

Etiología de la otitis media aguda en un hospital pediátrico y sensibilidad a los antibióticos de los microorganismos implicados

Amadeu Gené, Juan José García-García, Araceli Domingo, Peter Wienberg y Edgar Palacín

Servicios de Microbiología y Pediatría. Unidad de Infectología Pediátrica y Otorrinolaringología. Hospital Sant Joan de Déu. Esplugues de Llobregat. Barcelona. España.

FUNDAMENTO. El objetivo de este estudio es conocer de forma actualizada la etiología bacteriana de la otitis media aguda (OMA) y la sensibilidad antibiótica de los microorganismos implicados, así como determinar la prevalencia de los serotipos circulantes de *Streptococcus pneumoniae*.

MÉTODOS. Se han estudiado retrospectivamente 240 muestras de secreción ótica obtenidas por aspiración mediante timpanocentesis diagnóstica y 167 muestras obtenidas mediante frotis de secreción espontánea, procesadas entre los años 1999 y 2001.

RESULTADOS. La edad media del total de pacientes incluidos en el estudio fue de 17 meses y la mediana de 13 meses (rango, 1 mes-7 años).

De las muestras obtenidas por timpanocentesis en 67 (27,9%) se aisló *S. pneumoniae*; en 60 (25%), *Haemophilus influenzae*; en 3 (1,3%), *S. pneumoniae* y *H. influenzae*, y en 6 (2,5%), *Moraxella catarrhalis*. En las muestras obtenidas por frotis de secreción ótica espontánea en 15 (9%) se aisló *S. pneumoniae*, en 25 (15%) *H. influenzae* y en 1 (0,6%) *S. pneumoniae* y *H. influenzae*. El resto de muestras fueron negativas o se aislaron microorganismos colonizadores.

El 49,3% de las cepas de *S. pneumoniae* tenían sensibilidad intermedia (concentración inhibitoria mínima [CIM]: 0,12-1 µg/ml) y 16,9% fueron resistentes (CIM: ≥ 2 µg/ml) frente a penicilina y el 54% de las cepas fueron resistentes a macrólidos.

El 24,7% de las cepas de *H. influenzae* aisladas eran productoras de betalactamasas y, por tanto, resistentes a ampicilina, así como todas las cepas de *M. catarrhalis*. De las 76 cepas de *S. pneumoniae* en que se dispone del serotipo, 64 (84,2%) pertenecen a los serotipos incluidos en la vacuna neumocócica heptavalente.

CONCLUSIONES. *S. pneumoniae* y *H. influenzae* destacan como los principales agentes etiológicos de la OMA con

una sensibilidad antibiótica que sigue el patrón general de resistencias de nuestro país.

El cultivo de secreción ótica espontánea tiene escasa utilidad para establecer la etiología de la OMA.

El conocimiento de la actual distribución de serotipos de *S. pneumoniae* es la referencia para valorar los posibles cambios epidemiológicos debidos a la introducción de la vacuna neumocócica heptavalente.

Palabras clave: Otitis media aguda. Etiología. *Streptococcus pneumoniae*. *Haemophilus influenzae*.

Etiology of acute otitis media in a children's hospital and antibiotic sensitivity of the bacteria involved

BACKGROUND. This study provides an update on the bacterial etiology of acute otitis media in our area, the antibiotic sensitivity of the bacteria implicated in this condition, and the prevalence of circulating *Streptococcus pneumoniae* serotypes.

METHODS. Results from a total of 240 samples obtained by diagnostic tympanocentesis and 167 samples of spontaneous otorrhea processed between 1999 and 2001 were reviewed retrospectively.

RESULTS. The mean age of the patients studied was 17 months and the median was 13 months (range: 1 month–7 years).

Among the tympanocentesis samples, *S. pneumoniae* was recovered from 67 (27.9%), *Haemophilus influenzae* from 60 (25%), both *S. pneumoniae* and *H. influenzae* from 3 (1.3%) and *Moraxella catarrhalis* from 6 (2.5%). Among the spontaneous otorrhea samples, *S. pneumoniae* was recovered from 15 (9%), *H. influenzae* from 25 (15%) and both *S. pneumoniae* and *H. influenzae* from 1 (0.6%). The remaining samples showed either no growth or recovery of colonizing flora.

