UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

MARTA INÊS CAZENTINI MEDEIROS

Sorotipos e perfil de resistência antimicrobiana do
Streptococcus pneumoniae: implicações clínicas na doença
invasiva e no programa nacional de imunização (1998-2013)

RIBEIRÃO PRETO

2015

MARTA INÊS CAZENTINI MEDEIROS

Sorotipos e perfil de resistência antimicrobiana do
Streptococcus pneumoniae: implicações clínicas na doença
invasiva e no programa nacional de imunização (1998-2013)

Tese apresentada à Escola de Enfermagem de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em Ciências, Programa
de Pós-Graduação Enfermagem Fundamental.

Linha de pesquisa: Doenças Infecciosas:
problemática e estratégias de enfrentamento

Orientador: Denise de Andrade

RIBEIRÃO PRETO

2015

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Medeiros, Marta Inês Cazentini

Sorotipos e perfil de resistência antimicrobiana do *Streptococcus pneumoniae*: implicações clínicas na doença invasiva e no programa nacional de imunização (1998-2013). Ribeirão Preto, 2015.

151 p.: il.; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Enfermagem Fundamental.

Orientador: Denise de Andrade

1. *Streptococcus pneumoniae*. 2. pneumococo. 3. sorotipos. 4. vacina conjugada. 5. resistência antimicrobiana.

MEDEIROS, Marta Inês Cazentini

Sorotipos e perfil de resistência antimicrobiana do *Streptococcus pneumoniae*: implicações clínicas na doença invasiva e no programa nacional de imunização (1998-2013)

Tese apresentada à Escola de Enfermagem de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em Ciências, Programa
de Pós-Graduação Enfermagem Fundamental.

Aprovado em / /

Comissão Julgadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais:

Pelo exemplo de dedicação e honestidade, e por serem meu porto seguro em todos os momentos da vida.

Para Sérgio e Danilo:

Pela compreensão nos momentos de ausência.

AGRADECIMENTOS

À energia divina que sempre me guia, ilumina e protege;

À Professora Doutora Denise da Andrade, orientadora, que desde o primeiro contato me recebeu de braços abertos, agradeço ainda a experiência e ajuda na conclusão do trabalho;

Às diretoras do Centro de Laboratório Regional VI, Instituto Adolfo Lutz- Ribeirão Preto (CLR-RP), Eloisa Del Tedesco e Madalena Hisako T. Okino pelo incentivo e liberação para as atividades da Pós-Graduação;

Aos amigos Aninha, Paulo, Ana Paula e Jaqueline da bacteriologia do CLR-RP, pelo coleguismo, amizade e apoio;

À seção de bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz – Central / SP, pela realização das sorotipagem e teste de sensibilidade dos *Streptococcus pneumoniae*.

Ao Prof. Dr. Bento Vidal de Moura Negrini e Dr^a. Jorgete Maria e Silva do Núcleo Hospitalar de Epidemiologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, pelo fornecimento do banco de dados hospitalares;

Ao PROEX-CAPES pelo apoio financeiro recebido no estudo.

“ De tudo, ficaram três coisas:
A certeza de que estamos sempre começando...
A certeza de que precisamos continuar...
A certeza de que seremos interrompidos antes de
terminar...

Portanto devemos:
Fazer da interrupção um caminho novo...
Da queda um passo de dança...
Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte...
Da procura, um encontro...”

Fernando Pessoa

RESUMO

MEDEIROS, M.I.C. Sorotipos e perfil de resistência antimicrobiana do *Streptococcus pneumoniae*: implicações clínicas na doença invasiva e no programa nacional de imunização (1998-2013). 2015. 153 f. Tese (Doutorado) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

As infecções por *Streptococcus pneumoniae* (pneumococo) ainda desafiam os sistemas de saúde em todo mundo. Este é um estudo observacional, de seguimento retrospectivo, que avaliou aspectos microbiológicos e clínicos das cepas de pneumococo isoladas de pacientes com doença invasiva pneumocócica (DIP) isolados nos Departamentos Regionais de Saúde (DRS) de Araraquara, Barretos, Franca e Ribeirão Preto, em um período de 16 anos (1998-2013). As informações foram obtidas junto ao Instituto Adolfo Lutz e, no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP). Analisou-se 796 linhagens, com predomínio do gênero masculino (58,9%), da faixa etária de 20 a menores de 60 anos de idade (32,2%) e do período de 2003 a 2010 (60,2%). As DIPs mais comuns foram a meningite (45,7%) e a pneumonia (45,0%). Quanto aos sorotipos mais frequentes, observou-se em 83,3%: 14, 3, 19F, 1, 6A, 6B, 23F, 9V, 18C, 19A, 12F, 4, 7F, 5, 22F, 11A, 8, 9N, 10A e 15C, sendo o 14 o mais comum nos quatro DRS estudados. Os sorotipos 14, 3 e 19F foram mais frequentes na meningite, enquanto os sorotipos 14, 3 e 1 na pneumonia. Após 2010, verificou-se diminuição dos sorotipos 14, 1, 23F e 5 e aumento de 12F, 11A e 8, não contidos na vacina. A resistência à penicilina foi de 14,8%, sendo 3,0% resistência intermediária e 11,8% de resistência plena. Para ceftriaxona, 5,3% foram não sensíveis. A sensibilidade ao cloranfenicol, eritromicina e ceftriaxona manteve-se acima dos 90%, no período estudado. O maior nível de resistência foi observado para Sulfametoxazol/trimetoprim (49,4%). Destaca-se o aumento dos sorotipos 12F, 11A e 8 após a vacinação, considerando que nenhum deles compõe as vacinas conjugadas disponíveis. Observou-se variabilidade de resistência entre os diferentes sorotipos de pneumococo. A DIP mais frequente nos pacientes cadastrados no HCRP foi a pneumonia (67,8%), seguida da meningite (22,9%) tendo como sorotipos mais frequentes 14, 6A, 23F, 1, 3, 18C, 19F, 12F, 4, 9V, 6B e 19A. Destes pacientes 67,5% apresentaram cura sem sequelas, 6,9% tiveram algum tipo de sequela e 25,6% evoluíram para óbito. A pneumonia causou 18,2% dos óbitos, principalmente na faixa etária de 20 a menores de 60 anos de idade. Os sorotipos 12F, 14, 18C, 9V, 18A, 19A e 23F foram responsáveis por 64,9% dos óbitos por meningite, enquanto os sorotipos 3, 14, 9V, 6B, 23F e 19F estiveram envolvidos em 63,4% das mortes por pneumonia. Entre os pacientes que morreram 68,2% tinham algum tipo de comorbidade, sendo HIV/AIDS, alcoolismo e câncer as mais comuns. A faixa etária com 60 anos ou mais foi a mais significativa (OR=4,2) para o insucesso, independente da presença de comorbidade. A presença do sorotipo 18C foi fator de risco significativo tanto na análise bruta (OR=3,8), quanto ao ajustar por comorbidade (OR=5,0) ou ajustada por idade (OR=5,4). O mesmo ocorreu para o sorotipo 12F (respectivamente, OR=5,1, OR=5,0 e OR=4,7). Observou-se alterações na circulação de alguns sorotipos de pneumococo no período pós VPC10. Ressalta-se a importância da continuidade da vigilância das DIPs, afim de determinar oscilações clínicas e microbiológicas da doença. Além disto, na era das vacinas conjugadas, o contínuo monitoramento sobre a distribuição de sorotipos na população é necessário para a avaliação do impacto e adequação da imunização.

Palavras chave: *Streptococcus pneumoniae*, pneumococo, sorotipos, vacina conjugada, resistência antimicrobiana

ABSTRACT

MEDEIROS, M.I.C. **Serotypes and antimicrobial resistance profile of *Streptococcus pneumoniae*: clinical implications in invasive disease and in national immunization program (1998-2013).**

Infections by *Streptococcus pneumoniae* (pneumococcus) are still a challenge to health systems worldwide. An observational retrospective study was developed to assess microbiological and clinical aspects of pneumococcus strains isolated from patients with invasive pneumococcal diseases (IPD) which were isolated in the Regional Health Departments (DRS) of Araraquara, Barretos, Franca and Ribeirão Preto, in a period of 16 years (1998-2013). Data were obtained at the Adolfo Lutz Institute and in databases of the Clinics Hospital of Ribeirão Preto (HCRP). A total of 796 strains were analyzed, with prevalence of male individuals (58.9%), aged between 20 and 60 years (32.2%), and in the period between 2003 and 2010 (60.2%). The most common IPD were meningitis (45.7%) and pneumonia (45.0%). Regarding the most frequent serotypes, in 83.3% they were: 14, 3, 19F, 1, 6A, 6B, 23F, 9V, 18C, 19A, 12F, 4, 7F, 5, 22F, 11A, 8, 9N, 10A and 15C, with 14 being the most common in the four DRS studied. Serotypes 14, 3 and 19F were more frequent in meningitis, whereas serotypes 14, 3 and 1 were more frequent in pneumonia. After 2010, there was a decrease in serotypes 14, 1, 23F and 5, and an increase in 12F, 11A and 8, which are not included in the vaccine. Resistance to penicillin was 14.8%, with 3.0% being intermediate, and 11.8% full resistance. For ceftriaxone, 5.3% were not sensitive. Sensitivity to chloramphenicol, erythromycin and ceftriaxone remained over 90% in the studied period. The highest level of resistance was observed for Sulfamethoxazole/trimethoprim (49.4%). It is noteworthy that there was an increase in the serotypes 12F, 11A and 8 after vaccination, considering that none of them make up the combined vaccines available. Resistance varied among the different serotypes of pneumococcus. The most frequent IPD in the patients registered in the HCRP was pneumonia (67.8%), followed by meningitis (22.9%), with the most frequent serotypes being 14, 6A, 23F, 1, 3, 18C, 19F, 12F, 4, 9V, 6B and 19A. Of these patients, 67.5% were cured without sequela, 6.9% had some sort of sequela and 25.6% evolved to death. Pneumonia caused 18.2% of the deaths, mainly in the age range between 20 and 60 years. Serotypes 12F, 14, 18C, 9V, 18A, 19A and 23F were responsible for 64.9% of the deaths by meningitis, whereas serotypes 3, 14, 9V, 6B, 23F and 19F were involved in 63.4% of the deaths by pneumonia. Among the patients who died, 68.2% had some sort of comorbidity, with HIV/AIDS, alcoholism and cancer being the most common. The age range over 60 years was the most significant (OR=4.2) for failure, regardless of the presence of a comorbidity. The presence of serotype 18C was a significant risk factor both in the gross analysis (OR=3.8), and in the adjustment as for comorbidity (OR=5.0) or age (OR=5.4). This was also true for the serotype 12F (respectively, OR=5.1, OR=5.0 and OR=4.7). There were alterations in the circulation of some pneumococcus serotypes in the period after VPC10. It is emphasized the importance of continued monitoring of DIPs, in order to determine clinical and microbiological fluctuations of the disease. In addition, in the era of combined vaccines, it is necessary to keep monitoring the distribution of serotypes in the population to assess the impact and adequacy of immunization.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, pneumococcus, serotypes, conjugate vaccine, antimicrobial resistance

RESUMEN

MEDEIROS, M.I.C. Serotipos y perfil de resistencia antimicrobiana del *Streptococcus pneumoniae*: implicaciones clínicas en la enfermedad invasiva y en el programa nacional de inmunización (1998-2013).

Las infecciones por *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) desafían aún los sistemas de salud en todo el mundo. Estudio observacional, de seguimiento retrospectivo, evaluando aspectos microbiológicos y clínicos de cepas de neumococo aisladas de pacientes con enfermedad invasiva nemocócica (EIN) aislados en Departamentos Regionales de Salud (DRS) de Araraquara, Barretos, Franca y Ribeirão Preto en período de 16 años (1998-2013). Informaciones obtenidas en el Instituto Adolfo Lutz y en banco de datos del Hospital de Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP). Se analizaron 796 cepas, predominio de género masculino (58,9%), de faja etaria de 20 a menores de 60 años (32,2%) y del período de 2003 a 2010 (60,2%). Las EINs más comunes fueron la meningitis (45,7%) y la neumonía (45,0%). Respecto a los serotipos más frecuentes, 83,3% correspondió a: 14, 3, 19F, 1, 6A, 6B, 23F, 9V, 18C, 19A, 12F, 4, 7F, 5, 22F, 11A, 8, 9N, 10A y 15C, siendo el 14 el más común en los cuatro DRS estudiados. Los serotipos 14, 3 y 19F fueron más frecuentes en meningitis, mientras que los serotipos 14, 3 y 1, en neumonía. Después de 2010, se verificó disminución de los serotipos 14, 1, 23F y 5, y aumento de 12F, 11A y 8, no contemplados en la vacuna. La resistencia a penicilina fue de 14,8%, siendo 3,0% resistencia intermedia y 11,8% resistencia plena. El 5,3% resultó no sensible a ceftriaxona. La sensibilidad a cloranfenicol, eritromicina y ceftriaxona se mantuvo encima de 90%, en el período estudiado. Se observó mayor nivel de resistencia a Sulfametoxazol/trimetoprima (49,4%). Se resalta el aumento de serotipos 12F, 11A y 8 después de vacunación, considerando que ninguno es parte de las vacunas integradas disponibles. Existió variabilidad de resistencia entre los diferentes serotipos de neumococo. La EIN más frecuente en los pacientes registrados en HCRP fue la neumonía (67,8%), seguida de meningitis (22,9%), siendo los serotipos más frecuentes 14, 6A, 23F, 1, 3, 18C, 19F, 12F, 4, 9V, 6B y 19A. De estos pacientes 67,5% alcanzó cura sin secuelas, 6,9% tuvo algún tipo de secuela, y 25,6% derivó en óbito. La neumonía causó 18,2% de los óbitos, especialmente en faja etaria de 20 a menores de 60 años. Los serotipos 12F, 14, 18C, 9V, 18A, 19A y 23F fueron responsables de 64,9% de los óbitos por meningitis, y los serotipos 3, 14, 9V, 6B, 23F y 19F estuvieron relacionados con 63,4% de las muertes por neumonía. Entre los pacientes que murieron, 68,2% tenía alguna comorbilidad, siendo HIV/SIDA, alcoholismo y cáncer las más comunes. La faja etaria de 60 años o más fue la más significativa (OR=4,2) en el infortunio, independientemente de presencia de comorbilidad. La presencia del serotipo 18C fue factor de riesgo significativo, tanto en análisis bruto (OR=3,8), como al ajustar por comorbilidad (OR=5,0) o por edad (OR=5,4). Lo mismo sucedió con el serotipo 12F (respectivamente, OR=5,1, OR=5,0 e OR=4,7). Existieron alteraciones en circulación de algunos serotipos de neumococo en período post VPC10. Se destaca la importancia de continuidad de vigilancia de EINs, con el fin de determinar las variaciones clínicas y microbiológicas de la enfermedad. Además, en la era de las vacunas integradas, el monitoreo continuo de distribución de serotipos en la población es necesario para evaluar impacto y adecuación de la inmunización.

Palabras clave: *Streptococcus pneumoniae*, neumococo, serotipos, vacuna conjugada, resistencia a los antimicrobianos

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidade (número e %) de pacientes com doença invasiva pneumocócica segundo Departamento Regional de Saúde (DRS), no período de 1998 a 2013.....	48
Tabela 2. Procedência das cepas de <i>S. pneumoniae</i> isoladas de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, de 1998 a 2013.....	48
Tabela 3. Materiais biológicos de pacientes com doença invasiva pneumocócica, nos quais isolou-se <i>S. pneumoniae</i> , segundo dos Departamentos Regionais de Saúde (DRS), de 1998 a 2013.....	49
Tabela 4. Pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo características demográficas e diagnóstico clínico primário, de 1998 a 2013.....	55
Tabela 5. Pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a afixa etária e o período, de 1998 a 2013.....	60
Tabela 6. Pacientes com doença invasiva pneumocócica (DIP) atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, de 1998 a 2013.....	61
Tabela 7. Faixa etária dos pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo as principais DIPs diagnosticadas, de 1998 a 2013.....	62
Tabela 8. Diferentes sorotipos de <i>S. pneumoniae</i> identificados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o Departamento Regional de Saúde (DRS) de origem, de 1998 a 2013.....	64
Tabela 9. Sorotipos vacinais e não vacinais de <i>S. pneumoniae</i> isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o período do isolamento, de 1998 a 2013.....	66
Tabela 10. Sorotipos de <i>S. pneumoniae</i> mais isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o período de isolamento, de 1998 a 2013.....	70
Tabela 11. Sorotipos de <i>S. pneumoniae</i> mais isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica (DIP) atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo as principais DIPs diagnosticadas, de 1998 a 2013.....	72
Tabela 12. Sorotipos de <i>S. pneumoniae</i> mais isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a faixa etária dos pacientes, de 1998 a 2013.....	75

Tabela 13. Perfil de sensibilidade do *S. pneumoniae* aos antimicrobianos, realizado pelo teste de disco difusão nos isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, de 1998 a 2013.....**77**

Tabela 14. Perfil de sensibilidade do *S. pneumoniae* à penicilina e ceftriaxona, realizado pela Concentração Inibitória Mínima nos isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, de 1998 a 2013.....**78**

Tabela 15. Perfil de sensibilidade do *S. pneumoniae* aos antimicrobianos, dos isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o período do isolamento, de 1998 a 2013.....**80**

Tabela 16. Diferentes sorotipos de *S. pneumoniae* mais isolados em pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo perfil de sensibilidade à penicilina, de 1998 a 2013.....**81**

Tabela 17. Principais doenças invasivas pneumocócicas (DIP) diagnosticas em pacientes atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o perfil de sensibilidade à penicilina, de 1998 a 2013.....**83**

Tabela 18. Principais doenças invasivas pneumocócicas (DIP) diagnosticas em pacientes atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o perfil de sensibilidade à ceftriaxona, de 1998 a 2013.....**85**

Tabela 19. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 9V aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....**86**

Tabela 20. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 9N aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013..... **86**

Tabela 21. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 8 aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....**87**

Tabela 22. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 7F aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....**87**

Tabela 23. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 14 aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de

Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....88

Tabela 24. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 6B aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....88

Tabela 25. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 1 aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....89

Tabela 26. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 11A aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....89

Tabela 27. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 12F aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....90

Tabela 28. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 18C aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....90

Tabela 29. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 19A aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....91

Tabela 30. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 19F aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....91

Tabela 31. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 22F aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....92

Tabela 32. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 23F aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....92

Tabela 33. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 3 aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de

Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....93

Tabela 34. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 4 aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....93

Tabela 35. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 5 aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....94

Tabela 36. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 6A aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a relação com outros sorotipos mais isolados, de 1998 a 2013.....94

Tabela 37. Características demográficas e diagnóstico clínico primário dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, de 1998 a 2013.....97

Tabela 38. Sorotipos de *S. pneumoniae* isolados dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, de 1998 a 2013.....98

Tabela 39. Número e porcentagem do sucesso/insucesso no desfecho final dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, de 1998 a 2013.....99

Tabela 40. Óbitos de pacientes com doença invasiva pneumocócica (DIP) cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, segundo a faixa etária e as DIPs mais frequentes, de 1998 a 2013.....100

Tabela 41. Características demográficas e presença de comorbidade dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, segundo o desfecho final, de 1998 a 2013.....103

Tabela 42. Sorotipos de *S. pneumoniae* mais frequentes relacionados aos demais sorotipos, isolados dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, segundo o desfecho final, de 1998 a 2013.....104

Tabela 43. Análise ajustada dos fatores associados ao insucesso (cura com sequela/óbito) dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, período de 1998 a 2013.....105

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Coloração de Gram - diplococos Gram-positivos, característicos de pneumococos e células polimorfonucleares.....	25
Figura 2. Imagem da cápsula de <i>S. pneumoniae</i> – Microscopia eletrônica....	26
Figura 3. Esquema dos principais fatores de virulências do <i>S. pneumoniae</i> ..	27
Figura 4. Fluxograma da identificação bacteriológica do <i>S. pneumoniae</i>	28
Figura 5. Cadeia de transmissão do pneumococo.....	31
Figura 6. Distribuição global da letalidade por pneumonia em crianças de 0 a 4 anos.....	32
Figura 7. Redes Regionais de Atenção à Saúde do Estado de São Paulo, 2011.....	47
Figura 8. Divisão geográfica da RRAS 13: Araraquara, Barretos, Franca e Ribeirão Preto.....	47

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Porcentagem de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o ano de atendimento e o Departamento Regional de Saúde (DRS), de 1998 a 2013.....**56**

Gráfico 2. Porcentagem de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a procedência e o Departamento Regional de Saúde(DRS), de 1998 a 2013.....**57**

QUADRO

Quadro 1. Resumo das diferenças estatísticas da sensibilidade de cada sorotipo de *S. pneumoniae* mais frequente em pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, relacionados aos demais sorotipos, de 1998 a 2013.....**95**

LISTA DE SIGLAS

Cbp	Proteína de ligação a colina
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CIM/MIC	Concentração Inibitória Mínima
ClpP	Proteína de choque térmico
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standard Institute</i>
CRIEs	Centro de Referência para Imunobiológicos Especiais
CVE	Centro de Vigilância Epidemiológica
DIP	Doença Invasiva Pneumocócica
DRS	Departamentos Regionais de Saúde
EUA	Estados Unidos da América
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
HC-RP	Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
Hyl	Hialuronatolase
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IRAs	Infecções Respiratórias Agudas
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
Lyt	Autolisina
MLST	<i>Multilocus Sequence Typing</i>
MS	Ministério da Saúde
Nan	neuraminidases
NR	Não realizado
NT	Não tipável
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Panamericana da Saúde
OR	Odds Ratio
PBPs	Proteínas Fixadoras de Penicilina (<i>Penicillin-Binding Proteins</i>)
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PFGE	Eletroforese de Campo Pulsátil
Ply	Pneumolisina
PNI	Programa Nacional de Imunizações
Psa	Adesina de superfície pneumocócica

PSC	Cápsula Polissacarídica
Psp	Proteína de superfície pneumocócica
RRAS 13	Rede Regional de Atenção à Saúde 13
SES	Secretaria de Estado da Saúde
SINAN	Sistema de Informações de Agravos de Notificação
SMT	Sulfametoxazol/trimetoprim
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
VE	Vigilância Epidemiológica
VPC7	Vacina Pneumocócica Conjugada 7-valente
VPC10	Vacina Pneumocócica Conjugada 10-valente
VPC13	Vacina Pneumocócica Conjugada 13-valente
VPC23	Vacina Pneumocócica Polissacarídica 23-valente
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	23
1.1. <i>Streptococcus pneumoniae</i> : Aspectos microbiológicos.....	25
1.2. <i>Streptococcus pneumoniae</i> : Implicações na saúde humana.....	30
1.3. <i>Streptococcus pneumoniae</i> : Medidas terapêuticas e profiláticas.....	35
1.4. Justificativa do estudo.....	41
2. OBJETIVOS.....	43
2.1. Objetivo geral.....	44
2.2. Objetivos específicos.....	44
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
3.1. Características da área e população do estudo.....	46
3.2. Procedimento de captação dos dados.....	48
3.2.1. Critério de inclusão e exclusão.....	50
3.2.2. Variáveis de estudo.....	50
3.3. Informações microbiológicas.....	50
3.4. Procedimentos de análises e inferência dos resultados.....	51
3.5. Procedimentos éticos em pesquisa.....	51
3.6. Restrições e limitações do estudo.....	52
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
4.1. Caracterização demográfica e clínica dos casos de DIP, na RRAS 13 de 1998 a 2013.....	54
4.2. Caracterização das amostras de <i>Streptococcus pneumoniae</i> , segundo os sorotipos.....	63
4.3. Perfil de sensibilidade do <i>Streptococcus pneumoniae</i> aos antimicrobianos.....	76
4.4. Informações clínicas dos pacientes com DIP internados no HCRP/USP.....	96
5. CONCLUSÃO.....	109

REFERÊNCIAS.....	112
APÊNDICES.....	144
APÊNDICE A: Instrumento de Coleta de dados sobre <i>Streptococcus pneumoniae</i>	145
APÊNDICE B: Técnicas laboratoriais para isolamento, identificação teste de sensibilidade e sorotipagem de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	147
ANEXO Cópia ofício de aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.....	150

1. INTRODUÇÃO

As inter-relações entre a ocorrência das doenças transmissíveis e as mudanças demográficas, ambientais e sociais desafiam estudiosos, desde os primórdios da humanidade. É vasta a bibliografia sobre o tema e longa a lista de evidências que comprovam o impacto das práticas de prevenção na redução dos índices de infecção. Complexas por sua natureza, torna-se imprescindível a existência de uma rede de vigilância epidemiológica fortalecida e atuante, capaz de gerar dados que possam direcionar as medidas de prevenção e controle das doenças infecciosas.

Entre as doenças infecciosas de origem comunitária destacam-se as de transmissão respiratória, pela gravidade e fácil disseminação nas comunidades. Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2009), as infecções respiratórias agudas (IRAs) são causa comum da assistência médica em unidades de saúde, além de serem a principal causa de faltas escolares entre as crianças e nos adultos são responsáveis por número considerável de absenteísmo no trabalho. Anualmente cerca de 10,2 milhões de crianças menores de 5 anos são acometidas por infecções, com 20% de óbitos associados a IRAs, são cerca de 3,5 a 5 milhões de óbitos por ano (BRICKS; BEREZIN, 2006). Cabe lembrar que, em geral, as crianças apresentam comportamentos ou hábitos que facilitam a disseminação microbiana, como levar as mãos e objetos frequentemente à boca, contato interpessoal muito próximo, dificuldade em manter plena autonomia dos cuidados básicos de higiene pessoal, principalmente apresentam déficit da prática de lavar as mãos.

Ainda, acresce-se que a veiculação microbiana está relacionada ao contato direto e/ou indireto com pessoas infectadas ou colonizadas (portadores assintomáticos) as quais representam importantes reservatórios de agentes infecciosos. A aquisição ou não da infecção tem influência direta com a idade, condições clínica e imunológica do hospedeiro, bem como, nível educacional e social e, na manutenção do ambiente biologicamente seguro por meio de práticas de higiene. Nesse sentido, locais que aglomeram as pessoas, como nas escolas, facilitam o processo de transmissão e o aumento de casos de doenças transmissíveis.

Embora a maioria das IRAs esteja associada a agentes etiológicos virais, as bactérias como *Streptococcus pneumoniae* (pneumococo) e *Haemophilus influenzae* representam as principais causas de IRAs bacterianas. Nos últimos anos, as IRAs

associadas ao *Haemophilus influenzae* tiveram redução acentuada, passando a ser o pneumococo o principal agente bacteriano (OPAS, 2010a, WHO, 2009). A distribuição do *S. pneumoniae* é global e está presente em todas as estações do ano e em qualquer clima. Em países de clima temperado a maior incidência de pneumonia por esta bactéria é observada nos meses de inverno e primavera (OPAS, 2010b).

1.1. *Streptococcus pneumoniae*: aspectos microbiológicos

O pneumococo é um diplococo Gram-positivo (Figura 1) ligado a processos de colonização do trato respiratório superior de indivíduos saudáveis (BOGAERT et al., 2004; FRANCO et al., 2010; KADIOGLO et al., 2008; TURMER et al., 2011), os quais podem albergar simultaneamente, diferentes sorotipos, determinando o “portador assintomático” (TURMER et al., 2011).

Figura 1. Esfregaço em lâmina corado por coloração de Gram e observados em microscópio óptico (1000x). Diplococos Gram-positivos, característicos de pneumococos e células polimorfonucleares.

Fonte: <http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EEuFZyZukkQpINIXI.php>

A adesão às células epiteliais da nasofaringe do hospedeiro dá-se por meio dos *pili* ou fímbrias (TELFORD et al., 2006). Já os glicopolímeros associados ao ácido teicóico, participam da adesão e da invasão das células do hospedeiro (SEEBERGER; WERZ, 2007). A invasão da corrente sanguínea é favorecida pela cápsula polissacarídica (PSC) (Figura 2), que confere a bactéria a propriedade de resistir à fagocitose pelos leucócitos polimorfonucleares, sendo considerado o mais importante fator de virulência presente no pneumococo (WEISER, 2010).

Figura 2. Imagem da cápsula polissarídica envolvendo o *S. pneumoniae* – Microscopia eletrônica.

Fonte: Adaptado de <http://www.ppdictionary.com/bacteria/gpbac/pneumoniae.htm>

A Cápsula do pneumococo é definida como um polímero de alto peso molecular, composto de oito moléculas em cada subunidade oligossacarídicas repetitivas (KADIOGLU et al., 2008). Tal polissacarídeo capsular além de ser o componente imunogênico utilizado em vacinas contra as doenças pneumocócicas (HENRICHSEN, 1999), também são marcadores que permitem a classificação do pneumococo em sorotipos. Essa classificação é baseada na reação de Quellung, utilizada na sorotipagem, que exibe a capacidade do antissoro específico reagir com a cápsula da bactéria em suspensão (SORENSEN, 1993).

A PSC é tema de investigação, principalmente devido sua associação com a virulência e imunogenicidade do pneumococo, assim, novos campos de pesquisa surgiram desde a descrição do fenômeno de troca capsular por Coffey et al. (1998). A troca capsular é a transferência ocasional de genes capsulares entre bactérias durante a replicação, alterando as características genéticas. Com isso, um determinado sorotipo pode apresentar diferentes clones/genótipos (BRUEGGEMANN et al., 2003). As técnicas de Eletroforese de Campo Pulsátil (PFGE), Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Multilocus Sequence Typing (MLST) são utilizadas para avaliar a relação genética entre cepas de *S. pneumoniae* (McGEE et al., 2001; OBERT et al., 2007; TENOVER et al., 1999).

A Figura 3 apresenta os principais fatores de virulência do *S. pneumoniae*. Há de se considerar que algumas proteínas presentes na parede celular do pneumococo

podem ser utilizadas na formulação de vacinas, como a hialuronatolase (Hyl), neuraminidases (NanAandNanB), IgA protease, proteína de superfície pneumocócica A (PspA), autolisina (LytA), proteína de choque térmico ClpP 11 proteases, proteína de ligação a colina A (CbpA), adesina de superfície pneumocócica A (PsaA) e pneumolisina (Ply) (JEDRZEJAS, 2001; SHACHERN et al., 2009).

Figura 3. Esquema dos principais fatores de virulências do *S. pneumoniae*

Fonte: JEDRZEJAS, 2001

A identificação laboratorial rápida do pneumococo é fundamental, para o tratamento adequado da doença. O diagnóstico laboratorial consiste na identificação da bactéria ou do DNA ou do antígeno nas amostras de sangue, no líquido cefalorraquidiano (LCR) ou em outro fluido corporal. A identificação pode ser realizada utilizando-se método imunológico, molecular e/ou bacteriológico. O diagnóstico imunológico compreende a pesquisa de antígenos do pneumococo nos diferentes materiais biológicos, utilizando partículas de látex revestidas de anticorpos específicos (RUOFF; WHILLEY; BEIGHTON, 2003).

A técnica molecular baseia-se na extração e amplificação do DNA da bactéria em amostras de fluidos corporais, identificando o microrganismo com técnicas moleculares, sendo a PCR e suas variações, comumente utilizadas para o diagnóstico (CORLESS et al., 2001; SIDIKOU et al., 2003). Além disso, estas técnicas possibilitam o monitoramento da dinâmica dos sorotipos vacinais e não vacinais do pneumococo contribuindo com informações essenciais para avaliação do impacto da vacina e para

o desenvolvimento de futuras vacinas pneumocócicas (BRUEGGEMANN; SPRATT, 2003).

Entre as técnicas clássicas de microbiologia, a bacterioscopia é considerada como um método presuntivo rápido e de baixo custo, porém a cultura é o melhor recurso para o diagnóstico, pois permite o isolamento, a identificação, a sorotipagem e a avaliação do perfil de sensibilidade antimicrobiana (CORLESS et al., 2001). Em cultura, o pneumococo cresce em meios ricos acrescidos de 5% de sangue de carneiro, requer temperatura entre 35 a 37°C, concentração 5% de CO₂ e umidade. A morfologia das colônias pode variar, entretanto, a presença de hemólise em ágar sangue é uma característica típica na identificação do pneumococo, devido à destruição parcial dos eritrócitos do meio de cultura. As provas de identificação normalmente utilizadas no laboratório são a catalase, susceptibilidade à optoquina e solubilidade em sais biliares. Os pneumococos são normalmente catalase negativa, sensíveis à optoquina e positivo ao teste de bile solubilidade (RUOFF; WHILLEY; BEIGHTON, 2003, WINN et al., 2006) (Figura 4).

