

Perfil epidemiológico de las infecciones invasivas por *Streptococcus pneumoniae*

Dras. Julia Bakir*, Angela S. de Gentile*, Gabriela López Holtmann**, Adriana Procopio** y Miryam Vázquez**

Resumen

Introducción. *Streptococcus pneumoniae* (*Sp*) causa enfermedades invasivas de alta morbimortalidad, registrándose en la última década un aumento de la resistencia antibiótica.

Material y métodos. Con el objetivo de estudiar la epidemiología del *Sp*, su susceptibilidad antibiótica y los factores de riesgo de resistencia a penicilina (RP), se evaluaron en forma prospectiva 274 pacientes con infecciones invasivas por *Sp* internados en el HNRG entre 1993 y 1999, inclusive. La mediana de edad fue de 21,5 meses (rango 1-180), la relación varón/mujer fue de 1,7:1; 11,8% eran desnutridos de II-III grado; 52,6% tenía enfermedad de base (respiratoria crónica o recidivante, 38,9%).

A partir del aislamiento bacteriológico de *Sp* se realizó el seguimiento clínico-epidemiológico del paciente.

Resultados. De 293 presentaciones clínicas, la más frecuente fue neumonía (64,2%), siguiendo meningitis (11,6%), sepsis/bacteriemia (10,9%), peritonitis (7,8%) y 16 pacientes presentaron formas asociadas.

El *Sp* se recuperó de 325 materiales de cultivo: sangre, 55,1%; líquido pleural, 27,1%; LCR, 9,2%; líquido peritoneal, 5,5% y otros, 3,1%.

La RP global fue: 31,8% (87/274), con 17,9% resistencia (R) alta, observándose diferencias en la distribución anual.

El 65,5% (57/87) de las cepas RP también lo eran a cefalosporinas de tercera generación (C3^oG).

Los factores de riesgo de infección por SpRP fueron: infección intrahospitalaria (RR 2,72; 2,00-3,69), tratamiento previo con β-lactámicos (RR 2,61; 1,91-3,55), neumonía (RR 2,06; 1,32-3,22), edad < 2 años (RR 1,72; 1,18-2,49).

Los predictores independientes hallados con el análisis multivariado fueron: tratamiento antibiótico previo con β-lactámicos (p=0,0003), infección intrahospitalaria (p=0,0019) y neumonía (p=0,0445).

La letalidad fue de 6,2% (17/274), no presentando correlación con la RP.

Conclusión. Este tipo de estudios permite orientar conductas terapéuticas y el uso prudente de antibióticos.

Palabras clave: infecciones invasivas, *Streptococcus pneumoniae*, resistencia antibiótica, factores de riesgo.

Summary

Introduction. *Streptococcus pneumoniae* (*Sp*) is a main cause of morbidity and mortality in children, and the increasing rates of drug resistant strains have been reported.

The objectives of this study were to determine the epidemiology of invasive pneumococcal infections and the risk factors of *Sp* penicillin resistance (PR).

Material & methods. Two hundred seventy four children with invasive pneumococcal infections hospitalized in a children hospital, in the 1993-1999 period; the median age was 21.5 months (1 month-18 years), the male to female ratio was 1.7:1.

Fifty two percent of cases reported an underlying disease.

Results. The most frequent diseases were: pneumonia 64.2%, meningitis 11.6%, sepsis/bacteriemia 10.9%, peritonitis 7.8%.

Sp was recovered in 325 samples: blood in 55.1%, pleural fluid 27.1%, cerebrospinal fluid (CSF) 9.2%, peritoneal fluid 5.5% and other fluids obtained by puncture 3.1%.

PR rate was 31.8% (87/274), 17.9% were highly resistant. Differences in the annual distribution was observed.

65.5% from PR strains were resistant to third generation cephalosporins too.

PR was associated with: previous beta-lactam antibiotics therapy (RR 2.61; 1.91-3.55); nosocomial infection (RR 2.72; 2.00-3.69), pneumonia (RR 2.06; 1.32-3.22), and age under two years (RR 1.72; 1.18-2.49).