The main findings were as follows: 49.3% of *S. pneumoniae* strains showed intermediate sensitivity to penicillin (MIC: 0.12-1 µg/ml), 16.9% were resistant to penicillin (MIC: ≥ 2 µg/ml) and 54% were resistant to macrolides; 24.7% of *H. influenzae* and 100% of *M. catarrhalis* strains were β-lactamase producers;

Correspondencia: Dr. A. Gené.

Servicio de Microbiología. Hospital Sant Joan de Déu.

Pº Sant Joan de Déu, 2. 08950 Esplugues de Llobregat. Barcelona. España.

Correo electrónico: agene@hsjdbcn.org

Manuscrito recibido el 13-10-2003; aceptado el 22-12-2003.

Este estudio se ha realizado en el marco de la Red Española de Estudio de Infección Neumocócica (G03/103).

and 64 (84,2%) of 76 *S. pneumoniae* serotyped strains belonged to pneumococcal heptavalent vaccine serotypes.

CONCLUSIONS. *S. pneumoniae* and *H. influenzae* were the main causal agents of acute otitis media. Antibiotic sensitivity of the bacteria involved showed the same characteristics as the general pattern in our country. Spontaneous otorrhea culture was not a useful method for establishing the etiology of acute otitis media. Knowledge of the distribution of *S. pneumoniae* serotypes is essential for assessing epidemiological changes resulting from the use of heptavalent pneumococcal vaccine.

Key words: Acute otitis media. Etiology. *Streptococcus pneumoniae*. *Haemophilus influenzae*.

Introducción

Aunque la otitis media aguda (OMA) es una de las infecciones más frecuentes en pediatría, disponemos de pocos estudios actualizados realizados en nuestro país¹. Hemos de tener en cuenta que el tratamiento antibiótico de este tipo de infección se realiza mayoritariamente de forma empírica y que *Streptococcus pneumoniae*, microorganismo etiológicamente importante, presenta elevadas tasas de resistencia a β -lactámicos y macrólidos²⁻⁴, que son los antibióticos habitualmente utilizados en la práctica clínica. Desde un punto de vista epidemiológico interesa conocer los serotipos de *S. pneumoniae* implicados en esta patología, teniendo en cuenta la creciente utilización de la vacuna neumocócica heptavalente (VPN-7). El objetivo de este estudio es conocer de forma actualizada la etiología bacteriana y la sensibilidad antibiótica, así como determinar la prevalencia de los serotipos de *S. pneumoniae* relacionados con la OMA.

Métodos

Se han estudiado retrospectivamente 240 muestras, procedentes de 232 pacientes, de secreción ótica obtenidas por aspiración mediante timpanocentesis diagnóstica y 167 muestras, procedentes de 152 pacientes, obtenidas mediante frotis de secreción espontánea, procesadas entre los años 1999 y 2001. Todas las muestras procedían de pacientes con diagnóstico clínico de OMA.

La realización de la timpanocentesis se realizó mediante visión microscópica. Después de realizar la limpieza del conducto auditivo externo se practicó una miringotomía en el cuadrante inferior. Con un

aspirador – colector (Juhn Tym-Tap. Xomed®) se aspiró el contenido del oído medio y se procesó inmediatamente.

Las muestras fueron cultivadas en placas de agar Columbia + 5% de sangre de cordero, agar McConkey, agar chocolate + PoliVitex y agar Schaedler + 5% de sangre de cordero, incubadas a 35-36 °C en atmósfera aerobia, aerobia +5% de CO₂ y anaerobia, respectivamente. También se inocularon en medio líquido de tioglicolato.

La identificación bacteriana se realizó según los procedimientos habituales.

La determinación de la sensibilidad antibiótica de los microorganismos aislados se realizó siguiendo las recomendaciones del NCCLS⁵ mediante el método de microdilución para *S. pneumoniae* (MICRoS-TREP Plus, MicroScan®. Dade Behring) y *Haemophilus influenzae* (Panel MIC Fastidiosos. Wider) y mediante el método de difusión en agar para *Moraxella catarrhalis*.

La producción de betalactamasas se determinó mediante la prueba de la nitrocefina (Cefinase. Becton Dickinson).