Figura 4. Fluxograma da identificação bacteriológica do *S. pneumoniae*

Fonte: Adaptação de BRANDILEONI, M.C.C. <http://www.slideserve.com/Faraday/ndice>

Após a identificação do pneumococo é importante realizar a sorotipagem e o teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Laboratorialmente, a triagem *in vitro*, com disco de oxacilina determina presuntivamente a sensibilidade à penicilina e ceftriaxona. Para as cepas resistentes à oxacilina a avaliação é realizada pela Concentração Inibitória Mínima (CIM/MIC). Neste caso, determina-se a mais baixa concentração do antibiótico capaz de inibir o crescimento bacteriano em caldo de cultura (RUOFF; WHILLEY; BEIGHTON, 2003).

O pneumococo adquire resistência à penicilina e a outros antibióticos β – lactâmicos devido a alterações nos genes que codificam proteínas fixadoras de penicilina (do inglês *Penicillin-Binding Proteins* ou PBPs) localizadas em sua parede celular e também às modificações nas enzimas envolvidas na síntese de peptidoglicano, que são moléculas alvo para os antibióticos β – lactâmicos. Seis PBPs estão descritas no pneumococo: 1a, 1b, 2x, 2a, 2b e 3. Isolados resistentes apresentam variação nos pares de genes que codificam as PBPs 1a, 2b e 2x. (REINERT, 2009).

Cada classe de antimicrobiano possui mecanismo de resistência específico. Os macrólidos são inibidores da síntese proteica, a resistência bacteriana a esta droga pode ocorrer por alteração do alvo de ligação da bactéria ao antibiótico impedindo a ligação à subunidade 23S do rRNA ou pela ação da bomba de efluxo, que elimina o antimicrobiano do interior da célula bacteriana (APPELBAUM, 2002). As bactérias desenvolvem resistência às quinolonas por alteração na enzima DNA girase, esta alteração pode ocorrer por mutação cromossômica nos genes responsáveis pelas enzimas alvo ou por alteração das porinas na membrana celular bacteriana, modificando a permeabilidade à droga. A resistência à sulfametoxazol/trimetoprim (SMT) ocorre por alteração enzimática, levando a diminuição da permeabilidade celular, ocasionando produção aumentada de ácido para-aminobenzóico ou pela elevada síntese de diidropteróico sintetase, os quais possuem pouca afinidade pelo antimicrobiano (ANVISA, 2007).

No ano de 2008, houve mudança nos pontos de corte nos valores da CIM para penicilina, proposta pelo *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI, 2008), assim, cepas isoladas de infecções não meníngeas, antes consideradas resistentes à penicilina passaram a ser classificadas como sensíveis. Neste contexto, no ano de

2010, não se evidenciou pneumococo resistente à penicilina, no Brasil (OPAS, 2010a), porém esta informação não reduz a preocupação com a morbiletalidade atribuída a este agente etiológico, especialmente, considerando a carência de recursos para avaliação laboratorial (FERREIRA, 2009), bem como o frágil sistema de notificação em âmbito nacional (SOUSA et al, 2012).

1.2. *Streptococcus pneumoniae*: implicações na saúde humana

O *S. pneumoniae* foi isolado em 1880 simultaneamente por Sternberg, nos Estados Unidos e Pasteur na França. Em 1882, Carl Friedländer, ao examinar cortes histológicos de pulmão de pacientes, relacionou este microrganismo com pneumonia, logo outros estudos associaram esta bactéria com diferentes patologias (AUSTRIAN, 1985).

Segundo o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, 1997) o *S. pneumoniae* pode ocasionar infecções invasivas disseminadas, além de infecções não invasivas incluindo doenças do trato respiratório inferior e do trato respiratório superior. Adiciona-se que cerca de 90% desses casos estão associados à pneumonia (BRICKS; BEREZIN, 2006). O *S. pneumoniae* também é uma importante causa de meningite e em menor escala está associado a artrite, sinusite, otite, bacteriemia, sepse, entre outras (AUSTRIAN, 1985, CDC, 2011, LYNCH; ZHANEL, 2009, WHO, 2009).

Além disso, o pneumococo pode ser identificado em 15% dos adultos saudáveis e cerca de 65% entre crianças que frequentam instituições de educação infantil (CDC, 2000). No Brasil, a prevalência de portadores de pneumococo varia de 13% a 72%, dependendo da idade e presença de doenças associadas (FRANCO et al., 2010; LAMARO-CARDOSO et al., 2012). A colonização da mucosa é a primeira fase para o desenvolvimento da doença (Figura 5).

Figura 5. Cadeia de transmissão do pneumococo

Fonte: BRANDILEONI, M.C.C. Setor de Bactérias Piogênicas e Toxigênicas Seção de Bacteriologia - Instituto Adolfo Lutz - São Paulo. Arquivo pessoal.

O pneumococo utiliza as vias respiratórias ou a corrente sanguínea para invadir áreas anatômicas normalmente estéreis, desencadeando reação inflamatória e a manifestação da doença (BOGAERT et al., 2004; KADIOGLU et al., 2008). Além disso, os indivíduos colonizados pelo pneumococo, assintomáticos ou não, são responsáveis pela propagação da doença pneumocócica na comunidade, o que se observa com maior frequência em ambientes fechados como creches, escolas, asilos, hospitais, entre outros (WHO, 2009).

Até os cinco anos de idade, a criança pode apresentar diversos eventos de colonização na nasofaringe, sendo que a maioria ocorre durante os dois primeiros anos de vida, portanto um indivíduo pode ser colonizado concomitantemente por mais de um sorotipo de pneumococo (MEATS et al., 2003). As taxas de colonização simultânea por múltiplos sorotipos de pneumococo têm variado de 3,5 a 30% e representa o principal mecanismo da evolução desta espécie, pois favorece a transferência horizontal de genes (SPRATT; HANAGE; FEIL, 2001).

A forma mais grave da doença pneumocócica, é conhecida como doença invasiva pneumocócica (DIP). Envolve a pneumonia acompanhada de bacteriemia, meningite, peritonite, bacteriemia, sepse e artrite (WHO, 2008a; WHO, 2012). Cerca de 30 a 50% dos casos de pneumonia pneumocócica estão associados à bacteriemia. No mundo, entre os 8,8 milhões de óbitos anuais, cerca de 20% é atribuído a pneumonia (BLACK et al., 2010), sendo que a pneumonia pneumocócica atinge cerca de 60 a 75% de todas as pneumonias bacterianas na infância (GREENWOOD; WEBER; MULHOLLAND, 2007). Todavia, a meningite bacteriana é menos frequente que a pneumonia, porém possui maior risco de sequelas e casos fatais (OPAS, 2010b).

Embora a doença pneumocócica seja imunoprevenível, publicação da Organização Mundial da Saúde apontou cerca de 1,6 milhões de mortes anuais devido à doença pneumocócica, com maior prevalência nos países em desenvolvimento, sendo 0,7 a 1 milhão em crianças menores de 5 anos (WHO, 2007) (Figura 6).

Figura 6. Distribuição global da letalidade por pneumonia em crianças de 0 a 4 anos.

Fonte: http://www.sabin.org/sites/sabin.org/files/20_09_09_30_brendan_flannery.pdf

Sabe-se que em países desenvolvidos crianças menores de 2 anos e idosos são os grupos mais acometidos, inclusive com frequentes complicações e óbitos, por outro lado, nos países em desenvolvimento, a repercussão da doença está melhor definida na população infantil (WHO, 2009).

Além das faixas etárias extremas, os principais grupos de risco para DIP são fumantes, cardiopatas, diabéticos, asmáticos, portadores de insuficiência hepática e renal crônica, asplênicos, pessoas com antecedente de doenças respiratórias e portadores de HIV. Em adultos, a pneumonia pneumocócica pode resultar em óbito de 10 a 20% dos casos; nos grupos de risco, esta porcentagem pode chegar a 50%. Nestes grupos populacionais as complicações e os óbitos são mais comuns (GRUPEMEF, 2011).

Outro dado importante é que os fumantes são mais densamente colonizados pelo pneumococo e propensos a doenças respiratórias do que os não fumantes. O risco aos agravos respiratórios associados ao tabagismo é alto. As substâncias presentes no tabaco alteram a superfície das células do epitélio pulmonar, favorecendo a adesão do pneumococo (GRIGG et al., 2012). Ademais, a fumaça produzida pela combustão do cigarro produz substâncias tóxicas para o sistema respiratório, entre elas a acroleína, que interfere no transporte mucociliar, diminuindo o batimento ciliar de células epiteliais (BASCOM et al., 1995). Cabe acrescentar que segundo a Pesquisa Nacional de Saúde do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 14,5% dos adultos fumavam cigarros industrializados e 12,7% eram fumantes diários de outros produtos de tabaco (IBGE, 2013).

Merece destaque o estudo de Donalisio, Arca e Madureira (2011) acerca do perfil clínico e epidemiológico de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade no município de Sumaré – SP. Os autores observaram elevada ocorrência da doença em indivíduos com menos de 60 anos, acrescido da piora na evolução clínica. Um outro resultado interessante mostrou que a letalidade foi baixa (4,9%) e concentrada entre os mais jovens. Pelos critérios de gravidade, estes casos poderiam ser seguidos ambulatoriamente, porém a internação foi justificada pela necessidade de garantir acesso à medicação e ao seguimento clínico, particularmente entre idosos e portadores de doenças crônicas. Os autores explicaram que entre outros fatores a falta de vacinação, o padrão de circulação dos patógenos, e o acesso a qualidade dos serviços devem ser considerados no perfil de morbidade local/regional. O conhecimento destes fatores regionais contribuíram para qualificar as decisões terapêuticas, e assim traçar as principais medidas de prevenção e controle.

Neste contexto, Novaes, Sartori e Soárez (2011), baseados em dados do Sistema de Informações Hospitalares (SIH), estimaram que a hospitalização por doença pneumocócica foi responsável por 34.217 hospitalizações no Sistema Único de Saúde (SUS), no período de 2004 a 2006, representando 0,1% de todas as internações, sendo a pneumonia pneumocócica envolvida em 64,8% dos casos. Os honorários médicos, custos dos medicamentos, procedimentos, materiais e exames laboratoriais estão entre os fatores que elevam os custos hospitalares do tratamento da doença pneumocócica.

Nos Estados Unidos da América do Norte, entre as doenças pneumocócicas de maior ocorrência estão a otite média aguda, pneumonia, bacteriemia e meningite. Ocorrem cerca de 400.000 hospitalizações por pneumonia pneumocócica por ano, com letalidade de 5% – 7% em idosos (CDC, 2011).

Na Inglaterra, a incidência anual de meningite pneumocócica, era de 1,04 casos/100.000 habitantes, sendo mais comum em menores de 5 anos com taxa de letalidade de 25% (JOHNSON et al., 2007). Na Polônia, este agente era responsável por 20,9% dos casos de meningite bacteriana (APPELBAUM, 2002). Castañeda et al. (2009) relataram que entre as doenças pneumocócicas mais frequentes na América Latina estão a pneumonia (36,4%), a meningite (35,7%) e, a bacteriemia/seps (24%).

Estima-se que no Brasil, o pneumococo seja o principal agente de pneumonia em todas as faixas etárias. Anualmente, calcula-se que um em cada 20 brasileiros acima de 80 anos terá pneumonia, assim, são quase dois milhões de casos por ano (GRUPEMEF, 2011). Além da pneumonia, em 2002, um estudo apresentou 29.600 casos de meningite por pneumococo, com 8.554 óbitos (BRICKS; BEREZIN; SILVEIRA, 2002), já em 2006, Bricks e Berezin (2006), evidenciaram aumento de notificações dos casos de meningite pneumocócica principalmente em crianças menores de um ano.

No Brasil, após o programa de vacinação para o *Haemophilus influenzae* sorotipo b, o pneumococo tornou-se a segunda causa mais comum de meningite bacteriana, com letalidade de 27,5% para todas as idades (BRANDILEONE et al., 2003). A primeira causa de meningite foi atribuída à *Neisseria meningitidis*, entretanto em meados de 2004, observou-se, no Estado de São Paulo que a letalidade da

meningite pneumocócica superou a da meningite por *Neisseria meningitidis* e *H. influenzae* (CARVALHANAS, 2004).

Segundo o Ministério da Saúde brasileiro (2010a), no período de 2000 a 2008, a meningite pneumocócica representou cerca de 11% dos casos de meningite bacteriana registradas no Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN), com média de 1.218 casos por ano e letalidade de 30%.

1.3. *Streptococcus pneumoniae*: medidas terapêuticas e profiláticas

Mendes et al., (2012) fazem referências sobre as dificuldades do sistema de assistência à saúde no Brasil, como a saber: a escassez de recursos financeiros, de profissionais, a marcante heterogeneidade regional quanto à clientela atendida e níveis de complexidade dos serviços disponíveis, entre outros agravantes. Ressalta-se ainda, a falta de investimentos em diagnóstico microbiológico de qualidade, tanto na aquisição de insumos, quanto na formação de profissionais qualificados (FERREIRA, 2009).

A notificação compulsória está entre as principais medidas de prevenção e controle das doenças de rápida disseminação como a meningite, consequentemente a comunicação em tempo hábil, da ocorrência de um caso ou surto, às autoridades sanitárias garante a adoção de medidas eficazes de intervenção (CVE, 2012).

Para atuar efetivamente na prevenção e controle de surtos e epidemias existe a integração das ações entre a vigilância epidemiológica (VE) estadual, VE municipal, laboratório, controle de vetores, vigilância sanitária e os diferentes níveis de atenção à saúde (básica, média e alta complexidade) (CVE, 2012).

Em virtude da necessidade de investir na epidemiologia das infecções das vias aéreas inferiores, sobretudo as causadas pelo pneumococo, em 1993 a Organização Panamericana da Saúde (OPAS) desenvolveu um estudo multicêntrico nas Américas, denominado Projeto Sireva-Pneumococo. Este estudo multicêntrico iniciou-se com a formação de uma rede de vigilância epidemiológica das DIPs. Inicialmente com a participação do Brasil, Argentina, México, Uruguai, Chile e Colômbia. Em 2004, vinte países passaram a fazer parte deste estudo, abrangendo outras cepas (*Haemophilus influenzae* sorotipo b e *Neisseria meningitidis*) além do pneumococo. Neste projeto,

além da circulação de sorogrupos e sorotipos bacterianos monitora-se também o perfil de sensibilidade antimicrobiana (DI FABIO et al., 2001).

O uso dos antibióticos de forma ampla e descontrolada é considerado um fator de risco para o aumento do perfil de resistência do *S. pneumoniae* aos antimicrobianos, favorecendo a colonização da nasofaringe com estas linhagens, e consequentemente gerando doença pneumocócica por cepas resistentes (MASUDA et al., 2002). Este tem-se constituído um problema crescente em todo mundo, levando ao aumento da mortalidade e do custo do tratamento (BRANDILEONI et al., 2005, LUCAREVSCHI; ESCOBAR; GRISI, 2012).

Geralmente, as cepas resistentes aos antimicrobianos estão restritas a poucos sorotipos e clones multirresistentes do pneumococo que disseminam-se (McGEE et al., 2001). Acredita-se que a aquisição destes determinantes de resistência por alguns clones ocorra por pressão seletiva devido ao uso excessivo de antibióticos (SADOWY et al., 2007). Há evidências na literatura sobre a variação da taxa de resistência com a região estudada e com a utilização empírica das drogas (GOOSSENS, 2009).

A doença pneumocócica com o advento da penicilina, na década de 40, parecia controlada, entretanto, a situação tornou-se alarmante nos últimos anos com o aumento progressivo da resistência das cepas aos antimicrobianos (ALVARES et al., 2011, APPELBAUM et al., 2011, BARROSO et al., 2012, BRANDILEONI et al., 2005; DOERN et al., 1998; FELDMAN, 2004; JACOBS, 2003; REINERT, 2009; VILACORCOLES et al., 2009).

No Brasil, o primeiro relato de resistência do pneumococo à penicilina foi em 1988 (MARQUES et al., 1988), seguido de aumento progressivo de casos. A taxa de *S. pneumoniae* não sensível à penicilina aumentou de 10,2% em 1993 para 27,8% em 2004 (BRANDILEONE et al., 2006).

O pneumococo é altamente adaptável, como demonstrado pela sua capacidade para adquirir e disseminar a resistência a vários antibióticos (WEISER, 2010), justificando relatos de cepas multirresistentes (FELDMAN, 2004; JACOBS, 2003). A penicilina é a primeira droga de escolha para o tratamento de infecções

pneumocócicas, porém, a eritromicina também é utilizada com frequência (BORG et al., 2009).

Além da penicilina, o pneumococo tem adquirido resistência a diferentes classes de antimicrobianos, entre eles os macrolídeos, fluoroquinolonas e sulfametoxazol/trimetoprim, com possibilidade de ocorrer cepas multirresistentes. A multirresistência é definida pela resistência a três ou mais classes de antimicrobianos. Este fenômeno foi descrito, para o pneumococo, inicialmente na África do Sul e atualmente existem relatos em todo mundo (APPELBAUM et al., 2011, CORNICK; BENTLEY, 2012, WEBER; DIAS; COSTA, 2010, YOSHIOKA et al, 2011).

Diante da crescente disseminação da resistência do pneumococo aos antibióticos, cresce o interesse na prevenção das infecções utilizando a vacinação. O uso da vacina conjugada além de diminuir a incidência da infecção pneumocócica reduz o consumo de antibióticos e consequentemente a circulação de cepas resistentes (FERIGOLO; PEREZ, 2013).

No Brasil, com o Programa Nacional de Imunizações (PNI) criado em 1973, o Ministério da Saúde definiu as vacinas obrigatórias do calendário vacinal. Todavia, com a disponibilidade a novos conhecimentos e recursos para a prevenção de doenças transmissíveis estas normas são revistas periodicamente, resultando em alterações no calendário vacinal (CVE, 2011). Um dos objetivos de Desenvolvimento do Milênio, até 2015, era reduzir em dois terços a mortalidade em menores de 5 anos com a introdução de novas vacinas que previnem a pneumonia e a meningite (OPAS, 2010b).

Existem diferentes tipos de vacinas pneumocócicas, as quais são denominadas pela quantidade de sorotipos presentes em sua composição. Determinados sorotipos de pneumococo estão envolvidos com doenças específicas (SONG; NAHM; MOSELEY, 2013). A vacinação é a melhor forma de prevenção das doenças pneumocócicas, incluindo a pneumonia. Entretanto, a imunidade conferida pelas vacinas é específica em relação ao sorotipo (BLACK et al., 2001; DAGAN et al., 2003).

A cobertura vacinal restrita representa um importante obstáculo no controle efetivo da doença, bem como a dificuldade de incluir o maior número de antígenos em

uma vacina conjugada, o que significa que os indivíduos vacinados continuam suscetíveis aos sorotipos não vacinais, potencialmente capazes de causar doença (BUTLER; SHAPIRO; CARLONE, 1999).

Após a inclusão dos sorotipos 6C, 6D, 11E e 20A/20B, já foram descritos 94 diferentes sorotipos de *S. pneumoniae*, todos são considerados patogênicos para os humanos e diferem em virulência, invasibilidade e habilidade para adquirir resistência às drogas, (CALIX et al., 2012a; CALIX et al., 2012b; JIN et al., 2009; PARK et al., 2007). Os sorotipos apresentam distribuição variada de região para região, também segundo a faixa etária, síndrome clínica e ao longo do tempo (KADIOGLU et al., 2008).

Em 1983, nos EUA, foi desenvolvida a vacina polissacarídica 23-valente (VPP23), que é considerada segura e de baixo custo (JACKSON et al. 2007), possui 23 sorotipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10V, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F e 33F, essa vacina apresenta um amplo espectro de sorotipos, porém possui a desvantagem da baixa produção de anticorpos específicos e queda rápida dos seus níveis, requerendo dose de reforço a cada 5 anos. Devido a não produção de células de memória, confere fraco poder imunogênico para crianças menores de 24 meses.

A resposta vacinal à VPP23 varia dependendo de característica individuais, como idade, genética, nutrição e condições clínicas, o efeito protetor é menor em imunocomprometidos (BRANDILEONE; KFOURI, 2011; WHO, 2008b). Depois de duas a três semanas da vacinação, são detectados anticorpos em 80% dos adultos jovens, entretanto, em idosos a eficácia é menor (60 - 70%). Esta vacina não confere efeito protetor para otite média, além de não reduzir a colonização da nasofaringe pelo *S. pneumoniae* (WHITNEY et al, 2003). A VPP23 foi introduzida no Brasil em 1992, e os sorotipos incluídos representam 86,2% dos sorotipos de *S. pneumoniae* invasivos em todo o país (FEIJO et al., 2006). Apesar dos benefícios descritos, esta vacina é pouco utilizada. O Programa Nacional de Imunizações do Ministério da Saúde brasileiro (PNI – MS), recomenda que seja administrada a VPP23 em adultos com mais de 60 anos institucionalizados e em adultos e crianças a partir de 5 anos de idade com risco elevado de apresentar infecções pneumocócicas graves devido às doenças crônicas (SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, 2006).

Para suprir o baixo poder imunogênico, da VPP23, em crianças menores de 2 anos desenvolveu-se a vacina heptavalente (VPC7) que é constituída por 7 sorotipos (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F), conjugada com toxóide diftérico modificado (KEMPS, 2008), além da produção de anticorpos, estimula ainda a produção de células de memória do sistema imunológico com excelente resposta em lactentes jovens. No Brasil, passou a ser utilizada a partir de 2002, somente para crianças abaixo dos 5 anos com alto risco para adquirir doença pneumocócica.

A VPC7 mostrou eficácia contra as doenças pneumocócicas causadas por sorotipos vacinais, em menores de 2 anos de idade, reduziu a colonização da nasofaringe pelo *S. pneumoniae*, além da proteção indireta da população, conhecida como imunidade coletiva ou imunidade de rebanho (BLACK et al., 2001; CDC, 2008). Para cada criança vacinada, três adultos são protegidos, uma vez que essa criança deixa de ser colonizada pela bactéria e, assim não expõe outras pessoas (ROCHA; ANDRADE; PIMENTA, 2010).

A VPC7 foi licenciada em 2000 nos EUA e na Europa em 2001 e foi amplamente utilizada no programa de imunização de 42 países (ROSE; ZIELEN, 2009). Esta vacina foi retirada do mercado, sendo substituída por vacinas conjugadas de maior valência (MARTINELLI et al., 2014, REINERT; PARADISO; FRITZELL, 2010). CDC (2005) afirmaram que, nos EUA, a vacinação reduziu 94% e 75% a DIP em crianças e na população em geral, respectivamente. Entretanto, a diminuição dos casos foi acompanhada, por um aumento na prevalência de alguns sorotipos não contidos na PCV7, como o 19A (CHACON-CRUZ, 2012, HICKS et al., 2007).

Segundo Song, Nahm e Moseley (2013) a pressão seletiva imunológica exercida pelos sorotipos vacinais sobre as cepas, acarreta no aumento de outros sorotipos não incluídos na vacina, este fenômeno é conhecido como substituição de sorotipos. Neste contexto, buscam-se incansavelmente o desenvolvimento de novas formulações vacinais que forneçam imunidade independente do sorotipo (MIYAJI et al., 2013).

Outra vacina conjugada, já licenciada e a única disponível gratuitamente na rede pública no Brasil desde 2010, é a que contém 10 sorotipos, denominada decavalente (VPC10), constituída pelos sorotipos da vacina heptavalente acrescida

dos sorotipos 1, 5 e 7F, é indicada para crianças menores de dois anos de idade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010b).

A vacina conjugada 13 valente (VPC13) foi desenvolvida com o objetivo de substituir a VPC7, a qual se adicionou os sorotipos 1, 3, 5, 6A, 7F e 19A (REINERT; PARADISO; FRITZELL, 2010). A VPC13 passou a ser autorizada para crianças em 2010 e, posteriormente, em 2012, licenciada para adultos a partir de 50 anos. Porém, no Brasil, não está disponível gratuitamente na rede pública, apenas em clínicas particulares e nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIEs) para indivíduos de risco às infecções pneumocócicas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Esta é a primeira vacina conjugada disponível no mercado para adultos e a única que previne infecções contra o sorotipo 19A, que é um dos mais agressivos (PELTON et al., 2007).

Nos Estados Unidos, normalmente cerca de 20 sorotipos estão associados com mais de 80% dos casos de DIP em qualquer faixa etária (WHITNEY et al., 2003), sendo os sorotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F e 23F os principais identificados em doenças invasivas, especialmente em crianças. Por esta razão, estes foram incluídos na VPC7 (CDC, 2008; PLETZ et al., 2008). Na América Latina 13 sorotipos são responsáveis por 85% das DIPs (LAVAL et al., 2006), com os mais frequentes sorotipos 14, 6B, 1, 5, 18C e 19F, presentes na VPC10 (CASTAÑEDA et al., 2009).

Embora, no Brasil, observa-se variação na distribuição dos sorotipos entre as regiões Sul, Sudeste e Nordeste (BRANDILEONI et al., 2004), os sorotipos mais comuns relatados em estudos brasileiros são 14, 6A, 6B, 12F, 23F, 19A, 3, 4, 8 e 7F (OPAS, 2012).

A vacinação anual, de idosos, para o vírus da influenza parece reduzir as infecções do trato respiratório na comunidade (VOORDOUW, 2006), para compreender melhor esta relação, o Ministério da Saúde em colaboração com o Instituto de Vacinas Sabin, a OPAS, o CDC e PneumoADIP do GAVI da Universidade de Johns Hopkins, promoveu em 2007, na cidade de São Paulo o “Simpósio Nacional de Vigilância: Pneumococo e Influenza” com o objetivo de estabelecer uma base para a vigilância conjunta de influenza e pneumococo no Brasil. Discutiu-se uma forma de garantir a coleta de dados sobre a carga pneumocócica associada à vigilância da

influenza. A comunidade científica reconhece que as novas vacinas não cobrem todos os sorotipos, e os dados de cobertura, não fornecem proteção contra todos os casos. Ruiz Matus (OPAS) ressaltou a importância de um sistema de vigilância epidemiológica e uma rede de laboratórios atuantes na avaliação da introdução de novas vacinas para pneumococo. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

1.4. Justificativa do estudo

Na América Latina, as vacinas pneumocócicas foram introduzidas para crianças, em 2003, desde então, as DIPs diminuíram de forma expressiva nesta faixa etária. Entretanto, pouco se conhece sobre a extensão da doença pneumocócica em diferentes faixas etárias (CASTAÑEDA, 2009). Há evidências que esta doença é um problema importante entre os adultos e idosos, pois à medida que as pessoas vivem mais, aumenta o risco de contrair doenças crônicas, incapacidade e morte prematura (FILET JUNIOR; MARRIE, 2010)

Segundo Restrepo et al. (2013), as taxas de mortalidade de alguns tipos de doença pneumocócica são altas, assim como os custos para o tratamento, o que demonstra a necessidade de estudos que avaliem o impacto potencial da imunização de populações mais idosas na América Latina e no Caribe. Assim, é imprescindível conhecer o perfil epidemiológico de diferentes comunidades, a fim de fornecer dados reais, bem como embasar o desenvolvimento de vacinas mais adequadas, levando-se em conta as peculiaridades locais (KYAW et al., 2003).

Diante do exposto, é oportuno compreender as características clínicas da doença pneumocócica, atreladas aos resultados microbiológicos, visando ampliar a discussão entre pesquisadores da área, direcionar estratégias de prevenção em populações com escassos dados epidemiológicos, auxiliar no rastreamento da ocorrência da doença, e orientar alocação de recursos.

Acresce-se que na era das vacinas conjugadas proteicas, é de particular importância conhecer a distribuição dos sorotipos de pneumococos que causam doença e sua relação com a faixa etária da população (O'BRIEN, et al., 2004). Como já mencionado as doenças pneumocócicas representam um importante agravo em crianças, todavia a situação nacional é **obscura em outras faixas etárias**. Ainda,

cabe destacar que a problemática representa uma preocupação para a saúde pública considerando sua morbidade, mortalidade e custos financeiros para os sistemas de assistência à saúde.

Assim, questiona-se entre outros aspectos:

- ✓ Qual o sorotipo mais frequente e o perfil de resistência antimicrobiana das cepas circulantes em infecções invasivas associada ao *Streptococcus pneumoniae* na Rede Regional de Assistência à Saúde 13 (RRAS 13)?
- ✓ A aprovação das vacinas pneumocócicas VPC7 (2002) e VPC10 (2010), no Brasil, alteraram a frequência da DIP na RRAS 13?
- ✓ Há relação entre a ocorrência de óbito nos indivíduos com DIP e os diferentes sorotipos de *Streptococcus pneumoniae*?

Assim, entendemos o mérito de nossa proposta que, sem dúvida representa o primeiro estudo regional de vigilância do *S. pneumoniae* incluindo todas as faixas etárias, portanto preencherá importantes lacunas do ponto de vista clínico e microbiológico.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Investigar aspectos microbiológicos fenotípicos do *S. pneumoniae* em um segmento de 16 anos (1998-2013), com vistas a determinar oscilações e associações que possam auxiliar na reflexão acerca da terapêutica antimicrobiana e da imunização por meio de vacinas.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Descrever a distribuição dos casos de DIP na Rede Regional de Atenção à Saúde 13 (RRAS 13), segundo características demográficas, sorotipos, perfil de sensibilidade dos pneumococos aos antimicrobianos, no período de 1998 a 2013.

- ✓ Avaliar a distribuição e a frequência dos diferentes sorotipos de *S. pneumoniae* identificados na RRAS 13, em um seguimento de 16 anos com vistas a relacionar com o Programa Nacional de vacinação implementado em 2002 e 2010.

- ✓ Analisar o desfecho dos pacientes com DIP, junto ao banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HC-RP) de 1998 a 2013, relativo às formas clínicas predominantes e estabelecer a taxa de letalidade associada com os sorotipos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de estudo observacional de seguimento retrospectivo sobre os aspectos microbiológicos dos pneumococos isolados nos indivíduos com Doença Invasiva pneumocócica (DIP) em um período de 16 anos. A ampla disseminação da resistência aos antimicrobianos fazem aumentar as dificuldades de controle das infecções causadas por esse agente e reforçam a necessidade de vigilância epidemiológica. Assim, o presente estudo objetivou a caracterização fenotípica de amostras de *S. pneumoniae*. Os dados foram obtidos no arquivo do Centro de Laboratório Regional - Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto (IAL-RP) e, no Núcleo Hospitalar de Epidemiologia - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP) e, portanto o escopo pode ser subdividido em duas fases.

1. Informações sobre as cepas de *S. pneumoniae* encaminhadas ao IAL-RP: confirmação, sorotipagem e teste de sensibilidade, no período de 1998 a 2013.
2. Informações dos aspectos clínicos (HCFMRP-USP) - único hospital que mantém um banco de dados dos pacientes com DIP.

3.1. Características da área e população do estudo

Assim, o estudo envolveu a Rede Regional de Atenção à Saúde (RRAS) no Estado de São Paulo, especificamente a RRAS 13 da macrorregião Nordeste do Estado de São Paulo composta pelos Departamento Regional de Saúde de Araraquara (DRS III), Barretos (DRS V), Franca (DRS VIII) e Ribeirão Preto (DRS XIII) com 90 municípios agregados em 12 diferentes Regiões de saúde abrangendo uma população de 3.307.320 habitantes (SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, 2012). Dos municípios 44,4% possuem entre 10 e 49.000 habitantes e 40% menos de 10.000 habitantes (IBGE, 2010).

É importante mencionar que a Coordenadoria de Planejamento de Saúde definiu as Redes Regionais de Atenção à Saúde - RRAS no Estado de São Paulo, como “arranjos organizativos de ações e serviços de saúde, de diferentes densidades tecnológicas, que integradas por meio de sistemas de apoio técnico, logístico e de gestão, buscam garantir a integralidade do cuidado num determinado território” (COORDENADORIA DE PLANEJAMENTO DE SAÚDE, 2011). Foram estabelecidas

17 redes (Figura 7), sendo a RRAS 13 (Figura 8) a região de interesse neste estudo (SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, 2012).

Figura 7. Redes Regionais de Atenção à Saúde do Estado de São Paulo, 2011

Fonte: http://www.saude.sp.gov.br/...saude/...saude/mapa_de_saude_rras13_exemplo

Figura 8. Divisão geográfica da RRAS 13: Araraquara, Barretos, Franca e Ribeirão Preto

Fonte: http://www.saude.sp.gov.br/...saude/...saude/mapa_de_saude_rras13_exemplo

Fizeram parte deste estudo 796 amostras (Tabela 1), cujos materiais foram encaminhados ao IAL, procedentes de diferentes unidades de saúde (Tabela 2).