Results from multivariate logistic regression analysis of binary predictors of PR were: previous beta-lactam antibiotics therapy (p=0.0003), nosocomial infection (p=0.0019) and pneumonia (p=0.0445).

Mortality was 6.2% (17/274) without correlation with PR.

Conclusion. These findings suggest the need for a continuous surveillance, control of drug resistant pneumococci and vaccination with an effective vaccine among high-risk patients.

Key words: invasive infection, *Streptococcus pneumoniae*, antibiotic resistance, risk factors.

* Servicio de Epidemiología.

** Servicio de Bacteriología. Hospital de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez" (HNRG).

Correspondencia: Dra. Angela Gentile. Beauchef 214, 6° piso. (1424) Ciudad de Buenos Aires.

INTRODUCCION

Streptococcus pneumoniae (*Sp*) sigue siendo el agente causal más importante de las infecciones bacterianas invasivas, particularmente neumonías, en niños mayores de treinta días. Es el segundo agente etiológico de las meningitis bacterianas en niños menores de dos años

(excepto cuando ocurren brotes epidémicos por *Neisseria meningitidis*) y el primero en países en donde se han implementado programas de vacunación masiva anti-*Haemophilus influenzae* b.

El incremento de la prevalencia de *Sp* resistentes a penicilina (SpRP) ha provocado un renovado interés en la epidemiología de este microorganismo.

En el año 1963, en Boston, se observó por primera vez resistencia moderada a la penicilina en algunas cepas de *Sp*. Cuatro años más tarde aparecieron cepas con igual grado de resistencia en Australia y posteriormente en Nueva Guinea.¹

A comienzos de la década del 70, en EE. UU. se informaron varios casos de infecciones por SpRP, principalmente en niños crónicamente enfermos.²

En 1977, comenzaron a aparecer en Sudáfrica infecciones por *Sp* con alta resistencia a penicilina y múltiple resistencia a otros antibióticos.³

Ya en la década del 80, el incremento de la prevalencia del SpRP se convirtió en un problema mundial, aumentando en la última década a una velocidad alarmante,^{4,5} observándose variaciones en las tasas entre distintas regiones geográficas y entre diferentes hospitales en una misma región geográfica.⁶

Actualmente, la máxima incidencia mundial de SpRP se encuentra en Corea, con 89% de resistencia a penicilina;⁷ sin embargo esta situación merece algunas consideraciones, ya que ha habido diseminación en nosocomios de un clon resistente.

Las tasas más altas de SpRP en Europa se comunicaron en España (45%), Hungría y Rumania⁸ (mayor del 50 %).

Por el contrario, la resistencia a la penicilina sigue siendo comparablemente baja en otras zonas de Europa Occidental. En Inglaterra, más del 98% de los aislamientos fueron sensibles a la penicilina. También se comunicaron tasas bajas de resistencia en Italia,⁹ Alemania¹⁰ y Dinamarca.¹¹

En Sudamérica, datos del Uruguay y Argentina indican que el 36% de los aislamientos son RP;¹² en Brasil, la tasa de RP es de aproximadamente el 18%¹³ y en Colombia, del 12%.¹⁴

La resistencia en EE.UU. se mantiene baja (6,6%) excepto para algunas áreas que excede el 20%.¹⁵

En contraste con otros patógenos bacterianos, la resistencia del *Sp* a la penicilina no está mediada por la producción de betalactamasas; el mecanismo de resistencia involucra el desarrollo de formas alteradas de las proteínas ligadoras de penicilina (PLP), determinando la disminución de la afinidad a los antibióticos betalactámicos.¹⁶ Se especula que los genes de PLP alterados surgen del intercambio de material genético con otras bacterias.³

En las cepas susceptibles a la penicilina se identifican 6 PLP, que incluyen: 1a, 1b, 2a, 2b, 2x y 3 de alto peso molecular. El *Sp* puede adquirir genes exógenos que alteran la afinidad de las PLP por los betalactámicos,¹⁷ generando diferentes grados de resistencia.¹⁸

Las alteraciones de PLP 2b provocan la penicilinoresistencia en la mayoría de las cepas resistentes.