El serotipado de las cepas de *S. pneumoniae* se realizó en el Laboratorio de Referencia de neumococos (Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid).

Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS para Windows versión 10.1. Para el estudio de las variables cuantitativas se utilizó la prueba t de Student.

Resultados

La edad media del total de pacientes incluidos en el estudio fue de 17 meses y la mediana de 13 meses (rango, 1 mes-7 años).

La edad media de los pacientes en que las muestras se obtuvieron mediante timpanocentesis y frotis de secreción espontánea fue de 15,2 y de 21,1 meses y la mediana de 12 y 19 meses, respectivamente.

No se observaron diferencias de edad estadísticamente significativas entre los pacientes con cultivos etiológicamente valorables y el resto de pacientes, y tampoco entre los del primer grupo, según fuere el microorganismo aislado.

La tabla 1 resume los resultados de cultivo obtenidos.

Timpanocentesis: las 240 muestras pertenecían a 232 pacientes. En 8 casos se disponía de dos muestras de distintos episodios de otitis del mismo paciente.

En 49 (20,4%) de las muestras no se aisló ningún microorganismo. En 41 (17%) de las muestras se aislaron microorganismos saprofitos del conducto auditivo externo (*Staphylococcus* spp., estreptococos del grupo *viridans* [EGV] y *Corynebacterium* spp.), individualmente o en cultivo mixto.

En 67 (27,9%) muestras se aisló *S. pneumoniae*, en 60 (25%) *H. influenzae*; en 3 (1,2%) *S. pneumoniae* y *H. influenzae*, y en 6 (2,5%), *M. catarrhalis*.

En 14 (5,8%) muestras se aislaron otros microorganismos (*Staphylococcus aureus*, enterobacterias, *Pseudomonas* spp., *Rhodococcus equi*, bacterias anaerobias y hongos), individualmente o en combinación de varios de ellos.

Frotis de la secreción ótica: las 167 muestras pertenecían a 158 pacientes debido a que en 8 casos se disponía de 2 muestras y en 1 caso de 3 muestras de distintos episodios de otitis del mismo paciente.

En 19 (11,4%) muestras no se aisló ningún microorganismo.

En 30 (18%) muestras se aislaron microorganismos saprofitos del conducto auditivo externo (*Staphylococcus* spp., EGV y *Corynebacterium* spp.), de forma individual o

TABLA 1. Microorganismos aislados

Microorganismos	Timpanocentesis (%)	Secreción espontánea (%)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	67 (27,9)	15 (9)
<i>Haemophilus influenzae</i>	60 (25)	25 (15)
<i>H. influenzae</i> + <i>S. pneumoniae</i>	3 (1,2)	1 (0,6)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6 (2,5)	–
Otros microorganismos	55 (22,9)	107 (64)
Negativos	49 (20,4)	19 (11,4)
Total	240 (100)	167 (100)

en cultivo mixto. En 15 (9%) muestras se aisló *S. pneumoniae*, en 25 (15%), *H. influenzae* y en 1 (0,6%), *S. pneumoniae* y *H. influenzae*. En ningún caso se aisló *M. catarrhalis*.

En 77 muestras (46,1%) se aislaron otros microorganismos (*Streptococcus pyogenes*, *S. aureus*, enterobacterias, *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp., bacterias anaerobias y hongos), individualmente o en combinación de varias de ellas.

Sensibilidad antibiótica. De las 86 cepas de *S. pneumoniae* aisladas se disponía de antibiograma obtenido por el método de microdilución en 77.

Frente a penicilina, 26 cepas (33,8%) fueron sensibles (concentración inhibitoria mínima [CIM], $\leq 0,06$ $\mu\text{g/ml}$); 38 (49,3%) tenían sensibilidad intermedia (CIM, 0,12-1 $\mu\text{g/ml}$), y 13 (16,9%) fueron resistentes (CIM, ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$). La CIM₉₀ era de 2 $\mu\text{g/ml}$ y ninguna cepa superaba este nivel de resistencia.

Frente a cefotaxima sólo una (1,3%) cepa tenía sensibilidad intermedia (CIM, 2 $\mu\text{g/ml}$); el resto eran sensibles (CIM, ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$). La CIM₉₀ era de 1 $\mu\text{g/ml}$.

Frente a cefuroxima 34 cepas (44,2%) eran sensibles (CIM, ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$), 18 (23,4%) tenían sensibilidad intermedia (CIM: 2 $\mu\text{g/ml}$) y 25 (32,5%) eran resistentes (CIM, ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$). La CIM₉₀ era de 4 $\mu\text{g/ml}$ y únicamente una cepa alcanzaba una CIM de 8 $\mu\text{g/ml}$.

Frente a eritromicina, 35 (45,5%) cepas fueron sensibles y 42 (54,5%) resistentes.

Los valores de CIM₉₀ de los antibióticos mencionados no variaban al analizar por separado las cepas procedentes de muestras obtenidas mediante timpanocentesis o secreción espontánea.

De las 89 cepas de *H. influenzae* aisladas, 66 (74,2%) eran sensibles a ampicilina, 22 (24,7%) eran productoras de betalactamasa y por tanto resistentes a ampicilina y 1 (1,1%) no productora de betalactamasas (probable modificación de la proteína fijadora de penicilina [PBP]) era resistente a ampicilina y amoxicilina-ácido clavulánico. Frente a cefuroxima únicamente esta cepa debe considerarse resistente. Todas las cepas eran sensibles a cefotaxima.

Frente a claritromicina, 5 cepas (5,6%) tenían sensibilidad intermedia (CIM: 8 $\mu\text{g/ml}$) y el resto eran sensibles.

Según el método de obtención, el 27% de las cepas procedentes de muestras obtenidas mediante timpanocentesis y el 19% de las procedentes de secreción espontánea eran productoras de betalactamasas.

Todas las cepas de *M. catarrhalis* eran productoras de betalactamasas y, por tanto, resistentes a ampicilina y sensibles a amoxicilina-ácido clavulánico. Todas las cepas eran sensibles a cefuroxima y cefotaxima y claritromicina.

De las 86 cepas de *S. pneumoniae* aisladas se dispone del serotipo en 76 (tabla 2), de las cuales 64 (84,2%) pertenecen a los serotipos incluidos en VPN-7.

Únicamente una de las cepas de *H. influenzae* aisladas pertenecía al serotipo b. El resto eran no tipificables.

y seguimiento de esta infección lo realiza el pediatra ambulatoriamente, y en los pocos casos en que se procesa un cultivo suele realizarse a partir de frotis de secreción espontánea. Por este motivo se ha incluido este tipo de muestras en el presente estudio, con la finalidad de valorar su rendimiento y disponer de mayor número de cepas al estudiar la sensibilidad antibiótica.

En el momento de interpretar los resultados obtenidos nos encontramos con el problema de establecer el valor etiológico de determinados microorganismos. No hay duda que *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *M. catarrhalis* están directamente relacionados con la OMA y que *Staphylococcus* spp. EGV y *Corynebacterium* spp. forman parte de la flora saprofita del conducto auditivo externo (CAE) y por tanto son contaminantes habituales. El resto de microorganismos aislados (enterobacterias, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus*, anaerobios, levaduras, etc.) son colonizadores ocasionales del CAE, y si bien pueden desempeñar un papel determinante en la otitis media crónica y en la otitis externa, es muy dudoso que puedan considerarse agentes etiológicos primarios de la OMA. Por tanto, en el presente trabajo, al analizar los resultados estos microorganismos se consideraron no valorables etiológicamente. En este grupo se ha incluido *S. pyogenes*, ya que ninguna de las cepas aisladas en este estudio se obtuvo mediante timpanocentesis, aunque al estar directamente relacionado con infecciones agudas de vías respiratorias altas no puede descartarse que en algunas ocasiones participe en la patogenia de la OMA. Así, el rendimiento en el diagnóstico microbiológico de las muestras obtenidas mediante timpanocentesis sería del 56,7%, dato equiparable al de otros estudios conocidos¹, y el de las muestras obtenidas mediante frotis de secreción espontánea del 24,5%, demostrando el bajo rendimiento de este tipo de muestras.

Nuestra serie confirma el predominio casi absoluto de *S. pneumoniae* y *H. influenzae* como agentes etiológicos de la OMA y mantiene a *M. catarrhalis* en una posición testimonial, como en otros países europeos⁶, a diferencia de Estados Unidos, donde alcanza incidencias superiores al 10%⁷. En el presente estudio no se consideró la implicación de los virus en la producción de OMA, aunque en algunas ocasiones pueden considerarse un agente etiológico único o como coinfectantes⁸.

En cuanto a la sensibilidad antibiótica de *S. pneumoniae* y *H. influenzae* no difiere sustancialmente del patrón general de sensibilidad de estos microorganismos en nuestro país^{3,4,9} ni de los valores obtenidos con cepas aisladas de infecciones óticas^{1,2}. Por tanto, nada indica que deban variarse las pautas habituales de tratamiento antibiótico con betalactámicos orales (amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico o cefuroxima) como primera opción y ceftriaxona intramuscular en caso de fracaso terapéutico¹⁰. Los macrólidos, debido al elevado índice de resistencia de *S. pneumoniae*¹⁻⁴, deberían reservarse para los casos en

Discusión

El mejor método para establecer la etiología bacteriana de la OMA es la timpanocentesis diagnóstica, ya que al obtener la muestra directamente del foco infeccioso se reduce el riesgo de contaminación. Habitualmente, el diagnós-

TABLA 2. Serotipos de *S. pneumoniae* implicados

Serotipos	6B	9V	14	18	19F	23F	Otros*
Número de aislamientos	12	6	14	2	21	9	12

*Serotipos: 3(4), 6A(4), 21(1), 22(1), 33(1), NI(1).

que estén contraindicados los betalactámicos y se disponga de antibiograma.

Es difícil valorar en ensayos controlados la efectividad del tratamiento antibiótico, debido a que la otitis es una patología con alta tasa de resolución espontánea, hasta el 80% a los 7 días¹¹, especialmente cuando *H. influenzae* y *M. catarrhalis* son los microorganismos responsables¹². Incluso algunos autores han propuesto no administrar inicialmente antibiótico a los pacientes diagnosticados de OMA¹³. Sin embargo, nosotros pensamos que la mejor manera de evitar la antibioticoterapia indiscriminada sea realizar un correcto diagnóstico a partir de estrictos criterios de inclusión, ya que se trata de una enfermedad habitualmente sobrediagnosticada¹⁴. En este aspecto es conveniente, cuando se disponga de los medios necesarios, el procesamiento de cultivos, preferiblemente mediante timpanocentesis.

Aunque las muestras obtenidas por secreción espontánea tengan un bajo rendimiento diagnóstico, debido al elevado índice de contaminación, y que sus resultados carezcan de valor epidemiológico, pueden en ocasiones ser de utilidad clínica, sobre todo en los casos de OMA recurrente o recidivante, teniendo en cuenta que en muchas ocasiones es la única muestra disponible para cultivo.

En los próximos años deberemos evaluar la influencia de la reciente introducción de la VPN-7, ya que si bien en nuestro país no figura en ningún calendario vacunal oficial, se está incrementando su utilización electiva.

A diferencia de la enfermedad neumocócica invasiva, en la cual la efectividad de la VPN-7 es inmediata y espectacular (> 90%) debido a la elevada concentración de anticuerpos específicos en suero, los estudios hasta ahora conocidos indican una disminución global de la OMA de aproximadamente el 6% en niños vacunados, con una significativa reducción de los serotipos incluidos en la VPN-7^{15,16}.

La influencia de la VPN-7 sobre la OMA es más de carácter indirecto y multifactorial (modificaciones en la colonización nasofaríngea y en los serotipos circulantes, repercusión sobre otros patógenos habituales, edad de los pacientes, etc.) que por la acción local de los anticuerpos en la cavidad media del oído¹⁷. Por tanto, es de esperar que los cambios se produzcan de forma progresiva y a medio plazo, dependiendo también del grado de implantación de la vacuna en cada país.

Un factor importante que puede provocar variaciones geográficas de la respuesta inmunológica es la variable efectividad de la VPN-7 sobre los serotipos incluidos en la vacuna¹⁵⁻¹⁶. Así el serotipo 19F es el menos afectado por la acción de la vacuna y coincide con el serotipo predominante en nuestro estudio, característica que también se produce en otras zonas¹⁸.

