

Enfermedad invasiva por *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* serotipo b. Estudio retrospectivo de 12 años

N. Villó Sirerol^a, J.E. Blanco González^a, P. Sevilla Ramos^b, E. Vegas Muñoz^a, M.^aA. García Herrero^b, J. Álvarez Coca^b y J. Romanyck^c

^aPediatría. Atención Primaria Área 3. Madrid. Servicios de ^bPediatría y ^cMicrobiología. Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares. Madrid. España.

Antecedentes

Streptococcus pneumoniae y *Haemophilus influenzae* serotipo b (Hib) son dos de los microorganismos implicados con mayor frecuencia en las infecciones bacterianas graves en niños. La introducción de una vacuna eficaz frente a Hib y el aumento de resistencias de *S. pneumoniae* a penicilina han variado la epidemiología de la infección por estos dos microorganismos en los últimos años.

Objetivos

El propósito de este trabajo es estudiar la incidencia de enfermedad invasiva por *S. pneumoniae* y Hib en niños (0-15 años) atendidos en nuestro hospital durante un período de 12 años: de enero de 1991 a diciembre de 2002.

Métodos

Revisión retrospectiva de historias clínicas correspondientes a 101 niños con aislamiento positivo de *S. pneumoniae* o Hib en sangre, líquido cefalorraquídeo (LCR) o líquido articular durante el período de estudio.

Resultados

Para *S. pneumoniae* el número total de aislamientos fue de 81 (72 en sangre y 9 en LCR), en 73 niños (72,6% menores de 2 años). El diagnóstico clínico más frecuente fue: bacteriemia (67%). La tasa de incidencia anual de enfermedad invasiva fue de 53,76 casos/100.000 niños menores de 2 años (intervalo de confianza del 95% [IC 95%], 40,7-70,9). El porcentaje de cepas con resistencia a penicilina fue del 44%.

Para el Hib el número total de aislamientos fue de 38 (26 en sangre, 10 en LCR, 2 en líquido articular) en un total de 28 niños. El 82,1% eran menores de 2 años. El diagnóstico clínico más frecuente fue meningitis (35,7%). La tasa de incidencia anual de enfermedad invasiva pasó de 21,52 casos (IC 95%, 14,4-32) a 1,7 casos (IC 95%, 0,1-10,8)/100.000 niños menores de 5 años tras la vacunación sistemática. El porcentaje de cepas resistentes a ampicilina fue de 63,1%.

Conclusiones

La incidencia de infección invasiva por *S. pneumoniae* y la elevada resistencia a antibióticos hacen reflexionar sobre la conveniencia del uso sistemático de la vacuna conjugada antineumocócica. La vacunación sistemática contra Hib desde octubre de 1998 ha hecho disminuir de forma drástica la incidencia de la enfermedad invasiva.

Palabras clave:

S. pneumoniae. *Haemophilus influenzae* serotipo b. Enfermedad invasiva. Resistencia antibióticos. Vacunas.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE AND HAEMOPHILUS INFLUENZAE SEROTYPE B INVASIVE DISEASE. A 12-YEAR RETROSPECTIVE STUDY

Background

Streptococcus pneumoniae and *Haemophilus influenzae* serotype b (Hib) are two of the most common causes of invasive bacterial disease in children. The introduction of a successful Hib vaccine and the emergence of penicillin-resistant pneumococci have changed the epidemiology of these bacteria over the last few years.

Objectives

To evaluate the incidence of *S. pneumoniae* and Hib invasive disease in children (0-15 years) admitted to our hospital during a 12-year period (January 1991-December 2002).

Methods

We retrospectively reviewed the medical records of 101 children with isolation of *S. pneumoniae* and Hib in blood, cerebrospinal fluid (CSF) or synovial fluid samples during the study period.

Results

SP was isolated in 81 samples (72 in blood and nine in CSF) from 73 children (72.6% were aged < 2 years). The

Correspondencia: Dra. N. Villó Sirerol.
General Yagüe, 70, 6.º A. 28020 Madrid. España.
Correo electrónico: natachavillo@wanadoo.es

Recibido en enero de 2004.
Aceptado para su publicación en abril de 2004.

annual incidence per 100,000 children aged 0-2 years was 53.76 cases (95% CI: 40.7-70.9). The most common clinical diagnosis was bacteremia (67%). The percentage of penicillin-resistant strains was 44%.