La multiresistencia se define como resistencia a tres grupos diferentes de antibióticos o más.⁵ *Sp* puede adquirir resistencia a otros antibióticos por conjugación con otros *Streptococcus*, como los del grupo *viridans*.

Los dos principales factores que contribuyen en forma reconocida a la aparición de resistencia a la penicilina son: 1) presión selectiva por la administración excesiva de antibióticos; 2) exposición a numerosos individuos que pueden estar colonizados; ej.: en las guarderías. Los lactantes y los niños pequeños son especialmente susceptibles a la colonización por neumococos y las infecciones por cepas resistentes son más prevalentes entre los niños que entre los adultos.

OBJETIVOS

Con el fin de determinar la epidemiología de las infecciones invasivas por *Sp*, definir la susceptibilidad global de las cepas de *Sp* a penicilina y cefalosporinas de tercera generación y su distribución anual, como así también identificar los factores de riesgo de infección por SpRP, se realiza un programa de vigilancia permanente de las infecciones invasivas a *Sp* en el Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez (HNRG). El objetivo del presente trabajo es la comunicación de los resultados obtenidos en este programa hasta el año 1999.

Población

Se estudiaron 274 pacientes con infección invasiva por *Sp* internados en el HNRG entre enero de 1993 y diciembre de 1999 inclusive.

Los criterios de inclusión del estudio fueron:

- niños con diagnóstico clínico de neumonía, meningitis, sepsis, artritis o peritonitis con cultivo positivo para *Sp* de sitios normalmente "estériles".

MATERIAL Y METODOS

A partir del aislamiento bacteriológico de *Sp* se realizó un seguimiento prospectivo del paciente completándose una ficha clínico-epidemiológica.

Se estudiaron las siguientes variables:

- Datos personales: edad, sexo, procedencia.
- Antecedentes personales: estado nutricional, enfermedad de base, inmunocompromiso, internaciones previas.
- Enfermedad actual: fecha de ingreso, tiempo de evolución, tratamiento antibiótico previo, forma clínica, material de cultivo del cual se aisló el *Sp*, sensibilidad antibiótica, complicaciones, infección nosocomial, tratamiento instituido, estado al egreso, tiempo de internación.

La infección nosocomial fue definida de acuerdo a los criterios de NNIS (EE.UU.).¹⁹

Métodos bacteriológicos

El *Sp* fue identificado por coloración de Gram, reconocimiento de morfología típica y alfa hemólisis en placas de Agar tripticasa-soya con 5% de sangre de carnero, inhibición de crecimiento con discos de optoquina 5 µg (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, Maryland, EE. UU.)²⁰ y confirmación serológica por coaglutinación (Phadebact®, Pneumococcus Test, Huddinge, Suecia).

En todas las cepas se determinó la sensibilidad a penicilina (PEN) con discos de oxacilina de 1 µg (Difco) según recomendaciones de The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), EE.UU., documento M2-A6 Tabla 2G.

En las cepas oxacilino-resistentes (halos de inhibición < 20 mm), se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) a PEN y cefalosporinas de tercera generación (C3^aG) por:

- Macrodilución (enero 1993- mayo 1996) en caldo Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre lisada de caballo, según normas NCCLS, documento M7A4²¹ Tabla 2G.

- E-Test (AB BIODISK, Piscataway, NJ): a partir de mayo de 1996, en agar Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero incubado en atmósfera de CO₂.²²

Los puntos de corte utilizados fueron definidos de acuerdo al NCCLS, M7A4,²¹ Tabla 2G:

CIM a PEN:

≤ 0,06 µg/ml:	sensible.
0,12-1 µg/ml:	resistencia intermedia.
□ 2 µg/ml:	resistencia alta.

CIM a C3^aG:

≤ 0,50 µg/ml:	sensible.
1 µg/ml:	resistencia intermedia.
□ 2 µg/ml:	resistencia alta.

Métodos estadísticos

Los datos fueron analizados mediante el programa Epi Info v. 6.03.

Se consideró significativa una p<0,05.

Las variables no paramétricas fueron analizadas con la prueba de chi cuadrado o la de chi cuadrado para tendencia según correspondiera. Se utilizó como medida de asociación el riesgo relativo (RR) con el 95% de intervalo de confianza.