Otra consecuencia que podría derivarse de la acción de la VPN-7 es la modificación de la sensibilidad antibiótica de las cepas de *S. pneumoniae* implicadas en la OMA, ya que la mayoría de entre las más resistentes están entre los serotipos vacunales^{18,19}.

Los resultados del presente estudio nos permiten conocer la situación actual en nuestra área geográfica, que es altamente coincidente con los serotipos incluidos en la vacuna y con los resultados de un reciente estudio internacional²⁰ y puede servir de base para analizar las posibles modificaciones epidemiológicas producidas por la VPN-7.

Bibliografía

- Del Castillo F, García-Perea A, Baquero-Artigao F. Bacteriology of acute otitis media in Spain: a prospective study based on tympanocentesis. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:541-3.
- Del Castillo F, Baquero-Artigao F, García-Perea A. Influence of recent antibiotic therapy on antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in children with acute otitis media in Spain. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:94-7.
- Fenoll A, Jado I, Vicioso D, Berron S, Yuste JE, Casal J. *Streptococcus pneumoniae* in children in Spain. *Acta Paediatr Suppl* 2000;89:44-50.
- Pérez-Trallero E, Fernández-Mazarrasa C, García-Rey C, Bouza E, Aguilar L, García de Lomas J, et al. Antimicrobial susceptibilities of 1.684 *Streptococcus pneumoniae* and 2.039 *Streptococcus pyogenes* isolates and their ecological relationships: results of 1-year (1998-1999) multicenter surveillance study in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:3334-40.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard. 6th ed. Document M7-A6. NCCLS, Wayne, Pennsylvania. USA, 2003.
- Gehanno P, Boucot I, Simonet M, Bingen F, Lambert N, Berche P. Epidémiologie bactérienne de l'otite moyenne aiguë. *Ann Pediatr* 1992;39:485-90.
- Bluestone CD, Stephenson JS, Martin LM. Ten-year review of otitis media pathogens. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11:S7-11.
- Chonmaitree T, Heikkinen T. Viruses and acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:1005-7.
- Marco F, García de Lomas J, García-Rey C, Bouza E, Aguilar L, Fernández-Mazarrasa C. Antimicrobial susceptibilities of 1.730 *Haemophilus influenzae* respiratory tract isolates in Spain in 1998-1999. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:3226-8.
- Dowell SF, Butler JC, Giebink GS, Jacobs MR, Jeringan D, Musher DM, et al. Acute otitis media: management and surveillance in an era of pneumococcal resistance - a report from the drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* therapeutic working group. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:1-19.
- Dagan R, McCracken GH. Flaws in design and conduct of clinical trials in acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:894-902.
- McCracken GH. Diagnosis and management of acute otitis media in the Urgent Care Setting. *Ann Emerg Med* 2002;39:413-21.
- Damoiseaux RAM, Van Balen FAM, Hoes AW, Verheij TJM, De Melker RA. Primary care based randomized, double blind trial of amoxicillin versus placebo for acute otitis media in children aged under 2 years. *BMJ* 2000;320:350-4.
- Wald ER. Acute otitis media: more trouble with the evidence. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:103-4.
- Eskola J, Kilpi T, Palmu A, Jokinen J, Haapakoski J, Herva E, et al. Efficacy of a pneumococcal conjugate vaccine against acute otitis media. *N Engl J Med* 2001;344:403-9.
- Black S, Shinefield H, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen JR, et al. and the Northern California Kaiser Permanent Vaccine Study Center Group. Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:187-95.
- Harrison CJ. Changes in treatment strategies for acute otitis media after full implementation of the pneumococcal seven valent conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:S120-30.
- Block SL, Hedrick J, Harrison CJ, Tyler R, Smith A, Findlay R, et al. Pneumococcal serotypes from acute otitis media in rural Kentucky. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:859-65.
- Joloba ML, Windau A, Bajaksouzian S, Appelbaum PC, Hausdorff WP, Jacobs MR. Pneumococcal conjugate vaccine serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates and the antimicrobial susceptibility of such isolates in children with otitis media. *Clin Infect Dis* 2001;33:1489-94.
- Hausdorff WP, Yothers G, Dagan R, Kilpi T, Peltos SI, Cohen R, et al. Multinational study of pneumococcal serotypes causing acute otitis media in children. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:1008-16.