Tabela 1. Quantidade (número e %) de pacientes com doença invasiva pneumocócica segundo Departamento Regional de Saúde (DRS), no período de 1998 a 2013.

DRS	Número	%
DRS XIII - Ribeirão Preto	620	77,9
DRS III – Araraquara	68	8,5
DRS VIII – Franca	61	7,7
DRS V – Barretos	47	5,9
Total	796	100,0

Tabela 2. Procedência das cepas de *S. pneumoniae* isoladas de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, de 1998 a 2013.

Unidade	Número	%
Hospital das Clínicas - Ribeirão Preto	430	54,0
Vigilância Epidemiológica - Ribeirão Preto, Franca, Araraquara e Barretos	179	22,5
Hospital São Francisco - Ribeirão Preto	60	7,5
Instituto Santa Lydia - Ribeirão Preto	48	6,0
Serviço Especial de saúde - Araraquara	40	5,0
Santa Casa - Ribeirão Preto	27	3,4
Hospital Beneficência Portuguesa - Ribeirão Preto	4	0,5
Hospital Sinhá Junqueira - Ribeirão Preto	3	0,4
Hospital São Paulo - Ribeirão Preto	1	0,1
Hospital do Câncer - Barretos	1	0,1
Hospital Ribeirânia - Ribeirão Preto	1	0,1
Serviço de Verificação de óbito - Ribeirão Preto	1	0,1
Unidade de Pronto Atendimento - Ribeirão Preto	1	0,1
Total	796	100,0

Os resultados positivos de cultura foram contabilizados apenas uma vez por paciente independentemente do número de alíquotas positivas.

3.2. Procedimento de captação dos dados

Como mencionado, as informações microbiológicas relativas aos sorotipos e resistência aos antimicrobianos foram obtidas no IAL-RP e, os dados relativos aos aspectos clínicos no Banco de dados do HCFMRP-USP (apêndice A). No estudo considerou-se doença invasiva pneumocócica (DIP) quando o pneumococo invadiu locais anatômicos originalmente estéreis causando doença como meningite,

pneumonia, bacteriemia ou sepse (WHO, 2012). Assim, fizeram parte as informações dos indivíduos residentes em um dos municípios da RRAS 13 que, independente de sexo e idade, tenham apresentado quadro clínico compatível com DIP, no período de 1998 a 2013, com isolamento de pneumococo no sangue, líquido cefalorraquidiano (LCR), derrame pleural, ou qualquer outro material biológico considerado originalmente estéril. A tabela 3 apresenta a quantidade e natureza do material biológico avaliado no estudo.

Tabela 3. Materiais biológicos de pacientes com doença invasiva pneumocócica, nos quais isolou-se *S. pneumoniae*, segundo dos Departamentos Regionais de Saúde (DRS), de 1998 a 2013.

Material biológico	DRS Rib. Preto		DRS Araraquara		DRS Franca		DRS Barretos		Total	
	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%
Sangue	352	56,8	4	5,9	3	4,8	4	8,5	363	45,6
Líquor	143	23,0	60	88,2	45	73,8	32	68,2	280	35,2
Líquido pleural	57	9,2	0	0,0	2	3,3	1	2,1	60	7,5
Líquor + Sangue	21	3,4	2	2,9	9	14,8	9	19,1	41	5,2
Secreções	21	3,4	1	1,5	2	3,3	0	0,0	24	3,0
Lavado bronco alveolar	18	2,9	1	1,5	0	0,0	1	2,1	20	2,5
Sangue + Líq. Pleural	8	1,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	8	1,0
Total	620	100,0	68	100,0	61	100,0	47	100,0	796	100,0

%* refere-se ao total de casos de DIP de cada DRS

Apenas as informações oriundas no banco do HCFMRP permitiram a avaliação quanto ao desfecho clínico dos pacientes com DIP, ou seja, considerou-se para análise duas categorias:

- cura sem sequela (sucesso)
- cura com sequela ou óbito (insucesso).

Dos 620 isolados em pacientes da DRS XIII (Ribeirão Preto) com DIP, 336 estavam cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas, destes excluíram-se da análise quatro que tiveram complicações inespecíficas, sendo analisados os aspectos clínicos e seus desfechos em 332 pacientes. Os diagnósticos e demais dados clínicos dos pacientes foram realizados pela equipe médica do HCFMRP-USP.

3.2.1. Critério de inclusão e exclusão

Foram incluídos no estudo as informações quanto a identificação de *S. pneumoniae* isolados nos indivíduos com DIP, sem limite de idade, cadastrados nos municípios da RRAS 13, bem como, dados clínicos dos pacientes com DIP hospitalizados no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP). E, excluíram-se do estudo os registros acerca das cepas inviáveis não havendo, portanto, sua identificação.

3.2.2. Variáveis de estudo

- Sócio-demográficas: gênero e idade.
- Aspectos relativos ao tempo e espaço/local: ano de ocorrência, Departamento Regional de Saúde de residência.
- Presença de comorbidade.
- Doença invasiva por *S. pneumoniae* (meningite, pneumonia, bacteriemia, sepse, abscesso, artrite, peritonite, pancreatite, cirrose, Infecção de sítio cirúrgico e apendicite).
- Material biológico do isolamento: sangue, líquido, líquido pleural, secreções, lavado bronco alveolar.
 - Aspectos relativos ao *S. pneumoniae*: sorotipos, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos (oxacilina, penicilina, ceftriaxona, eritromicina, vancomicina, cloranfenicol e sulfametoxazol/trimetopim).
- Desfecho da doença: cura sem sequelas (sucesso) e cura com sequelas ou óbito (insucesso).

3.3 Informações microbiológicas

As cepas de *S. pneumoniae* incluídas neste estudo foram isoladas em laboratórios dos municípios pertencentes à RRAS 13 e enviadas para o IAL–RP com a finalidade de confirmação da espécie e posterior encaminhamento ao Laboratório Nacional de Saúde Pública, IAL de São Paulo (IAL–SP) para caracterização dos sorotipos e determinação da sensibilidade aos antimicrobianos (apêndice B). Ressaltando a importância de pesquisas sobre os marcadores epidemiológicos do pneumococo citamos o Guia de Vigilância Epidemiológica (FUNASA, 2002) que

preconiza o envio rotineiro das amostras de *Streptococcus pneumonia*, para o IAL-SP (Laboratório de Referencia Nacional).

3.4 Procedimentos de análise e inferência dos resultados

Após codificação das variáveis em um dicionário ou máscara, as informações foram armazenadas em planilha eletrônica software MS Excel XP. Em seguida, os dados foram importados no programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versão 19.0, para as seguintes análises estatísticas:

- análise descritiva por meio de frequências absoluta e relativa, e cálculo de média, desvio padrão, mediana e valores mínimo e máximo dos aspectos demográficos e microbiológicos discriminados em três períodos segundo o Programa Nacional de Imunização a saber: 1998-2002 aprovação da VPC7 (2002), 2003-2010 aprovação da VPC10 (2010) e 2011-2013 período pós VPC10.
- teste de associação qui-quadrado para determinar se há associação entre presença de um sorotipo específico, faixa etária, segundo período, diagnóstico clínico (DIP), sensibilidade das cepas aos antimicrobianos.

Na análise dos pacientes do Hospital das Clínicas observou-se a possível associação entre os desfechos: sucesso ou insucesso e as variáveis sexo, idade, comorbidade e os sorotipos mais frequentes. Realizou-se esta análise, primeiramente, pelo teste de associação qui-quadrado e por modelos de regressão logística univariada (OR bruta) e múltipla (OR ajustada). Em todas as análises considerou-se resultado significativo estatisticamente quando $p \leq 0,05$.

A fase estatística teve a orientação da Prof^a. Dr^a. Maria do Rosário Dias de Oliveira Latorre, Professora Titular do Departamento de Epidemiológica da Faculdade de Saúde Pública – FSP/USP.

3.5. Procedimentos éticos em pesquisa

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (anexo 1) – Protocolo CAAE: 26759714.80000.5393 de acordo com a Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional da Saúde (BRASIL, 2012).

3.6. Restrições e limitações do estudo

Trata-se de um estudo retrospectivo, com apenas os casos de DIP, sem grupo controle; portanto com as limitações pertinentes a natureza das informações em termos quantitativos e qualitativos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A proposta deste estudo envolveu aspectos microbiológicos fenotípicos do *S. pneumoniae* e suas relações com variáveis clínicas, terapêuticas, bem como profiláticas com vistas a determinar se houve influência vacinal na ocorrência de DIPs, em um período de 16 anos. Para tanto a vigilância dos resultados laboratoriais dos isolados de *S. pneumoniae* encaminhadas ao IAL permitiu a identificação das cepas, a determinação do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e a sorotipagem. Mesmo diante das limitações do estudo, há de se considerar que o seguimento dos casos de DIP possibilita conhecer as cepas circulantes na população antes e após as intervenções vacinais estabelecendo o impacto na sua redução, inclusive sinalizando a formação de novos nichos de colonização.

Entre as DIPs a pneumonia e a meningite são as doenças que mais causam mortes no mundo, principalmente nos menores de 5 anos de idade (WHO, 2008a). A prevenção e o controle destas enfermidades foram favorecidos com a introdução das vacinas conjugadas (GRIJALVA; EDWARDS, 2006). Entretanto, a emergência de cepas resistentes aos antimicrobianos tem dificultado o tratamento empírico de casos de pneumonia e meningite (BRANDILEONE et al., 2006). Portanto, a execução de estudos de vigilância dos casos objetivando reconhecer e avaliar a magnitude da doença invasiva pneumocócica contribui para traçar o perfil da situação e para a manutenção da saúde da população e o controle da doença.

4.1. Caracterização demográfica e clínica dos casos de DIP na RRAS 13 de 1998 a 2013.

Analisou-se o resultado de 796 cepas de *S. pneumoniae* isoladas de pacientes com DIP atendidos na RRAS 13, com variação de idade de menos de 1 mês a 93 anos (média de 25,1 anos, desvio padrão = 25,9 anos e mediana de 13,0 anos). Nos quatro DRS que compõe a RRAS 13 houve predomínio do sexo masculino (58,9%) (Tabela 4), corroborando com dados da literatura que apontam para maior tendência das DIPs neste gênero (NAVARRO-TORNE et al, 2015; NEGRINI, 2010; OPAS, 2012). Verificou-se a maior ocorrência dos casos na faixa etária de 20 a menor que 60 anos de idade (32,2%) e do período de 2003 a 2010 (60,2%).

Tabela 4. Pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo características demográficas e diagnóstico clínico primário, de 1998 a 2013.

Variável	Categoria	DRS Ribeirão Preto		DRS Araraquara		DRS Franca		DRS Barretos		Total	
		nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%
Gênero	Masculino	371	59,8	39	57,4	32	52,5	27	57,4	469	58,9
	Feminino	244	39,4	29	42,6	28	45,9	20	42,6	321	40,3
	Ignorado	5	0,8	0	0,0	1	1,6	0	0,0	6	0,8
Faixa Etária (anos)	<1	82	13,2	14	20,6	9	14,8	7	14,9	112	14,1
	1-2	76	12,3	3	4,4	3	4,9	6	12,8	88	11,1
	2-5	80	12,9	7	10,3	8	13,1	3	6,4	98	12,3
	Subtotal <5	238	38,4	24	35,3	20	32,8	16	34,0	298	37,4
	5-20	79	12,7	12	17,6	10	16,4	9	19,1	110	13,8
	20-60	195	31,5	25	36,8	20	32,8	16	34,0	256	32,2
	≥60	90	14,5	7	10,3	6	9,8	4	8,5	107	13,4
	Subtotal ≥5	364	58,7	44	64,7	36	59,0	29	61,7	473	59,4
	Ignorado	18	2,9	0	0,0	5	8,2	2	4,3	25	3,1
Período	1998 - 2002	166	26,8	20	29,4	21	34,4	15	31,9	222	27,9
	2003 - 2010	377	60,8	39	57,4	35	57,4	28	59,6	479	60,2
	2011-2013	77	12,4	9	13,2	5	8,2	4	8,5	95	11,9
Doença	Meningite	203	32,7	63	92,6	54	88,6	44	93,6	364	45,7
	Pneumonia	349	56,3	3	4,4	3	4,9	3	6,4	358	45,0
	Bacteriemia	30	4,8	0	0,0	0	0,0	0	0,0	30	3,8
	Sepse	16	2,6	1	1,5	2	3,3	0	0,0	19	2,4
	Abcesso	5	0,8	0	0,0	1	1,6	0	0,0	6	0,7
	Artrite	4	0,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	0,5
	Peritonite	6	1,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	6	0,7
	Pancreatite	1	0,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,1
	Cirrose	1	0,2	0	0,0	1	1,6	0	0,0	2	0,3
	Inf. sitio cirúrgico	3	0,5	1	1,5	0	0,0	0	0,0	4	0,5
	Apendicite	2	0,3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	0,3
	Total	620	100,0	68	100,0	61	100,0	47	100,0	796	100,0

%* refere-se ao total de casos de DIP de cada DRS

DRS – Departamento Regional de Saúde

Na pesquisa em questão, envolvendo todas as idades, verificou-se que meningite (45,7%) e pneumonia (45,0%) foram as DIPs mais prevalentes, enquanto as demais representaram 9,3%. Vale registrar que no DRS de Ribeirão Preto observou-se maior frequência de pneumonia (56,3%), diferindo das demais regiões em que a meningite foi mais comum (92,6% - Araraquara, 88,6% - Franca e 93,6% - Barretos) (Tabela 4).

No Município de Ribeirão Preto, estudo de coorte retrospectivo com crianças menores de 5 anos, internadas com DIP, no período de 1998 a 2005, verificou que

75% delas eram portadoras de pneumonia, 20% de meningite e 5% apresentaram outras formas clínicas (NEGRINI, 2010).

No ano de 2006, observou-se o maior número de linhagens de pneumococo encaminhadas ao IAL para caracterização, com predomínio das amostras do DRS de Ribeirão Preto. Nota-se que no DRS de Franca ocorreu também um pico em 2001 e no DRS de Araraquara nos anos 2000 e 2004 (Gráfico 1).

Gráfico 1. Porcentagem de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o ano de atendimento e o Departamento Regional de Saúde (DRS), de 1998 a 2013.

Devido ao predomínio da meningite nos DRS de Araraquara, Franca e Barretos as amostras foram encaminhadas prioritariamente pelas vigilâncias epidemiológicas (Gráfico 2).

Gráfico 2. Porcentagem de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a procedência e o Departamento Regional de Saúde(DRS), de 1998 a 2013.

Por ser a meningite uma doença de notificação compulsória, há maior exigência na elucidação dos casos, nos quais muitas vezes não se consegue identificar o agente etiológico e são classificadas como meningite bacteriana não especificada, e/ou quando isolada, a cepa bacteriana não é enviada para caracterização epidemiológica complementar, como sorotipagem entre outros testes.

Embora seja realizado um trabalho constante de conscientização dos profissionais de saúde quanto a importância epidemiológica da caracterização do pneumococo depara-se com certa resistência para o estabelecimento de fluxo de amostras ao IAL, principalmente em relação às linhagens isoladas de pacientes com pneumonia. Este fato prejudica o monitoramento dos sorotipos das linhagens circulantes, dificultando a vigilância das DIPs.

Na avaliação das doenças pneumocócicas a coleta de espécimes clínicos não estéreis é irrelevante, pois grande parte da população alberga o pneumococo na nasofaringe, como portadores assintomáticos (LUCAREVSCHI et al., 2003). Neste contexto, sangue, líquido, líquido pleural entre outros materiais biológicos oriundos de

sítios corpóreos estéreis são os mais indicados para conhecer a frequência dos sorotipos nas doenças pneumocócicas.

No presente estudo, o material biológico mais utilizado para o isolamento do pneumococo foi o sangue (45,6%) (Tabela 3). Todavia, pesquisa realizada em pacientes adultos com suspeita de pneumonia, hospitalizados no Município de Sumaré-SP, obteve positividade de 8,2% na hemocultura (DONALISIO; ARCA; MADUREIRA, 2011).

O isolamento do *S. pneumoniae* em cultura é considerado o padrão ouro no diagnóstico das doenças pneumocócicas, entretanto a positividade da hemocultura é baixa, principalmente em crianças (WERNO; MURDOCH, 2008). Cabe ressaltar a importância rotineira da coleta de hemocultura em pacientes com suspeita de bacteriemia, principalmente com relação ao diagnóstico da meningite, no qual a hemocultura muitas vezes é negligenciada, visando apenas a cultura do líquido (NASCIMENTO-CARVALHO et al., 2003). Nossa casuística confirmou a utilização do líquido como o material biológico mais comum para o diagnóstico de meningite, quando o recomendado seria a coleta simultânea de líquido e do sangue (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Além da baixa positividade da hemocultura, outro agravante, principalmente no diagnóstico da pneumonia, são os casos atendidos ambulatoriamente e tratados de forma empírica, sem que seja realizada coleta de exame para identificação do microrganismo; talvez falta de exigência legal de notificação. Estima-se que cerca de 50% dos casos de pneumonia permaneçam sem diagnóstico etiológico (FILET; MARRIET, 2010). Vale registrar que o diagnóstico ainda é prejudicado pelo uso prévio de antibióticos antes da coleta do material biológico (MANTESE et al, 2002). Assim, a dimensão da carga da doença pneumocócica é subestimada e, difícil de ser avaliada.

Há de se considerar que em 2009 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária objetivando minimizar o impacto das doenças pneumocócicas, aprovou o uso da vacina pneumocócica conjugada polissacarídica contendo dez sorotipos específicos (VPC10); baseado na experiência internacional. O Brasil foi um dos primeiros países a introduzir em 2010 a VPC10 no calendário de vacinação do Programa Nacional de Imunização (PNI). O esquema da VPC10, em crianças menores de 2 anos, envolveu

gratuitamente três doses administradas aos 2, 4 e 6 meses no primeiro ano de vida e uma dose de reforço entre 12 e 15 meses de idade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010b).

Segundo o Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE, 2011), nos municípios da RRAS 13, o número de doses administradas da VPP23 no período de 2001-2010 foi 1,8% em relação ao total da população da RRAS 13, e para a VPC7, no período 2003-2010 apenas 1,3% do total desta população. Entretanto, para a VPC10, disponível na rede pública, observou-se cobertura vacinal nos anos 2011 e 2012 de 82,1% e 88,4%, respectivamente (KFOURI, 2014). O Datasus indica que nos Municípios de Ribeirão Preto, Araraquara, Franca e Barretos a cobertura para a VPC10, nos menores de 5 anos de idade, foi acima de 86% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Publicações referentes a efetividade na implantação da VPC10 na rede pública no Brasil, indicou a diminuição das internações de crianças por pneumonia (AFONSO et al., 2013), além da proteção às portadoras de pneumococo na nasofaringe, contra os sorotipos vacinais (ANDRADE et al., 2014). Após a VPC10 ser implantada, Sartori, Soares e Novaes (2012), avaliaram a relação custo/eficácia desta intervenção, concluindo que o programa de imunização infantil na rede pública é uma medida de baixo custo, porém, é essencial a vigilância sobre a carga da doença na população e os efeitos deste programa a longo prazo.

Nos Estado Unidos, após a introdução da VPC7, além do efeito direto na diminuição dos casos de doença pneumocócica, também observou-se ação indireta na prevenção da doença em indivíduos não vacinados, fenômeno conhecido como efeito rebanho. Este importante efeito é consequência da redução na circulação dos sorotipos vacinais do pneumococo (CDC, 2005). Por outro lado, na Europa e Estados Unidos na era pós VPC7 verificou-se o surgimento de sorotipos invasivos não vacinais (CDC, 2008; FARRELL et al., 2008; MARTÍNEZ et al., 2013; PELTON et al., 2007). Em adição registrou-se os sorotipos 1, 3, 7F, 15, 19A, 27F e 33F como os frequentemente identificados em doenças invasivas em substituição aos sorotipos da VPC7. Na Alemanha, após a utilização da VPC7 notou-se redução da incidência de DIP, porém não verificou-se alteração da frequência dos sorotipos não incluídos na vacina conjugada (RÜCKINGER et al., 2009a).

Em nosso estudo, a distribuição das faixas etárias modificou-se ao longo do período ($p < 0,001$), com diminuição progressiva na porcentagem de casos segundo a faixa etária menor de 1 ano a menor de 20 anos e aumento de DIPs acima de 20 anos de idade no decorrer da investigação. De 1998-2002, a maior porcentagem estava em pacientes com menos de 5 anos, com predomínio em menores de 1 ano. A partir de 2010 além da diminuição da proporção de DIPs nas faixas etárias cobertas pela vacina, também verificou-se redução dos casos em pessoas abaixo dos 20 anos de idade. Parece indicar alteração na frequência das faixa etária da população não vacinal. Nesse sentido, reforçamos a necessidade de implementar outras pesquisas que permitam confirmar ou não o efeito rebanho nestas faixas etárias.

Entre 2003-2010 e 2011-2013, a maioria dos pacientes tinha 5 anos ou mais, com predomínio da faixa etária de 20 a menor que 60 anos de idade, como Já mencionado. Santos et al. (2013), verificaram em São Paulo a redução dos casos de DIPs em todas as faixas etárias, com destaque nos menores de 2 anos, nos quais ocorreu diminuição de 80% dos casos. Nosso estudo difere do relato de Santos et al. (2013), pois nele observou-se diminuição das DIPs, apenas nos menores de 20 anos (Tabela 5).

Tabela 5. Pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a faixa etária e o período do isolamento, de 1998 a 2013.

Faixa etária (anos)	Períodos						Total	
	1998 – 2002		2003 – 2010		2011 – 2013			
	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%
<1	51	23,5	54	11,8	7	7,4	112	14,5
1 + 2	36	16,6	49	10,7	3	3,1	88	11,4
2 + 5	37	17,1	52	11,3	9	9,5	98	12,7
Subtotal (<5)	124	57,1	155	33,8	19	20,0	298	38,7
5 + 20	36	16,6	68	14,8	6	6,3	110	14,3
20+ 60	45	20,7	164	35,7	47	49,5	256	33,2
≥60	12	5,5	72	15,7	23	24,2	107	13,9
Subtotal (≥5)	93	42,9	304	66,2	76	80,0	473	61,3
Total	217	100,0	459	100,0	95	100,0	771	100,0

$p < 0,001$

%* refere-se ao total de casos de DIP em cada período, sendo excluídos 25 casos por falta de informação

Considerando-se todas as faixas etárias e o período do presente estudo, observou-se que houve equilíbrio na proporção de amostras suspeitas de meningite (45,7%) e pneumonia (45%). Segundo o Ministério da Saúde (2011a) a meningite

pneumocócica reduziu 30% em menores de 2 anos de idade, após a inserção da VPC10 no calendário básico da criança. Na região estudada, após 2010, notou-se redução da pneumonia passando de 50,1% para 41,0%. A proporção de casos de meningite diminuiu de 1998-2002 (55,8%) em comparação a 2003-2010 (40,7%). Observou-se ainda, o aumento de casos de pneumonia de 1998-2002 (35,6%) para 2003-2010 (50,1%), o mesmo ocorreu com a bacteriemia/seps (p<0,001). (Tabela 6).

Tabela 6. Pacientes com doença invasiva pneumocócica (DIP) atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, de 1998 a 2013.

DIP	Períodos						Total	
	1998 - 2002		2003 - 2010		2011 - 2013		nº	%
	nº	%*	nº	%*	nº	%*		
Meningite	124	55,8	195	40,7	45	47,4	364	45,7
Pneumonia	79	35,6	240	50,1	39	41,0	358	45,0
Bacteriemia/seps	7	3,2	34	7,1	8	8,4	49	6,2
Outras	12	5,4	10	2,1	3	3,2	25	3,1
Total	222	100,0	479	100,0	95	100,0	796	100,0

%* refere-se ao total de casos de DIP em cada período

p<0,001

Classicamente as doenças pneumocócicas acometem os indivíduos em extremos de idade (crianças e idosos), e, portanto as informações privilegiam os menores de 5 anos e idosos acima de 65 anos de idade (WHO, 2009). No entanto, é relevante envolver todas as faixas etárias, para que se possa realmente avaliar as cepas circulantes em uma determinada área. Segundo OMS, nos países em desenvolvimento as informações sobre a carga da doença pneumocócica em adultos e idosos eram escassas (WHO, 2007). Em meados de 2012, na Argentina e Bolívia o maior número de casos de DIP concentrou-se em pacientes entre 2 e menores de 5 anos de idade (35,6% e 25%, respectivamente). Para o Brasil, detectou-se a maior ocorrência de DIP na faixa etária entre 30 a 49 anos de idade (OPAS, 2012).

No presente estudo, para todas as DIPs o maior número de casos ocorreu nas faixas etárias igual ou maior de 5 anos (59,4%). Destes indivíduos 32,2% tinham entre 20 e menores de 60 anos de idade, com 16,0% de meningite, 12,7% pneumonia, 2,4% Bacteriemia/seps e 1,1% outras DIPs. Adiciona-se aos dados que em crianças até os 5 anos de idade, detectou-se a maior ocorrência de meningite nos menores de 1 ano (8,2%) e a pneumonia entre 2 e menores de 5 anos (7,4%) (Tabela 7).

Tabela 7. Faixa etária dos pacientes atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo as principais DIPs de 1998 a 2013.

Faixa etária (anos)	Diagnóstico								Total	
	Meningite		Pneumonia		Bact/sepse		Outras		nº	%
	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*		
<1	65	8,2	42	5,3	5	0,6	0	0,0	112	14,1
1 + 2	29	3,6	54	6,8	4	0,5	1	0,1	88	11,0
2 + 5	33	4,1	59	7,4	4	0,5	2	0,3	98	12,3
Subtotal <5	127	16,0	155	19,5	13	1,6	3	0,4	298	37,4
5 + 20	57	7,2	44	5,5	4	0,5	5	0,6	110	13,8
20 + 60	127	16,0	101	12,7	19	2,4	9	1,1	256	32,2
≥60	42	5,3	50	6,3	9	1,1	6	0,8	107	13,5
Subtotal ≥5	226	28,4	195	24,5	32	4,0	20	2,5	473	59,4
Ignorado	11	1,4	8	1,0	4	0,5	2	0,3	25	3,1
Total	364	45,7	358	45,0	49	6,2	25	3,1	796	100,0

%* refere-se ao total de casos

Os quadros de meningite são comumente relacionados a crianças menores de 2 anos, principalmente abaixo de 1 ano (JANSEN et al., 2009a; NEGRINI, 2010). Em Uberlândia (MANTESE et al., 2009), assim como no Distrito Federal (VIEIRA et al., 2007) e Rio Grande do Norte (SILVA et al., 2010) a meningite pneumocócica prevaleceu em crianças menores de 5 anos de idade, discordando de nossos dados.

Estima-se que nos países em desenvolvimento a pneumonia comunitária entre crianças menores de 5 anos de idade, atinja 151,8 milhões de casos/ano. O Brasil, está entre os 15 países com maior número de casos de pneumonia, nesta faixa etária (RUDAN et al., 2008). Segundo a Secretaria Estadual de Saúde (2012) as doenças do aparelho respiratórios representam cerca de 12,8% dos óbitos, sendo a terceira principal causa de morte na RRAS 13, sendo a pneumonia responsável por 6,9% dos casos.

A ocorrência das DIPs em pacientes acima dos 5 anos, é uma informação relevante, principalmente levando-se em conta a estimativa de aumento da idade da população. Consultando os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, verificou-se que nas últimas décadas têm sido, acelerado o processo de crescimento da população brasileira considerada idosa (IBGE, 2010). No Censo Nacional de 1960 a população brasileira era constituída por 4,7% de idosos, aumentando progressivamente até atingir 10,7% da população no Censo Nacional de 2010.

Na RRAS 13 calculou-se o índice de envelhecimento de 59,39%, bastante alto quando comparado com a taxa de natalidade de 13,26% (SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, 2012). A carga das DIPS no adulto tem demonstrado ser um problema global, pois além do aumento da expectativa de vida da população, soma-se a associação com comorbidades.

No Brasil, dados do Sistema Regional de Vacinas (SIREVA) apontaram que entre as amostras de DIP, cerca de 50% estavam relacionadas com a meningite (DI FABIO et al., 2001). No entanto, outros autores consideraram a meningite como manifestação rara da doença pneumocócica (NASCIMENTO-CARVALHO et al., 2003; O'BRIEN et al., 2009a).

Segundo o Datasus, de 2001 a 2011, no Brasil, identificou-se 282.593 casos de meningite, sendo 100.559 de meningite bacteriana, dos quais 13.469 atribuídos ao *S. pneumoniae* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011a). De 1999 a 2010, observou-se que 32,5% das meningites bacterianas no Rio Grande do Sul foram causadas pelo *S. pneumoniae* (SCHOSSLER et al., 2012). Em nossa investigação, a porcentagem de pacientes com meningite superou este índice (45,7%).

4.2. Caracterização das amostras de *Streptococcus pneumoniae*, segundo os sorotipos.

Dos 796 *S. pneumoniae* identificou-se 54 diferentes sorotipos, sendo 14, 3, 19F, 1, 6A, 6B, 23F, 9V, 18C, 19A, 12F, 4, 7F, 5, 22F, 11A, 8, 9N, 10A e 15C os vinte mais frequentes. O sorotipo 14 foi o mais comum nos quatro DRS estudados. Ainda, em ordem decrescente os sorotipos 3, 1, 19F, 6A, 6B, 19A, 9V e 23F eram os mais frequentes no DRS de Ribeirão Preto; 3, 18C, 19F, 9V, 11A, 6A, 17F e 23F no DRS de Araraquara; 23F, 3, 19F, 22F, 6A, 6B e 7F no DRS de Franca; 6B, 3, 19F, 1, 18C, 19A e 23F no DRS de Barretos. Observou-se que em cada região ocorreu pequenas diferenças com relação aos sorotipos de pneumococo, entretanto, nota-se que os sorotipos 14, 3, 19F e 23F foram os mais frequentes, em comum, nos quatro DRS (Tabela 8).

Diante da variedade de sorotipos de *S. pneumoniae*, alguns normalmente estão associados com doenças específicas, outros são isolados de portadores

Continuação										
G	2	0,3	1	1,5	0	0,0	0	0,0	3	0,4
16F, NR	2	0,3	2	2,9	0	0,0	0	0,0	4	0,5
21, 31	4	0,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	0,5
23A	0	0,0	0	0,0	2	3,3	0	0,0	2	0,3
35B	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	4,3	2	0,3
10F, 11C, 12A, 17A, 18F, 25A, 29, 37, 42, 9	10	1,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	10	1,3
12	0	0,0	0	0,0	1	1,6	0	0,0	1	0,1
Total	620	100,0	68	100,0	61	100,0	47	100,0	796	100,0

%* refere-se ao total de casos de DIP de cada DRS

NT – Não tipavel, NR – Não realizada

A PCV7 foi introduzida no Brasil em 2002, gratuitamente apenas às pessoas com alto risco de adquirir DIP e em clínicas privadas, atingindo assim pequena parcela da população, verificando-se ausência de resposta a esta intervenção. Atualmente, a VPC7 esta fora do mercado, após a aprovação da VPC10 e VPC13, com maior valência. No Brasil comparando-se o período que antecede a aprovação da VPC7, (1998-2002) com o posterior (2003-2010) é possível identificar diminuição dos casos DIPs nas faixas etárias menores de 20 anos, conforme apresentado na tabela 5. Esta redução na proporção de DIPs a partir de 2002 poderia sugerir resultado da VPC7. Entretanto, os sorotipos específicos da VPC7 não tiveram alteração relevante do período 1998-2002 (45,9%) para 2003-2010 (48,2%) (Tabela 9).

Por outro lado, diferente da VPC7, além da diminuição do número total de DIPs de 479 para 95, respectivamente nos períodos 2003-2010 para 2011-2013, a porcentagem total dos sorotipos incluídos na VPC10, também diminuíram 2003-2010 (57,4%) para 2011-2013 (29,5%). Por outro lado, a proporção dos sorotipos da VPC13 aumentaram de 2003-2010 (16,7%) para 2011-2013 (26,3%), assim como os sorotipos não vacinais 12F, 11A, 8, 9N, 15C e 6C. De 1998 a 2010 o sorotipo 14 era o mais prevalente, após 2010, este sorotipo diminuiu de 19,6% para 6,3%. Vale ainda destacar que a proporção dos sorotipos 14, 19F, 19A e 7F, tiveram redução progressiva ao longo do período estudado (Tabela 9).