Se efectuó análisis multivariado usando, para las variables categóricas, regresión logística múltiple mediante el programa SPSS 7.5.

RESULTADOS

De los 274 pacientes estudiados, el 63,1% correspondió a pacientes de sexo masculino, siendo la relación varón/mujer de 1,7: 1.

La mediana de edad fue de 21,5 meses (rango 0-180), el 52,6% eran menores de dos años.

El 71,5% (196/274) provenía del Gran Buenos Aires; el 11,7% (32/274) eran desnutridos de II y III grado.

El 52,6% (144/274) tenía enfermedad de base: enfermedad respiratoria 38,9%, inmunodeficiencia 20,2%, nefropatías 18,1% y hepatopatías 5,6%.

Streptococcus pneumoniae se recuperó de

un total de 325 materiales de cultivo: sangre: 55,1%, líquido pleural: 27,1%, líquido cefalorraquídeo (LCR): 9,2%, líquido peritoneal: 5,5% y otros 3,1%.

Se detectaron 293 formas clínicas, 16 pacientes presentaron dos o más formas asociadas. La forma clínica más frecuente fue la neumonía con derrame o sin él: 64,2% (188/293), seguida por las meningitis: 11,6% (34/293), sepsis/bacteriemia: 10,9% (32/293), peritonitis: 7,8% (23/293), otros: 5,5%.

Análisis de susceptibilidad del Sp

La resistencia (R) global a penicilina fue de 31,8% (87/274); el 13,9% presentó R intermedia y 17,9% R alta. La R a C3^aG fue del 20,8% (57/274); con R intermedia: 15,7% y R alta: 5,1% (Gráfico 1). La distribución anual de los aislamientos de Sp y la RP y a C3^aG se observan en el Gráfico 2.

GRÁFICO 1. Susceptibilidad antibiótica a las cepas de S. pneumoniae.

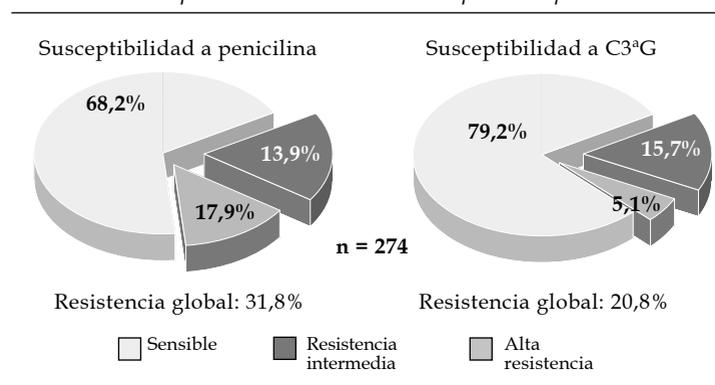
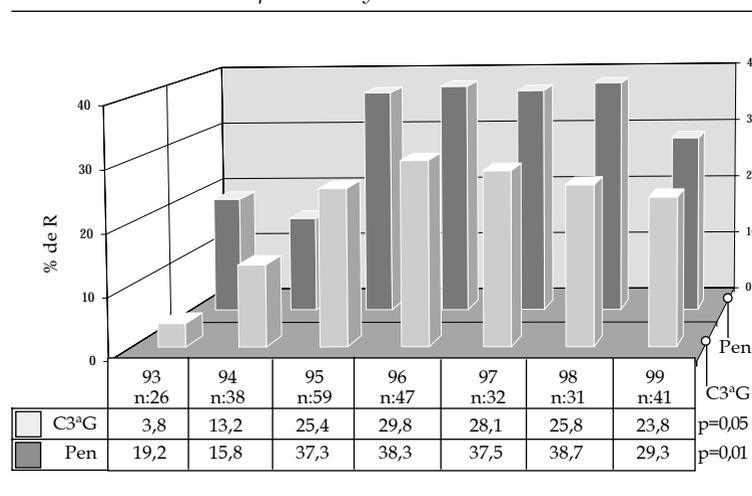


GRÁFICO 2. Distribución anual de los aislamientos de Sp. Resistencia a penicilina y C3^aG.



