LABORATORIO CLINICO

Vigilancia de la sensibilidad a antimicrobianos de agentes productores de enfermedad invasora en pediatría

CARMEN MENDOZA N.¹, CRISTIAN BARRIENTOS M.², T.M. MARIA CRISTINA BARAHONA F.¹, T.M. ERNA RAHMANN P.¹ y T.M. SERGIO MONTEALEGRE M.¹

SURVEILLANCE OF ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF ETIOLOGICAL AGENTS CAUSING INVASIVE DISEASES IN CHILDREN

Haemophilus influenzae b, *Streptococcus pneumoniae* and *Neisseria meningitidis* compound a very important group of agents that produce serious infectious diseases in children. Its incidence can be modified by vaccination programs as well as by spontaneous epidemiological variations. We have analyzed 10 years of Hospital Dr. E. González Cortés's experience about origin, mechanisms and laboratory expression of antibiotic resistance of these infectious agents. *Hib* and *S. pneumoniae* showed an early and strong resistance pattern that marked the necessity of changing the antibiotic use guidelines. On the other hand, *N. meningitidis* has changed its resistance pattern just in the few last years and in a lower level, that doesn't justify an antibiotic guidelines change. There are big differences between distinct geographical areas in resistance of *Hib*, *S. pneumoniae* and *N. meningitidis*. This is the reason why local surveillance is necessary to effectuate early and successful changes of the antibiotic use guidelines permitting an important improvement in prognosis of these infectious diseases.

Key words: Antibiotic susceptibility; Resistance pattern; Pediatric invasive diseases.

INTRODUCCION

La resistencia antimicrobiana representa un mecanismo de supervivencia bacteriana, al cual contribuye el trabajo médico seleccionando, mediante la terapia antimicrobiana, aquellas cepas que perpetúan la especie.^{1,2}

Las infecciones bacterianas invasoras repre-

sentan en pediatría un capítulo de la mayor importancia por su frecuencia y gravedad y en la cual están involucrados agentes como *Haemophilus influenzae* tipo b que, según un estudio realizado en Chile presentaba en la era prevacunación una incidencia estimada de 39,5/100.000 en niños bajo 5 años de edad; *Streptococcus pneumoniae* que en su forma

¹ Laboratorio de Microbiología, Hospital Dr. Exequiel González Cortés.

² Estudiante de Medicina, Universidad de Chile.

invasora ha revelado en estudios nacionales una incidencia anual de 80,6 casos/100.000 en lactantes de 0 a 11 meses y 17,9 casos/100.000 en niños de 12 a 23 meses, constituyendo la mayor causa de mortalidad en niños bajo 5 años de edad en países en desarrollo, con 20 a 25% de la mortalidad total en este grupo de edad y *Neisseria meningitidis*, que según datos del Ministerio de Salud muestra una tasa de incidencia para el país de 3,77/100.000 y una letalidad de 6,7%.^{2-6, 13, 32, 33}

Estos agentes han desarrollado además resistencia a los antimicrobianos, evolución que se ha observado con diversa magnitud e impacto en diferentes partes del mundo, obligando en muchos casos a revisar y modificar conductas terapéuticas.

La primera cepa de *S. pneumoniae* resistente a penicilina se describió en 1967 en Australia, extendiéndose posteriormente el fenómeno a Africa, Europa y otros países, entre ellos Chile. En los últimos años han emergido cepas resistentes a otros antimicrobianos incluidas las cefalosporinas de tercera generación.

Las primeras cepas de *N. meningitidis* resistentes a penicilina se describieron en España en la década de los 80. El Instituto de Salud Pública (ISP) de Chile comunicó por primera vez, en 1994, la aparición en el país de cepas con sensibilidad disminuida a penicilina.

El objetivo de este trabajo es revisar la evolución de la resistencia antimicrobiana de *H. influenzae b*, *S. pneumoniae* y *N. meningitidis* a los antimicrobianos comúnmente usados en su tratamiento en un establecimiento pediátrico, el Hospital Dr. Exequiel González Cortés, durante el período comprendido entre enero de 1989 y diciembre de 1998.

MATERIAL Y METODO

Revisión de los registros del Laboratorio de Bacteriología del Hospital Dr. Exequiel González Cortés, seleccionando las cepas de *H. influenzae b*, *S. pneumoniae* y *N. meningitidis* aisladas de sangre, LCR y otros fluidos estériles en el período antes señalado.

