen.

En orden decreciente, los serotipos más frecuentes fueron: 14, 1, 6B, 9N y 7F. Se encontró una asociación significativa entre el serotipo 14 y la resistencia a PEN y a CTX ($p < 0,00001$). Su resistencia a PEN, del 75%, fue significativamente mayor que la observada en los otros serotipos [OR=34,42 (8,73 < OR < 148,97)]. El serotipo 14 se recuperó en el 33,3% de las neumonías y en el 28% de las meningitis neumocócicas, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

En la Tabla 3 se observa la distribución de *S. pneumoniae* resistentes a PEN según diagnóstico clínico. Si bien la resistencia a PEN fue más frecuente en pacientes con neumonías (35,1%), que en aquellos con meningitis (20%), esta diferencia no mostró asociación significativa ($p > 0,05$).

El porcentaje de aislamientos de *S. pneumoniae* resistentes a PEN fue mayor en niños menores de 2 años (32,9%), comparado con los mayores de 2 años (15,8%), aunque esta diferencia de porcentajes no resultó estadísticamente significativa ($p > 0,05$) (Tabla 4).

Uno de los 17 aislamientos de *S. pneumoniae* con sensibilidad disminuida a CTX tuvo una CIM de 4 mg/L, tres tuvieron una CIM de 2 mg/L y los restantes presentaron sensibilidad intermedia (1 mg/L). Nueve de los 17 fueron resistentes a PEN, con CIM de PEN de 2 mg/L y los restantes tuvieron valores de CIM entre 0,5 y 1 mg/L. Dos de estos aislamientos provenían de niños con meningitis y 15 de neumonías.

Algunas características clínicas de los 17 pacientes en los que se aislaron cepas de *S. pneumoniae* con sensibilidad disminuida a CTX y PEN: Los 17 pacientes habían recibido administración de algún beta-lactámico, por cuadro respiratorio u otitis, dentro de los 3 meses previos a su infección. En uno de ellos las CIM de CTX y PEN para una cepa de *S. pneumoniae* aislada de líquido cefalorraquídeo fueron de 1 y 2 mg/l, respectivamente. Este había recibido cefuroxima por vía endovenosa en una internación previa en su lugar de origen por diagnóstico de neumonía; luego se le administró cefuroxima por vía oral en forma ambulatoria durante 7 días. Transcurrido ese tiempo se internó nuevamente y se lo trató con ceftriaxona durante 5 días por vía endovenosa. Luego se decidió su derivación al Hospital de Niños de Santa Fe, donde ingresó por neumonía y desnutrición, siguiendo con ceftriaxona por 72hs. Cuando se aisló *S. pneumoniae* de líquido cefalorraquídeo, intratamiento y aún no teniendo el dato de su sensibilidad a los antibióticos, se agregó VAN, no obstante falleció al tercer día. Al segundo paciente con meningitis por *S. pneumoniae* resistente a CTX y PEN (CIM = 1 y 2 mg/l, respectivamente) se le administró CRO a su ingreso. Como el paciente no tuvo buena evolución, se añadió VAN observándose una franca mejoría.

Los pacientes con neumonías originadas por aislamientos recuperados de hemocultivos, con sensibilidad disminu-

da a CTX y PEN, fueron tratados con cefuroxima endovenosa o amoxicilina (80 mg/kg/día), con buena evolución. Sólo en un caso fue necesario cambiar el tratamiento por ampicilina endovenosa (100 mg/kg/día).

Los serotipos de *S. pneumoniae* resistentes a ambos antimicrobianos PEN y CTX, pertenecían a los siguientes serotipos: 14 (n=15), 9V (n=1) y 23F (n=1). Los 17 pacientes de los cuales fueron recuperados presentaban hospitalizaciones previas (n=10), desnutrición (n=12) y enfermedades subyacentes como cardiopatía congénita y atelectasia (n=6).

Las cepas resistentes a CTX fueron resistentes a PEN y todas las sensibles a PEN también lo fueron a CTX.

Los 92 aislamientos de *S. pneumoniae* fueron sensibles a ERY, RIF y VAN. El 40,2% presentó resistencia a TMS y el 2,2% a CLO.