El 65,5% (57/87) de las cepas RP también lo era a C3^aG (Gráfico 3).

Al analizar la RP en las diferentes presentaciones clínicas (Tabla 1), se observó que las neumonías presentaron una alta tasa de RP (37,2%), seguida de sepsis/bacteriemia (25,0%) y meningitis (17,6%).

En el análisis univariado, los factores de riesgo asociados a infecciones por SpRP, según se observa en la Tabla 2, fueron:

- a) Tratamiento con antibióticos beta-lactámicos en los últimos 7 días.
- b) La presencia de infección intrahospitalaria.
- c) Neumonía como forma clínica.
- d) Edad menor de dos años.

No se halló relación estadísticamente significativa entre la RP y el antecedente de internaciones previas, ni tampoco con la presencia de enfermedad crónica de base, inmunosupresión, ni con la mortalidad.

Cuando se efectuó análisis multivariado se hallaron como predictores independientes: haber recibido tratamiento con antibióticos β-lactámicos en los 7 días previos al aislamiento del SpRP (p=0,0003), la infección intrahospitalaria (p=0,0019) y la presentación clínica de neumonía (p=0,0445) (Tabla 3).

La letalidad global fue de 6,2% (17/274), siendo las tasas según las diferentes formas clínicas de 4,8% (9/188) para las neumonías, 14,7% (5/34) para las meningitis, 12,5% (4/32) para las sepsis/bacteriemias.

CONCLUSIONES

- La neumonía es la forma clínica más frecuente de enfermedad invasiva por Sp.
- La resistencia global a penicilina fue 31,8%.

El aumento de resistencia a penicilina

TABLA 1. Resistencia a la penicilina de los Sp según forma clínica.

Forma clínica	Total	SpRP	
		n	%
Neumonía	188	70	37,2*
Meningitis	34	6**	17,6*
Sepsis/bacteriemia	32	8	25,0
Peritonitis	23	2	8,7

* Las diferencias son estadísticamente significativas (p=0,04).
** 4/6 con enfermedad de base.

en los años estudiados, mostró una diferencia significativa entre los períodos 1993-94 y 1995-99; a partir de 1995 se mantuvo una tendencia estable.

El 65,5 % de las cepas RP también lo era a C3^aG.

- Los factores de riesgo de infecciones a SpRP fueron: tratamiento con antibióticos β-lactámicos en los últimos siete días, infección intrahospitalaria, neumonía y edad menor de dos años.

Los predictores independientes hallados con el análisis multivariado fueron: tratamiento previo con β-lactámicos, infección intrahospitalaria y neumonía.

TABLA 2. Factores asociados con resistencia a penicilina.

Factor de riesgo	Total de pacientes	SpRP		Significación estadística R (IC 95%)	p
		n	%		
β-lactámico previo					
Sí	50	32	64,0	2,61 (1,91-3,55)	<0,001
No	224	55	24,6		
Infección intrahospitalaria					
Sí	24	18	75,0	2,72 (2,00-3,69)	<0,001
No	250	69	27,6		
Neumonía					
	188	70	37,2	2,06 (1,32-3,22)	0,001
Otras formas clínicas					
	105	19	18,1		
Edad					
< 2 años	144	57	39,6	1,72 (1,18-2,49)	0,005
≥ 2 años	130	30	23,1		

TABLA 3. Análisis multivariado de regresión logística múltiple de factores de riesgo de SpRP.

Factor de riesgo	Coefficiente de regresión logística	Significación estadística p
Tratamiento previo con β-lactámico	0,1806	0,0003
Infección intrahospitalaria	0,1494	0,0019
Neumonía	0,0771	0,0445

DISCUSION

Durante el último cuarto de siglo y principalmente en la última década, la prevalencia de SpRP se incrementó progresivamente en todo el mundo.^{3,23} Las tasas comunicadas varían enormemente entre distintos países y dentro de un mismo país.