Los métodos usados para el estudio de la sensibilidad son los recomendados por el centro de referencia del ISP,⁵⁻¹² al cual se enviaron las cepas para su confirmación:

- *H. influenzae*: Producción de β -lactamasa por el método de la nitrocefina y difusión en agar para ampicilina y cloranfenicol, cuyos puntos de corte se muestran en la Tabla 1.

- *S. pneumoniae*: tamizaje para penicilina por difusión en agar con disco de oxacilina de 1 μ g y CIM mediante dilución en placa de agar y posteriormente, desde 1993, por técnica epsilométrica (E test). La sensibilidad a cefotaxima se estudió por dilución en agar y desde 1993 por E test. Los puntos de corte se muestran en la Tabla 2.

- *N. meningitidis*: A partir de 1995 se estudia sensibilidad a penicilina, determinando CIM mediante E test. Se consideran sensibles las cepas con CIM $\leq 0,06$ μ g/ml y con resistencia intermedia aquellas con CIM entre 0,12 y 1 μ g/ml.

RESULTADOS

Al considerar en conjunto los tres agentes incluidos en este estudio, es evidente que se han comportado de diferente manera en el tiempo (Figura 1).

H. influenzae b. La frecuencia de su aislamiento experimentó un importante descenso desde 1993 y muy especialmente, en los últimos dos años de observación (Figura 1).

Los sitios de aislamiento más frecuentes fueron sangre y LCR. Con menos frecuencia se aislaron en líquido pleural, peritoneal y articular (Tabla 3). En el 23,9% de los pacientes (n: 41) existió aislamiento en más de un sitio.

Se estudió la sensibilidad a

Tabla 1. Patrón de sensibilidad de *Haemophilus influenzae* (tamaño del halo de inhibición)

Antimicrobiano	Sensible	Intermedio	Resistente
Ampicilina	≥ 22 mm	19-21 mm	≤ 18 mm
Cloranfenicol	≥ 29 mm	26-28 mm	≤ 25 mm
Método: Difusión en placa de agar según Kirby & Bauer.

Figura 1. Número de agentes productores de enfermedad invasora aislados por año, 1989-1998.

ampicilina y cloranfenicol en 153 cepas. La resistencia a ampicilina ha sido muy variable en los distintos años, con cifras entre 100% el año 1998 (la única cepa aislada) y 0% el año 1996 (Tabla 4).

La resistencia a cloranfenicol se presentó habitualmente asociada a resistencia a ampicilina, situación que cambió los últimos

tres años del estudio en que esta resistencia no se presentó (Tabla 4).

S. pneumoniae. La frecuencia de su aislamiento experimentó un notorio incremento durante el período en estudio, desde 9 casos durante los años 1989 y 1990, a un máximo de 34 casos el año 1997 (Figura 1).

El sitio de aislamiento más importante fue

Tabla 2. Patrón de sensibilidad de *Streptococcus pneumoniae*

Antimicrobiano	Método	S	I	R
Penicilina	Difusión*	≥ 20 mm		≤ 19 mm
	CIM	≤ 0,06 µg/ml	0,125-1,0 µg/ml	≥ 2,0 µg/ml
Cefotaxima	CIM	≤ 0,5 µg/ml	1,0 µg/ml	≥ 2,0 µg/ml
* Tamizaje con disco de oxacilina 1 µg S: Sensible; I: resistencia intermedia; R: resistente.				

Tabla 3. Sitio de aislamiento de agentes productores de enfermedad invasora

Origen	<i>H. influenzae b</i> (n)	<i>S. pneumoniae</i> (n)	<i>N. meningitidis</i> (n)
Sangre	126	136	135
LCR	68	65	164
L. pleural	9	22	
L. articular	1	1	
L. peritoneal	2	8	
Total	171	195	246

* Para todos los agentes aislamiento en más de un sitio por paciente.