Tabela 9. Sorotipos vacinais e não vacinais de *S. pneumoniae* identificados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o período do isolamento, de 1998 a 2013.

Sorotipos	Períodos						Total	
	1998 - 2002		2003 - 2010		2011 - 2013		nº	%
	nº	%*	nº	%*	nº	%*		
VPC7								
14	45	20,3	94	19,6	6	6,3	145	18,2
19F	15	6,8	28	5,8	3	3,2	46	5,8
6B	7	3,2	27	5,6	4	4,2	38	4,8
23F	8	3,6	29	6,1	0	0,0	37	4,6
9V	6	2,7	25	5,2	3	3,2	34	4,3
18C	13	5,9	15	3,1	5	5,3	33	4,1
4	8	3,6	13	2,7	3	3,2	24	3,0
Total VPC7	102	45,9	231	48,2	24	25,3	357	44,8
Incluídos								
VPC10								
1	12	5,4	31	6,5	0	0,0	43	5,4
7F	7	3,2	12	2,5	2	2,1	21	2,6
5	14	6,3	1	0,2	2	2,1	17	2,1
Total VPC10	33	14,9	44	9,2	4	4,2	81	10,2
Incluídos								
VPC13								
3	14	6,3	42	8,8	17	17,9	73	9,2
6A	13	5,9	20	4,2	6	6,3	39	4,9
19A	13	5,9	18	3,8	2	2,1	33	4,1
Total VPC13	40	18,0	80	16,7	25	26,3	145	18,2
Não vacinais								
12F	1	0,5	18	3,8	9	9,5	28	3,5
11A	0	0,0	12	2,5	3	3,2	15	1,9
22F	3	1,4	12	2,5	0	0,0	15	1,9
8	2	0,9	5	1,0	5	5,3	12	1,5
9N	1	0,5	6	1,3	3	3,2	10	1,3
10A	3	1,4	5	1,0	1	1,1	9	1,1
15C	2	0,9	3	0,6	4	4,2	9	1,1
17F	3	1,4	5	1,0	0	0,0	8	1,0
6C	1	0,5	3	0,6	4	4,2	8	1,0
18A	4	1,8	3	0,6	0	0,0	7	0,9
18B	2	0,9	5	1,0	0	0,0	7	0,9
23B	1	0,5	5	1,0	0	0,0	6	0,8
NT	3	1,4	3	0,6	0	0,0	6	0,8
NR	0	0,0	2	0,4	0	0,0	2	0,3
Outros**	21	9,5	37	7,7	13	13,7	71	8,9
Total não vacinais	47	21,2	124	25,9	42	44,2	215	27,0
Total	222	100,0	479	100,0	95	100,0	796	100,0

%* refere-se ao total de casos de DIP em cada período, Outros** - sorotipos com menos de 6 isolados

NT – Não tipável, NR – Não realizado

VPC7 – Vacina pneumocócica conjugada 7 valente

VPC10 – Vacina pneumocócica conjugada 10 valente

VPC13 – Vacina pneumocócica conjugada 13 valente

Neste estudo, detectou-se aumento dos sorotipos 6A e 6C. Com exceção da VPC13, todas as outras formulações disponíveis contém apenas o sorotipo 6B, pois, acredita-se que este sorotipo induza proteção cruzada contra o 6A, por existir apenas uma diferença estrutural entre eles. Por outro lado, esta proteção não se

estende ao sorotipo 6C (PARK et al., 2007; PARK et al., 2008), o qual possui mais alterações em sua estrutura. O 6C é um dos últimos sorotipos descobertos e tem sido associado à doença invasiva (VICKERS et al., 2010). Neste cenário, Park e colaboradores (2007), estudando o sorogrupo 6 de *S. pneumoniae* afirmam "...as vacinas pneumocócicas atuais podem ajudar o sorotipo 6C a tornar-se mais prevalentes do que antes, assim como ocorreu para o sorotipo 19A". Em nossa investigação, observou-se o aumento do sorotipo 6C após a liberação da VPC10 na rede pública, passando de 0,6% no período 2003-2010 para 4,2% em 2011-2013

Wroe e colaboradores (2012), estudando crianças portadoras de pneumococo na nasofaringe observaram que após a introdução da VPC7 em Massachusetts, o sorotipo 6C aumentou, passando a ser o segundo mais prevalente.

Estudo realizado na Espanha demonstrou que a introdução do sorotipo 6A na VPC13, pode induzir resposta imune para o sorotipo 6C, os quais são intimamente relacionados (ARDANUY et al., 2012).

Segundo Castañeda e colaboradores (2009) a maioria dos pneumococos possui cápsula polissacarídica, permitindo a sorotipagem. As cepas não tipáveis (NT) são aquelas que apresentam resultado negativo para todos os anti-soro específicos. As linhagens NT são mais frequentes em portadores de pneumococo, ou doenças não invasivas, sendo raro o isolamento em doenças invasivas (SHOUVAL et al., 2006). Nesta investigação, verificou-se que 0,8% das cepas eram NT. Andrade et al. (2013) pesquisando a epidemiologia molecular de cepas NT ressaltam a importância do monitoramento da circulação destas após a vacinação, devido a similaridade genética entre as linhagens NT e o sorotipo 14.

Ademais, estudo realizado em Goiânia isolou 62,9% de pneumococo NT não sensíveis à penicilina, na nasofaringe de portadores (FRANCO et al., 2013). Na presente pesquisa, entre as cepas de pneumococo NT observou-se resistência total à penicilina em um caso, isolado de paciente com meningite.

Neste contexto, alguns autores enfatizam a importância da identificação criteriosa dos pneumococos, com o intuito de diferenciá-los de outras espécies de *Streptococcus* (ING et al., 2012). A utilização de metodologia laboratorial eficiente e

rigorosa na identificação do agente etiológico é fundamental no monitoramento das doenças de notificação compulsória (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Após a utilização das vacinas conjugadas tem-se observado diminuição dos sorotipos vacinais e aumento daqueles não incluídos na vacina, fenômeno conhecido como substituição de sorotipos. Assim sendo, quando se avalia o efeito da vacina pneumocócica, a taxa global da ocorrência da doença não tem diminuição expressiva, devido ao aumento de outros sorotipos não vacinais, (DAGAN, 2009; GUEVARA et al., 2009). A substituição de sorotipos após a vacina conjugada tem sido observada em vários países (AGUIAR et al., 2010; HICKS et al., 2007; ISAACMAN et al., 2010; LEVY et al., 2011; OLIVIER, 2013; PARRA et al., 2013; WENGER et al., 2010).

O incremento de sorotipos não vacinais detectados neste estudo sugere substituição de sorotipos, discordando de Santos et al. (2013) que não observaram, em São Paulo, aumento significativo de sorotipos não vacinais nas DIPs, após a VPC10. Flutuações na ocorrência dos sorotipos podem ocorrer naturalmente ou pela pressão seletiva de vacinas, assim, aumento de sorotipos não vacinais devem ser avaliados com critério. Segundo Olivier (2013), fatores complexos e variados estão envolvidos no fenômeno de substituição, sendo difícil de ser analisado. Assim, as mudanças da incidência dos sorotipos relacionados à doença pneumocócica, após a utilização de vacinas conjugadas devem ser diferenciados das alterações temporais próprias dos sorotipos (WHO, 2007).

Neste cenário, a substituição de sorotipos, após a vacinação, pode deixar dúvidas quanto ao efeito benéfico desta intervenção, porém muitos sorotipos não vacinais parecem ser menos invasivos que os vacinais, assim a redução das doenças invasivas torna-se um efeito mais positivo que a eventual substituição dos sorotipos (SCOTT et al., 2012). Apesar da possibilidade de ocorrer substituição de sorotipos com as vacinas conjugadas, vários autores relataram como benefício desta classe de vacinas a diminuição: da incidência de DIP causada pelos sorotipos vacinais, dos casos de pneumonia e otite média, dos portadores de sorotipos vacinais na nasofaringe e da resistência aos antibióticos, além de notar-se imunidade de rebanho na população não vacinada (AGUIAR et al., 2008; KELLNER et al., 2009; MERA et al., 2008; SALLERAS et al., 2009).

No entanto, na Austrália, após a introdução da VPC7, não se notou redução das taxas de resistência aos antimicrobianos, apenas diminuição da doença pneumocócica (OFLDEH; GIDDING; GILBERT, et al., 2013). Compatível com a França, onde houve declínio da meningite pneumocócica, porém os sorotipos prevalentes na faixa etária de 1 a 18 anos de idade permaneceram os contidos na VPC7 (BINGEN et al., 2008).

É oportuno destacar que já na década de noventa Obaro e colaboradores (1996) argumentavam que a eliminação dos sorotipos de pneumococos invasivos, que colonizam a microbiota de crianças vacinadas, poderia favorecer a colonização destas por outros sorotipos com potencial patogênico desconhecido. Além disso, Veenhoven et al, (2003) enfatizou a possibilidade da colonização da nasofaringe por outras espécies bacterianas, diferentes do pneumococo, com risco de causar doença. Estas questões, associadas a especificidade das vacinas quanto ao sorotipo e aliadas ao alto custo de sua produção, incentivam a investigação de novos tipos de vacinas.

Atualmente a mais avançada tecnologia para vacina pneumocócica são as vacinas conjugadas contendo polissacarídeos capsulares ligados a um carreador proteico, entretanto existem estudos para a implantação de uma nova geração de vacinas baseadas em componentes proteicos comuns do *S. pneumoniae* aos quais fornecem imunidade independente do sorotipo (BRANDILEONI et al., 2004; MIYAJI et al., 2013). Segundo a OMS para que nova tecnologia seja aprovada será necessário oferecer benefício equivalente ou superior ao obtido para as vacinas conjugadas, visando a prevenção da doença pneumocócica (WHO, 2007).

Os sorotipos 14, 3, 19F, 1, 6A, 6B, 23F, 9V, 18C, 19A, 12F, 4, 7F, 5, 11A, 22F, 8 e 9N, foram os mais comumente isolados nas DIPs na região estudada, representando 83,3% dos casos. No período que antecedeu a VPC10, predominou, em ordem decrescente, os sorotipos 14 (19,6%), 3 (8,8%), 1 (6,5%), 23F (6,1%), 19F (5,8%), 6B (5,6%) e 9V (5,2%). Após a vacinação passaram a predominar o 3 (17,9%), 12F (9,5%), 14 (6,3%), 6A (6,3%), 18C (5,3%) e 8 (5,3%) (Tabela 10).

Avaliando-se todas as faixas etárias e cada sorotipo com 10 isolados ou mais, no período estudado, observou-se diferença estatística com os sorotipos 14, 3, 1, 23F, 12F, 5, 11A e 8. Ocorreu aumento de proporção do 3 ($p=0,004$), 12F ($p<0,001$), 11A

($p=0,047$) e 8 ($p=0,006$) e diminuição da proporção do 14 (0,006), 1($p=0,039$), 23F ($p=0,026$) e 5 ($p<0,001$). Chama atenção o aumento estatisticamente significativo dos sorotipos 3, 12F, 11A e 8, necessitando vigilância em sua circulação, pois nenhum destes sorotipos fazem parte da VPC10, com exceção do sorotipo 3 que está incluído na VPC13, os demais são sorotipos não vacinais. Embora não estatisticamente significativo, notou-se também o aumento dos sorotipos 6A, 18C e 4 (Tabela 10).

Tabela 10. Sorotipos de *S. pneumoniae* mais isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o período de isolamento, de 1998 a 2013.

Sorotipos	Períodos						Total		valor p
	1998 – 2002		2003 – 2010		2011 – 2013				
	n=222		n=479		n=95		n=796		
	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%	
14	45	20,3	94	19,6	6	6,3	145	18,2	0,006
3	14	6,3	42	8,8	17	17,9	73	9,2	0,004
19F	15	6,8	28	5,8	3	3,2	46	5,8	0,451
1	12	5,4	31	6,5	0	0,0	43	5,4	0,039
6A	13	5,9	20	4,2	6	6,3	39	4,9	0,501
6B	7	3,2	27	5,6	4	4,2	38	4,8	0,344
23F	8	3,6	29	6,1	0	0,0	37	4,6	0,026
9V	6	2,7	25	5,2	3	3,2	34	4,3	0,262
18C	13	5,9	15	3,1	5	5,3	33	4,1	0,205
19A	13	5,9	18	3,8	2	2,1	33	4,1	0,245
12F	1	0,5	18	3,8	9	9,5	28	3,5	<0,001
4	8	3,6	13	2,7	3	3,2	24	3,0	0,811
7F	7	3,2	12	2,5	2	2,1	21	2,6	0,832
5	14	6,3	1	0,2	2	2,1	17	2,1	<0,001
11A	0	0,0	12	2,5	3	3,2	15	1,9	0,047
22F	3	1,4	12	2,5	0	0,0	15	1,9	0,206
8	2	0,9	5	1,0	5	5,3	12	1,5	0,006
9N	1	0,5	6	1,3	3	3,2	10	1,3	0,140

%* refere-se ao total de casos de DIP em cada período.

A ocorrência do sorotipo 14 manteve-se nos períodos de 1998-2002 (20,3%), 2003-2010 (19,6%). A partir de 2011-2013, ocorreu diminuição significativa (6,3%) ($P=0,006$) deste sorotipo. O sorotipo 3, apresentou positividade de 6,3% e 8,8%, respectivamente nos períodos 1998-2002 e 2003-2010, e superou o isolamento do sorotipo 14 no último período do estudo (17,9%) ($p=0,004$), passando a ser o mais frequente (Tabela 10).

Observou-se variações na distribuição dos sorotipos, deste estudo, com a relatada pela OPAS (2010a), para o Brasil, na qual os sorotipos 14 (13,4%), 6B/6D

(8,8%), 3 (7,2%), 23F (7,1%), 19F (5,5%), 6A (5,0%), 7F (3,6%), 18C (3,5%), 19A (3,2%), 4 (3,1%), 9V (2,6%), 1 (1,6%), 5 (1,1%) e 6C (1,1%) foram os mais prevalentes. A ocorrência dos sorotipos 12F, 11A, 22F, 8 e 9N entre os mais frequentes, no atual estudo, diverge dos dados nacionais (Tabela 10). Alterações na distribuição dos sorotipos é um fato comum, que pode ter influência principalmente da faixa etária, síndrome clínica, região estudada, e ainda da introdução de vacinas e do uso de antimicrobianos (PAI et al., 2005).

Um exemplo de substituição de sorotipos é o que tem ocorrido com o 19A, o qual é citado como um dos emergentes nos Estados Unidos após a VPC7 (HICKS et al., 2007; PAI et al., 2005; WROE et al., 2012), além do aumento na ocorrência deste sorotipo, ele tem sido associado à frequente resistência à penicilina (BARAHONA et al., 2004; HAUSDORFF; FEIKIN; KLUGMAN, 2005). Segundo Richter et al. (2013), com a utilização da VPC13, na qual o 19A está incluído, o aumento deste estabilizou-se.

Avaliação realizada em São Paulo, demonstrou que o 19A não sofreu alteração do período pré para o pós VPC10 (SANTOS et al., 2013). Semelhante ao presente estudo, no qual, o sorotipo 19A também não apresentou variação no decorrer dos períodos 1998-2002 (5,9%), 2003-2010 (3,8%) e 2011-2013 (2,1%) ($p=0,245$) (Tabela 10). No Brasil, assim como no Caribe e em alguns países da América Latina destacava-se a baixa frequência do sorotipo 19A (OPAS, 2009). Porém, este panorama tem sido alterado, pois, já se registra aumento na circulação do 19A também nestes países (CASTAÑEDA et al., 2012; OPAS 2012).

A meningite (45,7%) e a pneumonia (45,0%) foram as DIPs mais frequentes na RRAS 13, tendo os sorotipos 14 (5,7%), 3 (4,3%) e 19F (3,8%) envolvidos na meningite; e os sorotipos 14 (11,9%), 3 (4,4%) e 1 (4,1%) na pneumonia; o sorotipo 3 (0,5%) em bacteriemia/seps e 0,6% das outras DIPs pertenciam ao sorotipo 6A (Tabela 11).

Tabela 11. Sorotipos de *S. pneumoniae* mais isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo as principais DIPs diagnosticadas, de 1998 a 2013.

Sorotipo	Meningite		Pneumonia		Bact./sepse		Outras		Total	
	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*
14	45	5,7	95	11,9	3	0,4	2	0,3	145	18,2
3	34	4,3	35	4,4	4	0,5	0	0,0	73	9,2
19F	30	3,8	12	1,5	3	0,4	1	0,1	46	5,8
1	7	0,9	33	4,1	1	0,1	2	0,3	43	5,4
6A	22	2,8	12	1,5	0	0,0	5	0,6	39	4,9
6B	15	1,9	19	2,4	3	0,4	1	0,1	38	4,8
23F	16	2,0	16	2,0	3	0,4	2	0,3	37	4,6
9V	19	2,4	12	1,5	3	0,4	0	0,0	34	4,3
18C	22	2,8	8	1,0	2	0,3	1	0,1	33	4,1
19A	15	1,9	14	1,8	3	0,4	1	0,1	33	4,1
12F	21	2,6	4	0,5	2	0,3	1	0,1	28	3,5
4	7	0,9	14	1,8	2	0,3	1	0,1	24	3,0
7F	8	1,0	9	1,1	2	0,3	2	0,3	21	2,6
5	4	0,5	12	1,5	0	0,0	1	0,1	17	2,1
11A	10	1,3	5	0,6	0	0,0	0	0,0	15	1,9
22F	8	1,0	7	0,9	0	0,0	0	0,0	15	1,9
8	4	0,5	6	0,8	2	0,3	0	0,0	12	1,5
9N	2	0,3	5	0,6	3	0,4	0	0,0	10	1,3
Outros	75	9,4	40	5,0	13	1,6	5	0,6	133	16,7
Total	364	45,7	358	45,0	49	6,2	25	3,1	796	100,0

%* refere-se ao total de casos

Coincidindo com nossos resultados, nos últimos anos, observou-se tendência de diminuição dos sorotipos 1 e 5, no Brasil (OPAS, 2006; OPAS, 2009; OPAS, 2011). Discordando desta afirmação Yoshioka e cols. (2011), identificaram os sorotipos 1 e 5 entre os mais frequentes isolados de crianças internadas com pneumonia invasiva no Município de São Paulo.

Brandileone e colaboradores (2003), identificaram os sorotipos 1 e 6B entre os mais prevalentes em meningite, no Brasil, em todas as idades. No LACEN do Paraná, durante os anos 2001-2002 o pneumococo foi o agente etiológico mais frequente nas meningites bacterianas agudas, com maior ocorrência dos sorotipos 14, 3 e 23F (ROSSONI et al., 2008).

Neste estudo, o sorotipo 3 esteve entre os mais prevalentes nas pneumonias, segundo Chio et al. (2008), este sorotipo alberga um fator de virulência específico para pneumonia e normalmente está associado a quadros severos da doença (BENDER

et al, 2008), principalmente em idosos (MIRANDA, 2012). Por outro lado, o potencial de invasão expresso pelo sorotipo 1 tem relação com surtos e casos fatais de meningite na África (GESSNER et al., 2010), e em alguns países da Europa (MOTLOVÁ, 2005), porém no atual estudo não se detectou o sorotipo 1 entre os principais causadores de meningite.

Nos sorotipos com frequência acima de 10, observou-se diferença estatística segundo a faixa etária, em relação aos sorotipos 14 ($p<0,001$), 3 ($p=0,001$), 19F ($p=0,005$), 1 ($p<0,001$), 6A ($p=0,079$), 6B ($p=0,012$), 12F ($p=0,074$), 4 ($p=0,007$), 11A ($p=0,036$) e 8 ($p=0,027$). Em menores de 5 anos, 83% dos isolados pertenciam aos sorotipos 14 (37,2%), 6A (7,0%), 6B (6,4%), 3 (5,4%), 1 (5,4%), 18C (5,4%), 19A (5,4%), 23F (3,7%), 9V (3,7%) e 19F (3,0%). Acima dos 5 anos de idade, 71% dos pneumococos foram relacionados aos sorotipos 3 (11,8%), 19F (7,0%), 14 (6,3%), 1 (5,5%), 23F (5,3%), 9V (4,9%), 12F (4,9%), 4 (4,7%), 6A (3,8%), 6B (3,8%), 19A (3,6%), 18C (3,4%), 7F (3,2%) e 11A (3,0%) (Tabela 12). Semelhante ao detectado em outras regiões do Brasil (BRANDILEONI et al, 2003; VIEIRA et al, 2007) e da América Latina (VALENZUELA et al., 2009).

Assim como no Brasil e em vários países da América Latina (OPAS, 2010a), a maior proporção do sorotipo 14 ocorreu em menores de 5 anos (37,2%). Observou-se o sorotipo 3 a partir dos 20 anos, o sorotipo 19F entre 5 e menor de 20 anos, o sorotipo 1 entre 2 e menor de 20 anos, o sorotipo 6A predominou em menores de 5 anos. O sorotipo 6B foi entre 1 e menor de 2 anos, o sorotipo 8 entre 20 e menor de 60 anos, o mesmo ocorrendo com os sorotipos 4, 11A e 12F (Tabela 12). Michel et al. (2005) também destacaram o isolamento do sorotipo 12F em adultos.

Avaliando-se o total das DIPs em todas as faixas etárias, além do sorotipo 14 verificou-se o predomínio do sorotipo 3 (9,3%), principalmente em adultos, porém observou-se sua importância também em crianças menores de 2 anos (Tabela 12), corroborando com estudo realizado em Uberlândia (MANTESE et al., 2009). Na atual pesquisa, os sorotipos 14, 6B, 6A, 3 e 19A estão entre os principais causadores de doenças invasivas em menores de 2 anos de idade, sendo que o 14 e 6B fazem parte da VPC10, os demais estão incluídos apenas na VPC13. Na faixa etária com 60 anos ou mais, os sorotipos 3, 9V, 19F e 23 F foram os mais frequentes nas DIPs (Tabela

12). Na Argentina a maioria das DIPs concentrou-se nos sorotipos 14, 1 e 5, na Bolívia os sorotipos mais frequentes foram o 14, 6B e 18F (OPAS, 2012).

Na Colômbia, Agudelo e colaboradores (2006), identificaram a ocorrência do sorotipo 1 em adultos jovens (11,6%) e crianças entre 6-14 anos de idade (21,6%), coincidindo com o atual estudo, no qual o sorotipo 1 acometeu mais a faixa etária entre 2 a menores de 20 anos de idade (Tabela 12). Em países da América Latina o sorotipo 1 foi considerado a maior causa de doença invasiva pneumocócica em todas as idades (CASTAÑEDA et al., 2009).

No estudo em questão, observou-se a predominância do 19A em crianças abaixo de 5 anos de idade, principalmente em menores de 1 ano (8,9%) (Tabela 12). Semelhante ao relatado nos Estados Unidos, onde a frequência deste sorotipo em menores de 6 anos foi bastante acentuada entre os períodos 1998-1999 (2,6%) e 2006-2007 (47,2%) (PILISHVILI et al., 2010).

Tabela 12. Sorotipos de *S. pneumoniae* mais isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo a idade dos pacientes, de 1998 a 2013.

Sorotipo	Faixa etária (anos)																Total n=771	Valor de p	
	< 1		1- 2		2-5		Subtotal < 5		5-20		20-60		≥60		Subtotal ≥ 5				
	n=112		n=88		n=98		n=298		n=110		n=256		n=107		n=473				
	nº	%*	nº	%*	nº	%	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%			
14	37	33,0	36	40,9	38	38,8	111	37,2	8	7,3	15	5,9	7	6,5	30	6,3	141	18,3	<0,001
3	8	7,1	5	5,7	3	3,1	16	5,4	5	4,5	34	13,3	17	15,9	56	11,8	72	9,3	0,001
19F	3	2,7	1	1,1	5	5,1	9	3,0	11	10,0	13	5,1	9	8,4	33	7,0	42	5,4	0,005
1	3	2,7	2	2,3	11	11,2	16	5,4	16	14,5	7	2,7	3	2,8	26	5,5	42	5,4	<0,001
6A	10	8,9	3	3,4	8	8,2	21	7,0	7	6,4	9	3,5	2	1,9	18	3,8	39	5,1	0,079
6B	6	5,4	10	11,4	3	3,1	19	6,4	0	0,0	13	5,1	5	4,7	18	3,8	37	4,8	0,012
23F	4	3,6	5	5,7	2	2,0	11	3,7	6	5,5	12	4,7	7	6,5	25	5,3	36	4,7	0,696
9V	4	3,6	4	4,5	3	3,1	11	3,7	5	4,5	8	3,1	10	9,3	23	4,9	34	4,4	0,167
18C	6	5,4	4	4,5	6	6,1	16	5,4	8	7,3	5	2,0	3	2,8	16	3,4	32	4,2	0,174
19A	10	8,9	3	3,4	3	3,1	16	5,4	2	1,8	9	3,5	6	5,6	17	3,6	33	4,3	0,123
12F	1	0,9	1	1,1	1	1,0	3	1,0	4	3,6	15	5,9	4	3,7	23	4,9	26	3,4	0,074
4	0	0,0	0	0,0	2	2,0	2	0,7	2	1,8	16	6,2	4	3,7	22	4,7	24	3,1	0,007
7F	2	1,8	2	2,3	1	1,0	5	1,7	3	2,7	9	3,5	3	2,8	15	3,2	20	2,6	0,825
5	2	1,8	3	3,4	1	1,0	6	2,0	3	2,7	6	2,3	0	0,0	9	1,9	15	1,9	0,531
11A	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	1,8	10	3,9	2	1,9	14	3,0	14	1,8	0,036
22F	1	0,9	0	0,0	1	1,0	2	0,7	1	0,9	7	2,7	3	2,8	11	2,3	13	1,7	0,404
8	1	0,9	0	0,0	0	0,0	1	0,3	0	0,0	9	3,5	1	0,9	10	2,1	11	1,4	0,027
9N	0	0,0	1	1,1	0	0,0	1	0,3	3	2,7	5	2,0	1	0,9	9	1,9	10	1,3	0,357

%* refere-se ao total de casos em cada faixa etária, sendo excluídos 25 pacientes, por falta de informação.

VPC10 é composta pelos sorotipos 14, 19F, 6B, 23F, 9V, 18C, 4, 1, 7F e 5 podendo fornecer imunidade cruzada estendida para o sorotipo 6A (YU et al., 1999). A VPC13 inclui ainda os sorotipos 3, 6A e 19A. Na presente pesquisa, considerando os sorotipos mais frequentes e a imunidade cruzada entre 6A e 6B, a estimativa dos sorotipos vacinais isolados, em menores de 5 anos de idade atinge 69,2% para a VPC10 e 87,0% para a VPC13. Entretanto, para os maiores de 5 anos a porcentagem de sorotipos isolados presentes nas VPC10 e VPC13 foi 46,0% e 65,2%, respetivamente (Tabela 12). Detectou-se em estudos brasileiros taxas de 77,6% a 82,8% para a VPC10 e 86,0% a 94,2% para a VPC13 (ALVARES et al., 2011; ANDRADE et al., 2012; CASTAÑEDA et al., 2009). Segundo a OMS (WHO, 2007) uma vacina somente deve ser liberada para uma região se incluir os sorotipos 1, 5 e 14 e se atingir no mínimo 60% de cobertura dos sorotipos prevalentes, o que é considerado um nível de cobertura vacinal moderado.

Nesta casuística, a maior porcentagem de sorotipos de pneumoco presentes na VPC13 justifica-se pelo fato dos sorotipos 6A (7,0%), 3 (5,4%) e 19A (5,4%) estarem entre os mais prevalentes em crianças menores de 5 anos (17,8%). Ademais, entre os maiores de 5 anos o 3 (11,8%), 6A (3,8%) e 19A (3,6%) representam 19,2% dos isolamentos. Considerando-se que estes sorotipos estão contidos na VPC13, a utilização desta como opção à VPC10, poderia diminuir a porcentagem de DIPs, na região estudada (Tabela 12). Em 2010, países como a Itália (MARTINELLI et al., 2014) e Estados Unidos (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2010) substituíram a VPC7, em uso desde 2000, pela VPC13, devido à maior cobertura de sorotipos.

4.3. Perfil de sensibilidade do *Streptococcus pneumoniae* aos antimicrobianos.

Na presente investigação, o disco de oxacilina indicou que mais da metade dos *S. pneumoniae* (69,2%) eram sensíveis à penicilina e ceftriaxona. Realizou-se a CIM em 30,8% das cepas resistentes à oxacilina (Tabela 13), semelhante aos 27,8% de pneumococo resistente à oxacilina identificado em Uberlândia (ALVARES et al., 2011).

Para os demais antimicrobianos realizou-se o teste de disco difusão para definir o perfil de sensibilidade do *S. pneumoniae*. Neste teste, observou-se semelhança

para os quatro DRS, com sensibilidade ao cloranfenicol e eritromicina acima de 90%. Apenas para o Sulfametoxazol/trimetoprim (SMT) o pneumococo demonstrou sensibilidade abaixo de 56,4% (Tabela 13). Detectou-se 100% de sensibilidade à vancomicina nas 683 cepas testadas.

Tabela 13. Perfil de sensibilidade do *S. pneumoniae* aos antimicrobianos, realizado pelo teste de disco difusão nos isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, de 1998 a 2013.

Antimicrobianos	DRS	Nº cepas testadas	Sensível		Intermediário		Resistente	
			nº	%*	nº	%*	nº	%*
Cloranfenicol	Rib. Preto	549	548	99,8	0	0,0	1	0,2
	Araraquara	58	56	96,6	0	0,0	2	3,4
	Franca	54	54	100,0	0	0,0	0	0,0
	Barretos	38	38	100,0	0	0,0	0	0,0
Total		699	696	99,6	0	0	3	0,4
Eritromicina	Rib. Preto	553	525	94,9	1	0,1	27	4,9
	Araraquara	58	54	93,1	0	0,0	4	6,9
	Franca	53	51	96,2	0	0,0	2	3,8
	Barretos	37	34	91,9	0	0,0	3	8,1
Total		701	664	94,7	1	0,1	36	5,1
SMT	Rib. Preto	558	253	45,3	24	4,3	281	50,4
	Araraquara	58	29	50,0	2	3,4	27	46,6
	Franca	55	31	56,4	3	5,5	21	38,2
	Barretos	37	16	43,2	0	0,0	21	56,8
Total		708	329	46,5	29	4,1	350	49,4
Oxacilina**	Rib. Preto	620	431	69,5	0	0,0	189	30,5
	Araraquara	68	49	72,1	0	0,0	19	27,9
	Franca	61	35	57,4	0	0,0	26	42,6
	Barretos	47	36	76,6	0	0,0	11	23,4
Total		796	551	69,2	0	0,0	245	30,8

%* refere-se ao total de cepas testadas de cada DRS

DRS – Departamento Regional de Saúde

** Oxacilina (1 µg) utilizada como triagem para determinar a sensibilidade à penicilina e ceftriaxona.

O teste de triagem com disco de oxacilina (1 µg) utilizado para prever a sensibilidade do *S. pneumoniae* à penicilina e ceftriaxona, é simples e útil no laboratório, pois com ele boa porcentagem das cepas já são definidas como sensíveis, evitando a realização da CIM, que trata-se de prova mais elaborada e de maior custo.

Após a realização da CIM nos pneumococos resistentes à oxacilina (30,8%), observou-se não sensibilidade à penicilina em 14,8% das cepas (3,0% resistência intermediária e 11,8% resistência plena). Em Portugal, nos anos 2003-2004, avaliação

de infecções pneumocócicas respiratórias invasivas e não invasivas, em todas as faixas etárias, revelou porcentagem maior (18,4%) de cepas não sensíveis à penicilina (MELO-CRISTINO et al., 2006).

Linhagens de *S. pneumoniae* resistentes à penicilina não estão restritas a quadros infecciosos, no Brasil tem sido relatado este perfil em portadores assintomáticos, principalmente em crianças que frequentam creches (FRANCO et al. 2010; VELASQUEZ et al., 2009).

Para ceftriaxona, a resistência foi de 5,3% (4,3% resistência intermediária e 1,0% resistência plena). Observou-se maior proporção de cepas de *S. pneumoniae* resistentes à penicilina e ceftriaxona no DRS de Franca (31,1% e 3,3%, respectivamente), sendo que nos DRS de Araraquara e Barretos nenhum isolado de *S. pneumoniae* foi resistente à ceftriaxona (Tabela 14).

Tabela 14. Perfil de sensibilidade do *S. pneumoniae* à penicilina e ceftriaxona, realizado pela Concentração Inibitória Mínima nos isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, de 1998 a 2013.