En nuestro estudio, la tasa global de SpRP fue del 31,8% (87/274) (17,9% RP alta), coincidiendo con las comunicaciones de los últimos años,^{12,24} en las cuales la Argentina está definida en una situación epidemiológica intermedia entre países con baja resistencia (como Inglaterra, Italia, Alemania, Suiza y algunas áreas de EE.UU.) y aquéllos con resistencia mayor a 40%, como Hungría, Sudáfrica y España.

El aumento de resistencia en los años estudiados muestra una importante diferencia entre los períodos 1993-1994 y 1995-1999. Desde 1995 se mantiene una tendencia estable en los porcentajes de resistencia.

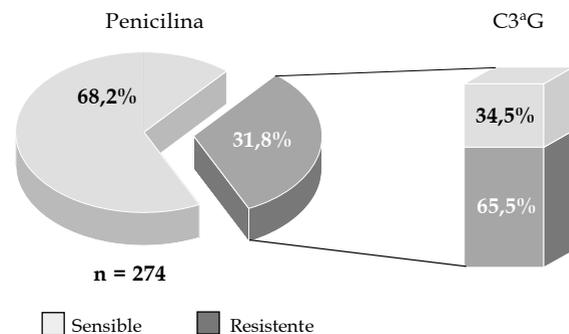
La R a C3^aG fue del 20,8% (R alta: 5,1%)

El 65,5% (57/87) de las cepas RP también era R a C3^aG.

La R a C3^aG también fue aumentando en forma progresiva en la última década en diversas partes del mundo.²⁵

Las cepas de SpPR fueron aisladas en 37,2% de los casos de neumonías, mostrando diferencias significativas con las otras formas clínicas, las cuales presentaron tasas meno-

GRÁFICO 3. Sensibilidad a C3^aG de las cepas resistentes a penicilina.



res. Si bien el 17,6% de las cepas aisladas de pacientes con meningitis eran RP, cabe destacar que 4 de los 6 pacientes tenían enfermedad de base.

La infección por SpRP estuvo asociada al tratamiento con antibióticos β -lactámicos en los últimos 7 días. Una variedad de estudios han mostrado que las infecciones por SpRP están relacionadas con el uso reciente de antibióticos (como profilaxis o tratamiento).²⁶⁻²⁸

Levine y col. encontraron asociación entre la asistencia a jardines maternos, la ocurrencia de otitis y el tratamiento antibiótico previo en los últimos tres meses y la infección por cepas resistentes.²⁹ Un estudio realizado en Argentina y Uruguay¹² reveló que el uso de penicilina o ampicilina (y no de otros antibióticos) en los tres meses previos a la infección es un factor de riesgo de resistencia.

Chen y col. discuten la importancia de los factores socioeconómicos y el uso de antibióticos en el desarrollo de la resistencia a *Streptococcus pneumoniae*.³⁰

En España, Ramos y col. encontraron asociación significativa entre la RP y la administración de antibióticos β -lactámicos en el mes previo.³¹

Esto destaca la necesidad del uso prudente y racional de antibióticos en niños, fundamentalmente en las áreas ambulatorias, en donde los antibióticos β -lactámicos son frecuentemente usados.

Sin embargo, si bien la presión de selección asociada al uso de antibióticos favorece el aumento de aislamientos de SpRP, se observó que los neumococos también se diseminan a partir de regiones endémicas y provocan enfermedades en poblaciones en las que no prevalece el consumo de antibióticos. Muñoz y col.³² aislaron una cepa de SpRP que se propagó desde España hacia EE.UU.

En Houston se observó que las cepas de SpRP eran genéticamente similares a las aisladas en Alaska, España e Islandia.³³

Más recientemente se descubrió que un clon tipo 23F multirresistente en EE.UU. estaba relacionado con cepas multirresistentes de España y Sudáfrica. Muchas cepas de neumococos multirresistentes de los EE.UU. evolucionaron del serotipo 23F.³⁴

Prevalencias altas de SpRP han sido informadas en Europa, principalmente en

España y Francia, en donde los antibióticos son prescritos ampliamente y muchas veces en forma inadecuada. La baja prevalencia de SpRP en Alemania y en el Reino Unido coincide con el manejo racional y bajo consumo de antibióticos.³⁵

Otros factores de riesgo de RP hallados, coincidiendo con trabajos previos, fueron la infección nosocomial^{36,37} y la presentación clínica de neumonía,²⁴ siendo la meningitis la infección invasiva significativamente menos probable de ser producida por SpRP.^{16,24}

En nuestro trabajo encontramos que también la RP se asoció en forma significativa a la edad menor de dos años.