Tabla 4. *Haemophilus influenzae* b. Distribución anual de la resistencia antimicrobiana. Número de cepas (%)

	1989	90	91	92	Año 93	94	95	96	97	98	Total
N° cepas estudiadas	32	19	23	28	14	9	16	8	3	1	153
Resistencia a ampicilina	13 (40,6)	6 (31,5)	5 (21,7)	3 (10,7)	2 (14,2)	3 (33,3)	8 (50,0)	0	1 (33,3)	1 100,0)	42 (27,4)
Resistencia a cloranfenicol	11 (34,3)	7 (36,8)	4 (17,3)	3 (10,7)	0	2 (22,2)	1 (6,2)	0	0	0	28 (18,3)
Resistencia a ambos**	11	6	4	3	0	2	1	0	0	0	27

** Incluidas en resistencia individual a los antimicrobianos.

sangre y en segundo lugar LCR (Tabla 3) con aislamiento en más de un sitio en 18,9% de los casos.

El estudio de la sensibilidad a penicilina se inició en 1989, identificándose cepas resistentes en todos los años vigilados, con tasas variables entre 8,3% en 1991 y 46% en 1992, no

siendo posible establecer una tendencia en el tiempo. Para todo el período existió un 23,6% de resistencia intermedia (RI) con aparición esporádica de cepas con resistencia elevada (R), aisladas en su mayoría en pacientes inmunodeprimidos, con una tasa de 2,8% para los 10 años de estudio (Tabla 5).

Tabla 5. *Streptococcus pneumoniae*. Distribución anual de la resistencia antimicrobiana. Número de cepas (%)

Antimicrobiano	1989	90	91	92	Año 93	94	95	96	97	98	Total
Penicilina											
N° cepas estudiadas	9	9	12	13	17	15	25	24	29	20	173
RI	4 (44,4)	2 (22,2)	1 (8,3)	5 (38,4)	5 (29,4)	3 (20,0)	5 (20,0)	5 (20,8)	8 (27,5)	3 (15,0)	41 (23,6)
R				1 (7,6)	1 (5,8)				1 (3,4)	2 (10,0)	5 (2,8)
Cefotaxima											
N° cepas estudiadas					7	13	24	24	29	20	117
RI					1 (14,2)	1 (7,6)	1 (4,1)	1 (4,1)	1 (3,4)	2 (10,0)	7 (5,9)
R					0	0	0	0	1 (3,4)	0	1 (0,8)

RI: resistencia intermedia; R: resistencia.

Tabla 6. *Neisseria meningitidis*. Distribución anual de la resistencia a antimicrobianos. Número de cepas (%)

Antimicrobiano		1995	96	Año 97	98	Total
Penicilina	N° cepas estudiadas	15	21	17	17	70
	RI	0	0	3 (17,6)	2 (11,7)	5 (7,1)

RI: resistencia intermedia.

La sensibilidad a cefotaxima se estudió a partir de 1993, aislándose desde entonces cepas con RI en todos los años que abarcó el estudio, con una resistencia global para el período de 5,9%. En 1997 se identificó la única cepa con R, en un paciente inmunodeprimido con un proceso septicémico (Tabla 5).

N. meningitidis. La frecuencia de su aislamiento experimentó un importante aumento desde 14 casos en 1989, hasta 45 en 1995, para descender en los últimos dos años a cifras similares a las del comienzo de este estudio (Figura 1). Todas las cepas fueron aisladas en sangre y/o LCR (Tabla 3).

La vigilancia de la sensibilidad de *N. meningitidis* a penicilina se inició en 1995, con 100% de sensibilidad en los primeros dos años. Sólo a partir de 1997 se identifican cepas en el rango de RI a penicilina, 3 ese año y 2 en 1998 (Tabla 6).

DISCUSION

Los tres agentes estudiados corresponden a etiología de patología infecciosa invasora en pediatría, con variaciones epidemiológicas que obedecen a diferentes causas, entre ellas el uso de vacunas.¹³⁻¹⁶

Todos son agentes causales de meningitis bacteriana aguda (MBA), patología que constituye una emergencia terapéutica, por lo cual el conocimiento de los patrones y dinámica de resistencia es fundamental para definir los esquemas terapéuticos de choque.¹⁶

Las bacterias adquieren resistencia a los antimicrobianos por distintas causas, como son

mutaciones cromosomales, expresión de resistencia cromosomal latente o adquisición de material genético que determina esta resistencia, por intercambio de plásmidos, acción de bacteriófagos o adquisición de ADN por transformación.^{5, 17-19}

El material genético adquirido permite que la bacteria desarrolle resistencia por diversos mecanismos como producción de enzimas inactivadoras o destructoras del antimicrobiano, alteración del sitio de acción del antimicrobiano sobre la bacteria y disminución de la permeabilidad, impidiendo el acceso del antimicrobiano al sitio de acción.

