

ALAN DE PAULA

SISBI/UFU



1000213490

2000  
616.981.579.8  
P3.24a  
TES/MEH

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, PERFIL DOS SOROTIPOS E  
SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE CEPAS INVASIVAS  
DO *Streptococcus pneumoniae* EM UM HOSPITAL PÚBLICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Clínica Médica.

**Universidade Federal de Uberlândia**

**Uberlândia - 2004**

**ALAN DE PAULA**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, PERFIL DOS SOROTIPOS E  
SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE CEPAS INVASIVAS  
DO *Streptococcus pneumoniae* EM UM HOSPITAL PÚBLICO**

**ORIENTADOR**

**Prof. Dr. Orlando Cesar Mantese**

**COORDENADOR DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

**Prof. Dr. Miguel Tanus Jorge**

**Uberlândia**

**2004**

## DEDICATÓRIA

Este trabalho é fruto do apoio recebido daqueles que mais amo,  
minha mãe **Geralda Martins de Paula**,  
minha esposa e companheira **Márcia**,  
meus preciosos filhos **Vinícius, Gustavo e Marcelo**.

Ao meu pai, **Valdir de Paula**, dedico esta dissertação,  
juntamente com meus sentimentos de Gratidão, Respeito,  
Amizade e Saudade,  
muita Saudade ...

## AGRADECIMENTOS

Ao Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, Prof. Dr. Miguel Tanus Jorge e demais professores do Curso, pelo compromisso com o ensino e a pesquisa;

À Secretária do Curso de Pós-Graduação de Clínica Médica, Elaine de Fátima Silvério, pela dedicação e boa vontade em todos os momentos nos quais, “urgentemente”, dela necessitei;

Aos Colegas do Curso de Pós-Graduação, os Drs. Alberto, Dênis, João Batista, José Edmundo, Marcondes, Miguel Santiago e Osvaldo, pela amizade construída em tão pouco tempo de relacionamento;

Ao Chefe do Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, Prof. Dr. Antônio Alves Duarte, ao Prof. Dr. Ademir Barsanulfo Moraes (*in memoriam*) e à equipe do Setor de Microbiologia, Fernanda, Flaviana, Jane, Léa, Luci Mary, Lucivane, Maria das Graças, Marizete, Ricardo, Tomaz e Vандir, os quais tiveram participação ativa neste trabalho;

À Profª Drª Maria Cristina de Cunto Brandileone e à toda equipe do Instituto Adolfo Lutz, pela fundamental contribuição na execução deste estudo;

Aos Colegas de Departamento de Pediatria da Universidade Federal de Uberlândia, pela cooperação e incentivo;

A todos os companheiros de trabalho, médicos, enfermeiras, fisioterapeutas, secretárias, das UTIs Pediátricas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia e do Hospital Santa Genoveva, pela amizade, compreensão e estímulo;

À Dr<sup>a</sup> Sônia e ao Fernando, pela hospitalidade e tolerância durante as várias reuniões para a realização deste trabalho;

Em especial, àquele que, possuidor de inúmeros recursos de ordem intelectual, moral e existenciais, não se furta ao convívio daqueles que, carentes do saber, buscam nele o Ensino, o Exemplo e o Estímulo, virtudes reunidas apenas nos verdadeiros Mestres: o meu Orientador e, ousado dizer, amigo, Orlando Cesar Mantese.

## RESUMO

Este estudo teve o objetivo de avaliar, dentre as cepas invasivas de *Streptococcus pneumoniae*, o perfil de sorotipos e as implicações na formulação de vacinas pneumocócicas, a suscetibilidade aos antimicrobianos e, também, aspectos clínico-epidemiológicos de pacientes com doença pneumocócica invasiva, fontes de recuperação do pneumococo. As cepas isoladas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, MG, a partir de amostras clínicas de pacientes com doença invasiva, foram identificadas e enviadas ao Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, para confirmação da identificação, sorotipagem e determinação da suscetibilidade aos antimicrobianos. De abril de 1999 a março de 2003, foram isoladas 148 cepas invasivas, sendo 84 (56,7%) provenientes de pacientes do sexo masculino. A idade variou de um dia a 88,8 anos, com média de  $21,3 \pm 25,8$  anos e mediana de 4,4 anos. Os diagnósticos clínicos mais comuns foram pneumonia [91 casos (61,4%)], meningite [32 casos (21,6%)] e bacteremia sem foco evidente [15 casos (10,1%)]. As principais fontes de recuperação foram sangue [76 amostras (51,3%)], líquido pleural [39 (26,3%)] e líquido [30 (20,2%)]. A morte ocorreu em 22,3% dos pacientes, com cifras significativamente mais elevadas naqueles acima de 64 anos. Um total de 23 diferentes sorotipos foram identificados entre 143 amostras testadas e os mais comuns foram 14, 1, 3, 5, 6A, 6B e 18C. As cifras de cobertura para a vacina 7-valente, atualmente disponível, foram de 46,7% dos sorotipos e 63,6% das cepas obtidas de crianças com até cinco anos de idade. Dentre 30 (20,2%) cepas oxacilina-resistentes, 23 (15,5%) confirmaram a resistência à penicilina (12,8% com nível intermediário e 2,7% com nível pleno), que esteve restrita aos sorotipos 14, 23F, 19A e 6B, e predominou em indivíduos até dois anos de idade ( $p=0,0008$ ). Houve elevada concordância dos valores da concentração inibitória mínima da penicilina entre os dois métodos empregados. Foi detectada suscetibilidade diminuída ao cotrimoxazol (63,4%), à eritromicina (8,3%), à clindamicina (8,7%) e à ofloxacina (0,8%). A resistência à cefotaxima foi detectada em três das 30 cepas testadas (2% das 148), todas elas com resistência confirmada à penicilina. Não foi observada resistência ao cloranfenicol, à rifampicina ou à vancomicina.

Unitermos: *Streptococcus pneumoniae*, sorotipos, vacinas.

## SUMÁRIO

<b>I</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
	1.1 – A bactéria .....	12
	1.1.1 – Morfologia e fisiologia .....	12
	1.1.2 – Identificação .....	13
	1.1.3 – Estrutura química, antigênica e imunogênica .....	14
	1.1.4 – Determinação da suscetibilidade antimicrobiana .....	16
	1.2 – Resposta imune e patogênese .....	19
	1.3 – Espectro clínico e epidemiológico .....	22
	1.4 – Fatores de risco .....	29
	1.5 – Tratamento antimicrobiano .....	30
	1.5.1 – Princípios gerais .....	30
	1.5.2 – Resistência a drogas .....	32
	1.6 – Profilaxia .....	38
<b>II</b>	<b>– OBJETIVOS</b> .....	<b>44</b>
<b>III</b>	<b>– CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODO</b> .....	<b>45</b>
	3.1 – Casuística .....	45
	3.2 – Material e método .....	47
<b>IV</b>	<b>– RESULTADOS</b> .....	<b>51</b>
<b>V</b>	<b>– DISCUSSÃO</b> .....	<b>62</b>
<b>VI</b>	<b>– CONCLUSÕES</b> .....	<b>78</b>
<b>VII</b>	<b>– BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>80</b>
	<b>– ANEXOS</b> .....	<b>95</b>

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1.	Distribuição das amostras de <i>Streptococcus pneumoniae</i> segundo a faixa etária dos pacientes .....	55
Tabela 2.	Distribuição dos pacientes que morreram, segundo data de admissão, sorotipo, idade, diagnóstico clínico, concentração inibitória mínima (CIM) da penicilina para cepas de <i>Streptococcus pneumoniae</i> , tratamento antimicrobiano instituído e duração de internação .....	57
Tabela 3.	Relação entre evolução para o óbito e faixas de idade dentre os pacientes nos quais se isolou pneumococo.....	58
Tabela 4.	Distribuição dos sorotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> , de acordo com as diferentes faixas etárias dos pacientes dos quais foram isoladas as amostras .....	59
Tabela 5.	Distribuição dos pacientes dos quais foram isoladas cepas de <i>Streptococcus pneumoniae</i> resistentes <i>in vitro</i> à penicilina (concentração inibitória mínima [CIM] maior que 0,06µg/mL, determinada pelo método de microdiluição em caldo), segundo a data de isolamento, o sorotipo, a idade, a forma clínica, a concentração inibitória mínima, o tratamento antimicrobiano instituído e a evolução clínica .....	60
Tabela 6.	Distribuição dos pacientes segundo a idade em meses e a suscetibilidade <i>in vitro</i> das cepas de <i>Streptococcus pneumoniae</i> à penicilina .....	61
Tabela 7.	Relação entre os resultados de suscetibilidade das cepas de <i>Streptococcus pneumoniae</i> à penicilina com base nas concentrações inibitórias mínimas (CIMs) determinadas pelo E teste e pela microdiluição em caldo .....	61
Figura 1.	Distribuição das amostras de <i>Streptococcus pneumoniae</i> segundo o mês de isolamento .....	55
Figura 2.	Distribuição dos diagnósticos clínicos dos pacientes, segundo amostras de <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	56
Figura 3.	Distribuição das fontes de recuperação das amostras de <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	56

## LISTA DE ABREVIATURAS

AAP	- <i>American Academy of Pediatrics</i>
BA	- Bahia
BHI	- Infuso-Cérebro-Coração
CAPI	- Comitê para Aconselhamento das Práticas de Imunização
CDC	- <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CIM	- Concentração Inibitória Mínima
CO <sub>2</sub>	- Dióxido de Carbono
C3b	- Fração 3b do Complemento
°C	- Graus Celsius
DNA	- Ácido Desoxirribonucléico
EUA	- Estados Unidos da América
FDA	- <i>Food and Drug Administration</i>
Hib	- <i>Haemophilus influenzae b</i>
HCUFU	- Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
IAL	- Instituto Adolfo Lutz
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Ig	- Imunoglobulina
MG	- Minas Gerais
MS	- Ministério da Saúde
NCCLS	- <i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
OPAS	- Organização Pan-Americana de Saúde
PC7v	- Vacina Pneumocócica Conjugada 7-valente
PC9v	- Vacina Pneumocócica Conjugada 9-valente
PC11v	- Vacina Pneumocócica Conjugada 11-valente
PLP	- Proteínas Ligadoras de Penicilina
PS23v	- Vacina Pneumocócica Polissacarídica 23-valente
PSP	- Pneumococo Sensível à Penicilina
PRP	- Pneumococo Resistente à Penicilina
RI	- Resistência Intermediária
RP	- Resistência Plena
SIREVA	- Sistema Regional de Vacinas
SP	- São Paulo
SPS	- Polianetossulfonato de Sódio
SPSS	- <i>Statistical Package for Social Analysis</i>
TSA	- Ágar Soja Trypticase ( <i>trypticase soy agar</i> )
TSB	- Caldo de Soja Trypticase ( <i>trypticase soy broth</i> )
VIA	- Vírus da Imunodeficiência Adquirida

## I – INTRODUÇÃO

O *Streptococcus pneumoniae* (pneumococo), descoberto há mais de 12 décadas, representa um dos patógenos bacterianos mais importantes dentre todos os que afetam o homem (TEELE, 1998; MULHOLLAND, 1999; WATSON e MUSER, 1999). É uma das principais bactérias patogênicas do trato respiratório e a principal causa de pneumonia bacteriana comunitária, tanto em crianças quanto em adultos (MUSER, 1992; TEELE, 1998; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999). Atualmente, nas localidades com emprego em larga escala da vacina anti-hemófilos, o pneumococo é a primeira causa de meningite em crianças pequenas, na ausência de doença meningocócica epidêmica (MUSER, 1992; CDC, 1998; BLACK *et al.*, 2000a; CDC, 2000). Constitui também o agente mais comum de bacteremia oculta sem foco evidente (BURKE *et al.*, 1971; CDC, 2000) e de doenças não invasivas, tais como sinusite e otite média agudas (KLEIN, 1981; MUSER, 1992; CDC, 1997; CDC, 2000; AAP, 2000a).

Com a descoberta e o uso clínico das sulfonamidas e da penicilina, nas décadas de 30 e 40, a mortalidade por infecção pneumocócica sofreu um grande declínio, mas não como o esperado inicialmente (AUSTRIAN, 1963; AUSTRIAN *et al.*, 1976; TEELE, 1998; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999). Apesar da suscetibilidade original da bactéria, o tratamento com antibiótico não foi capaz de eliminar as mortes por pneumonia pneumocócica, provavelmente porque a droga reduz pouco a letalidade nos primeiros três a cinco dias de doença (AUSTRIAN, 1963; AUSTRIAN e GOULD, 1964; AUSTRIAN *et al.*, 1976). Além disso, a partir da metade da década de 60, surgiram os primeiros relatos de isolados clínicos de pneumococos resistentes à penicilina (PRP) e a resistência plena começou a se tornar um problema no início da década de 80 na Europa e no início da

década de 90 nos Estados Unidos (EUA) (APPELBAUM, 1994; AUSTRIAN, 1994; TOMASZ, 1997; BUTLER, DOWELL e BREIMAN, 1998; CAMPBELL Jr. e SILBERMAN, 1998; HARWELL e BROWN, 2000). Atualmente, além da resistência à penicilina, os pneumococos estão progressivamente se tornando resistentes a outras drogas em diversas partes do mundo (APPELBAUM, 1996; HARWELL e BROWN, 2000), inclusive no Brasil (BRANDILEONE, 1999). Devido ao grande número de infecções causadas por este agente, o desenvolvimento de resistência tem dificultado a escolha da antibioticoterapia empírica inicial de uma série de doenças, particularmente em crianças (KAPLAN e MASON Jr., 1998; HARWELL e BROWN, 2000).

O conhecimento da composição química e antigênica da cápsula do pneumococo e da imunogenicidade do antígeno polissacarídico capsular permitiu o desenvolvimento de vacinas e, portanto, de uma abordagem preventiva para o controle das infecções pneumocócicas (FINE *et al.*, 1988; PETER e KLEIN, 1997; CATTERALL, 1999; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999).

A identificação dos sorotipos prevalentes e a determinação da sua suscetibilidade aos antimicrobianos contribuem, por um lado, para a composição vacinal e, por outro, para a escolha do esquema terapêutico mais adequado. Estas considerações justificam os estudos de vigilância clínica e laboratorial relativos ao pneumococo a nível regional.

## 1.1 – A BACTÉRIA

### 1.1.1 – Morfologia e fisiologia

Os pneumococos são cocos Gram positivos, ovais ou esféricos, com 0,5 $\mu$ m a 1,25 $\mu$ m de diâmetro. Em esfregaços diretos de líquidos corporais a bactéria tem formato de lança e ocorre isoladamente, em pares (diplococo) ou em pequenas cadeias (WILLETT, 1992; KELLOGG *et al.*, 2001).

Em placas de ágar soja tripticase (trypticase soy agar, TSA) com sangue de carneiro, as culturas jovens de pneumococos encapsulados produzem colônias circulares, brilhantes, acinzentadas ou mucóides (aquosas), em forma de cúpula, com cerca de 1mm de diâmetro. Colônias jovens, incubadas aerobicamente, são circundadas por uma zona de  $\alpha$  hemólise, semelhante à descoloração esverdeada observada com os estreptococos viridantes; entretanto, com mais de 24 a 48 horas, tornam-se achatadas e com depressão da porção central de cada colônia, o que as distingue das de *S. viridans*. Esta distinção é bem mais difícil em placas de ágar chocolate (WILLETT, 1992; MS, 1994; KELLOGG *et al.*, 2001).

O pneumococo é anaeróbio facultativo e pode usar uma ampla variedade de carboidratos fermentáveis. Seu metabolismo energético é, primariamente, do tipo produtor de ácido láctico. Sob condições aeróbicas, uma quantidade significativa de peróxido de hidrogênio é formada e, uma vez que os pneumococos não produzem catalase (são catalase negativo) nem peroxidase, o acúmulo de peróxido de hidrogênio torna-se letal, a menos que a catalase seja fornecida pela adição de hemáceas ao meio de cultura. Cerca de 5% a 10% de todas as cepas de pneumococos requerem 5% de CO<sub>2</sub> na atmosfera ambiente para crescer (WILLETT, 1992; KELLOGG *et al.*, 2001).

Ao contrário dos outros estreptococos, o pneumococo tem requerimento absoluto por colina, necessária para a síntese de ácido teicóico, constituinte fundamental da parede celular (WILLETT, 1992).

### 1.1.2 – Identificação

Não há um método único ou absoluto para a identificação do pneumococo. A identificação laboratorial tem sido feita por intermédio de um ou mais dos seguintes exames: morfologia da cepa ao Gram, morfologia da colônia e presença de hemólise na superfície do ágar sangue de carneiro, suscetibilidade à optoquina e solubilidade à bile, tendo, os dois últimos, sensibilidade e especificidade superiores a 99% e 98%, respectivamente (KELLOGG *et al.*, 2001).

A identificação presuntiva do pneumococo é feita pela determinação da suscetibilidade da cepa à optoquina, capaz de diferenciá-lo do *Streptococcus viridans*, já que ambos produzem  $\alpha$  hemólise em ágar sangue. A optoquina inibe o crescimento do pneumococo, mas não o do estreptococo viridante (WILLETT, 1992; KELLOGG *et al.*, 2001).

Nas raras circunstâncias nas quais a sensibilidade à optoquina é inconclusiva, a identificação como pneumococo pode ser confirmada pela solubilidade da bactéria em deoxicolato de sódio a 1% (sal biliar com ação detergente). O teste é baseado na presença e ativação de uma amidase autolítica que quebra a ligação entre a alanina e o ácido murâmico no peptidoglican, dissolvendo a parede do pneumococo, mas não a do estreptococo viridante (WILLETT, 1992; KELLOGG *et al.*, 2001).

O teste *quellung* é um método útil e de rápida execução, capaz de identificar não apenas a espécie, mas também o sorotipo do pneumococo. Consiste na reação de precipitação do soro específico (anticorpo) com o polissacarídeo capsular (antígeno), que

torna a cápsula visível ao exame microscópico (WILLETT, 1992; SORENSEN, 1993; KELLOGG *et al.*, 2001).

### 1.1.3 – Estrutura química, antigênica e imunogênica

O pneumococo possui uma cápsula polissacarídica externa, composta de moléculas complexas de carboidrato com unidades repetidas de oligossacarídeo, de composição química exata desconhecida, em sua maioria (WILLETT, 1992). De acordo com a variabilidade química e a especificidade antigênica destes polissacarídeos, são reconhecidos atualmente 90 diferentes sorotipos de pneumococo (HENRICHSEN, 1995). Estes sorotipos são descritos em dois sistemas de classificação: o sistema americano, que numera os sorotipos na ordem cronológica de descoberta, e o sistema dinamarquês, mais comumente usado, que agrupa os sorotipos estrutural e imunologicamente relacionados (HENRICHSEN, 1979; GILLESPIE, 1989; PETER e KLEIN, 1997; FEDSON, MUSHER e ESKOLA, 1999). Os tipos antigenicamente relacionados são agrupados, recebendo o mesmo número, por exemplo 9A, 9N e 9V, enquanto tipos sem relação antigênica próxima recebem números diferentes, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5. O tipo original é designado como F (*first*) e sorotipos subseqüentes recebem sufixos A, B etc, baseados na ordem cronológica de descoberta. Uma exceção a esta regra são os tipos pertencentes aos grupos 6 e 9 (PETER e KLEIN, 1997; KALIN, 1998; FEDSON, MUSHER e ESKOLA, 1999).

O polissacarídeo capsular pneumocócico foi o primeiro antígeno não protéico que se mostrou antigênico em humanos (GILLESPIE, 1989). Constitui um antígeno T-independente do tipo 2, cujas características essenciais são o desenvolvimento lento de anticorpos, a distribuição restrita dos anticorpos a isotipos de imunoglobulinas e a incapacidade de induzir memória imunológica (SANDERS *et al.*, 1993; KALIN, 1998; JANEWAY Jr. *et al.*, 1999). Antígenos polissacarídicos são também pobres imunógenos

em crianças jovens, devido ao seu sistema imunológico imaturo (FERRANTE, BEARD e FELDMAN, 1990; JANEWAY Jr. *et al.*, 1999). Uma resposta imune do tipo adulto é adquirida gradualmente e de acordo com as diferentes características antigênicas de cada sorotipo (KALIN, 1998; SORENSEN *et al.*, 1998). Por exemplo, uma resposta humoral plena frente aos polissacarídeos do sorotipo 6A, 14, 19F e 23F ocorre apenas a partir dos dois aos cinco anos de idade (KALIN, 1998; SORENSEN *et al.*, 1998). Como consequência, estes tipos são os que mais freqüentemente colonizam a nasofaringe (KALIN, 1998) e causam infecções em crianças (BURKE *et al.*, 1971; GRAY, CONVERSE III e DILLON Jr., 1979; KLEIN, 1981; AAP, 2000a).

Abaixo da cápsula, o pneumococo possui uma parede celular típica dos Gram positivos, composta de peptidoglican e ácido teicóico. O ácido teicóico, principal componente da parede, contém o determinante antigênico polissacarídeo C, composto principalmente de fosforilcolina, essencial para o crescimento da bactéria (TOMASZ, 1981; WILLETT, 1992). Anticorpos contra a parede celular são protetores contra uma provocação pneumocócica, mas de intensidade muito menor que os produzidos contra a cápsula (WINKELSTEIN e TOMASZ, 1978). Mais internamente há uma membrana citoplasmática que contém fosforilcolina, estruturalmente similar ao polissacarídeo C da parede celular (WILLETT, 1992).

Um número relativamente pequeno de fatores bem descritos parece ser responsável pela virulência do pneumococo, tanto em humanos quanto em animais. Estes incluem, principalmente, a cápsula polissacarídica externa, a pneumolisina e fragmentos da parede celular pneumocócica (GILLESPIE, 1989; WATSON, MUSER e VERHOEF, 1995).

A cápsula é essencial para a virulência sem, contudo, demonstrar toxicidade direta (MIMS *et al.*, 1995). Sua virulência repousa principalmente em suas propriedades antifagocitárias e representa uma barreira física que dificulta a deposição do complemento

e o desenvolvimento de sua ação opsonizante (TUOMANEN, AUSTRIAN e MASURE, 1995; FRASCH, 1997; JANEWAY Jr. *et al.*, 1999). A invasividade do pneumococo varia de acordo com o sorotipo e depende da composição (em maior grau) e do tamanho da cápsula (KNECHT, SCHIFFMAN e AUSTRIAN, 1970); assim, apenas as formas encapsuladas têm sido isoladas de material clínico (PETER e KLEIN, 1997; FEDSON, MUSHER e ESKOLA, 1999). É sintetizada em excesso durante o crescimento logarítmico da bactéria o que facilita a detecção deste antígeno em fluidos orgânicos, durante as infecções invasivas (GILLESPIE, 1989).

Componentes da parede celular, liberados durante a autólise, são potentes indutores da resposta inflamatória, por estimular diretamente células do sistema imune, com produção de linfocinas e ativação do sistema do complemento (TUOMANEN *et al.*, 1985). A pneumolisina, uma proteína intracelular liberada durante a lise bacteriana, é capaz de reproduzir todos os sintomas da pneumonia pneumocócica quando injetada purificada no pulmão de ratos (TUOMANEN, AUSTRIAN e MASURE, 1995).

Outras proteínas, com estrutura e função ainda não bem estabelecidas, podem estar envolvidas na patogênese da doença pneumocócica, tais como a neuramidase, a autolisina, a hialuronidase e as adesinas de superfície (MIMS *et al.*, 1995; TUOMANEN, AUSTRIAN e MASURE, 1995).

#### **1.1.4 – Determinação da suscetibilidade antimicrobiana**

Dentre os métodos laboratoriais disponíveis para avaliação da suscetibilidade do pneumococo aos antimicrobianos, os mais utilizados são a difusão em disco e a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) por diluição em ágar, macrodiluição em tubos ou microdiluição em placa e o E teste (APPELBAUM, 1994;

JORGENSEN e FERRARO, 1998). Os métodos rápidos automatizados são dispendiosos e ocasionalmente imprecisos (APPELBAUM, 1994).

O teste da difusão em disco é baseado na inibição do crescimento bacteriano ao redor de um disco de antibiótico na placa de ágar, produzindo um halo de inibição cujo diâmetro é inversamente proporcional à CIM. O resultado deste teste, porém, é apenas qualitativo, expresso como sensível ou resistente (APPELBAUM, 1994; JORGENSEN e FERRARO, 1998). Apesar deste método poder determinar a suscetibilidade do pneumococo frente a uma série de antimicrobianos, ele é particularmente importante como meio de triagem da suscetibilidade frente à penicilina. Para tal são utilizados, tradicionalmente, discos contendo 1µg de oxacilina: se a cepa de pneumococo que cresce na placa forma um halo maior ou igual a 20mm ao redor deste disco, é considerada sensível à penicilina; caso contrário, quando o halo é menor que 20mm, é considerada resistente (APPELBAUM, 1994; NCCLS, 1997a). Contudo, esse critério não permite distinguir as cepas com resistência plena daquelas com resistência intermediária à penicilina. Além disso, como o teste presta-se fundamentalmente à triagem de cepas resistentes, ele é mais sensível (raras cepas de fato resistentes são dadas como suscetíveis) do que específico (6% a 40% das cepas de fato suscetíveis podem ser dadas como resistentes à penicilina) (APPELBAUM, 1994).