Sin embargo, al efectuar el análisis multivariado, la edad no resultó un factor predictivo; los menores de dos años son precisamente el grupo de edad en el cual se prescribe una mayor cantidad de antibióticos β -lactámicos y por otra parte presentan mayor incidencia de cuadros de neumonía con aumento del riesgo de infección hospitalaria.

Nava y col. informaron asociación con la edad menor de 4 años;²⁸ Hofmann y col., con la edad menor de 6 años²⁵ y, en Corea, Lee y col. describieron como factor de riesgo a la edad ≤ 15 años.³⁶

No hallamos asociación significativa de la infección por SpRP con la inmunosupresión, si bien en otros trabajos la citan como factor de riesgo.^{27, 37}

Deeks y col.¹² concluyeron que la susceptibilidad a la penicilina no parece estar relacionada con la severidad de la enfermedad; en forma similar, encontramos que la letalidad no presentó relación significativa con la infección por SpRP.

Estos hallazgos tienen importancia clínica, pues el hecho de que un paciente presente una forma invasiva a SpRP no condiciona una peor evolución y, como contrapartida, el hallazgo de factores de riesgo no obliga a un cambio del tratamiento antibiótico cuando la respuesta clínica es eficaz.

La emergencia de SpRP plantea nuevos desafíos clínicos y refleja un cambio en la epidemiología de las infecciones por *Sp*.

Los resultados de este estudio indican la necesidad de mantener una vigilancia activa de los patrones de susceptibilidad que permita orientar las conductas tera-

péuticas, el uso prudente de antibióticos y el control de la diseminación de SpRP. ■