Antimicrobianos	DRS	Nº cepas testadas	Sensível		Intermediário		Resistente	
			nº	%	nº	%	nº	%
Penicilina	Rib. Preto	620	548	88,4	21	3,4	51	8,2
	Araraquara	68	54	79,4	1	1,5	13	19,1
	Franca	61	40	56,6	2	3,3	19	31,1
	Barretos	47	36	76,6	0	0,0	11	23,4
Total		796	678	85,2	24	3,0	94	11,8
Ceftriaxona	Rib. Preto	612	584	95,4	22	3,6	6	1,0
	Araraquara	67	62	92,6	5	7,5	0	0,0
	Franca	61	53	86,9	6	9,8	2	3,3
	Barretos	47	46	97,8	1	2,1	0	0,0
Total		787	745	94,7	34	4,3	8	1,0

%* refere-se ao total de cepas testadas de cada DRS
DRS – Departamento Regional de Saúde

No presente estudo, entre os *S. pneumoniae* não sensíveis (intermediárias e resistentes) verificou-se taxas de 53,5% para SMT, 14,8% para penicilina, 5,2% para eritromicina e 0,4% para cloranfenicol (Tabelas 13 e 14), valores inferiores aos detectados em Porto Alegre: SMT 68%, penicilina 28%, eritromicina 15% e cloranfenicol 3%. Entretanto, isolou-se 5,3% de pneumococos não sensíveis à

ceftriaxona na região desta pesquisa, enquanto em Porto Alegre apenas 1% apresentaram este perfil para ceftriaxona. Para vancomicina, 100% das linhagens foram sensíveis em ambos os estudos (WEBER; DIAS; COSTA, 2010).

Salienta-se que não se evidenciou resistência do *S. pneumoniae* à vancomicina, esta sensibilidade deve ser preservada, pois a vancomicina associada a outros antibióticos é considerada uma opção para o tratamento da meningite por pneumococo (APPELBAUM et al., 2002; ROSSONI et al. 2008; VIEIRA et al., 2007). Ao que consta, os pneumococos isolados no presente estudo, foram menos resistentes à eritromicina que os da Alemanha (19,9%) (REINERT et al., 2004) e Estados Unidos (35,3%) (HICKS; MONNET; ROBERTS, 2010).

A sensibilidade do *S. pneumoniae* ao cloranfenicol e eritromicina permaneceu acima de 90% durante todo o estudo, semelhante ao relatado por Santos et al., (2013), que avaliaram o período pré e pós VPC10 em São Paulo. Na presente pesquisa, observou-se maior nível de resistência para SMT, compatível com o encontrado em outras pesquisas nacionais (BRANDILEONI et al., 2006; MENEZES et al., 2011; OPAS, 2009; SANTOS et al., 2013; YOSHIOKA et al., 2011). Todavia, houve aumento na sensibilidade do pneumococo à SMT após a vacinação passando de 42,0% (2003-2010) para 72,3% (2011-2013) ($p<0,001$) (Tabela 15).

Soeters e colaboradores (2011), na África do Sul mostraram evidências que a não sensibilidade do pneumococo à SMT está geralmente ligada a resistência a múltiplas drogas, fato que tem sido observado em pacientes portadores de HIV que utilizam a SMT como droga profilática para prevenir infecções oportunistas.

Em vários países, além da expressiva redução da doença pneumocócica com a VPC7 (CDC, 2008; RÜCKINGER et al., 2009a), documentou-se declínio das infecções por cepas não sensíveis à penicilina, devido ao menor uso dos antibióticos (GRIVEA et al., 2010). A Espanha exemplifica esta afirmação, pois desde a implantação da VPC7 pediátrica observou-se diminuição na taxa de *S. pneumoniae* não suscetível à penicilina, passando de 32,1% (1999) para 21,1% (2008), em adultos, e de 48,4% para 27,4% em crianças (FENOLL et al., 2009).

Comparação das cepas de pneumococo não sensíveis à penicilina, do período que antecedeu a VPC10 (2003-2010) com o período pós vacinação (2011-2013), demonstrou que a diferença na proporção de linhagens foi pequena 17,1% e 14,7%, respectivamente. Todavia, detectou-se diminuição da sensibilidade do pneumococo à penicilina do período 1998-2002 (90,1%) para 2003-2010 (82,9%) ($p=0,044$) (Tabela 15). Estudo realizado no Rio de Janeiro, apresentou resultados semelhantes ao nosso, pois, com aumento gradativo da resistência do pneumococo à penicilina nos períodos de 2000-2002 (8%), 2003-2005 (12%) e 2006-2008 (20%) (BARROSO et al., 2012).

A sensibilidade do pneumococo à ceftriaxona permaneceu acima de 90% durante todo o estudo. Entretanto, detectou-se diminuição progressiva desta sensibilidade de 98,6%, 93,5% e 91,6%, respectivamente nos períodos 1998-2002, 2003-2010 e 2011-2013 ($p=0,012$) (Tabela 15).

Tabela 15. Perfil de sensibilidade do *S. pneumoniae* aos antimicrobianos, nos isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o ano do isolamento, de 1998 a 2013.

Antimicrob.	Perfil de sensibilidade	Período						Total		Valor de p
		1998/2002		2003/2010		2011/2013		nº	%*	
		nº	%*	nº	%*	nº	%*			
Cloranfenicol	Sensível	143	99,3	460	99,8	93	98,9	696	99,6	-
	Intermediário	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
	Resistente	1	0,7	1	0,2	1	1,1	3	0,4	
Total		144	100,0	461	100,0	94	100,0	699	100,0	
Eritromicina	Sensível	137	94,5	440	95,2	87	92,6	664	94,7	0,564
	Intermediário	0	0,0	1	0,2	0	0,0	1	0,1	
	Resistente	8	5,5	21	4,6	7	7,4	36	5,1	
Total		145	100,0	462	100,0	94	100,0	701	100,0	
SMT	Sensível	64	44,1	197	42,0	68	72,3	329	46,5	<0,001
	Intermediário	9	6,2	19	4,1	1	1,1	29	4,1	
	Resistente	72	49,7	253	53,9	25	26,6	350	49,4	
Total		145	100,0	469	100,0	94	100,0	708	100,0	
Penicilina	Sensível	200	90,1	397	82,9	81	85,3	678	85,2	0,044
	Intermediário	4	1,8	18	3,7	2	2,1	24	3,0	
	Resistente	18	8,1	64	13,4	12	12,6	94	11,8	
Total		222	100,0	479	100,0	95	100,0	796	100,0	
Ceftriaxona	Sensível	213	98,6	445	93,5	87	91,6	745	94,7	0,012
	Intermediário	3	1,4	26	5,5	5	5,3	34	4,3	
	Resistente	0	0,0	5	1,1	3	3,6	8	1,0	
Total		216	100,0	476	100,0	95	100,0	787	100,0	

%* refere-se ao total de cepas testadas em cada período

Na atual pesquisa, a resistência à penicilina restringiu-se aos sorotipos 14 (4,5%), 23F (1,4%), 19F (1,3%), 9V (1,3%), 19A (1,1%), 6B (0,9%) e 6A (0,8%) (Tabela

16), similar aos sorotipos tradicionalmente descritos como resistentes à penicilina em outros estudos (ANDRADE et al., 2012; BARROSO et al., 2012; HAUSDORFF; FEIKIN; KLUGMAN, 2005; MANTESE et al., 2009; MENEZES et al., 2011; NASCIMENTO-CARVALHO et al., 2003; OPAS, 2009). Todos estes sorotipos estão incluídos na VPC10, com exceção do 19A e 6A que fazem parte apenas da VPC13. Estes sorotipos estão relacionados à colonização da nasofaringe de crianças, estando portanto, mais sujeitos a desenvolver reduzida sensibilidade à penicilina e macrolídeos, por serem estes antibióticos rotineiramente utilizados na comunidade (REINERT, 2009).

Tabela 16. Diferentes sorotipos de *S. pneumoniae* mais isolados em pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o perfil de sensibilidade à penicilina, de 1998 a 2013.

Sorotipo	Sensível		Intermediário		Resistente		Total	
	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%
14	90	11,3	19	2,4	36	4,5	145	18,2
3	73	9,2	0	0,0	0	0,0	73	9,2
19F	35	4,4	1	0,1	10	1,3	46	5,8
1	43	5,4	0	0,0	0	0,0	43	5,4
6A	33	4,4	0	0,0	6	0,8	39	4,9
6B	29	3,6	2	0,3	7	0,9	38	4,8
23F	24	3,0	2	0,3	11	1,4	37	4,6
9V	24	3,0	0	0,0	10	1,3	34	4,3
18C	33	4,4	0	0,0	0	0,0	33	4,1
19A	24	3,0	0	0,0	9	1,1	33	4,1
12F	28	3,5	0	0,0	0	0,0	28	3,5
4	24	3,0	0	0,0	0	0,0	24	3,0
7F	21	2,6	0	0,0	0	0,0	21	2,6
5	17	2,1	0	0,0	0	0,0	17	2,1
11A	15	1,9	0	0,0	0	0,0	15	1,9
22F	15	1,9	0	0,0	0	0,0	15	1,9
8	12	1,5	0	0,0	0	0,0	12	1,5
9N	10	1,3	0	0,0	0	0,0	10	1,3
Outros	128	16,1	0	0,0	5	0,6	133	16,7
Total	678	85,2	24	3,0	94	11,8	796	100,0

%* refere-se ao total de casos

Avaliando-se a resistência à penicilina em relação aos 364 casos de meningite, de acordo com os padrões do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008), observou-se resistência do pneumococo em 25,5% (n=93) dos casos, com os valores da CIM entre 0.125 a 4.000. Compatível com vários autores que relataram, para os pneumococos isolados de pacientes com meningite taxa de resistência variando de

21,4% a 27,1%, (ALVARES et al., 2011; MENEZES et al., 2011; NEGRINI, 2010; OPAS, 2012). Valores inferiores foram verificados no Estado do Paraná (15%) (ROSSONI et al., 2008) e Salvador (13 a 19%) (GOUVEIA et al., 2011). Entretanto, em Cuba, El Salvador, Honduras e México, este índice supera os demais, pois detectou-se resistência do pneumococo à penicilina acima de 50,0%, nos casos de meningite (OPAS, 2012).

Para as demais infecções pneumocócicas não meníngeas, o presente estudo, detectou 3,1% das cepas de pneumococo não sensíveis à penicilina (3,0% resistência intermediária e 0,1% resistência plena) (Tabela 17). Resultados obtidos por Negrini (2010), no Município de Ribeirão Preto, demonstraram que para infecções não meníngeas em crianças menores de 5 anos, o pneumococo não apresentou resistência total à penicilina e 3,5% deles foram parcialmente resistentes. Em 2011, para o Brasil, 4,5% das cepas de pneumococo apresentaram resistência intermediária à penicilina, com ausência de resistência plena. Na Argentina, observou-se porcentagens menores, com ausência de resistência plena à penicilina e resistência intermediária de 0,7%. Porém, na Bolívia verificou-se taxas mais elevadas de resistência intermediária (4,2%) e total (4,2%) (OPAS, 2012).

Avaliando-se isoladamente a pneumonia (n=358), verificou-se sensibilidade do pneumococo à penicilina em 93,9% (n=336) dos casos, 5,9% (n=21) demonstraram resistência intermediária (CIM=4.000) e 0,3% (n=1) resistência plena (CIM=8.000).

Das 94 (11,8%) cepas de pneumococo com resistência plena à penicilina 11,7% eram isoladas de meningite e apenas 0,1% de pneumonia. O total de 3,0% dos pneumococos isolados de infecções não meníngeas apresentaram resistência intermediária à penicilina (Tabela 17).

Tabela 17. Principais doenças invasivas pneumocócicas (DIP) em pacientes na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o perfil de sensibilidade à penicilina, de 1998 a 2013.

DIP	Susceptibilidade à penicilina						Total	
	Sensível		Intermediário		Resistente		nº	%
	nº	%*	nº	%*	nº	%*		
Meningite	271	34,0	-	-	93	11,7	364	45,7
Pneumonia	336	42,2	21	2,6	1	0,1	358	45,0
Bacteriemia/sepsse	47	5,9	2	0,3	0	0,0	49	6,2
Outros	24	3,0	1	0,1	0	0,0	25	3,1
Total	678	85,2	24	3,0	94	11,8	796	100,0

%* refere-se ao total casos

É consenso em alguns estudos que os pacientes com pneumonia tratados com penicilina apresentaram evolução clínica semelhante, independente do resultado do teste de sensibilidade *in vitro* ter sido resistente ou sensível à penicilina (CARDOSO et al., 2008; NEGRINI, 2010; PÍREZ-GÁRCIA et al., 2008, SONG et al., 1999; VILA - CORCOLES et al., 2009, Yoshioka et al., 2011; YU et al., 2003). Assim, para as infecções não meníngeas, a penicilina continua ser o tratamento de escolha para as doenças pneumocócicas (MARCH, 2013). O presente estudo reforça este dado, pois avaliando-se individualmente a pneumonia, verificou-se sensibilidade do pneumococo à penicilina acima 90,0%, demonstrando ser esta a melhor opção terapêutica.

Segundo Nascimento-Carvalho e Souza Marques, (2004), para tratar infecções com resistência intermediária, doses habituais de penicilina e derivados são eficazes no tratamento de pneumonia comunitária. No entanto, para o tratamento da meningite bacteriana aguda de origem comunitária a cefalosporina de terceira geração é a terapêutica empírica inicial (ROSSONI et al, 2008).

Além da sorotipagem, atualmente a diversidade dos pneumococos tem sido definida por técnicas moleculares, as quais ajudam a definir os clones emergentes e a propagação da resistência e virulência do pneumococo, além de ser uma ferramenta interessante para identificar aumento e expansão de novos clones na era pós-vacinal (ELBERSE et al., 2011; ENRIGHT; SPRATT, 1998).

Com a emergência e disseminação dos clones internacionais Espanha (9V)-3 e Tennessee (14)-18, que expressam a cápsula do sorotipo 14 e caracterizam-se por resistência às drogas, o aumento da resistência do pneumococo à penicilina tem se acentuado ao longo dos anos no Brasil (BRANDILEONI et al., 2006; MANTESE et al.,

2009) e na América Latina (ALBARRACÍN et al., 2008). No Rio de Janeiro, Barroso e colaboradores (2012) estudando pneumococos, isolados de meningite, resistentes à penicilina detectaram, o clone Espanha-3, todos ligados ao sorotipo 14.

Dos *S. pneumoniae* isolados de meningite 361 foram testados para sensibilidade à ceftriaxona, dos quais 8,6% (n=31) foram não sensíveis, sendo 6,4% (n=23) resistência intermediária (CIM=1.000) e 2,2% (n=8) resistência plena (CIM=2.000). Nota-se que a porcentagem dos pneumococos totalmente resistentes à ceftriaxona, na região deste estudo, foi menor que a observada no Hospital de Uberlândia, no qual detectou-se 12,5% dos pneumococos resistentes (6,9% intermediária e 5,6% resistência plena) (ALVARES, et al., 2011). No entanto, verificou-se proporção semelhante de cepas com perfil intermediário nos dois estudos.

Embora a resistência à ceftriaxona tenha sido baixa, pode representar um alerta, pois, a terapia com ceftriaxona tem substituído o uso de ampicilina como tratamento de primeira escolha para suspeita de meningite bacteriana (GOUVEIA et al., 2011). Em muitos países da América Latina, a resistência plena à ceftriaxona, em meningite pneumocócica é baixa, com a maior porcentagem observada no México (32,3%). Os dados do Brasil, mostraram 3,7% de resistência plena, e 5,4% de resistência intermediária para isolados de meningite (OPAS, 2012).

Na presente casuística, para infecções não meníngeas não se observou resistência plena dos pneumococos à ceftriaxona, porém, 1,4% das cepas apresentaram perfil de resistência intermediária para os isolados de pneumonia. O total de 4,3% dos pneumococos isolados demonstraram resistência intermediária à ceftriaxona, sendo 2,9% em pacientes com meningite. A resistência plena à ceftriaxona foi verificada apenas para meningite (1%) (Tabela 18). No Brasil, nas infecções diferentes de meningite, observou-se taxa de 3,0% de resistência intermediária e nenhuma cepa de pneumococo totalmente resistente à ceftriaxona. Na Guatemala e México verificou-se proporção bastante superior de pneumococos resistentes à ceftriaxona (16,7% e 16,5%, respectivamente) (OPAS, 2012). Melo-Cristino, Santos e Ramirez (2006) relataram que 7,1% das infecções pneumocócicas invasivas e não invasivas em Portugal, foram resistentes à ceftriaxona e macrolídeos.

Tabela 18. Principais doenças invasivas pneumocócicas (DIP) em pacientes na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, segundo o perfil de sensibilidade à ceftriaxona, de 1998 a 2013.

DIP	Susceptibilidade à ceftriaxona						Total	
	Sensível		Intermediário		Resistente		nº	%
	nº	%*	nº	%*	nº	%*		
Meningite	330	41,9	23	2,9	8	1,0	361	45,8
Pneumonia	343	43,6	11	1,4	0	0,0	354	45,0
Bacteriemia/seps	48	6,1	0	0,0	0	0,0	48	6,1
Outros	24	3,0	0	0,0	0	0,0	24	3,0
Total	745	94,7	34	4,3	8	1,0	787	100,0

%* refere-se ao total de cepas testadas n=787

Neste estudo, verificou-se em 8 (1%) pacientes com meningite, pneumococos com resistência plena à penicilina e ceftriaxona simultaneamente, valor inferior aos 13% detectado no Rio de Janeiro em isolados de pacientes com meningite (BARROSO et al, 2012).

Cepas de *S. pneumoniae* resistentes à penicilina são frequentemente associadas à resistência para outras classes de antimicrobianos, principalmente a SMT (APPELBAUM et al., 2011). Weber, Dias e Costa (2010), avaliando a resistência do pneumococo aos antibióticos em Porto Alegre, observaram que das 18 cepas resistentes à penicilina 7 foram resistentes a no mínimo duas outras drogas. Em Salvador, 1,3% dos pneumococos isolados de infecção respiratória eram multidrogas resistente (CRITCHLEY et al., 2001).

No presente estudo, verificou-se a presença de *S. pneumoniae* multirresistentes em 7 casos (0,9%), sendo 4 de meningite, 2 de pneumonia e 1 de seps. Em todos eles observou-se resistência simultânea à penicilina, eritromicina e SMT, confirmando o modelo mais comumente encontrado em pneumococos com resistência simultânea (AGUDELO et al., 2006). O isolamento de linhagens multirresistentes tem sido descrito também no Estados Unidos, estando relacionada com o sorotipo 19A (CORNICK; BENTLEY, 2012). Nesta investigação, os sorotipos 14, 19F, 6A e 6B estiveram envolvidos neste perfil de resistência.

Nas Tabelas 19 a 36 analisou-se a relação dos sorotipos mais frequentes com os demais sorotipos em relação a sensibilidade aos antimicrobianos.

Em relação aos outros sorotipos, não houve diferença estatística na sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 9V ao cloranfenicol ($p=0,718$) e eritromicina ($p=0,186$). No entanto, verificou-se diferença para SMT ($p=0,003$), penicilina ($p=0,014$) e ceftriaxona ($p=0,001$) na qual a sensibilidade do sorotipo 9V foi menor que dos outros sorotipos (Tabela 19).

Tabela 19. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 9V aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano		Nº de cepas testadas		Sensibilidade						
				Sorotipo				Total		Valor de p
				9V		Não 9V				
9V	Não 9V	nº	%*	nº	%*	nº	%*			
Cloranfenicol	29	670	29	100,0	667	99,6	696	99,6	0,718	
Eritromicina	30	671	30	100,0	634	94,5	664	94,7	0,186	
SMT	30	678	6	20,0	323	47,6	329	46,5	0,003	
Penicilina	34	762	24	70,6	654	85,8	678	85,2	0,014	
Ceftriaxona	34	753	28	82,4	717	95,2	745	94,7	0,001	

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Não observou-se diferença estatística do *S. pneumoniae* sorotipo 9N em relação aos demais sorotipos para a sensibilidade ao cloranfenicol ($p=0,843$), eritromicina ($p=0,476$), SMT ($p=0,902$), penicilina ($p=0,184$) e ceftriaxona ($p=0,450$) (Tabela 20).

Tabela 20. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 9N aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano	Nº de cepas testadas		Sensibilidade						Valor de p
			Sorotipo				Total		
			9N		Não 9N				
			nº	%*	nº	%*			
	9N	Não 9N	nº	%*	nº	%*	nº	%*	
Cloranfenicol	9	690	9	100,0	687	99,6	696	99,6	0,843
Eritromicina	9	692	9	100,0	655	94,7	664	94,7	0,476
SMT	9	699	4	44,4	325	46,5	329	46,5	0,902
Penicilina	10	786	10	100,0	668	85,0	678	85,2	0,184
Ceftriaxona	10	777	10	100,0	735	94,6	745	94,7	0,450

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

em comparação aos outros sorotipos. Não ocorreu diferença estatística para a sensibilidade ao cloranfenicol ($p=0,405$) e eritromicina ($p=0,181$) (Tabela 23).

Tabela 23. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 14 aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano	Nº de cepas testadas		Sensibilidade						
			Sorotipo				Total		Valor de p
			14		Não 14				
			14	Não 14	nº	%*	nº	%*	
Cloranfenicol	129	570	129	100,0	567	99,5	696	99,6	0,405
Eritromicina	131	570	121	92,4	543	95,3	664	94,7	0,181
SMT	132	576	9	6,8	320	55,6	329	46,5	<0,001
Penicilina	145	651	90	62,1	588	90,3	678	85,2	<0,001
Ceftriaxona	140	647	111	79,3	634	98,0	745	94,7	<0,001

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Não houve diferença estatística na sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 6B utilizando cloranfenicol ($p=0,690$), SMT ($p=0,201$), penicilina ($p=0,115$) e ceftriaxona ($p=0,984$). Entretanto, o sorotipo 6B foi menos sensível à eritromicina ($p<0,001$) que os outros sorotipos (Tabela 24).

Tabela 24. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 6B aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano		Nº de cepas testadas		Sensibilidade						Valor de p
				Sorotipo				Total		
				6B		Não 6B				
				nº	%*	nº	%*			
6B	Não 6B	nº	%*	nº	%*	nº	%*			
Cloranfenicol	35	664	35	100,0	661	99,5	696	99,6	0,690	
Eritromicina	36	665	29	80,6	635	95,5	664	94,7	<0,001	
SMT	36	672	13	36,1	316	47,0	329	46,5	0,201	
Penicilina	38	758	29	76,3	649	85,6	678	85,2	0,115	
Ceftriaxona	38	749	36	94,7	709	94,7	745	94,7	0,984	

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Relacionando-se a sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 1 com os demais sorotipos nota-se que não ocorreu diferença estatística para o cloranfenicol ($p=0,699$), eritromicina ($p=0,511$) e ceftriaxona ($p=0,109$). O sorotipo 1 foi mais sensível à

penicilina que os demais sorotipos ($p=0,005$). No entanto, a sensibilidade para SMT foi menor que dos outros sorotipos ($p<0,001$) (Tabela 25).

Tabela 25. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 1 aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano	Nº de cepas testadas		Sensibilidade						
			Sorotipo				Total		Valor de p
			1		Não 1				
			1	Não 1	nº	%*	nº	%*	
Cloranfenicol	33	666	33	100,0	663	99,5	696	99,6	0,699
Eritromicina	35	666	34	97,1	630	94,6	664	94,7	0,511
SMT	35	673	2	5,7	327	48,6	329	46,5	<0,001
Penicilina	43	753	43	100,0	635	84,3	678	85,2	0,005
Ceftriaxona	43	744	43	100,0	702	94,4	745	94,7	0,109

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Não houve diferença estatística comparando-se a sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 11A com os outros sorotipos utilizando cloranfenicol ($p=0,797$), eritromicina ($p=0,355$), SMT ($p=0,612$), penicilina ($p=0,103$) e ceftriaxona ($p=0,353$) (Tabela 26).

Tabela 26. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 11A aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Sorotipos, de 1999 a 2010.									
Antimicrobiano	Nº de cepas testadas		Sensibilidade						Valor de p
			Sorotipo				Total		
			11A		Não 11A				
	11A	Não 11A	nº	%*	nº	%*	nº	%*	
Cloranfenicol	15	684	15	100,0	61	99,6	696	99,6	0,797
Eritromicina	15	686	15	100,0	649	94,6	664	94,7	0,355
SMT	15	693	6	40,0	323	46,6	329	46,5	0,612
Penicilina	15	781	15	100,0	663	84,9	678	85,2	0,103
Ceftriaxona	15	772	15	100,0	730	94,6	745	94,7	0,353

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

A sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 12F à eritromicina ($p=0,202$) e ceftriaxona ($p=0,201$) não foi estatisticamente diferente que os outros sorotipos. Para o cloranfenicol o sorotipo 12F foi menos sensível ($p=0,009$), enquanto para SMT ($p<0,001$) e penicilina este sorotipo foi mais sensível que os demais (Tabela 27).

Tabela 27. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 12F aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano		Nº de cepas testadas		Sensibilidade						
				Sorotipo				Total		Valor de p
				12F		Não 12F				
				nº	%*	nº	%*			
12F	Não 12F	nº	%*	nº	%*	nº	%*			
Cloranfenicol	28	671	27	96,4	669	99,7	696	99,6	0,009	
Eritromicina	28	673	28	100,0	636	94,5	664	94,7	0,202	
SMT	28	680	26	92,9	303	44,6	329	46,5	<0,001	
Penicilina	28	768	28	100,0	650	84,6	678	85,2	0,025	
Ceftriaxona	28	759	28	100,0	717	94,5	745	94,7	0,201	

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Em relação aos outros sorotipos, o *S. pneumoniae* 18C foi mais sensível à penicilina ($p=0,014$), não havendo diferença estatística para a sensibilidade ao cloranfenicol ($p=0,733$) eritromicina, ($p=0,771$), SMT ($p=0,404$) e ceftriaxona ($p=0,163$) (Tabela 28).

Tabela 28. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 18C aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano		Nº de cepas testadas		Sensibilidade						
				Sorotipo				Total		Valor de p
				18C		Não 18C				
				18C	Não 18C	nº	%*	nº	%*	
Cloranfenicol	26	673	26	100,0	670	99,6	696	99,6	0,733	
Eritromicina	25	676	24	96,0	640	94,7	664	94,7	0,771	
SMT	26	682	10	38,5	319	46,8	329	46,5	0,404	
Penicilina	33	763	33	100,0	645	84,5	678	85,2	0,014	
Ceftriaxona	33	754	33	100,0	712	94,4	745	94,7	0,163	

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Não ocorreu diferença estatística na sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 19A ao cloranfenicol ($p=0,713$), eritromicina ($p=0,179$) e ceftriaxona ($p=0,850$). Porém, houve diferença para SMT ($p=0,001$) e penicilina ($p=0,040$), sendo a sensibilidade do sorotipo 19A menor que dos outros sorotipos (Tabela 29).

Tabela 29. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 19A aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano		Nº de cepas testadas		Sensibilidade						
				Sorotipo				Total		Valor de p
				19A		Não 19A				
				19A	Não 19A	nº	%*	nº	%*	
Cloranfenicol	30	669	30	100,0	666	99,6	696	99,6	0,713	
Eritromicina	31	670	31	100,0	633	94,5	664	94,7	0,179	
SMT	30	678	5	16,7	324	47,8	329	46,5	0,001	
Penicilina	33	763	24	72,7	654	85,7	678	85,2	0,040	
Ceftriaxona	33	754	31	93,9	714	94,7	745	94,7	0,850	

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Em relação aos demais sorotipos, o *S. pneumoniae* 19F foi menos sensível à eritromicina ($p=0,062$) e penicilina ($P=0,074$), não apresentando diferença estatística para a sensibilidade ao cloranfenicol ($P=0,653$), SMT ($0,889$) e ceftriaxona ($p=0,325$) (Tabela 30).

Tabela 30. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 19F aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano		Nº de cepas testadas		Sensibilidade						
				Sorotipo				Total		Valor de p
				19F		Não 19F				
				19F	Não 19F	nº	%*	nº	%*	
Cloranfenicol	44	655	44	100,0	652	99,5	696	99,6	0,653	
Eritromicina	44	657	39	88,6	625	95,1	664	94,7	0,062	
SMT	44	664	20	45,5	309	46,5	329	46,5	0,889	
Penicilina	46	750	35	76,1	643	85,7	678	85,2	0,074	
Ceftriaxona	46	741	45	97,8	700	94,5	745	94,7	0,325	

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

O *S. pneumoniae* sorotipo 22F foi mais sensível à SMT ($p=0,001$) que os outros sorotipos. Entretanto, não apresentou diferença estatística para a sensibilidade ao cloranfenicol ($p=0,811$), eritromicina ($p=0,569$), penicilina ($p=0,103$) e ceftriaxona ($p=0,353$) (Tabela 31).

Tabela 31. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 22F aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano		Nº de cepas testadas		Sensibilidade						
				Sorotipo				Total		Valor de p
				22F		Não 22F				
				22F	Não 22F	nº	%*	nº	%*	
Cloranfenicol	13	686	13	100,0	683	99,6	696	99,6	0,811	
Eritromicina	11	690	10	90,9	654	94,8	664	94,7	0,569	
SMT	13	695	12	92,3	317	45,6	329	46,5	0,001	
Penicilina	15	781	15	100,0	663	84,9	678	85,2	0,103	
Ceftriaxona	15	772	15	100,0	730	94,6	745	94,7	0,353	

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Não houve diferença estatística na sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 23F ao cloranfenicol ($p=0,696$), eritromicina ($0,532$), SMT ($p=0,660$) e ceftriaxona ($p=0,157$). Para a penicilina ($p<0,001$) o sorotipo 23F foi menos sensível que os outros sorotipos (Tabela 32).

Tabela 32. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 23F aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano		Nº de cepas testadas		Sensibilidade						Valor de p
				Sorotipo				Total		
				23F		Não 23F				
				nº	%*	nº	%*			
23F	Não 23F	nº	%*	nº	%*	nº	%*			
Cloranfenicol	35	664	35	100,0	661	99,5	696	99,6	0,696	
Eritromicina	34	667	33	97,1	631	94,6	664	94,7	0,532	
SMT	35	673	15	42,9	314	46,7	329	46,5	0,660	
Penicilina	37	759	24	64,9	654	86,2	678	85,2	<0,001	
Ceftriaxona	34	753	34	100,0	711	94,4	745	94,7	0,157	

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Houve diferença estatística comparando-se o *S. pneumoniae* sorotipo 3 com os demais sorotipos utilizando SMT ($p<0,001$), penicilina ($p<0,001$) e ceftriaxona ($p=0,033$). A sensibilidade do sorotipo 3 foi menor que a dos outros sorotipos para o cloranfenicol ($p=0,001$). Não ocorreu diferença estatística para eritromicina ($p=0,737$) (Tabela 33).

Tabela 33. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 3 aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Sorotipos, de 1999 a 2010.									
Antimicrobiano	Nº de cepas testadas		Sensibilidade						Valor de p
			Sorotipo				Total		
			3		Não 3				
	3	Não 3	nº	%*	nº	%*	nº	%*	
Cloranfenicol	69	630	67	97,1	629	99,8	696	99,6	0,001
Eritromicina	68	633	65	95,6	599	94,6	664	94,7	0,737
SMT	68	640	64	94,1	265	41,4	329	46,5	<0,001
Penicilina	73	723	73	100,0	605	83,7	678	85,2	<0,001
Ceftriaxona	73	714	73	100,0	672	94,1	745	94,7	0,033

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Para o *S. pneumoniae* sorotipo 4 não se observou diferença estatística na sensibilidade utilizando cloranfenicol ($p=0,743$), eritromicina ($p=0,250$) e ceftriaxona ($p=0,237$) em relação aos outros sorotipos. Porém, para SMT ($p<0,001$) e penicilina o sorotipo 4 foi mais sensível que os demais sorotipos (Tabela 34).

Tabela 34. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 4 aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano		Nº de cepas testadas		Sensibilidade						Valor de p
				Sorotipo				Total		
				4		Não 4				
4	Não 4	nº	%*	nº	%*	nº	%*			
Cloranfenicol	24	675	24	100,0	672	99,6	696	99,6	0,743	
Eritromicina	23	678	23	100,0	641	94,5	664	94,7	0,250	
SMT	24	684	22	91,7	307	44,9	329	46,5	<0,001	
Penicilina	24	772	24	100,0	654	84,7	678	85,2	0,038	
Ceftriaxona	24	763	24	100,0	721	94,5	745	94,7	0,237	

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Comparando-se a sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 5 com os demais sorotipos, verificou-se que este foi mais sensível para penicilina ($p=0,082$). No entanto, não houve diferença estatística para o cloranfenicol ($p=0,883$), eritromicina ($p=0,596$), SMT (0,543) e ceftriaxona ($p=0,322$) (Tabela 35).