Dentre os métodos de determinação da CIM, a microdiluição em placa e o E teste são os mais empregados, devido à maior rapidez e praticidade de execução. A microdiluição em placa, uma miniaturização do método de diluição em tubos, consiste na inoculação de cepas em pequenos poços de uma placa onde se podem testar até 12 antimicrobianos diferentes, em oito diluições seriadas ao 1/2 (JORGENSEN e FERRARO, 1998). O resultado é obtido pela avaliação visual da turvação nos poços: a menor concentração do antimicrobiano, capaz de inibir o crescimento visível da bactéria,

corresponde à CIM (JORGENSEN e FERRARO, 1998). Para a penicilina, considera-se a cepa de pneumococo como sensível se a CIM é menor ou igual a  $0,06\mu\text{g/mL}$ , com resistência intermediária (RI) se a CIM é de  $0,1$  a  $1,0\mu\text{g/mL}$  e com resistência plena (RP) se a CIM é maior ou igual  $2,0\mu\text{g/mL}$  (NCCLS, 2000). Uma redefinição das categorias de suscetibilidade à penicilina tem sido recomendada para cepas invasivas, com exceção daquelas obtidas de pacientes com meningite. Os novos valores propostos são de CIM menor ou igual a  $1,0\mu\text{g/mL}$  para suscetibilidade,  $2,0\mu\text{g/mL}$  para resistência intermediária e maior ou igual a  $4,0\mu\text{g/mL}$ , para resistência plena (HEFFELFINGER *et al.*, 2000).

O E teste (AB Biodisk; Solna, Suécia) representa uma alternativa à microdiluição em caldo para a determinação da CIM do pneumococo e baseia-se no princípio do estabelecimento de um gradiente antimicrobiano, num meio de ágar inoculado. O teste emprega fitas plásticas muito finas (com  $50\text{mm} \times 3\text{mm}$ ) impregnadas na sua superfície inferior com um gradiente de concentração de antibiótico e, na sua superfície superior, marcadas com uma escala de concentração para interpretação visual dos resultados. A fita pode detectar uma variação de CIM de  $0,016\mu\text{g/mL}$  a  $256\mu\text{g/mL}$ , representando um total de 29 valores diferentes de CIM para cada antibiótico (NGUI-YEN *et al.*, 1992; APPELBAUM, 1994; MACIAS *et al.*, 1994; JORGENSEN e FERRARO, 1998). Como o E teste fornece CIM numa escala contínua, com valores que muitas vezes caem entre duas diluições convencionais, os resultados do E teste devem ser arredondados para a próxima diluição ao  $1/2$  superior convencional (NGUI-YEN *et al.*, 1992; APPELBAUM, 1994; MACIAS *et al.*, 1994; JORGENSEN e FERRARO, 1998).

Dentre as vantagens do E teste estão a flexibilidade na seleção do antibiótico a ser testado, a simplicidade na execução do exame e a rapidez com a qual se obtém os resultados (NGUI-YEN *et al.*, 1992; JORGENSEN e FERRARO, 1998). Porém, o custo

relativamente alto das fitas (cerca de 2 a 3 dólares/unidade) faz com que o exame se torne economicamente viável apenas quando se deseja testar um menor número de antibióticos (JORGENSEN e FERRARO, 1998).

Finalmente, cepas de pneumococo que apresentam zona igual ou maior que 20mm no teste de triagem com disco de oxacilina, são consideradas sensíveis à penicilina e também à ampicilina, amoxicilina, cefotaxima, cefprozil, cefpodoxima, ceftriaxona, cefuroxima, imipenem e meropenem. Entretanto, cepas invasivas, com halo de inibição menor que 20mm, devem ter a CIM determinada (por microdiluição em placa ou E teste ou difusão em disco) para a penicilina, cefotaxima ou ceftriaxona, vancomicina e eventualmente, para macrolídeos, clindamicina e cotrimoxazol (HARWELL e BROWN, 2000; VENGLARCIK, 2000).

## 1.2 - RESPOSTA IMUNE E PATOGÊNESE

Os mecanismos de defesa contra a infecção pneumocócica incluem a integridade das barreiras mecânicas do hospedeiro (mucosa respiratória), quantidade e qualidade dos anticorpos, componentes do complemento e número e função dos fagócitos (MIMS *et al.*, 1995; TUOMANEN, AUSTRIAN e MASURE, 1995).

O epitélio da mucosa oro e nasofaríngea, local inicial de colonização pelo pneumococo, constitui, se íntegro, um importante mecanismo de defesa contra a infecção pela bactéria (AUSTRIAN, 1986). O pneumococo tem dificuldade de aderir às células ciliadas, mas o faz com facilidade às células basais de um epitélio destruído (PLOTKOWSKI *et al.*, 1986) e/ou com diminuição da depuração mucociliar (HARWELL e BROWN, 2000), o que ocorre, por exemplo, pela ação do vírus da gripe (PLOTKOWSKI

*et al.*, 1986) ou de outras infecções virais (HARWELL e BROWN, 2000). A inflamação local, por sua vez, causa maior comprometimento dos mecanismos de depuração, permitindo a replicação continuada da bactéria (HARWELL e BROWN, 2000). Daí, o pneumococo pode propagar-se localmente, em direção à tuba auditiva e, eventualmente, causar otite média ou então, por inalação ou aspiração, atingir os pulmões (CUNDELL, MASURE e TUOMANEN, 1995). A doença bacterêmica decorre, em geral, da invasão da circulação sistêmica pelo pneumococo, através dos capilares pulmonares ou vasos linfáticos cervicais (CUNDELL, MASURE e TUOMANEN, 1995), podendo atingir sítios distantes (HARWELL e BROWN, 2000). A bacteremia intensa e/ou prolongada pode resultar em meningite, pela adesão das bactérias às células endoteliais e quebra da barreira hêmato-liquórica (CUNDELL, MASURE e TUOMANEN, 1995).

Em resposta a uma agressão bacteriana, os neutrófilos desencadeiam uma série ordenada de eventos, incluindo a aderência ao endotélio vascular, a diapedese e a migração ao sítio inflamatório (quimiotaxia), a fagocitose e a destruição intracelular do microorganismo agressor. Para que a fagocitose ocorra em ótimas condições é necessária a presença de opsoninas, cuja função é a de recobrir a superfície dos patógenos e torná-los mais facilmente ingeridos pelos fagócitos (KALMAR, 1997). As principais opsoninas são os anticorpos (Ig, particularmente da classe IgG), alguns componentes ativos da cascata do complemento e proteínas de fase aguda (DAVIS e QUIE, 1980; FULGINITI e SIEBER, 1980; MIMS *et al.*, 1995; JANEWAY Jr. *et al.*, 1999). Os anticorpos opsonizadores, que em geral aparecem sete a 10 dias após o início da infecção (MIMS *et al.*, 1995; JANEWAY Jr. *et al.*, 1999), promovem a fagocitose eficaz na maioria das vezes. Na ausência destes anticorpos, a fagocitose depende da ativação do complemento pela via alternativa e deposição de C3 na superfície da bactéria (WINKELSTEIN, 1981; HOSTETTER, 1986; HAZLEWOOD *et al.*, 1992; FRASCH, 1997); quando presentes,

tanto a via alternativa quanto a clássica são ativadas (FULGINITI e SIEBER, 1980; MIMS *et al.*, 1995) e a opsonização é muitas vezes ampliada (GIEBINK *et al.*, 1977; CHUDWIN *et al.*, 1985).

Em resumo, a opsonização do pneumococo pode ocorrer pela formação do componente opsonicamente ativo C3b na ausência de anticorpos, pela formação de C3b pela via alternativa do complemento na presença de anticorpos e, pela formação de elementos ativos pela via clássica, o que requer também a presença de anticorpos.

Embora a presença de leucócitos em número suficiente no foco infeccioso e o tratamento antimicrobiano adequado contribuam para a morte das bactérias, alguns pacientes ainda morrem. Isto acontece porque, à medida que os pneumococos são destruídos, a parede celular desintegra-se e libera componentes (ácido teicóico e peptidoglican) que estimulam a reação inflamatória (TUOMANEN *et al.*, 1985). Se a concentração destes componentes exceder um determinado limiar, o paciente responde com um aumento brusco da resposta inflamatória e pode ultrapassar o ponto além do qual não há mais retorno possível, mesmo com tratamento antimicrobiano eficaz e eliminação das bactérias viáveis (TUOMANEN, AUSTRIAN e MASURE, 1995).

### 1.3 – ESPECTRO CLÍNICO E EPIDEMIOLÓGICO

Os aspectos epidemiológicos da doença pneumocócica variam de um país a outro e ao longo do tempo. Estes dados epidemiológicos são ainda escassos, obtidos de estudos realizados em várias regiões do mundo e daí extrapolados para as demais (SNIADACK *et al.*, 1995). As taxas de ocorrência oscilam também, dependendo da presença de fatores de risco para aquisição da bactéria e desenvolvimento de doença.

A maioria das doenças tem caráter episódico, mas epidemias podem ocorrer em populações fechadas, tais como quartéis, prisões e creches (PETER e KLEIN, 1997). O sexo masculino é afetado predominantemente, sendo a relação masculino:feminino de aproximadamente 3:2, na maioria dos estudos publicados (SCOTT *et al.*, 1996; PETER e KLEIN, 1997; Di FABIO *et al.*, 2001). A raça constitui um fator que interfere na incidência de doenças pneumocócicas invasivas, conforme evidenciam as taxas de ocorrência aumentadas em afro-americanos, indígenas e esquimós americanos (PETER e KLEIN, 1997; FEDSON, MUSHER e ESKOLA, 1999).

A incidência de doenças pneumocócicas acompanha a distribuição sazonal das infecções virais do trato respiratório, sendo, portanto, mais comuns nos meses de inverno e primavera (PETER e KLEIN, 1997; TEELE, 1998; FEDSON, MUSHER e ESKOLA, 1999).

O pneumococo causa um grande número de infecções, disseminando-se, a partir da mucosa do trato respiratório superior, tanto localmente por contigüidade, quanto sistemicamente por via hematogênica (MIMS *et al.*, 1995; HARWELL e BROWN, 2000). O pneumococo é causa freqüente de pneumonia, meningite e bacteremia primária sem foco aparente (MUSHER, 1992; AAP, 2000a; CDC, 2000). Menos freqüentemente, causa empiema, endocardite, pericardite; mais raramente pode ser causa de artrite séptica,

osteomielite, peritonite, abscesso cerebral, piomiosite (MUSHER, 1992), celulite (PATEL *et al.*, 1994) e síndrome de Waterhouse-Fredericksen (RYAN *et al.*, 1993). Entre as doenças não invasivas, é causa comum de otite média e sinusite (MUSHER, 1992; AAP, 2000a; CDC, 2000).

A otite média aguda é a manifestação mais comum da infecção pneumocócica em crianças (KLEIN, 1981; BLUESTONE, STEPHENSON e MARTIN, 1992; PETER e KLEIN, 1997; TEELE, 1998; CDC, 2000); 30% a 50% de todas as infecções de ouvido médio são devidas a este agente (KLEIN, 1981; BLUESTONE, STEPHENSON e MARTIN, 1992). Há cerca de 15.000.000 de casos anuais de otite média aguda nos EUA (CDC, 2000) e mais de 20% das crianças norte-americanas, aos três anos de idade, já apresentaram pelo menos um episódio de otite média aguda pneumocócica (SHANN, 1990; TEELE, 1998). Nos adultos com sinusite aguda comunitária, o pneumococo é responsável por cerca de 40% das bactérias recuperadas em cultura (GWALTNEY Jr. *et al.*, 1992).

A taxa de ocorrência da doença pneumocócica invasiva em crianças nos primeiros dois anos de vida é estimada em 25 para mais de 200 casos por 100.000 habitantes por ano (DAGAN *et al.*, 1992; ESKOLA *et al.*, 1992; FEDSON, MUSHER e ESKOLA, 1999; CDC, 2000). Nos EUA, as taxas de ocorrência são de 68 a 260 casos por 100.000 habitantes ao ano para a pneumonia (500.000 casos/ano), de sete a 25 casos para a bacteremia (50.000 episódios/ano) e de um a dois casos por 100.000 habitantes ao ano para a meningite (3.000 casos/ano), todas de etiologia pneumocócica (GILLESPIE, 1989; SHANN, 1990; CDC, 1997). Em indivíduos com mais de 60 anos, as taxas são ainda maiores, de 300 a 800 casos de pneumonia (FEDSON *et al.*, 1989; FEDSON, MUSHER e ESKOLA, 1999) e 20 a 80 casos de bacteremia pneumocócica por 100.000 habitantes por ano (SIMS *et al.*, 1988; FEDSON *et al.*, 1989; CDC, 1997; FEDSON, MUSHER e

ESKOLA, 1999). Em adultos, 60% a 87% dos episódios de bacteremia estão associados com pneumonia e nas crianças, o foco primário geralmente não é identificado (CDC, 1997). Estima-se que 5% a 10% das crianças atendidas em serviços de emergência apresentam febre sem sinais de localização e delas cerca de 5% cursam com bacteremia oculta, sendo o pneumococo o agente mais frequentemente recuperado (CRAIN e SHELOV, 1982; CROCKER, QUICK e McCOMBS, 1985; LORIN e FEIGIN, 1998). A importância do reconhecimento desta situação reside, entre outros aspectos, no risco de desenvolvimento de meningite em pacientes com doença pneumocócica bacterêmica, avaliado em 11% a 29% (VOSS *et al.*, 1994).

O pneumococo é o principal agente de pneumonia bacteriana comunitária em adultos, nos EUA (FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999). Admite-se que cerca de 30% das pneumonias comprovadas radiologicamente, adquiridas na comunidade por adultos, possui etiologia pneumocócica (SPIKA, FEDSON e FACKLAM, 1990) e destas, cerca de 10% a 25% desenvolvem bacteremia (SHANN, 1990). Anualmente, morrem cerca de 40.000 pacientes vítimas de pneumonia pneumocócica (SHANN, 1990), reflexo de uma letalidade ao redor de 5% (WATSON, MUSER e VERHOEF, 1995), que atinge 10% entre as crianças com menos de cinco anos, hospitalizadas com pneumonia pneumocócica (GILLESPIE, 1989) ou 25% nas pessoas com mais de 50 anos e naquelas com doenças crônicas debilitantes, com pneumonia pneumocócica bacterêmica (AUSTRIAN, 1963).

No mundo todo, cerca de 10 milhões de crianças abaixo de cinco anos morrem anualmente. A Infecção Respiratória Aguda Baixa é responsável por 1,6 a 2,2 milhões das mortes, sendo cerca de 95% delas, em países do Terceiro Mundo (WILLIAMS *et al.*, 2002); destas infecções, de 10% a 55% (HEFFELFINGER *et al.*, 2000), com valor médio de 27% (SHANN, 1986) apresentam etiologia pneumocócica. Nesses países, o pneumococo é o principal responsável por casos fatais de pneumonia bacterêmica

(SHANN, 1986; BARKER *et al.*, 1989; FORGIE *et al.*, 1991a; FORGIE *et al.*, 1991b). Em nosso meio, Ejzenberg *et al.* (1986) identificaram o pneumococo como o patógeno mais freqüentemente recuperado de crianças internadas para tratamento de pneumonia bacteriana aguda (24 dentre 102).

Nos EUA, o pneumococo passou a ser a causa mais comum de meningite em crianças pequenas (BLACK *et al.*, 2000a; CDC, 2000), a partir do final da década de 90, com o início do emprego em larga escala da vacina conjugada anti-hemófilos. Entre os adultos, o pneumococo é a principal causa de meningite bacteriana, na ausência de epidemia meningocócica (MUSHER, 1992; FEDSON, MUSHER e ESKOLA, 1999). Para a meningite pneumocócica, a taxa de letalidade pode alcançar 30% a 40%, particularmente na população de risco, como lactentes muito jovens e idosos acima dos 60 anos (SIMS *et al.*, 1988; FEDSON *et al.*, 1989; WATSON, MUSHER e VERHOEF, 1995). As seqüelas neurológicas, como deficiência auditiva, hidrocefalia, convulsão ou retardo mental acometem 29% a 50% das crianças e até 72% dos adultos sobreviventes (KORNELISSE *et al.*, 1995; ARDITI *et al.*, 1998).

No Brasil, Moraes e Guedes (1990) analisaram o comportamento epidemiológico da meningite pneumocócica no Município de São Paulo, no período de 1960 a 1977 e encontraram uma taxa de ocorrência global de 1,9 caso por 100.000 habitantes por ano. Nas crianças abaixo de um ano, faixa de maior risco, o coeficiente variou de 30 a 37 casos por 100.000 habitantes por ano. A letalidade, relativamente alta, foi de 37,8%. Até recentemente, o pneumococo era o terceiro agente mais freqüente de meningite bacteriana, em crianças internadas no Instituto de Infectologia Emílio Ribas (FARHAT, 1998) e no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HCUFU) (MANTESE *et al.*, 2002). Porém, com o início da vacinação em massa contra o Hib, em 1999, o pneumococo vem constituindo a segunda maior causa de meningite em crianças, atrás apenas do

meningococo (BRANDILEONE *et al.*, 2003). O Ministério da Saúde (MS) relata uma taxa de 10 casos por 100.000 crianças menores de um ano de idade, a partir de 1999 (BRANDILEONE *et al.*, 2003). Num estudo de quatro anos, de 1995 a 1999, realizado em Salvador (BA) foi determinada uma incidência de 1,6 caso por 100.000 habitantes de todas as idades e de 24,7 casos por 100.000 habitantes, para crianças menores de cinco anos (REIS *et al.*, 2002). A taxa de morte da meningite pneumocócica tem sido registrada pelo MS em cifras de 27,5% para todos os grupos etários (BRANDILEONE *et al.*, 2003), mas valores de até 60% têm sido detectados para crianças com menos de cinco anos de idade (REIS *et al.*, 2002).

Gray e Dillon Jr. (1986) analisaram 1.310 crianças, fontes de recuperação do pneumococo, internadas no “Children’s Hospital do Alabama” (EUA), durante o período de cinco anos, de 1979 a 1984 e concluíram que a maioria das infecções ocorreu em crianças até então saudáveis, com menos de dois anos de idade; que os indivíduos com “fatores de risco” continuam com risco elevado de adoecer mesmo após os dois primeiros anos de vida; que a maioria das infecções é causada por um número limitado de sorotipos e finalmente, que a distribuição dos sorotipos varia de acordo com as diferentes faixas de idade e com as síndromes clínicas. Os sorotipos mais comumente encontrados, à semelhança do que ocorrera na década anterior (GRAY, CONVERSE III e DILLON Jr., 1979) foram o 3, 6, 14, 19 e 23, e quando separados por síndrome clínica foram para a otite média aguda os sorotipos 19, 6 e 14; para a pneumonia o 19, 6 e 23; para a bacteremia o 14, 6 e 18 e para a meningite os sorotipos 6, 14 e 18. Os autores confirmaram o “padrão infantil” dos sorotipos 14, 6, 18, 19 e 23 (BURKE *et al.*, 1971; GRAY, CONVERSE III e DILLON Jr., 1979; KLEIN, 1981).

Diante da recuperação laboratorial do pneumococo, é necessário distinguir aqueles indivíduos apenas colonizados (sobrevivência e multiplicação da bactéria, sem resposta

imune e sem manifestações clínicas de doença), daqueles com infecção inaparente ou subclínica (multiplicação do agente, com resposta imune, mas sem manifestações clínicas) e daqueles com doença (presença de multiplicação do patógeno, de resposta imune e de manifestações clínicas) (KLEIN, 1981).

Gray, Converse III e Dillon Jr. (1980) já haviam observado em crianças que o pneumococo, quando causa doença a partir da colonização em nasofaringe, fá-lo com cepa recém adquirida (três a quatro semanas) e não com cepa colonizadora crônica (mesmo que seja de sorotipo comumente encontrado causando doença invasiva). Neste aspecto, o agente não pode ser considerado oportunista clássico. A colonização começa logo após o nascimento e aos três meses de idade a criança pode apresentar taxas semelhantes às das mães (RILEY e DOUGLAS, 1981; GILLESPIE, 1989).

A freqüência dos sorotipos encontrados colonizando pessoas saudáveis ou causando doenças em pacientes varia de acordo com a comunidade e ao longo do tempo. Sniadack *et al.* (1995) revisaram dados provenientes de 16 países em seis continentes para determinar a distribuição dos sorotipos de pneumococos isolados de locais normalmente estéreis, em crianças até 15 anos de idade. Os 10 sorotipos mais comumente encontrados em ordem decrescente de freqüência, em países desenvolvidos, foram o 14, 6, 19, 18, 9, 23, 7, 4, 1 e 15, e nos países em desenvolvimento o 6, 14, 8, 5, 1, 19, 9, 23, 18, 15 e 7.

Em nosso meio, Taunay *et al.* (1990) analisaram 1.000 cepas de pneumococos isolados de líquido, no período de 1977 a 1988 e dentre os 60 sorotipos identificados, os mais comuns, em ordem decrescente de freqüência, foram 1, 6B, 18C, 14, 5, 3, 6A, 23F, 19F e 38. Na ampliação deste estudo por mais quatro anos (pacientes de zero a 81 anos, período de 1977 a 1992), a análise do líquido de 1.477 pacientes com meningite, e do sangue e/ou líquido pleural de 146 pacientes com pneumonia, evidenciou um predomínio dos sorotipos 1, 6B, 14, 6A, 18C, 3, 5, 23 e 19. No grupo de pacientes com bacteremia e

pneumonia, em sua maioria crianças, houve predomínio dos sorotipos 14, 1, 5, 6B, 9V e 4. Os autores ressaltam a tendência ao declínio das infecções pelo sorotipo 1 e o aumento pelo sorotipo 5 (BRANDILEONE *et al.*, 1995).

Na América Latina, incluindo o Brasil, foi instituído a partir de 1993, sob o patrocínio da Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) e do MS, o Projeto SIREVA (Sistema Regional de Vacinas), com o objetivo de monitorar os sorotipos e o padrão de resistência de cepas de pneumococos recuperadas de infecções invasivas, em crianças com menos de seis anos de idade (Di FABIO, HOMMA e QUADROS, 1997). Desde então, diversas publicações têm mostrado alguma diversificação na distribuição de sorotipos e na taxa de resistência aos antimicrobianos, nos diferentes países da região (e em diferentes regiões do Brasil), ao longo do tempo (BRANDILEONE *et al.*, 1995; BRANDILEONE *et al.*, 1997; BRANDILEONE *et al.*, 1998; KERTESZ *et al.*, 1998; TOMASZ *et al.*, 1998; Di FABIO *et al.*, 2001; HORTAL *et al.*, 2001; BRANDILEONE *et al.*, 2003). No Brasil, o levantamento das primeiras 360 cepas invasivas, obtidas de crianças com até cinco anos de idade, realizado em três grandes centros urbanos, confirmou a importante participação dos sorotipos 14 (particularmente nas crianças abaixo de dois anos) e 1 (naquelas com idade acima de três anos). Houve uma diferença significativa na distribuição dos sorotipos, com predomínio do 14 nas cidades de São Paulo e Recife e do 24F, em Belo Horizonte (BRANDILEONE *et al.*, 1997).

#### 1.4 – FATORES DE RISCO

O pneumococo reside normalmente na faringe de pessoas saudáveis e a disseminação ocorre através de gotículas de secreção respiratória, favorecida pelo grau de proximidade das pessoas, infecção viral respiratória concomitante e clima frio (GILLESPIE, 1989; TEELE, 1998). As taxas de colonização, com valores médios de 25% a 50%, alcançam extremos de 5%, nos adultos que não convivem com crianças, a 97%, nas crianças e adultos confinados em quartéis, acampamentos, prisões, creches e escolas (TEELE, 1998; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999). A colonização começa logo após o nascimento e, aos três meses de idade, o lactente pode apresentar taxas semelhantes às das mães (RILEY e DOUGLAS, 1981; GILLESPIE, 1989).

Fatores ambientais, tais como os aglomeramentos humanos e a presença de, pelo menos, um fumante no domicílio, são considerados fatores de risco para desenvolvimento de doença pneumocócica invasiva em crianças jovens (PETER e KLEIN, 1997; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999), enquanto que o aleitamento materno constitui um fator protetor (GESSNER *et al.*, 1995).

Fatores do hospedeiro estão fortemente ligados a um risco aumentado de doença pneumocócica invasiva, tais como os extremos de idade, o estado de saúde de base e a adequação do tratamento instituído (GILLESPIE, 1989; CAMPBELL Jr. e SILBERMAN, 1998; TEELE, 1998; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999). Com relação à idade, sabe-se que 80% das doenças pneumocócicas invasivas em crianças ocorrem naquelas com menos de dois anos de vida (TEELE, 1998; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999; BLACK *et al.*, 2000a). Constituem os principais fatores predisponentes para aquisição de formas invasivas a presença de doenças imunológicas tais como a esplenectomia funcional ou anatômica, a hipo ou agamaglobulinemia, a infecção pelo vírus da imunodeficiência

adquirida (VIA), deficiências do complemento, neoplasias malignas e síndrome nefrótica, cirrose hepática, doenças metabólicas tais como o diabetes mellito, e doenças respiratórias crônicas como a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (GILLESPIE, 1989; TEELE, 1998; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999). A ruptura congênita ou adquirida da integridade do crânio, como nas fraturas de base ou nos procedimentos cirúrgicos, predispõe a ocorrência de meningite pneumocócica recorrente (PETER e KLEIN, 1997; TEELE, 1998; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999).

## 1.5 – TRATAMENTO ANTIMICROBIANO

### 1.5.1 – Princípios gerais

A penicilina é o antibiótico de escolha para o tratamento de infecções causadas por pneumococos a ela sensíveis (APPELBAUM, 1996; AAP, 2000a; AAP, 2000b).