BIBLIOGRAFIA

- Hansman D, Devitt L, Miles H et al. Pneumococci relatively insensitive to penicillin in Australia and New Guinea. *Med J Aust* 1974; 2: 353.
- Naraqi S, Kirkpatrick GP, Kabins S. Relapsing pneumococcal meningitis: Isolation of an organism with decreased susceptibility to penicillin. *J Pediatr* 1974; 85: 671.
- Klugman KP. Pneumococcal resistance to antibiotics. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3: 171-196.
- Appelbaum PC. Emerging resistance to antimicrobial agents in Gram-positive bacteria: pneumococci. *Drugs* 1996; 51 (S1):1-5.
- Appelbaum PC. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: an overview. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 77-83.
- MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1999; 48 (30): 656-61.
- Choi EH, Lee HJ. Clinical outcome of invasive infections by penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Korean children. *Clin Infect Dis* 1998; 26 (6): 1346-54.
- Appelbaum PC. New prospects for antibacterial agents against multi-drug resistant pneumococci. *Microb Drug Resist* 1995; 1: 43-8.
- Marchese A, Debbia EA, Arvigo A, Pesce A, Schito GA. Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains in Italy to penicillin and ten other antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1995; 36: 833-7.
- Reinert RR, Queck A, Kaufhold A, Kresken M, Luttmack R. Antimicrobial resistance and type distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolates causing systemic infections in Germany, 1992-1994. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 1398-401.
- Kemp M, Westh H, Scheibel JH. Penicillin resistant pneumococci not a threat in Denmark yet? *Ugeskr Laeger* 1998; 160: 622-5.
- Deeks SL, Palacio R, Ruvinsky R, Kertesz DA, Hortal M, Rossi A, Spika JS, Di Fabio JL. Risk factors and course of illness among children with invasive penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. The *Streptococcus pneumoniae* Working Group. *Pediatrics* 1999; 103: 409-13.
- Sessegolo JF, Levin ASS, Levy CE, Asensi M, Facklam RR, Teixeira LM. Distribution of serotypes and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Brazil from 1988 to 1992. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 906-911.
- Leal AL, Castaneda E. Susceptibility to antimicrobial agents in isolates from invasive *Streptococcus pneumoniae* in Colombia. *Rev Panam Salud Publica* 1999; 5: 157-63.
- Breiman RF, Brutler JC, Tenover FC, Elliot JA, Facklam RR. Emergence of drug-resistant pneumococcal infection in the United States. *JAMA* 1994; 271: 1831-1835.
- Spratt BG. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science* 1994; 264: 388-393.
- Murray BE. New aspects of antimicrobial resistance and the resulting therapeutic dilemmas. *J Infect Dis* 1991; 163: 1185-94.
- Jacobs MR, Appelbaum PC. Antibiotic resistant pneumococci. *Rev Med Microbiol* 1995; 6: 77-93.
- Gaynes R, Horan T. Surveillance of nosocomial infections. *Hospital epidemiology and infection control*. Glen Mayhall C. 1996; XIV, 77: 1018.
- Facklam RR, Carey RB. Streptococci and aerococci. En: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 4^a ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1985: 154-175.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution of antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Third edition; approved standard. NCCLS Document M7-A3 (ISBN 1-56238-209-8). NCCLS, Villanova Pa, 1993: 17-20.
- Macias EA, Mason EO Jr, Ocera HY, LaRoco MT. Comparison of E test with standard broth microdilution for determining antibiotic susceptibilities of penicillin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 430-432.
- Tomasz A. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 1997; 24: S85-S88.
- Rossi A, Ruvinsky R, Regueira M, Corso A, Pace J, Gentile A, Di Fabio and *Streptococcus pneumoniae* Working Group. 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 Resistance* 1997; 3: 40.
- Hoffmann J, Cetron MS, Farley MM et al. The prevalence of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Atlanta. *N Engl J Med* 1995; 333: 481-6.
- Kristinsson KG. Effect of antimicrobial use and other risk factors on antimicrobial resistance in pneumococci. *Microb Drug Resistance* 1997; 3: 117-123.
- Nava JM, Bella F, Garau J. Predictive factors for invasive disease due to penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*: a population-based study. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 884-890.
- Clavo-Sánchez AJ, Girón González JA, López-Prieto D et al. 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.
- Levine OS, Farley M, Harrison LH, Lefkowitz L, McGeer A, Schwartz B. Risk factors for invasive pneumococcal disease in children: a population-based case-control study in North America. *Pediatrics* 1999; 103 (3): E28.
- Chen FM, Breiman RF, Farley M, Plikaytis B, Deaver K, Cetron MS. Geocoding and linking data from population-based surveillance and the US Census to evaluate the impact of median household income on the epidemiology of invasive *Streptococcus pneumoniae* infections. *Am J Epidemiol* 1998; 148: 1212-8.
- Ramos JT, Saavedra J, Ruiz Contreras J, Bravo J, Sanz F, Noriega A. Invasive antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in children in Madrid. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17: 252-255.
- Muñoz R, Coffey TJ, Daniels M et al. Intercontinental spread of a multiresistant clone of serotype 23F *Streptococcus pneumoniae*. *J Infect Dis* 1991; 164: 302-306.
- Versalovic J, Kapur V, Mason EO et al. Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* strains recovered in Houston: identification and molecular characterization of multiple clones. *J Infect Dis* 1993; 167: 850-856.
- Mc Dougal LK, Facklam R, Reeves M et al. Analysis of multiresistant antimicrobial-resistant isolates of

- Streptococcus pneumoniae* from the United States. Antimicrob Agents Chemoter 1992; 36: 2176-2184.
35. Pradier C, Dunais B, Carsenti-Etesse H, Dellamonica P. Pneumococcal resistance patterns in Europe. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997; 16: 644-647.
 36. Lee HJ, Park JY, Jang SH, Kim JH, Kim EC, Choi KW. High incidence of resistance to multiple antimicrobials in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* from a university hospital in Korea. Clin Infect Dis 1995; 20: 826-835.
 37. McCracken GH Jr. Emergence of resistant *Streptococcus pneumoniae*: a problem in pediatrics. Pediatr Infect Dis J 1995; 14: 424-428.