De los 114 pacientes, con infecciones invasivas por *S. pneumoniae*, siete fallecieron (6,1%). Las cepas de estos pacientes fueron sensibles a PEN.

Discusión

El rápido incremento de la resistencia de *S. pneumoniae* a PEN en numerosos países de América, África, Asia y Europa, excepto Alemania (15), donde el nivel de resistencia se mantiene bajo, ha complicado la elección del esquema antibiótico para el tratamiento de enfermedades neumocócicas, especialmente en infecciones invasivas. Más alarmante aún resulta el aumento de la resistencia a cefalosporinas de tercera generación, dado su uso en el tratamiento empírico inicial de las meningitis bacterianas agudas.

La correlación entre el método de "screening" del disco de OXA 1 ug y la CIM a PEN fue de 94,5%, cifra similar a las publicadas por otros autores argentinos (16,17) y extranjeros (18).

La falsa resistencia por el disco de OXA, observada en cinco de las 65 cepas sensibles, es una discrepancia que ha sido descrita previamente (17,18,19). Barry y Fuchs (19), por ejemplo, encontraron 37 cepas con halos de OXA menores de 20 mm y con valores de CIM de 0,06 mg/l, cercanos al punto de corte pero dentro del rango de sensibilidad.

Las cepas resistentes a CTX también presentaron sensibilidad disminuida a PEN. Es interesante señalar que una de ellas presentó resistencia a CTX (CIM = 4 mg/l) y sensibilidad intermedia a PEN (CIM = 0,5 mg/l).

La correlación entre la resistencia a CTX y a PEN ya fue descrita por numerosos autores, como Jette y col. (20), quienes observaron que la CIM a cefalosporinas de espectro extendido aumenta a medida que se eleva la CIM a PEN.

De los 92 aislamientos serotipificados, prevaleció el 14, siguiéndole en frecuencia, el 1, 6B, 9N, 7F y el 5. Esta dis-

TABLA 1. Resistencia a penicilina y cefotaxima en aislamientos de *S. pneumoniae* (julio 1993-diciembre 1999).

Categoría	Penicilina		Cefotaxima	
	N° de cepas	%	N° de cepas	%
Sensible	65	70,6	75	81,5
Intermedia	16	17,4	13	14,1
Resistente	11	12,0	4	4,4
Total	92	100,0	92	100,0

tribución es similar a la descrita en Uruguay (21) y esta tendencia no presentó modificaciones durante los años en que duró el estudio. El 77,7 % de las cepas resistentes correspondieron al serotipo 14, mostrando una significativa asociación con la resistencia a PEN, en coincidencia con los estudios multicéntricos del país, del Uruguay (21) y de Brasil (22). Sin embargo en México (23) y Colombia (24) la mayoría de las cepas resistentes correspondieron al serotipo 23F, que ha sido claramente asociado tanto con resistencia a PEN como a múltiple resistencia.

Es destacable que todos los aislamientos de *S. pneumoniae* que no eran sensibles a cefotaxima correspondieron a niños que habían recibido antimicrobianos beta-lactámicos dentro de los tres meses previos a su infección. Este

hecho ha sido destacado por algunos autores (25,26) como uno de los factores predisponentes de las infecciones invasivas causadas por *S. pneumoniae* resistente a PEN. La resistencia a PEN y a cefalosporina de tercera generación, se ha convertido en un serio problema terapéutico en nuestro país y en el mundo. Bradley y col. (27), advirtieron sin embargo, que el fracaso terapéutico era menos probable en casos de neumonías que en aquellos de meningitis causadas por *S. pneumoniae* con igual grado de resistencia. En nuestro Hospital PEN, amoxicilina o cefuroxima siguen siendo, con algunas excepciones, las drogas de elección en el tratamiento empírico de neumonías. Es de nuestro interés, continuar con la vigilancia epidemiológica de *S. pneumoniae*, especialmente de su resistencia,

TABLA 2. Distribución de los serotipos de *S. pneumoniae* según el diagnóstico clínico y la resistencia a penicilina (julio 1993 - diciembre 1999).

Serotipos/grupo	Neumonía	Meningitis	Sepsis	Otros	Total	N° de cepas resistentes a PEN
14	19	7			28	21
1	8	3			11	0
6B	6	1			7	2
9N	6	1			7	2
7F	2	2	1	1	6	0
5	2	3			5	0
12f	1	1	1	1	4	0
19a	2			1	3	0
19f	1		1	1	3	0
23f	2		1		3	1
33f	2				2	0
6a	1	1			2	0
9V	1	1			2	1
15b		1			1	0
13	1				1	0
3	1				1	0
18b		1			1	0
27		1			1	0
33		1			1	0
15	1				1	0
NT	1	1			2	0
Total tipificadas	57	25	6	4	92	27

TABLA 3. Distribución de *S. pneumoniae* resistentes a penicilina según diagnóstico clínico.

Categoría	Neumonía		Meningitis		Sepsis	
	N° de cepas	%	N° de cepas	%	N° de cepas	%
R + I *	20	35,1	5	20,0	2	33,3
Sensibles	37	64,9	20	80,0	4	66,7
Total	57	100,0	25	100,0	6	100,0

*R+I: resistentes + intermedias

TABLA 4. Distribución de *S. pneumoniae* resistentes a penicilina según edad.

Edad	R+I*	Sensibles	Total
<2 años	24 **	49	73
>2 años	3	16	19
	27	65	92

*R+I: resistentes + intermedias ** Número de cepas

a fin de adecuar el tratamiento empírico de las infecciones invasivas producidas por este microorganismo y de los cambios en la distribución de serotipos para que las vacunas que se utilicen incluyan en su formulación los serotipos prevalentes en todo el país.

Bibliografía

1. Liñares, J.; Pallares, R.; Alonso, T.; Pérez, J.L.; Ayats, J.; Gudiol, P.F.; Viladrich, P.F.; Martín, R. Trends in antimicrobial resistance of clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Bellvitge hospital, Barcelona, Spain (1979-1990). Clin.Infect. Dis. 1992; 15: 99-105.

2. Marton, A.; Gulyas, M.; Muñoz, R.; Tomasz, A. Extremely high incidence of antibiotic resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Hungary. J. Infect. Dis. 1991; 163: 542-548.

3. Appelbaum, P.C. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: An overview. Clin. Infect. Dis. 1992; 15: 77-83.

4. Yoshida, R.; Kaku, M.; Kohno, S.; Ishida, K.; Mizukane, R.; Takemura, H.; Tanaka, H.; Usui, T.; Tomono, K.; Koga, H.; Hara, K. Trends in antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in Japan. Antimicrob. Agents Chemother. 1995; 39: 1196-1198.

5. Baquero, F.; Martínez Beltrán, J.; Loza, E. A review of antibiotic resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* in Europe. J. Antimicrob. Chemother. 1991; 28 (Suppl.C): 31-38.

6. Bradley, J.S.; Connor, J.D. Ceftriaxone failure in meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae* with reduced susceptibility to beta-lactam antibiotics. Pediatr. Infect. Dis. J.

1991; 10: 871-873.

7. Klugman, K.P.; Friedland, I.R.; Bradley, J. Bactericidal activity against cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in cerebrospinal fluid of children with acute bacterial meningitis. Antimicrob. Agents Chemother. 1995; 39: 1988-1992.

8. Pallares, R.; Liñares, J.; Vadillo, M.; Cabellos, C.; Manresa, F.; Viladrich, P.F.; Martín, R.; Gudiol, F. Resistance to penicillin and cephalosporin and mortality for severe pneumococcal pneumonia in Barcelona, Spain. N.Engl. J. Med. 1995; 333: 474-479.

9. Sloas, M.M.; Barrett, F.F.; Chesney, P.J.; English, B.K.; Hill, B.C.; Tenover, F.C.; Leggiadro, R.J. Cephalosporin treatment failure in penicillin- and cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumoniae* meningitis. Pediatr. Infect. Dis. J. 1992; 11: 662-666.

10. Friedland, I.R.; Shelton, S.; Paris, M.; Rinderknecht, S.; Ehrett, S.; Krisher, K.; McCracken, G.H. Dilemmas in diagnosis and management of cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumoniae* meningitis. Pediatr. Infect. Dis. J. 1993; 12: 196-200.

11. Rossi, A.; Ruvinsky, R.; Rgucira, M. Distribution of capsular types and penicillin-resistance of strains of *Streptococcus pneumoniae* causing systemic infections in Argentinian children under 5 years of age. Microb. Drug Resist. 1997; 3: 135-140.

12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. NCCLS document M100-S6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, Pa. 1995.

13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1993. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically: Approved standard M7-A3, 3rd ed, National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, PA.
14. Sörensen, U.B.S. Typing of pneumococci by using 12 pooled antisera. J. Clin. Microbiol. 1993; 31: 2097-2100.
15. Reinert, R.; Queck, A.; Kaufhold, M. Antimicrobial resistance and type distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolates causing systemic infections in Germany, 1992-1994. Clin. Infect. Dis. 1995; 21: 1398-1401.
16. Sarachian, B.; Sucari, A. Estudio prospectivo del perfil de resistencia en *Streptococcus pneumoniae* V Congress of Microbiology Resumen N° A-23, Buenos Aires, 1998.
17. Nagel, A.; Ahumada, C.; Mollerach, A.; Méndez, E. *Streptococcus pneumoniae*: detección de cepas resistentes a la penicilina y comparación con otros antibióticos. Infect. Microbiol. Clin. 1996; 8:95-97.
18. Barry, A.L.; Fuchs, P.C. Methods for predicting susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to cefixime. J. Clin. Microbiol. 1995; 33: 1031-1033.
19. Jorgensen J.H.; Swenson J.M.; Tenover, F.C.; Ferraro, M.J.; Hindler J. A.; Murray, P. R. Development of interpretive criteria and quality control limits for broth microdilution and disk diffusion antimicrobial susceptibility testing of *Streptococcus pneumoniae*. J.Clin.Microbiol. 1994; 32: 2448-2459.
20. Jetté, L.P.; Ringuette, L.; Dascal, A.; LaPointe, J.R.; Turgeon, P. Pneumococcal resistance to antimicrobial agents in the province of Québec, Canada. J.Clin.Microbiol. 1994; 32: 2572-2575.
21. Hortal, M.; Alcorta, G.; Bianchi, I. Capsular type distribution and susceptibility to antibiotics of *Streptococcus pneumoniae* clinical strains isolated from uruguayan children with systemic infections. Microb. Drug Resist. 1997; 3: 159-163.
22. Cunto Brandileone, M.C.; Diaz Vieira, V.S.; Tadeu Casagrande, S. Prevalence of serotypes and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from brazilian children with invasive infections Microbial Drug Resist. 1997; 3:141-146.
23. Echaniz-Avilés, G.; Velázquez-Mesa, M.E.; Camalla-Barrajas, M.N. Antimicrobial susceptibilities and capsular types of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolated in children in Mexico City. Microb. Drug Resist. 1997; 3: 153-157.
24. Castañeda, E.; Leal, A.L.; Castillo, O. Distribution of capsular types and antimicrobial susceptibility of invasive isolates of *Streptococcus pneumoniae* in colombian children. Microb. Drug Resist. 1997;3:147-152.
25. Deeks, S.; Palacio, R.; Ruvinsky, R.; Kertesz, D.; Hortal, M.; Rossi, A.; Spika, J.; Di Fabio, J. Risk factors and course of illness among children with invasive penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Pediatrics. 1999; 103: 409-413.
26. Clavo-Sánchez, A.; Girón-González, J.; López-Prieto, D. y col. Multivariate analysis of risk factors for infection due to penicillin-resistant and multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae*: a multicenter study. Clin. Infect. Dis. 1997; 24: 1052-1059.
27. Bradley, J.S.; Kaplan, S.L.; Klugman, K.P. Consensus: management of infections in children caused by *Streptococcus pneumoniae* with decreased susceptibility to penicillin. Pediatr. Infect. Dis. J. 1995;14 : 1037-1041.
28. Tunkel, A.R.; Scheld, W.M. Acute meningitis. En: Mandell, G.L.; Brnrtt, J.E.; Dolin, R. (ed.) Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 4th.ed. p. 394-404. Churchill, Livingstone, N. York, 1995.