Tabela 35. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 5 aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano	Nº de cepas testadas		Sensibilidade						Valor de p
			Sorotipo				Total		
			5		Não 5				
5	Não 5	nº	%*	nº	%*	nº	%*		
Cloranfenicol	5	694	5	100,0	691	99,6	696	99,6	0,883
Eritromicina	5	696	5	100,0	659	94,7	664	94,7	0,596
SMT	5	703	3	60,0	326	46,4	329	46,5	0,543
Penicilina	17	779	17	100,0	661	84,9	678	85,2	0,082
Ceftriaxona	17	770	17	100,0	728	94,5	745	94,7	0,322

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

Observou-se que em relação aos outros sorotipos, a sensibilidade do *S. pneumoniae* 6A não foi estatisticamente diferente para o uso de cloranfenicol ($p=0,708$), penicilina ($p=0,920$) e ceftriaxona ($p=0,953$), sendo menos sensível para eritromicina ($p=0,072$) e SMT (0,024) (Tabela 36).

Tabela 36. Sensibilidade do *S. pneumoniae* sorotipo 6A aos antimicrobianos, isolados de pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, de 1998 a 2013.

Antimicrobiano		Nº de cepas testadas		Sensibilidade						
				Sorotipo				Total		Valor de p
				6A		Não 6A				
				6A	Não 6A	nº	%*	nº	%*	
Cloranfenicol	31	668	31	100,0	665	99,6	696	99,6	0,708	
Eritromicina	33	668	29	87,9	635	95,1	664	94,7	0,072	
SMT	33	675	9	27,3	320	47,4	329	46,5	0,024	
Penicilina	39	757	33	84,6	645	85,2	678	85,2	0,920	
Ceftriaxona	39	748	37	94,9	708	94,7	745	94,7	0,953	

%* refere-se ao total de cepas testadas para cada antimicrobiano

O Quadro 1 apresenta um resumo da sensibilidade de cada sorotipo mais frequente em relação a sensibilidade dos outros sorotipos, sendo as caselas sombreadas os resultados com diferença estatística. Os sorotipos menos sensíveis a pelo menos dois antimicrobianos foram o 9V, 14, 19A, 19F e o 6A.

Quadro 1. Resumo das diferenças estatísticas da sensibilidade de cada sorotipo de *S. pneumoniae* mais frequente em pacientes com doença invasiva pneumocócica atendidos na Rede Regional de Assistência à Saúde 13, relacionados aos demais sorotipos, de 1998 a 2013.

Sorotipo	Cloranfenicol	Eritromicina	SMT	Penicilina	Ceftriaxona
9V	SSE	SSE	↓	↓	↓
9N	SSE	SSE	SSE	SSE	SSE
8	SSE	SSE	↑	SSE	SSE
7F	SSE	SSE	↑	↑	SSE
14	SSE	SSE	↓	↓	↓
6B	SSE	↓	SSE	SSE	SSE
1	SSE	SSE	↓	↑	SSE
11A	SSE	SSE	SSE	SSE	SSE
12F	↓	SSE	↑	↑	SSE
18C	SSE	SSE	SSE	↑	SSE
19A	SSE	SSE	↓	↓	SSE
19F	SSE	↓	SSE	↓	SSE
22F	SSE	SSE	↑	SSE	SSE
23F	SSE	SSE	SSE	↓	SSE
3	↓	SSE	↑	↑	↑
4	SSE	SSE	↑	↑	SSE
5	SSE	SSE	SSE	↑	SSE
6A	SSE	↓	↓	SSE	SSE

Todos os sorotipos foram 100% sensíveis à vancomicina

↑ Maior sensibilidade em relação aos demais sorotipos

↓ Menor sensibilidade em relação aos demais sorotipos

SSE - sem significância estatística

Os resultados obtidos por Brandileoni et al. (2006), demonstraram os sorotipos 6A, 6B, 9V, 14, 19A, 19F e 23F associados com resistência a antibióticos. No estudo em questão, na avaliação da sensibilidade de cada sorotipo mais frequente em relação aos demais sorotipos, observou-se que 9V e 14 foram menos sensíveis à penicilina, SMT e ceftriaxona, o 19A à penicilina e SMT, 19F à penicilina e eritromicina, o 6A a SMT e eritromicina, o 6B a eritromicina e o sorotipo 23F foi menos sensível a penicilina que os demais sorotipos (Quadro 1). Segundo Hausdorff, Feikin e Klugman (2005), o sorotipo 1 é considerado bastante sensível aos antibióticos, assim como os sorotipos 3, 18C, 15 e 35. Na presente investigação, verificou-se que o sorotipo 1, 3 e 18C foram mais sensíveis à penicilina. Além disso, o sorotipo 3 foi ainda mais sensível à SMT e ceftriaxona quando comparados com os demais sorotipos mais frequentes na região (Quadro 1).

A literatura relata o sorotipo 1 mais ligado a infecções invasivas, estando presente na colonização da nasofaringe apenas em períodos de curta duração

(HAUSFORFF; FEIKIN; KLUGMAN, 2005). Assim, menos exposto aos antibióticos e consequentemente menos resistente à penicilina (BRUEGGEMANN; SPRATT, 2003).

Com a crescente resistência do pneumococo aos antimicrobianos em nível global, torna-se cada vez mais oportuna a implementação de vacinas eficazes, visando o controle das doenças pneumocócica invasivas e não invasivas. Neste contexto, diante da grande quantidade de sorotipos existentes, ressalta-se como prioridade o estudo das cepas circulantes, dando subsídios para conhecer o cenário epidemiológico local e regional das doenças pneumocócicas.

4.4. Informações clínicas dos pacientes com DIP internados no HCRP/USP (1998-2013).

Utilizou-se o banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP), que além de ser o local que mais contribuiu com o envio de amostras ao IAL, é a única unidade de saúde, incluída neste estudo, que possui um banco de dados com informações dos pacientes internados com DIP.

Analisou-se 332 pacientes, a idade variou de menos de 1 mês a 89 anos, com média de 20,3 anos (desvio padrão = 25,5 anos) e mediana de 4 anos. No cadastro dos pacientes do HCRP, houve predominância do gênero masculino (61,1%). Observou-se semelhança entre o número de pacientes com idade menor (50,7%) e maior (48,7%) de 5 anos, sendo a maior ocorrência na faixa etária de 20 a menores de 60 anos (25,0%). Pneumonia (67,8%) foi o diagnóstico clínico mais comum, seguido de meningite (22,9%) e bacteriemia/seps (7,8%) (Tabela 37).

Após 2010, verificou-se diminuição expressiva no número de cepas de pneumococo enviadas para identificação, passando de 61,7% (2003-2010) para 13,9% (2001-2013) (Tabela 37). Compatível com Afonso e colaboradores (2013) que após um ano da introdução da VPC10 no Brasil, demonstraram redução da hospitalização de crianças com pneumonia nos municípios de Belo Horizonte, Recife e Curitiba. Nos países onde a vacina pneumocócica conjugada foi introduzida no programa de imunização, notou-se declínio acentuado nas taxas de hospitalizações por pneumonia, especialmente entre crianças menores de três anos de idade (GRIJALVA et al., 2007).

Tabela 37. Características demográficas e diagnóstico clínico primário dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, de 1998 a 2013.

Variável	Categoria	nº	%
Gênero	Masculino	203	61,1
	Feminino	126	38,0
	Ignorado	3	0,9
Faixa etária (anos)	<1	52	15,7
	1 + 2	59	17,8
	2 + 5	57	17,2
	Subtotal (<5)	168	50,7
	5 + 20	40	12,0
	20 + 60	83	25,0
	≥60	39	11,7
	Subtotal ≥5	162	48,7
	Ignorado	2	0,6
Período	1998 - 2002	81	24,4
	2003 - 2010	205	61,7
	2011 - 2013	46	13,9
Doença	Pneumonia	225	67,8
	Meningite	76	22,9
	Bacteriemia/sepsse	26	7,8
	outros	5	1,5
Total		332	100,0

Anualmente, nos países em desenvolvimento aproximadamente 15 milhões de crianças com pneumonia necessitam de hospitalização (RUDAN et al., 2004), pois esta DIP destaca-se devido à alta morbiletalidade (O'BRIEN et al., 2009a). No Brasil, segundo o Ministério da Saúde (2011b), a taxa anual de hospitalização devido a pneumonia foi de 2.100/100.000 habitantes, no período de 2000 a 2008. No atual estudo, a pneumonia (67,8%) foi a DIP mais comum. Segundo a Secretaria de Estado da Saúde (2012), na região da RRAS 13, as internações realizadas devido às doenças do aparelho respiratório representaram 11,7%, sendo a pneumonia a segunda principal causa (5,8%).

O Sistema de Vigilância Epidemiológica da Influenza no Brasil monitora as internações e avalia o potencial impacto da vacinação anti H1N1 e da vacina pneumocócica conjugada nas hospitalizações por pneumonia na rede SUS. Ambas as vacinas foram introduzidas no PNI em 2010, quando verificou-se queda na taxa de

internações (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010c). Klugman, Asrley e Lipsitch (2009), demonstraram a relação entre infecção pelo vírus da influenza, pneumonia e óbito, pois nos pacientes com infecção prévia pelo vírus da influenza A (H1N1) verifica-se tendência de aumento de pneumonias comunitárias. A pneumonia bacteriana complica a evolução de muitos pacientes com influenza. Assim, a vacina conjugada pneumocócica é efetiva em prevenir hospitalização por influenza (DOMÍNGUEZ et al., 2013; SIMONSEN et al., 2011).

Considerando todas as faixas etárias, o coeficiente de incidência da meningite pneumocócica no Estado de São Paulo, no período deste estudo, manteve-se entre 0,9 a 1,5/100.000 (CVE, 2015). Lucarevski, Escobar e Grisi (2012) observaram que a despesa hospitalar relacionada ao tratamento da meningite pneumocócica em crianças menores de 13 anos, dependendo da conduta médica, gravidade e evolução clínica, representa 10 a 20 vezes mais que o valor médio pago pelo SUS.

No cadastro do HCRP, nos 332 pacientes observou-se 42 sorotipos diferentes de *S. pneumoniae*. Representando 75,3% dos casos detectou-se em ordem decrescente os sorotipos 14, 1, 3, 9V, 6B, 6A, 23F, 19A, 18C, 19F, 12F e 4 com no mínimo 10 isolados (Tabela 38). Na totalidade dos dados na região estudada (RRAS 13), além destes, os sorotipos 7F, 5, 11A, 22F, 8 e 9N estão entre os 10 mais frequentes (Tabela 38).

Tabela 38. Sorotipos de *S. pneumoniae* isolados dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, de 1998 a 2013.

Sorotipos	nº de amostras	Total	%
14	82	82	24,8
1	25	25	7,6
3	24	24	7,3
9V	17	17	5,1
6B	16	16	4,8
6A, 23F	15	30	9,0
19A	14	14	4,2
18C, 19F	11	22	6,6
12F, 4	10	20	6,0
5, 7F, 9N	7	21	6,3
22F, 8	6	12	3,6
18A, 6C	5	10	3,0
Continua			

Continuação			
10A, 11A, 15A, 15C	3	12	3,6
18B, 20, 24F, 35F, 7C, G, NT	2	14	4,2
10F, 12A, , 15B, 13, 16F, 17F, 23B, 28A, 31, 34, 42, 6B/D, NR	1	13	3,9
Total		332	100,0

NT – Não tipável

NR – não realizado

No desfecho final dos casos considerou-se sucesso a cura sem sequela e insucesso cura com sequela ou óbito. Verificou-se que 67,5% dos pacientes cadastrados no banco do HCRP tiveram sucesso no tratamento, sem qualquer tipo de sequela, entretanto, 32,5% dos casos apresentaram como desfecho o insucesso, sendo que 6,9% manifestaram algum tipo de sequela e 25,6% foram a óbito (Tabela 39).

Tabela 39. Número e porcentagem do sucesso/insucesso no desfecho final dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, de 1998 a 2013.

Desfecho	nº	%
Sucesso/cura sem sequela	224	67,5
Insucesso/cura com sequela	23	6,9
Insucesso/óbito	85	25,6
Total	332	100,0

Considerando as doenças mais frequentes, as faixas etárias entre 20 e menores de 60 anos de idade foram as mais acometida pelos óbitos (9,3%). Das 85 (25,6%) mortes por DIP ocorridas no período, a meningite esteve envolvida em 48,7% dos casos, com predomínio em menores de 1 ano (14,5%) e entre 20 e menores de 60 anos de idade (13,2%). A pneumonia causou 18,2% dos óbitos, principalmente na faixa etária entre 20 e menores de 60 anos de idade (8,0%). Nota-se que a maioria dos casos fatais ocorreu em maiores de 5 anos (17,5%), em todas as DIPs analisadas. Nos menores de 5 anos de idade os óbitos restringiram-se à meningite e pneumonia (Tabela 40).

Tabela 40. Óbitos de pacientes com doença invasiva pneumocócica (DIP) cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, segundo a faixa etária e as DIPs mais frequentes, de 1998 a 2013.

Faixa etária (anos)	Óbitos																			
	< 1		1 + 2		2 + 5		Subtotal < 5		5 + 20		20 + 60		≥ 60		Subtotal ≥ 5		Ignorada		Total	
DIP	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*	nº	%*
Meningite (n=76)	11	14,5	5	6,6	1	1,3	17	22,4	2	2,6	10	13,2	8	10,5	20	26,3	0	0,0	37	48,7
Pneumonia (n=225)	1	0,4	4	1,8	4	1,8	9	4,0	2	0,9	18	8,0	11	4,9	31	13,8	1	0,4	41	18,2
Bact./sepse (n=26)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	3,8	2	7,7	3	11,5	6	23,1	0	0,0	6	23,1
Outras (n=5)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	20,0	0	0,0	1	20,0	0	0,0	1	20,0
Total (n=332)	12	3,6	9	2,7	5	1,5	26	7,8	5	1,5	31	9,3	22	6,6	58	17,5	1	0,3	85	25,6

%* refere-se ao total de cada DIP

A taxa global da letalidade das DIPs, nos países industrializados pode variar de 15-20% em adultos e 30-40% em portadores de comorbidades ou idosos, cuja função imunológica torna-se comprometida (KYAW et al.; 2005; WHO, 2008b). Reuda et al. (2010), verificaram nos Estados Unidos, a taxa de mortalidade entre 12 e 16%, considerando todos as DIPs em pacientes hospitalizados.

O total de 48,7% dos óbitos ocorridos por meningite superou a taxa de 37,0% de casos fatais, para todas as faixas etárias, registrado em Salvador (GOUVEIA et al., 2011). Em hospital universitário da Amazônia observou-se 32,4% a porcentagem de letalidade para meningite pneumocócica (DAMASCENO; FARHAT, 2008). Grando et al. (2015) utilizando dados do SINAN, de 2001 a 2010, verificaram que a média anual de mortes por meningite pneumocócica, no Brasil, foi de 33,6% e 31,3% em crianças menores de 5 anos e menores de 1 ano, respectivamente.

Além da alta mortalidade, a meningite preocupa pela gravidade e associação com sequelas neurológicas. Edmond e colaboradores (2010), atribuem à meningite pneumocócica, sequelas graves como hidrocefalia, déficit cognitivo e motor, perda auditiva, problemas comportamentais e dificuldade de aprendizagem. Berezin et al. (2002) avaliando dois hospitais de São Paulo, registraram para meningite pneumocócica letalidade de 20%, e sequelas neurológicas em 40% das crianças avaliadas, sendo a perda auditiva a principal consequência. Na presente pesquisa observou-se 6,9% o índice de sequelas.

Segundo O'Brien et al. (2009a), a letalidade por meningite pneumocócica estimada para a Europa, países da América e do continente africano foi de 38%, 48% e 79%, respectivamente. Navarro-Torné et al. (2015), relatam taxa bem menor (15,9%), de óbitos por meningite pneumocócica, para os países da Europa, sendo observada associação de pneumococos não sensível à penicilina com risco aumentado de óbito. No presente estudo, 9,4% (n=8) dos óbitos foram causados por cepas de *S. pneumoniae* com resistência plena à penicilina, representados pelos sorotipos 14 (n=3), 23F (n=2), 19A (n=1) , 6B (n=1) e 9V (n=1).

Kyaw et al. (2005), apontaram que nos Estados Unidos, a doença pneumocócica, nos adultos, manifestava-se com maior incidência nos pacientes

portadores de câncer, HIV/AIDS, vício por álcool, enfermidades cardíacas, doença respiratórias e diabetes mellitus. Nos resultados aqui obtidos, com relação ao total de óbitos, observou-se a presença de comorbidades em 68,2% dos pacientes, sendo HIV/AIDS (27,6%), alcoolismo (17,2%) e câncer (6,9%) as comorbidades mais frequentes.

Os sorotipos 12F, 14, 18C, 9V, 18A, 19A e 23F foram responsáveis por 65% dos óbitos por meningite. Enquanto os sorotipos 3, 14, 9V, 6B, 23F e 19F estiveram envolvidos em 63,4% das mortes de pacientes com pneumonia. Corroborando com Martens et al. (2004), que verificaram em pacientes adultos o sorotipo 3 relacionado a maior mortalidade, restrito a quadros de pneumonia. Ademais, alguns estudos associaram o sorotipo 3 com pneumonia grave (ALVARES et al., 2011; HAUSDORFF, FEIKIN e KLUGMAN, 2005).

No Brasil, os dados sobre letalidade por doenças respiratórias são escassos. Entretanto, segundo Cashat-Cruz, Morales-Aguirre e Mendoza-Azpiri (2005), os óbitos por infecções respiratórias agudas, estavam entre os mais frequentes das Américas, com cerca de 40% dos casos. As informações hospitalares do presente estudo, demonstraram que a morbidade da pneumonia foi alta, devido à grande porcentagem de hospitalizações (67,8%), sendo 18,2% a porcentagem de óbitos. No município de Sumaré-SP, verificou-se a proporção de 4,9% de óbitos por pneumonia, sendo que 55,7% dos pacientes com pneumonia pneumocócica apresentavam pelo menos uma comorbidade no momento da internação (DONALÍSIO; ARCA; MADUREIRA, 2011).

Na Espanha, a mortalidade relacionada a pneumonia pneumocócica variou de 7,4% a 13 % dependendo da idade do paciente (PICAZO et al., 2013a). Em Portugal, a pneumonia é a segunda causa de morte dos pacientes internados com doenças respiratórias com taxa de letalidade de 22% (ARAÚJO, 2011).

Na atual casuística, verificou-se que o gênero dos pacientes não esteve relacionado com o sucesso ou insucesso no desfecho dos casos ($p=0,568$). Avaliando-se a presença de sequelas e óbitos relacionados à idade dos pacientes, observou-se que quanto maior a faixa etária mais sequelas e óbitos ($p<0,001$), assim como a presença de comorbidades esteve associada ao insucesso no desfecho dos

casos ($p=0,002$). Nota-se que dos pacientes sem comorbidade 22,9% tiveram insucesso, enquanto que nos pacientes com comorbidade esta porcentagem passa para 38,8% (Tabela 41).

Tabela 41. Características demográficas e presença de comorbidade dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, segundo o desfecho final, de 1998 a 2013.

Variável	Categoria	Cura sem sequela		Cura com sequela/óbito		Total		Valor de p
		nº	%*	nº	%*	nº	%	
Gênero	Masculino	134	66,0	69	34,0	203	61,1	0,568
	Feminino	87	69,0	39	31,0	126	38,0	
	Ignorado	3	0,9	0	0,0	3	0,9	
Faixa etária (anos)	<1	38	73,1	14	26,9	52	15,7	<0,001
	1 + 2	44	74,6	15	25,4	59	17,8	
	2 + 5	48	84,2	9	15,8	57	17,2	
	Subtotal (<5)	130	77,4	38	22,6	168	50,6	
	5 + 20	35	87,5	5	12,5	40	12,0	
	20 + 60	44	53,0	39	47,0	83	25,0	
	≥60	15	38,5	24	61,5	39	11,7	
	Subtotal ≥5	94	58,0	68	42,0	162	48,8	
	Ignorado	1	0,3	1	0,3	2	0,6	
Comorbidade	Não	108	77,1	32	22,9	140	42,2	0,002
	Sim	112	61,2	71	38,8	183	55,1	
	Ignorado	4	44,4	5	55,6	9	2,7	
Total						332	100,0	

%* refere-se a ao total de cada categoria

Cabe ressaltar que nos países com alta incidência de HIV/AIDS, a doença pneumocócica é mais comum, assim como em outros pacientes imunocomprometidos e com doenças crônicas. O risco de adquirir doença pneumocócica também é aumentado após infecção respiratória viral e em fumantes (WHO, 2012). Além dos riscos já citados, Hausdorff, Feikin e Klugman (2005), acrescentaram os fatores relacionados a idade, etnia e ambientes fechados com superlotação, os quais favorecem a aquisição das DIPs.

Almeida e cols. (2007), estudando a meningite bacteriana aguda em pacientes HIV em Curitiba (Paraná) observaram que o *S. pneumoniae* foi a bactéria mais frequente, apresentando 100% de mortalidade. Esta alta taxa de letalidade para meningite pneumocócica, nestes pacientes, alerta para a disponibilidade gratuita das

vacinas conjugadas nos CRIEs, para pacientes de alto risco, prevenindo as infecções pneumocócicas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Analisando-se cada sorotipo, com no mínimo 10 isolados, em relação ao desfecho clínico dos casos, observou-se que não houve diferença estatística para os sorotipos 3, 9V, 6B, 6A, 23F, 19F, 19A e 4. O sorotipo 18C teve maior insucesso, quando comparado com sorotipo não 18C (63,6% x 31,5%; $p=0,025$). O mesmo ocorreu para o sorotipo 12F (70,0% x 31,4%; $p=0,010$). O sorotipo 14 teve menor insucesso quando comparado com sorotipos não 14 (17,1% x 37,6%; $p=0,001$). O mesmo ocorreu para o sorotipo 1 (8,0 x 34,5%; $p=0,006$) (Tabela 42).

Tabela 42. Sorotipos de *S. pneumoniae* mais frequentes relacionados aos demais sorotipos, isolados dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, segundo o desfecho final, de 1998 a 2013.

Sorotipos	Cura sem sequela		Cura com sequela/óbitos		Total		Valor de P
	nº	%*	nº	%*	nº	%	
14	68	82,9	14	17,1	82	100,0	0,001
Não 14	156	62,4	94	37,6	250	100,0	
1	23	92,0	2	8,0	25	100,0	0,006
Não 1	201	65,5	106	34,5	307	100,0	
3	14	58,3	10	41,7	24	100,0	0,321
Não 3	210	68,2	98	31,8	308	100,0	
9V	9	52,9	8	47,1	17	100,0	0,189
Não 9V	215	68,3	100	31,7	315	100,0	
6B	9	56,2	7	43,8	16	100,0	0,326
Não 6B	215	68,0	101	32,0	316	100,0	
6A	12	80,0	3	20,0	15	100,0	0,289
Não 6A	212	66,9	105	33,1	317	100,0	
23F	11	73,3	4	26,7	15	100,0	0,620
Não 23F	213	67,2	104	32,8	317	100,0	
19F	5	45,5	6	54,5	11	100,0	0,113
Não 19F	219	68,2	102	31,8	321	100,0	
19A	9	64,3	5	35,7	14	100,0	0,795
Não 19A	215	67,6	103	32,4	318	100,0	
18C	4	36,4	7	63,6	11	100,0	0,025
Não 18C	220	68,5	101	31,5	321	100,0	
12F	3	30,0	7	70,0	10	100,0	0,010
Não 12F	221	68,6	101	31,4	322	100,0	
4	7	70,0	3	30,0	10	100,0	0,862
Não 4	217	67,4	105	32,6	322	100,0	

%* refere-se ao total de cada sorotipo avaliado

Na análise univariada, as faixas etárias de risco foram para os pacientes com idade acima de 20 anos. Como a associação entre as variáveis idade, sorotipo e o tipo do desfecho pode ter sido influenciada pelas comorbidades, realizou-se as análises ajustadas por esta variável, concluindo-se que apenas a faixa etária de 60 anos ou mais permaneceu significativa (OR=4,2) (Tabela 43).

Analizando-se o desfecho dos casos em relação a cada sorotipo mais frequente, evidenciou-se que os sorotipos 14 ($p=0,001$) e 1 ($p=0,006$) estiveram menos envolvidos com o insucesso no desfecho dos casos (Tabela 42), (respectivamente OR=0,3 e OR=0,2), independente da presença de comorbidades (respectivamente, OR=0,4 e OR=0,2). No entanto, perderam a significância após o ajuste pela idade (Tabela 43). Corroborando com Santos et al. (2013) que afirmaram que a presença de comorbidade parece não interferir no desenvolvimento final das DIPs. Devido ao declínio da função do baço, a imunossenescência, a senescência e mudanças no trato respiratório (SIMELL et al., 2008), os idosos possuem suscetibilidade aumentada à doença pneumocócica, independente da presença de comorbidades.

Na pesquisa em questão, observou-se que o 18C ($p=0,025$) e 12F ($p=0,010$) tiveram maior insucesso, quando comparado com os demais sorotipos. A presença do 18C representou fator de risco significativo, tanto na análise bruta (OR=3,8), quanto na ajustada por comorbidade (OR=5,0) ou por idade (OR=5,4), assim como o sorotipo 12F (respectivamente, OR=5,1; OR=5,0 e OR=4,7) (Tabela 43).

Tabela 43. Análise ajustada dos fatores associados ao insucesso (cura com sequela/óbito) dos 332 pacientes com doença invasiva pneumocócica cadastrados no banco de dados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, período de 1998 a 2013.

Variável	Categoria	OR bruta	OR ajustada por comorbidade	OR ajustada por idade
Faixa etária (anos)	<1	1	1	
	1 + 2	0,9 [0,4; 2,2]	0,9 [0,4; 2,2]	
	2 + 5	0,5 [0,2; 1,3]	0,5 [0,2; 1,4]	
	5 + 20	0,4 [0,2; 1,2]	0,4 [0,1; 1,2]	
	20 + 60	2,4 [1,1; 5,1]	2,1 [0,9; 4,8]	
	≥60	4,3 [1,8; 10,6]	4,2 [1,6; 10,9]	
Sorotipo				
18C	Sim	3,8 [1,1; 13,3]	5,0 [1,4; 18,0]	5,4 [1,4; 20,9]
	Não	1,0	1,0	1,0
12F	Sim	5,1 [1,3; 20,1]	5,0 [1,2; 20,1]	4,7 [1,1; 21,3]
	Não	1,0	1,0	1,0
				Continua

Continuação				
14	Sim	0,3 [0,2; 0,6]	0,4 [0,2; 0,8]	0,5 [0,3; 1,1]
	Não	1,0	1,0	1,0
1	Sim	0,2 [0,1; 0,7]	0,2 [0,1; 0,9]	0,3 [0,1; 1,2]
	Não	1,0	1,0	1,0

Vários autores sugerem que os diferentes sorotipos possuem potencial variável para causar doença invasiva, observando que existe relação entre resultado fatal para doença pneumocócica e o sorotipo capsular do pneumococo (BRUEGGEMANN et al., 2004; INVERARITY et al., 2011; JANSEN et al., 2009b; NAVARRO-TORNÉ et al., 2015; RÜCKINGER et al., 2009b; WEINBERGER et al., 2010).

No entanto, nota-se variação dos sorotipos mais envolvidos em casos fatais de um local para o outro. Na Escócia, detectaram os sorogrupos 3, 11 e 16 como mais prováveis de causar casos fatais de DIP, enquanto o sorotipo 1 apresentou menor probabilidade de morte (INVERARITY et al., 2011). Já na Holanda, verificou-se que os sorotipos 3, 6B, 9N, 18C e 19F usualmente estiveram mais associados a desfechos desfavoráveis do que os sorotipos 1 e 7F (JANSEN et al., 2009b). Entretanto, na Alemanha, os sorotipos 7F, 23F e 3 apresentaram altas taxas de desfechos fatais (RÜCKINGER et al., 2009b). Em Boston, verificou-se maior risco de morte relacionada aos sorotipos 3, 6A, 6B, 9N e 19F quando comparados com o sorotipo 14 e os sorotipos 1, 7F e 8 foram relacionados com menor risco de morte em pacientes com pneumonia pneumocócica, (WEINBERGER et al., 2010). Na Inglaterra os sorotipos 1, 5, e 7F tem sido descrito como altamente invasivos, enquanto os sorotipos 3, 6A e 15 menos invasivos que os demais, (BRUEGGEMANN et al., 2004). Na Europa, Navarro-Torné e colaboradores (2015) contradizem esta afirmação, pois relacionam os sorotipos 1 com risco significativo de morte.

Entre os sorotipos citados acima como mais invasivos, esta investigação, evidenciou a presença dos sorotipos 3, 6B, 18C e 19F entre os mais envolvidos nos óbitos. Enquanto os sorotipos 1, 7F, 8, 6A e 15 não foram relacionados aos casos fatais, na atual casuística.

Neste contexto, informações sobre o risco associado aos diferentes sorotipos, quanto ao desfecho das DIPs, permitem estimar a expectativa diante de novas

formulações vacinais, por exemplo a inclusão do sorotipo 3 pode ter efeito na redução de óbitos, enquanto a presença do sorotipo 1 pode reduzir a morbidade associadas à DIP (INVERARITY, et al, 2011).

Nossos dados demonstraram a influência da idade como fator de risco para adquirir DIP, corroborando com resultado obtido por Navarro-Torné (2015), no qual afirma que indivíduos acima de 65 anos de idade, apresentam maior tendência as infecções pneumocócicas graves associadas ao maior índice de morbidade e mortalidade do que as crianças menores de 5 anos de idade.

No Brasil, o Guia de Vacinação Geriátrica (SOCIEDADE BRASILEIRA DE IMUNIZAÇÕES, 2013/14) recomenda a vacinação com a VPP23 e a VPC13, para todas pessoas a partir dos 60 anos ou que tenham patologias crônicas específicas. No entanto, estas vacinas não estão disponíveis para idosos na rotina do PNI. Ambas são oferecidas em serviços privados de vacinação e nos CRIEs para idosos que fazem parte dos grupos considerados de risco para infecção pneumocócica.

Neste aspecto, Tonolio Neto e cols. (2011), após avaliar o custo PPV23 em pessoas com idade acima de 60 anos, constataram que, no Brasil, este programa de vacinação implantado na rede pública seria altamente rentável levando-se em conta os custos da hospitalização e o absenteísmo. Entretanto, apesar das evidências da efetividade da VPP23 contra as DIPs (ÖRTQVIST et al., 2001), questiona-se a eficácia desta em prevenir pneumonia em idosos e pacientes de alto risco, para os quais ela é recomendada (HUSS et al., 2009), assim como sua ação preventiva em pacientes imunossuprimidos (SIEMIENIUK; GREGSON; GILL, 2011, VERAS et al., 2007). Diferente da vacina conjugada que tem apresentado resultados positivos em crianças imunocomprometidas com infecções recorrentes (ÖRTQVIST et al., 2001).

Neste cenário, estudo realizado na Alemanha, concluiu que a indicação da VPC13 em adultos reduziria a carga da doença pneumocócica inclusive com vantagens econômicas comparando com a VPP23 (KUHLMANN et al., 2012). Corroborando com estudo realizado na Polônia, o qual concluiu que todas os idosos acima de 65 anos, independente do risco para contrair infecção pneumocócica, deveriam ser vacinados com a VPC13 (GRZESIOWSKI et al., 2012). Em 2010, Luja et al. (2010), baseados em dados de pneumonia pneumocócica obtidos na Espanha,

sugeriram que a nova VPC13 traria uma redução acentuada na mortalidade da população idosa. Ardanuy e colaboradores (2012), ressaltam a importância da implantação da vacina conjugada em adultos, e sugere para a Espanha a VPC13 nesta faixa etária. Picazo et al (2013b) constataram que a VPC13 não acarreta o fenômeno de substituição de sorotipos observado na era da VPC7.