Para o tratamento de infecção respiratória alta, como a otite média e a sinusite agudas, a ampicilina ou a amoxicilina são eficazes na maioria dos casos com etiologia pneumocócica (TEELE, 1998). Na eventualidade de falha terapêutica associada à resistência do pneumococo à penicilina, é recomendado o uso da amoxicilina em doses elevadas ou de drogas alternativas como a clindamicina ou a ceftriaxona (BLOCK *et al.*, 1995). Outras alternativas para o tratamento de crianças com otite média ou sinusite agudas são a cefuroxima, a cefpodoxima, a cefprozila, o cefaclor, a azitromicina, a claritromicina, a clindamicina, o cloranfenicol e o cotrimoxazol (DOWELL *et al.*, 1998; KAPLAN e MASON Jr., 1998; DOWELL *et al.*, 1999).

Os pacientes imunocompetentes, com infecção invasiva presumivelmente pneumocócica, podem ser tratados empiricamente com doses habituais de penicilina ou

ampicilina (AAP, 2000a; AAP, 2000b). Estas doses são suficientes para tratar infecções por cepas sensíveis ou com resistência intermediária à penicilina (FRIEDLAND, 1995), desde que não haja meningite. Diante de pneumococo com resistência intermediária ou plena à penicilina, e com evolução clínica não favorável, deve-se optar por esquema alternativo, com cefotaxima, ceftriaxona, vancomicina, imipenem, meropenem e, para alérgicos aos  $\beta$ -lactâmicos, a clindamicina ou o cloranfenicol (FRIEDLAND, 1995; AAP, 2000a; AAP, 2000b), e, em adultos, as quinolonas.

Pacientes imunocomprometidos, com doença pneumocócica invasiva, quando gravemente acometidos, devem receber, inicialmente, associação de vancomicina com ceftriaxona ou cefotaxima, até a obtenção dos resultados de cultura e testes de sensibilidade (FRIEDLAND, 1995).

Nos casos de meningite pneumocócica, causada por cepa sensível *in vitro* à penicilina, a penicilina cristalina ou a ampicilina são adequadas para o tratamento (TEELE, 1998). Uma dessas drogas pode constituir o esquema empírico inicial de pacientes provenientes de comunidades com baixa taxa de ocorrência de PRP (menos de 10%) (McCRACKEN Jr., 1995). Nas localidades que apresentam taxas elevadas de PRP (mais de 10%), o tratamento empírico inicial pode incluir a vancomicina associada à ceftriaxona ou à cefotaxima (McCRACKEN Jr., 1995), enquanto são aguardados os testes de suscetibilidade. Em caso de alergia severa aos  $\beta$ -lactâmicos, é possível substituir a cefalosporina por rifampicina (AAP, 2000a; AAP, 2000b). Para os pacientes que não toleram a vancomicina há poucas opções de eficácia comprovada (AAP, 2000a; AAP, 2000b). O meropenem, ativo *in vitro* contra PRP, pode ser usado isoladamente ou em associação. Drogas mais recentes, como a linezolida e a quinupristina/dalfopristina, têm sido testadas *in vitro* e poderão vir a ser empregadas no tratamento de infecções graves por

pneumococos tolerantes à vancomicina (ATKINSON, MITCHELL e TUOMANEN, 2000; HENRIQUES-NORMARK *et al.*, 2001).

### 1.5.2 – Resistência a drogas

A optoquina, atualmente usada apenas para identificação laboratorial do pneumococo, foi uma das primeiras drogas usadas contra as infecções pneumocócicas, até ser abandonada devido à sua toxicidade (HARWELL e BROWN, 2000). Mesmo antes de seu emprego clínico, a resistência *in vitro* à optoquina já havia sido detectada em amostras de laboratório, em 1912 e em espécimes clínicos, em 1917 (HARWELL e BROWN, 2000). A resistência à sulfonamida foi descrita em cepas laboratoriais, na década de 40 (HARWELL e BROWN, 2000).

Desde a liberação da penicilina para uso clínico, no início da década de 40, até meados dos anos 60, os únicos relatos de PRP referiam-se às cepas laboratoriais induzidas a modificações genéticas sucessivas, por exposição a doses subletais do antibiótico (AUSTRIAN, 1994; TOMASZ, 1997; CAMPBELL Jr. e SILBERMAN, 1998). De fato, com o advento da penicilina, houve um grande impacto na letalidade das doenças pneumocócicas invasivas, tais como a pneumonia e a meningite (AUSTRIAN, 1994; BUTLER, DOWELL e BREIMAN, 1998). Até então, as cepas invasivas de pneumococo eram uniformemente sensíveis à penicilina (FEDSON, MUSHER e ESKOLA, 1999).

Os primeiros relatos de PRP, obtidos de espécimes clínicos, são provenientes da Austrália e Papua Nova Guiné, em 1965 e 1967 (HANSMAN *et al.*, 1971; AUSTRIAN, 1994). Dez anos mais tarde, foram detectadas, na África do Sul, cepas com resistência múltipla, definida como resistência simultânea a três ou mais diferentes grupos de antibióticos (JACOBS *et al.*, 1978).

Atualmente, o PRP é encontrado em praticamente todos os continentes e taxas de ocorrência acima de 40%, entre cepas obtidas de amostras clínicas, são relatadas na África do Sul, Israel, Japão, Coréia do Sul, Tailândia, Vietnã, Papua Nova Guiné, Espanha, França, Romênia, Hungria e EUA (SCHREIBER e JACOBS, 1995; APPELBAUM, 1996; BUTLER, DOWELL e BREIMAN, 1998; POOLE, 1998). Entretanto, mesmo nestes países, há intensas variações, na dependência da região geográfica, da estação do ano (maiores taxas obtidas durante os meses de inverno, nas regiões de clima temperado; YAGUPSKY *et al.*, 1998), da idade e condição de saúde do hospedeiro (maior incidência em crianças abaixo de seis anos; JACOBS, 1998), da natureza da amostra analisada (cepas PRP são mais facilmente encontradas em esfregaços de nasofaringe, de escarro espectorado e de fluido do ouvido médio, do que em amostras do trato respiratório inferior e, mais ainda, do que em amostras de sangue ou líquor; BARNETT e KLEIN, 1995), do tipo de infecção pneumocócica (existem maiores chances do PRP ser detectado colonizando a nasofaringe do que causando otite média aguda ou mais ainda, causando doenças invasivas, como pneumonia, bacteremia ou meningite; JACOBS, 1998) e de outros fatores epidemiológicos. Assim, algumas cifras publicadas podem estar excessivamente elevadas, por terem sido obtidas em grupos de indivíduos particularmente suscetíveis, durante surtos epidêmicos. Porém, independentemente destes fatores, parece haver uma tendência ao aumento da incidência do PRP, nas localidades onde sua presença já foi constatada.

Vários estudos epidemiológicos têm demonstrado, em países com elevadas taxas comunitárias de PRP, uma correlação entre a recuperação do PRP e o consumo de antimicrobianos ou a exposição a indivíduos altamente colonizados (SCHREIBER e JACOBS, 1995; BUTLER, DOWELL e BREIMAN, 1998; CAMPBELL Jr. e SILBERMAN, 1998; McCracken Jr., 1998). Em relação aos adultos, as crianças

possuem maiores taxas de prevalência de PRP, particularmente aquelas com idade menor que dois anos, que freqüentam creches e que recebem antimicrobianos com freqüência (SCHREIBER e JACOBS, 1995; ARNOLD *et al.*, 1996; BUTLER, DOWELL e BREIMAN, 1998; JACOBS, 1998; McCracken Jr., 1998; POOLE, 1998; DEEKS *et al.*, 1999). Tipicamente, estas crianças apresentam otite média aguda refratária ou de repetição e são submetidas a séries de tratamento ou profilaxia com antibióticos (ARNOLD *et al.*, 1996; DOWELL *et al.*, 1998; JACOBS, 1998; POOLE, 1998; DEEKS *et al.*, 1999; DOWELL *et al.*, 1999). A presença de doença de base imunossupressora, que predispõe à infecção pneumocócica, pode expor o paciente a índices elevados de colonização ou infecção por PRP, em comunidades onde eles são prevalentes. Dentre os adultos, as maiores cifras de colonização por PRP são encontradas nos idosos institucionalizados (casas de saúde, asilos, hospitais, prisões), que recebem antibióticos freqüentemente (CAMPBELL Jr. e SILBERMAN, 1998). O aumento da ocorrência de resistência à penicilina entre os pneumococos é acompanhado pelo aumento de freqüência e intensidade da resistência a outros antimicrobianos,  $\beta$ -lactâmicos ou não (CAMPBELL Jr. e SILBERMAN, 1998). Assim, paralelamente ao aumento da freqüência do PRP, tem ocorrido um aumento da proporção de cepas altamente resistentes à penicilina e um aumento da freqüência e intensidade da resistência às cefalosporinas, aos macrolídeos, à tetraciclina, à clindamicina, ao cloranfenicol e ao cotrimoxazol (CAMPBELL Jr. e SILBERMAN, 1998; HARWELL e BROWN, 2000).

A distribuição de sorotipos dentre os PRP mostra alguma variação geográfica, mas na maioria dos relatos os sorotipos “infantis” (6, 14, 19 e 23) são os mais freqüentemente recuperados (FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999). Supõe-se que, ao colonizar mais precocemente as crianças e permanecer por mais tempo em nasofaringe, estas cepas

estariam expostas por mais tempo à pressão seletiva dos antibióticos (BAQUERO, 1996; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999).

Segundo um estudo de vigilância das infecções pneumocócicas invasivas na América Latina (Projeto SIREVA, OPAS), publicado recentemente (KERTESZ *et al.*, 1998), a taxa de ocorrência de PRP no continente é de 24,9%, incluindo 16,7% de resistência intermediária (CIM de 0,1 a 1,0 $\mu$ g/mL) e de 8,2% de resistência plena (CIM  $\geq$  2,0 $\mu$ g/mL). Durante o período aproximado de quatro anos, de 1993 a 1996, foram analisadas 1.649 cepas invasivas, recuperadas do sangue, líquido ou outro fluido orgânico, de crianças com idade inferior a cinco anos, com diagnóstico primário de pneumonia (50,4% dos casos), meningite (32,5%), sepse ou bacteremia (11,2%) e outros (5,8%). O programa abrangeu mais de 70 hospitais em seis países (Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, México e Uruguai). Foi possível detectar um aumento da frequência das cepas de PRP, de 20,6% em 1994 para 29,6% em 1995. No Brasil, as taxas de PRP são de 15,4%, segundo um levantamento de âmbito nacional, envolvendo 2.050 cepas (BRANDILEONE, 1999),

Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas e inibidores de  $\beta$ -lactamases) atuam nos pneumococos através da ligação com proteínas ligadoras de penicilina (PLP), que são enzimas catalizadoras da síntese da parede celular da bactéria (FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999). As PLP *major* são denominadas 1a, 1b, 2a, 2b, 2x e 3, cada uma delas codificada por um determinante genético distinto (TOMASZ, 1997). A resistência do pneumococo aos  $\beta$ -lactâmicos desenvolve-se pela alteração da PLP, particularmente as do grupo PLP1 e PLP2, o que resulta em uma diminuição da afinidade destas enzimas a estes antibióticos (TOMASZ, 1997; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999). Como o processo de diminuição da sensibilidade envolve alterações cumulativas na PLP, há diferentes graus de resistência entre os pneumococos,

expressa *in vitro*, pela elevação do CIM. Como nem todos os  $\beta$ -lactâmicos apresentam a mesma afinidade pelas diversas PLP, as alterações nas diferentes enzimas acarretam diferentes padrões de sensibilidade a estes antibióticos (TOMASZ, 1997; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999). Por exemplo, a amoxicilina, a ceftriaxona, a cefotaxima e as carbapenems (imipenem e meropenem) podem ser ativas contra cepas de PRP com resistência intermediária ou mesmo com resistência plena à penicilina (CAMPBELL Jr. e SILBERMAN, 1998).

Toda alteração de síntese de PLP no pneumococo é mediada cromossomicamente (TOMASZ, 1997). Estas alterações são decorrentes provavelmente de mutações sucessivas no código genético e/ou de substituição de segmentos do cromossomo, por fragmentos provenientes de outras espécies de estreptococos (processo de transformação) (TOMASZ, 1997; MAIDEN, 1998). Neste contexto, é necessário distinguir três etapas: aquisição do traço genético de resistência, transferência dos genes entre diferentes cepas (transferência horizontal) e expansão clonal de determinadas cepas resistentes (transferência vertical dos genes) (MAIDEN, 1998).

A resistência do pneumococo às cefalosporinas manifesta-se também de modo gradativo, em decorrência de alterações cromossômicas sucessivas (MAIDEN, 1998). Como os genes que codificam a resistência às cefalosporinas estão situados em locus cromossômicos próximos, há uma chance maior de serem transportados conjuntamente (no processo de transformação genética), o que pode resultar em uma disseminação epidemiologicamente mais rápida das cepas cefalosporino-resistentes em relação às penicilino-resistentes (MAIDEN, 1998). A maioria dos pneumococos resistentes às cefalosporinas é simultaneamente resistente à penicilina, pois as alterações características da resistência às cefalosporinas determinam diminuição da sensibilidade à penicilina (BRADLEY e SCHELD, 1997; MAIDEN, 1998). Entretanto, já foram descritas cepas

mais intensamente resistentes à ceftriaxona do que à penicilina, nas quais são detectadas discretas alterações na PLP (KLUGMAN, 1996).

A resistência aos outros antimicrobianos, apesar de ocorrer de modo paralelo com a resistência à penicilina, decorre de outros mecanismos. Para muitas drogas, a aquisição do material genético depende principalmente do processo de conjugação de elementos extracromossômicos. Por exemplo, o transposon TN1545, já detectado em pneumococos multi-resistentes, contém genes determinantes da resistência à eritromicina (que se estende aos demais macrolídeos), à tetraciclina e ao cloranfenicol (SCHREIBER e JACOBS, 1995; TOMASZ, 1997). A resistência aos macrolídeos decorre principalmente da modificação do sítio de ligação no ribossomo ou de um sistema de efluxo da droga (SCHREIBER e JACOBS, 1995; CAMPBELL Jr. e SILBERMAN, 1998; HYDE *et al.*, 2001). A resistência do tipo M caracteriza-se pela resistência cruzada apenas com os demais macrolídeos do grupo (mais comumente detectada nos EUA) e a do tipo MLS<sub>B</sub> apresenta resistência extensiva à clindamicina (comumente encontrada em países da Europa) (SCHREIBER e JACOBS, 1995; CAMPBELL Jr. e SILBERMAN, 1998; Del CASTILLO, BAQUERO-ARTIGAO e GARCIA-PEREA, 1998; HYDE *et al.*, 2001). A resistência do pneumococo ao cotrimoxazol é determinada pela alteração da afinidade da enzima ligadora da droga e, ao cloranfenicol, pela produção de uma enzima inativadora (SCHREIBER e JACOBS, 1995; CAMPBELL Jr. e SILBERMAN, 1998). A resistência de pneumococos às fluorquinolonas é devida às mutações em genes que codificam enzimas-alvo, primariamente o gene *parC*, que codifica a subunidade A da topoisomerase IV do DNA e a *gyrA*, que codifica a subunidade A da girase do DNA; outros mecanismos menos comuns são as mutações nos genes *parE* e *gyrB* e, possivelmente, também o efluxo ativo da droga (LIM *et al.*, 2003).

Os pneumococos resistentes a estes antimicrobianos são mais comumente detectados entre os PRP do que entre os pneumococos sensíveis à penicilina (PSP). Neste sentido, são bastante ilustrativos os resultados de um estudo multicêntrico realizado nos EUA e em países da Europa, de 1992 a 1994, para avaliação do padrão de sensibilidade dos patógenos responsáveis por pneumonia adquirida na comunidade (GRUNEBERG e FELMINGHAM, 1996). Dentre as cepas de PRP com resistência plena, as taxas de resistência à eritromicina, à doxiciclina, ao cloranfenicol e ao cotrimoxazol foram de 52,1%, 61,9%, 59,3% e 97,4%, respectivamente; entre os PSP, estes valores caíram para 7,4%, 10,4%, 3,9% e 20,1% respectivamente.

No Brasil, a resistência à eritromicina, à tetraciclina, ao cloranfenicol e ao cotrimoxazol tem sido relatada em valores aproximados de 6%, 44%, 2% a 7% e 30% a 63%, respectivamente (SESSEGOLO *et al.*, 1994; BEREZIN *et al.*, 1996).

A escolha correta dos esquemas terapêuticos empíricos iniciais das infecções pneumocócicas depende do conhecimento adequado, atualizado e regionalizado da suscetibilidade do pneumococo aos antimicrobianos.

## 1.6 – PROFILAXIA

A produção de anticorpo protetor sorotipo específico em resposta ao polissacarídeo capsular é a base para a vacinação antipneumocócica atual (CATTERALL, 1999). Porém, a única vacina disponível nos EUA até o início do ano 2000, a polissacarídica 23-valente (PS23v), é pouco imunogênica em crianças e, portanto, não tem sido eficaz no controle da doença pneumocócica naquelas menores de dois anos de idade (BLACK *et al.*, 2000a) ou até mesmo em menores de cinco anos, para alguns sorotipos tais como 6A, 6B e 14

(BLACK *et al.*, 2000a; LEE, LEE e FRASCH, 2002). Esta vacina contém o antígeno polissacarídico capsular de 23 sorotipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F e 33F (AAP, 2000a).

As recomendações do Comitê de Doenças Infecciosas da Academia Americana de Pediatria (AAP, 2000a) para imunização com a vacina PS23v são:

- crianças com idade igual ou superior a dois anos, com risco elevado de aquisição de infecção pneumocócica, com anemia falciforme, asplenia anatômica ou funcional, síndrome nefrótica ou insuficiência renal crônica, fístula líquórica e condições com imunossupressão, tais como transplantado de órgãos, tratamento citorrredutor e infecção pelo VIA.

O Comitê para Aconselhamento das Práticas de Imunização (CAPI) do Serviço de Saúde Pública nos EUA (CDC, 1997) estabelece as recomendações para:

- todo indivíduo com idade igual ou superior a 65 anos;
- todo indivíduo com idade igual ou superior a dois anos com: doenças crônicas, como diabetes mellito, alcoolismo, cirrose, doenças cardiovasculares e pulmonares; doenças imunossupressoras, como asplenia anatômica ou funcional, síndrome nefrótica, insuficiência renal crônica, linfoma, mieloma múltiplo e transplante de órgãos; infecção pelo VIA;
- indivíduos que vivem em certas condições ambientais ou sociais de risco, como certos nativos americanos (indígenas da tribo Apache, por exemplo), recrutas militares e prisioneiros em cadeias.

Estão representados na vacina 88% dos sorotipos que causam bacteremia e meningite em adultos, cerca de 100% daqueles responsáveis por bacteremia e meningite

em crianças e 85% dos sorotipos recuperados de crianças com otite média aguda, nos EUA (FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999; AAP, 2000a).

No Brasil, de acordo com um levantamento realizado na área da grande São Paulo, de 1977 a 1992, 89,7% dos sorotipos predominantes em crianças com bacteremia e pneumonia (14, 1, 5, 6B, 9V, 4 e 6A) e 76,1% daqueles isolados em líquido (1, 6B, 14, 6A, 18C, 3, 5 e 23F, entre outros), estão representados na vacina (BRANDILEONE *et al.*, 1995; BRANDILEONE *et al.*, 1997).

O MS do Brasil (2003) recomenda, desde 1993, a aplicação da vacina em indivíduos com idade igual ou superior a dois anos, portadores de asplenia anatômica (congenita ou por remoção cirúrgica) ou funcional (anemia falciforme), imunodeficiência congênita ou adquirida (linfomas, mieloma múltiplo, infecção sintomática ou assintomática pelo VIA, transplante de órgãos e uso de drogas imunossupressoras) e síndrome nefrótica. Nos casos de esplenectomia eletiva, a vacina deve ser administrada pelo menos duas semanas antes da cirurgia e este intervalo é também recomendado entre a vacinação e o início de um tratamento com drogas imunossupressoras. Pacientes sob quimio ou radioterapia devem aguardar o prazo mínimo de três meses após a interrupção do tratamento imunossupressor, para receber a vacina.

A conjugação de polissacarídeos bacterianos a carreadores protéicos, princípio adotado inicialmente no desenvolvimento das vacinas conjugadas anti-hemófilos, melhora em muito a resposta imune, mesmo em fases iniciais da vida (ROBBINS e SCHNEERSON, 1990). O rápido decréscimo na incidência das infecções pelo Hib que se seguiu ao uso disseminado da vacina conjugada específica (CDC, 1998; WARD e ZANGWILL, 1999; AAP, 2000a; RUBIN, 2000), motivou a pesquisa e o desenvolvimento das vacinas conjugadas pneumocócicas multivalentes (ESKOLA e ANTTILA, 1999; BLACK *et al.*, 2000a; RUBIN, 2000; LEE, LEE e FRASCH, 2002).

Em fevereiro de 2000, a *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA, aprovou para uso clínico a vacina pneumocócica conjugada heptavalente (PC7v) (Pevnar<sup>®</sup>. Lederle Laboratories; Wyeth-Ayerst Pharmaceuticals. EUA) (AAP, 2000b). A partir de então, o uso de vacinas pneumocócicas conjugadas, imunogênicas para crianças a partir de dois meses de idade, tem sido considerado uma estratégia potencial para o controle das infecções pneumocócicas. Um ensaio controlado, randomizado, com mais de 37.000 crianças, mostrou que a vacina PC7v foi altamente efetiva na prevenção de doença invasiva bacterêmica, particularmente naquela causada pelos sorotipos nela representados, com impacto também, em pneumonia e otite média aguda (BLACK *et al.*, 2000a). Recentemente, houve a comprovação do impacto desta vacina na redução das taxas de colonização do pneumococo em nasofaringe (DAGAN *et al.*, 1997). Esta vacina inclui os antígenos capsulares dos sorotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F e 23F, que são os mais prevalentes nas doenças invasivas em crianças menores de seis anos de idade, nos EUA e nos países da Europa Ocidental (BLACK *et al.*, 2000a; LEE, LEE e FRASCH, 2002). Uma vacina heptavalente do laboratório Merck & Co vem sendo também testada (fase III de ensaio clínico). Com o objetivo de ampliar o espectro antigênico e incluir sorotipos mais prevalentes em outras regiões do mundo, outras vacinas têm sido desenvolvidas e testadas (fases II e III) (ESKOLA, 2000; LEE, LEE e FRASCH, 2002): a vacina conjugada 9-valente (PC9v), acrescida dos antígenos capsulares dos sorotipos 1 e 5, e a 11-valente (PC11v), acrescida dos sorotipos 1, 5, 3 e 7F.

As indicações para o uso da vacina PC7v foram definidas, nos EUA, pelo Comitê de Doenças Infecciosas da Academia Americana de Pediatria (AAP, 2000b) e pelo CAPI do Serviço de Saúde Pública nos EUA (CDC, 2000). De acordo com a AAP, as recomendações para vacinação são as seguintes (AAP, 2000b):

- todas as crianças com menos de 24 meses de idade;
- crianças com idade entre 24 e 59 meses, que estão sob alto risco de infecção pneumocócica invasiva (definido como grupo sujeito a taxas anuais de incidência de doença pneumocócica invasiva superior a 150 casos por 100.000 indivíduos). Após o esquema inicial com a PC7v, o reforço é recomendado com a PS23v;
- a PC7v (de preferência) ou a PS23v pode ser empregada em crianças com idade entre 24 e 59 meses, com risco moderado de infecção pneumocócica invasiva (definido como grupo sujeito a taxas anuais de incidência de doença pneumocócica invasiva entre 20 e 150 casos por 100.000 indivíduos). Os dados são insuficientes para recomendação universal nesta faixa de idade.

De acordo com a CAPI, as recomendações para vacinação são (CDC, 2000):

- todas as crianças com idade igual ou inferior a 23 meses;
- crianças com idade entre 24 e 59 meses, sob alto risco de infecção pneumocócica invasiva, proporcionado por doença médica de base. Após o esquema inicial com a PC7v, o reforço é recomendado com a PS23v;
- crianças com idade entre 24 e 59 meses sem alto risco de infecção, mas que freqüentam creche ou escola (período maior ou igual a quatro horas por semana, com duas ou mais crianças não relacionadas) podem receber a PC7v;
- crianças maiores de cinco anos de idade e adultos não devem receber a PC7v em substituição à PS23v.

A composição antigênica ideal de uma vacina depende de vários fatores, tais como a identificação do maior número possível de sorotipos existentes e daqueles relacionados

às diferentes doenças, a(s) forma(s) clínica(s) a ser(em) prevenida(s) e a imunogenicidade do antígeno vacinal, que é sorotipo específica (SNIADACK *et al.*, 1995). A partir da definição da estratégia e adoção do esquema vacinal, devem ser monitorados o perfil de sorotipos prevalentes ao longo do tempo, as taxas de morbidade e mortalidade das diferentes formas clínicas e as faixas etárias de maior acometimento.

Portanto, para o uso adequado das vacinas pneumocócicas é fundamental o conhecimento atualizado do perfil dos sorotipos mais prevalentes nas formas clínicas mais comumente observadas em uma comunidade. Da mesma forma, o monitoramento do padrão de resistência *in vitro* aos antimicrobianos mais frequentemente utilizados, fornece a base racional para a determinação de esquemas terapêuticos empíricos iniciais.