Hib was isolated in 38 samples (26 in blood, 10 in CSF and two in synovial fluid) from 28 children (82.1% were aged < 2 years). The most common clinical diagnosis was meningitis (35.7%). The annual incidence per 100,000 children aged between 0-5 years dropped from 21.52 cases (95% CI: 14.4-32) to 1.7 cases (95% CI: 0.1-10.8) after systematic vaccination. The percentage of ampicillin-resistant strains was 63.1%.

Conclusions

The incidence of invasive pneumococcal disease and the increased antimicrobial resistance rates of pneumococcus are two major reasons to support the routine use of pneumococcal conjugate vaccination in children. Systematic Hib vaccination since October 1998 has dramatically reduced the incidence of this disease.

Key words:

Streptococcus pneumoniae. *Haemophilus influenzae* serotype b. Invasive disease. Antibiotic resistance. Vaccines.

INTRODUCCIÓN

Streptococcus pneumoniae y *Haemophilus influenzae* serotipo b (Hib) han sido, tradicionalmente, dos de los microorganismos implicados en la producción de enfermedad invasiva en niños. Ambos colonizan el tracto respiratorio superior, existiendo portadores asintomáticos que transmiten la infección.

La enfermedad invasiva por *H. influenzae* (meningitis, septicemia, epiglotitis, celulitis, neumonía, artritis) se debe principalmente a cepas productoras de cápsula polisacárida tipo b (Hib).

La incidencia de enfermedad invasiva por Hib ha disminuido espectacularmente en aquellos países en los que se ha introducido la vacuna conjugada de forma sistemática en el calendario vacunal¹. En Estados Unidos, país que introdujo la vacuna en el año 1991, había disminuido la incidencia de enfermedad invasiva en los primeros 5 años de vacunación sistemática en un 99% entre los niños menores de 5 años². En España, la incidencia de enfermedad invasiva por Hib era entre 15,5-20 casos por 100.000 niños menores de 5 años^{3,4}, disminuyendo drásticamente a 0,3/100.000 niños menores de 5 años en 1998, año de inicio de la vacunación sistemática⁵. Previo a esta fecha, Hib era uno de los agentes implicados con más frecuencia en la producción de meningitis bacteriana, con una incidencia de 7,5 casos por 100.000 niños menores de 5 años⁶.

S. pneumoniae constituye la primera causa de neumonía bacteriana en niños hospitalizados y es el agente implicado con más frecuencia en la bacteriemia oculta de lactantes y niños con fiebre sin foco⁷. La incidencia de meningitis por *S. pneumoniae* en niños menores de 2 años en España es de 13,13/100.000 niños/año⁸, siendo sus tasas de letalidad

(6%) y secuelas superiores a las ocasionadas por otros microorganismos. La comercialización en España de una vacuna conjugada antineumocócica eficaz ha supuesto que los expertos recomienden su administración sistemática en menores de 2 años⁹.

PACIENTES Y MÉTODOS

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la incidencia de la enfermedad invasiva por *S. pneumoniae* y Hib en la población infantil que atiende el Hospital Universitario Príncipe de Asturias de Alcalá de Henares del Área Sanitaria 3 de Madrid.

Para ello se ha realizado un estudio retrospectivo de todos los casos de enfermedad invasiva por *S. pneumoniae* o Hib desde enero de 1991 hasta diciembre de 2002. El criterio de inclusión en el estudio fue el aislamiento del microorganismo (*S. pneumoniae* o Hib) en sangre, líquido cefalorraquídeo (LCR) o líquido articular en los niños atendidos en el servicio de urgencias por fiebre, asociada o no a otros síntomas. El estudio se realiza por revisión de las historias clínicas de los niños con aislamiento positivo, analizando las siguientes variables en cada caso: edad, sexo, año y mes del aislamiento, diagnóstico, evolución clínica y patrón de resistencia a antibióticos. Se excluyen del estudio los niños con sospecha de enfermedad invasiva en los que no hay confirmación bacteriológica.

Los datos de la población infantil se obtuvieron a través de la Gerencia de Atención Primaria del Área Sanitaria 3 del Instituto Madrileño de la Salud.