Diante do exposto, e das altas taxas de incidência e de mortalidade das DIPs em adultos e idosos destaca-se a necessidade de rever as recomendações e programas de vacinação para esta faixa etária. Contudo, existe polemica com respeito a ação da vacinação no adulto, assim como na escolha da opção mais adequada para esta população (MUSHER et al., 2011). Neste contexto, O'Brien (2009b) salienta a importância de estudos de imunogenicidade para determinar a eficácia das vacinas conjugadas contra pneumonia em adultos, especialmente em face da pandemia de influenza H1N1.

De acordo com Lynch e Zhanel (2009), os sorotipos que afetam crianças e adultos são diferentes, portanto, novas composições vacinais para populações específicas necessitam ser compatíveis ao quadro epidemiológico. Salienta-se que a vigilância das alterações na distribuição de sorotipos pós vacina conjugada será um desafio para futuras programas de vacinação.

5. CONCLUSÃO

No estudo, ora apresentado, analisou-se as informações de 796 *S. pneumoniae* isolados em pacientes com doença invasiva atendidos na RRAS 13 das quais foi possível tecer as seguintes conclusões:

- nos quatro DRS houve predomínio do gênero masculino. A maior porcentagem de pacientes concentrou-se nos maiores de 5 anos de idade, principalmente na faixa etária entre 20 a menores de 60 anos. A pneumonia foi mais frequente no DRS de Ribeirão Preto, nos demais DRS destacou-se a meningite, embora com oscilações nas diferentes faixas etárias. Nos menores de 5 anos tem-se maior ocorrência de pneumonia e nos maiores de 5 anos de idade da meningite.

- os sorotipos 14, 3, 19F, 1, 6A, 6B, 23F, 9V, 18C, 19A, 12F, 4, 7F, 5, 11A, 22F, 8 e 9N foram os mais prevalentes nas DIPs, sendo mais frequentes o 14, 3 e 19F na meningite e os sorotipos 14, 3 e 1 na pneumonia. Os sorotipos 14, 3, 19F e 23F foram os mais isolados, em comum, nos quatro DRS. Do total das DIPs verificou-se o predomínio dos sorotipos 14 e 3. O sorotipo 3 prevaleceu no último período deste estudo. Do período pré para o pós VPC10 verificou-se diminuição da porcentagem total dos sorotipos incluídos nesta vacina. Cabe alertar para o aumento de alguns sorotipos não vacinais. Não se observou alterações dos sorotipos contidos na VPC7, na região estudada.

- a não sensibilidade à penicilina foi detectada em 14,8% das cepas, (3,0% resistência intermediária e 11,8% resistência plena). Identificou-se maior nível de resistência à penicilina e ceftriaxona no DRS de Franca. A resistência à penicilina restringiu-se aos sorotipos 14, 23F, 19F, 9V, 19A, 6B e 6A. Cepas de pneumococo, isoladas de pacientes com meningite, apresentaram resistência plena à penicilina em 25,5% dos casos, enquanto 93,9% dos isolados de pneumonia foram sensíveis à penicilina. Todas as linhagens de *S. pneumoniae*, apresentaram sensibilidade acima de 90% para os antibióticos cloranfenicol, eritromicina e ceftriaxona durante todo o período estudado, com 100% de sensibilidade à vancomicina. O maior nível de resistência foi detectado para SMT. Os sorotipos 9V, 14, 19A, 19F e 23F foram menos sensíveis à penicilina que os outros sorotipos. Enquanto o 7F, 1, 12F, 18C, 3, 4 e 5 foram mais sensíveis à penicilina quando comparados com os demais sorotipos mais frequentes na região.

- nos pacientes do HCRP a DIP mais frequente foi a pneumonia, seguida da meningite. Os sorotipos 14, 1, 3, 9V, 6B, 6A, 23F, 19A, 18C, 19F, 12F e 4 foram os mais isolados. Após 2010, verificou-se diminuição expressiva no número de cepas de pneumococo enviadas para identificação. No desfecho final dos casos verificou-se que 67,5% apresentaram cura sem sequelas, 6,9% tiveram algum tipo de sequela e 25,6% evoluíram para óbito. Observou-se maior frequência dos óbitos em pacientes com meningite, principalmente na faixa etária de 20 a menores de 60 anos de idade. Do total de óbitos 68,2% dos pacientes tinham alguma comorbidade, sendo HIV/AIDS, alcoolismo e câncer as mais frequentes. O gênero dos pacientes não interferiu no sucesso ou insucesso no desfecho final do caso. A faixa etária com 60 anos ou mais foi a mais significativa para o insucesso, independente da presença de comorbidade. O sorotipo 18C e 12F foram fatores de risco significativo tanto na análise bruta, quanto na ajustada por comorbidade ou por idade.

Um ponto forte de nosso estudo é a extensão da amostra, ou seja, abrangeu cerca de 90 municípios, além da confirmação laboratorial dos casos ter sido realizada com a mesma metodologia em um centro de referência nacional (IAL). Todavia, por tratar-se de um estudo retrospectivo, pode ter havido perdas de informações ou subnotificação dos casos. A exemplo da meningite, que por ser uma doença de notificação compulsória espera-se exatidão nas informações de vigilância e controle, enquanto que a pneumonia os dados dependem do interesse dos profissionais envolvidos no atendimento, podendo, portanto no conjunto ter ocorrido subdiagnóstico ou não representar a realidade epidemiológica.

De qualquer forma, os resultados apresentados representam a iniciativa de agregar as informações sobre DIPs e, assim fornecer uma visão clínica, e microbiológica, englobando todas as faixas etárias na RRAS 13. Observou-se oscilações na circulação de alguns sorotipos de pneumococo ao longo do período, assim ressalta-se a importância da contínua vigilância das DIPs, além de estudos sobre os sorotipos colonizadores antes e após os esquemas vacinais, bem como do perfil de resistência aos antimicrobianos.

AFONSO, E.T. et al. Effect of 10-Valent Pneumococcal Vaccine on Pneumonia among Children, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.19, n.4, p.589-597, 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA) **Antimicrobianos – Bases teóricas e uso clínico**, 2007. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/conceitos.htm>. Acesso 17 Jun. 2015.

AGUDELO, C.I. et al. *Streptococcus pneumoniae*: evolución de los serotipos y los patrones de susceptibilidad antimicrobiana em aislamientos invasivos em 11 años de vigilância em colombia (1994-2004). **Biomédica**, v.26, n.2, p.234-249, 2006.

AGUIAR, S.I. et al. Portuguese Surveillance Group for the study of Respiratory Pathogens. Changes in *Streptococcus pneumoniae* serotypes causing invasive disease with non-universal vaccination coverage of the seven-valent conjugate vaccine. **Clinical Microbiology and Infection**, v.14, n.9, p.835-843, 2008.

AGUIAR, S.I. et al. Serotypes 1, 7F and 19A became the leading causes of pediatric invasive pneumococcal infections in Portugal after 7 years of heptavalent conjugate vaccine use. **Vaccine**, V.28, n.32, p.5167-5173, 2010.

ALBARRACÍN O.A.G. et al. A new serotype 14 variant of the pneumococcal Spain9V-3 international clone detected in the central region of Argentina. **Journal of Medical Microbiology**, v.57, p.992-999, 2008.

ALMEIDA, S.M. et al. Acute bacterial meningites in HIV, patients in Southern Brazil: Curitiba, Paraná, Brazil. **Arquivo de Neuro-Psiquiatria**, v.65, n.2a, , 2007.

ALVARES, J.R. et al. Prevalence of pneumococcal serotypes and resistance to antimicrobial agents in patients with meningitis: tem-year analysis. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v., 15, n. 1, p.22-27, 2011.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Policy Statement—Recommendations for the Prevention of *Streptococcus pneumoniae* Infections in Infants and Children: Use

of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine (PCV13) and Pneumococcal Polysaccharide Vaccine (PPSV23). **Journal of Pediatrics**, v.126, n.1, p.186-190, 2010.

ANDRADE, A. L. et al. Population-based surveillance for invasive pneumococcal disease and pneumonia in infants and young children in Goiânia, Brazil. **Vaccine**, v.30, p.1901-1909, 2012.

ANDRADE, A.L. et al. Non-typeable *Streptococcus pneumoniae* carriage isolates genetically similar to invasive and carriage isolates expressing capsular type 14 in Brazilian infants. **Journal of Infection**, v.61, n.4, p.314-322, 2013.

ANDRADE, A.L. et al. Direct Effect of 10-Valent Conjugate Pneumococcal Vaccination on Pneumococcal Carriage in Children Brazil. **PLOS ONE**, v.9, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4043727/pdf/pone.0098128.pdf>>. Acesso em: 20 Abr. 2015.

APPELBAUM, P.C. Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: implications for drug selection. **Clinical Infectious Diseases**, v.34, p.1613-1620, 2002.

APPELBAUM, P.C. et al. Trimethoprim-Sulfamethoxazole Prophylaxis and antibiotic nonsusceptibility in invasive pneumococcal disease. **Antimicrobial Agents and chemotherapy (AAC)**, v.56, n.3, p.1602-1605, 2011.

ARAÚJO, A.T. **Relatório do Observatório Nacional de Doenças Respiratórias de 2011. Desafios e Oportunidades em Tempo de Crise**. 2011. Observatório Nacional de Doenças Respiratórias (ONDR). Fundação Portuguesa do Pulmão. Disponível em: <http://www.ondr.pt/Relatorio_ONDR_2011.pdf>. Acesso em: 18 Jun. 2015.

ARDANUY, C. et al. Epidemiology of invasive pneumococcal disease in older people in Spain (2007 – 2009): implications for future vaccination strategies. **PLOS ONE**, v.7, n.8, e43619, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22928005>>. Acesso em: 07 Abr. 2015.

AUSTRIAN, R. Life with the pneumococcus. University of Pennsylvania Press. Philadelphia: 1985.

BARAHONA, R.L. et al. Factores relacionados com la mortalidade de la enfermedad neumocócica invasiva. **Medicina Clinica**, v.123, p.575-577, 2004.

BARROSO, D. E. et al. β -lactam resistance, serotype distribution, and genotypes of meningitis-causing *Streptococcus pneumoniae*, Rio de Janeiro, Brazil. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.31, n.1, p.30-36, 2012.

BASCOM, R. et al. Side stream tobacco smoke exposure acutely alters human nasal mucociliary clearance. **Environmental Health Perspectives**, v.30, p.103-1026, 1995.

BENDER, J.M. et al. Pneumococcal necrotizing pneumonia in Utah: does serotype matter? **Clinical Infectious Diseases**., v.46, n.9, p.1346–1352, 2008.

BEREZIN, R.N. et al. Meningite pneumocócica na infância: características clínicas, sorotipos mais prevalentes e prognóstico. **Journal of Pediatrics**, v.78, n.1, p.19-23, 2002.

BINGEN, E. et al. Bacterial Meningitis Study Group. Pneumococcal meningitis in the era of pneumococcal conjugate vaccine implementation. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Disease** v.27, n.3, p.191-199, 2008.

BLACK, S. B. et al. Postlicensure evaluation of the effectiveness of seven valent pneumococcal conjugate vaccine. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.20, n.12, p.1105-1107, 2001.

BLACK R. E. et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis. **Lancet**, v.375, p.1969-1987, 2010.

BOGAERT, D. et al. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. **The Lancet Infectious Disease**, v.4, n.3, p. 144-154, 2004.

BORG, M.A. et al. Prevalence of penicillin and erythromycin resistance among invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates reported by laboratories in the southern and eastern Mediterranean region. **Clinical Microbiology and Infection**, v.15, n.3, p.232-237, 2009.

BRANDILEONE, M.C.C. et al. Appropriateness of a pneumococcal conjugate vaccine in Brazil: potential impact of age and clinical diagnosis, with emphasis on meningitis. **The Journal Infectious Disease**, v.187, p.1206-1212, 2003.

BRANDILEONI, M. C. C. et al. Typing of pneumococcal surface protein A (PspA) in *Streptococcus pneumoniae* isolated during epidemiological surveillance in Brazil: towards novel pneumococcal protein vaccines. **Vaccine**, v.22, n.29-30, p. 3890-3896, 2004.

BRANDILEONI, M. C. C. et al. Increase in penicillin resistance of invasive *Streptococcus pneumoniae* in Brazil after 1999. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.56, n.2, p. 437-439, 2005.

BRANDILEONI, M. C. et al. Increase in numbers of beta-lactam-resistant invasive *Streptococcus pneumoniae* in Brazil and the impact of conjugate vaccine coverage. **Journal of Medical Microbiology**, v.55, p.567-574, 2006.

BRANDILEONE, M,C,C.; KFOURI, R.A. Doenças pneumocócicas. In: NETO VA, editor. Atualizações, orientações e sugestões sobre imunizações. São Paulo: Segmento Farma, 2011. p.340-358.

BRICKS, L.F.; BEREZIN, E.N.; SILVEIRA, L. **Uso de antibióticos em IRA e resistência bacteriana**. In: BRICKS, L. F, CERVI, M. C. organizadoras. Atualidades em doenças infecciosas: manejo e prevenção. São Paulo: Atheneu, 2002. p. 197-214.

BRICKS, L.F.; BEREZIN, E. Impact of pneumococcal conjugate vaccine on the prevention of invasive pneumococcal diseases. **Jornal de Pediatria**, v.82, n.3, p. 67-74, 2006.

BRUEGGEMANN, A.B. et al. Clonal relationships between invasive and carriage *Streptococcus pneumoniae* and serotype- and clone-specific differences in invasive disease potential. **The Journal of Infectious Disease**, v. 187, n.9, p. 1424-1432, 2003.

BRUEGGEMANN, A.B.; SPRATT, B.G. Geographic distribution and clonal diversity of *S pneumoniae* serotype 1 isolates. **Journal of Clinical Microbiology** , v.41, p.4966-4970, 2003.

BRUEGGEMANN, A.B. et al., Temporal and Geographic Stability of the Serogroup Specific Invasive Disease Potential of *Streptococcus pneumoniae* in Children. **The Journal of Infectious Diseases**, v.190, p.1203-1211, 2004.

BUTLER, J.C.; SHAPIRO, E.D.; CARLONE, G.M. Pneumococcal vaccines: history, current status and future directions. **The American Journal of Medicine**, v.107, n.1A, p.69S-76S, 1999.

CALIX, J.J. et al. Differential occurrence of *Streptococcus pneumoniae* serotype 11E between asymptomatic carriage and invasive pneumococcal disease isolates reflects a unique model of pathogen microevolution. **Clinical Infectious Diseases**, v.54, p.794-799, 2012a.

CALIX, J.J. et al. Biochemical, genetic and serological characterization of two capsule subtypes among *streptococcus pneumoniae* serotype 20 strains: discovery of a new pneumococcal serotype. **The Journal Biological Chemistry**, v.287, p.27885-27894. 2012b.

CARDOSO, M.R. et al. Penicillin-resistant pneumococcus and risk of treatment failure in pneumonia. **Archives of Disease in Childhood**, v.93, n.3, p.221-225, 2008.

CARVALHANAS, T. Situação Epidemiológica das meningites bacterianas no Estado de São Paulo. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v.5, p. 4-7, 2004.

CASHAT-CRUZ, M.; MORALES-AGUIRRE, J.J.; MENDOZA-AZPIRI, M. Respiratory tract infections in children in developing countries. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, v.6, n.2, p.84-92, 2005.

CASTAÑEDA, E. et al. Laboratory-based surveillance of *Streptococcus pneumoniae* invasive disease in children in 10 Latin American countries: SIREVA II Project Group, 2000-2005. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.28, p. 265–270, 2009.

CASTAÑEDA, E. et al. *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in Latin America and the Caribbean: a systematic review and meta-analysis, 1990-2010. **Infectious Diseases**, v.12, n.124, 2012. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/12/124>>. Acesso em: 22 Jun. 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Prevention of Pneumococcal Disease: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)**, v.46, n. RR-08, p.1-24, 1997. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00047135.htm>>. Acesso em: 20 Ago. 2014.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Preventing pneumococcal disease among infants and young children: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)**, v.49, n.RR-9, p.1-35, 2000. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr4909a1.htm>>. Acesso em: 11 Maio 2014.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Direct and indirect effects of routine vaccination of children with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on incidence of invasive pneumococcal disease – United States, 1998-2003. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)**, v.54, n.36, p.893-897, 2005. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5436a1.htm>>. Acesso em: 12 Jan. 2014.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Invasive pneumococcal disease in children 5 years after conjugate vaccine introduction – eight states, 1998–2005. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)**, v.57, n.6, p.144–148, 2008. Disponível em: <

<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5706a2.htm>>. Acesso 14 Mar. 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. **Pneumococcal Disease**, p. 279-295 2011. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/pneumo.pdf>>. Acesso em: 13 Jul. 2015.

CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA (CVE) "Prof. Alexandre Vranjac". São Paulo, 2011. **Imunizações**. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/cve_im.html>. Acesso em: 05 Dez. 2013.

CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA (CVE) "Prof. Alexandre Vranjac". São Paulo, 2012. **Guia de vigilância Epidemiológica**. 1ª ed. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/outros/CVE12_GUIA_VE_ATUALIZADO.pdf>. Acesso em: 05 Dez. 2013.

CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA (CVE) "Prof. Alexandre Vranjac". São Paulo, 2015. **Meningites por *Streptococcus pneumoniae***. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/meni_cpneu.htm>. Acesso em: 10 Ago. 2015.

CHACON-CRUZ, E. et al. Pneumococcal disease: emergence of serotypes 19A and 7F following conjugate pneumococcal vaccination in a Mexican hospital. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v.6, n.6, p.516-520, 2012.

CHIOU, A.C. et al. Molecular assessment of invasive *Streptococcus pneumoniae* serotype 1 in Brazil: evidence of clonal replacement. **Journal of Medical Microbiology**, v.57, p.839-844, 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. C. L. S. Institute. Wayne. Publication M100-S18, v.28, n.1, 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. C. L. S. Institute. Wayne. Publication M100-S23, v.33, n.1, 2013.

COFFEY, T. J. et al. Recombinational exchanges at the capsular polysaccharide biosynthetic locus lead to frequent serotype changes among natural isolates of *Streptococcus pneumoniae*. **Molecular Microbiology**, v. 27, n. 1, p. 73-83, 1998.

COORDENADORIA DE PLANEJAMENTO DE SAÚDE. COMISSÃO INTERGESTORES BIPARTITE. **Deliberação CIB – 36, de 21-9-2011**. **Diário Oficial**, Poder Executivo Seção I. Disponível em: <ftp://ftp.saude.sp.gov.br/ftpsssp/bibliote/informe_eletronico/2011/iels.set.11/iels180/E_DL-CIB-36_210911.pdf>. Acesso em: 11 Dez 2013.

CORLESS, C.E. et al. Simultaneous detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, and *Streptococcus pneumoniae* in suspected cases of meningitis and septicemia using real-time PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 4, p. 1553-1558, 2001.

CORNICK, J. E.; BENTLEY, S. D. *Streptococcus pneumoniae*: the evolution of antimicrobial resistance to beta-lactams, fluoroquinolones and macrolides. **Microbes and Infection**. Review. v.14, n.7-8, p.573-583, 2012.

CRITCHLEY, I.A. et al. Antimicrobial resistance in respiratory pathogens isolated in Brazil during 1999 – 2000. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.5, n.6, 2001.

DAGAN, R. N. et al. Effect of a nonavalent conjugate vaccine on carriage of antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in day-care centers. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v.22, n.6, p. 532-540, 2003.

DAGAN R. Serotype replacement in perspective. **Vaccine**, v.27, p.22-24, 2009.

DAMASCENO, A. C. A.; FARHAT, C.K. Fatores Prognósticos de letalidade nas meningites bacterianas em crianças menores de dois anos. **Revista Paraense de**

Medicina, v.22, n.3, 2008. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/0101-5907/2008/v22n3/a2279.pdf>>. Acesso em: 16 Jun. 2015.

DI FABIO, J. L. et al. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and penicillin susceptibility in Latin America, Sireva-Vigia Group, 1993 to 1999. PAHO Sireva-Vigia Study Group. Pan American Health Organization. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v.20, n.10, p. 959-967, 2001.

DOERN, G. V. et al. Prevalence of antimicrobial resistance among respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae* in North America: 1997 results from the SENTRY antimicrobial surveillance program. **Clinical Infectious Diseases**, v.27, n.4, p. 764-770, 1998.

DOMÍNGUEZ, A. et al. Effectiveness of vaccination with 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in preventing hospitalization with laboratory confirmed influenza during the 2009–2010 and 2010–2011 seasons. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v.9, n.4, p.865–873, 2013.

DONALISIO, M. R.; ARCA, C. H. M.; MADUREIRA, P. R. Perfil clínico, epidemiológico e etiológico de pacientes com pneumonia adquirida na comunidade internados em um hospital geral da microrregião de Sumaré, SP. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.37, n.2, p.200-208, 2011.

EDMOND, K. et al. Global and regional risk of disabling sequelae from bacterial meningitis: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v.10, n.5, p.317-328, 2010.

ELBERSE, K.E.M. et al. Population Structure of Invasive *Streptococcus pneumoniae* in the Netherlands in the Pre-Vaccination Era Assessed by MLVA and Capsular Sequence Typing. 2011. **PLOS ONE**, v.6, n.5, p.e20390. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0020390>> Acesso em: 18 Abr. 2015.

ENRIGHT, M.C.; SPRATT, B.G. A multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus pneumoniae*: identification of clones associated with serious invasive disease. **Microbiology**, v.144, p.3049-3060, 1998.

FARRELL, D.J. et al. Working Parties on Resistance Surveillance. Non-susceptibility trends and serotype distributions among *Streptococcus pneumoniae* from community-acquired respiratory tract infections and from bacteraemias in the UK and Ireland, 1999 to 2007. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.62, p.87-95, 2008.

FEIJO, R. B.; CUNHA, J.; KREBS, L. S. Vaccination schedule for childhood and adolescence: comparing recommendations. **The Journal of Pediatrics**, v. 82, n. 3 Suppl, p.4-14, 2006.

FELDMAN, C. Clinical relevance of antimicrobial resistance in the management of pneumococcal community-acquired pneumonia. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v.143, n.5, 269-283, 2004.

FENOLL, A. et al. Temporal trends of invasive *Streptococcus pneumoniae* serotypes and antimicrobial resistance patterns in Spain from 1979 to 2007. **Journal of Clinical Microbiology**, v.47, p.1012-1020, 2009.

FERIGOLO, L.P.; PEREZ, V.P. Fatores bacterianos de virulência associados a pneumonias e doenças invasivas pelo *Streptococcus pneumoniae*: uma revisão. **Revista Fasem Ciências**. v.4, n.2, 2013.

FERREIRA, C. G. **Perfil dos laboratórios de microbiologia de hospitais brasileiros com pelo menos dez leitos de UTI**. 2009. Tese (Doutorado em Epidemiologia) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6132/tde-08022010-093429/>>. Acesso em: 14 Set. 2013.

FILET JUNIOR, T.M.; MARRIE, T.J. Burden of community-acquired pneumonia in North American adults. **Postgraduate Medical Journal**, v.122, n., p.130-141, 2010.

FRANCO, C.M. et al. Survey of nonsusceptible nasopharyngeal *Streptococcus pneumoniae* isolates in children attending day-care centers in Brazil. **Journal of Clinical Periodontology**, v.29, n.1, p.77-79, 2010.

FRANCO, C.M. et al. Survey of nonsusceptible nasopharyngeal *Streptococcus pneumoniae* isolates in children attending day-care centers in Brazil. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.29, n.1, p.77-78, 2013.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Brasília, pag. 587. 2002. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/guia_vig_epi_vol_II.pdf>. Acesso em: 10 Jan 2014.

GESSNER, B.D.; MUELLER, J.E.; YARO, S. African meningitis belt pneumococcal disease epidemiology indicates a need for an effective serotype 1 containing vaccine, including for older children and adults. **The Journal of Infectious Diseases**, v.10, n.22, p.1-10, 2010.

GOOSSENS, H. Antibiotic consumption and link to resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v.15, suppl.3, p.12-15, 2009.

GOUVEIA, E.L. et al. Clinical outcome of pneumococcal meningitis during the emergence of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*: an observational study. **Infectious Diseases**, v.11, n.323, 2011. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/11/323>>. Acesso em: 14 Mai. 2015.

GRANDO, I.M. et al. Impacto da vacina pneumocócica conjugada 10-valente na meningite pneumocócica em crianças com até dois anos de idade no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.31, n.2, p.1-9, 2015.

GREENWOOD B. M.; WEBER M. W.; MULHOLLAND K. Childhood pneumonia-preventing the world's biggest killer of children. **Bulletin of the World Health Organization**, v.85, p.502-503, 2007.

GRIGG, J. et al. Cigarette smoke and platelet-activating factor receptor dependent adhesion of *Streptococcus pneumoniae* to lower airway cells. **Thorax Journal**, v.67, n.10, p.908-13, 2012.

GRIJALVA, C. G.; EDWARDS, K.M. Promises challenges of pneumococcal conjugate vaccines for developing world. **Clinical Infectious Diseases**. v.43, p.680-2, 2006.

GRIJALVA C. G. et al. Decline in pneumonia admissions after routine childhood immunisation with pneumococcal conjugate vaccine in the USA: a time-series analysis. **Lancet**, v.369, p.1179-1186, 2007.

GRIVEA, I.N. et al. Interaction of the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine and the use of individual antibiotics among children on nasopharyngeal colonization with erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v.29, p.97-105, 2010.

GRUPEMEF. **Doenças pneumocócicas**. 2011 Disponível em: <http://www.grupemef.com.br/noticias_completa.php?not_id=1047>. 2011 Acesso em: 22 Jul 2013.

GRZESIOWSKI, P. et al. Cost-effectiveness of polysaccharide pneumococcal vaccination in people aged 65 and above in Poland. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v.8, n.10, p.1382-1394, 2012.

GUEVARA, M. et al. Changing epidemiology of invasive pneumococcal disease following increased coverage with the heptavalent conjugate vaccine in Navarre, Spain. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v.15, p.1013–1019, 2009.

HAUSDORFF, W.P.; FEIKIN, D.R.; KLUGMAN, K.P. Epidemiological differences among pneumococcal serotypes. **Lancet Infect Dis**. v.5, n.2, p.83-93, 2005.

HENRICHSEN, J. Typing of *Streptococcus pneumoniae*: past, present, and future. **American Journal of Medicine**, v.107, n.1A, p. 50S-54S, 1999.

HICKS, L. A. et al. Incidence of pneumococcal disease due to non-pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) serotypes in the United States during the era of widespread PCV7 vaccination, 1998-2004. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 196, n. 9, p. 1346-54, 2007.

HICKS, L. A.; MONNET, D. L.; ROBERTS, R. M. Increase in *Pneumococcus* Macrolide Resistance, USA. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v. 16, p. 896-897, 2010.

HUSS, A. et al. Efficacy of pneumococcal vaccination in adults: a meta-analysis. **Canadian Medical Association Journal (CMAJ)**, v.180, n.1, p.48-58, 2009.

ING, J. et al. Characterization of non-typeable and atypical *Streptococcus pneumoniae* pediatric isolates from 1994-2010. **Journal of Clinical Microbiology**, v.50, n.4, p.1326-1330, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios - **Censo**. Brasil, 2010. Disponível em: <censo2010.ibge.gov.br/resultados>. Acesso em: 13 Dez. 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). retrato da saúde dos adultos brasileiros, 2013. Disponível em: <<http://saladeimprensa.ibge.gov.br/noticias?view=noticia&id=1&idnoticia=2786&busca=1&t=pns-2013-ibge-faz-um-amplo-retrato-saude-adultos-brasileiros>>. Acesso em: 13 Jul. 2015.

INVERARITY, D. et al. Death or survival from invasive pneumococcal disease in Scotland: associations with serogroups and multilocus sequence types. **Journal of Medical Microbiology**, v.60, p.793-802, 2011.

ISAACMAN, D.J.; MCINTOSH, E.D.; REINERT, R.R. Burden of invasive pneumococcal disease and serotype distribution among *Streptococcus pneumoniae* isolates in young children in Europe: impact of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and considerations for future conjugate vaccines. **International Journal of Infectious Diseases**. v.14, n.3, p.197-209, 2010.

JACKSON, L. A. et al. Immunogenicity of varying dosages of 7-valent pneumococcal polysaccharide-protein conjugate vaccine in seniors previously vaccinated with 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine. **Vaccine**, v.25, n.20, p. 4029-4037, 2007.

JACOBS, M. R. Worldwide trends in antimicrobial resistance among common respiratory tract pathogens in children. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.22, Suppl 8, p. S109-119, 2003.

JANSEN, A. G. S.C. et al. Invasive pneumococcal disease in the Netherlands: Syndromes, outcome and potential vaccine benefits. **Vaccine**, v. 27, n.17, p.2394-2401, 2009a.

JANSEN, A. G. S. C. et al. Invasive Pneumococcal Disease among Adults: Associations among Serotypes, Disease Characteristics, and Outcome. **Clinical Infectious Diseases**, v.49, n.2,p.e23-e29. 2009b.

JEDRZEJAS, M. J. Pneumococcal Virulence Factors: Structure and Function, **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 65, p. 187–207, 2001.

JIN, P. et al. First report of putative *Streptococcus pneumoniae* serotype 6D among nasopharyngeal isolates from Fijian children. **The Journal of Infectious Diseases** v.200, p.1375-1380, 2009.

JOHNSON, A.P. et al. Morbidity and mortality of pneumococcal meningitis and serotypes of causative strains prior to introduction of the 7-valent conjugant pneumococcal vaccine in England. **Journal of Infection**, v. 55, p.394-399, 2007.

KADIOGLU, A. et al. The role of *Streptococcus pneumoniae* virulence factors in host respiratory colonization and disease. **Nature Reviews Microbiology**,v.6, n.4, p. 288-301, 2008.

KELLNER, J.D. et al. Changing epidemiology of invasive pneumococcal disease in Canada, 1998-2007: update from the Calgary-area *Streptococcus pneumoniae* research (CASPER) study. **Clinical Infectious Diseases** v.49, n.2, p.205-212, 2009.

KEMPS, B. **Norma Técnica do Programa de Imunizações, Norma 1** Coordenadoria de Controle de Doenças Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”, São Paulo, 2008. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/imuni/imuni08_ntprog.pdf>. Acesso em: 20 Fev. 2015.

KFOURI, R.A. **Construindo um País mais Saudável 40 anos do Programa Nacional de Imunizações.** 2014. Disponível em: <http://www.acaoresponsavel.org.br/40anospni/images/Renato_Kfourir.pdf>. Acesso em: 15 Abr. 2015.

KLUGMAN K, P.; ASTLEY, C. M.; LIPSITCH, M. Time from illness onset to death, 1918 influenza and pneumococcal pneumonia. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v.15, n.2, p.346-347, 2009.

KONEMAN, E.W., ALLEN, A.D., JANDA, W.N., et al. ed. Color Atlas and Textbook Diagnostic Microbiology, 4ª edition, Philadelphia: J. B. Lippincott Company, 1992:431-466.

KUHLMANN, A. et al. Potential cost-effectiveness and benefit-cost ratios of adult pneumococcal vaccination in Germany. **Health Economics Review**, v.2, n.4, 2012. Disponível em: <www.healtheconomicsreview.com/content/2/1/4>. Acesso em: 06 Abr. 2015.

KYAW, M. H. et al. Invasive pneumococcal disease in Scotland, 1999-2001: use of record linkage to explore associations between patients and disease in relation to future vaccination policy. **Clinical Infectious Diseases**, v.37, n.10, p. 1283-1291, 2003.

KYAW, M. H. et al. The influence of chronic illnesses on the incidence of invasive pneumococcal disease in adults. **The Journal of Infectious Diseases**, v.192, p.377–386, 2005.

LAMARO-CARDOSO, J. et al. Molecular epidemiological investigation to determine the source of a fatal case of serotype 22F pneumococcal meningitis. **Journal of Medical Microbiology**, v.61, n.Pt5, p.686-692, 2012.

LAVAL, C. B. et al. Serotypes of carriage and invasive isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Brazilian children in the era of pneumococcal vaccines. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 12, n. 1, p. 50-5, 2006.

LEVY C. et al. Pneumococcal meningitis in french children before and after the introduction of pneumococcal conjugate vaccine. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.30, n.2, p.168-170, 2011.

LUCAREVSCHI, B.R. et al. Colonização de orofaringe por *Streptococcus pneumoniae* em crianças de creches municipais de Taubaté-SP: correlação entre os principais sorotipos e a vacina pneumocócica conjugada heptavalente. **Jornal de Pediatria**, v.79, n.3, p.215-220, 2003.

LUCAREVSCHI, B.R.; ESCOBAR, A.M.; GRISI, S. Custos hospitalares da meningite causada por *Streptococcus pneumoniae* na cidade de São José dos Campos, São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro. v.28, n.4, 2012.