H. influenzae b es en la actualidad un agente poco frecuente en Chile como causa de infección sistémica,¹⁴ situación atribuible al uso de la vacuna incorporada al PAI en 1996, pero constituyó en años recientes un problema terapéutico, ya que las cepas aisladas en una importante proporción presentaban resistencia combinada a ampicilina y cloranfenicol, cuyo mecanismo es la producción de enzimas inactivadoras, β -lactamasa y aciltraferasa respectivamente. La observación de este hecho en nuestro hospital obligó a modificar a fines de la década de los 80 el esquema terapéutico de ingreso para la MBA –hasta entonces consistía en la asociación de penicilina y cloranfenicol– reemplazándolo por cefotaxima, no habiéndose aislado hasta hoy cepas resistentes a esta cefalosporina en nuestro laboratorio.

El ISP informó para el año 1996 resistencia a ampicilina y a cloranfenicol en cepas recibidas desde todas las regiones del país, con fre-

cuencia sensiblemente igual a la encontrada en nuestro laboratorio.³³

S. pneumoniae, a diferencia de *H. influenzae b*, es un agente que se identifica con una frecuencia creciente como causa de infección sistémica. En cierta medida puede estar determinado por una optimización de los métodos de estudio en el laboratorio, como consecuencia de la inclusión de nuestro hospital en proyectos internacionales de vigilancia de este agente a partir de 1994, que permiten una mayor recuperación de un agente altamente lábil a las condiciones ambientales.^{5, 13}

Esta mayor frecuencia de aislamiento de *S. pneumoniae* junto a la persistente expresión de resistencia a penicilina y cefalosporinas de espectro expandido, cuyo origen es cromosomal y basado en la alteración de las proteínas ligadoras de penicilina (PBPs),^{6, 19-21} hacen necesario evaluar cuidadosamente la situación frente a cada paciente. Si bien en la literatura y en la práctica clínica hay evidencias de éxito en el tratamiento con penicilina de muchos cuadros bacterémicos extrameningeos producidos por cepas con RI e incluso R a penicilina, frente a una MBA producida por cepas con sensibilidad disminuida, penicilina no es efectiva por los altos niveles del antimicrobiano requeridos en LCR.^{4, 5, 22} En estos casos la terapia de elección es una cefalosporina de espectro expandido.

Sin embargo, si la cepa presenta además resistencia a cefalosporinas, no se ha definido un esquema óptimo de tratamiento, existiendo alternativas como es la asociación de cefotaxima o ceftriaxona con vancomicina o rifampicina.^{5, 19, 23, 24}

El ISP informó en 1997 resistencia a penicilina comparable a la encontrada por nosotros, pero para cefotaxima la resistencia descrita en el nivel nacional (14,2%) es significativamente mayor a la encontrada en nuestro laboratorio.³³

Frente a esta situación de altos niveles de resistencia de *S. pneumoniae* a penicilina y a cefotaxima, se ha propuesto en nuestro hospital iniciar el tratamiento de la MBA con cefotaxima asociada a vancomicina en aquellos casos en que por la tinción de Gram o reacción de látex en LCR se sospeche la pre-

sencia de *S. pneumoniae*, hasta obtener el estudio de sensibilidad del agente aislado.

Por otra parte, en la actualidad se encuentran en desarrollo experiencias de investigación clínica con otros fármacos como las nuevas quinolonas, que podrían ser alternativas útiles en el manejo de las infecciones meningéas por *S. pneumoniae* resistentes.

N. meningitidis es un agente que se presenta actualmente en forma endémica en Chile, siendo predominante en todo el período estudiado el serogrupo B.

Hasta 1995 no existía indicación de estudiar de rutina la sensibilidad de este agente en los laboratorios clínicos, dada su alta y mantenida sensibilidad a penicilina. Sin embargo, ese año el ISP reportó la aparición de cepas con sensibilidad disminuida a penicilina,¹⁷ lo que motivó el inicio de la vigilancia en nuestro hospital. Sólo en 1997 se identificaron las primeras cepas con sensibilidad disminuida a penicilina, en el nivel de RI, hecho que se repitió durante 1998, pero aún en niveles inferiores a lo informado por el ISP (29,7%) en 1997.³³

Esta resistencia, cuyo mecanismo es la alteración de la PBPs,^{17, 27, 28} determinado en el cromosoma, se encuentra en niveles que no justifican por el momento un cambio del esquema de tratamiento, pero es fundamental implementar y mantener la vigilancia del fenómeno, pues un aumento de la frecuencia o magnitud de la resistencia condicionaría la pérdida de una, hasta ahora, eficiente arma terapéutica.^{17, 28}

CONCLUSION

La participación de los diferentes agentes en cuadros infecciosos invasores es un fenómeno dinámico que depende de diversos factores, entre ellos la introducción de vacunas, que pueden llevar a la virtual desaparición de algunos de ellos, como lo ocurrido con *H. influenzae* tipo b.