Material y métodos microbiológicos

El aislamiento e identificación de *S. pneumoniae* se realizó por las técnicas microbiológicas habituales (prueba de la optoquina) a partir de sangre y/o LCR. No se realizó serotipia de las cepas aisladas.

Las pruebas de sensibilidad *in vitro* se realizaron por los métodos de disco-difusión, siguiendo las normas del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)¹⁰. La concentración inhibitoria mínima (CIM) frente a penicilina, eritromicina y cefotaxima (valores para localización meníngea) se realizó por medio del Epsilon-test (E-Test) con los siguientes rangos de valores como interpretación:

1. Penicilina: CIM \leq 0,06, sensible; CIM = 0,12-1, intermedia; CIM \geq 2, resistente.
2. Eritromicina: CIM \leq 0,25, sensible; CIM = 0,5, intermedia; CIM \geq 1, resistente.
3. Cefotaxima: CIM \leq 0,5, sensible; CIM = 1, intermedia; CIM \geq 2, resistente.

El aislamiento, identificación y tipificación de Hib se realizó por métodos microbiológicos habituales: factores V y X; galería API NH (BioMérieux, Lyon, Francia); aglutinación rápida en porta frente a partículas de látex sensibilizadas con suero de conejo anti-Hib.

TABLA 1. Enfermedad invasiva por *Streptococcus pneumoniae*. Diagnósticos clínicos y frecuencias

Diagnósticos	Número de niños (n = 73)	Porcentaje
Bacteriemia		
Aislada	38	52,05
Asociada a foco infeccioso ORL		
OMA	9	15,04
Sinusitis	1	
Mastoiditis	1	
Neumonía	15	20,54
Meningitis	9	12,32

ORL: otorrinolaringológico; OMA: otitis media aguda.

Se realizaron pruebas de sensibilidad *in vitro* mediante el método de disco-difusión en placas de Mueller-Hinton-agar chocolate, incubándose durante 16-18 h a 35 °C en atmósfera aeróbica con 5-10% de CO₂, frente a ampicilina, amoxicilina más ácido clavulánico, cefotaxima y meropenem. La detección rápida de producción de betalactamasa en las cepas de *H. influenzae* se realizó mediante la prueba de Nitrocefín (Oxoid Limited, Hampshire, England).

Análisis estadístico de los datos

Se ha utilizado el paquete estadístico G-Stat, versión 1.2, enero 2003 (Departamento de Biometría, Glaxo-SmithKline, S.A., Tres Cantos, Madrid) para el análisis de los datos, realizando estratificación de los datos y aplicando la técnica estadística de rangos signados para muestras pareadas (Mann-Whitney), análisis de correlación lineal en la tendencia de las meningitis neumocócicas y sensibilidad a penicilina de neumococo y el Epitable versión 2.0 (Centro para el Control de Enfermedades de Atlanta, CDC), para el cálculo de los intervalos de confianza (IC) de las tasas de incidencia y el análisis de la diferencia entre tasas de incidencia de meningitis por Hib, antes y después de la vacuna.

RESULTADOS

Durante el período de estudio (enero de 1991-diciembre de 2002) se diagnosticaron en nuestro hospital 101 casos de infección invasiva por estos dos microorganismos en niños menores de 15 años: 73 niños con infección invasiva por *S. pneumoniae* y 28 niños con infección invasiva por Hib.

El Hospital Universitario Príncipe de Asturias atiende a una población infantil de 60.600 niños menores de 15 años.

Para *S. pneumoniae* el número total de aislamientos fue de 81 (72 en sangre y 9 en LCR) en un total de 73 niños. El 72,6% de los niños era menores de 2 años y el 89% menores de 5 años. No hubo ningún caso en menores de 2 meses. El cociente de posibilidades (*ratio*) varón/mujer fue: 1,4.

Los diagnósticos clínicos más frecuentes fueron: bacteriemia, 49 casos (67%); neumonía 15 casos (20,5%), y meningitis, 9 casos (12,3%). En 11 niños (15%) la bacteriemia se asoció a foco infeccioso otorrinolaringológico (tabla 1). De los 15 niños con neumonía, dos desarrollaron empiema (13,6%). La evolución desde el servicio de urgencias fue la siguiente: 42 niños (57,53%) ingresaron en planta para tratamiento, 24 niños (32,8%) fueron dados de alta en urgencias y realizaron tratamiento domiciliario, 7 niños (9,5%) precisaron ingreso en una unidad de cuidados intensivos (UCI) pediátrica: seis con diagnóstico de meningitis y uno con neumonía y empiema. Ningún niño falleció. De los 9 niños con meningitis, dos desarrollaron secuelas neurológicas (22,2%): hipoacusia neurosensorial y monoparesia inferior derecha en un niño y hemiparesia derecha con retraso psicomotor en otro. El tiempo medio de seguimiento de los niños en consulta fue de 3,37 años.

La distribución por edad de los 9 niños con meningitis por *S. pneumoniae* fue la siguiente: menores de 2 años, 5 (55,5%); de 2 a 5 años, 1 caso (11,1%) y mayores de 5 años, 3 casos (33,3%). Los 2 niños que presentaron secuelas neurológicas eran menores de 1 año.

La tasa de incidencia anual de enfermedad invasiva por *S. pneumoniae* en niños menores de 15 años fue de 9,27 casos por 100.000 niños-año (IC 95%, 7,3-11,7). En niños de 0-5 años la tasa de incidencia de enfermedad invasiva fue de 33,11 casos por 100.000 niños-año (IC 95%, 25,8-42,5) y la tasa de meningitis de 2,5 casos por 100.000 niños-año (IC 95%, 0,9-6,3). En los menores de 2 años la tasa de incidencia de enfermedad invasiva fue mayor: 53,76 casos por 100.000 niños-año (IC 95%, 40,7-70,9) y la tasa de meningitis 4,06 casos por 100.000 niños-año (IC 95%, 1,3-11,2).

La distribución anual de los casos de enfermedad invasiva por *S. pneumoniae* se muestra en la figura 1. La distribución mensual muestra una variación estacional con picos de incidencia máximos en otoño e invierno (fig. 2).

El patrón de resistencia antimicrobiana se realizó en 68 casos. Se observó el 43,8% de cepas resistentes a penicilina (38% de cepas con resistencia intermedia y 5,8% con resistencia alta). El 100% de las cepas eran sensibles a cefotaxima. En el caso de eritromicina se encontró un 20% de cepas resistentes.

Analizando el patrón de resistencia de *S. pneumoniae* a penicilina con relación a la edad, se observó una mayor resistencia global a la penicilina entre los niños menores de 2 años (79,3% de las cepas resistentes), aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0,1167$): análisis de la chi cuadrado (χ^2).

Para Hib el número total de aislamientos fue de 38: 26 en sangre, 10 en LCR y 2 en líquido articular, en un total de 28 niños. El 82,1% de los niños eran menores de 2 años. Sólo 1 caso era menor de 2 meses. La *ratio* varón/mujer fue de 0,86. Los diagnósticos clínicos más frecuentes fueron meningitis en 10 casos (35,7%), bacteriemia en 9 casos (32,1%) y en 3 niños (10,7%) la bacteriemia se

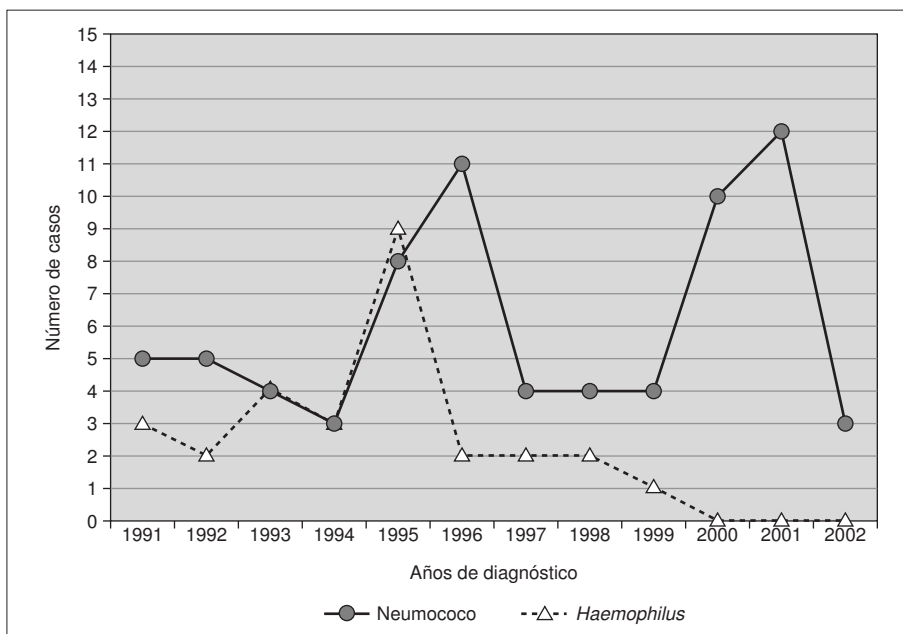


Figura 1. Evolución de la infección invasiva por *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* serotipo b (años 1991-2002).

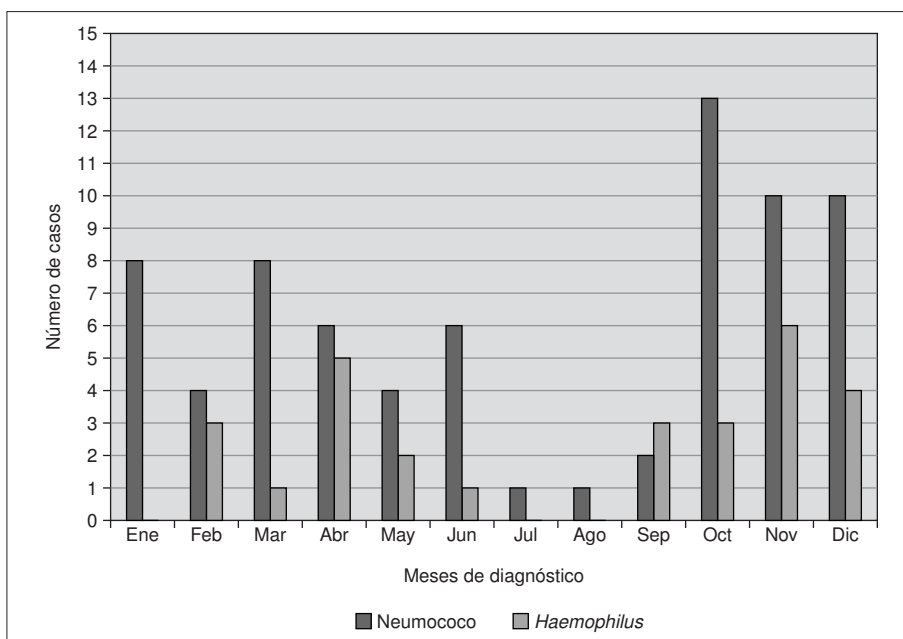


Figura 2. Distribución mensual de la infección invasiva por *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* serotipo b.

asoció a foco infeccioso otorrinolaringológico u oftalmológico (tabla 2).

La evolución desde el servicio de urgencias fue la siguiente: 19 niños (67%) ingresaron en planta para tratamiento; 2 casos (7%) fueron dados de alta y realizaron tratamiento ambulatorio; 7 niños (25%) precisaron ingreso en UCI (tres epiglotitis, uno artritis séptica, uno sepsis y dos meningitis). Todos presentaron buena evolución. Todos los casos de meningitis eran menores de 2 años. Tras un seguimiento medio en consulta de 1,08 años, ningún niño presentó déficit auditivos ni otras secuelas neurológicas.

La tasa de incidencia anual de enfermedad invasiva en niños de 0-15 años fue de 3,55 casos por 100.000 niños-año (IC 95 %, 25,8-42,5). La tasa de incidencia anual de enfermedad invasiva en menores de 5 años antes de la vacunación sistemática fue de 21,52 casos por 100.000 niños-año (IC 95 %, 14,4-32). A partir de 1998, año de introducción de la vacuna, la tasa de incidencia anual de enfermedad invasiva en menores de 5 años pasó a 1,7 casos por 100.000 niños-año (IC 95 %, 0,1-10,8). Existe diferencia estadísticamente significativa entre ambas tasas ($p < 0,009$). La tasa de incidencia de meningitis por Hib en el mismo grupo de

TABLA 1. Diagnósticos clínicos y frecuencias de la enfermedad invasiva por *Haemophilus influenzae* serotipo b

Diagnósticos	Número de niños (n = 28)	Porcentaje
Meningitis	10	35,7
Bacteriemia		
Aislada	6	21,4
Asociada a foco infeccioso		
ORL y OFT		
OMA	1	10,7
Celulitis orbitaria	1	
Sinusitis	1	
Neumonía	4	14,2
Artritis séptica	2	7,1
Epiglotitis	3	10,7

ORL: otorrinolaringológico; OFT: oftalmológico; OMA: otitis media aguda.

edad ha pasado de 8,2 (IC 95%, 4,2-15,8) a 0 casos por 100.000 niños-año (IC 95%, 0-7,9) tras la introducción de la vacuna. No existe diferencia estadísticamente significativa entre ambas tasas ($p = 0,057340$), por corrección de Yates. En menores de 2 años la tasa de incidencia anual de enfermedad invasiva fue 23,3 casos por 100.000 niños-año (IC 95%, 15,1-35,6) y la tasa de meningitis de 8,2 casos por 100.000 niños-año (IC 95%, 4,2-15,8).

La distribución anual muestra un pico de mayor incidencia en 1995. A partir de la introducción de la vacuna sólo se detectó 1 caso de enfermedad invasiva por Hib, año 1999 (fig. 1). La distribución mensual muestra la máxima incidencia (60,7% de casos) en los meses de otoño-invierno (fig. 2).

El patrón de resistencia a antimicrobianos se realizó en 19 casos. Se encontró el 63,1% de resistencias a ampicilina y ninguna resistencia a cefotaxima ni meropenem. Todas las cepas resistentes a ampicilina fueron por producción de betalactamasa.

DISCUSIÓN

La incidencia en España de la enfermedad invasiva por Hib y la elevada resistencia a antibióticos¹¹ fueron determinantes para que en octubre de 1998, se incluyera la vacuna conjugada contra Hib en el calendario de vacunaciones sistemáticas de la Comunidad Autónoma de Madrid.

En este estudio se comprobó que, desde que se inicia la vacunación, la incidencia de enfermedad invasiva por Hib en nuestra población infantil se ha reducido de forma estadísticamente significativa, al igual que en otros países. No se ha detectado ningún fallo vacunal, y el único caso de enfermedad invasiva por Hib desde el inicio de la inmunización sistemática correspondía a un niño no vacunado. La tasa de incidencia de infección invasiva por Hib y el número de cepas de Hib productoras de betalacta-

masas que se encontraron antes del inicio de la vacunación sistemática, coinciden con las publicadas en España en otros trabajos en el mismo período^{4,5,11}.

A pesar de estos resultados, recientes publicaciones¹² alertan sobre un aumento de la incidencia de enfermedad invasiva por Hib en los últimos años, en países con vacunación sistemática contra Hib^{13,14}. La aparición de fallos vacunales podría deberse a distintas causas: aplicación de un esquema reducido de vacunación como en Reino Unido¹³, administración simultánea con la vacuna acelular de *Bordetella pertussis*¹⁵ o con otras vacunas conjugadas¹⁶.

En España, la situación de la enfermedad invasiva por Hib y la experiencia en fallos vacunales se ha revisado recientemente: los autores comunican 5 casos de enfermedad invasiva del año 1998 al 2002¹⁷. Todos los niños eran menores de 5 años y estaban correctamente vacunados.

Por lo tanto y, a pesar de que en nuestro trabajo no se detectó ningún fallo vacunal, debemos mantener activo el sistema de vigilancia epidemiológica para detectar nuevos casos de infección por Hib.

La incidencia de enfermedad invasiva por *S. pneumoniae* en nuestra población infantil es similar a la de otros estudios realizados en España; sin embargo, la incidencia que se encuentra de meningitis por *S. pneumoniae* es inferior a la publicada en otros trabajos^{18,19}. Algunos autores alertan sobre un aumento en la incidencia de meningitis por *S. pneumoniae* en los últimos años, tanto en la comunidad de Madrid²⁰, como en otras comunidades autónomas^{8,21}. Nosotros también detectamos un número creciente de casos de meningitis por *S. pneumoniae* a partir de 1997, aunque sin ser estadísticamente significativo.

A pesar de que la tasa de incidencia de meningitis por *S. pneumoniae* es inferior a la detectada para los casos de Hib, antes del inicio de la vacunación, las secuelas neurológicas que se encontraron en la meningitis por *S. pneumoniae* (22,2%) son muy superiores a las detectadas en las meningitis por Hib, ya que este microorganismo en ningún caso originó secuelas tras la meningitis.

Por otro lado, el aumento de cepas con resistencia total o parcial a penicilina en España es un hecho conocido^{8,22}. En nuestro trabajo, la tasa de resistencias a penicilina es equivalente a las publicadas. A diferencia de otros autores⁸, nosotros no hemos detectado cepas con resistencia a cefotaxima. En este trabajo, al tratarse de un estudio retrospectivo, no se realizó serotipia de las cepas aisladas.

Un estudio prospectivo realizado en España⁸ encuentra que el 80% de los serotipos aislados en las meningitis neumocócicas están incluidos en la vacuna conjugada heptavalente. El Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría recomienda la inmunización sistemática en los menores de 2 años desde el año 2002⁹.

Estudios recientes realizados en Estados Unidos, muestran que la utilización sistemática de la vacuna neumocócica conjugada heptavalente (Vnc7v) a partir de julio de 2002, ha hecho disminuir la incidencia de la enfermedad

neumocócica invasiva de forma significativa en los años 2001-2002 en dicho país²³. Esta reducción fue especialmente notable en los niños de 3 a 24 meses de edad, con una reducción de incidencia del 69% en el primer año de estudio^{22,23}. Esta disminución de incidencia se produce de forma general, tanto en la población infantil, incluyendo niños vacunados y no vacunados, como en la población adulta^{24,25}. La elevada incidencia de enfermedad invasiva, las secuelas originadas por las meningitis neumocócicas y el aumento de las cepas resistentes a penicilina, deberían hacer reflexionar sobre la conveniencia de introducir el seguimiento epidemiológico de los casos de enfermedad invasiva producidos por este microorganismo. Esto permitiría obtener datos más completos, con el fin de que las autoridades sanitarias pudieran valorar la inclusión de la vacunación sistemática contra *S. pneumoniae* en el calendario vacunal infantil.

Por lo tanto, si se extendiera el uso de esta vacuna en nuestro medio, es posible que asistiésemos en los próximos años a una disminución de la enfermedad neumocócica invasiva en todos los grupos de edad, de forma análoga a lo observado con la evolución de la enfermedad invasiva por Hib en los últimos años.

BIBLIOGRAFÍA

- Peltola H. Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century: Global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:302-17.
- CDC. Progress toward elimination of *Haemophilus influenzae* type b invasive disease among infants and children. United States 1998-2000. *MMWR* 2002;51:234-7.
- Díez-Domingo J, Pereiro I, Morant A, Gimeno C, San-Martín M, González A. Impact of non-routine vaccination on the incidence of invasive *Haemophilus influenzae* type b (Hib) disease: Experience in the autonomous region of Valencia, Spain. *J Infect* 2001;42:257-60.
- Beni C, Caylà JA, Jansà JM, Maldonado R, Panella H, Rajmil L, et al. Enfermedad invasiva por *Haemophilus influenzae* tipo b y enfermedad meningocócica: incidencia y características en Barcelona, 1994-1995. *Med Clin (Barc)* 1999;112:1-4.
- Goicoechea Sáez M, Fullana Montoro AM, Momparler Carrasco P, Redondo Gallego MJ, Brines Solanes J, Bueno Canigral FJ. Infección por *Haemophilus influenzae* antes y después de la campaña de vacunación en niños de la Comunidad Valenciana 1996-2000. *Rev Esp Salud Pública* 2002;76:197-206.
- Fernández-Jaén A, Borque Andrés C, Del Castillo F, Peña García P, Vidal López ML. Meningitis bacteriana en la edad pediátrica. Estudio de 166 casos. *An Esp Pediatr* 1998;48:495-8.
- Aristegui Fernández J, Corretger Rauet JM, García Martín F, Hernández Sampelayo T, Rodrigo Gonzalo de Liria C. Manual de vacunas en pediatría. 1ª ed. Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría. 1996; p. 200-10.
- Casado Flores J, Fenoll A, Aristegui Fernández J, Rodrigo de Liria C, Martín Sánchez JM, Berrón S, et al y Grupo para el Estudio de la Meningitis Neumocócica. Meningitis neumocócica en niños españoles: incidencia, serotipos y resistencia antibiótica. Estudio prospectivo multicéntrico. *An Esp Pediatr* 2002;57:295-300.
- Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría. Incidencia de la infección neumocócica invasora en niños menores de dos años. Vacuna neumocócica conjugada heptavalente. Situación en España. *An Esp Pediatr* 2002;57:287-9.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria Grow Aerobically. Approved Standard. 5th ed. January 2000.
- Pérez-Trallero E, Díaz de Tuesta JL, Gutiérrez C, Gaztelorribia L. *Haemophilus influenzae* vaccines for infants in Spain. *BMJ* 1995;311:330-1.
- Campos Marqués J, Aracil García B. ¿Regreso de la infección por *Haemophilus influenzae* tipo b? *An Pediatr (Barc)* 2003;59:425-8.
- Garner D, Weston V. Effectiveness of vaccination for *Haemophilus influenzae* type b. *Lancet* 2003;361:395-6.
- Rijkers GT, Vermeer-de Bondt P, Spanjaard L, Breukels MA, Sanders EAM. Return of *Haemophilus influenzae* type b infections. *Lancet* 2003;361:1563-4.
- McVernon J, Andrews N, Slack MPE, Ramsay ME. Risk of vaccine failure after *Haemophilus influenzae* type b (Hib) combination vaccines with acellular *pertussis*. *Lancet* 2003;361:1521-3.
- Dagan R, Eskola J, Leclerc C, Leroy O. Reduced response to multiple vaccines sharing common protein epitopes that are administered simultaneously to infants. *Infect Immun* 1998;66:2093-8.
- Campos J, Aracil B, Román F, Pérez-Vázquez M, and the Spanish collaborative group for Hib vaccine failures. Molecular epidemiology of *Haemophilus influenzae* type b isolated from children with clinical cases of conjugate-vaccine failures. *J Clin Microbiol* 2003;41:3915-8.
- Domínguez A, Salleras L, Cardeñosa N, Ciruela P, Carmona G, Martínez A, et al. The epidemiology of invasive *Streptococcus pneumoniae* disease in Catalonia (Spain). A hospital-based study. *Vaccine* 2002;20:2989-94.
- Pineda V, Domingo M, Larramona H, Pérez A, Segura F, Fontanals D. Incidencia de la infección invasiva por *Streptococcus pneumoniae* en Sabadell y posible impacto de las nuevas vacunas antineumocócicas conjugadas. *Vacunas Invest Pract* 2002;3:13-7.
- García Gutiérrez J, Gutiérrez Rodríguez MA, Ramírez Fernández R, Ruiz Lopeña C, Domínguez Berjón MF, De los Ríos M. Meningitis neumocócica en la Comunidad de Madrid 1997-2000. *Gaceta Sanitaria* 2001;15:5-2.
- Casado Flores J, Aristegui Fernández J, Rodrigo de Liria C, Martín Sánchez JM, Fernández Pérez C y Grupo de Estudio de la Meningitis Neumocócica. Prevalencia de meningitis neumocócica en niños españoles. *An Esp Pediatr* 2002;56:5-9.
- Pocheville Gurutzeta I, Hernández Almaraz JL, Gutiérrez Villamayor C, Villas Soria P, Gareta Ibáñez C, Ullibarri Francia B. Enfermedad invasiva por *Streptococcus pneumoniae*: Análisis de 7 años. *An Esp Pediatr* 1997;47:151-5.
- Lin PL, Michaels MG, Janosky J, Ortenzo M, Wald ER, Mason Ed O. Incidence of invasive pneumococcal disease in children 3 to 36 months of age at a tertiary care pediatric center 2 years after licensure of the pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatrics* 2003;111:896-9.
- Whitney CG, Farley MM, Hadler J, Harrison LH, Bennett NM, Lynfield R, et al. Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. *N Engl J Med* 2003;348:1737-46.
- Black SB, Shinefield HR, Hansen J, Elvin L, Laufer D, Malinoski F. Postlicensure evaluation of the effectiveness of seven valent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:1005-7.