## II – OBJETIVOS

Identificar e descrever nos pacientes admitidos com doença pneumocócica invasiva, no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HCUFU), MG:

- o perfil de sorotipos das cepas isoladas em cultura e as implicações na formulação de vacinas pneumocócicas;
- a suscetibilidade aos antimicrobianos das cepas isoladas em cultura e a comparação entre dois métodos de determinação da concentração inibitória mínima da penicilina;
- os aspectos clínicos e epidemiológicos, tais como a idade, o sexo, a forma clínica, a fonte de recuperação da bactéria e a evolução para sobrevida ou morte.

### III – CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODO

#### 3.1 – CASUÍSTICA

Foi realizada uma vigilância laboratorial ativa e prospectiva de cepas de pneumococos, isoladas no Laboratório de Análises Clínicas do HCUFU, a partir de culturas de espécimes clínicos não permissivos (sangue, líquido, líquido pleural, líquido peritoneal, líquido articular e secreção de abscesso fechado), coletados de pacientes com doença pneumocócica invasiva, atendidos no HCUFU.

O HCUFU é um hospital público universitário, conveniado com o Sistema Único de Saúde, que atende a população de Uberlândia e de mais 120 municípios do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, região com número estimado em mais de 2.000.000 de habitantes. Possui capacidade máxima de 480 leitos, sendo 105 reservados para internações de crianças. Por constituir um centro de referência regional, a maioria desses leitos é ocupada por pacientes com doenças que exigem manuseio complexo. Segundo os “Indicadores Sintéticos e Analíticos de Produção do HCU”, disponível na Diretoria Geral do HCUFU, durante os meses de janeiro a agosto de 2002, a média mensal de consultas médicas nos ambulatórios foi de 23.467, no Pronto Socorro foi de 9.639 e a de internações foi de 2.627.

Uberlândia está situada na porção sudoeste do Estado de Minas Gerais, na denominada Região do Triângulo Mineiro, a uma altitude média de 863 metros. Seu clima é caracterizado como de verão chuvoso e inverno seco. De acordo com o censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2003), realizado em 2000, a cidade possui o total de 501.214 habitantes, sendo 49% do sexo masculino e a proporção de habitantes nas

faixas de idade de zero a quatro anos, cinco a 19 anos, 20 a 59 anos e 60 ou mais anos é de 8,20%, 27,83%, 56,44% e 7,50%, respectivamente. Para a assistência médica dessa população, a cidade conta com uma ampla rede municipal de atendimento primário, respaldada por unidades de internação, para o manuseio secundário e terciário dos pacientes.

A partir da identificação laboratorial do pneumococo, foi preenchida uma ficha previamente elaborada (ANEXO 1), na qual constam o nome do paciente, o número do registro hospitalar, o endereço, as datas de nascimento, de internação, de coleta da amostra e de alta hospitalar, a evolução clínica (sobrevida ou óbito), o resumo da história clínica, o(s) diagnóstico(s) nosológico(s), o tratamento antimicrobiano instituído, a fonte da amostra e dados obtidos no laboratório local. Foi incluída apenas uma cepa por paciente, mesmo que mais de uma delas tenha sido recuperada em mais de uma fonte.

O diagnóstico, a coleta dos espécimes clínicos e o tratamento foram indicados exclusivamente pelos médicos responsáveis pelos pacientes e, em momento algum, a pesquisa interferiu na conduta diagnóstica ou terapêutica.

Foram obtidos, no Setor de Nosologia do HCUFU, o número de atendimentos ocorridos no Setor de Emergência e o número de internações efetuadas nas diferentes unidades de internação do hospital, com diagnóstico de pneumonia, no período de abril de 1999 a março de 2003. Os códigos averiguados foram: J12.9 (pneumonia viral não especificada), J13 (pneumonia devida a *Streptococcus pneumoniae*), J15.9 (pneumonia bacteriana não especificada) e J18 (pneumonia por microorganismo não especificado). O número de admissões de crianças com meningite bacteriana foi obtido no levantamento prospectivo que é realizado no HCUFU, desde 1987 (MANTESE *et al.*, 2002).

Após a identificação no Laboratório do HCUFU, as cepas de pneumococo foram encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz (IAL), na cidade de São Paulo, SP, para a

confirmação da identificação, sorotipagem e determinação da suscetibilidade *in vitro* aos antimicrobianos. Os dados provenientes do IAL, assim que disponíveis, foram também anotados na ficha referida (ANEXO 1).

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da UFU (ANEXO 2).

### 3.2 – MATERIAL E MÉTODO

Os espécimes clínicos foram obtidos, sempre que possível, antes do início da terapia antimicrobiana, e a coleta e o processamento iniciais seguiram os padrões vigentes no laboratório do hospital.

A desinfecção da pele no local da venopunção foi realizada com álcool a 70% e o volume de sangue obtido em cada coleta variou com a idade do paciente, de 1 a 3mL para crianças e 10 a 20mL para adultos, mantendo a proporção de cerca de 1:10 entre o volume de sangue e o volume do caldo no frasco de cultura (MS, 1994). O sangue foi cultivado em caldo de soja tripticase (TSB), acrescido de polianetossulfonato de sódio a 0,025% (SPS) e piridoxina, em frascos do sistema BacT/Alert™ da Organon (Durham, NC).

As amostras de líquido, líquido pleural, líquido peritoneal, líquido articular ou secreção de abscesso, também colhidas assepticamente, foram centrifugadas e o sedimento submetido a três processos de isolamento: inoculação em caldo de tioglicolato de sódio a 0,25%, em placas de ágar chocolate e ágar Mueller Hinton com 5% de sangue de carneiro, além de esfregaço direto para coloração pelo método de Gram (MS, 1994).

O frasco inoculado com sangue, após aeração, foi incubado em temperatura entre 35°C e 37°C e com monitorização automática pelo sistema BacT/Alert™ por até 10 dias

(MS, 1994). As placas de ágar inoculadas com líquido ou líquido pleural foram incubadas a 5% de CO<sub>2</sub>, sob temperatura de 35°C a 37°C (MS, 1994).

Quando o sistema de detecção microbiana sinalizava positivamente, eram realizadas as subculturas por intermédio da aspiração de um pequeno volume (0,5mL) do frasco de hemocultura com uma seringa e agulha, e imediata inoculação em placas de ágar chocolate e ágar Mueller Hinton com 5% de sangue de carneiro, para incubação (MS, 1994). A partir das colônias suspeitas, foram realizados esfregaços diretos com coloração pelo método de Gram. Caracteristicamente, o pneumococo foi identificado como coco Gram positivo, em formato de lança (WILLETT, 1992; MS, 1994). A confirmação presuntiva da bactéria como sendo pneumococo foi realizada, então, com o teste da optoquina (MS, 1994).

Colônias  $\alpha$  hemolíticas suspeitas foram incubadas em caldo de infuso-cérebro-coração (BHI) até atingir uma turvação de 0,5 na escala de McFarland; a seguir, a superfície de uma placa de ágar sangue de carneiro foi semeada com auxílio de uma alça bacteriológica estéril, sobre a qual foi depositada, também asépticamente, um disco de optoquina com 6mm de diâmetro, contendo 5 $\mu$ g de optoquina (MS, 1994). As placas foram incubadas em ambiente com CO<sub>2</sub> a 35°C, por 18h a 24h e os halos de inibição de crescimento ao redor do disco de optoquina, mensurados. As cepas  $\alpha$  hemolíticas com uma zona de inibição de crescimento maior que 14mm de diâmetro foram consideradas pneumococos (MS, 1994). As cepas  $\alpha$  hemolíticas sugestivas, mas com halo de inibição menor ou igual a 14mm, foram encaminhadas ao IAL para confirmação diagnóstica.

No HCUFU, após identificação da espécie e da suscetibilidade presuntiva à penicilina com o disco de oxacilina (1 $\mu$ g), foi realizado o teste de suscetibilidade com a utilização da fita impregnada com penicilina (E teste). A partir de uma cultura no ágar sangue foi preparada uma suspensão do organismo em BHI, até atingir a turvação de 0,5

pelo padrão McFarland. Após inoculação desta suspensão em ágar Mueller Hinton com 5% de sangue foi colocada uma fita de E teste<sup>®</sup> (AB BIODISK, Sorna, Suécia. Lote BC3754) na superfície da placa, que foi então incubada a temperatura de 35°C, por 18h a 24h. A CIM foi interpretada como o ponto de interseção do crescimento bacteriano com a borda da fita.

Para o encaminhamento, as cepas de pneumococo foram semeadas em tubos de tampa com rosca, preparados com ágar chocolate inclinado e mantidos refrigerados a 4°C. No IAL, a identificação do pneumococo foi confirmada pelo reconhecimento da morfologia celular ao Gram, pela morfologia da colônia e presença de  $\alpha$  hemólise em placa de ágar sangue, pela suscetibilidade à optoquina e, eventualmente, pela solubilidade à bile. Os pneumococos foram sorotipados pela reação *quellung*, com antisoros policlonais obtidos do “Statens Seruminstitut” (Copenhage, Dinamarca) (BRANDILEONE, 1999; BRANDILEONE *et al.*, 2003).

No IAL, todas as cepas foram testadas quanto à suscetibilidade à penicilina pelo método de difusão de disco de oxacilina (1 $\mu$ g) (NCCLS, 1997a) e aquelas com sensibilidade presumivelmente diminuída à penicilina (halo de inibição menor que 20mm) foram submetidas a determinação da CIM pela técnica de microdiluição em caldo (NCCLS, 1997b). Seis antimicrobianos foram testados por esta técnica: penicilina, cefotaxima, cloranfenicol, eritromicina, cotrimoxazol, rifampicina e vancomicina (NCCLS, 1997b). A determinação da CIM para penicilina e cefotaxima foi feita apenas naquelas cepas resistentes à oxacilina (halo menor que 20mm). Os valores para interpretação dos resultados da CIM para a penicilina foram: suscetível quando menor ou igual a 0,06 $\mu$ g/mL, resistência intermediária com 0,1 a 1,0 $\mu$ g/mL e resistência plena, quando maior ou igual a 2,0 $\mu$ g/mL (NCCLS, 2000). Os valores para a cefotaxima foram, para amostras

provenientes do líquido: suscetível quando menor ou igual a 0,5µg/mL, resistência intermediária quando igual a 1,0µg/mL e resistência plena, quando maior ou igual a 2,0µg/mL; para amostras de pacientes sem meningite, os valores foram: suscetível quando menor ou igual a 1,0µg/mL, resistência intermediária com 2,0µg/mL e resistência plena, quando maior ou igual a 4,0µg/mL (NCCLS, 2002). O método de difusão de disco foi utilizado para determinar a suscetibilidade de outros três antibióticos: tetraciclina, ofloxacina e clindamicina (NCCLS, 1997a, BRANDILEONE, 1999).

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a comparação de proporções da taxa de morte e do padrão de suscetibilidade antimicrobiana nas diferentes faixas de idade, foi empregada a prova do qui-quadrado ( $\chi^2$ ), por meio do programa “SPSS (Statistical Package for Social Analysis) 8.0 for Windows”. Foram empregados testes de normalidade e homogeneidade das amostras, sempre que necessário. O nível para a rejeição da hipótese de nulidade foi fixado em 5% ( $p < 0,05$ ).

## IV – RESULTADOS

No período de quatro anos, de abril de 1999 a março de 2003, foram encaminhadas 150 amostras para o laboratório do IAL. Destas, duas não foram confirmadas como pneumococo. Das 148 restantes, 84 (56,8%) foram recuperadas de pacientes do sexo masculino e 64 (43,2%) em pacientes do sexo feminino. A idade variou de um dia a 88,8 anos, com média de  $21,3 \pm 25,8$  anos e mediana de 4,4 anos, com intervalo interquartil 25-75 de 1,2 a 31,9 anos. A distribuição das amostras de pneumococo por idade encontra-se na **Tabela 1**.

A frequência anual das cepas isoladas de 1999 a 2003 foi de 22, 53, 29, 39 e 5, respectivamente, e a distribuição nos diferentes meses do ano está descrita na **Figura 1**.

Os diagnósticos clínicos mais comumente encontrados foram: pneumonia [91 casos (61,5%), sendo 49 (53,8% das pneumonias) com derrame pleural], meningite [32 casos (21,6%)] e bacteremia sem foco evidente [15 casos (10,1%)], conforme exposto na **Figura 2**. Os outros diagnósticos foram abscesso de partes moles (três), peritonite (três), artrite e empiema (um caso cada), perfazendo 5,4% do total. Em duas situações (1,4%), o diagnóstico não foi obtido. O número de casos atendidos e/ou internados com pneumonia no HCUFU, no período de abril de 1999 a março de 2003, foi de 7.043 (33 casos no código J12.9, 26 no J13, 111 no J15.9 e 6.873 no código J18). O número de crianças com idade até 14 anos, admitidas com diagnóstico de meningite bacteriana, no mesmo período, foi de 82 (23 por pneumococo, 10 por Hib, nove por meningococo e 37 sem etiologia detectada).

As fontes de isolamento mais frequentes foram: sangue [76 amostras (51,3%)], líquido pleural [39 amostras (26,4%)], líquido [30 amostras (20,3%)], secreção de abscesso (duas) e líquido peritoneal (uma amostra), conforme exposto na **Figura 3**.

Dentre os 91 casos admitidos com pneumonia, a média da idade foi de 19 anos (228,3 meses) e as fontes de recuperação do pneumococo foram o sangue exclusivamente em 53 pacientes e o líquido pleural exclusivamente em 34. Em quatro pacientes houve isolamento simultâneo em ambas as fontes e foram enviadas ao IAL as amostras provenientes do líquido pleural. Portanto, entre as amostras isoladas no HCUFU, a taxa de positividade da hemocultura foi de 62,6% (57 de 91 casos de pneumonia).

A média da idade dos 32 pacientes com meningite foi de 15,7 anos (188,1 meses) e as fontes de recuperação da bactéria foram o líquido exclusivamente em 23 pacientes e o sangue exclusivamente em um; em sete das oito ocasiões em que o isolamento foi simultâneo, a amostra enviada ao IAL foi a proveniente do líquido e em apenas uma, a do sangue. Portanto, entre as amostras isoladas no HCUFU, a taxa de positividade da hemocultura foi de 28,1% (nove de 32 casos de meningite).

A duração mínima de internação foi de um dia e a máxima de 96 dias. Os valores de média, mediana e moda de duração de internação foram de 13,1 dias, 11 dias e um dia, respectivamente.

Trinta e dois pacientes morreram (22,3% dos 143 que continham dados referidos), sendo 18 (56,2% dos óbitos) nas primeiras 48 horas de admissão (Tabela 2). Dentre eles, 63,6% eram do sexo masculino e 33,4%, do feminino, e as taxas de morte foram de 25% (21 de 84 indivíduos para os quais havia referência da evolução) e 20% (12 de 60 indivíduos para os quais havia referência da evolução), respectivamente. Dos pacientes que faleceram, 53,1% estavam na faixa de idade de 12 a 64 anos, 28,1% na de 65 anos ou mais e 18,8%, na faixa de até doze anos; as respectivas taxas de morte por faixa de idade foram de 34,6% (17 em 49), 75% (nove em 12) e 7,3% (seis em 82), diferenças estatisticamente significantes ( $p < 0,001$ ) (Tabela 3).

Um total de 23 diferentes sorotipos (10 deles contidos em cinco sorogrupos) foram identificados entre 143 amostras (cinco foram “não tipáveis”), sendo os mais comuns o 14, 1, 3, 5, 6A, 6B, 18C, 9V, 10A, 19F, 7F e 9N, conforme exposto na **Tabela 4**. Entre os pacientes que morreram, os sorotipos mais comumente encontrados foram o 9V e 6B (quatro cepas cada), 3 e 14 (três cepas cada), 6A, 8, 18A 18C e 23F (duas cepas cada) (**Tabela 2**). Os sete sorotipos mais prevalentes nos casos de pneumonia foram, em ordem decrescente, o 14, 1, 3, 5, 6B, 18C e 9V, e os seis mais prevalentes entre os pacientes com meningite foram, também em ordem decrescente, o 14, 6A, 19F, 7F, 10A e 34. Entretanto, não foi possível correlacionar o sorotipo e a evolução para a morte e nem o sorotipo e a forma clínica, pela limitada dimensão da amostra.

Seis cepas foram oriundas de três pacientes, internados em ocasiões diferentes. Em apenas um destes pacientes houve reinfecção pelo mesmo sorotipo. Tratava-se de uma criança admitida em junho de 2000, com diagnóstico de meningite, causada por cepa de pneumococo do sorotipo 14, com CIM de 0,125 $\mu$ g/mL. Recebeu alta após tratamento bem sucedido com ceftriaxona por 13 dias, sendo reinternada depois de 20 dias com diagnóstico de pneumonia e derrame pleural, causada por cepa do mesmo sorotipo, agora com CIM de 0,25 $\mu$ g/mL. Nesta ocasião foi tratada com ampicilina e recebeu alta, curada, 16 dias após.

Das 148 cepas testadas no IAL, 30 (20,3%) foram oxacilino-resistentes e, portanto, foram avaliadas quanto à CIM para a penicilina pela técnica de microdiluição em caldo. Destas, 23 (15,5%) confirmaram resistência à penicilina, sendo 19 (12,8%) com nível intermediário e quatro (2,7%) com nível pleno de resistência (**Tabela 5**). As taxas de resistência para cada sorotipo foram de 45,7% para o sorotipo 14 (16 de 35 cepas), 75% para o sorotipo 23F (três de quatro), 50% para o 19A (duas de quatro), 25% para o 6B (duas de oito) e nenhuma resistência encontrada em cepas de outros sorotipos (**Tabelas 4 e 5**). Das 23 cepas resistentes à penicilina, 16 (69,5%) foram obtidas de pacientes com

pneumonia (17,6% dos 91 casos), quatro (17,4%) de pacientes com bacteremia sem foco evidente (26,5% dos 15 casos), e três (13,1%) de pacientes com meningite (9,4% dos 32 casos) (**Tabela 5**). Não houve relação estatisticamente significativa entre evolução clínica (sobrevida ou óbito) e resistência *in vitro* à penicilina. Das 23 cepas com resistência *in vitro* à penicilina, 16 delas (69,5%) foram obtidas de pacientes com idade até 24 meses e esta taxa, quando comparada com a resistência em indivíduos acima desta idade, foi significativamente maior ( $p=0,008$ ) (**Tabela 6**).

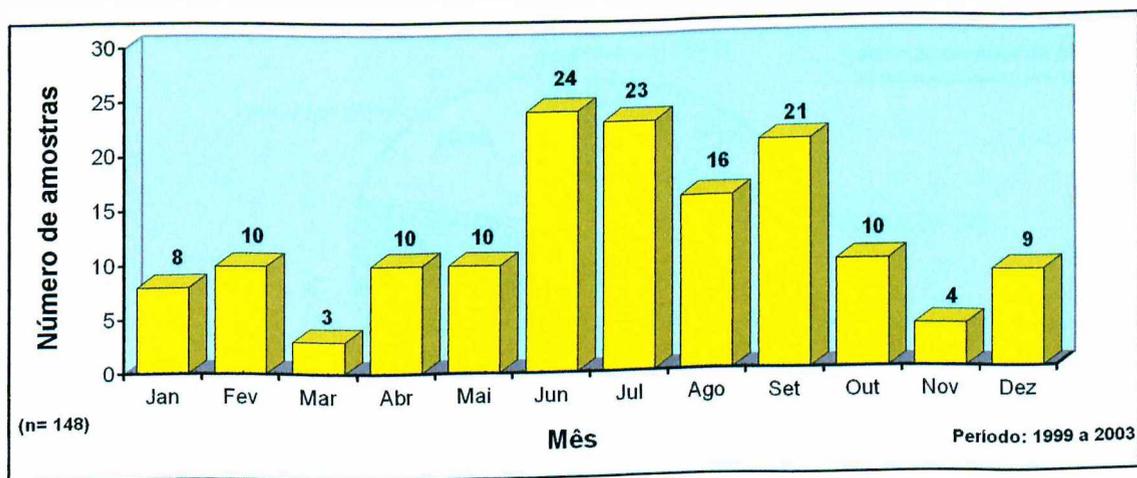
No Laboratório de Análises Clínicas do HCUFU, 81 cepas tiveram a CIM para penicilina determinada pelo método do E teste, independentemente do resultado do halo de inibição pelo disco de oxacilina. Comparando-se estes resultados com os valores de CIM obtidos no IAL, pelo método da microdiluição em caldo (considerado como exame de referência), foi possível calcular a sensibilidade e a especificidade do E teste em 70% e 91,8%, respectivamente. Houve 70 pares concordantes, o que determinou uma acurácia do E teste de 86,4% (**Tabela 7**).

A resistência plena e intermediária ao cotrimoxazol foi detectada, respectivamente, em 56,5% (82 cepas) e em 6,9% (10 cepas), dentre 145 testadas. Com exceção de duas cepas, aquelas com resistência à penicilina foram simultaneamente resistentes ao cotrimoxazol (21 em 23). A resistência à tetraciclina foi detectada em 21 dentre 139 cepas testadas (15,1%) e a resistência à eritromicina foi observada nas mesmas 12 cepas resistentes à clindamicina, com taxas de 8,3% (12 de 144 testadas) e 8,7% (12 de 138 testadas), respectivamente. A taxa de resistência à ofloxacina foi de 0,8% (uma dentre 123 cepas) e não foi observada resistência ao cloranfenicol (144 cepas testadas), rifampicina (108 cepas testadas) e vancomicina. A resistência à cefotaxima foi detectada em três das 30 cepas testadas (2% das 148), todas elas com resistência confirmada à penicilina.

**Tabela 1.** Distribuição das amostras de *Streptococcus pneumoniae* segundo a faixa etária dos pacientes

Faixa etária <sup>1</sup>	Número de amostras
Até 28 dias	4
29 dias a 24 meses	50
25 a 60 meses	23
61 a 119 meses	8
120 a 720 meses	43
60 anos ou mais	20
<b>Total</b>	<b>148</b>

<sup>1</sup> - Variação de um dia a 88,8 anos, com média de  $21,3 \pm 25,8$  anos e mediana de 4,4 anos.



**Figura 1.** Distribuição das amostras de *Streptococcus pneumoniae* segundo o mês de isolamento

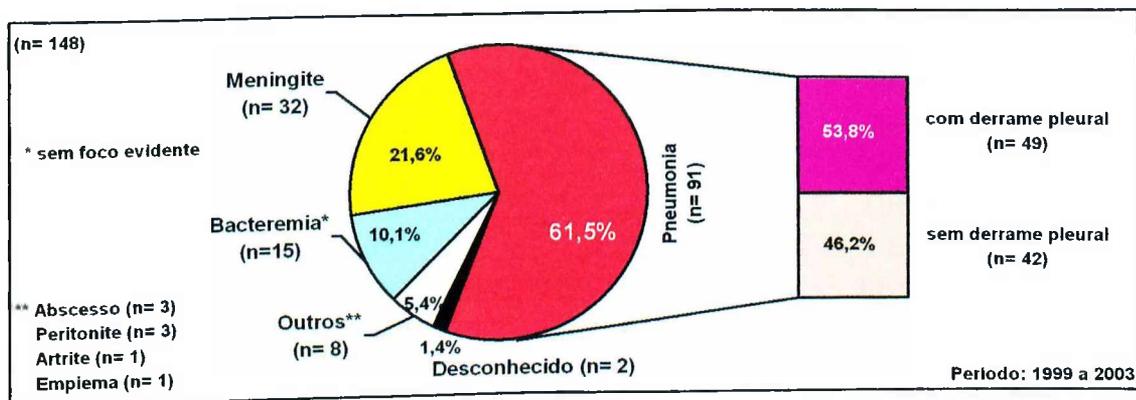


Figura 2. Distribuição dos diagnósticos clínicos dos pacientes, segundo amostras de *Streptococcus pneumoniae*

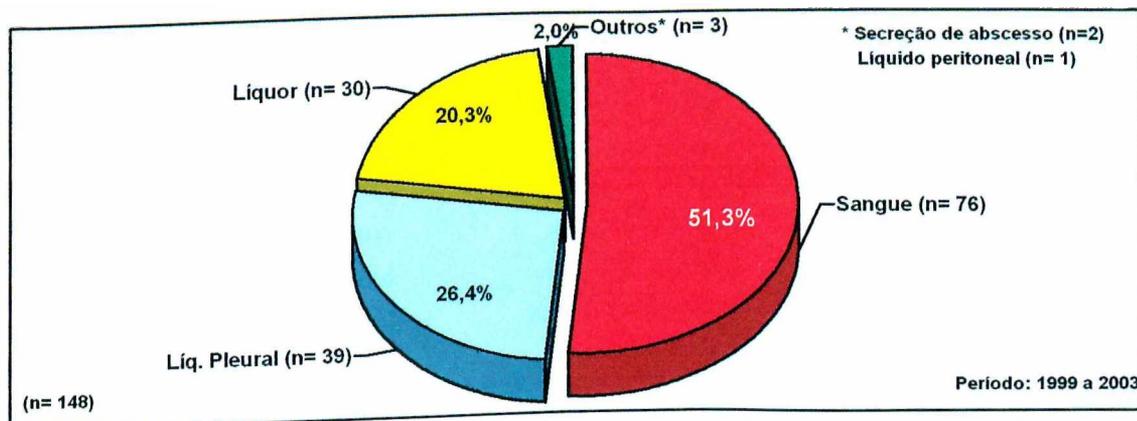


Figura 3. Distribuição das fontes de recuperação das amostras de *Streptococcus pneumoniae*

Tabela 2. Distribuição dos pacientes que morreram, segundo data de admissão, sorotipo, idade, diagnóstico clínico, concentração inibitória mínima (CIM) da penicilina para cepas de *Streptococcus pneumoniae*, tratamento antimicrobiano instituído e duração de internação

Data isolamento	Sorotipo	Idade (meses)	Diagnóstico clínico <sup>1</sup>	CIM ( $\mu\text{g/mL}$ ) <sup>2</sup>	Tratamento antibiótico <sup>3</sup>	Duração internação <sup>4</sup>
30/06/99	6B	6	M	NR <sup>6</sup>	CEFE	1
07/06/00	9V	553	P	NR	PENI	1
13/06/00	5	606	P	NR	PENI	1
16/07/00	3	1041	P	NR	LEVO <sup>5</sup>	1
22/07/00	19F	772	P	NR	CEFT	17
18/07/00	6A	1032	P	NR	CEFT	10
04/09/00	NT	824	PER	NR	LEVO <sup>5</sup>	2
07/09/00	3	1	M	NR	CEFT	1
13/09/00	23F	716	B	0,5	CEFT	1
17/09/00	6B	860	P	NR	CEFT	1
25/09/00	3	852	B	NR	SEM	2
01/03/01	14	19	M	NR	AMPI	13
21/02/01	17F	322	P	NR	CEFE	47
12/04/01	10A	780	M	NR	CEFT	9
04/04/01	9V	744	P	NR	LEVO <sup>5</sup> + VC	16
17/06/01	18A	708	P	NR	CEFZ <sup>5</sup>	19
17/06/01	18A	782	M	NR	CEFT	1
31/07/01	9V	502	P	NR	CEFT	1
02/10/01	9N	780	B	NR	CEFT	1
18/01/02	23F	504	B	0,25	SEM	1
13/06/02	14	15	M	NR	CEFT	4
20/06/02	18C	463	P	NR	CEFT	8
22/06/02	22F	401	P	NR	SMT <sup>5</sup>	2
02/07/02	14	734	P	NR	CEFT	23
27/07/02	9V	1066	NO <sup>7</sup>	0,125	NO <sup>7</sup>	2
22/07/02	8	767	P	NR	SEM	1
31/07/02	6B	286	P	NR	LEVO+CEFT	1
17/08/02	6A	19	M	NR	CEFT	5
13/08/02	15B	717	B	NR	CEFT	56
18/10/02	6B	383	P	NR	CEFE	8
01/12/02	8	1	B	NR	AMPI	1
06/01/03	18C	535	P	NR	CEFT	13

1- M: meningite; P: pneumonia; PER: peritonite; B: bacteremia.

2- CIM determinada pelo método de microdiluição em caldo.

3- CEFE: cefepima; PENI: penicilina; LEVO: levofloxacina; CEFT: ceftriaxona; CEFZ: cefazolina;

AMPI: ampicilina; VC: vancomicina; SMT: cotrimoxazol; SEM: sem tratamento.

4- Duração da internação em dias.

5- Drogas consideradas ativas in vitro.

6- NR: não realizada. Cepas oxacilino-sensíveis.

7- NO: não obtido.

**Tabela 3** Relação entre evolução para o óbito e faixas de idade dentre os pacientes nos quais se isolou pneumococo

Óbito	Idade			Total
	<12 anos	12 a 64 anos	≥ 65 anos	
Sim	6	17	9	54
Não	76	32	3	94
<b>Total</b>	<b>82</b>	<b>49</b>	<b>12</b>	<b>148</b>

$\chi^2$  de Pearson, com correção de Yates, para 2 graus de liberdade = 34,08 ( $p < 0,001$ )

**Tabela 4** Distribuição dos sorotipos de *Streptococcus pneumoniae*, de acordo com as diferentes faixas etárias dos pacientes dos quais foram isoladas as amostras

Sorotipo	Até 60 meses de idade	De 61 a 720 meses	Acima de 720 meses	Número de isolamentos	Frequência relativa (%)
14	33	1	1	35	23,65
1	6	4	0	10	6,75
3	3	3	4	10	6,75
5	7	3	0	10	6,75
6A	5	2	1	8	5,41
6B	5	2	1	8	5,41
18C	4	4	0	8	5,41
9V	1	3	2	6	4,05
10A	1	2	3	6	4,05
19F	3	2	1	6	4,05
7F	0	5	0	5	3,38
9N	2	2	1	5	3,38
4	1	2	1	4	2,70
19A	3	1	0	4	2,70
23F	2	2	0	4	2,70
8	1	1	1	3	2,03
18A	0	2	1	3	2,03
15B	0	2	0	2	1,35
34	0	1	1	2	1,35
7C	0	1	0	1	0,68
11A	0	1	0	1	0,68
12F	0	1	0	1	0,68
22F	0	1	0	1	0,68
NT <sup>1</sup>	0	3	2	5	3,38
<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>51</b>	<b>20</b>	<b>148</b>	<b>100,0</b>

<sup>1</sup>-NT: não tipável.

**Tabela 5.** Distribuição dos pacientes dos quais foram isoladas cepas de *Streptococcus pneumoniae* resistentes *in vitro* à penicilina (concentração inibitória mínima [CIM] maior que 0,06µg/mL, determinada pelo método de microdiluição em caldo), segundo a data de isolamento, o sorotipo, a idade, a forma clínica, a concentração inibitória mínima, o tratamento antimicrobiano instituído e a evolução clínica

Data de isolamento	Sorotipo	Idade (meses)	Diagnóstico clínico <sup>1</sup>	CIM (µg/mL)	Tratamento antibiótico <sup>2</sup>	Evolução clínica <sup>3</sup>
11/04/99	14	20	M	0,5	CEFT	S
10/10/99	14	16	P	0,25	AMPI	S
24/05/00	14	1	P	0,125	NR <sup>4</sup>	NR <sup>4</sup>
07/06/00	14	10	M	0,125	CEFT	S
15/06/00	14	11	P	0,25	AMPI	S
10/07/00	14	11	P + DP	0,25	AMPI	S
13/09/00	23F	716	B	0,5	CEFT	O
23/09/00	14	13	P + DP	0,5	PENI	S
31/12/00	14	16	P + DP	2,0	PENI	S
14/04/01	14	8	B	0,25	CEFT	S
01/06/01	19A	20	B	0,125	AMPI	S
27/10/01	23F	13	P	0,125	CEFT	S
14/12/01	14	41	P	2,0	CEFT	S
18/01/02	23F	504	B	0,25	SEM <sup>5</sup>	O
24/02/02	14	14	M	4,0	CEFT + VC	S
29/05/02	19A	236	P + DP	0,125	CEFT	S
02/07/02	14	734	P	0,125	CEFT	O
25/07/02	6B	8	P	0,125	AMPI	S
23/08/02	14	51	P + DP	1,0	CEFT	S
03/09/02	14	14	P + DP	2,0	AMPI	S
18/10/02	6B	383	P	0,25	CEFE	O
15/12/02	14	22	P + DP	0,25	CEFT	S
01/02/03	14	8	P	0,25	AMPI	S

1- M: meningite; P: pneumonia; DP: derrame pleural; B: bacteremia.

2- PENI: penicilina; AMPI: ampicilina; CEFT: ceftriaxona; CEFE: cefepima; VC: vancomicina.

3- S: sobrevivida; O: óbito.

4- NR: não registrado.

5- SEM. Paciente faleceu antes da instituição do tratamento antimicrobiano.

Tabela 6. Distribuição dos pacientes segundo a idade em meses e a suscetibilidade *in vitro* das cepas de *Streptococcus pneumoniae* à penicilina

Idade em meses	Suscetibilidade a penicilina		Total
	Suscetível <sup>1</sup>	Resistente <sup>2</sup>	
Até 24	38	16	54
Mais de 24	87	7	94
<b>Total</b>	<b>125</b>	<b>23</b>	<b>148</b>

$\chi^2$  de Pearson, com correção de Yates, para 1 grau de liberdade = 11.224 ( $p = 0,0008$ ).

1- Suscetibilidade presumida pelo teste com disco de oxacilina (1 $\mu$ g): halo  $\geq 20$ mm.

2- Resistência confirmada pelo teste de microdiluição em caldo: concentração inibitória mínima  $> 0,06\mu\text{g/mL}$ .

Tabela 7. Relação entre os resultados de suscetibilidade das cepas de *Streptococcus pneumoniae* à penicilina com base nas concentrações inibitórias mínimas (CIMs) determinadas pelo E teste e pela microdiluição em caldo

Método	Microdiluição (R) <sup>1</sup>	Microdiluição (S) <sup>2</sup>	Total
E teste (R) <sup>1</sup>	14	5	19
E teste (S) <sup>2</sup>	6	56	62
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>61</b>	<b>81</b>

1- R= resistente (CIM para a penicilina  $> 0,06\mu\text{g/mL}$ ).

2- S= sensível (CIM para a penicilina  $\leq 0,06\mu\text{g/mL}$ ).

Sensibilidade de 70 %, especificidade de 91,8%.

Valor preditivo positivo de 73,6%; valor preditivo negativo de 90,3%.

Acuidade de 86,4% e prevalência de 24,6%.

## V – DISCUSSÃO

A doença pneumocócica tem uma preferência consistente pelo sexo masculino, que permanece inexplicada (SCOTT *et al.*, 1996; PETER e KLEIN, 1997; Di FABIO *et al.*, 2001). Neste estudo foi encontrada uma relação de sexo masculino:feminino de 1,3:1, semelhante à encontrada por outros autores. Scott *et al.* (1996) encontraram uma relação de sexo masculino:feminino de 1,8:1 e não detectaram variação nesta relação entre diferentes sorotipos. Di Fabio *et al.* (2001) analisando 4.105 isolados em crianças com até seis anos de idade, em seis países da América Latina, encontraram uma relação de sexo masculino:feminino de 1,45:1, com predominância semelhante do sexo masculino em todos os países.

A distribuição das amostras de pneumococo por faixas de idade foi definida de acordo com as diferentes taxas de ocorrência e de morbi-mortalidade da doença pneumocócica invasiva, dependentes da idade, registradas na literatura (GRAY, CONVERSE III e DILLON Jr., 1980; GRAY e DILLON Jr., 1986; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999; Di FABIO *et al.*, 2001) e a distribuição neste estudo, confirma a predileção da doença pneumocócica pelos extremos de idade: 36,5% dos pacientes tinham menos de dois anos, 52% menos de cinco anos e 13,5%, mais de 60 anos de idade. Além disso, o intervalo interquartil 25-75 de 1,1 a 31,9 anos demonstra o acúmulo de casos entre os mais jovens. Scott *et al.* (1996) encontraram mais da metade dos isolamentos em pacientes nos extremos de idade: 34% com idade menor que cinco anos e 20% com idade maior ou igual a 65 anos. Brandileone (1999), ao avaliar 2.050 cepas, encontrou 62,5% provenientes de crianças com menos de seis anos de idade e apenas 3,4% de pacientes com 60 anos ou mais.

Ao se considerar apenas a faixa etária pediátrica, encontra-se, invariavelmente, uma predominância em crianças com menos de dois anos de idade. Nos EUA, Kaplan *et al.* (2002), num levantamento de alcance nacional, durante o período de seis anos, de 1993 a 1999, detectaram 64% das cepas (1.654 de 2.581) em crianças com idade menor ou igual a dois anos. Na América Latina, em crianças com idade até seis anos, Di Fabio *et al.* (2001) encontraram 78,8% das 4.105 cepas em menores de dois anos e, no Brasil, Brandileone *et al.* (2003) detectaram 46% das 4.858 cepas em crianças com idade igual ou inferior a dois anos.

Neste estudo, dentre os 77 pacientes com menos de seis anos, 64,9% tinham menos de dois anos e, dentre os 63 pacientes com mais de 10 anos, 31,7% tinham mais de 60 anos, o que corrobora o conceito da maior suscetibilidade às infecções pneumocócicas invasivas dentre os indivíduos menores de dois anos e maiores de 60 anos de idade (CDC, 1997; BRANDILEONE *et al.*, 2003).

A predominância dos isolamentos de pneumococo nos meses de junho a setembro, correspondendo às estações de inverno e início da primavera, observada neste estudo, acompanha a distribuição sazonal das infecções virais do trato respiratório e já foi relatada por outros autores (PETER e KLEIN, 1997; BRANDILEONE, 1999). Brandileone (1999) encontrou, em nosso meio, predominância dos isolamentos nos meses de temperatura mais baixa, de maio a outubro. A diminuição da temperatura ambiental e a maior prevalência de infecções virais do trato respiratório propiciam a maior ocorrência de infecção pneumocócica nesta época do ano (SHANN, 1995; YAGUPSKY *et al.*, 1998; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999).

A pneumonia foi o diagnóstico clínico mais comumente observado neste estudo, totalizando quase dois terços dos casos; o terço restante correspondeu à meningite, seguida da bacteremia sem foco evidente e de outras doenças, menos comuns. O sangue

representou a principal fonte de recuperação do agente (51,7%), seguido pelo líquido pleural (26,1%) e líquido (20,1%), diferindo de outros relatos nacionais (BRANDILEONE *et al.*, 1998; BRANDILEONE, 1999) e latino-americanos (KERTESZ *et al.*, 1998; Di FABIO *et al.*, 2001).

A proporção relativa de cada fonte de isolamento e diagnóstico clínico varia entre os diversos estudos, como fica claramente demonstrado por Hausdorff *et al.* (2000). A maioria dos isolados de doença invasiva em crianças jovens nos EUA e Canadá é devida a bacteremia sem foco infeccioso evidente (CDC, 2000; HAUSDORFF *et al.*, 2000), enquanto em outros países e continentes esta condição constitui menor proporção (HAUSDORFF *et al.*, 2000). Em nosso meio, Brandileone (1999) descreve uma predominância de isolados do líquido (66,8%) sobre as demais fontes (22,0% do sangue e 10,6% do líquido pleural) e um predomínio dos casos de meningite (69,2%), sobre os de pneumonia (22,1%) e bacteremia (0,6%). Comparando com dados do Projeto SIREVA referentes a países vizinhos, a proporção de isolados associados à meningite é maior no Brasil que em qualquer outro país e com relação à bacteremia sem foco infeccioso evidente, a incidência variou de 0,7% no Brasil a 23,5% no México (Di FABIO *et al.*, 2001). A predominância do líquido como fonte de isolamento e da meningite, como diagnóstico clínico, em nosso meio, poderia ser explicada, pelo menos em parte, pelo fato da realização de hemocultura nos casos de febre sem foco infeccioso evidente (HAUSDORFF *et al.*, 2000) e pneumonia (BRANDILEONE, 1999) ser mais difundida em outros países. A influência da idade no tipo de doença invasiva em crianças é demonstrada no levantamento de alcance nacional, realizado de 1993 a 1999, nos EUA (KAPLAN *et al.*, 2002). A proporção de casos de bacteremia sem foco e de meningite diminuiu e a de pneumonia aumentou significativamente, com a idade acima de dois anos.

Das 77 hemoculturas positivas obtidas neste estudo, 53 (68,8%) foram provenientes de pacientes com pneumonia (58,2% dos 91 casos), 16 (20,8%) de pacientes com bacteremia sem foco evidente (100% dos casos), dois (2,6%) de pacientes com meningite (6,3% dos casos) e seis (7,8%), de pacientes com outros diagnósticos. Foi analisada apenas uma cepa por paciente, por internação, no IAL; contudo, em algumas ocasiões foi recuperada mais de uma amostra por paciente, no laboratório do HCUFU. Considerando todas as cepas recuperadas, a cifra de positividade da hemocultura para a pneumonia sobe para 62,6% (57 de 91 casos) e da meningite, para 28,1% (nove de 32 casos). Estas cifras somente teriam importância clínica e epidemiológica se confrontadas com o número de casos de pneumonia ou de meningite, atendidos no mesmo período de tempo.

Este estudo, por tratar-se de vigilância laboratorial, não teve como objetivo avaliar, dentre os indivíduos internados com pneumonia, aqueles com etiologia pneumocócica, detectada por hemocultura ou cultura do líquido pleural. Entretanto, algumas cifras podem ser inferidas. De acordo com o Setor de Nosologia do HCUFU, foram atendidos 7.043 indivíduos com pneumonia (nos códigos considerados), de abril de 1999 a março de 2003. Admitindo-se que o pneumococo é o agente etiológico de cerca de 10% a 55% das pneumonias comunitárias hospitalizadas (HEFFELFINGER *et al.*, 2000), com valor médio de 27% (SHANN, 1986), e que a hemocultura o identifica em 10% a 35% dos pacientes internados (PETER, 1988; SHANN, 1990; PETER e KLEIN, 1997), é possível estimar um número aproximado de 70 a 1.355 pacientes admitidos com pneumonia pneumocócica, no período de estudo. O número de 91 casos identificados nesta casuística situa-se próximo ao limite inferior. O impacto do uso abusivo de antimicrobianos em infecções do trato respiratório, já detectado nesta (MANTESE *et al.*, 2002) e em outras comunidades (BRICKS e SIH, 1999) pode ser um dos motivos para o aumento de resultados de cultura falso-negativos. Por outro lado, as amostras de pneumococo incluídas neste estudo, foram

provenientes de pacientes atendidos em ambiente hospitalar e manuseados em regime de internação, o que constitui um indício de formas mais graves de doença. Apenas três indivíduos foram imediatamente dispensados para tratamento ambulatorial, após receberem o diagnóstico (de pneumonia). Com exceção dos quatro episódios ocorridos em recém-nascidos (um com pneumonia, dois com meningite e um com sepse), todas as outras infecções foram de origem comunitária.

Com relação aos pacientes admitidos com meningite bacteriana os números são mais precisos, em decorrência de um estudo prospectivo em curso no HCUFU (MANTESE *et al.*, 2002). Durante o período de 1987 a 2001, o agente etiológico foi detectado em 315 (75,9%) dos 415 pacientes com idade até 14 anos, admitidos com meningite bacteriana: o Hib em 171 ocasiões (41,2%), o meningococo em 65 (15,7%) e o pneumococo em outras 57 (13,7%). Na continuação desse estudo, de abril de 1999 a março de 2003, foram admitidas 82 crianças com idade até 14 anos, com diagnóstico de meningite bacteriana, nas quais a etiologia foi detectada em 45 (54,9%): pneumocócica (por cultura do líquido e/ou do sangue) em 23 (28,05%), por Hib em 10 (12,2%), meningocócica em nove (10,9%) e por outros agentes em três (dados ainda não publicados). Vinte das 23 cepas de pneumococo foram enviadas ao IAL. Portanto, houve uma mudança na proporção e no número absoluto de casos de meningite por Hib (média de 12 casos ao ano, de 1987 a 2001 e de três, de 1999 a 2002) e por pneumococo (média de quatro casos ao ano no primeiro período e de sete, no segundo). A vacinação anti-hemófilos, disponível em Uberlândia para utilização universal desde o final de 1999, deve constituir um dos principais motivos desta mudança, considerando o impacto da vacinação em massa na taxa de ocorrência da doença invasiva pelo Hib (BRICKS, 1998; CDC, 1998; LANDAVERDE *et al.*, 1999; RUOCCO *et al.*, 1999; WARD e ZANGWILL, 1999; AAP, 2000c; TAKEMURA e ANDRADE, 2001).

A média e a mediana de idade dos pacientes com pneumonia foram de 19 anos e 3,9 anos e daqueles com meningite, de 15,7 e 2,8 anos, respectivamente. Estes valores estão próximos dos relatados por Brandileone *et al.* (2003) para os casos com meningite, de 14 e cinco anos, mas superiores aos dos casos com pneumonia, de oito e dois anos, respectivamente. Entretanto, ao considerar apenas as crianças menores de cinco anos, o valor da mediana de idade para os pacientes com meningite, de três a oito meses (para cada um dos sorotipos analisados) e para aqueles com pneumonia, de 12 a 27 meses (para cada um dos sorotipos analisados) (BRANDILEONE *et al.*, 2003), aproxima-se do obtido aqui neste estudo, que foi de 7,5 meses para a meningite e de 12 meses, para a pneumonia.

As taxas de mortalidade da infecção pneumocócica são extremamente variáveis, de 6% a 60% para formas bacterêmicas, de 20% em adultos jovens e acima de 50%, em idosos (WATSON, MUSER e VERHOEF, 1995). A taxa de morte da pneumonia verificada neste estudo, de 18,7%, coincide com as referidas para as formas bacterêmicas da doença (AUSTRIAN, 1963; SHANN, 1990; VOSS *et al.*, 1994) apesar de estar acima dos valores de 5% a 7%, para os pacientes tratados, independentemente da idade e presença de bacteremia (WATSON, MUSER e VERHOEF, 1995) ou dos 10% para crianças com menos de cinco anos, hospitalizadas com pneumonia (GILLESPIE, 1989). Para a meningite, a taxa obtida de 21,9% coincide com as descritas na literatura (MORAES e GUEDES, 1990; KORNELISSE *et al.*, 1995; ARDITI *et al.*, 1998; BEREZIN *et al.*, 2002; MANTESE *et al.*, 2002). Surpreendente foi a taxa de morte para a bacteremia sem foco evidente; entretanto, a idade dos pacientes (um recém-nascido com duas horas de vida e outros cinco indivíduos, com idade de 59,6 a 89,7 anos), a forma clínica (choque séptico em cinco dos seis pacientes) e a condição clínica associada (prematuridade, baixo peso e amniorrexe prematura no recém-nascido, cirrose hepática em dois pacientes, neoplasia

pulmonar em um e hipertensão arterial prolongada, em outro) parecem justificar, pelo menos em parte, a cifra de 40%.

A despeito da identificação de 23 diferentes sorotipos de pneumococo neste estudo, os 10 mais comuns foram responsáveis por 72,3% dos isolamentos. São eles, o sorotipo 14, 1, 3, 5, 6A, 6B, 18C, 9V, 10A e 19F. Quando considerados apenas os pacientes menores de cinco anos de idade, os sete sorotipos mais comumente isolados foram o 14, 1, 3, 5, 6A, 6B e 18C, semelhança justificada pelo fato deste grupo etário constituir 52% do total dos pacientes.

A distribuição dos sorotipos mais comuns de pneumococo varia de acordo com a região geográfica, o tempo, a faixa etária e, de modo menos contundente, com a forma clínica. Em uma revisão de 72 estudos de prevalência de sorotipos de cepas invasivas de pneumococos, provenientes de diversas regiões do mundo, no período de 1975 a 1998, Hausdorff *et al.* (2000) separaram os indivíduos no grupo etário de crianças jovens, com idade predominante até cinco anos e no de crianças maiores e adultos, e em seis grandes regiões geográficas: EUA e Canadá, Ásia, África, Europa, América Latina e Oceania. No grupo de crianças jovens, os sorogrupos 6 e 14 foram o primeiro ou o segundo mais comumente isolados em cada região, exceto na Ásia (onde foram o terceiro e o quinto, respectivamente), e o sorogrupo 19 esteve entre os quatro mais comuns em todas as regiões (exceto na América Latina, onde foi o quinto). No grupo de crianças maiores e adultos, nenhum sorogrupo foi uniformemente comum em cada região; o sorotipo 14, apesar de figurar entre os três mais comuns em cada região, foi apenas o sétimo mais comum na Ásia.

Scott *et al.* (1996) também avaliaram a interferência da geografia na distribuição de sorotipos, ao analisar 7.010 cepas invasivas de pneumococo, incluídas em levantamentos provenientes de diferentes regiões do mundo, no período de 1940 a 1993. O risco relativo

de doença pelos sorotipos 1 e 5 foi extremamente baixo na América do Norte e relativamente muito maior no Brasil e Uruguai. O inverso ocorreu com os sorogrupos 19 e 23, proporcionalmente menos comuns no Brasil e Uruguai que nas outras regiões (SCOTT *et al.*, 1996). Houve também variação na distribuição dos sorotipos com relação à faixa etária, pois o sorotipo 1 associou-se a um progressivo declínio no risco relativo de doença durante a idade adulta, o sorotipo 3 aumentou seu risco progressivamente até a sétima década de vida e o sorotipo 8 teve também uma nítida preferência por adultos (SCOTT *et al.*, 1996). Os sorogrupos 6, 14 e 19 estiveram associados com um risco muito maior na primeira década de vida, assim como os sorogrupos 18 e 23, mas em menor intensidade (SCOTT *et al.*, 1996). Kaplan *et al.* (2002) encontraram um predomínio dos sorotipos 1, 3 e do grupo 23 em crianças acima dos cinco anos e do sorotipo 14, naquelas com menos de cinco anos.

Brandileone *et al.* (1997), comparando isolados oriundos de três grandes cidades brasileiras (São Paulo, Belo Horizonte e Recife), encontraram uma diferença significativa na distribuição dos sorotipos 14, 9V, 24F e 18C entre elas, corroborando a variação regional na distribuição dos sorotipos pneumocócicos, também no território nacional.

Em estudo mais recente, Brandileone *et al.* (2003) detectaram 63 sorotipos distintos, dentre 4.858 cepas invasivas de pneumococo, obtidas de pacientes de todas as idades, provenientes de diversas regiões do Brasil, durante o período de 1977 a 2000. Para crianças até cinco anos, nove sorotipos foram os mais prevalentes: 14, 6B, 1, 5, 18C, 6A, 23F, 19F e 9V. O sorotipo 14 diminuiu sua freqüência na faixa etária de seis a 49 anos e os sorotipos 3 e 4 mostraram uma tendência a aumentar com a idade, sendo mais prevalentes na população adulta. Os sorotipos 1 e 5 situaram-se entre os principais sorotipos no Brasil, principalmente em crianças com pneumonia. O sorotipo 1 também foi predominante em pacientes entre seis e 49 anos, apesar de sua baixa freqüência no grupo de 50 anos ou mais.

Em outro trabalho, envolvendo pacientes com idade igual ou superior a 50 anos, provenientes de diversas regiões do país, no período de 1993 a 1997, os sete sorotipos mais comumente isolados em ordem decrescente de frequência foram 3, 14, 4, 6B, 19F, 9V, 5 e 8 (BRANDILEONE *et al.*, 1998).

Neste estudo, foi possível observar que a distribuição dos sorotipos mais prevalentes coincidiu, em linhas gerais, com a dos grandes levantamentos nacionais e latino-americanos, diferindo dos norte-americanos, principalmente devido à predominância em nosso meio dos sorotipos 1 e 5.

A variação temporal na distribuição dos sorotipos de pneumococo ficou bem demonstrada nos estudos realizados em Boston, nos EUA (FINLAND e BARNES, 1977). Durante o período de 1935 a 1974, houve um declínio na ocorrência dos sorotipos 1, 2 e 5 e, nos anos 80, dos sorogrupos 3 e 7; simultaneamente, houve um aumento da frequência daqueles associados primariamente com doenças pediátricas (sorogrupos 6, 18, 19 e 23).

A análise de 4.071 cepas invasivas de pneumococo, isoladas de crianças com idade de até seis anos, oriundas de seis países da América Latina, no período de fevereiro de 1993 a junho de 1999 (Projeto SIREVA) identificou, dentre 54 sorotipos distintos, como os mais prevalentes na região, em ordem decrescente, o 14, 6A/6B, 5, 1, 23F, 19F, 18C, 19A, 9V, 7F, 3, 4 e 9N (Di FABIO *et al.*, 2001). Apesar dos tipos capsulares prevalentes permanecerem os mesmos durante o período de vigilância, em quatro países houve variação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) para quatro dos oito sorotipos, em uma análise feita em dois momentos, em 1994 e em 1998. O sorotipo 14 aumentou no Brasil, de 18,7% para 29,3% e, na Colômbia, de 20,0% para 40,3%; o sorotipo 1 aumentou no Uruguai, de 11,1% para 27,9%, mas diminuiu no Brasil, de 13,2% para 8,65%; o sorotipo 19F aumentou no México de 4,1% para 8,9%; o sorotipo 18C aumentou no Brasil, de 4,9% para 9,0%, mas diminuiu na Colômbia, de 6,4% para 1,3% (Di FABIO *et al.*, 2001).

Não foi possível, neste estudo, demonstrar uma variação temporal na distribuição dos sorotipos de pneumococo em virtude da pequena dimensão da amostra analisada.

Dentre 70 cepas invasivas recuperadas de pacientes com idade até 20 anos, atendidos com pneumonia, em Salvador (BA), no período de 1977 a 2002, Nascimento-Carvalho *et al.* (2003) detectaram a predominância dos sorotipos 14, 5, 6A, 6B, 19F, 9V, 18C e 23F, em ordem decrescente de frequência. Foi ressaltada, nesse estudo, a raridade da ocorrência do sorotipo 1. Outro estudo, também realizado na cidade de Salvador, com 303 cepas de pneumococos isolados em pacientes de todas as idades, internados com meningite, entre dezembro de 1995 e novembro de 1999, detectou os sorotipos 14, 3, 6B, 19F, 6A, 23F e 18C como os mais prevalentes, ressaltando-se a baixa prevalência dos sorotipos 18C, 1 e 5 (REIS *et al.*, 2002). Recentemente, Berezin *et al.* (2002) ao analisarem crianças com meningite pneumocócica, admitidas em dois hospitais públicos na cidade de São Paulo (SP), num total de 55 episódios em 53 pacientes, encontraram como os mais frequentes os sorotipos 6B, 14, 23F, 19F, 6A, 4, 5, 1 e 19A. No estudo aqui realizado os sorotipos mais comumente recuperados de pacientes com pneumonia foram o 14, 1, 3, 5, 6B, 18C e 9V, e de pacientes com meningite, o 14, 6A, 19F, 7F, 10A e 34, ambos em ordem decrescente de frequência; contudo, não foi possível correlacionar o sorotipo com o diagnóstico nosológico, apesar da tendência de associação dos sorotipos 14 e 1 com pneumonia (BRANDILEONE, 1999; Di FABIO *et al.*, 2001; KAPLAN *et al.*, 2002) e do 18C com meningite (BRANDILEONE, 1999; Di FABIO *et al.*, 2001).

A vacina polissacarídica 23-valente oferece cobertura para 23 antígenos (CDC, 1997; FEDSON, MUSER e ESKOLA, 1999) e o produto conjugado 7-valente, para os sorotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, contidos nas vacinas (ESKOLA e ANTTILA, 1999; BLACK *et al.*, 2000b). Portanto, dos 23 diferentes sorotipos isolados nesta população, apenas os sorotipos 6A, 7C, 18A e 34 não estariam cobertos pela vacina

polissacarídica, conferindo uma cobertura de 82,6% dos sorotipos e de 90,2% das cepas isoladas. A cobertura da vacina conjugada heptavalente, em crianças com idade até cinco anos, seria de 46,7% dos sorotipos e de 63,6% das cepas e não incluiria, entre outros, o sorotipo 1, 3 e 5, comumente isolados; entretanto, estariam cobertos os sorotipos 6B, 14, 19F e 23F, entre os quais encontram-se as cepas resistentes à penicilina (conferindo cobertura de 75% dos sorotipos e 94,4% das cepas penicilino-resistentes, em crianças menores de cinco anos). Num estudo recentemente publicado, o impacto potencial da vacina conjugada 7-valente em crianças brasileiras com idade até cinco anos foi estimado em 58,2% (BRANDILEONE *et al.*, 2003), valor inferior aos 70% a 88% obtidos nos EUA (HAUSDORFF *et al.*, 2000; KAPLAN *et al.*, 2002), Canadá e países da Oceania, África e Europa (HAUSDORFF *et al.*, 2000). A inclusão dos sorotipos 1 e 5 num produto nonavalente elevaria a cobertura em crianças brasileiras para 73,2% (BRANDILEONE *et al.*, 2003) e, nesta população estudada, para 60% dos sorotipos e 80,5% das cepas.

A reinfecção pelo mesmo sorotipo é um evento raro (COCCIA *et al.*, 1998) e nesta amostra foi observada em apenas um paciente. Curiosamente, ocorreu em uma lactente jovem, admitida inicialmente com meningite e reinternada, 20 dias após, com pneumonia e derrame pleural. As doenças foram causadas por cepa do sorotipo 14, cuja CIM era inicialmente 0,125µg/mL e posteriormente, na reinternação, 0,25µg/mL. Foi tratada da meningite com ceftriaxona por 13 dias e da pneumonia com ampicilina por 16 dias, em ambas ocasiões com sucesso. A escolha dos antimicrobianos está de acordo com as atuais recomendações para o tratamento específico da doença invasiva por cepas moderadamente resistentes à penicilina, recuperadas de pacientes com pneumonia ou com meningite (HEFFELFINGER *et al.*, 2000).

A resistência à penicilina foi detectada em 15,5% das cepas testadas (12,8% com resistência intermediária e 2,7%, com plena) coincidindo com a taxa de 15,4% (14,5% com

resistência intermediária e 0,9%, plena) descrita por Brandileone (1999). Nesse estudo, 2.050 cepas de pneumococo foram testadas com o disco de oxacilina e 392 (19%) apresentaram sensibilidade diminuída à penicilina. Destas, 315 (15,4%) mostraram resistência quando submetidas à determinação da CIM da penicilina. Quando separadas por Estado de origem, as cifras de resistência variaram de 18,3% no Estado de São Paulo até zero, no Rio Grande do Sul; em Minas Gerais a taxa foi de 14,9% (12,8% RI e 2,1% RP) dentre 94 cepas analisadas (provenientes de Belo Horizonte). A ampliação desse estudo, incluindo amostras coletadas até 1999, mas restritas às crianças até seis anos de idade, encontrou uma taxa de resistência de 20,7% (Di FABIO *et al.*, 2001). Brandileone *et al.* (2003) relatam, em estudo mais recente, que não houve diferença significativa nas taxas globais de resistência à penicilina nos últimos anos no Brasil.

Hortal *et al.* (2001) avaliaram a incidência de resistência antimicrobiana em 4.105 cepas invasivas de pneumococo recuperadas em seis países latino-americanos (Projeto SIREVA) e encontraram variação na incidência de PRP entre os países, tendo sido mais comuns no México (51,5%) e menos no Brasil (20,9%). De fato, a incidência do PRP no Brasil, até o ano 2000, era menor que em outros países (BRANDILEONE *et al.*, 2003).

A resistência à penicilina foi restrita aos sorotipos 14, 6B, 19A e 23F (respectivamente 70%, 15%, 10% e 5% das cepas resistentes), classicamente associados a resistência às drogas (APPELBAUM, 1996; KAPLAN *et al.*, 2002). São os denominados “sorotipos infantis” (GRAY, CONVERSE III e DILLON Jr., 1980), responsáveis por grande número de episódios de infecção em crianças. Provavelmente, as características intrínsecas de imunogenicidade dependente da idade e a extensa exposição aos antimicrobianos contribuem, respectivamente, para o predomínio entre as crianças mais jovens e o desenvolvimento de resistência à penicilina. Neste estudo foi possível confirmar a tendência de predomínio de cepas resistentes à penicilina em crianças com idade até dois

anos ( $p=0,0008$ ), coincidindo com outros relatos (BRANDILEONE, 1999; HORTAL *et al.*, 2001; REIS *et al.*, 2002).

Na América Latina, 92% das cepas de PRP pertencem a sete sorotipos: 14, 23F, 6B, 19A, 19F, 6A e 9V (HORTAL *et al.*, 2001); no Brasil, os seis sorotipos mais comuns de PRP são 14, 6A, 6B, 19A, 19F e 23F (BRANDILEONE, 1999) e em Salvador (BA) 94% das cepas de PRP, recuperadas de pacientes de todas as idades, internados com meningite, pertencem a quatro sorotipos: 14, 6B, 23F e 19F (REIS *et al.*, 2002).

Frente à resposta adequada de pacientes com doença pneumocócica invasiva (exceto meningite), ao tratamento com  $\beta$ -lactâmicos (penicilina ou ampicilina), mesmo quando causada por cepas resistentes à penicilina (com CIM até  $2,0\mu\text{g/mL}$ ), tem sido recomendada uma redefinição das categorias de suscetibilidade (HEFFELFINGER *et al.*, 2000). Para as cepas invasivas, com exceção daquelas obtidas de pacientes com meningite, os valores propostos são de CIM  $\leq 1,0\mu\text{g/mL}$  para suscetibilidade,  $2,0\mu\text{g/mL}$  para resistência intermediária e  $\geq 4,0\mu\text{g/mL}$  para resistência plena. Considerando estas novas categorias apenas três cepas de pneumococo, obtidas de pacientes com pneumonia, seriam classificadas como resistentes em nível intermediário (CIM =  $2,0\mu\text{g/mL}$ ) e nenhuma, como plena. Estes pacientes foram adequadamente tratados com penicilina (um caso), ampicilina (um caso) e ceftriaxona (um caso). Dentre os demais 20 pacientes nos quais foram recuperadas cepas de pneumococo resistentes à penicilina, quatro morreram (Tabela 4) sendo dois nas primeiras horas de evolução, com diagnóstico de choque séptico e bacteremia, em associação com hipertensão arterial crônica (em um) e alcoolismo crônico, hepatite C e infecção pelo VIA (em outro); dos outros dois pacientes, um morreu no oitavo dia (com pneumonia associada a tumor cerebral e hidrocefalia descompensada) e o outro, no vigésimo terceiro dia de admissão (com pneumonia associada a carcinoma pulmonar). Em nenhuma circunstância houve tratamento antimicrobiano inadequado e, em apenas um

paciente (adulto com bacteremia e choque séptico, que morreu logo à admissão), não houve tempo do antibiótico ser iniciado.

Algumas observações podem ser feitas quanto à suscetibilidade das cepas a outros antimicrobianos. A elevada taxa de resistência encontrada para o cotrimoxazol (63,4%) está de acordo com relatadas em estudos nacionais (BEREZIN *et al.*, 1996; BRANDILEONE *et al.*, 1997; BRANDILEONE, 1999; NASCIMENTO-CARVALHO *et al.*, 2003) e pode comprometer a indicação deste quimioterápico no tratamento das infecções pneumocócicas. Permanecem relativamente baixas as cifras para a eritromicina (8,3%), clindamicina (8,7%), ofloxacina (0,8%) e cefotaxima (2% das 148 cepas e 13% das resistentes à penicilina), coincidindo com as relatadas por Brandileone (1999) (78,5% para cotrimoxazol, 2,4% para eritromicina, dentre as cepas de PRP) e por Nascimento-Carvalho *et al.* (2003), num estudo recentemente publicado, realizado em Salvador (BA) (65,7% para cotrimoxazol, 5,7% para eritromicina, 2,9% para clindamicina, 6,3% para ofloxacina e 5,9% para cefotaxima). A resistência do pneumococo às fluorquinolonas é considerada incomum ou rara, mas parece estar aumentando em algumas regiões do mundo (CHEN *et al.*, 1999; HO *et al.*, 1999; CDC, 2001). Diferentemente do que ocorre com a penicilina, a resistência a estas drogas predomina em cepas recuperadas de adultos, particularmente entre os idosos com 65 anos ou mais, provavelmente pela elevada densidade de utilização destes compostos (CDC, 2001). Num amplo levantamento realizado nos EUA, foi possível demonstrar o aumento significativo da resistência à ofloxacina de 2,6% para 3,8%, no período de 1995 a 1997 (com diferenças significativas ao se comparar os grupos de indivíduos abaixo e acima de 18 anos) (CDC, 2001).

O fato de todas as cepas resistentes à eritromicina serem também resistentes à clindamicina, sugere a manifestação do fenótipo MLS<sub>B</sub>, caracterizado pela resistência

constitutiva aos macrolídeos, lincosaminas e estreptogramina B (HYDE *et al.*, 2001). Não houve resistência *in vitro* ao cloranfenicol, rifampicina ou vancomicina.

A correlação observada neste estudo entre a determinação da CIM da penicilina pelo método do E teste (realizado no HCUFU) e o da microdiluição em caldo (realizado no IAL) está de acordo com a descrita por outros autores. A CIM determinada pelo método do E teste é semelhante à determinada pela microdiluição em caldo (APPELBAUM, 1994; JORGENSEN e FERRARO, 1998), com valores concordantes em 80,4% (JORGENSEN, HOWELL e MAHER, 1991), em 82,4% (MACIAS *et al.*, 1994) ou em 94% (NGUI-YEN *et al.*, 1992), com as discordâncias mantendo-se dentro de uma diluição convencional (MACIAS *et al.*, 1994). Parece, portanto, que o E teste constitui um método confiável para a determinação da suscetibilidade antimicrobiana do pneumococo. É preciso salientar, contudo, que neste estudo apenas as cepas presumivelmente resistentes à penicilina (de fato, as oxacilino-resistentes pelo método de triagem com disco de oxacilina) foram submetidas à determinação da CIM por microdiluição em caldo. Já a CIM pelo E teste foi determinada em cepas tanto oxacilino-sensíveis quanto resistentes. A elevada sensibilidade do teste de triagem com disco de oxacilina permite esta análise, pois raras cepas de fato resistentes são dadas como sensíveis (APPELBAUM, 1994).

Em resumo, apesar deste estudo fundamentar-se essencialmente numa vigilância laboratorial, foi possível observar nesta população que o pneumococo acomete pessoas em diversas faixas de idade (compreendendo os extremos de um dia a 88 anos), durante o ano todo, causando, principalmente, pneumonia, meningite e bacteremia sem foco evidente. As fontes de recuperação do agente foram, em geral, o sangue, o líquido pleural e o líquido cefalorraquidiano. Foi possível demonstrar também, que a doença pneumocócica invasiva causa a morte de cerca de 22% dos pacientes, com cifras mais elevadas naqueles com mais de 64 anos. Os sorotipos mais comumente identificados coincidem com os descritos em levantamentos

nacionais mais amplos e a sensibilidade diminuída à penicilina foi detectada em 15,5% das cepas estudadas, concentrando-se nos "sorotipos infantis" 14, 23F, 6B e 19A.

O tratamento inicial para a maioria das infecções pneumocócicas permanece empírico quanto à etiologia e sensibilidade às drogas (MANTESE, 1999). Os levantamentos comunitários são fundamentais para determinação da frequência e intensidade da resistência e são melhor interpretados quando expostos de modo estratificado, segundo fonte de recuperação (esfregaço nasofaríngeo, líquido do ouvido médio, sangue, líquido, líquido pleural e outros), nosologia (otite média, pneumonia, meningite, bacteremia sem foco evidente, por exemplo) e idade do paciente. Mesmo assim, não há consenso em como extrair recomendações terapêuticas individuais a partir de índices populacionais e não é possível definir com segurança qual a taxa limítrofe de ocorrência de resistência que deve modificar o tratamento empírico inicial de determinada doença pneumocócica. O levantamento aqui apresentado poderá contribuir com o conhecimento acerca do comportamento epidemiológico do pneumococo nesta população, particularmente ao ser monitorado ao longo do tempo.

## VI – CONCLUSÕES

1. A distribuição dos sorotipos mais prevalentes coincidiu em vários aspectos com a dos grandes levantamentos, tanto de âmbito nacional quanto latino-americano e a maioria dos sorotipos (82,6%) e das cepas (90,2%) está incluída na vacina polissacarídica 23-valente. As cifras de cobertura para a vacina 7-valente, atualmente disponível, são de 46,7% dos sorotipos e 63,6% das cepas obtidas de crianças com até cinco anos de idade. A disponibilidade de uma vacina 9-valente, com acréscimo dos sorotipos 1 e 5, elevaria esta cobertura para 60% dos sorotipos e 80,5% das cepas.
2. A resistência à penicilina foi detectada em 15,5% das cepas, concentrando-se nos “sorotipos infantis” 14, 23F, 6B e 19A e predominou, significativamente, em crianças abaixo de dois anos de idade.
3. Houve elevada concordância dos valores da concentração inibitória mínima da penicilina obtidos pelos métodos do E teste e da microdiluição em caldo.
4. O pneumococo acomete pessoas em diversas faixas de idade (compreendendo os extremos de um dia a 88 anos), durante o ano todo (com predomínio durante os meses de inverno e início da primavera), causando, principalmente, pneumonia, meningite e bacteremia sem foco evidente. As fontes de recuperação do agente foram, em geral, o sangue, o líquido pleural e o líquido, e foi possível demonstrar também, que a doença pneumocócica invasiva causa a morte de cerca de 22%

dos pacientes, com cifras significativamente mais elevadas naqueles com mais de 64 anos.

## VII – BIBLIOGRAFIA

AAP. American Academy of Pediatrics. Pneumococcal infections. In: RED BOOK. **Report of the Committee on Infectious Diseases**. 25<sup>th</sup> ed., Elk Grove Village (Illinois): AAP, 2000a. p. 452-460.

AAP. American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases. Policy statement: recommendations for the prevention of pneumococcal infections, including the use of pneumococcal conjugate vaccine (Prevnar), pneumococcal polysaccharide vaccine, and antibiotic prophylaxis. **Pediatrics (Springfield)**, **106** (2 Pt 1): 362-366, 2000b.

AAP. American Academy of Pediatrics. *Haemophilus influenzae* infections. In: PICKERING, L. K. (ed) RED BOOK. **Report of the Committee on Infectious Diseases**. 25<sup>th</sup> ed., Elk Grove Village (Illinois): AAP, 2000c. p. 262-272.

APPELBAUM, P. C. Antibiotic-resistant pneumococci: facts and fiction. **J Chemother (Firenze)**, **6** (Suppl 4): 7-24, 1994.

APPELBAUM, P. C. Epidemiology and *in vitro* susceptibility of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **15** (10): 932-939, 1996.

ARDITI, M.; MASON Jr., E. O.; BRADLEY, J. S.; TAN, T. Q.; BARSON, W. J.; SCHUTZE, G. E.; WALD, E. R.; GIVNER, L. B.; KIM, K. S.; YOGEV, R.; KAPLAN, S. L. Three-year multicenter surveillance of pneumococcal meningitis in children: clinical characteristics, and outcome related to penicillin susceptibility and dexamethasone use. **Pediatrics (Springfield)**, **102** (5): 1087-1097, 1998.

ARNOLD, K. E.; LEGGIADRO, R. J.; BREIMAN, R. F.; LIPMAN, H. B.; SCHWARTZ, B.; APPELTON, M. A.; CLEVELAND, K. O.; SZETO, H. C.; HILL, B. C.; TENOVER, F. C.; ELLIOTT, J. A.; FACKLAM, R. R. Risk factors for carriage of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* among children in Memphis, Tennessee. **J Pediatr (St Louis)**, **128** (6): 757-764, 1996.

ATKINSON, R. M.; MITCHELL, L. S.; TUOMANEN, E. Mechanisms of tolerance to vancomycin in *Streptococcus pneumoniae*. **Infect Med (New York)**, **17** (12): 793-801, 2000.

AUSTRIAN, R. The current status of bacteremic pneumococcal pneumonia. Reevaluation of an underemphasized clinical problem. **Trans Assoc Am Physicians (Philadelphia)**, **76**: 117, 1963.

AUSTRIAN, R. Some aspects of the pneumococcal carrier state. **J Antimicrob Chemother (London)**, **18** (Suppl A): S35-45, 1986.

AUSTRIAN, R. Confronting drug-resistant pneumococci. **Ann Intern Med (London)**, **121** (19): 807-809, 1994.

AUSTRIAN, R.; GOULD, J. Pneumococcal bacteremia with special reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. **Ann Intern Med (Philadelphia)**, **60**: 759-776, 1964.

AUSTRIAN, R.; DOUGLAS, R. M.; SCHIFFMAN, G.; COETZEE, A. M.; KOORNHOF, H. J.; HAYDEN-SMITH, S.; REID, R. D. Prevention of pneumococcal pneumonia by vaccination. **Trans Assoc Am Physicians (Philadelphia)**, **89**: 184-194, 1976.

BAQUERO, F. Trends in antibiotic resistance of respiratory pathogens: an analysis and commentary on a collaborative study. **J Antimicrob Chemother (London)**, **38** (Suppl A): 117-132, 1996.

BARKER, J.; GRATTEN, M.; RILEY, I.; LEHMANN, D.; MONTGOMERY, J.; KAJOI, M.; GRATTEN, H.; SMITH, D.; MARSHALL, T. F. C.; ALPERS, M. P. Pneumonia in children in the Eastern Highlands of Papua New Guinea: a bacteriologic study of patients selected by standard clinical criteria. **J Infect Dis (Chicago)**, **159** (2): 348-352, 1989.

BARNETT, E. D.; KLEIN, J. O. O problema da bactéria resistente no tratamento da otite média aguda. In: SCHREIBER, J. R.; GOLDMAN, D. A. **Clínicas pediátricas da América do Norte**. Rio de Janeiro: Interlivros, 1995. p. 499-507.

BEREZIN, E. N.; CARVALHO, E. S.; CASAGRANDE, S.; BRANDILEONE, M. C.; MIMICA, I. M.; FARHAT, C. K. *Streptococcus pneumoniae* penicillin-nonsusceptible strains in invasive infections in São Paulo, Brazil. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **15** (11): 1051-1053, 1996.

BEREZIN, E. N.; CARVALHO, L. H.; LOPES, C. R.; SANAJOTTA, A. T.; BRANDILEONE, M. C. C.; MENEGATTI, J.; SAFADI, M. A.; GUERRA, M. L. C. S. Meningite pneumocócica na infância: características clínicas, sorotipos mais prevalentes e prognóstico. **J Pediatria (Rio de Janeiro)**, **78** (1): 19-23, 2002.

BLACK, S.; LIEU, T. A.; RAY, G. T.; CAPRA, A.; SHINEFIELD, H. R. Assessing costs and cost effectiveness of pneumococcal disease and vaccination within Kaiser Permanente. **Vaccine (Amsterdam)**, **19** (Suppl 1): 83-86, 2000a.

BLACK, S.; SHINEFIELD, H.; FIREMAN, B.; LEWIS, E.; RAY, P.; HANSEN, J. R.; ELVIN, L.; ENSOR, K. M.; HACKELL, J.; SIBER, G.; MALINOSKI, F.; MADORE, D.; CHANG, I.; KOHBERGER, R.; WATSON, W.; AUSTRIAN, R.; EDWARDS, K. Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **19** (3): 187-195, 2000b.

BLOCK, S. L.; HARRISON, C. J.; HEDRICK, J. A.; TYLER, R. D.; SMITH, R. A.; KEEGAN, E.; CHARTRAND, S. A. Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in acute otitis media: risk factors, susceptibility patterns and antimicrobial management. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **14** (9): 751-759, 1995.

BLUESTONE, C. D.; STEPHENSON, J. S.; MARTIN, L. M. Ten-year review of otitis media pathogens. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **11** (Suppl 8): 7-11, 1992.

BRADLEY, J. S.; SCHELD, W. M. The challenge of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* meningitis: current antibiotic therapy in the 1990s. **Clin Infect Dis (Chicago)**, 24 (Suppl 2): S213-221, 1997.

BRANDILEONE, M. C. C. **Distribuição de sorotipos, resistência antimicrobiana e perfil molecular de *Streptococcus pneumoniae* isolado de doença invasiva no Brasil: 1993 a 1998.** 155f. 1999. Tese (Doutorado em Doenças Infecciosas e Parasitárias) – São Paulo, SP. Universidade de São Paulo - Escola Paulista de Medicina. 1999.

BRANDILEONE, M. C. C.; VIEIRA, V.; SIMONSEN, D.; ZANELLA, R. C.; LANDGRAF, I. M.; MELLES, C. E. A.; TAUNAY, A. E.; MORAES, J. C.; AUSTRIAN, R. Distribution of serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolated from invasive infections over a 16-year period in the greater São Paulo area, Brazil. **J Clin Microbiol (Washington)**, 33 (10): 2789-2791, 1995.

BRANDILEONE, M. C. C.; VIEIRA, V. S. D.; CASAGRANDE, S. T.; ZANELLA, R. C.; GUERRA, M. L. L. S.; BOKERMANN, S.; MORAES, J. C.; BALDACCI, E. R.; CHAMONE, C. B.; OLIVEIRA, M. A. S.; MATOS, D. G. C.; ARRUDA, T. M. C.; COELHO, M. F. C.; D'ÁVILA, S. M.; SANTOS, A. R.; Di FABIO, J. L. Prevalence of serotypes and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from Brazilian children with invasive infections. **Microb Drug Resist (New York)**, 3 (2): 141-146, 1997.

BRANDILEONE, M. C. C.; SIMONSEN, D.; VIEIRA, V.; CASAGRANDE, S. T.; ZANELLA, R. C.; GUERRA, M. L. L. S.; BRANDÃO, A. P.; MELLES, C. E. A.; PIGNATARI, A. C. C.; Di FABIO, J. L.; AUSTRIAN, R. Characteristics of isolates *Streptococcus pneumoniae* from middle aged and elderly adults in Brazil: capsular serotypes and antimicrobial sensitivity to invasive infections. **Braz J Infect Dis (Salvador)**, 2 (2): 90-96, 1998.

BRANDILEONE, M. C. C.; ANDRADE, A. L. S.; Di FABIO, J. L.; GUERRA, M. L. L. S.; AUSTRIAN, R. Appropriateness of a pneumococcal conjugate vaccine in Brazil: potential impact of age and clinical diagnosis, with emphasis on meningitis. **J Infect Dis (Chicago)**, 187 (8): 1206-1212, 2003.

BRICKS, L. F. Análise crítica sobre o uso das vacinas conjugadas contra o *Haemophilus influenzae* do tipo b em diferentes países. **Pediatria (São Paulo)**, 20: 216-229, 1998.

BRICKS, L. F.; SIH, T. Medicamentos controversos em otorrinolaringologia. **J Pediatria (Rio de Janeiro)**, 75 (1): 11-22, 1999.

BURKE, J. P.; KLEIN, J. O.; GEZON, H. M.; FINLAND, M. Pneumococcal bacteremia: review of 111 cases, 1957-1969, with special to cases with undetermined focus. **Am J Dis Child (Chicago)**, 121 (4): 353-359, 1971.

BUTLER, J. C.; DOWELL, S. F.; BREIMAN, R. F. Epidemiology of emerging pneumococcal drug resistance: implications for treatment and prevention. **Vaccine (Amsterdam)**, 16 (18): 1693-1697, 1998.

CAMPBELL Jr., G. D.; SILBERMAN, R. Drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. **Clin Infect Dis (Chicago)**, 26 (5): 1188-1195, 1998.

CATTERALL, J. R. *Streptococcus pneumoniae*. **Thorax (London)**, **54** (10): 929-937, 1999.

CDC. Centers for Disease Control. Recommendation of the Public Health Service Advisory Committee on Immunization Practice. Prevention of Pneumococcal Disease. **MMWR (Atlanta)**, **46** (RR-8): 1-31, 1997.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Progress toward eliminating *Haemophilus influenzae* type b disease among infants and children- United States, 1987-1997. **MMWR (Atlanta)**, **47**: 993-998, 1998.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Preventing pneumococcal disease among infants and young children: recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP). **MMWR (Atlanta)**, **49** (RR-9): 1-35, 2000.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Resistance of *Streptococcus pneumoniae* to fluorquinolones- United States, 1995-1999. **MMWR (Atlanta)**, **50**: 800-804, 2001.

CHEN, D. K.; McGEER, A.; AZAVEDO, J. C.; LOW, D. E. Decreased susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to fluorquinolones in Canada. **N Engl J Med (Boston)**, **341** (4): 233-239, 1999.

CHUDWIN, D. S.; ARTRIP, S. G.; KORENBLIT, A.; SCHIFFMAN, G.; RAO, S. Correlation of serum opsonins with *in vitro* phagocytosis of *Streptococcus pneumoniae*. **Infect Immun (Bethesda)**, **50** (1): 213-217, 1985.

COCCIA, M. R.; FACKLAM, R. R.; SARAVOLATZ, L. D.; MANZOR, O. Recurrent pneumococcal bacteremia: 34 episodes in 15 patients. **Clin Infect Dis (Chicago)**, **26** (4): 982-985, 1998.

CRAIN, E. F.; SHELOV, S. P. Febrile infants: predictors of bacteremia. **J Pediatr (St Louis)**, **101** (5): 686-689, 1982.

CROCKER, P. J.; QUICK, G.; McCOMBS, W. Occult bacteremia in the emergency department; diagnostic criteria for the young febrile child. **Ann Emerg Med (Lansing, Mich.)**, **14** (12): 1172-1177, 1985.

CUNDELL, D.; MASURE, H. R.; TUOMANEN, E. I. The molecular basis of pneumococcal infection: a hypothesis. **Clin Infect Dis (Chicago)**, **21** (Suppl 3): S204-212, 1995.

DAGAN, R.; ENGELHARD, D.; PICCARD, E. and Israeli Pediatric Bacteremia and Meningitis Group. Epidemiology of invasive childhood pneumococcal infections in Israel. **JAMA (Chicago)**, **268** (23): 3328-3332, 1992.

DAGAN, R.; MUALLEM, M.; MELAMED, R.; LEROY, O.; YAGUPSKY, P. Reduction of pneumococcal nasopharyngeal carriage in early infancy after immunization with tetravalent pneumococcal vaccines conjugated to either tetanus toxoid or diphtheria toxoid. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **16** (11): 1060-1064, 1997.

DAVIS, A. T.; QUIE, P. G. The polymorphonuclear phagocytic system. In: STIEHM, E. R.; FULGINITI, V. A. **Immunologic disorders in infants and children**. 2<sup>nd</sup> ed., Philadelphia: W. B. Saunders, 1980. p. 98-108.

DEEKS, S. L.; PALACIO, R.; RUVINSKY, R.; KERTESZ, D. A.; HORTAL, M.; ROSSI, A.; SPIKA, J. S.; Di FABIO, J. L. Risk factors and course of illness among children with invasive penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. **Pediatrics (Springfield)**, **103** (2): 409-413, 1999.

Del CASTILLO, F.; BAQUERO-ARTIGAO, F.; GARCIA-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 (Baltimore)**, **17** (2): 94-97, 1998.

Di FABIO, J. L.; HOMMA, A.; QUADROS, C. Pan American Health Organization epidemiologic surveillance network for *Streptococcus pneumoniae*. **Microb Drug Resist (New York)**, **3** (2): 131-133, 1997.

Di FABIO, J. L.; CASTAÑEDA, E.; AGUDELO, C. I.; de la HOZ, F.; HORTAL, M.; CAMOU, T.; ECHÁNIZ-AVILÉS, G.; NOEMI, M.; BARAJAS, C.; HEITMANN, I.; HORMAZABAL, J. C.; BRANDILEONE, M. C. C.; DIAS VIEIRA, V. J.; REGUEIRA, M.; RUVINSKI, R.; CORSO, A.; LOVGREN, M.; TALBOT, J. A.; QUADROS, C. Evolution of *S. pneumoniae* serotypes and penicillin susceptibility in Latin America, Sireva-Vigía Group, 1993 to 1999. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **20** (11): 959-967, 2001.

DOWELL, S. F.; MARCY, S. M.; PHILLIPS, W. R.; GERBER, M. A.; SCHWARTZ, B. Otitis media-principles of judicious use of antimicrobial agents. **Pediatrics (Springfield)**, **101**: 165-171, 1998.

DOWELL, S. F.; BUTLER, J. C.; GIEBINK, G. S.; JACOBS, M. R.; JERNIGAN, D.; MUSER, D.; RAKOWSKY, A.; SCHWARTZ, B. 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 (Baltimore)**, **18** (1): 1-9, 1999.

EJZENBERG, B.; FERNANDES, V. O.; RODRIGUES NETO, A. J.; BALDACCI, E. R.; GRISI, S. J. F. E.; BELLIZIA NETO, L.; HORITA, S. M.; KIMURA, H. M. Pesquisa de etiologia bacteriana em 102 crianças internadas com o diagnóstico de pneumonia aguda. **Pediatrics (São Paulo)**, **8**: 99-106, 1986.

ESKOLA, J. Immunogenicity of pneumococcal conjugate vaccines. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **19** (14): 388-393, 2000.

ESKOLA, J.; ANTTILA, M. Pneumococcal conjugate vaccines. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **18** (6): 543-551, 1999.

ESKOLA, J.; TAKALA, A. K.; KELA, E.; PEKKANEN, E.; KALLIOKOSKI, R.; LEINONEN, M. Epidemiology of invasive pneumococcal infections in children in Finland. **JAMA (Chicago)**, **268** (23): 3323-3327, 1992.

- FARHAT, C. K. Meningites bacterianas purulentas. In: FARHAT, C. K.; CARVALHO, E. S.; CARVALHO, L. H. F. R.; SUCCI, R. C. M. *Infectologia pediátrica*. 2.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1998. p. 89-103.
- FEDSON, D. S.; MUSER, D. M.; ESKOLA, J. Pneumococcal vaccine. In: PLOTKIN, S. A.; ORENSTEIN, W. A. *Vaccines*. 3<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1999. p. 553-608.
- FEDSON, D.; HENRICHSEN, J.; MAKELA, P. H.; AUSTRIAN, R. Immunization of elderly people with polyvalent pneumococcal vaccine. *Infection (München, German)*, 17 (6): 437-441, 1989.
- FERRANTE, A.; BEARD, L. J.; FELDMAN, R. G. IgG subclass distribution of antibodies to bacterial and viral antigens. *Pediatr Infect Dis J (Baltimore)*, 9 (Suppl 8): S16-24, 1990.
- FINE, D. P.; KIRK, J. L.; SCHIFFMAN, G.; SCHWEINLE, J. E.; GUCKIAN, J. C. Analysis of humoral and phagocytic defenses against *Streptococcus pneumoniae* serotypes 1 and 3. *J Lab Clin Med (St Louis)*, 112(4): 487-497, 1988.
- FINLAND, M.; BARNES, M. W. Changes in occurrence of capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* at Boston City Hospital during selected years between 1935 and 1974. *J Clin Microbiol (Washington)*, 5 (2): 154-166, 1977.
- FORGIE, I. M.; O'NEILL, K. P.; LLOYD-EVANS, N.; LEINONEN, M.; CAMPBELL, H.; WHITTLE, H. C.; GREENWOOD, B. M. Etiology of acute lower respiratory tract infections in Gambian children: I. Acute lower respiratory tract infection in infants presenting at the hospital. *Pediatr Infect Dis J (Baltimore)*, 10 (1): 33-41, 1991a.
- FORGIE, I. M.; O'NEILL, K. P.; LLOYD-EVANS, N.; LEINONEN, M.; CAMPBELL, H.; WHITTLE, H. C.; GREENWOOD, B. M. Etiology of acute lower respiratory tract infections in Gambian children: II. Acute lower respiratory tract infection in children ages one to nine years presenting at the hospital. *Pediatr Infect Dis J (Baltimore)*, 10 (1): 42-47, 1991b.
- FRASCH, C. E. Serogroup and serotype classification of bacterial pathogens. In CLARK, V. L.; BAVOIL, P. M. *Bacterial pathogenesis*. New York: Academic Press, 1997. p. 43.
- FRIEDLAND, I. R. Comparison of the response to antimicrobial therapy of penicillin-resistant and penicillin-susceptible pneumococcal disease. *Pediatr Infect Dis J (Baltimore)*, 14 (10): 885-890, 1995.
- FULGINITI, V. A.; SIEBER, O. F. Immune mechanisms in infectious diseases. In: STIEHM, E. R.; FULGINITI, V. A. *Immunologic disorders in infants and children*. 2<sup>nd</sup> ed., Philadelphia: W. B. Saunders, 1980. p. 687-701.
- GESSNER, B. D.; USSERY, X. T.; PARKINSON, A. J.; BREIMAN, R. F. Risk factors for invasive disease caused by *Streptococcus pneumoniae* among Alaska native children younger than two years of age. *Pediatr Infect Dis J (Baltimore)*, 14 (2): 123-128, 1995.

- GIEBINK, G. S.; VERHOEF, J.; PETERSON, P. K.; QUIE, P. G. Opsonic requirements for phagocytosis of *Streptococcus pneumoniae* types VI, XVIII, XXIII and XXV. **Infect Immun (Bethesda)**, **18** (2): 291-297, 1977.
- GILLESPIE, S. H. Aspects of pneumococcal infection including bacterial virulence, host response and vaccination. **J Med Microbiol (Edinburgh)**, **28** (4): 237-248, 1989.
- GRAY, B. M.; DILLON Jr., H. C. Clinical and epidemiologic studies of pneumococcal infection in children. **Pediatr Infect Dis (Baltimore)**, **5** (2): 201-207, 1986.
- GRAY, B. M.; CONVERSE III, G. M.; DILLON Jr., H. C. Serotypes of *Streptococcus pneumoniae* causing disease. **J Infect Dis (Chicago)**, **140** (6): 979-983, 1979.
- GRAY, B. M.; CONVERSE III, G. M.; DILLON Jr., H. C. Epidemiological studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: acquisition, carriage, and infection during the first 24 months of life. **J Infect Dis (Chicago)**, **142** (6): 923-933, 1980.
- GRUNEBERG, R. N.; FELMINGHAM, D. Results of the ALEXANDER Project: a continuing, multicenter study of the antimicrobial susceptibility of community-acquired lower respiratory tract bacterial pathogens. **Diagn Microbiol Infect Dis (New York)**, **25** (4): 169-181, 1996.
- GWALTNEY Jr., J. M.; SCHELD, W. M.; SANDE, M. A.; SYDNOR, A. The microbial etiology and antimicrobial therapy of adults with acute community-acquired sinusitis: a fifteen-year experience at the University of Virginia and review of other selected studies. **J Allergy Clin Immunol (St Louis)**, **90** (3 Pt 2): 457-462, 1992.
- HANSMAN, D.; GLASGOW, H.; STURT, J.; DEVITT, L.; DOUGLAS, R. Increased resistance to penicillin of pneumococci isolated from man. **N Engl J Med (Boston)**, **284** (4): 175-177, 1971.
- HARWELL, J. I.; BROWN, R. B. The drug-resistant pneumococcus: clinical relevance, therapy and prevention. **Chest (Chicago)**, **117** (2): 530-541, 2000.
- HAUSDORFF, W. P.; BRYANT, J.; PARADISO, P. R.; SIBER, G. R. Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: implications for conjugate vaccine formulation and use, Part I. **Clin Infect Dis (Chicago)**, **30** (1): 100-121, 2000.
- HAZLEWOOD, M. A.; KUMARARATNE, D. S.; WEBSTER, A. D.; GOODALL, M.; BIRD, P.; DAHA, M. An association between homozygous C3 deficiency and low levels of anti-pneumococcal capsular polysaccharide antibodies. **Clin Exp Immunol (Oxford)**, **87** (3): 404-409, 1992.
- HEFFELFINGER, J. D.; DOWELL, S. F.; JORGENSEN, J. H.; KLUGMAN, K. P.; MABRY, L. R.; MUSER, D. M.; PLOUFF, J. F.; RAKOWSKY, A.; SCHUCHAT, A.; WHITNEY, C. G. Management of community-acquired pneumonia in the era of pneumococcal resistance: a report from the Drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* Therapeutics Working Group. **Arch Intern Med (Chicago)**, **160** (10): 1399-1408, 2000.
- HENRICHSEN, J. The pneumococcal typing system and pneumococcal surveillance. **J Infect Dis (Chicago)**, **1** (Suppl): S31-37, 1979.

HENRICHSEN, J. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. **J Clin Microbiol (Washington)**, 33 (10): 2759-2762, 1995.

HENRIQUES NORMARK, B.; NOVAK, R.; ORTQVIST, A.; KALLENIUS, G.; TUOMANEN, E.; NORMARK, S. Clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* that exhibits tolerance of vancomycin. **Clin Infect Dis (Chicago)**, 32 (4): 552-558, 2001.

HO, P. L.; QUE, T. L.; TSANG, D. N.; NG, T. K.; CHOW, H. K.; SETO, W. H. Emergence of fluorquinolone resistance among multiply resistant strains of *Streptococcus pneumoniae* in Hong Kong. **Antimicrob Agents Chemother (Washington)**, 43 (5): 1310-1313, 1999.

HORTAL, M.; LOVGREN, M.; de la HOZ, F.; AGUDELO, C. I.; BRANDILEONE, M. C. C.; CAMOU, T.; CASAGRANDE, S.; CASTAÑEDA, E.; CORSO, A.; ECHANIZ, G.; HORMAZABAL, J. C.; PACE, J.; PALACIO, R.; PEREZ-GIFFONI, G.; RUVINSKY, R.; Di FABIO, J. L. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* in six Latin American countries: 1993-1999 surveillance. **Microb Drug Resist (New York)**, 7 (4): 391-401, 2001.

HOSTETTER, M. K. Serotypic variations among virulent pneumococci in deposition and degradation of covalently bound C<sub>3</sub>b: implications for phagocytosis and antibody production. **J Infect Dis (Chicago)**, 153 (4): 682-693, 1986.

HYDE, T. B.; GAY, K.; STEPHENS, D. S.; VUGIA, D. J.; PASS, M.; JOHNSON, S.; BARRETT, N. L.; SCHAFFNER, W.; CIESLAK, P. R.; MAUPIN, P. S.; ZELL, E. R.; JORGENSEN, J. H.; FACKLAM, R. R.; WHITNEY, C. G. Macrolide resistance among invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates. **JAMA (Chicago)**, 286 (15): 1857-1862, 2001.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/2000>>. Acesso em 2003.

JACOBS, M. R. Antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in acute otitis media: overview and update. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, 17 (10): 947-952, 1998.

JACOBS, M. R.; KOORNHOF, H. J.; ROBINS-BROWNE, R. M.; STEVENSON, C. M.; VERMAAK, Z. A.; FREIMAN, I.; MILLER, G. B.; WITCOMB, M. A.; ISAACSON, M.; WARD, J. I.; AUSTRIAN, R. Emergence of multiply resistant pneumococci. **N Engl J Med (Boston)**, 299 (14): 735-740, 1978.

JANEWAY Jr., C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; CAPRA, J. D. The humoral immune response. In: JANEWAY Jr., C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; CAPRA, J. D. **Immunobiology. The immune system in health and disease**. 4<sup>th</sup> ed. London: Current Biology Publications, 1999. p. 307-361.

JORGENSEN, J. H.; FERRARO, M. J. Antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices. **Clin Infect Dis (Chicago)**, 26 (4): 973-980, 1998.

JORGENSEN, J. H.; HOWELL, A. W.; MAHER, L. A. Quantitative antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* by using the E test. **J Clin Microbiol (Washington)**, 29 (1): 109-114, 1991.

- KALIN, M. Pneumococcal serotypes and their clinical relevance. **Thorax (London)**, 53 (3): 159-162, 1998.
- KALMAR, J. R. Measurement of opsonic phagocytosis by human polymorphonuclear neutrophils. In: CLARK, V. L.; BAVOIL, P. M. **Bacterial pathogenesis**. New York: Academic Press, 1997. p. 493.
- KAPLAN, S. L.; MASON Jr., E. O. Management of infections due to antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*. **Clin Microbiol Rev (Washington)**, 11 (4): 628-644, 1998.
- KAPLAN, S. L.; MASON Jr., E. O.; WALD, E.; TAN, Q. T.; SCHUTZE, G. E.; BRADLEY, J. S.; GIVNER, L. B.; KIM, K. S.; YOGEV, R.; BARSON, W. J. Six year multicenter surveillance of invasive pneumococcal infections in children. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, 21 (2): 141-147, 2002.
- KELLOGG, J. A.; BANKERT, D. A.; ELDER, C. J.; GIBBS, J. L.; SMITH, M. C. Identification of *Streptococcus pneumoniae* revisited. **J Clin Microbiol (Washington)**, 39 (9): 3373-3375, 2001.
- KERTESZ, D. A.; Di FABIO, J. L.; BRANDILEONE, M. C. C.; CASTAÑEDA, E.; ECHÁNIZ-AVILES, G.; HEITMANN, I.; HOMMA, A.; HORTAL, M.; LOVGREN, M.; RUVINSKY, R. O.; TALBOT, J. A.; WEEKS, J.; SPIKA, J. S. Invasive *Streptococcus pneumoniae* infection in Latin American children: results of the Pan American Health Organization Surveillance Study. **Clin Infect Dis (Chicago)**, 26 (6): 1355-1361, 1998.
- KLEIN, J. O. The epidemiology of pneumococcal disease in infants and children. **Rev Infect Dis (Chicago)**, 3 (2): 246-253, 1981.
- KLUGMAN, K. P. The clinical relevance of *in vitro* resistance to penicillin, ampicillin, amoxicillin and alternative agents, for the treatment of community-acquired pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis*. **J Antimicrob Chemother (London)**, 38 (Suppl A): 133-140, 1996.
- KNECHT, J. C.; SCHIFFMAN, G.; AUSTRIAN, R. Some biological properties of pneumococcus type 37 and the chemistry of its capsular polysaccharide. **J Exp Med (New York)**, 132 (3): 475-487, 1970.
- KORNELISSE, R. F.; WESTERBEEK, C. M. L.; SPOOR, A. B.; van der HEIJDE, B.; SPANJAARD, L.; NEIJENS, H. J.; GROOT, R. Pneumococcal meningitis in children: prognostic indicators and outcome. **Clin Infect Dis J (Chicago)**, 21 (6): 1390-1397, 1995.
- LANDAVERDE, M.; Di FABIO, J. L.; RUOCCO, G.; LEAL, I.; DE QUADROS, C. Introducion de la vacuna conjugada contra Hib en Chile y Uruguay. **Rev Panam Salud Publica**, 5 (3): 200-206, 1999.
- LEE, L. H.; LEE, C. J.; FRASCH, C. E. Development and evaluation of pneumococcal conjugate vaccines: clinical trials and control tests. **Crit Rev Microbiol (Boca Raton, FL)**, 28 (1): 27-41, 2002.

- LIM, S.; BAST, D.; McGEER, A.; De AZAVEDO, J.; LOW, D. E. Antimicrobial susceptibility breakpoints and first-step *parC* mutations in *Streptococcus pneumoniae*: redefining fluoroquinolone resistance. **Emerg Infect Dis (Atlanta)**, 9 (7): 833-837, 2003.
- LORIN, M. I.; FEIGIN, R. D. Fever without localizing signals and fever of unknown origin. In: FEIGIN, R. D.; CHERRY, J. D. **Textbook of pediatric infectious diseases**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p. 820-823.
- MACIAS, E. A.; MASON Jr., E. O.; OCERA, H. Y.; LaROCCO, M. T. Comparison of E test with standard broth microdilution for determining antibiotic susceptibilities of penicillin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. **J Clin Microbiol (Washington)**, 32 (2): 430-432, 1994.
- MAIDEN, M. C. J. Horizontal genetic exchange, evolution, and spread of antibiotic resistance in bacteria. **Clin Infect Dis (Chicago)**, 27 (Suppl 1): S12-20, 1998.
- MANTESE, O. C. Pneumococo resistente à penicilina: implicações práticas. **J Pediatr (Rio de Janeiro)**, 75 (Supl. 1): S74-S90, 1999.
- MANTESE, O. C.; HIRANO, J.; SANTOS, I. C.; SILVA, V. M.; CASTRO, E. Perfil etiológico das meningites bacterianas em crianças. **J Pediatria (Rio de Janeiro)**, 78 (6): 467-474, 2002.
- McCRACKEN Jr., G. H. Emergence of resistant *Streptococcus pneumoniae*: a problem in pediatrics. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, 14 (5): 424-428, 1995.
- McCRACKEN Jr., G. H. Treatment of acute otitis media in an era of increasing microbial resistance. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, 17 (6): 576-579, 1998.
- MIMS, C. A.; DIMMOCK, N. J.; NASH, A.; STEPHEN, J. **MIMS pathogenesis of infectious disease**. 4<sup>th</sup> ed. New York: Academic Press, 1995. 415p.
- MORAES, J. C.; GUEDES, J. S. Epidemiologia da meningite por *Streptococcus pneumoniae* em área metropolitana, Brasil, 1960-77. **Rev Saúde Públ S Paulo (São Paulo)**, 24: 348-360, 1990.
- MS. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação Geral do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública. **Epidemiological Surveillance of *S. pneumoniae* in Brazil**. 1994.
- MULHOLLAND, K. Strategies for the control of pneumococcal diseases. **Vaccine (Amsterdam)**, 17 (Suppl 1): S79-84, 1999.
- MUSHER, D. M. Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: clinical spectrum, pathogenesis, immunity, and treatment. **Clin Infect Dis (Chicago)**, 14 (4): 801-807, 1992.
- NASCIMENTO-CARVALHO, C. M.; SOUZA, L. S. F.; CARVALHO, O. A. M.; ALVES, N. N.; CALDAS, R. M.; BARBERINO, M. G.; DUARTE, J.; BRANDÃO, M. A.; MENDONÇA, D. R.; SILVA, A.; GUERRA, M. L.; BRANDILEONE, M. C.; Di FABIO, J. L. Cepas invasivas de pneumococo isoladas de crianças e adolescentes em Salvador. **J Pediatria (Rio de Janeiro)**, 79 (3): 209-214, 2003.

- NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard. NCCLS Publication M2-A5. Villanova, PA: **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, 1997a.
- NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. NCCLS Publication M7-A3. Villanova, PA: **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, 1997b.
- NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Supplemental tables. Disk diffusion. MIC. NCCLS Publication M100-S10 (M2), M100-S10 (M7). Villanova, PA: **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, 2000.
- NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Supplemental tables. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twelfth Informational Supplement. NCCLS Publication M100-S12, v. 22, n. 1. M2-A7 and M7-A5. Villanova, PA: **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, 2002.
- NGUI-YEN, J. H.; BRYCE, E. A.; PORTER, C.; SMITH, J. A. Evaluation of the E test by using selected Gram-positive bacteria. **J Clin Microbiol (Washington)**, **30** (8): 2150-2152, 1992.
- PATEL, M.; AHRENS, J. C.; MOYER, D. V.; DiNUBILE, M. J. Pneumococcal soft tissue infections: a problem deserving more recognition. **Clin Infect Dis (Chicago)**, **19** (1): 149-151, 1994.
- PETER, G. The child with pneumonia: diagnostic and therapeutic considerations. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **7** (6): 453-456, 1988.
- PETER, G.; KLEIN, J. O. *Streptococcus pneumoniae*. In: LONG, S. S.; PICKERING, L. K.; PROBER, C. G. **Principles and practice of pediatric infectious diseases**. USA, New York, 1997. p. 828-835.
- PLOTKOWSKI, M. C.; PUCHELLE, E.; BECK, G.; JACQUOT, J.; HANNOUN, C. Adherence of type I *Streptococcus pneumoniae* to tracheal epithelium of mice infected with influenza A/PR8 virus. **Am Rev Resp Dis (Baltimore)**, **134** (5): 1040-1044, 1986.
- POOLE, M. D. Implications of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* for otitis media. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **17** (10): 953-956, 1998.
- REIS, J. N.; CORDEIRO, S. M.; COPPOLA, S. J.; SALGADO, K.; CARVALHO, M. G. S.; TEIXEIRA, L. M.; THOMPSON, T. A.; FACKLAM, R. R.; REIS, M. G.; KO, A. I. Population-based survey of antimicrobial susceptibility and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* from meningitis patients in Salvador, Brazil. **J Clin Microbiol (Washington)**, **40** (1): 275-277, 2002.
- RILEY, I. D.; DOUGLAS, R. M. An epidemiologic approach to pneumococcal disease. **Rev Infect Dis (Chicago)**, **3** (2): 233-245, 1981.
- ROBBINS, J. B.; SCHNEERSON, R. Polysaccharide-protein conjugates: a new generation of vaccines. **J Infect Dis (Chicago)**, **161** (5): 821-832, 1990.

- RUBIN, L. G. Pneumococcal vaccine. In: LUTWICK, L. I.; RUBIN, L. G. *Pediatr Clin North Am (Philadelphia)*, 47(2): p. 269-285, 2000.
- RUOCCO, G.; CURTO, S.; SAVIO, M.; LAURANI, H.; FROCHT, R. Vacunacion contra *Haemophilus influenzae* tipo b en el Uruguay: experiencia e impacto. *Rev Panam Salud Publica (Washington)*, 5 (3): 197-199, 1999.
- RYAN, C. A.; WENMAN, W.; HENNINGSEN, C.; TSE, S. Fatal childhood pneumococcal Waterhouse-Friderichsen syndrome. *Pediatr Infect Dis J (Baltimore)*, 12 (3): 250-251, 1993.
- SANDERS, L. A. M.; RIJKERS, G. T.; KUIS, W.; TENBERGEN-MEEKES, A. J.; GRAEFF-MEEDER, B. R.; HIEMSTRA, I.; ZEGERS, B. J. M. Defective antipneumococcal polysaccharide antibody response in children with recurrent respiratory tract infections. *J Allergy Clin Immunol (St Louis)*, 91 (1 Pt 1): 110-119, 1993.
- SCHREIBER, J. R.; JACOBS, M. R. Pneumococos resistentes a antibióticos. In: SCHREIBER, J. R.; GOLDMAN, D. A. *Clínicas pediátricas da América do Norte*. Rio de Janeiro: Interlivros, 1995. p. 509-526.
- SCOTT, J. A. G.; HALL, A. J.; DAGAN, R.; DIXON, J. M. S.; EYKYN, S. J.; FENOLL, A.; HORTAL, M.; JETTÉ, L. P.; JORGENSEN, J. H.; LAMOTHE, F.; LATORRE, C.; MAcFARLANE, J. T.; SHLAES, D. M.; SMART, L. E.; TAUNAY, A. Serogroup-specific epidemiology of *Streptococcus pneumoniae*: associations with age, sex, and geography in 7,000 episodes of invasive disease. *Clin Infect Dis (Chicago)*, 22 (6): 973-981, 1996.
- SESSEGOLO, J. F.; LEVIN, A. S. S.; LEVY, C. E.; ASENSI, M.; FACKLAM, R. R.; TEIXEIRA, L. M. Distribution of serotypes and antimicrobial response of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Brazil from 1988-1992. *J Clin Microbiol (Washington)*, 32 (4): 906-911, 1994.
- SHANN, F. Etiology of severe pneumonia in children in developing countries. *Pediatr Infect Dis (Baltimore)*, 5 (2): 245-252, 1986.
- SHANN, F. Pneumococcus and Influenza. *Lancet (London)*, 335 (8694): 898-901, 1990.
- SHANN, F. The management of pneumonia in children in developing countries. *Clin Infect Dis (Chicago)*, 21 (Suppl 3): S218-225, 1995.
- SIMS, R. V.; STEINMANN, W. C.; McCONVILLE, J. H.; KING, L. R.; ZWICK, W. C.; SCHWARTZ, J. S. The clinical effectiveness of pneumococcal vaccine in the elderly. *Ann Intern Med (Philadelphia)*, 108 (5): 653-657, 1988.
- SNIADACK, D. H.; SCHWARTZ, B.; LIPMAN, H.; BOGAERTS, J.; BUTLER, J. C.; DAGAN, R.; ECHANIZ-AVILES, G.; LLOYD-EVANS, N.; FENOLL, A.; GIRGIS, N. I.; HENRICHSEN, J.; KLUGMAN, K.; LEHMANN, D.; TAKALA, A. K.; VANDEPITTE, J.; GOVE, S.; BREIMAN, R. F. Potential interventions for the prevention of childhood pneumonia: geographic and temporal differences in serotype and serogroup distribution of sterile site pneumococcal isolates from children: implications for vaccine strategies. *Pediatr Infect Dis J (Baltimore)*, 14 (6): 503-510, 1995.

SORENSEN, R. U.; LEIVA, L. E.; JAVIER III, F. C.; SACERDOTE, D. M.; BRADFORD, N.; BUTLER, B.; GIANGROSSO, P. A.; MOORE, C. Influence of age on the response to *Streptococcus pneumoniae* vaccine in patients with recurrent infections and normal immunoglobulin concentrations. **J Allergy Clin Immunol (Philadelphia)**, **102** (2): 215-221, 1998.

SORENSEN, U. B. S. Typing pneumococci using 12 pooled antisera. **J Clin Microbiol (Washington)**, **31** (8): 2097-2100, 1993.

SPIKA, J. S.; FEDSON, D. S.; FACKLAM, R. R. Vacinação antipneumocócica: controvérsias e oportunidades. In: SCHAFFNER, W. **Clínicas de doenças infecciosas da América do Norte**. Rio de Janeiro: Interlivros, 1990. p. 11-26.

TAKEMURA, N. S.; ANDRADE, S. M. Meningite por *Haemophilus influenzae* tipo b em cidades do estado do Paraná, Brasil. **J Pediatria (Rio de Janeiro)**, **77**: 387-392, 2001.

TAUNAY, A. E.; AUSTRIAN, R.; LANDGRAF, I. M.; VIEIRA, M. E. P.; MELLES, C. E. A. Sorotipos de *Streptococcus pneumoniae* isolados de líquido cefalorraquidiano no período de 1977-1988 na cidade de São Paulo, Brasil. **Rev Inst Med Trop S Paulo (São Paulo)**, **32**: 11-15, 1990.

TEELE, D. W. Pneumococcal infections. In: FEIGIN, R. D.; CHERRY, J. D. **Textbook of Pediatric infectious diseases**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p. 1129-1136.

TOMASZ, A. Surface components of *Streptococcus pneumoniae*. **Rev Infect Dis (Chicago)**, **3** (2): 190-211, 1981.

TOMASZ, A. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. **Clin Infect Dis (Chicago)**, **24**: S85-88, 1997.

TOMASZ, A.; CORSO, A.; SEVERINA, E. P.; ECHÁNIZ-AVILES, G.; BRANDILEONE, M. C. C.; CAMOU, T.; CASTAÑEDA, E.; FIGUEROA, O.; ROSSI, A.; Di FABIO, J. L. Molecular epidemiologic characterization of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* invasive pediatric isolates recovered in six Latin American countries: an overview. **Microb Drug Resist (New York)**, **4** (3): 195-207, 1998.

TUOMANEN, E. I.; AUSTRIAN, R.; MASURE, H. R. Mechanism of disease: pathogenesis of pneumococcal infection. **N Engl J Med (Boston)**, **332** (19): 1280-1284, 1995.

TUOMANEN, E. I.; LIU, H.; HENGSTLER, B.; ZAK, O.; TOMASZ, A. The induction of meningeal inflammation by components of the pneumococcal cell wall. **J Infect Dis (Chicago)**, **151** (5): 859-868, 1985.

VENGLARCIK, J. S. 3<sup>rd</sup>. *Streptococcus pneumoniae* antimicrobial susceptibility testing. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **19** (4): 329-331, 2000.

VOSS, L.; LENNON, D.; OKESENE-GAFA, K.; AMERATUNGA, S.; MARTIN, D. Invasive pneumococcal disease in a pediatric population, Auckland, New Zealand. **Pediatr Infect Dis J (Baltimore)**, **13** (10): 873-878, 1994.

WARD, J. I.; ZANGWILL, K. M. *Haemophilus influenzae* vaccines. In: PLOTKIN, S. A.; ORENSTEIN, W. A. **Vaccines**. 3<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1999. p. 183-221.

WATSON, D. A.; MUSER, D. M. A brief history of the pneumococcus in biomedical research. **Semin Respir Infect (Philadelphia)**, **14** (3): 198-208, 1999.

WATSON, D. A.; MUSER, D. M.; VERHOEF, J. Pneumococcal virulence factors and host immune response to them. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis (Berlin)**, **14** (6): 479-490, 1995.

WILLETT, H. P. *Streptococcus pneumoniae*. In: JOKLIK, W. K.; WILLETT, H. P.; AMOS, D. B.; WILFERT, C. M. **Zinsser microbiology**. 20<sup>th</sup> ed., USA: Norfolk, 1992. p. 432-442.

WILLIAMS, B. G.; GOUWS, E.; BOSCHI-PINTO, C.; BRYCE, J.; DYE, C. Estimates of world-wide distribution of child deaths from acute respiratory infections. **Lancet Infect Dis (New York)**, **2** (1): 25-23, 2002.

WINKELSTEIN, J. A. The role complement in the host's defense against *Streptococcus pneumoniae*. **Rev Infect Dis (Chicago)**, **3** (2): 289-298, 1981.

WINKELSTEIN, J. A.; TOMASZ, A. Activation of the alternative complement pathway by pneumococcal cell wall teichoic acid. **J Immunol (Baltimore)**, **120** (1): 174-178, 1978.

YAGUPSKY, P.; PORAT, N.; FRASER, D.; PRAJGROD, F.; MERIRES, M.; McGEE, L.; KLUGMAN, K. P.; DAGAN, R. Acquisition, carriage, and transmission of pneumococci with decreased antibiotic susceptibility in young children attending a day care facility in southern Israel. **J Infect Dis (Chicago)**, **177** (4): 1003-1012, 1998.

## SUMMARY

The objective of this study was to determine the prevalence of serotypes and antimicrobial susceptibility of invasive strains of *Streptococcus pneumoniae*, evaluate the implications for vaccine formulation and describe the epidemiologic and clinical features of the patients who were the source of the pneumococci. Strains of pneumococcus obtained from normally sterile fluids from patients admitted with invasive diseases were isolated and identified at the Laboratório de Análises Clínicas, Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, MG and forwarded to Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, for further identification, serotyping and determination of antimicrobial susceptibility. From April 1999 to March 2003, 148 invasive strains were obtained from patients, newborn to 88.83 years old (mean of  $21.3 \pm 25.8$  years and median of 4.4 years). Eighty-four (56.7%) patients were male and the most common diagnoses were pneumonia [91 cases (61.4%)], meningitis [32 cases (21.6%)] and bacteremia without focus [15 cases (10.1%)]. Strains were mostly isolated from blood [76 occasions (51.3%)], pleural fluid [39 occasions (26.3%)] and cerebrospinal fluid [30 occasions (20.2%)]. Death occurred in 22.3% of patients, but was higher in those beyond 64 years old ( $p < 0.001$ ). There were 23 different serotypes, and the most commonly identified were 14, 1, 3, 5, 6A, 6B and 18C. The coverage of the 7-valent conjugate pneumococcal vaccine, currently in use, was 46.7% of the serotypes and 63.6% of the strains obtained in children under six years old. Among 30 (20.2%) oxacillin-resistant strains, 23 (15.5%) were confirmed as resistant to penicillin [19 (12.8%) with intermediate level and four (2.7%), with plain resistance], and were restricted to serotypes 14, 23F, 19A and 6B. Resistance to penicillin varied with age, being more common in children under two years of age ( $p = 0.0008$ ). There was great agreement between the two techniques used for measuring pneumococcal minimum inhibitory concentration to penicillin. Diminished sensibility was detected to sulfamethoxazole-trimethoprim [92 isolates (63.4%)], to erythromycin [12 isolates (8.3%)], to clindamycin [12 isolates (8.7%)], to ofloxacin [one strain (0.8%)] and to cefotaxime [three strains (2%), also resistant to penicillin]. All isolates were susceptible to chloramphenicol, rifampin and vancomycin.

Uniterms: *Streptococcus pneumoniae*, serotypes, vaccines.

## ANEXOS

## Anexo I

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA - HOSPITAL DE CLÍNICAS  
LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS - SETOR DE BACTERIOLOGIA  
AV. PARÁ 1720. CAMPUS UMUARAMA. CEP 38.405-382. UBERLÂNDIA. MG.

FICHA:

Nome:

RG:

Endereço:

Data nascimento:

Idade:

Sexo:

Data de internação:

Peso:

Altura:

Data de alta:

Duração de internação:

Evolução:

História:

Diagnóstico clínico:

Tratamento antimicrobiano:

Evolução clínica:

Fonte da amostra:

Data da coleta:

Disco de optoquina:

Disco de oxacilina (1µg):

CIM (E test) penicilina:

Kirby-Bauer:

S=

R=

IAL: sorotipo

CIM penicilina: µg/ml

S=

R=

## Anexo 2



**Universidade Federal de Uberlândia**  
**Comitê de Ética em Pesquisa**

Parecer nº: 32/00

<b>Título do Projeto</b>	Vigilância epidemiológica do <i>Streptococcus pneumoniae</i> em Uberlândia, MG.		
<b>Coordenador</b>	Oscar Cesar Mendes		
<b>Relator</b>	Márcia Gore Furtado Sologuren		
<b>Área do Conhecimento</b>	medicina		
<b>Código</b>	4.01		
<b>Projeto</b>	<input type="checkbox"/> Local <input checked="" type="checkbox"/> Multicêntrico: <input type="checkbox"/> Nacional <input type="checkbox"/> Internacional		
<b>Área Temática</b>	<input type="checkbox"/> Grupo I <input type="checkbox"/> Grupo II <input checked="" type="checkbox"/> Grupo III	<b>Nível</b> <input type="checkbox"/> Prevenção <input type="checkbox"/> Epidemiológico <input type="checkbox"/> Diagnóstico <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Terapêutico	
<b>Objetivo(s)</b>	Avaliar o perfil de sorotipos e a sensibilidade dos antimicrobianos das cepas de <i>S. pneumoniae</i> obtidas em espécimes clínicos de indivíduos admitidos com doença invasiva, no Hospital de Clínicas da UFU		
<b>Metodologia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coleta: cepas de pneumococo isoladas no Setor de Bacteriologia do Laboratório de Análises Clínicas do HCU/UFU, a partir de material coletado de pacientes entesados</li> <li>• métodos:             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Identificação das cepas</li> <li>- Encaminhamento ao Laboratório de Sorologia do Setor de Bacteriologia do Instituto Roberto Leitz para sorotipagem e determinação de sensibilidade "in vitro"</li> </ul> </li> </ul>		

<b>Riscos e Benefícios</b>	<p>não há riscos para os indivíduos pois é de uso coletivo que não ocorre, em decorrência da pesquisa, alteração no tratamento usual adotado no HC UFTU</p> <p>Os benefícios são muito importantes, pois a identificação de cepas, a caracterização e a determinação da sensibilidade "in vitro" aos antimicrobianos possibilita entender a epidemiologia da doença em Uberlândia, a sensibilidade aos medicamentos e, em consequência, maior segurança no tratamento.</p>
----------------------------	--

<b>Orçamento</b>	não consta	<b>Financiador</b>	
------------------	------------	--------------------	--

<b>Termo de Consentimento</b>	<input checked="" type="checkbox"/> Adequado	<input type="checkbox"/> Inadequado
-------------------------------	--	-------------------------------------

<b>Observações Relevantes</b> (Restrições, etc...)	<p>não consta o orçamento nem financiador porém, com o apoio de um estudo multicêntrico, com participação do Grupo de Vigilância Epidemiológica do S. pneumoniae no Brasil, Projeto Saneita, O PAS e OMS, pesquisas que não tenha problemas de financiamento. Em Uberlândia, há a concordância do diretor geral do HC UFTU</p>
---	--

<b>Parecer</b>	<input checked="" type="checkbox"/> Favorável	<input type="checkbox"/> Favorável com Restrições	<input type="checkbox"/> Desfavorável
----------------	---	---	---------------------------------------

<b>Local e Data:</b> Uberlândia, 18 de setembro de 2000
--

<p><i>Erwin José Pereira Sologuren</i></p> <p>Assinatura</p>
--

## Anexo 3



0021-7557/03/79-06/537

Jornal de Pediatria

Copyright © 2003 by Sociedade Brasileira de Pediatria

## ARTIGO ORIGINAL

## Prevalência de sorotipos e resistência antimicrobiana de cepas invasivas do *Streptococcus pneumoniae*

Prevalence of serotypes and antimicrobial resistance of invasive strains of *Streptococcus pneumoniae*

Orlando C. Mantese<sup>1</sup>, Alan Paula<sup>2</sup>, Ademir B. Moraes<sup>3</sup>, Tomaz A. Moreira<sup>4</sup>,  
Maria L.L.S. Guerra<sup>5</sup>, Maria C.C. Brandileone<sup>6</sup>

## Resumo

**Objetivo:** Avaliar o perfil de sorotipos e a susceptibilidade aos antimicrobianos de cepas de *Streptococcus pneumoniae* obtidas em espécimes clínicos de pacientes com doença invasiva, bem como suas implicações na formulação de vacinas pneumocócicas.

**Métodos:** Cepas de pneumococo isoladas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia a partir de amostras clínicas de pacientes com doença invasiva foram identificadas e enviadas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo para confirmação da identificação, sorotipagem e determinação da susceptibilidade aos antimicrobianos.

**Resultados:** De abril de 1999 a março de 2003, foram isoladas 148 cepas invasivas de pneumococo, sendo 84 (56,7%) provenientes de pacientes do sexo masculino. A idade variou de um dia a 88,83 anos, com média de 21,33±25,82 anos e mediana de 4,42 anos. Os diagnósticos clínicos mais comuns foram pneumonia (91 casos; 61,4%), meningite (32 casos; 21,6%) e bacteremia sem foco evidente (15 casos; 10,1%). As principais fontes de recuperação foram sangue (76 amostras; 51,3%), líquido pleural (39; 26,3%) e líquor (30; 20,2%). No total, foram identificados 23 diferentes sorotipos entre 143 amostras testadas, sendo os mais comuns os seguintes: 14, 3, 1, 5, 6A, 6B e 18C. Dentre 30 (20,2%) cepas oxacilina-resistentes, 23 (15,5%) confirmaram a resistência à penicilina (12,8% com nível intermediário e 2,7% com nível pleno), que esteve restrita aos sorotipos 14, 23F, 19A e 6B, predominando em indivíduos com até dois anos de idade ( $p = 0,0008$ ). Foi detectada susceptibilidade diminuída ao cotrimoxazol (63,4%), à eritromicina (8,3%), à clindamicina (8,7%) e à ofloxacina (0,8%). A resistência à cefotaxima foi detectada em três das 30 cepas testadas (2% das 148), todas elas com resistência confirmada à penicilina. Não foi observada resistência a cloranfenicol, rifampicina ou vancomicina.

**Conclusões:** A resistência à penicilina foi detectada em 15,5% das cepas e predominou em crianças abaixo de dois anos de idade. Foram identificados 23 diferentes sorotipos de *Streptococcus pneumoniae* em pacientes internados com doença invasiva, e a maioria dos sorotipos (82,6%) e das cepas (90,2%) está incluída na vacina polissacarídica 23-valente. As cifras para a vacina 7-valente, atualmente disponível (PN CRM7), são de 46,7% dos sorotipos e 63,6% das cepas, obtidos de crianças com até cinco anos de idade.

*J Pediatr (Rio J) 2003;79(6):537-42: Streptococcus pneumoniae, sorotipos, vacinas.*

## Abstract

**Objective:** To determine the prevalence of serotypes and antimicrobial susceptibility of invasive strains of *Streptococcus pneumoniae* and to discuss the implications of these findings for vaccine formulation.

**Methods:** Strains of *Streptococcus pneumoniae* obtained from normally sterile fluids from patients admitted with invasive diseases were isolated and identified at the Hospital de Clínicas, Universidade Federal de Uberlândia, state of Minas Gerais, and forwarded to Instituto Adolfo Lutz, state of São Paulo, for further identification, serotyping and determination of antimicrobial susceptibility.

**Results:** From April 1999 to March 2003, 148 invasive strains of *Streptococcus pneumoniae* were obtained. The age of patients ranged from 1 day to 88.83 years (mean: 21.33±25.82 years; median: 4.42 years). Eighty-four (56.7%) patients were male. The most common diagnoses were pneumonia (91 cases; 61.4%), meningitis (32 cases; 21.6%) and occult bacteremia (15 cases; 10.1%). Strains were isolated mostly from blood (76 occasions; 51.3%), pleural fluid (39 occasions; 26.3%) and cerebrospinal fluid (30 occasions; 20.2%). There were 23 different serotypes, and the most common were 14, 3, 1, 5, 6A, 6B and 18C. Among 30 (20.2%) oxacillin-resistant strains, 23 (15.5%) were confirmed as resistant to penicillin (12.8% intermediate resistance and 2.7% full resistance). Oxacillin-resistant strains were restricted to serotypes 14, 23F, 19A and 6B. Resistance to penicillin varied with age, being more common in children under two years of age ( $p=0.0008$ ). We observed decreased sensibility to sulfamethoxazole-trimethoprim (92 isolates; 63.4%), to erythromycin (12 isolates; 8.3%), to clindamycin (12 isolates; 8.7%), to ofloxacin (one strain; 0.8%) and to cefotaxime (three strains; 2%; also resistant to penicillin). All isolates were susceptible to chloramphenicol, rifampin and vancomycin.

**Conclusions:** The decreased susceptibility to penicillin, detected in 15.5% of the strains was predominant in children under two years of age. There were 23 different *Streptococcus pneumoniae* serotypes. The 23-valent polysaccharide vaccine covers 82.6% of the serotypes and 90.2% of the invasive strains isolated in this population. In addition, 46.7% of the serotypes and 63.6% of the strains isolated from children until five years of age are covered in the currently available 7-valent conjugated vaccine (PN CRM7).

*J Pediatr (Rio J) 2003;79(6):537-42: Streptococcus pneumoniae, serotypes, vaccines.*

1. Doutor em Pediatria pela Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (Unifesp – EPM). Professor, Dep. de Pediatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Uberlândia (UFU).
2. Médico Pediatra, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, UFU.
3. Médico Chefe do Laboratório de Análises Clínicas, Hospital de Clínicas, UFU. Professor, Dep. de Clínica Médica, Fac. de Medicina, UFU. *In memoriam*.
4. Técnico, Laboratório de Análises Clínicas, Hospital de Clínicas, UFU.
5. Seção de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz (IAL), São Paulo.
6. Doutora em Ciências pela Unifesp – EPM. Coord. do Projeto Sistema Regional de Vacinas (Sireva) no Brasil, Seção de Bacteriologia, IAL, São Paulo.

Artigo submetido em 08.05.03, aceito em 23.07.03.