Por otra parte, la resistencia que estos microorganismos desarrollan frente a los antimicrobianos presenta variaciones en el tiempo, por lo que es imprescindible mantener una estrecha vigilancia del fenómeno, con el objeto

de adecuar localmente los esquemas de tratamiento más efectivos para cada caso, especialmente en aquellos cuadros sistémicos que ponen en riesgo la vida del paciente, y en que el tratamiento oportuno es vital para el pronóstico.

RESUMEN

Haemophilus influenzae b, *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis* constituyen un grupo de agentes productores de enfermedad invasora en pediatría, cuya incidencia puede estar determinada por variaciones epidemiológicas espontáneas o por la intervención mediante el uso de vacunas.

En una revisión de 10 años en el Hospital Dr. Exequiel González Cortés se estudiaron los fenómenos de resistencia de estos microorganismos a los antimicrobianos comúnmente usados en su tratamiento, con referencia a su origen, mecanismos y a su expresión en el laboratorio.

H. influenzae b y *S. pneumoniae* han presentado resistencia de magnitud tal, que ha motivado cambios en los esquemas terapéuticos, en tanto *N. meningitidis* es un agente que sólo en los últimos años ha presentado resistencia a penicilina, en un rango que aún no justifica modificaciones de la terapia antimicrobiana en uso.

Dado que la expresión de resistencia no es uniforme en las diversas áreas geográficas, el fenómeno debe ser vigilado localmente, lo que permite la adecuación oportuna y eficaz de los esquemas terapéuticos, decisivos en el pronóstico de la patología causada por estos agentes.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- COHEN R, BINGEN E, VARON E et al. Change in nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* resulting from antibiotics therapy for acute otitis media in children. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16: 555-60.
- 2.- GAYNE R. The impact of antimicrobial use on the emergence of antimicrobial-resistant bacteria in hospitals. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11: 4: 757-65.
- 3.- LEGGIADRO R. The clinical impact of resistance in the management of pneumococcal disease. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11: 4, 867-74.
- 4.- BRADLEY J, KAPLAN S, KLUGMAN K, LEGGIADRO R. Consensus management of infections in children caused by *Streptococcus pneumoniae* with decreased susceptibility to penicillin. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 1037-41.
- 5.- PALAVECINO E, APPELBAUM P, JACOBS M. *Streptococcus pneumoniae* resistente a antibióticos. Aspectos microbiológicos y clínicos. *Rev Chil Infect* 1997; 14(1): 7-27.
- 6.- ENTING R H, SPANJAARD L, VAN DE BEEK D et al. Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae* isolate causing meningitis in The Netherlands, 193-1994. *J Antimicrob Chemother* 1996; 38: 776-86.
- 7.- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilutions antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. 3rd ed; Approved Standard NCCLS Document M7-A3. Vilanova Pa NCCLS; 1993.
- 8.- JOYANES P, MARTINEZ L, PASCUAL A et al. Usefulness of the disc diffusion method for evaluating the sensitivity of *Neisseria meningitidis* to penicillin and cefotaxime. *Enferm Infect Microbiol Clin* 1997; 15: 515-8.
- 9.- GENE A, FORTEA J, JUNCOSA T et al. Evaluation of the E test method in the antimicrobial sensitivity of *Neisseria meningitidis* to penicillin. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995; 13: 283-7.
- 10.- GOMEZ-HERRUZ P, GONZALEZ PALACIOS R, ROMANY K S, CUADROS J A, ENA J. Evaluation of the E test for penicillin susceptibility testing of *Neisseria meningitidis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 21 (2): 115-7.
- 11.- KISKA D. Comparison of antimicrobial susceptibility methods for detection of penicillin resistant *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 229-32.
- 12.- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifth Information Supplement. M100-S5 NCCLS, Vilanova, Pa, 1994.
- 13.- LEVINE M, LAGOS R, LEVINE O et al. Epidemiology of invasive pneumococcal infections in infants and young children in Metropolitan Santiago, a newly industrializing country. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17: 287-93.
- 14.- DIAZ J M, URRUTIA M T, CATALAN L et al. Impacto de la vacunación anti *Haemophilus influenzae* en la etiología de la Meningitis Bacteriana Aguda en Santiago. Libro de Resúmenes Congreso Chileno de Infectología. 12-14 de agosto 1998. Resumen XV.
- 15.- PELTOLA H. *Haemophilus influenzae* type b disease and vaccination in Latin America and the Caribbean. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16 (8): 780-7.
- 16.- MORANT A, DIEZ J, GIMENO C, DE LA MUE-

- LA N, PEREIRO I, BRINES J. Epidemiology of *Haemophilus influenzae* type b, *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae* in children in the Valencia Community, Spain. Acute disease study group. Rev Neurol 1998; 26: 34-7.
- 17.- CASTILLO L, MALDONADO A, GARCIA J et al. Caracterización de *Neisseria meningitidis* aislada de infecciones sistémicas. Chile, 1992-1993. Rev Méd Chile 194; 122: 70-107.
- 18.- JORGENSEN J. Laboratory issues in the detection and reporting of antibacterial resistance. Infect Dis Clin North Am 1997; 11 (4): 785-802.
- 19.- SCHUTZE G E, KAPLAN S, JACOBS R. Resistant pneumococcus: A worldwide problem. Infection 1994; 22: 233-7.
- 20.- CASTILLO L, BUSTOS R, ULLOA M T et al. Resistencia antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* causante de infecciones sistémicas en Chile. Rev Chil Infect 1994; 11: 163-7.
- 21.- TRUCCO O. Serotipos de *Streptococcus pneumoniae*. Correlación con virulencia y resistencia antimicrobiana. Rev Chil Infect 1997; 14 (3): 149-54.
- 22.- DI NUBILE M. Meningitis due to pneumococcus. Rev Infect Dis 1990; 12 (4): 717-8.
- 23.- FRIEDLAND I, SHELTON S, PARIS M et al. Dilemmas in diagnosis and management of cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumoniae* meningitis. Pediatr Infect Dis J 1993; 12: 196-200.
- 24.- SLOAS M, BARRET F, CHESNEY J et al. Cephalosporin treatment failure in penicillin and cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumoniae* meningitis. Pediatr Infect Dis J 1992; 11: 662-6.
- 25.- CASAL J, FEWNOLL A, VICIOSO M D, MUÑOZ R. Increase in resistance to penicillin in pneumococci in Spain. Lancet 1989; 735.
- 26.- SAHM D, TENOVER F. Surveillance for the emergence and dissemination of antimicrobial resistance in bacteria. Infect Dis Clin North Am 197; 11 (4): 767-84.
- 27.- SAEZ NIETO J A, VASQUEZ J A. Moderate resistance to penicillin in *Neisseria meningitidis*. Microbiología 1997; 13 (3): 337-42 (Abstract).
- 28.- OPPENHEIM B A. Antibiotic resistance in *Neisseria meningitidis*. CID 1997; 24 Supl 10: 98-101.
- 29.- *Haemophilus influenzae* type b disease. <http://www.who.org/gpvy-dvacc/diseases/hib.htm>. 19-Apr-1999.
- 30.- Infecciones graves producidas por *H. influenzae* b. <http://www.minsal.cl/iniciativas/PAI/resultados.htm>.
- 31.- MULHOLLAND K, JODA L. <http://www.who.org/gpv-dvacc/research/mening.htm>. 3 March 1999.
- 32.- Infecciones meningocócicas en Chile. 1990-1997. <http://disap.minsal.cl/epidemiología/new-enf-trans/rev-tem/meningitis/1990-1997.htm>.
- 33.- Boletín: Vigilancia epidemiológica de sensibilidad antimicrobiana de algunos agentes bacterianos de importancia clínica. Instituto de Salud Pública de Chile. Ministerio de Salud. 1997.

Correspondencia a:
Carmen Mendoza N.
Av. Simón Bolívar 7858-I, La Reina,
Santiago, Chile
Fono: 56 (2): 2734015
Fax: 56 (2) 2751842
Email: bym@rdc.cl