LUJA,M. et al. Influence of pneumococcal serotype group on outcome in adults with bacteraemic pneumonia. **European Respiratory Journal**, v.36, p.1073-1079, 2010.

LYNCH, J.P. 3rd; ZHANEL, G.G. *Streptococcus pneumoniae*: epidemiology, risk factors, and strategies for prevention. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v.30, p.189-209, 2009.

MANTESE, O.C. et al. Perfil etiológico das meningites bacterianas em crianças. **Jornal de Pediatria**, v.78, n.6, p.467-474, 2002.

MANTESE, O.C. et al. Prevalence of serotypes and antimicrobial resistance of invasive strains of pneumococcus in children analysis of 9 years. **Jornal de Pediatria**, v.85, n.6, p.495-502, 2009.

MARCH, M.F. Resistência Antimicrobiana do pneumococo aos antibióticos beta-lactâmicos. **Revista Pulmão**, Rio de Janeiro. v.22, n.3, p.9-13, 2013.

MARQUES, H.H.s., et al.. Relatively penicillin-resistant pneumococcal meningitis in a Brazilian infant. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.7, p.433-434, 1988.

MARTENS, P. et al. Serotype-specific mortality from invasive *Streptococcus pneumoniae* disease revisited. **The Journal of Infectious Diseases**, v.4, n.21, p.21-28, 2004.

MARTINELLI, D. et al. Towards the 13-valent pneumococcal conjugate universal vaccination: effectiveness in the transition era between PCV7 and PCV13 in Italy, 2010-2013. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v.10, n.1, p.33-39, 2014.

MARTÍNEZ, F. G. et al. Serotipos no vacunales emergentes causantes de enfermedad neumocócica invasora em la era de la vacuna 7-valente. **Anales de Pediatría**, v.80, n.3, p.173-180, 2013.

MASUDA, K. et al. Incidences of nasopharyngeal colonization of respiratory bacterial pathogens in Japanese children attending day-care centers. **Pediatrics International**, v.44, n.4, p. 376-380, 2002.

McGEE L. et al. Nomenclature of major antimicrobial-resistant clones of *Streptococcus pneumoniae* defined by the pneumococcal molecular epidemiology network. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n.7, p. 2565-2571, 2001.

MEATS, E. et al. Stability of serotypes during nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 386-92, 2003.

MELO-CRISTINO, J.L.; SANTOS,M.; RAMIREZ. The Viriato Study: update of antimicrobial susceptibility data of bacterial pathogens from community-acquired respiratory tract infections in Portugal in 2003 and 2004. **Revista Portuguesa de Pneumologia**, v.12, n.1, p.9-30, 2006.

MENDES et al. The public healthcare system in the context of Brazil's demographic transition: current and future demands. **Cadernos de Saúde Pública**, v.28, n.5, p.955-964, 2012.

MENEZES, A.P.O. et. al. Serotype distribution and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* prior to introduction of the 10-valent pneumococcal conjugate vaccine in Brazil, 2000-2007. **Vaccine**, v.29, p.1139-1144, 2011.

MERA, R. et al. Serotype replacement and multiple resistance in *Streptococcus pneumoniae* after the introduction of the conjugate pneumococcal vaccine. **Microbial Drug Resistance**, v.14, n.2, p.101-107, 2008.

MICHEL, N. et al. Distribution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes responsible for penicillin resistance and the potential Role of New conjugate vaccines in New Caledonia. **Journal of Clinical Microbiology**, v.43, n.12, p.6060-6063, 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual dos Centros de Referência Para Imunobiológicos Especiais**, 3ª edição. Brasília DF, 2006. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_centro_referencia_imunobiologicos.pdf>. Acesso em: 10 Fev. 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Ata do Simpósio Nacional de Vigilâncias: Pneumococo e Influenza**. São Paulo, 2007. Disponível em: <http://www.sabin.org/sites/sabin.org/files/Ata%20do%20Simposio%20Nacional%20de%20Vigilancia%20_%20Pneumococo%20e%20Influenza.pdf>. Acesso em : 01 Dez. 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de Vigilância Epidemiológica**. Brasília. 7ª ed. Caderno 12 p. 28, 2009. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_epidemiologica_7ed.pdf>. Acesso 18 Jun. 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Proposta para introdução da vacina pneumocócica 10-valente (conjugada) no calendário básico de vacinação da criança, incorporação março**. Brasília, 2010a. Disponível em:

<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/intro_pneumococica10_val_04_02_10_ver_final.pdf>. Acesso em: 20 Jul. 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL - **Coordenação Geral do Programa de Imunizações: Informe técnico da Vacina pneumocócica 10 valente (conjugada).** 2010b. Disponível em: <http://www.sgc.goias.gov.br/upload/links/arq_723_infotec.pdf>. Acesso em 04 Jun. 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Evidências preliminares de impacto da vacina Influenza A (H1N1) e anti-pneumocócica conjugada (PCV-10) nas internações por pneumonia nos hospitais da rede do SUS – Brasil, no período de 2005 a 2010.** Brasil, 2010c. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_brasil_2010.pdf>. Acesso em: 14 Abr. 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **DATASUS. Meningite. Brasília,** 2011a. Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinannet/meningite/bases/meninbrnet.def>>. Acesso em 30 Mai. 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Sistema de Informação do Programa Nacional de Imunizações.** Brasília, 2011b. Disponível em: <<http://pni.datasus.gov.br/>>. Acesso em: 05 Jun 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **DATASUS - PNI - Sistema de Informação do Programa Nacional de Imunizações.** Brasília, 2014. Disponível em: <http://pni.datasus.gov.br/consulta_mrc_13_selecao.php?sel=C02&uf=SP&municipio> Acesso em: 16 Abr. 2015).

MIRANDA, J.M.D. **Infecções pneumocócicas invasivas no idoso em Portugal em 2008 e 2009.** 2012. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada - Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa), 2012.

MIYAJI, E.N. et al. Serotype-independent pneumococcal vaccines. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.70, n.18, p.3303-3326, 2013.

MOTLOVÁ, J. Distribution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and serogroups among patients with invasive pneumococcal diseases in the Czech Republic in 1996-2003: background data for vaccination strategy. **Journal of Epidemiology, Microbiology and Immunology**, v.54, n.1, p.3-10, 2005.

MUSHER, D.M.; SAMPATH, R.; RODRIGUEZ-BARRADAS, M.C. The potential role for protein-conjugate pneumococcal vaccine in adults: what is the supporting evidence. **Clinical Infectious Diseases**, v.52, p.633-640, 2011.

NASCIMENTO-CARVALHO, C.M. et al. Cepas invasivas de pneumococo isoladas de crianças e adolescentes em Salvador. **Jornal de Pediatria**, v.79, n.3, p.209-214, 2003.

NASCIMENTO-CARVALHO, C. M.; SOUZA-MARQUES, H. H. Recomendação da Sociedade Brasileira de Pediatria para antibioticoterapia em crianças e adolescentes com pneumonia comunitária. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v.15, n.6, p.380- 387, 2004.

NAVARRO-TORNÉ, A. et al. Risk Factors for Death from Invasive Pneumococcal Disease, Europe, 2010. **Emerging Infectious Diseases**. v. 21, n. 3, p.417-425, 2015.

NEGRINI, B. V. M. **Doenças invasivas causadas pelo *Streptococcus pneumoniae* em crianças: sorotipos, resistência à penicilina *in vitro* e influência dessa resistência sobre o prognóstico de crianças tratadas com penicilina**. 2010. 153 f. Tese (Doutorado em Saúde da Criança e do Adolescente - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP), 2010.

NOVAES, H. M.D.; SARTORI, A. M. C.; SOAREZ, P. C. Hospitalization rates for pneumococcal diseases in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v.45, n.3, p. 539-547, 2011.

OBARO, S.K. et al. Carriage of pneumococci after pneumococcal vaccination [letter]. **Lancet**. v.348, p.271-272, 1996.

OBERT, C.A. et al. Assessment of molecular typing methods to determine invasiveness and to differentiate clones of *Streptococcus pneumoniae*. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 7, n.6, p. 708-716, 2007.

O'BRIEN, L.L., et al. Epidemiology of Invasive *Streptococcus pneumoniae* among Navajo Children in the Era before Use of Conjugate Pneumococcal vaccines, 1989-1996. **American Journal of Epidemiology**, v.160, n.3, p.270-278, 2004.

O'BRIEN, K. L. et al. T. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. **Lancet**, v.374, p.893-902, 2009a.

O'BRIEN, K.L. Pneumococcal conjugate vaccine, polysaccharide vaccine, or both for adults? We're not there yet. **Clinical Infectious Diseases**, v.49, p.1326-1328, 2009b.

OFLDEH, S.; GIDDING, H.F.; GILBERT, G.L. Laboratory surveillance of invasive pneumococcal disease in New South Wales, Australia, before and after introduction of 7-valent conjugate vaccine: reduced disease, but not antibiotic resistance rates. **Epidemiology & Infection** v.141, n.9, p.1797-1806, 2013.

OLIVIER, C.W. Ten years of experience with the pneumococcal conjugate 7-valent vaccine in children. **Médecine et maladies infectieuses** .v.43, p.309-321, 2013.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Informe regional de SIREVA II, 2006. Tecnología de Salud para la calidad de la Atención (THR/HT), OPS/OMS.** Washington - D.C., 2006. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=3609&Itemid=3953>. Acesso em: 20 Jun 2014.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Informe regional de SIREVA II, 2008. Tecnología de Salud para la calidad de la Atención (THR/HT), OPS/OMS.** Washington - D.C., 2009. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=3609&Itemid=3953>. Acesso em: 20 Jun 2014.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Informe regional de SIREVA II, 2009. Tecnologia de Salud para la Calidad de la Atención (THR/HT), OPS/OMS.** Washington - D.C, 2010a. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=3609&Itemid=3953>. Acesso em: 20 Jun 2014.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Surveillance of Bacterial Pneumonia and Meningitis in Children Aged Under 5 Years.** Field Guide. Washington - D.C., 2010b. Disponível em <http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2010/FieldGuide_BacPneumoMening_1stEd_e.pdf> 2010. Acesso em 18/01/2015.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Informe regional de SIREVA II, 2010. Tecnologia de Salud para la Calidad de la Atención (THR/HT), OPS/OMS.** Washington - D.C, 2011. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=3609&Itemid=3953>. Acesso em: 20 Jun 2014.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Informe regional de SIREVA II, 2011. Tecnologia de Salud para la Calidad de la Atención (THR/HT), OPS/OMS.** Washington - D.C, 2012. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=3609&Itemid=3953>. Acesso em: 20 Jun 2014.

ÖRTQVIST, A. Pneumococcal vaccination: current and future issues. **European Respiratory Journal.**, v.18, p. 184-195, 2001.

PAI, R. et al. Postvaccine genetic struture of *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A from children in the United States. **The Journal of Infectious Diseases**, v.192, n.11, p.1988-1995, 2005.

PARK, I.H. et al. Discovery of a new capsular serotype (6C) within serogroup 6 of *Streptococcus pneumoniae*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, p.1225-33, 2007.

PARK, I.H. et al. Differential effects of pneumococcal vaccines against serotypes 6A and 6C. **Journal Clinical Infectious Diseases**, v., n.12, p.1818-1822, 2008.

PARRA, E.I. et al. Changes in *Streptococcus pneumoniae* serotype distribution invasive disease and nasopharyngeal carriage after the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine introduction in Bogotá, Colombia. **Vaccine**, v.31, p.4033-4038, 2013.

PELTON, S.I. et al. Emergence of 19A as virulent and multidrug resistant pneumococcus in Massachusetts following universal immunization of infants with pneumococcal conjugate vaccine. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.26, n.6, p.468-472, 2007.

PICAZO, J.J. et al. Consenso: Vacunación Antineumocócica em el Adulto con Patología de Base. **Revista Española de Quimioterapia**, v.26, n.2. p.81-91, 2013a.

PICAZO, J.J. et al. Expansion of Serotype Coverage in the Universal Pediatric Vaccination Calendar: Short-Term Effects on Age- and Serotype Dependent Incidence of Invasive Pneumococcal Clinical Presentations in Madrid, Spain. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.20, n.10, p.1524-1530, 2013b.

PILISHVILI, T. et al. Sustainer reductions in invasive pneumococcal disease in the era of conjugate vaccine. **The Journal of Infectious Diseases**, v.201, p.32-41, 2010.

PÍREZ-GÁRCIA, M. C. et al. Invasive pneumococcal pneumonia in children 0-24 months old: does bacterial resistance affect outcome. **Anales de Pediatría**, v.69, n.3, p. 205-209, 2008.

PLETZ, M.W. et al. Pneumococcal vaccines: mechanism of action, impact on epidemiology and adaption of the species. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.32, p. 199-206, 2008.

REINERT, R.R. et al. Molecular characterization of macrolide resistance mechanisms of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* isolated in Germany, 2002-2003. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.24. n.1, p.43-47, 2004.

REINERT, R. R. The antimicrobial resistance profile of *Streptococcus pneumoniae*. **Clinical Microbiology and Infection**, v.15, Suppl 3, p. 7-11, 2009.

REINERT, R.R.; PARADISO, P.; FRITZELL, B. Advances in pneumococcal vaccines: the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine received market authorization in Europe. **Expert. Review of Vaccines**, v..9, n.3, p.229-236, 2010.

RESTREPO, F. et al. **Current Understanding of Adult Pneumococcal Disease Epidemiology in Latin America and the Caribbean**. 2013. Disponível em: <<http://www.sabin.org/sites/sabin.org/files/Fernando%20de%20la%20Hoz.pdf>>. Acesso em: 11/ Ago. 2013.

REUDA A. et al. The spectrum of invasive pneumococcal disease at an adult tertiary care hospital in the early 21 st century. **Medicine**, v.89, n.5, p.331-336, 2010.

RICHTER, S.S. et al. Pneumococcal Serotypes before and after Introduction of Conjugate Vaccines. **Emerging Infectious Diseases**, v.19, n.7, p.1074-1083, 2013.

ROCHA, C.G.B.B.; ANDRADE, A.L.S.S.; PIMENTA, F.C. Focus on pneumococcal vaccines and nasopharyngeal carriage. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.9, n.1, p.64-68, 2010.

ROSE, M.; ZIELEN, S. Impacto of infant immunization programs with pneumococcal conjugate vaccine in Europe. **Expert Review of Vaccines**, v.8, n.10, p. 1351-1364, 2009.

ROSSONI, A.M.O. et al. Acute bacterial meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae* resistant to the antimicrobial agents and their serotypes. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v.66, n.3a, 2008.

RÜCKINGER, S. et al. Reduction in the incidence of invasive pneumococcal disease after general vaccination with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine in Germany. **Vaccine**, v. 27,n.31, p.4136-4141, 2009a.

RÜCKINGER, S. et al. Association of serotype of *Streptococcus pneumoniae* with risk of severe and fatal outcome. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.28, n.2, p.118-122, 2009b.

RUDAN I. et al. Child Health Epidemiology Reference Group. Global estimate of the incidence of clinical pneumonia among children under five years of age. **Bulletin of the World Health Organization**, v.82, p.895-903, 2004.

RUDAN I. et al. Epidemiology and etiology of childhood pneumonia. **Bulletin of the World Health Organization**, v.86, p.408-416, 2008.

RUOFF, K. L.; WHILLEY, R.A.; BEIGHTON, D. **Streptococcus**. In: MURRAY, P.R., et al. editores. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington: ASM Press; 2003. p. 405-21.

SADOWY, E. et al. Phenotypic and molecular analysis of penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* isolates in Poland. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.51, n.1, p.40-47, 2007.

SALLERAS, L. et al. Changes in serotypes causing invasive pneumococcal disease (2005-2007 vs. 1997-1999) in children under 2 years of age in a population with intermediate coverage of the 7-valent pneumococcal conjugated vaccine. **Clinical Microbiology and Infection** v.15, n.11, p.997-1001, 2009.

SANTOS, S.R. et al. Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolated in Brazil before and after tem-pneumococcal conjugate vaccine implementation. **Vaccine**, v.31, p.6150-6154, 2013.

SARTORI, A.M.; SOÁREZ, P.C.; NOVAES, H.M.D. Cost-effectiveness of introducing the 10-valent pneumococcal conjugate vaccine into the universal immunisation of

infants in Brazil. **Journal of Epidemiology & Community Health**, v.66, p.210-217, 2012.

SCHOSSLER, J.G.S. et al. Perfil etiológico das meningites bacterianas, notificadas entre 1999 e 2010 no Rio Grande do Sul. **Revista Saúde**. Santa Maria, v.38, n.2, p.65-76, 2012.

SCOTT, J.R. et al. 2012. Impact of more than a decade of pneumococcal conjugate vaccine use on carriage and invasive potential in Native American communities. **The Journal of Infectious Diseases**. v.205, p.280-288, 2012.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE (SES). **Cartilha de Orientação para Registros de Imunobiológicos em Serviços de Saúde**. São Paulo, 2006. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/imuni/pdf/cartilha06_imuno.pdf>. Acesso em: 21 Abr. 2015.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE (SES). **Mapa regional de Saúde. RRAS 13 - Araraquara - Barretos - Franca - Ribeirão Preto**. São Paulo, 2012. Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/...saude/...saude/mapa_de_saude_rras13_exemplo>. Acesso em 06 DEZ. 2013.

SEEBERGER, P. H.; WERZ, D. B. Synthesis and medical applications of oligosaccharides. **Nature**, v.446, n.7139, p. 1046-1051, 2007.

SHACHERN, P.A. et al. Virulence of Pneumococcal Proteins on the Inner Ear FREE. **Archives of Otolaryngology - Head Neck Surgery**, v.135, n.7, p.657-661, 2009.

SHOUVAL, D.S. et al. Site-specific disease potential of individual *Streptococcus pneumoniae* serotypes in pediatric invasive disease, acute otitis media and acute conjunctivitis. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.25, p.602-607, 2006.

SIDIKOU, F. et al. Polymerase chain reaction assay and bacterial meningitis surveillance in remote areas, Niger. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v. 9, n. 11, p. 1486-1488, 2003.

SIEMIENIUK, R.A.C.; GREGSON, D.B.; GILL, M.J. The persisting burden of invasive pneumococcal disease in HIV patient: na obsevational cohort study. **Infectious Diseases**, v.11, n.314, 2011. Disponível em: <www.biomedcentral.com/81471-234/11/314>. Acesso em: 08 Abr. 2015.

SILVA, W.A. et al. Epidemiological profile of acute bacterial meningitis in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**.v.43, n.4, p.455-457, 2010.

SIMELL B, et al. Effects of ageing and gender on naturally acquired antibodies to pneumococcal capsular polysaccharides and virulence-associated proteins. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.15, p.1391-1397, 2008.

SIMONSEN L. et al. Impact of pneumococcal conjugate vaccination of infants on pneumonia and influenza hospitalization and mortality in all age groups in the United States. **MBio**, v.2, n.1, e00309-10, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21264063>>. Acesso em: 21 Jun. 2015.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE IMUNIZAÇÕES - **Geriatría Guia de Vacinação**. Rio de Janeiro, 2013/14. Disponível em: <<http://sbgg.org.br/wp-content/uploads/2014/10/guia-de-vacinas.pdf>>. Acesso 18 Jun. 2015.

SOETERS, H.M. et al. Trimethoprim-Sulfamethoxazole Prophylaxis and antibiotic nonsusceptibility in invasive pneumococcal disease. **Antimicrobial Agents and chemotherapy (AAC)**, v.56, n.3, p.1602-1605, 2011.

SONG, J.H. et al. Spread of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Asian countries: Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP) Study. **Clinical Infectious Diseases**., v.28, p.1206-1211, 1999.

SONG, J.Y.; NAHM, M. H.; MOSELEY, M.A.Clinical implications of pneumococcal serotypes: invasive disease potential, clinical presentations, and antibiotic resistance. **Journal of Korean Medical Science**, v.28, p.4-15, 2013.

SORENSEN, U.B. Typing of pneumococci by using 12 pooled antisera. **Journal of Clinical Microbiology**, v.31, n.8, p.2097-2100, 1993.

SOUSA et al. Conhecimento sobre doenças e agravos de notificação compulsória entre profissionais da Estratégia Saúde da Família no município de Teresina, estado do Piauí, Brasil - 2010. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.21, n.3, p.465-474, 2012.

SPRATT, B. G; HANAGE, W.P.; FEIL, E.J. The relative contributions of recombination and point mutation to the diversification of bacterial clones. **Current opinion in microbiology**, v.4, n.5, p.602-606, 2001.

TELFORD, J. L. et al. Pili in gram-positive pathogens. **Nature Reviews Microbiology**, v.4, n.7, p. 509-519, 2006.

TENOVER, F.C. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 9, p. 2233-2239, 1999.

TUMER P. et al. Improved detection of nasopharyngeal colonization by multiple pneumococcal serotypes by use of latex agglutination or molecular serotyping by microarray. **Journal of Clinical Microbiology**, v.49, n.5, p.1784-1789, 2011.

TONOLIO NETO, J. et al. Cost-effectiveness analysis of pneumococcal polysaccharide vaccination from age 60 in São Paulo state, Brazil. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v.7, n.10, p.1037-1047, 2011.

VALENZUELA, M.T. et al. The burden of pneumococcal disease among Latin American and Caribbean children: review of the evidence. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 25, n.3, p.270-279, 2009.

VEENHOVEN, R. et al. Effect of conjugate pneumococcal vaccine followed by polysaccharide pneumococcal vaccine on recurrent acute otitis media: a randomised study. **Lancet**. v.361, n.9376, p.2189-2195, 2003.

VELASQUEZ, P..G. et al. High prevalence of children colonized with penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in public day-care centers. **Journal of Pediatrics**, v.85, n.6, p.516-522, 2009.

VERAS, M.A.S.M. et al. Effectiveness of the polysaccharide pneumococcal vaccine among HIV-infected persons in Brazil: a case control study. **Infectious diseases**, v.7, n.119, 2007. Disponível em: www.biomedcentral.com/1471-2334/7/119. Acesso em 03 Abr. 2015.

VICKERS, I. et al. Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in the Republic of Ireland. **Epidemiology & Infection**, v.19, p.1-8, 2010.

VIEIRA, A. C. et al. *Streptococcus pneumoniae*: a study of strains isolated from cerebrospinal fluid. **Journal de Pediatria**, v. 83, n. 1, p. 71-78, 2007.

VILA-CORCOLES, A. B. R. et al. Drug-resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates among Spanish middle aged and older adults with community-acquired pneumonia. **BMC Infectious Diseases**, 2009. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/9/36>>. Acesso em: 24/07/2011.

VOORDOUW, B. C. et al. Annual influenza vaccination in community-dwelling elderly individuals and the risk of lower respiratory tract infections or pneumonia. **Archives of Internal Medicine** v.166, n.18, p.1980-1985, 2006.

WEBER, F.T.; DIAS,C.; COSTA,M. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* and genotypic characterization of erythromycin-resistant strains in Porto Alegre, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, p.1-5, 2010.

WEINBERGER, D. M. et al. Association of serotype with risk of death due to pneumococcal pneumonia: a meta-analysis. **Clinical Infectious Diseases**, v.51, p.692– 699, 2010.

WEISER, J.N. The pneumococcus: why a commensal misbehaves. **Journal of Molecular Medicine**, v.88, n.2, p.97-102, 2010.

WENGER, J.D. et al. Invasive pneumococcal disease in Alaskan children: impact of the seven-valent pneumococcal conjugate vaccine and the role of water supply. **The Pediatrics Infectious Disease Journal**, v.29, p.251-256, 2010.

WERNO, A. M.; MURDOCH, D. R. Medical microbiology: laboratory diagnosis of invasive pneumococcal disease. **Clinical Infectious Diseases**, v.46, n.6, p. 926-932, 2008.

WHITNEY, C. G. et al. Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 18, p. 1737-46, 2003.

WINN, W.J.R. et al. **Koneman's. Color Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology**. 6th, pp. 689-693. 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Relevé épidémiologique hebdomadaire. Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization – Wkly Epidemiol. Rec.** Geneva, v. 12, n.82, p.93–104. 2007. Disponível em: <<http://www.who.int/wer>>. Acesso em: 23 Maio 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Pneumococcal conjugate vaccine Part II: Target Product Profile, Supplementary Information**. Geneva, 2008a. Disponível em: <www.google.com.br/?gws_rd=ssl#q=www.gavi.org%2F...%2Ftpp-supplementary-information>. Acesso em: 04 Fev. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine- WHO position paper. Wkly Epidemiol. Rec.** Geneva, v.83, p. 373-84, 2008b. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5934a3.htm>. Acesso em: 04 Maio 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Acute respiratory infection. IVR**, 2009. Disponível em: <www.who.int/vaccine_research/diseases/ari/en/index3.html>. Acesso em: 25 Jul. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Measuring impact of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccination**. 2012. Disponível em: <http://www.who.int/iris/bitstream/10665/75835/1/WHO_IVB_12.08_eng.pdf>. Acesso em: 05 Jan. 2014.

WROE, P.C. et al. Pneumococcal carriage and antibiotic resistance in young children before 13-valente conjugate vaccine. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.31, n.3, p.249-254, 2012.

YOSHIOKA, C.R.M. et al. Analysis of invasive pneumonia-causing strains of *Streptococcus pneumoniae*: serotypes and antimicrobial susceptibility. **The Journal of Pediatrics**, v.87, n.1, p. 70-75, 2011.

YU, X. et al. Immunity to cross-reactive serotypes induced by pneumococcal conjugate vaccines in infants. **The Journal of Infectious Diseases**, v.180, n.5, p.1569-1576, 1999.

YU, V.L. et al. An international prospective study of pneumococcal bacteremia: correlation with in vitro resistance, antibiotics administered, and clinical outcome. **Clinical Infectious Diseases**, v.37, p.230-237, 2003.

APÊNDICE A**Instrumento de Coleta de dados sobre *Streptococcus pneumoniae***

Nº do registro do paciente _____ Nº da cepa no IAL _____

Idade: _____ Cidade _____

Sexo: Masculino () Feminino ()

Diagnóstico(s) Médico:

Meningite () Pneumonia () Bacteriemia () Peritonite () Sepses ()

Outros _____

Comorbidade:

Diabetes () Alcoolismo () Aids () Tabagismo () Câncer ()

Outros _____

Evolução final: ()

1 = cura sem sequela 2= cura com sequela 3= complicação 4= óbito

Cultura - Material biológico:

Sangue () Líquor () Líquido pleural () Sangue e Líquor () Sangue e Líquido Pleural () Outros _____

Sorotipo: _____

Perfil de sensibilidade antimicrobiana:

Difusão em disco:

Eritromicina () Cloranfenicol () Vancomicina () Oxacilina ()
Sulfametoxazol-trimetoprim ()

Concentração Inibitória mínima:

Penicilina.....() Ceftriaxona..... ()

APÊNDICE B

Técnicas laboratoriais para isolamento, identificação teste de sensibilidade e sorotipagem de *Streptococcus pneumoniae*

1. Identificação e sorotipagem

As culturas que apresentaram crescimento bacteriano foram caracterizadas como *S. pneumoniae*, com base na morfologia da colônia, alfa-hemólise em ágar Mueller-Hinton suplementado com 5% de sangue de carneiro, coloração de Gram, sensibilidade a optoquina (5µg) e solubilidade em bile (KONEMAN, et al, 1992).

1.1 Teste de sensibilidade à optoquina

As colônias alfa hemolíticas foram semeadas em placa de ágar sangue em várias direções, com o objetivos de obter-se crescimento bacteriano abundante, sobre a semeadura colocou-se assepticamente um disco de 5 µg de optoquina, incubando-se a placa à 35° C em atmosfera de 5% de CO₂ (KONEMAN, et al, 1992). Após 24 horas o halo de inibição do crescimento foi medido. Os isolados que apresentaram halo com diâmetro igual ou maior que 14 mm ao redor do disco foram considerados sensíveis à optoquina e identificados como *Streptococcus pneumoniae*. Os isolados com zonas de inibição à optoquina entre 8 e 14 mm foram submetidos ao teste de bile solubilidade.

1.2 Teste da bile solubilidade

Realizou-se o teste da bile solubilidade empregando-se solução de desoxicolato de sódio a 2%. As colônias em placa de ágar sangue foram suspensas em 2mL de solução salina a 0,9%, com turvação ajustada para o padrão 1,0 da escala de MC Farland (10¹⁶ UFC/mL). Esta suspensão foi distribuída em dois tubos, sendo um teste, o qual adicionou-se 1,0 mL de solução de desoxicolato de sódio e um tubo controle onde foi adicionado 1,0 mL de solução salina. Os tubos foram homogeneizados e incubados à 35°C, sendo observados a cada 15 minutos por um período de duas horas. O desaparecimento da turvação no tubo teste indicou a lise do pneumococo (reação positiva), sendo que o tubo controle continuou turvo.

1.3 Sorotipagem

Realizou-se a sorotipagem pela reação de *Neufeld Quellung*, técnica previamente descrita por Sorensen (1993), utilizando anti-soros policlonais produzidos pelo *Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark*.

2. Sensibilidade aos antimicrobianos

Susceptibilidade antimicrobiana foi avaliada usando-se o teste de disco difusão com oxacilina (1µg), cloranfenicol, eritromicina, sulfametoxazol/trimetoprim e vancomicina em placas de Agar Mueller –Hinton suplementado com 5% de sangue de carneiro de acordo com técnica padronizada (NCCLS, 1997; CLSI, 2005). O Teste de triagem com disco de oxacilina (1µg) é utilizado para prever a sensibilidade aos antibióticos β-lactâmicos. Zona de inibição ≥ 20 mm são sensíveis, diâmetro ≤ 19 mm cepas oxacilina-resistentes posteriormente submetidas à determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) para penicilina e ceftriaxona utilizando o método de microdiluição em caldo. Cepas oxacilina sensíveis (halo > 19 mm) foram consideradas sensíveis à penicilina e ceftriaxona (CLSI, 2008).

Definiu-se o perfil de sensibilidade do pneumococo aos antimicrobianos segundo as tabelas abaixo:

Quadro 1- Critério interpretativo do teste de disco difusão para *Streptococcus pneumoniae* (CLSI, 2013)

Agente Antimicrobiano	Diâmetro do Halo de inibição em mm		
	Sensível	Intermediário	Resistente
Eritromicina (15 µg)	≤ 15	16-20	≥ 21
Cloranfenicol (30 µg)	≤ 20	-	≥ 21
Sulfametoxazol Trimetoprim (1,25/23,75µg)	≤ 19	16-18	≥ 15
Vancomicina (30 µg)	-	-	≥ 17

Quadro 2 - Critério interpretativo do teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM/MIC) para *Streptococcus pneumoniae* (CLSI, 2013)

Agente Antimicrobiano	Critério de Interpretação CIM/MIC (µg/mL)		
	Sensível	Intermediário	Resistente
Ceftriaxona (meningite)	$\leq 0,5$	1	≥ 2
Ceftriaxona (não meningite)	≤ 1	2	≥ 4
Penicilina (meningite)	$\leq 0,06$	-	$\geq 0,12$
Penicilina (não meningite)	≤ 2	4	≥ 8

3. Cepas controle

As cepas padrão de *S. pneumoniae* ATCC 49619 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 foram utilizadas para o controle de qualidade do teste de sensibilidade.

ANEXO

Anexo 1: Cópia do ofício de aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Centro Colaborador da Organização Mundial da Saúde para o Desenvolvimento da Pesquisa em Enfermagem

Avenida Bandeirantes, 3900 - Ribeirão Preto - São Paulo - Brasil - CEP 14040-902 - Fone: 55 16 3602.3382 - 55 16 3602.3381 - Fax: 55 16 3602.0518
www.eerp.usp.br - eerp@edu.usp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA EERP/USP

Of.CEP-EERP/USP – 057/2014

Ribeirão Preto, 26 de março de 2014.

Prezada Senhora,

Comunicamos que o projeto de pesquisa, abaixo especificado, foi analisado e considerado **APROVADO AD REFERENDUM** pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em 26 de março de 2014.

Protocolo CAAE: 26759714.8.0000.5393

Projeto: Aspectos epidemiológicos da doença invasiva pneumocócica.

Pesquisadores: Denise de Andrade
Marta Inês Cazentini Medeiros

Em atendimento à Resolução 466/12, deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer intercorrência ou a sua interrupção.

Atenciosamente,

Prof. Dra. Claudia Benedita dos Santos
Coordenadora do CEP-EERP/USP

Ilma. Sra.

Prof. Dra. Denise de Andrade

Departamento de Enfermagem Geral e Especializada
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP