

**ADRIANA MELO DE FARIA**

**Avaliação da resposta humoral à vacina pneumocócica  
conjugada 7-valente em crianças com asma moderada em  
uso de corticóide inalatório e em crianças com fibrose cística**

**Dissertação apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade de São Paulo  
para Obtenção do título de Mestre em  
Ciências**

**Área de concentração: Pediatria**

**Orientador: Prof. Dr. Evandro Roberto  
Baldacci**

**São Paulo  
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Faria, Adriana Melo de

Avaliação da resposta humoral à vacina pneumocócica conjugada 7-valente em crianças com asma moderada em uso de corticóide inalatório e em crianças com fibrose cística / Adriana Melo de Faria. -- São Paulo, 2009.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Pediatria

Área de concentração: Pediatria.

Orientador: Evandro Roberto Baldacci.

Descritores: 1.*Streptococcus pneumoniae* 2.Asma 3.Fibrose cística 4.Sorologia  
5.Vacinas pneumocócicas

USP/FM/SBD-409/09

Dedico esta dissertação à minha mãe, Célia, que lutou para a formação de seus dois filhos com todo seu amor e dedicação incondicionais.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, agradeço a cada dia pela minha vida, com seus altos e baixos, alegrias e tristezas com as quais cresço sempre.

Ao meu irmão e toda minha família, pela atenção e força, me acompanhando a cada conquista, sempre torcendo por mim, pelo meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Richard, com seu amor, suas palavras doces e incentivo para eu concretizar esse trabalho.

Ao Dr Evandro Roberto Baldacci pela oportunidade de ingressar na pós-graduação *sensu stricto*, pela orientação desse trabalho, além do suporte ao longo de minha formação em infectologia pediátrica.

Aos meus amigos Isabel de Camargo Costa e Marcelo Genofre Vallada, que me apoiaram e ajudaram com a cobertura dos horários em nossos locais de trabalho. Sempre me encorajando rumo à conclusão desse projeto.

Ao Dr Ulysses Doria Filho pelo auxílio na parte de análise estatística. Obrigada pela paciência e sugestões. Sua contribuição foi importantíssima para a conclusão desse trabalho.

À equipe da Infectologia pediátrica e CCIH do ICR que me apoiaram em todo o percurso, em especial à Dra Heloísa Helena de Souza Marques, que muito contribuiu e orientou em minha formação de infectologista pediátrica, e à Dra Helena Keico Sato que também contribuiu para minha formação acadêmica e no trabalho do ambulatório de infectologia.

Aos meus colegas de trabalho, que sempre que possível colaboraram com trocas de horário para eu finalizar minha dissertação.

À Adriana e Solange, do departamento de pós-graduação, pela orientação ao longo dessa jornada.

À bibliotecária Mariza U. Yoshikawa, pela simpatia e ajuda quando se fez necessária.

À Rita, minha secretária, que me auxiliou na organização de meus horários no consultório quando se foi preciso.

À Milene e Nivaldo Rocha, sempre prestativos e gentis, rapidez nas cópias xerográficas.

À equipe do ICB4 pela realização das sorologias do pneumococo.

À equipe de enfermagem, pelas coletas de sangue e aplicações das vacinas.

A todas as crianças e pais/responsáveis participantes do estudo, sem os quais todo esse projeto não seria possível.

## NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas vigentes no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valeria Vilhena. 2ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e símbolos

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Epidemiologia da doença pneumocócica.....	1
1.2 O <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	3
1.3 Epidemiologia dos sorotipos pneumocócicos.....	6
1.4 Epidemiologia da resistência do pneumococo.....	15
1.5 As vacinas pneumocócicas.....	20
1.6 Era pós vacina pneumocócica conjugada.....	22
1.7 Resposta sorológica à vacina pneumocócica.....	31
1.8 Fibrose Cística.....	34
1.9 Asma.....	38
2. OBJETIVOS.....	46
2.1 Objetivo principal.....	46
2.2 Objetivos secundários.....	46
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	47
3.1 O estudo.....	47
3.2 Vacina.....	48
3.3 Procedimentos do estudo.....	49
3.4 Amostras sanguíneas.....	50
3.5 Técnica de Elisa.....	50

3.6 Sorologia – resposta aos sorotipos e à vacina.....	52
3.7 Análise estatística.....	52
4. RESULTADOS.....	53
4.1 Casuística.....	53
4.1.1 Asmáticos.....	53
4.1.2 Fibrose cística.....	54
4.2 Resultados sorológicos.....	55
4.2.1 Asmáticos – análise por sorotipo.....	55
4.2.2 Fibrose cística – análise por sorotipo.....	63
4.2.3 Asmáticos – análise de resposta à vacina.....	70
4.2.4 Fibrose cística – análise de resposta à vacina.....	73
4.3 Eventos adversos.....	75
5. DISCUSSÃO.....	77
6. CONCLUSÕES.....	87
7. ANEXOS.....	89
8. REFERÊNCIAS.....	95



## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AAP – *American Academy of Pediatrics*

ABC – *Active Bacterial Core Surveillance*

ACIP – *Advisory Committee on Immunization Practices*

CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*

CRIE – Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais

CVE – Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo

DNA – ácido desoxirribonucléico

DPOC – doença pulmonar obstrutiva crônica (bronquite crônica)

Elisa – *enzyme linked immunosorbent assay* / ensaio imunoenzimático

EUA – Estados Unidos da América

FC – fibrose cística

HIV – vírus da imunodeficiência humana

IC – intervalo de confiança

IgG – imunoglobulina G

M – meses

Mcg/ml – micrograma por mililitro

MIC – concentração inibitória mínima

MMWR – *Morbidity and Mortality Weekly Report*

MS – Ministério da Saúde (Brasil)

OMA – otite média aguda

OMS – Organização Mundial da Saúde

OPAS – Organização Pan-Americana de Saúde

OR – *odds ratio*

PBS – tampão citrato – fosfato

PS – polissacáride

PS-C – polissacáride C

RIA – *radioimmunoassay* – radioimunoensaio

RR – risco relativo

SG – sorogrupo

SIREVA – Sistema Regional de Vacinas

ST – sorotipo

SVS – Serviço de Vigilância em Saúde

VPC – vacina pneumocócica conjugada

VPC7 – vacina pneumocócica conjugada 7-valente

VPP23 – vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

WHO – World Health Organization

## RESUMO

Faria AM. **Avaliação da resposta humoral à vacina pneumocócica conjugada 7-valente em crianças com asma moderada em uso de corticóide inalatório e em crianças com fibrose cística** [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, 2009. 113f.

As infecções pneumocócicas são uma importante causa de morbimortalidade entre as crianças. Até 2000, era disponível apenas a vacina pneumocócica polissacarídica 23valente, de uso a partir dos 2 anos de idade. Essa vacina era recomendada para crianças com fibrose cística (FC) e para as asmáticas em uso de corticóide oral, dentre outras recomendações. A partir de 2000, licenciou-se a vacina pneumocócica conjugada 7valente, com grande impacto contra infecções causadas pelos sorotipos vacinais. Nos países onde as crianças não são universalmente vacinadas com essa vacina, as recomendações permanecem as mesmas. Atualmente, os adultos asmáticos estão incluídos nas recomendações para vacinação pneumocócica nos EUA. Há poucos estudos sobre o risco de doença pneumocócica em crianças asmáticas *per si* e naquelas com fibrose cística e sobre a resposta à vacina pneumocócica conjugada. Saliencia-se que ainda não há um critério estabelecido para avaliar a resposta sorológica a essa vacina. Recentemente, foi sugerido o critério de 0,35mcg/ml por Elisa para se correlacionar com proteção para doença invasiva pneumocócica. Objetivou-se determinar a concentração dos anticorpos contra os sorotipos vacinais contidos na vacina pneumocócica conjugada 7valente em crianças com asma moderada em uso de corticóide inalatório e em crianças com fibrose cística; avaliando-as pelos critérios de 0,35mcg/ml, 1,3mcg/ml e aumento de 4 vezes o título pós em relação ao pré-vacinal, para cada sorotipo e para a vacina, considerando-se a positividade para 5 sorotipos. Foram avaliadas 18 crianças em cada grupo. A mediana da idade foi de 82,5m nas asmáticas e 69,5m naquelas com FC. Foi colhida amostra para sorologia pré-vacinação e outra após 2 doses da vacina conjugada. As

concentrações de anticorpos para os sorotipos vacinais foram quantificadas pelo Elisa. Para 0,35mcg/ml de corte, a grande maioria nos dois grupos já era positiva à inclusão para os sorotipos vacinais e à vacina. Considerando-se o valor de 1,3mcg/ml, entre os que eram negativos, as crianças asmáticas responderam entre 66,7% (9V) e 100% (14), e as com FC, entre 50% (19F) e 100% (6B e 14); e, em relação à resposta vacinal para esse nível, as asmáticas apresentaram 81,8% de resposta, enquanto as com FC, 91,7%. Avaliando-se pelo aumento de 4 vezes o título pós em relação ao pré-vacinal, a melhor resposta aos sorotipos, nos asmáticos, foi de 33,3% (4, 6B, 14 e 18C), e a nos com FC, 61,1% para o 6B; em termos de resposta vacinal, obteve-se 16,7% e 44,4%, para as asmáticas e aquelas com FC, respectivamente. Não houve interferência da vacinação prévia com a vacina pneumocócica polissacarídica. As medianas dos títulos pós em relação aos pré-vacinais, para os sorotipos, nos dois grupos, apresentaram um aumento significativo. Apesar de boa parte das crianças apresentarem uma positividade elevada à inclusão, aquelas que eram negativas tenderam a apresentar uma boa resposta à vacina.

Descritores: *Streptococcus pneumoniae*. Asma. Fibrose Cística. Sorologia. Vacinas pneumocócicas

## SUMMARY

Faria AM. **Humoral immune response to 7-valent conjugated pneumococcal vaccine among children with moderate asthma in use of inhaled glucocorticosteroids and cystic fibrosis children** [Dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, 2009. 113f.

Pneumococcal infections are an important morbi-mortality cause among children. Until 2000, it was only available the 23-valent polysaccharide pneumococcal vaccine for children over two years old. This vaccine was recommended for cystic fibrosis (CF) children and to asthmatics children in use of oral corticosteroids, among other recommendations. From 2000, it was licensed the 7-valent conjugated pneumococcal vaccine, with a great impact against the infections caused by the vaccine serotypes. In the countries that don't make a universally use of this vaccine for children, the recommendations remain the same. At the present time, asthmatic adults are included for the pneumococcal vaccine recommendations in the United States. There are few studies about pneumococcal disease risk with cystic fibrosis children and asthmatics, *per si*, and about the conjugated pneumococcal vaccine response. It points out that there are no a definitive criteria or evaluation established for the serology response for this vaccine. It was suggested, recently, that the level of 0,35mcg/ml, measured by ELISA, is adequate to correlate with the invasive pneumococcal disease protection. The goal of this study was to determine the antibodies concentration of the seven vaccine serotypes from 7-valent conjugated pneumococcal vaccine among children with moderate asthma in use of inhaled corticosteroids and with cystic fibrosis. It was considered the dosage 0,35mcg/ml and 1,3mcg/ml levels and the four-fold increase between pre- and post-immunization concentrations levels, to each serotype and to the vaccine (positivity for five serotypes or more) for positivity. Eighteen children were included in each study group. The age median was 82,5 months for the asthmatics and 69,5 months for the CF children. A blood sample was taken for pre-immunization

serology and a second one after the second vaccine dose was given. The antibodies concentrations for the vaccine serotypes were measured by ELISA. Considering the 0,35mcg/ml levels, the majority of children, in both groups, was positive for vaccine serotypes and for the vaccine as well in the beginning. At the 1,3mcg/ml level, among the children with negative serology, asthmatic children responded between 66,7% (9V) and 100% (14), and those with CF, between 50% (19F) and 100% (6B e 14). Related to the vaccine response for this level, the asthmatics had a 81,8% response, while the CF children's response was 91,7%. Evaluating for the four-fold increase between pre- and post-immunization concentrations, the best response observed for the vaccine serotypes was 33,3% (4, 6B, 14 e 18C) for the asthmatics. In the CF group the best result was 61,1% (6B). In terms of the vaccine response, it was observed that 16,7% and 44,4% were the results for both the asthmatics and CF group, respectively. The polysaccharide vaccine didn't interfere in the results. The medians of the pre- and post-immunization antibodies concentrations for the vaccine serotypes, in both groups, were significantly increased. Despite those children that were already positive for the criteria evaluated, at the first moment of the study, for those children that were negative, the majority had a positive serology towards the vaccination response.

Descriptors: *Streptococcus pneumoniae*. Asthma. Cystic fibrosis. Serology. Pneumococcal vaccines.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Epidemiologia da doença pneumocócica

Estima-se que 10,6 milhões de crianças menores de 5 anos apresentem-se com uma doença pneumocócica anualmente (Black et al., 2003) e que essa bactéria seja responsável por mais de um terço das 2 milhões de mortes anuais por infecções respiratórias agudas, principalmente nos países em desenvolvimento (WHO, 2005).

O *S.pneumoniae* é uma importante causa de morbi-mortalidade em crianças e idosos, acometendo, no entanto, todas as faixas etárias, sendo mais prevalente nos países em desenvolvimento (Valenzuela et al., 2009; WHO, 2009).

As maiores taxas de doença invasiva pneumocócica ocorrem em crianças pequenas, principalmente nas menores de 2 anos. As crianças portadoras de doença falciforme, ou outra hemoglobinopatia associada à hemoglobina S, estão sob maior risco de infecções pneumocócicas, assim como as infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e as que frequentam creches (CDC, 2000).

A taxa de infecções graves é maior nos países em desenvolvimento do que em países desenvolvidos; mais de 50% das crianças nos países em desenvolvimento são colonizadas antes dos 6 meses de idade (Camargos et al., 2006).

Nos Estados Unidos da América (EUA), em 1998, a incidência estimada de DIP em menores de 12 meses foi de 165 casos/100.000 indivíduos e

naquelas entre 12 e 23 meses, 203 casos/100.000 indivíduos, com pico de incidência entre 6 e 11 meses, 235 casos/100.000 indivíduos. Entre as pessoas de todas as idades e nos maiores de 65 anos, foi de 24 e 61 casos/100.000 indivíduos, respectivamente (CDC, 2000). Essas taxas são maiores que as observadas na maioria dos países europeus (Hausdorff, 2002).

No Estado de São Paulo, não houve grande variabilidade do coeficiente de incidência das meningites por pneumococo (1,0 - 1,5/100.000 habitantes) durante a década de 90 e início dos anos 2000. Não se observou variação significativa em relação à letalidade, que permaneceu em torno de 28% e 29% no período observado. As faixas etárias de maior risco e letalidade são a dos menores de um ano de idade e, em seguida, a dos idosos (Carvalhanas et al., 2005). Esse perfil vem variando pouco desde 2005; o coeficiente de incidência até setembro de 2009 encontra-se em 0,5/100.000 habitantes. Em relação à letalidade, vem ultrapassando os 30% nos últimos anos (CVE, 2009).

É o agente bacteriano mais frequente de pneumonias, bacteremias, sinusites e otites médias nos últimos anos (Valenzuela et al., 2009), principalmente após a redução da prevalência do *H.influenzae* tipo b, com o advento da vacina conjugada para esse agente na década de 90. Na França, por exemplo, já é a principal causa de meningite bacteriana (Lepoutre et al., 2008).



## 1.2 O *Streptococcus pneumoniae*

O *Streptococcus pneumoniae*, também conhecido como pneumococo, é uma bactéria que se apresenta na forma de coco, frequentemente aos pares, é Gram positiva, anaeróbia facultativa, determina  $\alpha$ -hemólise e não é grupável na classificação de Lancefield (Baldy, 2005; CDC, 2009).

As infecções pneumocócicas ocorrem durante o ano todo, com maior frequência no inverno quando são mais comuns os fatores predisponentes como as viroses respiratórias e o aumento da poluição atmosférica. É o agente mais comum de pneumonias em adultos e o de maior frequência das pneumonias, sinusites e otites médias agudas (OMA) nas crianças (Baldy, 2005).

A colonização da nasofaringe pelo *S.pneumoniae* (adesão à superfície das células mucosas) precede as doenças por ele determinadas. Crianças são colonizadas mais frequentemente que os adultos (Schrag et al., 2001; Baldy, 2005).

A partir da proliferação e migração das bactérias colonizante pelas vias aéreas, as cavidades adjacentes são acometidas, instalando-se as otites médias agudas e as sinusites e, quando microaspiradas, as pneumonias. Podem acometer outros órgãos por contiguidade, mais comumente as pleurites e as meningites. As doenças pneumocócicas invasivas como meningites e, mais raramente, endocardites, artrites, osteomielites e peritonites, resultam da disseminação hematogênica dessas bactérias, a bacteremia. A bacteremia oculta, ou seja, sem foco de origem aparente, é mais comum nas crianças que nos adultos (Fedson, 1999; Baldy, 2005).

Na estrutura do pneumococo, é peculiar a presença em sua parede celular do polissacarídeo C, constituído por ácido teicóico ligado ao peptidoglicano de sua superfície externa; este é o principal responsável pela resposta inflamatória no hospedeiro. O polissacarídeo C é responsável pelas reações sorológicas cruzadas do *S.pneumoniae*, inclusive com outros estreptococos, e essa estrutura promove a ativação do complemento pela via alternativa. Os polissacárides da cápsula são os principais fatores patogênicos, mas não induzem reação inflamatória. Os fatores quimiotáticos mais potentes são os componentes da parede celular liberados pela degradação enzimática ao invés da bactéria íntegra (Baldy, 2005). Outros fatores de virulência descritos são a pneumolisina, a autolisina, a proteína A de superfície, o antígeno A de superfície, a proteína ligada à colina, a hialuronidase, a protease de imunoglobulina (Ig) A e duas neuraminidases (Baldy, 2005; CDC, 2009).

Fatores não imunológicos e imunológicos agem em conjunto para defender o hospedeiro contra o pneumococo. Entre os fatores não imunológicos ou barreiras físicas estão incluídos o reflexo de tosse, mecanismos de *clearance* mucociliar e fluxo do fluido broncoalveolar e os fatores imunológicos compreendem os fagócitos, funcionais e em número adequado, a resposta imune mediada por células B com produção adequada de anticorpos, a resposta imune mediada pelas células T e a presença dos amplificadores de resposta como o complemento, o sistema de coagulação, as cininas e as citocinas (Bellanti e Zeligs, 1994; Black et al, 2008). A

proteção contra as infecções pneumocócicas é mediada por fagocitose dependente de opsoninas, a partir do complemento e dos anticorpos.

Dessa forma, a rota natural da infecção pneumocócica começa com a colonização, que pode progredir para doença invasiva se as barreiras imunológicas naturais forem ultrapassadas. A conversão de colonização assintomática para doença invasiva requer a produção local de fatores inflamatórios como interleucina-1, interleucina-6 e fator de necrose tumoral alfa, como é visto em infecções virais. Essa cascata inflamatória muda o tipo e o número de receptores nas células epiteliais e endoteliais alvos. As colinas da parede celular pneumocócica apresentam uma afinidade aumentada para um desses receptores *up-regulated*, os receptores do fator ativador de plaquetas. Ligando-se a esses receptores, o pneumococo é internalizado e migra através da célula do epitélio respiratório e endotélio vascular, resultando em invasão da bactéria na circulação (Bogaert et al., 2004).

Os principais antígenos, os polissacarídeos, são a base para a classificação dessa bactéria em sorotipos (ST), e o sistema de classificação mais utilizado é o dinamarquês; até o momento, já identificados 91 sorotipos, distribuídos em 40 sorogrupos (SG) (Tuomanen et al., 1995; CDC, 2009). Os sorotipos mais prevalentes diferem entre as regiões geográficas, a idade e a doença em questão (OMS, 2009).

Diferentemente de outras bactérias que apresentam problemas de resistência, o seu aparecimento ao longo do tratamento não é comum para o pneumococo. A resistência por uma mutação pontual é rara nessa bactéria;

os dois mecanismos genéticos primários a lhe conferir resistência a essas bactérias são a transformação (aquisição de DNA livre do meio ambiente) e os transposons (transferência de segmentos de DNA genômico durante fusão bacteriana). A resistência pode ser inadvertidamente induzida pelo uso de antibióticos mesmo que para condições não relacionadas. O aumento do uso de antibióticos é associado à prevalência de cepas resistentes (Schrag et al., 2001).

### **1.3 Epidemiologia dos sorotipos pneumocócicos**

É importante que se conheça a distribuição dos sorotipos pneumocócicos e as suas resistências nas diversas localidades, o que implica no manejo correto das doenças pneumocócicas e na elaboração dos guias de tratamento para cada entidade clínica, além de medidas preventivas.

A colonização de nasofaringe pelo pneumococo depende de fatores como a idade, raça e condições ambientais, como tabagismo e aglomerações (como, por exemplo, nas creches). A sua duração varia amplamente, dependente, em parte, da idade do hospedeiro e da cepa colonizante (Schrag et al., 2001; Baldy, 2005).

O carreamento de pneumococo em nasofaringe é um fator crítico na transmissão horizontal dessa bactéria (Dagan, 2009). Crianças pequenas que frequentam creches apresentam as maiores taxas de colonização de nasofaringe, sendo uma importante fonte de pneumococos na sociedade (Bogaert et al., 2004). Malfroot et al (2004), na Bélgica, avaliaram 473

crianças entre 3 meses e 3 anos, de 30 creches, encontrando uma taxa média de 21% (0-76%) de colonização pelo pneumococo, sendo 14,1% com sensibilidade reduzida à penicilina.

Os sete sorotipos do *S.pneumoniae* mais prevalentes nos Estados Unidos da América (EUA) – 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F e 23F –, isolados de sangue e líquido de crianças menores de 6 anos, eram responsáveis por 80% das infecções e estão presentes na vacina pneumocócica conjugada 7-valente. Os tipos 1 e 5 eram pouco frequentes nos EUA, mas mais incidentes na Europa ocidental e nos países em desenvolvimento (MMWR-RR, 2000). Todos os sete sorotipos vacinais estão associados a maior resistência, sendo os 6B, 9V, 14, 19F, 23F os com mais alta resistência nos EUA (Dagan, 2009).

Observou-se nos adultos uma redução dos sorogrupos epidêmicos (1-3, 5) e um aumento dos sorotipos presentes na vacina pneumocócica conjugada 7-valente ao longo do século passado. Também nas crianças houve um aumento significativo dos sorogrupos presentes nessa vacina, assim como uma redução dos epidêmicos (Feikin e Klugman, 2002).

Na Filadélfia, Pensilvânia, 5901 crianças, de 2 a 24 meses, sob risco de bacteremia oculta, foram acompanhadas em uma coorte retrospectiva, entre fevereiro de 1993 e junho de 1996. A taxa de bacteremia oculta foi de 1,9%, encontrando-se 92 hemoculturas positivas para o *S.pneumoniae* entre 111 positivas. Foram sorotipados 96% dos isolados (88/92) e os principais sorotipos encontrados foram os 14 (42%), 23F (15%), 6B (13%). Nessa

coorte, 97,7% apresentaram sorotipos incluídos na vacina 7-valente (Alpern et al., 2001).

Entre outubro de 1995 e agosto de 1998, 37.868 crianças foram incluídas em um estudo randomizado, duplo-cego, com a vacina pneumocócica conjugada 7-valente. Abrangeu 21 clínicas da área do Grupo de Estudo Kaiser Permanente, no norte da Califórnia. No grupo da vacina em questão, havia 18.927 crianças, e no grupo controle, que recebeu a vacina meningocócica C, 18.941 crianças, sendo excluídas as crianças com doença de base. As vacinas foram aplicadas aos 2, 4 e 6 meses, com um reforço entre 12 e 15 meses. O objetivo desse estudo foi avaliar as doenças invasivas pneumocócicas pelos sorotipos vacinais, a eficácia contra OMA e pneumonia. A eficácia encontrada foi de 97,4%. De 40 casos de doenças invasivas pelos sorotipos vacinais ocorridos durante o estudo, apenas um foi no grupo da vacina pneumocócica 7-valente. Houve uma redução de 89,1% de doença invasiva pneumocócica independente do sorotipo. A vacina também foi eficaz em prevenir 7% dos episódios de OMA. Para as otites recorrentes, o impacto variou de 9,3 a 22,8%, dependendo da frequência da recorrência, e houve uma diminuição de 20,1% nas colocações de tubo de ventilação (Black et al., 2000; Fireman et al., 2003). Esse estudo foi aberto em abril de 1999, baseado nos seus resultados, e a vacina foi oferecida ao grupo controle.

Com base nesses resultados, a partir do ano 2000, foi licenciada a primeira vacina conjugada pneumocócica, com sete sorotipos incluídos, a vacina Prevenar® (comercializada pela Wyeth Lederle Vaccines).

A vacina pneumocócica conjugada 7-valente foi disponibilizada na Bélgica somente a partir de novembro de 2004. Entre 1988 e 2002, De Shutter et al (2006) avaliaram pneumonias de comunidade, colhendo material de lavado bronco-alveolar, sangue ou líquido pleural. Incluíram 70 crianças entre 0 e 15 anos, sendo excluídas aquelas com doenças de base; a idade média foi de 2 anos e três meses e meio. As crianças menores de 5 anos representavam 78,5% da população em estudo, com 41,4% menores de 2 anos. Foram obtidas 50 amostras de sangue com 43 positivas (86%); realizados 27 lavados bronco-alveolares, 25 positivos (92,5%) e 3 amostras de líquido pleural, os 3 positivos para o pneumococo. O sorogrupo 1 foi o mais frequentemente isolado no sangue (14 isolados a partir do sangue/15 com SG 1) e o sorogrupo 23, no lavado bronco-alveolar (6 em 7 isolados). Os sorogrupos mais prevalentes encontrados foram 1 (21,4%), 6A/B (19,9%), 19F/A (12,9%), 23F/A (10%) e 14 (7,1%). Observaram que o sorogrupo 1 estava presente em vários casos complicados e em crianças maiores de 5 anos, e que o sorogrupo 23 foi o mais prevalente em menores de 2 anos. Estimaram a cobertura teórica pela vacina pneumocócica conjugada 7-valente em 45,7% (65,5% em < 2anos, 42,3% entre 2 e 5 anos e 13,3% em > 5 anos) e pela 9-valente em 72,8% (68,9% em < 2anos, 69,2% entre 2 e 5 anos e 86,6% em > 5 anos).

Na Alemanha, a vacina pneumocócica conjugada 7-valente é recomendada para crianças de risco desde julho de 2001. Em torno de 8% das crianças até 2 anos haviam recebido a vacina até junho de 2003. Avaliando os isolados de *S.pneumoniae* em doenças invasivas

pneumocócicas, em menores de 16 anos, entre julho de 1997 a junho de 2003, encontraram 2678 casos de doença invasiva, sendo 40% meningites. Os sorotipos foram identificados em 1161 amostras (43,3%); a maioria dos casos ocorreu em menores de 1 ano (57,9%) e não houve diferença na distribuição, ao longo dos anos, nas faixas etárias. Observaram um aumento dos casos de doença invasiva não meningite: 8,1 casos/100.000 para 11,3. A vacina conjugada 7-valente cobriria 64,2% dos sorotipos identificados nos menores de 1 ano, e 73% para aqueles identificados entre 2 a 4 anos. O sorotipo 14 foi o mais prevalente e observou-se que a prevalência do 19A veio diminuindo ao longo dos anos do estudo enquanto houve um aumento do 7F (Rückinger et al., 2008).

Em 1993, foi iniciado um programa denominado SIREVA - Sistema Regional de Vacinas, patrocinado pela Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), com o objetivo de implementar um sistema de vigilância na América Latina, monitorando infecções invasivas pelo *S.pneumoniae*, *H.influenzae* e *N.meningitidis* nas crianças menores de 6 anos de idade, a partir das amostras isoladas nos laboratórios de referência participantes. No Brasil, foi instituído em parceria com o Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde (MS/SVS) e hospitais públicos e privados, coordenados tecnicamente pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL) de São Paulo (Carvalhanas et al., 2005).

Estavam incluídos no SIREVA os seguintes países: Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, México e Uruguai. O Brasil contribuiu com o maior número de cepas a partir de 95. Foram analisadas amostras de crianças menores de



6 anos com doença invasiva pneumocócica – meningite, sepse, bacteremia sem foco, artrite, peritonite, ou pneumonia – critério da Organização Mundial de Saúde (OMS). Foi incluído apenas um isolado por criança no período e, no total, foram 4105 amostras de pneumococo. O Brasil foi responsável pelo envio de dados de 1203 amostras (29,3%). Havia 3965 amostras com os dados referentes à idade, sendo 78,7% menores de 2 anos, no Brasil, 83,9% estavam nessa faixa etária. Os isolados, em sua maioria, eram de pneumonias (41,6%) ou meningites (38,8%), e 94,3% das amostras apresentavam os dados clínicos; com referência ao Brasil, a maioria das cepas era relacionada a meningites (60,6% - 729/1203), seguida pelas de pneumonia (31,9%). Em relação à sorotipagem, 99,2% das cepas foram sorotipadas (4071), identificando-se 54 sorotipos, sendo os treze sorotipos mais frequentes responsáveis por 81,4 a 88,6% dependendo do ano. Entre 3507 amostras com identificação do país de origem, observou-se que os sorotipos mais prevalentes foram: o 14 (25,9%), o 6A/6B (12,9%), o 5 (9,6%), o 1 (8,8%) e o 23F (6,3%), sabendo-se que algumas particularidades em cada país determinaram algumas variações nessa distribuição. No Brasil, os principais isolados foram: o 14 (18,2%), o 1 (13,3%), o 5 (11,7%), o 6A/6B (11,5%), o 23F e o 7F (4,6%). Entre 1994 e 98 houve aumento significativo dos sorotipos 14 e 18C, e diminuição significativa do sorotipo 1 (Di Fabio et al., 2001).

Hortal et al (2000) avaliaram as pneumonias nas crianças até 5 anos, no período de 1994 a setembro de 1999, encontrando 3393 episódios de doença invasiva nessa população, à qual somaram 179 casos registrados

em 1993. Desse total, 1578 foram pneumonias (46,5%). No Brasil, 32,5% das amostras eram relacionadas a pneumonias (345/1061), e dessas 345 amostras, o sorotipo predominante foi o 14 (31,9%), seguido dos sorotipos 1 (17,7%), 5 (8,1%), 6A/6B (12,2%), 23F (3,8%), 19F (2,6%), 19A (4,6%), 9V (4,6%), 7/7F (0,3%), 3 (3,2%), 18C (2,6%) e 4 (1,4%). O sorotipo 1, no Brasil e Uruguai, foi o mais associado com derrames pleurais.

No Brasil, entre julho de 1993 e março de 1996, 360 cepas de São Paulo, Recife e Belo Horizonte, sendo a maioria de São Paulo (243), foram avaliadas. Os dez sorotipos mais frequentes em São Paulo, em ordem decrescente, foram: 14, 1, 5, 6B, 6A, 19A, 23F, 19F, 3,4. Das 243 amostras, a maioria estava relacionada a pneumonias (154), depois a meningites (78). Os sorotipos 1 e 14 foram mais associados a pneumonias, enquanto os sorotipos 18C e 19F, a meningites (Brandileone et al., 1997).

Em um estudo retrospectivo, realizado no Distrito Federal, avaliando-se cepas isoladas de LCR, entre 1995 e 2004, os autores analisaram 232 cepas de indivíduos entre 0 e 64 anos; os menores de 5 anos foram o maior grupo, com 60,35% das amostras com a idade reportada (n=211). Foram identificados 36 sorotipos, sendo oito sorotipos os principais: 14 (17,67%), 6B (9,48%), 18C (6,9%), 5 (4,74%), 19F (4,74%), 23F (3,45%), 9V (3,45%) e 6A (3,02%) (Vieira et al., 2007).

Na Bahia, em Salvador, um estudo realizado entre setembro de 1997 e outubro de 1999, observou 3431 pneumonias em 3221 crianças com idade média próxima a 2 anos. Radiografias foram obtidas em 93,2% dos casos, e 96% desses apresentavam alguma alteração (comprometimento alveolar em

51%, intersticial em 24,7% e misto em 20,3%). Amostras de sangue para cultura foram obtidas em 65,5%, e o pneumococo foi encontrado em 0,8% (18/2.246), além de um pneumococo a partir de líquido pleural. O principal sorotipo foi o 14 (Nascimento-Carvalho et al., 2001) .

Ainda dados da Bahia, avaliando pacientes até 20 anos, entre 1997 e 2002, foram incluídos 70 indivíduos que apresentaram doença invasiva pneumocócica. A média da idade foi de aproximadamente 2 anos; os menores de 2 anos representavam 52,9% da população e 81,4% eram menores de 5 anos. A maioria das cepas foi obtida de sangue (91,4%) e os pacientes apresentavam pneumonia (77,1%). Os sorotipos mais frequentes foram 14 (22,9%); 5 e 6A (10% cada); 6B e 19F (8,6% cada); 9V, 18C e 23F (5,7% cada) (Nascimento-Carvalho et al., 2003).

Bedran et al (2005), em Minas Gerais, avaliaram cepas de pneumococo também isoladas de doenças invasivas pneumocócicas, entre 1997 e 2004. Foram obtidos 502 isolados, dos quais 69,5% a partir de líquido, 28,8% de sangue. O dado da idade estava presente em 64,1%, e desses, 28,7% eram menores de 2 anos. O maior número de isolados foi encontrado nos menores de 1 ano, 23,5% (Bedran et al., 2005).

A rede de laboratórios do SIREVA II (incluídos mais países em relação ao primeiro período) processou 17.303 cepas de pneumococo entre 2000 e 2005, sendo 57,6% pertencentes a crianças menores de 6 anos. Nesse grupo etário, o sorotipo 14 foi o mais frequente (29,1%), seguido dos 6B (9,3%), 1 (7,5%), 5 (6,9%), 18C e 19F (5,8% cada), 23F (4,7%), 6A (3,8%), 19A (3,6%), 7F (3,1%), 9V (2,8%), 3 (2%), 4 (1,5%) e outros menos

frequentes. A cobertura potencial da vacina pneumocócica conjugada 7-valente, nos 20 países estudados, seria de 59%, pela 10-valente – 76,5% (51,3 – 84,1%) e pela 13-valente – 85,9% (59 a 94,1%) (Gabastou et al., 2008).

Em 2006, no Brasil, foram notificados 870 isolamentos invasivos do *S.pneumoniae*, sendo 286 (32,9%) em crianças menores de 5 anos. Nessa faixa etária, 19,9% foram pneumonias e 77,6%, meningites e os sorotipos mais frequentes foram: 14 (40,6% - 32 pneumonias, 81 meningites, 2 bacteremias e 1 outra patologia); 6B (11,9% - 6 pneumonias, 28 meningites); 19F (8% - 1 pneumonia, 22 meningites); 23F (4,5% - 2 pneumonias, 9 meningites, 2 bacteremias); 19A (3,8% - 4 pneumonias, 7 meningites); 6A (2,8% - 8 meningites); 4 (2,5% - 1 pneumonia e 6 meningites); 9V (2,4% - 2 pneumonias, 4 meningites, 1 sepse); 18C (2,4% - 7 meningites) e outros (OPAS, 2008).

Em 13 hospitais de São Paulo, entre 1997 e 2001, 520 crianças não vacinadas com a vacina pneumocócica conjugada, entre 3 meses e 5 anos (sendo 225 menores de 2 anos), foram incluídas para coleta de amostras de nasofaringe para pesquisa do pneumococo. Em 35% das amostras foi identificado o *S.pneumoniae*, sendo 60% delas em menores de 2 anos. Em outro grupo, foram incluídas 105 crianças e com a mesma faixa etária, com doença invasiva pneumocócica, nos mesmos hospitais, entre 1996 e 2001. Foram identificados 55 isolados no período de 1996-99 e 50 isolados entre 2000-01. As amostras foram de sangue, líquido, líquido pleural, líquido sinovial e as crianças apresentavam pneumonias (52 crianças), meningites

(34), artrites (4) ou bacteremias (15). A colonização por cepas resistentes aumentou de 14% (1997-98) para 43% (2000-01), todas com resistência intermediária para penicilina. Entre as cepas de doenças invasivas, a resistência passou de 25,4% para 34% nesses dois períodos, sendo que no 2º período foram encontradas 35% de alta resistência (6/14). Foram sorotipadas 162 cepas dentre 181 isolados de nasofaringe e todas as cepas invasivas (105). Os sorotipos mais frequentes em nasofaringe foram: 14, 6B, 23F, 6A, 19F e nas invasivas, o sorotipo 14 foi o mais frequente. Juntos, os sorotipos 14, 1, 5, 23F responderam por 72,5% das cepas. Entre os dois períodos avaliados, observou-se que os sorotipos 1, 5 e 14 eram mais associados às doenças invasivas enquanto os 6A/6B e 11A estavam mais associados à colonização de nasofaringe. Nas pneumonias, os mais frequentes foram os 14, 1 e 6B, enquanto nas meningites foram os 23F, 14 e 5. A cobertura pela vacina 7-valente para as doenças invasivas foi estimada em 64%, pela 10-valente, 89%, e pela 13-valente, 93% (Berezin et al., 2007).

#### **1.4 Epidemiologia da resistência do pneumococo**

Cepas resistentes à penicilina foram reportadas em 1965 em Boston, posteriormente, na Austrália e Nova Guiné, espalhando-se pelo mundo até o final da década de 80. Na América Latina, o México registrou o primeiro episódio de resistência em 1981, no Brasil, em São Paulo em 1988. Os fatores de risco, associados à resistência à penicilina, foram: idade menor de 2 anos, uso de antibiótico (penicilina ou ampicilina) nos últimos 3 meses e o ST 14 (Camargos et al., 2006).

Esse fenômeno tornou-se mais expressivo a partir da década de 90, do século passado. Atualmente, a resistência do pneumococo está presente em todos os continentes, salientando-se que alguns países possuem taxas alarmantes de resistência à penicilina; É um dos principais problemas de saúde pública mundial. Após o surgimento das cepas resistentes à penicilina, seguiu-se a emergência de resistência a outros antibióticos (Hortal et al., 2001).

Com o passar dos anos, veio aumentando novamente a taxa de resistência dos isolados, particularmente à custa do sorotipo 19A. Ele é prevalente no mundo, aumentando sua frequência em todas as faixas etárias, multirresistente e não coberto pela vacina pneumocócica conjugada 7-valente. No entanto, esse aumento vem sendo observado desde antes do uso da vacina conjugada, em áreas com alto uso de antibióticos, deixando um questionamento sobre a possibilidade da vacinação ter ajudado no aumento desse sorotipo (Dagan, 2009).

Em 1997, foi estabelecida a *Pneumococcal Molecular Epidemiology Network* (PMEN, 2009) para acompanhar a resistência ao pneumococo globalmente. Já se identificaram 43 clones internacionais até o momento, 26 confirmados pela rede, e do 27 ao 43 aguardam submissão das cepas. Na América Latina foram detectados os clones: Spain23F-1; Spain6B-2; Spain9V-3; England14-9; Czech Republic14-10; Colombia5-19; Colombia23F-26.

Di Fabio et al (2001) encontraram susceptibilidade reduzida à penicilina em 28,6%. No Brasil, predominando nas crianças abaixo de 2 anos e nas

crianças com até 5 anos (entre 20 e 25%), e esse país apresentou a menor taxa de resistência entre os avaliados, 20,9% das cepas, enquanto a maior taxa foi observada no México, em 46,9% das cepas. Em mais de 90% dos isolados foi realizada sorotipagem, e os sete principais sorotipos encontrados foram os 14, 23F, 6B, 19A, 19F, 6A e 9V. O sorotipo 14 foi associado à resistência entre 17,1% (México) e 90,5% (Uruguai), no Brasil, 49%; o sorotipo 23F, entre 0,8% no Uruguai e 31,2% na Colômbia, no Brasil, 15,5%. Nas pneumonias, entre os que apresentavam resistência à penicilina, o 14 apresentou 64% de resistência, sendo 34% alta resistência, o 6B (11% e 1,3%), o 23F (8,8% e 5%), o 19A (4,3% e 0,2%) e o 9V (2,1% e 1,8%); nas meningites, o 14 apresentou (40,5% e 13%), o 6B (18% e 1,5%), o 23F (19,7% e 6,5%), o 19F (5,9% e 1,2%) e o 19A (4,4%, todos resistência intermediária). Avaliando-se a cobertura por vacinas conjugadas, sabendo-se que os treze sorotipos mais frequentes permaneceram os mesmos ao longo desses anos, pela 7-valente seria de 58%, pela 9-valente (VPC7 + ST 1 e 5):76,2%, e pela 11-valente (VPC9 + 3 e 7F): 80,7%. No Brasil, a cobertura seria de 63,1%, 79,6% e 82,3%, respectivamente. Os principais clones associados à resistência foram Spain23F-1 e Spain9v-14-3 (Di Fabio et al., 2001; Hortal et al., 2001; Hortal et al., 2000).

A resistência às cefalosporinas de 3ª geração era pouco prevalente no Brasil, aumentando a partir de 1998, 0,6% cepas (8/1206), maioria das cepas obtidas de meningites (n=734, 0,3% resistente), mas percentualmente, mais prevalente nos isolados de pneumonias (1,3% resistente – 5/388). No estudo, encontrou-se 45,6% de resistência ao

Bactrim, 11,5% ao cloranfenicol, 6,9% à eritromicina, sem dados reportados do Brasil para esses antibióticos, apenas do primeiro semestre de 1999 – 66,9% resistência ao Bactrim, 6,2% à eritromicina, 0,8% ao cloranfenicol; todas as cepas sensíveis à vancomicina. A resistência a dois ou mais antibióticos mais frequentemente encontrada foi a associação penicilina-Bactrim, 62,7% das cepas disponíveis para avaliação (562/897). A multirresistência foi observada em 7,5% das cepas (216/2899). O sorotipo 23F, geneticamente relacionado ao clone Spain23F-1, mostrou-se multirresistente, foi o principal a contribuir para a resistência diminuída à penicilina e para as altas concentrações inibitórias mínimas (MIC) de penicilina encontradas, sendo as cepas resistentes provenientes, principalmente, dos isolados do México. As principais cepas resistentes eram englobadas pela vacina pneumocócica conjugada 7-valente (Hortal et al., 2001).

Nas diversas unidades federativas brasileiras, as resistências reportadas referentes ao *S.pneumoniae* variavam na faixa de 10-25%. No Distrito Federal, 20% das cepas de líquido avaliadas com resistência intermediária (72,34% das resistentes em menores de 5 anos, 24, 29% das cepas em menores de 5 anos); todas sensíveis à cefotaxima e vancomicina. Os sorotipos identificados foram 14, 6B e 23F, em ordem decrescente (Vieira et al., 2007). Na Bahia, sendo a maioria das cepas isoladas de sangue (91,4%) de pacientes com pneumonia, observou-se 20% de resistência à penicilina (71,4% - sorotipo 14; 14,3% cada 6B e 19F) (Nascimento-Carvalho et al., 2003). Em Minas Gerais, foi evidenciada uma resistência de 11,8%



das cepas. Não foi observada uma tendência de aumento da resistência ao longo dos anos (Bedran et al., 2005). Quando Brandileone et al (1997) avaliaram as 3 cidades – São Paulo, Recife e Belo Horizonte – a resistência foi observada em 20% das amostras, sendo apenas nas amostras de São Paulo, 25%. Encontrou-se mais de 40% de resistência entre os sorotipos 23F, 19A, 14 e 6B (Brandileone et al., 1997).

Analisando-se as amostras brasileiras obtidas entre 1993 e 2004, observou-se que a resistência à penicilina aumentou de 10,2 para 27,9%. Em 1993, 9,1% de resistência intermediária, 1,1% de alta resistência e em 2004, 22% e 5,9%, respectivamente; houve um aumento significativo, a partir de 1999, para as resistências intermediárias e altas. O sudeste e o sul foram responsáveis pelas maiores taxas de resistência. Encontrou-se aumento significativo das cepas presentes na vacina pneumocócica conjugada 7-valente, ao longo dos anos, nas crianças menores de 5 anos (48,6% em 1993 – 69,6% em 2004), principalmente às custas do sorotipo 14. De 2000 a 2004, as cepas de meningites apresentaram maior resistência à cefotaxima (2,6%) que as cepas das outras doenças invasivas (0,7%) (Brandileone et al., 2006).

Na Bélgica, a resistência à penicilina encontrada nos isolados associados a pneumonias, em crianças de 0 a 15 anos, foi de 14,2% de resistência intermediária e 1,4% de alta resistência (De Schutter et al., 2006).

A prevalência de pneumococo resistente à penicilina na Europa, em 2006, variava de 25-50% na Espanha, França, Grécia e Israel; 10-25% em

Portugal, Irlanda, Finlândia e Turquia; 5-10% na Itália; 1-5% na Grã Bretanha, Alemanha, Áustria, Noruega e Suécia (Reinert, 2009).

Até 2008, a sensibilidade do *S.pneumoniae* à penicilina era definida pelos seguintes valores de concentração inibitória mínima: menor ou igual a 0,6mcg/ml (sensível); entre 0,12 e 1mcg/ml (resistência intermediária) e maior ou igual a 2mcg/ml (resistente). A partir de então, os valores de corte se elevaram para os isolados de infecções não-meningites; passaram para menor ou igual a 2mcg/ml, 4mcg/ml e maior ou igual a 8mcg/ml, respectivamente e as cepas de meningites passam a ser classificadas como sensíveis se o MIC for menor ou igual a 0,06mcg/ml ou resistentes, para MICs maiores ou iguais a 0,12mcg/ml (CLSI, 2008).

### **1.5 As vacinas pneumocócicas**

Desde a década de 70, encontrava-se disponível apenas uma formulação de vacina pneumocócica, a vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente (VPP23), baseada nos polissacárides capsulares purificados e incluindo os sorotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F e 33F. O antígeno polissacarídico induz resposta T-independente; dessa forma, não ocorre resposta duradoura, nem resposta anamnésica. Lactentes não respondem bem às vacinas polissacarídicas, pois apresentam fraca resposta aos antígenos T-independentes; elas não protegem as crianças menores de 2 anos, faixa com maior taxa de infecção por esse agente, além de não diminuírem o

estado de portador e não protegerem contra infecção de mucosas (Siegrist, 2009; Stein, 1992). Discute-se, ainda, a eficácia dessa vacina inclusive para adultos. Uma recente meta-análise mostrou que realmente havia pouca evidência de proteção pela VPP a adultos (Huss et al., 2009).

A vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente, na faixa pediátrica, é recomendada para crianças maiores de 2 anos, com doenças de base como asplenia funcional (doença falciforme) ou anatômica, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), imunocomprometidos (por doença ou medicação, incluindo quimioterapia, corticoterapia), doenças crônicas, implante coclear, dentre outras, conferindo, no entanto, limitada proteção a essas crianças (CDC, 2009).

Ao conjugar o polissacáride com uma proteína (no caso da Prevenar®, o CRM197 – variante não tóxica da toxina diftérica), esse antígeno passa a estimular uma resposta T-dependente, presente precocemente na criança. Induz memória imunológica com resposta anamnésica e interfere no estado de carreador (Siegrist, 2009; Stein, 1992). O efeito dessa vacina sobre a colonização de nasofaringe é importante, bem como em relação à resistência dos pneumococos (Dagan, 2009). Os estudos mostram maior imunogenicidade dessa vacina (Black et al., 2000). Os anticorpos produzidos pelas vacinas pneumocócicas são tipo-específicos contra o polissacáride capsular.

Nos EUA, em 2000, iniciou-se a recomendação para a vacinação universal, com a vacina pneumocócica conjugada 7-valente, de todas as crianças menores de 2 anos e, entre 24 e 59m, para aquelas pertencentes a

grupos de alto risco – doença falciforme ou outro tipo de asplenia funcional ou anatômica, infecção pelo HIV, imunodeficiência primária, ou recebendo terapia imunossupressora ou alto risco presumido – doença cardíaca crônica, doença pulmonar crônica (asma em uso de dose alta de corticóide oral), fistula líquórica, insuficiência renal crônica, incluindo a síndrome nefrótica. Também para as crianças com idades entre 24m e 59m com moderado risco para doença invasiva – crianças entre 24 e 35m, entre 36 e 59m que vão a creches, nativas americanas ou afrodescendentes. Algumas, após 60m elegíveis pelo médico, como no caso de OMA recorrente (AAP, 2000; Overturf et al., 2000). Agora em 2009, recomenda-se essa vacina a todas as crianças menores de 5 anos (CDC, 2009).

No Brasil, essa vacina está disponível desde 2001, e faz parte da recomendação do Ministério da Saúde (MS) para crianças de risco, desde 2002, disponível nos Centros de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIES) (MS, 2006).

### **1.6 Era pós vacina pneumocócica conjugada**

A vacina pneumocócica conjugada 7-valente apresentou um impacto significativo nos EUA, no grupo de estudo do Kaiser Permanente, pois a vacina abrangia os sete sorotipos responsáveis pela maioria das doenças invasivas pneumocócicas daquele país.

O mesmo poderia não ocorrer nas demais regiões do mundo, quando apresentassem um perfil diferente daquele encontrado nos EUA. Por isso a

importância de se manter a vigilância das doenças invasivas pneumocócicas e da distribuição regional dos sorotipos, pois além de implicar na conduta terapêutica, como foi dito, é importante para se determinar, em uma localidade, a incorporação de uma vacina no seu esquema de imunização e avaliar o seu impacto.

Avaliando-se estudos publicados sobre distribuição dos sorotipos, evidenciou-se que a vacina pneumocócica conjugada 7-valente contém os sete sorogrupos mais comuns nos EUA, Canadá e Oceania, 6 dos 7 mais comuns na Europa, 5 dos 7 na América Latina e 4 dos 7 mais comuns na África e Ásia. Os sete sorotipos mais comuns em cada região estão representados na vacina pneumocócica conjugada 9-valente, exceto o sorogrupo 15 (7º na África) e o sorogrupo 7 (6º na Ásia) (Hausdorf et al., 2000).

Com a introdução da vacina pneumocócica conjugada 7-valente na rotina de vacinação em massa das crianças norte-americanas e posteriormente na Europa, alguns fatos foram observados em relação à distribuição dos sorotipos vacinais e não-vacinais na colonização de nasofaringe, assim como em relação às doenças invasivas pneumocócicas, efeito rebanho e impacto sobre a resistência bacteriana.

As vacinas conjugadas pneumocócicas têm mostrado redução do carregamento dos sorotipos vacinais em nasofaringe, mas aumento dos não-vacinais em alguns trabalhos, assim como nas otites, além de um aumento da proporção do *H.influenzae* e da *M.catarrhalis* nas OMAs. Observou-se um

aumento da resistência das cepas de *S.pneumoniae* que estão associadas à OMA recorrente ou não responsiva (Leibovitz, 2008).

Comparando-se o período de abril de 2002 a março de 2003 com os 4 anos pré-licenciamento da vacina conjugada 7-valente nos EUA, em um seguimento da vigilância no Kaiser Permanente no norte da Califórnia, observou-se uma redução da cobertura com 4 doses até 2002: de 90 para 74% com o esquema de 3 doses com 1 ano de idade; no entanto, 31% mantinham o esquema completo com 4 doses. Em 2002, ainda se observava redução das doenças invasivas para todos os sorotipos, principalmente em relação aos sorotipos vacinais; não foi obtido nenhum caso invasivo por sorotipo vacinal nos menores de 2 anos. Não houve mudança significativa para os sorotipos não-vacinais na população estudada e observaram redução não significativa nas crianças abaixo de um ano. Em relação ao período basal, foi mantida a redução de doença invasiva entre os adultos jovens (20-39 anos) e os maiores de 60 anos. A resistência encontrada ainda era menor que a observada na segunda metade da década de 90 (Black et al., 2004).

Em um estudo em que se avaliou a frequência dos sorotipos do pneumococo em crianças menores de 2 anos, nativas do Alaska, que historicamente apresentavam alta incidência de doença invasiva, após a introdução da vacina conjugada 7-valente em 2001, observou-se uma diminuição de 67% das doenças invasivas pneumocócicas nessa população. No entanto, entre 2001-2003 e 2004 e 2006, houve um aumento de 82% das doenças invasivas. A partir de 2004, observou-se um aumento de 140% dos

sorotipos não-vacinais, em relação à era pré-vacinal e, nesse mesmo período, uma diminuição de 96% dos sorotipos vacinais. O 19 A contribuiu para 28,3% dos quadros invasivos, não se observando esse efeito nas crianças menores de 2 anos não nativas do Alaska (Singleton et al., 2007).

A partir de dados do *Nationwide Inpatient Sample (NIS)*, nos EUA, que abrange em torno de 1000 hospitais, constituindo uma amostra em torno de 20% dos hospitais da comunidade desse país, observou-se que a hospitalização por meningite pneumocócica diminuiu em 33% após introdução da vacina pneumocócica conjugada 7-valente. A taxa média anual de hospitalização por meningite pneumocócica nos EUA por 100.000 pessoas diminuiu significativamente em 66%, de 7,7 (1994-1999) para 2,6 (2001-2004). Também houve redução significativa, separando-se por faixa etária, entre as crianças de 2 a 4 anos e nos adultos com 65 anos ou mais. Em relação à taxa de mortalidade, essa foi reduzida em 32,7%, o que foi estatisticamente significativo, mas ao se estratificar por faixa etária, a significância estatística foi observada apenas nas crianças menores de 2 anos e discretamente nos adultos com 65 anos ou mais (Tsai et al., 2008).

Entre 1979 e 2004, em um hospital universitário de Cleveland – Ohio, obtiveram 1655 isolados invasivos de pneumococo, a maioria de sangue, seguido de amostras de líquido. Houve uma queda de 61% nos isolamentos após 2000: 84% em crianças menores de 5 anos, percentual significativo e evidenciada redução de 76% dos sorotipos vacinais, sendo 92% nas crianças menores de 5 anos, ambos significativos. Houve aumento significativo do 19A (87%) na população, mas não nas crianças menores de

5 anos, onde esse aumento não foi significativo. A resistência à penicilina aumentou a partir de 1995. Após 2000, diminuiu o número de isolados, mas não a proporção de resistência (Jacobs et al., 2008).

Em um estudo prospectivo, realizado em Barcelona, Espanha, comparando-se a era pré e pós-vacinal com a vacina pneumocócica conjugada 7-valente, onde apresentavam uma cobertura em torno de 50% com essa vacina, observou-se um aumento de 58% das doenças invasivas pneumocócicas nas crianças menores de 2 anos e um aumento de 135% entre as crianças de 2 a 4 anos. Esse aumento foi devido aos sorotipos não-vacinais; 38% na era pré-vacinal e 72% na era pós-vacinal. No entanto, a resistência bacteriana à penicilina diminuiu de 48% para 27% em relação aos dois períodos. Houve um aumento dos sorotipos 1 e 5 (virulência previamente conhecida), aumento da prevalência do 19 A, que apresenta alta resistência, e do 6A (Muñoz-Almagro et al., 2008).

Avaliando-se dois períodos após 3 doses da vacina pneumocócica conjugada 9-valente, entre 9-15 meses e 21-27 meses, em Gâmbia, observou-se redução da prevalência dos sorotipos vacinais em nasofaringe, persistindo pelo menos até 27m, risco relativo (RR) de 0,56 (0,49-0,65) no primeiro período e RR de 0,61 (0,53-0,69) no segundo; e aumento de alguns sorotipos não-vacinais em ambos os períodos, RR 1,59 (1,41-1,79) e RR 1,55 (1,35-1,77), respectivamente. Ressaltaram ainda proteção cruzada para o sorotipo 6A, no período de 21-27m (RR 0,62 – IC 0,49-0,78) e aumento do 19A em ambos os períodos, RR 1,45 (1,1-1,92) e RR 1,72 (1,24-2,39). Entre os sorotipos não-vacinais, excluindo-se os sorotipos que pertenciam aos



mesmos sorogrupos da vacina conjugada, os mais isolados foram os sorotipos 15, 13, 11, 34, 7C, 22, 20, 46, 17, em ordem decrescente no 1º período, e os sorotipos 15, 35B, 21, 10, no 2º período. Não se observou diferença significativa no estado de portador entre os irmãos mais novos das crianças que receberam a vacina ou do grupo controle. Ressaltaram que isso podia sugerir que não haveria proteção de rebanho de crianças menores quando a transmissão ocorre precocemente nesses países mais pobres, diferentemente do que se mostrou em populações de países desenvolvidos (Cheung et al., 2009).

Em um estudo duplo cego, randomizado, placebo-controlado, 500 crianças em Soweto, África do Sul, foram avaliadas em relação à colonização de nasofaringe pelo *S.pneumoniae*. Foram vacinadas com a vacina pneumocócica conjugada 9-valente as 6, 10 e 14 semanas e foram colhidas amostras de sangue e nasofaringe as 6, 10, 14, e 18 semanas, e aos 9 meses. O seguimento foi completado por 96% das crianças, observando-se uma redução significativa dos sorotipos vacinais aos 9 meses na nasofaringe, enquanto houve um aumento significativo dos não-vacinais nos vacinados em relação aos controles. Não foi observada redução da colonização pelo sorotipo 6A (Mbelle et al., 1999).

Nas Reservas Apache e Navajo foi observada situação semelhante. Crianças menores de 2 anos foram randomizadas e controladas em um estudo com a vacina 7-valente, entre abril de 1997 e outubro de 2000. As crianças de um dos grupos foram vacinadas com essa vacina. Foram coletadas amostras de nasofaringe com 7, 12 e 18 meses; foram 5157

coletas no total, obtendo-se 68,4% (3525) das amostras positivas para o pneumococo. Os sorotipos vacinais encontravam-se em número reduzido nos vacinados (OR 0,4 – 0,23/0,67), e observaram uma maior chance de colonização por sorotipos não-vacinais (OR 1,67 – 1,02/2,78) (O'Brien et al., 2007).

Em Israel também foram encontrados resultados semelhantes. Em um estudo duplo-cego e randomizado, entre agosto de 1996 e fevereiro de 1997, avaliou-se a colonização de nasofaringe de crianças entre 12 e 35 meses, frequentando creches, a maioria entre 18 e 35 meses. A vacina 9-valente foi administrada a 132 crianças, enquanto os controles receberam a vacina meningocócica C (130). A taxa de colonização por sorotipos vacinais reduziu naqueles que receberam a vacina pneumocócica, até os 48 meses, enquanto a frequência do sorotipo 6A reduziu nesse grupo até 23 meses. Houve aumento dos sorotipos não-vacinais em relação aos controles; avaliando-se as crianças por faixa etária, houve aumento significativo na faixa de 15 a 23 meses (Dagan et al., 2002).

A recomendação da vacina pneumocócica conjugada 7-valente teve início em 2003, na França, para menores de 2 anos com risco aumentado devido a condições médicas ou de vida), o que incluía 79 a 89% das crianças nessa faixa etária, e, a partir de 2006, estendeu-se a todas as crianças menores de 2 anos. O esquema de 3 doses da 7-valente apresentou uma cobertura estimada em pesquisas de 27% em 2004, 44% em 2006 e 56%, entre 6 e 12m, em 2007. A partir dos dados da rede nacional de laboratórios hospitalares, em 2001-2002, apresentavam 24%

das meningites pneumocócicas (8 casos/100000/ano) e 7% das bacteremias pneumocócicas (21,8 casos/100000/ano) em menores de 2 anos. Em 2006, houve uma redução de 25% na taxa de meningites e 20% na de bacteremias nessa faixa etária. Em paralelo à redução das taxas das infecções pneumocócicas, meningites e bacteremias (redução de 21%) e a redução dos sorotipos vacinais nessas infecções (redução de 71%), houve um aumento da prevalência dos sorotipos não-vacinais relacionados às meningites (aumento de 102%) e bacteremias (aumento de 74%) nessa faixa etária, principalmente pelos 19A e 7F (ambos, responsáveis por 37% dos casos). Não foi observada redução das taxas nas demais faixas etárias (Lepoutre et al., 2008).

Na Inglaterra, em 2000-2001, Lakshman et al (2003) avaliaram 2 grupos de crianças em relação à colonização de nasofaringe pelo pneumococo em dois momentos – verão e inverno. No primeiro grupo (V), crianças saudáveis que haviam recebido 3 doses da vacina pneumocócica conjugada quando lactentes e doses de reforço da vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente com 13m, e no segundo grupo (C), crianças sem vacinação pneumocócica. A idade média no primeiro grupo foi de 33m e 40,3m no verão e inverno, respectivamente, e no segundo grupo, 36,4m e 39,9m. A colonização de pneumococo no verão foi de 24,7% nos vacinados e 27% nos controles. Os sorotipos vacinais apresentavam taxas semelhantes nos dois grupos (10% V, 13,5% C). No inverno aumentou a colonização nos dois grupos (43,4% V, 41% C) da mesma forma, os sorotipos vacinais eram semelhantes nos dois grupos (30% V, 31,5% C). A vacinação com a 7-

valente não interferiu na taxa de colonização de nasofaringe nem na flutuação sazonal em crianças pré-escolares, provavelmente porque as crianças estavam em meio à maioria da população não vacinada, segundo os autores. Não foi observado aumento de sorotipos não-vacinais (Lakshman et al., 2003).

Na América Latina e Caribe, estimativas da carga da doença pneumocócica são necessárias para avaliar o uso da vacina conjugada nas regiões. Vários países dessa região estão planejando a introdução da vacina num futuro próximo; alguns já possuem a vacina conjugada no setor privado ou para determinados grupos no setor público. A partir do cálculo para se fazer as estimativas, encontrou-se para a doença pneumocócica: 12% (n=1.3 milhões) de todas OMA, 40% (n=270.000) de todas as pneumonias confirmadas radiologicamente e 6% (59.000) para as pneumonias sem evidência radiológica. A partir da eficácia vacinal esperada, distribuição dos sorotipos e cobertura vacinal, estimou-se que aproximadamente 54% dos episódios de doença pneumocócica e 53% das mortes por doença pneumocócica em crianças menores de 5 anos poderiam ser evitados com a introdução da vacina pneumocócica conjugada 7-valente. Analisando-se a região a partir dos trabalhos com a distribuição dos sorotipos encontrados nas crianças com menos de 6 anos, 62% das doenças pneumocócicas invasivas, 61% das meningites pneumocócicas e 58% das pneumonias pneumocócicas foram causadas por sorotipos incluídos na 7-valente, incluindo reação cruzada de sorotipo. A vigilância ativa é necessária para se determinar com melhor precisão a taxa de doenças pneumocócicas e seu

aumento ao longo dos anos, além de se monitorar a introdução da vacina pneumocócica e o seu impacto na modificação do perfil dessas taxas, na distribuição dos sorotipos, no padrão de resistência e na presença do efeito rebanho (Valenzuela et al., 2009). Assim como deveria ser feito em todas as localidades com a finalidade de se conhecer melhor o comportamento desse agente e haver melhor controle da situação de morbi-mortalidade.

### **1.7 Resposta sorológica à vacina pneumocócica**

A determinação do que se constitui uma adequada resposta humoral à imunização com um polissacarídeo pneumocócico é ainda controversa. No entanto, o conceito de nível de anticorpo protetor é também um tópico a ser considerado.

Geralmente, observam-se na literatura diversos critérios para se considerar um indivíduo respondedor à vacina e/ou sorotipo.

A OMS, após os consultores, em Geneve, 2003, avaliarem os dados de estudos sobre os nativos norte-americanos e os sul-africanos, recomenda, atualmente, que se utilize o nível de 0,35 microgramas por mililitro (mcg/ml) para avaliar a concentração de anticorpos IgG de todos os sorotipos pneumocócicos pelo método de Elisa. Esse valor de referência foi definido com base em dados obtidos por esse teste sem a adsorção do 22F. Observou-se que os dados comparativos com os testes de opsonofagocitose mostravam que concentrações de anticorpos na faixa de 0,2-0,35mcg/ml se correlacionavam melhor com o título de anticorpos opsonofagocíticos de 1:8, que por sua vez se correlacionam melhor com proteção e eficácia. Esse

valor deve ser utilizado para se avaliar uma vacina em relação à doença pneumocócica invasiva (WHO-TRS, 2005). A inibição do 22F aumentaria a especificidade do teste, removendo os anticorpos não sorotipo-específicos e não opsonizantes, melhorando a correlação entre a concentração de anticorpos IgG medidos pelo Elisa e os títulos dos ensaios opsonofagocíticos. Todos os pneumococos expressam o polissacáride C, e o sorotipo 22F é um dos sorotipos que apresenta antígenos comuns com os demais e de menor importância (Conception e Frasch, 2001; Henckaerts et al., 2007).

Siber et al (2007) demonstraram que a adsorção com o 22F, na realidade, aumentaria muito pouco a especificidade do ensaio. Reduziria o nível considerado de 0,35mcg/ml para 0,32mcg/ml. Reforçando, dessa forma, a indicação do valor de 0,35mcg/ml proposto pela OMS.

Quando compararam o título pós em relação ao pré-vacinal, Hedlund et al (2000)<sup>1</sup> observaram que ao avaliarem a vacina pneumocócica polissacarídica para a prevenção de pneumonias recorrentes, considerando-se cinco sorotipos, encontraram um risco reduzido de recorrência naqueles que apresentaram um aumento de título de pelo menos 4 vezes (Örtqvist, 2001).

Até a década de 90, era frequente os estudos utilizarem o método de Radioimunoensaio (RIA) para avaliar a resposta sorológica para os

---

<sup>1</sup> Hedlund J, Örtqvist A, Konradssen HB, Kalin M. Recurrence of pneumonia in relation to the antibody response after pneumococcal vaccination in middle-aged and elderly adults. Scand J Infect Dis. 2000;32:281-6.

polissacárides pneumocócicos, considerando-se títulos protetores aqueles entre 200-300 nanogramas de anticorpo de nitrogênio por mililitro (ngAbN/mL), pois pareciam se correlacionar bem com proteção de infecções e colonização. Esse valor, para se converter para a unidade utilizada nos testes de Elisa, deve-se multiplicar por 6,25 e dividir por 1000 (Silk et al., 1998; Landesman et al., 1983; Sorensen et al., 1996). O título de 200 ngAbN/mL, dessa forma, corresponde a 1,3mcg/mL pelo teste de Elisa.

Paris et al (2007) sugeriram a interpretação das respostas a vacinas de polissacárides por 3 componentes: 1 – aumento dos títulos dos anticorpos específicos em 4 vezes ou mais, lembrando-se que pacientes com títulos mais elevados pré-imunização podem não alcançar esse aumento; 2 – concentração final de anticorpos, maior ou igual a 1,3mcg/ml, mesmo que não aumente 4 vezes; 3 – porcentagem de ST na vacina a que o indivíduo responde, crianças de 2 a 5 anos – normalmente espera-se que respondam a pelo menos 50% dos sorotipos testados. Pacientes com 6 anos ou + , espera-se que respondam a 70% dos ST testados. Embora estes critérios necessitem de validação em meio a uma população imunodeficiente, eles foram validados como tendo 73% e 57% de sensibilidade e especificidade, respectivamente, em uma população de crianças infectadas pelo HIV. Outros fatores que influenciariam na interpretação: 1 – vacinação pneumocócica prévia; 2 – recebimento de imunoglobulina endovenosa até 6 meses antes; 3 – presença de imunocomprometimento.

## 1.8 Fibrose cística

A Fibrose Cística (FC) é uma doença genética autossômica recessiva, que acomete principalmente a população caucasiana. Seu diagnóstico é sugerido pelas características clínicas de doença pulmonar obstrutiva crônica, colonização pulmonar persistente, íleo meconial, insuficiência pancreática. A confirmação diagnóstica inclui a análise do suor, com evidência de elevados níveis de cloro, e mutações específicas observadas na análise genética (Reis e Damaceno, 1998).

A apresentação pulmonar é caracterizada pelo acúmulo de secreção espessa e purulenta, infecções respiratórias recorrentes, perda progressiva da função pulmonar e clearance mucociliar diminuído. O acometimento pulmonar, progressivo e de intensidade variável, ocorre em mais de 95% dos pacientes, e é ele que determina o prognóstico do paciente (Reis e Damaceno, 1998).

A introdução de melhores técnicas diagnósticas e refinamento nas estratégias terapêuticas têm aumentado a idade média de sobrevida para além dos 30 anos. Na década de 70, a idade média de sobrevida era de 16 anos, e a população adulta era em torno de 10% (Yankaskas et al., 2004).

Pelos dados do *Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry Annual Data Report*, em 2007, a mediana da idade era de 6 meses durante o diagnóstico, a expectativa de vida era de 37,4 anos e tinha uma prevalência de 45% de indivíduos com 18 anos ou mais. Já em um trabalho num centro de referência brasileiro, avaliando-se 104 pacientes com fibrose cística, a idade média do diagnóstico encontrava-se em 2 anos e 4 meses, e a de



óbito em 7 anos e 8 meses, com 18 mortes num período de 10 anos (Alvarez et al., 2004).

Sabe-se que os principais agentes colonizadores e responsáveis pelos episódios de reagudização pulmonar são a *Pseudomonas aeruginosa* e o *Staphylococcus aureus*. Nos pacientes com fibrose cística, a prevalência de *Streptococcus pneumoniae* pode ser subestimada e não há dados na literatura indicando maior risco de doença invasiva pneumocócica nesses pacientes (Malfroot et al., 2005).

Há um estudo, realizado no Brasil, que coloca o *S.pneumoniae* como o quarto agente mais isolado nesses pacientes, ao lado dos *H.influenza*, *K.pneumoniae*, *E.coli*, *S.maltophilia* e da associação *S.aureus* com *Klebsiela*, com taxa de isolamento de 1,5% cada. No entanto, essa população era peculiar; diferentemente do que é descrito, a população era composta predominantemente de indivíduos mulatos (62%) (Santana et al., 2003).

Doern et al (1992) classificam o pneumococo em 12º em frequência de isolamento; foram 3 amostras isoladas de 258 analisadas, utilizando-se nove diferentes meios de cultura, enquanto o *Cystic Fibrosis Foundation*, em seus relatórios anuais, nem inclui o pneumococo em seus dados (Doern e Brogden-Torres, 1992; Cystic Fibrosis Foundation, 2008).

As evidências do pneumococo nesses pacientes têm sido baseadas em análise de escarro e/ou análise sorológica. No entanto, pacientes fibrose císticos poderiam apresentar uma resposta anticórpica atenuada. Uma causa seria a utilização de antibióticos, profilática ou terapêuticamente, com

cobertura para o pneumococo. Isso poderia erradicar esse agente antes que se estabelecesse uma resposta humoral adequada, como num trabalho da década de 70; trabalho em que foram avaliados o soro e o escarro de pacientes com FC. Os resultados mostraram poucas evidências de pneumococo, sendo justificados pela larga utilização de drogas antiestafilocócicas desde o diagnóstico desses indivíduos. (May et al., 1972; Lahiri e Waltz, 2001). Outro motivo seria a presença de secreção anormal nas vias aéreas e o supercrescimento de outras bactérias sobre o epitélio, o que poderia dificultar o reconhecimento do *S.pneumoniae* e de uma montagem de resposta anticórpica adequada (Lahiri e Waltz, 2001). Além disso, o pneumococo seria de difícil isolamento no escarro altamente infectado com outros agentes (Wong et al., 1984; Malfroot et al., 2005).

Com essas suposições de que os pacientes com FC apresentariam níveis baixos de anticorpos antes de vacinação pneumocócica e sob risco de infecção pneumocócica, Lahiri e Waltz (2001), na década de 90, avaliaram a presença de anticorpos protetores para 6 sorotipos pneumocócicos, por ELISA (considerando-se o nível protetor de 0,20mcg/mL), em pacientes entre 1 e 39 anos, com idade média de 13,2 anos, sendo 14 pacientes menores de 5 anos. Foi observado que a maioria desses pacientes já apresentava anticorpos protetores pré-vacinação. Entre 17 e 39%, dependendo do sorotipo, não apresentavam níveis adequados. Mesmo que potencialmente pudesse desencadear uma resposta inflamatória mais importante, principalmente naqueles cronicamente colonizados, com risco de lesão pulmonar adicional, corroboram a indicação de vacina pneumocócica

para os pacientes com fibrose cística, mesmo porque não tinham em sua casuística um número expressivo de crianças.

Garside et al (2007), avaliando 137 pacientes, com idade média de 8 anos, observaram que a maioria não apresentava níveis protetores inicialmente (nível protetor considerado de 30 mcg/mL).

Avaliando-se todos os *S.pneumoniae* isolados nos pacientes fibrose císticos entre 1995 e 2003, em Madri, Espanha, Del Campo et al (2005) estudaram 48 isolados de 26 pacientes, com taxa média de 5,5% isolados ao ano, todos menores de 12 anos, com idade média de 5,3 anos. Os isolados associados a exacerbações clínicas foram 35% (7 episódios), sendo que só 27% não estavam acompanhados de outros agentes típicos de fibrose cística. Os principais sorotipos isolados foram: 23F (33,3%), 19F (18,8%), 6A (6,2%) e 6B (6,2%); eles apresentavam uma alta taxa de resistência aos antibióticos: penicilina (73%), bactrim (67%), tetraciclina (58%), eritromicina (42%) e cefotaxima (33%) e mais de 60% eram resistentes a 3 ou mais antibióticos.

Observa-se que o papel patogênico do pneumococo na fibrose cística ainda é controverso. Sendo uma bactéria com larga expressão mundial, com elevadas taxas de morbidade e mortalidade, a vacinação seria uma forma de abordagem profilática importante para os pacientes fibrose císticos, já que apresentam diferentes graus de comprometimento pulmonar.

Pouca atenção tem sido dada à contribuição da vacina no manejo atual dos pacientes com fibrose cística, que pode limitar o impacto dessas bactérias nesses pacientes e ainda não foram sistematicamente estudados

para se determinar se eles apresentam uma boa resposta às vacinas e sobre a possibilidade de falha vacinal (Malfroot et al., 2005).

A vacina pneumocócica conjugada 7-valente tem sido indicada, pela Academia Americana de Pediatria (AAP), na rotina de vacinação de crianças menores de 2 anos, assim como tem sido indicada em alguns países europeus. E para certos grupos, que inclui aqueles com fibrose cística, entre 24 e 59 meses. A partir dos 2 anos, a vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente é recomendada pela AAP.

Semelhante ação ocorre no Brasil. A vacinação pneumocócica é recomendada para todos com fibrose cística (MS, 2009).

Pouco é sabido sobre a resposta desses pacientes frente à vacinação pneumocócica. Aqui, foi proposto avaliar a resposta da VPC7 em crianças com FC, visto que não há dados na literatura brasileira sobre o assunto e pouco é sabido sobre a vacinação pneumocócica nesse grupo em particular; espera-se que respondam adequadamente à vacina pneumocócica conjugada.

## **1.9 Asma**

A asma é uma doença comum em todo o mundo e vem aumentando sua importância globalmente (Thornburn et al., 2009), com aumento da sua prevalência nas crianças, além de impor um fardo social substancial tanto para crianças como para adultos (GINA/NIH, 2008).

Apesar de ser conhecido o risco de DIP em pessoas com doenças pulmonares crônicas outras, como enfisema e bronquite crônica (DPOC), o

risco entre os asmáticos não é completamente sabido. Os guidelines até 2008 para vacinação pneumocócica excluíam os pacientes asmáticos, por si só, do grupo de indicação de vacinação pneumocócica (Talbot et al., 2005, CDC, 2000; MS, 2006).

Os mecanismos subjacentes à asma envolvem inflamação crônica da via aérea, imuno-mediada, com evidência de modulação genética e ambiental da resposta asmática. Os fatores genéticos conferem susceptibilidade e interagem com as exposições ambientais para permitir a expressão da doença. É associada à hiperresponsividade da via aérea, limitação ao fluxo aéreo por broncoconstrição, edema da parede da via aérea, produção crônica de muco e remodelamento (GINA/NIH, 2002; Thornburn et al., 2009).

Os ataques de asma são problemas frequentes ao longo do seguimento desses indivíduos. O papel das bactérias nas exacerbações dessas crises não está ainda estabelecido (Kraft, 2000).

Ainda é controverso se as crianças asmáticas estão sob risco aumentado de doença invasiva pneumocócica apenas pelo fato de serem asmáticos, ou se esse risco seria igual ao da população geral, exceto se possuírem alguma imunodepressão concomitantemente, o que por si só os coloca no grupo de risco, com indicação à vacinação pneumocócica. No entanto, deve-se ter em mente que pneumonias são doenças potencialmente sérias para os indivíduos que têm asma.

Sheikh et al (2002) realizaram uma revisão para a *Cochrane Database of Systematic Reviews* sobre a vacina pneumocócica para a asma, sendo

revista em 2008 sem novas modificações. Pesquisaram estudos controlados, randomizados de vacina pneumocócica em asma e encontraram apenas um estudo com um desenho mais adequado aos critérios estabelecidos. Concluíram que devido à falta de informação, não se deve interpretar a vacinação pneumocócica como ineficaz nos pacientes com asma. Há necessidade de se rever todas as evidências sobre a eficácia da vacina pneumocócica em asmáticos, para que a informação adequada seja levada àqueles que determinam as políticas de estratégias de vacinação.

Na década de 70, na Austrália, avaliando-se o perfil bacteriano nas doenças brônquicas, por detecção de precipitinas por método de dupla-difusão em ágar-gel e imunoeletroforese, foi observado que nos pacientes com quadros de bronquite crônica houve predominância do *H.influenzae*, seguido do *S.pneumoniae*, o que foi estatisticamente significativo em relação aos controles. Por outro lado, nos pacientes asmáticos sem componente obstrutivo, não foi observada diferença estatística para os agentes bacterianos pesquisados. No entanto, quando apresentavam tosse crônica e secreção, exibiam precipitinas com uma frequência intermediária entre os controles e o grupo de bronquite crônica. Os autores, então, inferiram que, quando apresentam infecções de repetição, apresentando graus de padrão obstrutivo, os pacientes asmáticos são infectados pelos mesmos agentes observados (Burns, 1972).

Em um trabalho francês, no final da década de 80, os autores tiveram como objetivo a identificação dos agentes infecciosos responsáveis pelas descompensações de pacientes com DPOC ou ataques de asma. Em

relação aos pacientes asmáticos, isolaram 4 agentes em 13 episódios, a maioria viral; em apenas um caso foi identificado um *M.pneumoniae*. Nos pacientes com DPOC, os principais agentes bacterianos identificados foram o *H.influenzae*, o *S.pneumoniae* e a *P.aeruginosa*, 3 casos cada, de 13 isolamentos bacterianos, dos 35 episódios de descompensação. No entanto, também isolaram 14 episódios com etiologia viral, sendo o vírus da gripe o principal (Philit et al., 1992).

Talbot et al (2005) avaliaram uma população do Tennessee abrangida pelo *Medicaid*, incluindo indivíduos entre 2 e 49 anos, no período de 1995 a 2002. Avaliaram os dados do *Active Core Surveillance (ABC)* do Centro de Controle de Doenças e Prevenção (CDC) e encontraram 4581 episódios de doença pneumocócica invasiva, sendo 1697 (37%) entre 2 e 49 anos; desses, 635 (37,5%) estavam há pelo menos um ano no *TennCare*. Incluíram 10 controles dessa população para cada caso de doença invasiva pneumocócica e avaliaram a presença de asmáticos nos dois grupos. A idade média entre os casos de doença invasiva foi de 28,5 anos. Asma foi diagnosticada em 114 casos (18%) e 516 controles (8,1%) e evidenciou-se que asma estava significativamente associada com o risco de doença invasiva pelo pneumococo (OR 2,4 – 1.9/3,1). Esses achados eram consistentes com a análise estratificada de acordo com a gravidade da asma, com a presença ou não de condição de alto risco para doença invasiva pneumocócica e com a idade. A sorotipagem foi realizada em 313 de 415 isolados de asmáticos com doença invasiva; 178 episódios (56,9%)

eram abrangidos pela vacina conjugada 7-valente e mais 91 cepas (29,1%) presentes apenas na vacina polissacarídica 23-valente.

Lee et al (2007) realizaram um trabalho retrospectivo, entre 1997-98 e 2002, em veteranos americanos com DPOC ou asma, obtendo grupos de controle independentes para cada uma das patologias, avaliando o desfecho de pneumonias, considerando a situação vacinal e avaliando o período pré e pós-vacinal. De acordo com a presença de vacinação, seguiram para análise 16074 (16,8%) indivíduos com DPOC; 14028 (14,7%) de controles de DPOC; 2746 (22,7%) asmáticos e 1345 (11,1%) de controles de asma, sendo a idade média dos indivíduos asmáticos era inferior a daqueles com DPOC. Demonstraram que os pacientes com DPOC apresentavam um RR ajustado de 8,02 (4,44-14,48) no período pré-vacinal e de 3,87 (2,55-5,88) no pós-vacinal em relação à hospitalização por pneumonia, em comparação com os controles. Em relação aos pacientes asmáticos e seus controles, houve redução da taxa de internação entre os 2 períodos, mas não houve diferença significativa em relação aos controles, nem pré, nem pós-vacinal.

Bisgaard et al (2007) mostraram a associação da colonização da hipofaringe de neonatos por *S.pneumoniae*, *M.catarrhalis*, *H.influenzae* ou uma combinação deles e o desenvolvimento de asma em crianças com 5 anos, filhos de mães asmáticas, e progressão para fenótipos intermediários de asma.

Em outro estudo recente, caso-controle, em indivíduos de Rochester, Minnesota, avaliando-se pacientes com doença pneumocócica grave, doença pneumocócica invasiva com pneumonia pneumocócica ou apenas



pneumonia pneumocócica, foi pesquisado se eles apresentavam asma; somente 21 indivíduos (12%) eram menores de 18 anos. Asma foi identificada em 11 casos (6,3%) e em 13 controles (3,7%). A doença pneumocócica grave foi associada com história de asma nos adultos, sugerindo que seja um fator de risco para essas infecções; quando o OR foi ajustado para tabagismo, a significância estatística foi mantida. Concluíram que os adultos com asma deviam estar sob risco aumentado de doença invasiva, pneumonia pneumocócica ou ambas, e a inclusão de asma como indicação de vacinação pneumocócica deveria ser considerada (Juhn et al., 2008).

Outra questão, além da abordagem da relação de asma com doença invasiva pneumocócica, é a avaliação desses pacientes asmáticos quanto à obtenção de uma adequada resposta frente à vacinação pneumocócica.

Avaliando-se 21 crianças saudáveis, 26 esplenectomizadas, 48 com síndrome nefrótica e 24 crianças asmáticas, observou-se a resposta para seis sorotipos (6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F), por Elisa, após receberem uma dose da vacina polissacarídica 23-valente. As crianças asmáticas estavam em corticoterapia, não sendo especificados quais esquemas, e apresentavam concentrações geométricas médias dos anticorpos pré-vacinais, para todos os sorotipos, menores que as dos controles, o que foi estatisticamente significativo para os sorotipos 9V, 18C, 19F, enquanto os valores pós-vacinais foram significativamente menores para os 9V, 14 e 18C. Não houve diferença, no entanto, para o percentual de crianças com um aumento de pelo menos 2 vezes o título, em relação às crianças

saudáveis. Foi observada uma relação inversa entre as concentrações pré-vacinais e as razões dos títulos, para todos os sorotipos, exceto o 6B (Lee et al., 1995).

Em um estudo retrospectivo, entre 2002 e 2004, abordando crianças asmáticas, entre 2 e 5 anos, foram identificados 61 asmáticos com maior propensão a infecções e estes foram imunizados contra o pneumococo segundo as recomendações vigentes no país à época da inclusão, com realização de sorologia após quatro semanas, pelo método de Elisa, para os sorotipos da vacina 7-valente, com nível de corte de 0,35mcg/ml. As primeiras 38 receberam a vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente, as demais, a conjugada 7-valente, pois, após 2004, essa vacina foi licenciada no país para as crianças até 5 anos. Aproximadamente 23% (14/61) apresentavam dosagem reduzida de imunoglobulinas ou subclasse de IgG, mas não apresentavam níveis de anticorpos específicos menores do que as demais. O grupo que recebeu a vacina 7-valente mostrou aumento dos níveis de anticorpos semelhantes aos do grupo da 23-valente; para os sorotipos 14 e 23F, o aumento foi significativo naqueles com a vacina conjugada (Rose et al., 2006).

Avaliando-se, novamente, crianças asmáticas de 2 a 5 anos, em um esquema de vacinação pneumocócica sequencial, com 2 e 10m de intervalo da primeira dose da vacina pneumocócica conjugada 7-valente para a aplicação da vacina polissacarídica, foi observado que elas apresentavam anticorpos em nível protetor entre 20% (ST 4) e 80% (ST 14) no primeiro grupo e 16% (ST 4) e 84% (ST 14) no segundo.(Rose et al., 2009).

Os pacientes asmáticos, até o momento, não estão incluídos nos grupos de risco para doença invasiva pneumocócica do calendário de vacinação pneumocócica no Brasil, a menos que façam uso de corticóide em dose imunossupressora, sendo disponibilizada nos CRIEs (MS, 2006).

O CDC passou a recomendar a vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente para todos os adultos asmáticos (CDC, 2009). Para as crianças, o critério segue inalterado, sendo indicada a vacinação pneumocócica para aqueles asmáticos em uso de corticóide oral. Abaixo de 5 anos, a vacinação pneumocócica é universal.

Há poucos estudos avaliando-se a corticoterapia na resposta sorológica. De Roux et al (2006) estudaram a resposta de idosos com DPOC à vacina contra o influenza e não encontraram diferença significativa na resposta entre os grupos controle, com uso de corticóide inalatório e com corticoterapia sistêmica. Masten et al (2003) avaliaram a resposta imune à hepatite B e observaram que as crianças asmáticas com corticoterapia inalatória respondiam tão bem quanto os controles com indivíduos não asmáticos.

Existem poucos estudos sobre a resposta das crianças asmáticas para a vacina pneumocócica 7-valente, e a maioria não identifica o tratamento a que as crianças estão submetidas. Aqui foi proposto avaliar a resposta dessa vacina também nessa população, sem uso de corticóide oral, observando se ela apresenta uma boa resposta sorológica e pressupondo uma resposta adequada à vacina pneumocócica conjugada 7-valente.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo principal**

Determinar as concentrações de anticorpos IgG específicos contra os sorotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F e 23F do pneumococo, antes e após a administração da vacina pneumocócica conjugada 7-valente em crianças com asma moderada em uso de corticóide inalatório e em crianças com fibrose cística, observando a resposta a cada sorotipo e à vacina em questão, nos dois grupos, considerando-se os níveis de 0,35mcg/ml, 1,3mcg/ml e o aumento de 4 vezes da concentração pós-vacinal em relação a pré-vacinal.

### **2.2 Objetivos secundários**

Observar se há diferença nessas respostas entre as crianças que receberam a vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente previamente e as que não receberam, em cada grupo estudado.

Descrever a tolerabilidade da vacina nesses dois grupos de crianças.

### **3. CASUÍSTICA E MÉTODOS**

#### **3.1 O estudo**

Foi realizado um estudo descritivo, prospectivo, ambientado no ambulatório de Pneumologia Pediátrica do Instituto da Criança (ICR) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), entre Agosto de 2003 e Dezembro de 2004.

Esse estudo, juntamente com seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo A), foi aprovado pelo Comitê de Ética da Instituição, a Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do HCFMUSP.

Os critérios de inclusão foram: 1 – faixa etária entre 1 e 9 anos, portadoras exclusivamente de uma das seguintes condições: Asma moderada ou grave, em terapêutica com corticóide inalatório, ou Fibrose Cística; 2 – pais ou responsáveis com boa vontade e capacidade de seguir com o protocolo; 3 – consentimento informado e assinado pelos pais ou responsáveis.

Os critérios de exclusão foram: 1 – hipersensibilidade a qualquer componente da vacina, incluindo o toxóide diftérico, pois é uma contraindicação para o uso da vacina; 2 – crianças com trombocitopenia (plaquetas < 50.000/mm<sup>3</sup>) ou qualquer distúrbio de coagulação que contraindicasse injeção intramuscular; 3 – história pregressa de convulsão nos últimos 12 meses; 4 – pacientes com asma em uso de corticóide

sistêmico ou com sua suspensão há menos de 3 meses; 5 – pacientes com fibrose cística grave, com VF1 menor que 30%.

Os dados sobre o diagnóstico de asma moderada ou grave e as medicações em uso pelo paciente foram obtidas do prontuário do paciente. Os critérios diagnósticos e a classificação da asma foram baseados no guideline do *Global Initiative for Asthma* (GINA, 2002).

O diagnóstico de FC, assim como sua classificação e medicações em uso também foram obtidos do prontuário do paciente. Para o diagnóstico e classificação segue-se o consenso publicado por Rosenstein (1998).

Foram incluídas 40 crianças entre 1 e 9 anos de idade, sendo 20 pacientes portadores de asma, todos com quadro persistente e moderado, em uso de corticóide inalatório, e 20 pacientes portadores de FC.

### **3.2 Vacina**

A vacina utilizada foi a Vacina Pneumocócica Conjugada 7-Valente – Proteína Diftérica CRM197, conhecida como Prevenar® (Wyeth Indústria Farmacêutica Ltda).

A seringa vem preenchida com dose única de 0,5mL. Cada 0,5mL contém 2mcg de cada sorotipo 4, 9V, 14, 18C, 19F e 23F, 4mcg de sorotipo 6B, aproximadamente 20mcg de proteína CRM197, e 0,5mg de fosfato de alumínio como adjuvante. Como excipientes: cloreto de sódio e água para injeção. Não contém conservante.

As vacinas foram conservadas sob as especificações do fabricante.

### 3.3 Procedimentos do estudo

Na consulta de rotina da criança que preenchia os critérios de inclusão e exclusão, acompanhada de seu representante legal, o estudo foi apresentado e explicado. O TCLE foi lido e assinado pelo responsável depois de retiradas as dúvidas, se presentes.

Foi obtida a história clínica do paciente e realizado exame físico completo, com mensuração da estatura e peso, identificando seus percentis. Também foram avaliados os dados de idade à inclusão, sexo, raça e presença de vacinação prévia com a vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente.

Os responsáveis pela criança receberam uma tabela para a anotação de possíveis eventos adversos (Anexo B), classificando-os quanto à intensidade em 1 – leve, 2 – moderado e 3 – grave, no período de 14 dias após cada aplicação da vacina. Além disso, receberam um termômetro digital para a aferição da temperatura no período citado, pelo menos uma vez ao dia, e uma régua milimetrada para medição do halo de hiperemia em torno do ponto de aplicação, caso aparecesse. Para cada evento relatado na tabela ou reportado em consulta médica, foi avaliado o desfecho e a relação com a vacina.

Após a consulta médica, encaminhou-se a criança com seu responsável à sala de vacina do ambulatório. Em um primeiro momento, foi colhida uma amostra de sangue para a realização de sorologia pré-vacinação. Em seguida, foi aplicada uma dose da vacina pneumocócica

conjugada 7-valente. As doses de 0,5ml do produto foram administradas por via intramuscular, no deltóide ou vasto lateral do quadríceps.

Programou-se um retorno após dois meses para a aplicação da segunda dose da vacina. E então, novo retorno após um a dois meses para a coleta da segunda amostra sanguínea para a sorologia pós-vacinal.

### **3.4 Amostras sanguíneas**

O sangue coletado foi centrifugado, e o soro foi separado em alíquotas em frascos de Eppendorf, identificados e mantidos a - 20°C até a análise, no laboratório do ICR.

Os soros pareados foram encaminhados ao Laboratório de Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da USP (ICB4-USP), onde foram quantificados os anticorpos IgG específicos contra os sorotipos presentes na vacina: 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F e 23F, por ensaio imunoenzimático (ELISA).

Nessa técnica, descrita por Koskela (1987), realiza-se a adsorção com o polissacáride C (PS-C) da cápsula do pneumococo; não foi realizada adsorção com o polissacáride 22F.

A análise das amostras de soro pré e pós-vacinal da mesma criança foi realizada no mesmo ensaio, a fim de se evitar a variabilidade entre os ensaios.

### **3.5 Técnica de ELISA**

Os antígenos polissacárides capsulares, inicialmente numa concentração de 10mg/ml, são diluídos em PBS até a concentração de



trabalho estipulada para cada polissacarídeo. São adsorvidos em placas, com o auxílio de pipeta multicanal são distribuídos nos pocinhos das placas de poliestireno.

As placas cobertas permaneceram incubadas a 37°C por 5h e, a seguir, sofreram 4 lavagens com auxílio de lavadoras de placas. As amostras de soro-teste padrão, controles e as amostras do paciente foram adsorvidas com o PS-C.

As amostras diluídas a 1:10 com PBS foram agitadas e incubadas com 2,5mL de PS-C em temperatura ambiente por 30 minutos e, após as diluições finais, permaneceram a 4°C até o dia seguinte.

As amostras, sempre em duplicatas, foram depositadas nas placas, em diluições seriadas, a partir de uma diluição inicial 1:50 para as amostras pré-vacinação e 1:100 para as pós-vacinação.

As placas permaneceram em incubação por cerca de 2 horas, à temperatura ambiente.

Após as lavagens, aguardando a secagem de toda a solução tampão, adicionou-se solução de anticorpo monoclonal de camundongo anti IgG humana, marcada com peroxidase diluída 1:2000. A seguir, após outro período de incubação de 2 horas à temperatura ambiente e de lavagens, acrescentou-se o substrato, solução de citrato de fosfato 0,1M por 10 minutos. Após esses preparos, interrompeu-se a reação com ácido sulfúrico 2,5N.

A leitura colorimétrica foi realizada em leitor de placas de ELISA em comprimentos de ondas de 492nm.

### **3.6 Sorologia – resposta aos sorotipos e à vacina**

A resposta a cada sorotipo avaliado foi realizada de 3 formas, considerando-se:

Sorologia positiva para o título maior ou igual a 0,35mcg/mL;

Sorologia positiva para o título maior ou igual a 1,3mcg/mL;

Sorologia positiva para o sorotipo quando houvesse o aumento de pelo menos 4 vezes o título pós-vacinal em relação ao pré-vacinal.

A criança foi considerada respondedora à vacina pneumocócica conjugada 7-valente se apresentasse resposta positiva a pelo menos 5 sorotipos dos 7 avaliados, utilizando-se os mesmos critérios acima descritos.

### **3.7 Análise estatística**

A análise estatística foi feita por meio do software SPSS 13.0. As variáveis contínuas – concentrações de anticorpos no sangue pré e pós-vacinação – foram descritas através de suas médias geométricas, medianas, valores máximos e mínimos e comparadas através do teste de Wilcoxon, quando os dados estavam emparelhados e pelo teste de Mann-Whitney, quando os dados não estavam emparelhados. O teste exato de Fisher foi aplicado para avaliar as frequências de respostas positivas entre os grupos com vacinação prévia ou não pela vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente.

As variáveis categóricas foram descritas através de suas frequências.

Em todas as análises foi adotado um nível de significância de 5%.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Casuística

#### 4.1.1 Asmáticos

Das 20 crianças incluídas, duas não completaram os dados para análise. Dessa forma, foram incluídas 18 crianças para análise nesse grupo de crianças asmáticas.

As 18 crianças incluídas apresentavam idade média de 82,83 meses e mediana de 82,5 meses (mínima 34m e máxima 114m). O sexo masculino representava 77,8% do grupo (14 meninos). A maioria era da raça branca, 14 crianças (77,8%). Todas tinham peso entre os percentis 2,5 e 97,5 e estatura entre os percentis 2,5 e 90.

Todas apresentavam asma persistente moderada e estavam em uso de corticóide inalatório há pelo menos 3 meses da inclusão no estudo. O principal corticóide utilizado foi a beclometasona em 13 (72,2%) pacientes, 3 (16,7%) recebiam fluticasona e os outros dois (11,1%), budesonida. Os pacientes permaneceram em uso de corticoterapia inalatória durante todo o seguimento.

Dessas crianças, 5 haviam recebido uma dose da vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente entre 4 e 38 meses antes de sua inclusão no estudo. Essa informação não estava disponível para uma criança, e as demais não haviam recebido nenhuma dose dessa vacina (Tabela 1).

#### **4.1.2. Fibrose cística**

Das 20 crianças incluídas, duas não completaram os dados para análise. Dessa forma, foram incluídas 18 crianças para análise nesse grupo de crianças com fibrose cística.

As 18 crianças incluídas apresentavam idade média de 65m e mediana de 69,5m (mínima 33m e máxima 108m). O sexo masculino representava 66,7% do grupo (12 meninos). A maioria era da raça branca, 12 crianças (66,7%). O peso da maioria estava entre os percentis 2,5 e 97,5 (88,9%) e todas com percentis de estatura entre 2,5 e 90.

Dentre essas crianças, 10 haviam recebido uma dose da vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente entre 4m e 70m antes de sua inclusão no estudo. Essa informação não estava disponível para uma criança, e as demais não haviam recebido nenhuma dose dessa vacina (Tabela 1).

Tabela 1 – Distribuição dos dados das crianças asmáticas e com fibrose cística

		Asma (n=18)	FC (n=18)
Idade (m)	média	82,83	65,00
	mediana	82,50	69,50
	máximo	114,00	108,00
	mínimo	34,00	33,00
Sexo	Masculino (%)	14 (77,8)	12 (66,7)
	Feminino (%)	4 (22,2)	6 (33,3)
Raça	Branca (%)	14 (77,8)	12 (66,7)
	Negra (%)	2 (11,1)	4 (22,2)
	Parda (%)	2 (11,1)	2 (11,1)
VPP23	Sim (%)	5 (27,8)	10 (55,6)
	Não (%)	12 (66,7)	7 (38,9)
	SI (%)	1 (5,5%)	1 (5,5)

FC = Fibrose Cística      m = meses

VPP23 = vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

## 4.2. Resultados sorológicos

### 4.2.1. Asmáticos – análise por sorotipo

Os resultados sorológicos pré e pós vacinais, por sorotipo, foram avaliados em relação às médias geométricas das concentrações e às suas medianas, com os valores máximo e mínimo, conforme Tabela 2. Todos os valores pós-vacinais em relação aos pré-vacinais para cada sorotipo foram maiores e todos foram estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ), com valores de  $p$  entre  $<0,001$  e  $0,005$  (Wilcoxon). Quando dividiu-se esse grupo, entre aqueles que receberam a vacina polissacarídica previamente e os que não a receberam, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa nem

entre as medianas pré-vacinais nem entre as pós-vacinais para nenhum sorotipo, todas as análises apresentaram  $p > 0,05$ , conforme Tabela 3 (Mann-Whitney).

Tabela 2 – Distribuição das médias geométricas, medianas, valores máximos e mínimos dos títulos dos sorotipos vacinais, pré e pós-vacinação, dos pacientes asmáticos

Sorotipo	Média Geom	Mediana	V.max	V.min	p*
PS4pré	0,72	0,88	2,90	0,24	
PS4pós	1,99	2,20	5,90	0,32	0,001
PS6Bpré	1,44	1,50	6,50	0,52	
PS6Bpós	4,53	4,85	21,10	0,80	< 0,001
PS9Vpré	1,47	1,30	7,70	0,30	
PS9Vpós	3,16	3,45	17,70	0,85	0,004
PS14pré	4,23	4,10	30,40	0,82	
PS14pós	12,04	9,60	50,00	5,10	0,001
PS18Cpré	1,59	1,20	14,70	0,40	
PS18Cpós	4,06	3,70	13,40	0,97	0,005
PS19Fpré	3,16	3,05	16,50	1,00	
PS19Fpós	7,21	8,00	50,00	1,80	< ,001
PS23Fpré	1,26	1,35	7,20	0,33	
PS23Fpós	3,15	2,90	9,60	0,70	0,001

Média Geom = Média Geométrica V.max = valor máximo V.min = valor mínimo

\* p - calculado pelo teste Wilcoxon, bicaudal

Tabela 3 – Distribuição das médias geométricas, medianas, valores máximos e mínimos dos títulos dos sorotipos vacinais, pré e pós-vacinação, dos pacientes asmáticos com e sem vacinação prévia pela VPP23

Sorologia	Média Geom	Mediana	V.min	V.max	p*
PS4pré (Vac)	1,10	1,00	0,50	2,90	
PS4pré (Nvac)	0,58	0,52	0,25	1,30	0,10
PS4pós (Vac)	1,68	1,30	0,86	3,20	
PS4pós (Nvac)	2,24	2,95	0,32	5,90	0,21
PS6Bpré (Vac)	1,99	1,90	0,64	6,50	
PS6Bpré (Nvac)	1,33	1,45	0,52	3,40	0,34
PS6Bpós (Vac)	5,27	4,90	2,20	11,00	
PS6Bpós (Nvac)	4,33	5,20	0,80	21,10	0,71
PS9Vpré (Vac)	1,52	1,40	0,76	4,30	
PS9Vpré (Nvac)	1,28	1,20	0,30	7,70	0,79
PS9Vpós (Vac)	2,80	2,20	1,60	5,20	
PS9Vpós (Nvac)	3,20	3,45	0,85	17,70	0,83
PS14pré (Vac)	6,44	4,40	1,40	30,40	
PS14pré (Nvac)	3,11	3,10	0,82	8,20	0,32
PS14pós (Vac)	19,17	30,50	6,50	50,00	
PS14pós (Nvac)	9,64	7,95	5,10	24,60	0,14
PS18Cpré (Vac)	1,93	1,30	0,40	9,60	
PS18Cpré (Nvac)	1,22	1,05	0,46	7,30	0,56
PS18Cpós (Vac)	4,56	8,20	1,10	11,10	
PS18Cpós (Nvac)	3,71	3,30	0,97	13,40	0,60
PS19Fpré (Vac)	4,62	3,30	1,30	16,50	
PS19Fpré (Nvac)	2,84	2,75	1,00	9,20	0,40
PS19Fpós (Vac)	9,38	10,90	2,80	24,00	
PS19Fpós (Nvac)	7,19	5,70	1,80	50,00	0,40
PS23Fpré (Vac)	1,53	1,90	0,33	7,20	
PS23Fpré (Nvac)	1,23	1,35	0,35	3,60	0,71
PS23Fpós (Vac)	3,94	2,90	1,60	9,60	
PS23Fpós (Nvac)	2,95	3,20	0,70	8,70	0,64

Média Geom = média geométrica V.max = valor máximo V.min = valor mínimo

\* p - calculado pelo teste Mann-Whitney, bicaudal

PS<sub>pré</sub> (Vac) = sorologia pré-vacinação para o sorotipo, com VPP23 prévia

PS<sub>pré</sub> (Nvac) = sorologia pré-vacinação para o sorotipo, sem VPP23 prévia

PS<sub>pós</sub> (Vac) = sorologia pós-vacinação para o sorotipo, com VPP23 prévia

PS<sub>pós</sub> (Nvac) = sorologia pós-vacinação para o sorotipo, sem VPP23 prévia

VPP23 = vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

Avaliando-se os resultados por sorotipo e considerando-se a sorologia positiva quando o resultado foi maior ou igual a 0,35mcg/ml, a maioria já apresentava sorologia positiva previamente à vacinação. Para o sorotipo 4, 15 pacientes (83,3%) apresentavam sorologia maior ou igual a 0,35mcg/ml. Dezesesseis pacientes (88,9%) apresentavam resultado positivo para o 9V e 17 pacientes (94,4%) para o 23F. Para os 6B, 14, 18C e 19F, todos apresentavam sorologia positiva (Tabela 4). Entre os que apresentavam resultados inferiores a 0,35mcg/ml inicialmente, após as 2 doses da vacina conjugada 7-valente, todos soroconverteram. Há uma ressalva, pois um paciente que apresentava sorologia positiva inicialmente, negativou na quantificação pós-vacinal. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa na frequência de sorologias positivas, por esse ponto de corte, entre as crianças vacinadas e não vacinadas previamente pela vacina polissacarídica para as sorologias pré-vacinação dos sorotipos 4, 9V e 23F (Fisher, bicaudal). Todas as demais frequências pré e pós-vacinais de ambos os grupos foram de 100% (Tabela 5).

Considerando-se o título de 1,3mcg/ml, seguem os resultados: 16,7% apresentavam esse título ou maior desde o início para o sorotipo 4; 61,1% para o 6B; 50% para os 9V, 18C e 23F; 94,4% para os 14 e 19F (Tabela 6). Entre os pacientes que apresentavam títulos menores de 1,3 mcg/ml inicialmente, após as 2 doses da vacina 7-valente, 11 (11/15 – 73,3%) soroconverteram para o polissacáride 4; 5 (5/7 – 71,4%) para o 6B; 6 (6/9 – 66,7%) para o 9V; 1 (1/1 – 100%) para os 14 e 19F; 7 (7/9 – 77,78%) para os 18C e 23F. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa na



frequência de sorologias positivas, por esse ponto de corte, entre as crianças vacinadas e não vacinadas previamente pela vacina polissacarídica para as sorologias pré e pós-vacinais de todos os sorotipos (Fisher, bicaudal), exceto as sorologias pós-vacinais do 14 e 19F, que apresentaram 100% de positividade (Tabela 7).

Ao se considerar como resposta positiva, para o sorotipo em questão, o aumento de pelo menos 4 vezes o título pós-vacinal em relação ao pré-vacinal, poucas crianças apresentaram elevação do título de pelo menos 4 vezes. Seis crianças (33,3%) responderam para os sorotipos 4, 6B, 14 e 18C; 4 (22,2%) para o 23F e 3 (16,7%) para os 9V e 19F (Tabela 8). Também, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa, comparando-se os que receberam a vacina polissacarídica 23-valente previamente e os que não a receberam (Fisher, bicaudal), conforme Tabela 9.

Tabela 4 – Distribuição das frequências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o valor de corte de 0,35mcg/ml, para as crianças asmáticas

Sorotipo	Positivos pré	Positivos pós
PS4	15/18 (83,3%)	17/18 (94,4%)
PS6B	18/18 (100%)	18/18 (100%)
PS9V	16/18 (88,9%)	18/18 (100%)
PS14	18/18 (100%)	18/18 (100%)
PS18C	18/18 (100%)	18/18 (100%)
PS19F	18/18 (100%)	18/18 (100%)
PS23F	17/18 (94,4%)	18/18 (100%)

PS = polissacáride

Tabela 5 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o valor de corte de 0,35mcg/ml, para as crianças asmáticas, com e sem vacinação prévia pela VPP23

Sorologia	Positivos para 0,35mcg/ml		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
préPS4	5/5 (100%)	9/12 (75%)	0,51
pósPS4	5/5 (100%)	11/12 (91,7%)	1,00
préPS6B	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA
pósPS6B	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA
préPS9V	5/5 (100%)	10/12 (83,3%)	1,00
pósPS9V	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA
préPS14	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA
pósPS14	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA
préPS18C	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA
pósPS18C	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA
préPS19F	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA
pósPS19F	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA
préPS23F	4/5 (80%)	12/12 (100%)	0,29
pósPS23F	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica      VPP23 - vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

Tabela 6 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o valor de corte de 1,3mcg/ml, para as crianças asmáticas

Sorotipo	Positivos pré	Positivos pós
PS4	3/18 (16,7%)	14/18 (77,8%)
PS6B	11/18 (61,1%)	16/18 (88,9%)
PS9V	9/18 (50,0%)	15/18 (83,3%)
PS14	17/18 (94,4%)	18/18 (100,0%)
PS18C	9/18 (50,0%)	16/18 (88,9%)
PS19F	17/18 (94,4%)	18/18 (100,0%)
PS23F	9/18 (50,0%)	16/18 (88,9%)

PS = polissacáride

Tabela 7 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o valor de corte de 1,3mcg/ml, para as crianças asmáticas, com e sem vacinação prévia pela VPP23

Sorologia	Positivos para 1,3mcg/ml		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
préPS4	2/5 (40,0%)	1/12 (8,3%)	0,19
pósPS4	4/5 (80,0%)	10/12 (83,3%)	1,00
préPS6B	4/5 (80,0%)	7/12 (58,3%)	0,60
pósPS6B	5/5 (100,0%)	10/12 (83,3%)	1,00
préPS9V	3/5 (60,0%)	5/12 (41,7%)	0,62
pósPS9V	5/5 (100,0%)	9/12 (75,0%)	0,51
préPS14	5/5 (100,0%)	11/12 (91,7%)	1,00
pósPS14	5/5 (100,0%)	12/12 (100,0%)	NA
préPS18C	3/5 (60,0%)	5/12 (41,7%)	0,62
pósPS18C	4/5 (80,0%)	11/12 (91,7%)	0,51
préPS19F	5/5 (100,0%)	11/12 (91,7%)	1,00
pósPS19F	5/5 (100,0%)	12/12 (100,0%)	NA
préPS23F	3/5 (60,0%)	6/12 (50,0%)	1,00
pósPS23F	5/5 (100,0%)	10/12 (83,3%)	1,00

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica

VPP23 - vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

Tabela 8 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o aumento em pelo menos 4 vezes do título pós em relação ao pré-vacinal, para as crianças asmáticas

Sorotipo	Positivos
PS4	6/18 (33,3%)
PS6B	6/18 (33,3%)
PS9V	3/18 (16,7%)
PS14	6/18 (33,3%)
PS18C	6/18 (33,3%)
PS19F	3/18 (16,7%)
PS23F	4/18 (22,2%)

PS = polissacáride

Tabela 9 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o aumento em pelo menos 4 vezes do título pós em relação ao pré-vacinal, para as crianças asmáticas, com e sem vacinação prévia pela VPP23

Sorologia	Positivos para 4 vezes ou mais		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
pósPS4	0/5 (0%)	6/12 (50,0%)	0,10
pósPS6B	1/5 (20,0%)	4/12 (33,3%)	1,00
pósPS9V	0/5 (0%)	3/12 (25,0%)	0,51
pósPS14	2/5 (40,0%)	4/12 (33,3%)	1,00
pósPS18C	2/5 (40,0%)	4/12 (33,3%)	1,00
pósPS19F	0/5 (0%)	3/12 (25,0%)	0,51
pósPS23F	1/5 (20,0%)	3/12 (25,0%)	1,00

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica

VPP23 - vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

#### 4.2.2. Fibrose cística – análise por sorotipo

Avaliando-se os resultados sorológicos por sorotipo, as médias geométricas dos títulos pré e pós-vacinação e as suas medianas com os valores máximo e mínimo encontram-se na Tabela 10. Todos os valores pós-vacinais em relação aos pré-vacinais de cada sorotipo foram maiores e todos foram estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ), com valores de  $p < 0,001$  (Wilcoxon). Encontrou-se diferença estatisticamente significativa entre as medianas dos títulos pós-vacinais para o sorotipo 4, 9V, 18C, 19F e 23F, entre os que receberam a vacina pneumocócica 23-valente e aqueles que não a receberam (Mann-Whitney).

TABELA 10 – Distribuição das médias geométricas, medianas, valores máximos e mínimos dos títulos dos sorotipos vacinais pré e pós-vacinação, dos pacientes com fibrose cística

Sorologia	Média Geom	Mediana	V.max	V.min	p*
PS4pré	0,61	0,68	1,60	0,10	
PS4pós	3,65	2,90	50,00	0,85	< 0,001
PS6Bpré	1,30	1,45	2,70	0,28	
PS6Bpós	7,42	7,05	50,00	2,10	< 0,001
PS9Vpré	1,13	1,25	4,20	0,08	
PS9Vpós	4,73	4,40	50,00	0,80	< 0,001
PS14pré	3,02	2,95	10,70	0,30	
PS14pós	13,30	14,35	50,00	4,00	< 0,001
PS18Cpré	0,79	0,86	4,20	0,05	
PS18Cpós	3,77	3,00	50,00	0,97	< 0,001
PS19Fpré	2,78	3,05	12,80	0,23	
PS19Fpós	8,65	11,10	50,00	0,65	< 0,001
PS23Fpré	1,12	1,10	4,50	0,11	
PS23Fpós	4,94	4,35	33,50	0,92	< 0,001

Média Geom = média geométrica V.max = valor máximo V.min = valor mínimo

\* p - calculado pelo teste Wilcoxon, bicaudal

TABELA 11 – Distribuição das médias geométricas, medianas, valores máximos e mínimos dos títulos dos sorotipos vacinais pré e pós-vacinação, dos pacientes com fibrose cística, com e sem vacinação prévia pela VPP23

Sorologia	Média Geom	Mediana	V.min	V.max	p*
PS4pré (Vac)	0,73	0,68	0,35	1,60	
PS4pré (Nvac)	0,43	0,58	0,10	0,85	0,24
PS4pós (Vac)	5,68	5,25	1,70	50,00	
PS4pós (Nvac)	2,04	2,30	0,85	4,40	0,02
PS6Bpré (Vac)	1,44	1,45	0,76	2,70	
PS6Bpré (Nvac)	1,05	1,40	0,28	2,40	0,43
PS6Bpós (Vac)	9,90	12,10	2,70	42,10	
PS6Bpós (Nvac)	4,81	3,10	2,10	50,00	0,14
PS9Vpré (Vac)	1,47	1,50	0,47	4,20	
PS9Vpré (Nvac)	0,70	0,96	0,08	1,30	0,10
PS9Vpós (Vac)	7,03	5,60	2,80	50,00	
PS9Vpós (Nvac)	2,41	2,10	0,80	7,20	0,02
PS14pré (Vac)	3,08	2,95	1,40	7,40	
PS14pré (Nvac)	2,65	2,30	0,30	10,70	0,84
PS14pós (Vac)	15,80	16,90	4,80	50,00	
PS14pós (Nvac)	10,20	8,90	4,00	27,30	0,38
PS18Cpré (Vac)	0,94	0,90	0,32	4,20	
PS18Cpré (Nvac)	0,53	0,74	0,05	1,10	0,26
PS18Cpós (Vac)	5,59	4,35	1,60	50,00	
PS18Cpós (Nvac)	1,90	2,00	0,97	3,40	0,04
PS19Fpré (Vac)	3,40	4,05	1,10	12,80	
PS19Fpré (Nvac)	2,06	2,70	0,23	4,10	0,33
PS19Fpós (Vac)	15,70	17,15	1,70	50,00	
PS19Fpós (Nvac)	3,46	3,50	0,65	18,70	0,02
PS23Fpré (Vac)	1,34	1,10	0,53	4,50	
PS23Fpré (Nvac)	0,76	1,00	0,11	1,60	0,43
PS23Fpós (Vac)	7,98	8,75	1,50	33,50	
PS23Fpós (Nvac)	2,25	2,10	0,92	12,50	0,01

Média Geom = média geométrica V.max = valor máximo V.min = valor mínimo

\* p - calculado pelo teste Mann-Whitney, bicaudal

PS\_pré (Vac) = sorologia pré-vacinação para o sorotipo, com VPP23 prévia

PS\_pré (Nvac) = sorologia pré-vacinação para o sorotipo, sem VPP23 prévia

PS\_pós (Vac) = sorologia pós-vacinação para o sorotipo, com VPP23 prévia

PS\_pós (Nvac) = sorologia pós-vacinação para o sorotipo, sem VPP23 prévia

VPP23 = vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

Quando se avaliou os resultados por sorotipo, considerando-se a sorologia positiva quando o resultado foi maior ou igual a 0,35mcg/ml, 16 pacientes (88,9%) já apresentavam sorologia positiva para os polissacárides 4 e 18C no início do estudo; 17 pacientes (94,4%) positivos para os 6B, 9V, 14, 19F e 23F. Entre os poucos que apresentaram resultados inferiores a 0,35mg/mL inicialmente, após as 2 doses da vacina 7-valente, todos soroconverteram (Tabela 12). Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa na frequência de sorologias positivas, por esse ponto de corte, entre as crianças vacinadas e não vacinadas previamente pela vacina polissacarídica para as sorologias pré-vacinação (Fisher, bicaudal). Nas amostras pós-vacinais, a positividade foi de 100% em ambos os grupos (Tabela 13).

Considerando-se o título de 1,3mcg/ml, foram obtidos os seguintes resultados: 2 pacientes (11,1%) apresentavam sorologia positiva desde o início para o sorotipo 4; 12 pacientes (66,7%) para o 6B; 9 pacientes (50%) para o 9V; 17 pacientes (94,4%) para o 14; 4 (22,2%) para o 18C; 16 (88,9%) para o 19F e 8 (44,4%) para o 23F (Tabela 14). Após duas doses da vacina 7-valente, daqueles que apresentavam sorologia negativa inicialmente, 14 (14/16 – 87,50%) soroconverteram para o sorotipo 4; 6 (6/6 – 100,00%) para o 6B; 8 (8/9 – 88,89%) para o 9V; 1 (1/1 – 100,00%) para o 14; 12 (12/14 – 85,71%) para o 18C; 1 (1/2 – 50,00%) para o 19F e 8 (8/10 – 80,00%) para o 23F. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa na frequência de sorologias positivas, por esse ponto de corte, entre as crianças vacinadas e não vacinadas previamente pela vacina

polissacarídica para as sorologias pré e pós-vacinais de todos os sorotipos (Fisher, bicaudal), exceto as sorologias pós-vacinais do 6B e 14, que apresentaram 100% de positividade (Tabela 15).

Considerando-se para cada sorotipos o aumento de pelo menos 4 vezes do título pós-vacinal em relação ao pré-vacinal como resposta positiva, 10 crianças (55,6%) responderam para o sorotipo 4; 11 (61,1%) para o 6B; 9 (50%) para os 9V e 18C; 7 (38,9%) para o 14; 8 (44,4%) para os 19F e 23F (Tabela 16). Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa, comparando-se os que receberam a vacina 23-valente previamente e os que não a receberam (Fisher, bicaudal) (Tabela 17).

Tabela 12 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o valor de corte de 0,35mcg/ml, para as crianças com fibrose cística

Sorotipo	Positivos pré	Positivos pós
PS4	16/18 (88,9%)	18/18 (100,0%)
PS6B	17/18 (94,4%)	18/18 (100,0%)
PS9V	17/18 (94,4%)	18/18 (100,0%)
PS14	17/18 (94,4%)	18/18 (100,0%)
PS18C	16/18 (88,9%)	18/18 (100,0%)
PS19F	17/18 (94,4%)	18/18 (100,0%)
PS23F	17/18 (94,4%)	18/18 (100,0%)

PS = polissacáride



Tabela 13 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o valor de corte de 0,35mcg/ml, para as crianças com fibrose cística, com e sem vacinação prévia pela VPP23

Sorologia	Positivos para 0,35mcg/ml		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
préPS4	10/10 (100,0%)	5/7 (71,4%)	0,15
pósPS4	10/10 (100,0%)	7/7 (100,0%)	NA
préPS6B	10/10 (100,0%)	6/7 (85,7%)	0,41
pósPS6B	10/10 (100,0%)	7/7 (100,0%)	NA
préPS9V	10/10 (100,0%)	6/7 (85,7%)	0,41
pósPS9V	10/10 (100,0%)	7/7 (100,0%)	NA
préPS14	10/10 (100,0%)	6/7 (85,7%)	0,41
pósPS14	10/10 (100,0%)	7/7 (100,0%)	NA
préPS18C	9/10 (90,0%)	6/7 (85,7%)	1,00
pósPS18C	10/10 (100,0%)	7/7 (100,0%)	NA
préPS19F	10/10 (100,0%)	6/7 (85,7%)	0,41
pósPS19F	10/10 (100,0%)	7/7 (100,0%)	NA
préPS23F	10/10 (100,0%)	6/7 (85,7,0%)	0,41
pósPS23F	10/10 (100,0%)	7/7 (100,0%)	NA

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica      VPP23 - vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

Tabela 14 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o valor de corte de 1,3mcg/ml, para as crianças com fibrose cística

Sorotipo	Positivos pré	Positivos pós
PS4	2/18 (11,1%)	16/18 (88,9%)
PS6B	12/18 (66,7%)	18/18 (100,0%)
PS9V	9/18 (50,0%)	17/18 (94,4%)
PS14	17/18 (94,4%)	18/18 (100,0%)
PS18C	4/18 (22,2%)	16/18 (88,9%)
PS19F	16/18 (88,9%)	17/18 (94,4%)
PS23F	8/18 (44,4%)	16/18 (88,9%)

PS = polissacáride

Tabela 15 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o valor de corte de 1,3mcg/ml, para as crianças com fibrose cística, com e sem vacinação prévia pela VPP23

Sorologia	Positivos para 1,3mcg/ml		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
préPS4	2/10 (20,0%)	0/7 (0%)	0,49
pósPS4	10/10 (100,0%)	5/7 (71,4%)	0,15
préPS6B	7/10 (70,0%)	4/7 (57,1%)	0,64
pósPS6B	10/10 (100,0%)	7/7 (100,0%)	NA
préPS9V	6/10 (60,0%)	2/7 (28,6%)	0,33
pósPS9V	10/10 (100,0%)	6/7 (85,7%)	0,41
préPS14	10/10 (100,0%)	6/7 (85,7%)	0,41
pósPS14	10/10 (100,0%)	7/7 (100,0%)	NA
préPS18C	3/10 (30,0%)	0/7 (0%)	0,23
pósPS18C	10/10 (100,0%)	5/7 (71,4%)	0,15
préPS19F	9/10 (90,0%)	6/7 (85,7%)	1,00
pósPS19F	10/10 (100,0%)	6/7 (85,7%)	0,41
préPS23F	4/10 (40,0%)	3/7 (42,9%)	1,00
pósPS23F	10/10 (100,0%)	5/7 (71,4%)	0,15

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica

VPP23 - vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

Tabela 16 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o aumento em pelo menos 4 vezes do título pós em relação ao pré-vacinal, para as crianças com fibrose cística

Sorotipo	Positivos
PS4	10/18 (55,6%)
PS6B	11/18 (61,1%)
PS9V	9/18 (50,0%)
PS14	7/18 (38,9%)
PS18C	9/18 (50,0%)
PS19F	8/18 (44,4%)
PS23F	8/18 (44,4%)

PS = polissacáride

Tabela 17 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para cada sorotipo, considerando-se o aumento em pelo menos 4 vezes do título pós em relação ao pré-vacinal, para as crianças com fibrose cística, com e sem vacinação prévia pela VPP23

Sorologia	Positivos para 4 vezes ou mais		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
pósPS4	7/10 (70,0%)	3/7 (42,9%)	0,35
pósPS6B	7/10 (70,0%)	3/7 (42,9%)	0,35
pósPS9V	6/10 (60,0%)	2/7 (28,6%)	0,33
pósPS14	6/10 (60,0%)	1/7 (14,3%)	0,13
pósPS18C	7/10 (70,0%)	1/7 (14,3%)	0,05
pósPS19F	6/10 (60,0%)	1/7 (14,3%)	0,13
pósPS23F	6/10 (60,0%)	2/7 (28,6%)	0,33

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica

VPP23 - vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

#### **4.2.3. Asmáticos – análise de resposta à vacina**

Foi considerada respondedora à vacina pneumocócica conjugada 7-valente aquela criança que apresentou pelo menos 5 sorotipos positivos para o critério estabelecido.

Considerando-se o título de 0,35mcg/ml, todos já eram positivos ao serem incluídos no estudo (Tabela 18). Dessa forma, tanto os vacinados quanto os não vacinados previamente pela 23-valente apresentaram 100% de positividade nas amostras (Tabela 19).

Para o título de 1,3mcg/ml, 7 (38,9%) já apresentavam resposta positiva à vacina conjugada (Tabela 20). Onze crianças (11/18 – 61,1%) apresentavam resposta negativa (menos de 5 componentes positivos pré-vacinação), e desses, 9 soroconverteram (9/11 – 81,8%). Não se observou diferença estatisticamente significativa, para o corte de 1,3mcg/ml, na frequência de positividade à vacina entre as crianças que foram ou não vacinadas pela vacina 23-valente, pelas sorologias pré e pós-vacinais (Fisher, bicaudal), conforme Tabela 21.

Considerando-se o aumento de 4 vezes o título pós-vacinal em relação ao pré-vacinal de pelo menos 5 componentes da vacina 7-valente, apenas 3 crianças (16,7%) foram consideradas respondedoras (Tabela 22). Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa, comparando-se os que receberam a vacina polissacarídica 23-valente previamente e os que não a receberam, para esse critério (Fisher, bicaudal) (Tabela 23)

Tabela 18 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para pelo menos 5 sorotipos positivos, considerando-se o valor de corte de 0,35mcg/ml, para as crianças com asma e com fibrose cística

VCP7	Sorologia	Asma	FC
5 PS ou mais +	Positivos pré	18/18 (100%)	17/18 (94,4%)
	Positivos pós	18/18 (100%)	18/18 (100%)

VCP7 = vacina pneumocócica conjugada 7-valente

PS = polissacáride FC = fibrose cística

Tabela 19 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para pelo menos 5 sorotipos positivos, considerando-se o valor de corte de 0,35mcg/ml, para as crianças com asma, com e sem vacinação prévia pela VPP23

VCP7	Positivos para 0,35mcg/ml		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
>= 5PS+ (pré)	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA
>= 5PS+ (pós)	5/5 (100%)	12/12 (100%)	NA

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica VCP7 = vacina pneumocócica conjugada 7-valente

Tabela 20 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para pelo menos 5 sorotipos positivos, considerando-se o valor de corte de 1,3mcg/ml, para as crianças com asma e com fibrose cística

VCP7	Sorologia	Asma	FC
5 PS ou mais +	Positivos pré	7/18 (38,9%)	6/18 (33,3%)
	Positivos pós	16/18 (88,9%)	17/18 (94,4%)

VCP7 = vacina pneumocócica conjugada 7-valente

PS = polissacáride FC = fibrose cística

Tabela 21 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para pelo menos 5 sorotipos positivos, considerando-se o valor de corte de 1,3mcg/ml, para as crianças com asma, com e sem vacinação prévia pela VPP23

VPC7	Positivos para 1,3mcg/ml		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
>= 5PS+ (pré)	3/5 (80%)	4/12 (33,3%)	0,59
>= 5PS+ (pós)	5/5 (100%)	10/12 (83,3%)	1,00

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica VPC7 = vacina pneumocócica conjugada 7-valente

Tabela 22 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para pelo menos 5 sorotipos positivos, considerando-se o aumento em pelo menos 4 vezes do título pós em relação ao pré-vacinal, para as crianças com asma e com fibrose cística

VCP7	Sorologia	Asma	FC
5 PS ou mais +	Positivos pós	3/18 (16,7%)	8/18 (44,4%)

VPC7 = vacina pneumocócica conjugada 7-valente

PS = polissacáride FC = fibrose cística

Tabela 23 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para pelo menos 5 sorotipos positivos, considerando-se o aumento em pelo menos 4 vezes do título pós em relação ao pré-vacinal, para as crianças com asma, com e sem vacinação prévia pela VPP23

VPC7	Positivos para 4 vezes ou mais		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
>= 5PS+ (pós)	0/5 (0%)	3/12 (25%)	0,51

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica VPC7 = vacina pneumocócica conjugada 7-valente

#### 4.2.4. Fibrose Cística – análise de resposta à vacina

Considerando-se o título de 0,35mcg/ml, 17 crianças (94,4%) já eram positivas ao serem incluídas no estudo, e a outra criança soroconverteu após as duas doses da vacina (Tabela 18). Não houve diferença estatisticamente significativa, para esse critério, na frequência de positividade à vacina entre as crianças que foram ou não vacinadas pela vacina 23-valente, pelas sorologias pré-vacinais (Fisher, bicaudal). Todos apresentaram 100% de positividade nas amostras pós-vacinais (Tabela 24).

Para o título de 1,3mcg/ml, 6 crianças (33,3%) eram positivas no início, 11 (11/12 – 91,67%) das que eram negativas – menos de 5 componentes positivos pré-vacinação –, soroconverteram (Tabela 20). Não se observou diferença estatisticamente significativa, para o corte de 1,3mcg/ml, na frequência de positividade à vacina entre as crianças que foram ou não vacinadas pela vacina 23-valente, pelas sorologias pré e pós-vacinais (Fisher, bicaudal), conforme Tabela 25.

Levando-se em consideração o aumento de pelo menos 4 vezes o título pós-vacinal em relação ao pré-vacinal, 8 crianças (44,4%) foram consideradas respondedoras (Tabela 22). Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa, comparando-se os que receberam a vacina polissacarídica 23-valente previamente e os que não a receberam, para esse critério (Fisher, bicaudal) (Tabela 26)

Tabela 24 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para pelo menos 5 sorotipos positivos, considerando-se o valor de corte de 0,35mcg/ml, para as crianças com fibrose cística, com e sem vacinação prévia pela VPP23

VPC7	Positivos para 0,35mcg/ml		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
>= 5PS+ (pré)	10/10 (100,0%)	6/7 (85,7%)	0,41
>= 5PS+ (pós)	10/10 (100,0%)	7/7 (100,0%)	NA

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica      VPC7 = vacina pneumocócica conjugada 7-valente

Tabela 25 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para pelo menos 5 sorotipos positivos, considerando-se o valor de corte de 1,3mcg/ml, para as crianças com fibrose cística, com e sem vacinação prévia pela VPP23

VPC7	Positivos para 1,3mcg/ml		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
>= 5PS+ (pré)	4/10 (40%)	1/7 (14,3%)	0,34
>= 5PS+ (pós)	10/10 (100%)	6/7 (85,7%)	0,41

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica      VPC7 = vacina pneumocócica conjugada 7-valente



Tabela 26 – Distribuição das freqüências das sorologias positivas pré e pós-vacinais, para pelo menos 5 sorotipos positivos, considerando-se o aumento em pelo menos 4 vezes do título pós em relação ao pré-vacinal, para as crianças com asma, com e sem vacinação prévia pela VPP23

VPC7	Positivos para 4 vezes ou mais		p*
	Vacinados	Não Vacinados	
>= 5PS+ (pós)	6/10 (60%)	2/7 (28,6%)	0,33

\* p = calculado pelo teste exato de Fisher, bicaudal

NA - não se aplica      VPC7 = vacina pneumocócica conjugada 7-valente

### 4.3. Eventos adversos

Os eventos adversos nos pacientes asmáticos foram bem mais frequentes após a primeira dose. Quinze crianças (15/18 – 83,33%) apresentaram alguma reação após a vacinação, sendo a maioria reação local e de leve a moderada intensidade. Após a segunda dose nesses pacientes, apenas 5 (5/18 – 27,78%) tiveram reação; também a maioria local e de leve a moderada intensidade. Apenas duas crianças apresentaram febre de até 39°C após a primeira dose (Tabelas 27 e 28).

Os pacientes com FC apresentaram uma frequência maior de eventos tanto após a primeira como a segunda dose. Após a primeira dose, 16 crianças (16/18 – 88,89%) apresentaram alguma reação, sendo a maioria reação local e de leve a moderada intensidade. Após a segunda dose, 13 crianças (13/18 – 72,22%) manifestaram alguma reação vacinal, e também a maioria foi local e de leve a moderada intensidade. Apenas uma criança apresentou febre após a segunda dose, menor que 39°C. (Tabelas 13 e 14)

TABELA 27: Distribuição das taxas de reação adversa à vacina pneumocócica 7-valente (VPC7), após a primeira e segunda doses, dos pacientes com asma e com fibrose cística (FC).

	Asma 1	Asma 2	FC1	FC2
Com reação	15 (83,33%)	5 (27,78%)	16 (88,89%)	13 (72,22%)
Sem reação	3 (16,67%)	13 (72,22%)	2 (11,11%)	5 (27,78%)

Asma 1 = após 1ª dose da VPC7 no grupo da asma

Asma 2 = após 2ª dose da VPC7 no grupo da asma

FC1 = após 1ª dose da VPC7 no grupo de FC

FC2 = após 2ª dose da VPC7 no grupo de FC

TABELA 28: Distribuição das taxas de cada reação adversa (EA) à vacina pneumocócica 7-valente (VPC7), após a primeira e segunda doses, dos pacientes com asma e com fibrose cística (FC).

EA		VPC7			
		1ªdose		2ªdose	
		Asma	FC	Asma	FC
Eritema	< 1 cm	4 (22,22%)	3 (16,67%)	0	3 (16,67%)
	1-3 cm	2 (11,11%)	2 (11,11%)	0	3 (16,67%)
	>3cm	1 (5,56%)	1 (5,56%)	0	1 (5,56%)
Dor local		11 (61,11%)	13 (72,22%)	4 (22,22%)	12 (66,67%)
Edema local		5 (27,78%)	4 (22,22%)	3 (16,67%)	4 (22,22%)
Náusea		1 (5,56%)	3 (16,67%)	0	3 (16,67%)
Vômito		1 (5,56%)	3 (16,67%)	0	3 (16,67%)
Sonolência		3 (16,67%)	5 (27,78%)	0	4 (22,22%)
Irritabilidade		1 (5,56%)	4 (22,22%)	0	5 (27,78%)
Choro		2 (11,11%)	6 (33,33%)	0	6 (33,33%)
Urticária		0	0	0	0
Inapetência		0	4 (22,22%)	1 (5,56%)	3 (16,67%)
Febre	até 39°C	2 (11,11%)	0	0	1 (5,56%)
	> 39°C	0	0	0	0

## 5. DISCUSSÃO

O presente estudo propôs-se a determinar a concentração de anticorpos IgG contra os sorotipos contidos na vacina pneumocócica conjugada 7-valente nos dois grupos, asmáticos e com fibrose cística, avaliando a resposta vacinal a partir da positividade a pelo menos 5 sorotipos, dentro de três critérios: 0,35mcg/ml, 1,3mcg/ml e aumento de 4 vezes o título pós-vacinal em relação ao pré-vacinal. Assim como a resposta para cada sorotipo em relação a esses mesmos 3 critérios. Como parte das crianças já havia recebido uma dose da vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente, realizou-se uma análise para verificar a influência dessa vacinação na resposta à vacina conjugada.

Esses dois grupos foram estudados, pois há pouca publicação sobre eles a respeito da resposta à vacina pneumocócica conjugada, sendo grupos de risco para a infecção pelo *S.pneumoniae*.

As crianças asmáticas ainda não foram incluídas nas indicações para a vacinação pneumocócica apenas por serem asmáticas, como ocorreu, recentemente, com os adultos nos EUA (CDC, 2009). Elas faziam parte das indicações de serem vacinadas com essas vacinas apenas quando apresentavam infecções de repetição (Rose et al., 2006), ou estavam em uso de corticóide oral por tempo prolongado (AAP, 2000; MS/SVS, 2006), que por si só seria uma indicação de vaciná-las. Atualmente, os EUA já estenderam a recomendação para todas as crianças até os 5 anos,

permanecendo a restrição do uso do corticóide para as asmáticas após os 5 anos (MMWR, 2009).

Os pacientes com fibrose cística já são contemplados nas indicações de vacina pneumocócica (AAP, 2000; MS, 2006), mas poucos são os trabalhos avaliando a resposta anticórpica nessa doença, principalmente em crianças, como ressalta Malfroot et al (2005).

Ainda não estão estabelecidos, atualmente, nem o nível de corte para avaliar a resposta sorológica aos polissacárides pneumocócicos pelo método de Elisa, que indique eficácia e proteção após a vacinação, em particular da vacina conjugada, nem o que é considerada uma boa resposta vacinal, ou seja, para quantos sorotipos o indivíduo deve apresentar resposta para ser considerado respondedor à vacinação.

Na literatura, os trabalhos foram realizados principalmente em crianças saudáveis, e utilizaram diferentes valores para se inferir boa resposta vacinal ou relacioná-la à eficácia clínica.

Já se consideraram diferentes valores de resposta vacinal, alguns derivados de trabalhos para licenciar outras vacinas como para o *H.influenzae* tipo b ou o meningococo C, como os níveis de 0,15mcg/ml, 0,2mcg/ml, 1mcg/ml, 1,3mcg/ml e o aumento de 2 a 4 vezes o título pós em relação ao pré-vacinal (Jódar et al., 2003).

Como foi descrito em 2005, a OMS publicou a recomendação que definiu a concentração protetora para doenças invasivas pneumocócicas em crianças saudáveis: o valor de 0,35mcg/ml por Elisa, sem a adsorção do polissacáride 22F, ou outro sorotipo, para fim de correlação com proteção

(esse título seria equivalente ao título protetor 1:8 de testes de opsonofagocitose) e para estabelecer um critério comparativo de não-inferioridade para o estudo de futuras vacinas conjugadas de maior abrangência dos sorotipos pneumocócicos (WHO, 2005; Siber et al., 2007), a partir de três estudos: nas crianças no norte da Califórnia, no estudo do grupo do Kaiser Permanente (Black et al., 2000); nativos americanos (O'Brien et al., 2003) e numa população sul-africana (Klugman et al., 2003). Para o estudo de novas vacinas, além do Elisa, devem ser incluídos estudos de eficácia, utilizando-se também os testes opsonofagocíticos (OPA).

Sabe-se que esses testes são melhores para avaliar a proteção conferida pelos anticorpos sorotipo-específicos produzidos frente à vacinação pneumocócica. Esses anticorpos têm a função de opsonizar os antígenos para facilitar a fagocitose. A partir da avaliação dos testes opsonofagocíticos, encontrou-se o título de 1:8 que se correlaciona com boa atividade de opsonofagocitose para os polissacárides pneumocócicos. O nível de corte do teste de Elisa definido pela OMS visou a correspondência com esse título, para inferir proteção a doenças pneumocócicas invasivas (WHO, 2005; Jódar et al, 2003).

Para esse valor de corte de 0,35mcg/ml, no presente trabalho, verificou-se que a maioria das crianças asmáticas e com fibrose cística já apresentava esse nível para cada sorotipo previamente à vacinação: entre 83,3% (sorotipo 4) e 100% (6B, 14, 18C e 19F) e 88,9% (ST 4 e 18C) e 94,4% para os demais sorotipos, respectivamente. Sendo que todos os negativos inicialmente soroconverteram para esse título após a vacinação.

Não foi possível avaliar a resposta adequadamente a cada sorotipo ou à vacina com esse nível, pois poucas crianças restaram para avaliar a soroconversão. Alguns fatores influenciaram essa observação. Primeiro, a amostra era pequena e, dessa forma, não foi possível conseguir muitas crianças negativas antes da vacinação. Em segundo, é possível que a idade das crianças tenha influenciado nesse achado, pois a idade mediana da população do estudo já era mais elevada, 6 anos e 10 meses nas asmáticas e 5 anos e 9 meses nas que tinham fibrose cística. Assim, provavelmente, muitas delas já haviam se infectado naturalmente com alguma cepa do pneumococo.

Outro fator seria a vacinação prévia com a vacina polissacarídica 23-valente, encontrada em 27,8% das crianças com asma e 55,6% daquelas com fibrose cística. Apesar de se saber que, com o tempo, a resposta da vacina polissacarídica vai se perdendo por determinar uma resposta T-independente, sem resposta anamnésica, algumas crianças receberam a vacina próxima à data da inclusão; o intervalo mínimo foi de 4m para ambos os grupos. No entanto, independente de ter recebido ou não, praticamente todas as crianças eram positivas para esse nível ao início do estudo. Entre as vacinadas, apenas uma criança asmática era negativa para o sorotipo 23F e uma com fibrose cística para o 18C. Entre as não vacinadas, três crianças eram negativas para o sorotipo 4 e duas para o 9V, nos asmáticos, e duas crianças fibrose císticas apresentavam sorologia negativa para o sorotipo e uma criança para os demais sorotipos. Quando foi possível avaliar as freqüências de positividade entre os vacinados previamente e aqueles

não vacinados pela vacina 23-valente, não foi encontrada significância estatística, para as sorologias pré-vacinais para os sorotipos 4, 9V e 23F para os asmáticos e para as sorologias pré-vacinais de todos os sorotipos nas crianças com fibrose cística, ou seja, a vacinação prévia não determinou diferença nas concentrações encontradas.

A resposta para cada sorotipo também foi avaliada pelo critério de 1,3mcg/ml (Sorensen et al., 1996; Paris, Sorensen, 2007), pois esse valor é correlacionado com proteção infecciosa e colonização pelo pneumococo.

Em relação a esse valor, por ser mais elevado, foi obtida uma maior variabilidade de resposta, mesmo as crianças apresentando uma mediana de idade mais alta como foi referido anteriormente. A resposta aos sorotipos (avaliando-se as que eram negativas), entre as crianças asmáticas, variou entre 66,7% (9V) a 100% (sorotipo 14, mas apenas uma criança). Ao início do estudo, já eram positivas entre 16,7% para o sorotipo 4 e 94,44% para os 14 e 19F. Em relação ao grupo de fibrose cística, já eram positivas, inicialmente, 11,1% para o 4 e 94,4% para o 14. Entre as que eram negativas à entrada do estudo, a resposta obtida variou de 50% para o 19F a 100% para os 6B e 14.

Da mesma forma, considerando-se a vacinação prévia com a vacina 23-valente, não houve diferença entre aquelas vacinadas e as não vacinadas com a 23-valente, tanto para os pacientes asmáticos, quanto para os com fibrose cística.

A utilização do aumento de 4 vezes o título pós em relação ao pré-vacinal é mais complexa e foi a terceira forma de avaliação dos resultados

da sorologia. Esse aumento seria significativo para a avaliação da resposta, no entanto, poderia sofrer interferência do nível pré-vacinação (Paris, Sorensen, 2007). Se ele já fosse elevado, por doença prévia ou vacinação com a vacina polissacarídica 23-valente, por exemplo, o incremento poderia ser inferior, não significando que a pessoa estivesse desprotegida para o sorotipo em questão.

Observou-se na população estudada uma resposta de pelo menos 4 vezes de até 33,3% para os sorotipos 4, 6B, 14 e 18C, nos asmáticos, e de até 61,1% para o 6B nos pacientes com fibrose cística, o que pode ser justificado pela mediana elevada das idades nos dois grupos e com uma frequência elevadas de crianças positivas já à inclusão, possivelmente com os títulos iniciais mais altos não foi observado um aumento de quatro vezes. Não houve diferença das respostas em função da vacinação prévia com a vacina polissacarídica, como para os demais critérios.

Nesse estudo também se avaliou a resposta à vacinação pela 7-valente. Foi avaliada a resposta considerando-se a positividade de pelo menos cinco sorotipos; este critério também recomendado por Paris e Sorensen (2007) na avaliação de resposta anticórpica a antígenos polissacarídicos para crianças com alguma imunodepressão. Eles referem que é esperado que as crianças de 2 a 5 anos respondam a pelo menos 50% dos sorotipos testados, o que seriam 4 sorotipos, e para as crianças maiores de 6 anos, pelo menos 70%, 5 sorotipos, o que foi utilizado no presente estudo, para os mesmos 3 critérios.



Para o nível de 0,35mcg/ml, todas as crianças asmáticas foram consideradas respondedoras; apenas 1 criança com fibrose cística era negativa e soroconverteu após a vacinação. Já para o título de 1,3mcg/ml, mais da metade era negativa em ambos os grupos, com respostas acima de 80%. Como nas demais análises, a vacinação prévia não interferiu na resposta obtida nesses grupos. E, para a avaliação da resposta, considerando-se o aumento de 4 vezes do título, observou-se uma baixa resposta, sendo que, entre os asmáticos, a resposta obtida foi de 16,7%, e entre as crianças com fibrose cística, 44,4%. Não havendo, da mesma maneira, influência pela vacina polissacarídica nesses resultados.

Um fator interessante foi observado em relação às medianas das concentrações pré e pós-vacinais dos sorotipos nos dois grupos. As duas populações estudadas apresentaram um aumento significativo dessas medianas. Associando-se esse dado aos valores considerados anteriormente, pode-se dizer que as crianças responderam bem à vacina pneumocócica conjugada. Porém, seria mais interessante observar esses resultados se as concentrações iniciais fossem menores, analisando-se a soroconversão de um número maior de crianças.

Os pacientes com fibrose cística, quando foram avaliados de acordo com a presença de vacinação prévia pela vacina polissacarídica previamente, as suas medianas das concentrações pós-vacinais foram significativas para os sorotipos 4, 9V, 18C, 19F e 23F.

Como praticamente não há estudos nesses grupos, é difícil o paralelo com outros dados de literatura.

No entanto, observa-se a frequência de crianças positivas à inclusão para os sorotipos 14, 23F e 6B, o que reflete os dados epidemiológicos encontrados em nosso país.

O nível de 1,3mcg/ml utilizado para se considerar respondedor, associado à resposta a pelo menos cinco sorotipos vacinais, seria mais interessante, visto que, além de se relacionar com proteção a outras infecções, não só doença pneumocócica invasiva, também relaciona-se com a redução de colonização pelos sorotipos em questão. Não que isso signifique que se reduzirá a colonização de nasofaringe pelo pneumococo, pois o que se tem observado é a tendência de substituição dos sorotipos envolvidos no processo, tanto de infecção como de colonização. A proteção por essas formulações de vacina é sorotipo-específica para aqueles incluídos na vacina. Pouco se tem observado em termos de reação cruzada entre sorotipos de mesmo grupo, principalmente em relação ao sorotipo 19A, que vem crescendo em importância como agente de doença invasiva e apresentando taxas significativas de resistência (Black et al., 2004; Jacobs et al., 2008; Singleton et al., 2007; Muñoz-Almagro et al., 2008; Rückinger et al., 2008; Dagan, 2009). Dessa forma, necessita-se de vacinas cada vez mais abrangentes para se ter realmente um impacto na morbi-mortalidade relacionada ao pneumococo ou vacinas com outro alvo antigênico que dê uma proteção mais ampla ao pneumococo, até impedindo sua adesão à mucosa respiratória, que é o ponto de partida para essas doenças.

As crianças estudadas, de ambos os grupos, para o critério estabelecido de proteção de doença invasiva pneumocócica pela OMS, já

apresentavam na sua maioria, uma positividade para a maioria dos sorotipos avaliados e a maioria já apresentava positividade à vacina antes mesmo da intervenção com a vacinação com a vacina conjugada. Dessa forma não foi possível estabelecer se eles respondem bem à vacina conjugada. No entanto, a análise é critério dependente.

O uso de corticóide inalatório não tem sido observado, na literatura, como fator de interferência da resposta vacinal na análise das crianças com asma, mas faltam estudos em relação à vacina pneumocócica (Masten et al., 2003; de Roux et al., 2006).

Idealmente, essas crianças deveriam ser avaliadas mais precocemente, em grupos maiores e com grupo controle.

Em relação aos eventos adversos, observou-se que a maioria foi reação local e de leve a moderada intensidade, o que é observado na literatura (Black et al., 2000; CDC, 2009 – Pink Book). No entanto, as taxas encontradas foram bem mais elevadas. Nos asmáticos, após a primeira dose, observou-se uma taxa de 83,33%, caindo para 27,78% após a segunda dose. Nos pacientes com FC, a taxa foi alta tanto após a primeira (88,89%), como após a segunda dose (72,22%). Uma possibilidade para esse fato é que as crianças tinham uma mediana de idade mais elevada em ambos os grupos, com títulos iniciais mais elevados, provavelmente por infecção prévia ou vacinação pela VPP23, e dessa forma apresentaram reação local mais frequentemente.

Diante da diversidade de respostas baseadas em diferentes critérios na literatura, em diferentes populações, é de suma importância que sejam feitos

estudos de Elisa, de OPA e com grupo controle, para avaliar grupos específicos de risco para a doença pneumocócica como as crianças com fibrose cística e outros grupos como os asmáticos (ainda por se determinar o real risco para doença pneumocócica), pois os valores recomendados hoje podem não ser suficientes para esses grupos em particular. Valores diferentes podem ser necessários para considerar essas crianças protegidas contra cada sorotipo do *S.pneumoniae*.

Não foi objetivo aqui comparar os grupos dos asmáticos e das crianças com fibrose cística com controle, apenas avaliar a resposta frente a critérios utilizados na literatura para considerar proteção. Mas, são estudos necessários para uma avaliação ampla e para a tentativa de se estabelecerem critérios de avaliação mais fidedignos.

## 6. CONCLUSÕES

A maioria das crianças que era negativa inicialmente converteu para os sorotipos avaliados após a vacinação com a vacina pneumocócica conjugada 7-valente para os pontos de corte de 0,35mcg/ml e 1,3 mcg/ml, tanto nas crianças asmáticas como naquelas com fibrose cística, sendo que a vacinação prévia com a vacina polissacarídica 23-valente não influenciou as concentrações pré e pós-vacinais entre os que a receberam e os que não a receberam. Considerando-se o aumento de pelo menos 4 vezes entre as concentrações pré e pós-vacinais, a positividade foi baixa: nos asmáticos (melhor resposta de 33,3% para os sorotipos 4, 6B, 14 e 18C) e nas crianças com fibrose cística (melhor resposta de 61,1% para o sorotipo6B).

Em relação à resposta vacinal, considerando-se pelo menos 5 sorotipos positivos, as crianças foram consideradas positivas já à inclusão para o nível de 0,35mcg/ml, exceto uma com fibrose cística. Para o valor de corte de 1,3mcg/ml, a maioria respondeu em ambos os grupos, não foi observada interferência da vacinação prévia nem nos títulos pré como nos pós-vacinais entre os que receberam a vacina polissacarídica e os que não a receberam. Não foi obtida uma boa resposta quando se considerou o aumento de pelo menos 4 vezes o título pós em relação ao pré-vacinal nos dois grupos: asmáticos (16,7%) e com fibrose cística (44,4%), sem diferença em relação à vacinação prévia com a vacina polissacarídica 23-valente.

As crianças em ambos os grupos apresentaram altas taxas de reações pós-vacinais após a primeira dose, sendo a maioria reação local de leve a

moderada intensidade. Após a segunda dose, o grupo de crianças com fibrose cística ainda apresentou altas taxas de reações, também com predomínio das reações locais de leve a moderada intensidade.

Avaliando-se as medianas das concentrações pré e pós-vacinais para cada sorotipo, o aumento foi significativo para todos eles, nos dois grupos. Considerando-se a vacinação prévia com a vacina polissacarídica, houve significância estatística em relação aos títulos pós-vacinais dos sorotipos 4,9V, 18C, 19F e 23F no grupo das crianças com fibrose cística.

## 7. ANEXOS

## Anexo A – Termo de Consentimento Livre Esclarecido



**HOSPITAL DAS CLÍNICAS**  
**DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL**

Anexo I

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
(Instruções para preenchimento no verso)

---

**I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME DO PACIENTE : .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : M  F

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....

ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE: .....

CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....

2. RESPONSÁVEL LEGAL .....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE : ..... SEXO: M  F

DATA NASCIMENTO: ...../...../.....

ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....

BAIRRO: ..... CIDADE: .....

CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....) .....

---

**II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Avaliação da resposta humoral à vacina pneumocócica conjugada 7-valente (PREVENAR®) em crianças com doença de base.

PESQUISADOR: Evandro Roberto Baldacci

CARGO/FUNÇÃO: ..... INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº .....

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto da Criança

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO  RISCO MÍNIMO x  RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO  RISCO MAIOR

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 12 meses

---

**CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO****TÍTULO DO ESTUDO: AVALIAÇÃO DA RESPOSTA HUMORAL À VACINA PNEUMOCÓCICA CONJUGADA 7-VALENTE (PREVENAR®) EM GRUPOS DE CRIANÇAS COM DOENÇA DE BASE.**

O seu filho está sendo convidado a participar de uma pesquisa sobre vacina. Leia atentamente as informações a seguir, antes de assinar este consentimento permitindo a participação de seu filho no estudo.

1. Este estudo tem por objetivo avaliar a resposta de anticorpos (imunogenicidade) obtida após a aplicação da vacina chamada PREVENAR, produzida pelo Laboratório Wyeth, indicada para prevenção de doenças como pneumonia, meningite e otite média causadas por uma bactéria chamada pneumococo. Essa vacina protege contra sete tipos desta bactéria.
2. O seu filho participará desse estudo juntamente com outras 160 crianças por um período de aproximadamente 12 meses. Após rigorosa avaliação clínica, o seu filho receberá a vacina PREVENAR. O esquema de vacinação será baseado na idade de seu filho e de acordo com as recomendações do fabricante. O esquema de vacinação dependerá da idade do seu filho:
  - caso ele esteja entre 6 semanas e 6 meses de idade, receberá 3 doses da vacina com intervalo mínimo de 4 semanas e um reforço da vacina com 12 -15 meses de idade. Será realizado uma coleta de sangue antes da 1ª dose da vacina, 1 mês após a 3ª dose e 1 mês após a dose de reforço para avaliação da resposta de anticorpos obtida ( imunogenicidade).
  - se seu filho estiver entre 7 e 11 meses de idade, receberá 2 doses da vacina com intervalo mínimo de 4 semanas e um reforço da vacina após 12 meses, com intervalo mínimo de 2 meses após última dose. Será coletado uma amostra de sangue antes da 1ª dose, 1 mês após a 2ª dose da vacina e 1 mês após a dose de reforço para medir a resposta de anticorpos obtida.
  - Se seu filho estiver entre 12 meses de idade e 9 anos receberá 2 doses da vacina, com intervalo mínimo de 2 meses. Será coletada uma amostra de sangue antes da 1ª dose e 1 mês após a 2ª dose para avaliar a resposta de anticorpos obtida.
3. Além dessas avaliações, seu filho também será observado para quaisquer efeitos desagradáveis da vacina. Você será orientado a relatar ao médico todo evento apresentado pelo seu filho após o uso da vacina. As doses da vacina serão ministradas em ambiente hospitalar, por profissional capacitado.
4. Durante o tempo em que seu filho estiver participando do estudo, espera-se de você algumas responsabilidades: seguir cuidadosamente as instruções de seu médico, comparecer no dia marcado para receber as vacinas e a coleta de sangue, relatar ao médico todas as reações que o seu filho apresentar durante e após a vacinação.
5. O seu filho não será a primeira pessoa a usar essa vacina. PREVENAR já é registrada para comercialização no Brasil, Estados Unidos, Argentina, França, Inglaterra e outros. Milhões de doses já foram utilizadas em todo o mundo. No Brasil o Ministério da Saúde já aprovou o seu uso desde Janeiro de 2001. Além de seu filho outras 160 crianças estarão recebendo da vacina nesse estudo. São crianças, que como seu filho apresentam um risco maior de adquirir formas graves de doenças causadas pelo pneumococo.
6. A vacina é bem tolerada e pouco reatogênica. No entanto, o seu filho poderá apresentar algumas reações: dor, vermelhidão e inchaço no local da aplicação, febre, sonolência, sono agitado, diminuição do apetite, náuseas, vômitos, irritação, manchas avermelhadas pelo corpo e muito raramente reações como convulsão e episódio hipotônico (ficar "molinha"). Caso seu filho apresente qualquer das reações já conhecidas em relação ao uso dessa vacina, ou mesmo algum evento não conhecido relacionado a essa pesquisa, o seu filho receberá toda a assistência apropriada, no Instituto da Criança do Hospital das Clínicas, sem qualquer gasto. O seu filho terá assegurado todo o tratamento necessário, caso aconteça uma reação adversa.



7. O benefício para você e seu filho por fazer parte desse estudo, será o de receber uma vacina que ainda não está disponível na rede pública, e ter a informação através do exame de sangue que será coletado, se seu filho ficou protegido contra os tipos de pneumococo presentes na vacina.
8. Não haverá nenhum custo para você relacionado às visitas no ambulatório, exames ou testes laboratoriais em conexão com o estudo. Você e seu filho não receberão nenhum pagamento por estar neste estudo.
9. Você pode e deve fazer todas as perguntas que julgar necessárias antes de concordar que seu filho participe do estudo, ou a qualquer momento, e receberão de seu médico os esclarecimentos adequados. A participação neste estudo é completamente voluntária. A qualquer momento você poderá optar que seu filho não faça parte deste estudo. O seu filho será tratado da mesma forma, independentemente da sua decisão.
10. O seu médico também pode encerrar a participação do seu filho no estudo, a qualquer momento, caso não compareça nas datas agendadas para receber a vacina ou coleta de sangue.
11. A sua identidade, bem como a de seu filho, será mantida como informação confidencial. Os resultados do estudo podem ser publicados, mas suas identidades não serão reveladas sem seu consentimento por escrito. Os registros médicos, porém, poderão ser consultados pelos monitores do estudo, pelo Comitê de Ética e pelas autoridades de saúde.

Para fazer perguntas sobre este estudo ou lesão relacionada com a pesquisa, contatar:

**Dr. Evandro Roberto Baldacci**

Telefones: 3069-8515

**Dra. Helena Keico Sato**

Telefones: 30698515, BIP 38877722 código 1320062, 99421726 (cel.)

#### DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu li este formulário de consentimento (ou alguém o explicou para mim), todas as minhas perguntas foram respondidas e concordo em tomar parte neste estudo. Estou ciente de que eu (meu filho) posso (pode) sair a qualquer momento, sem perder o direito de receber cuidados médicos.

\_\_\_\_\_  
Nome do Participante  
(em letra de fôrma ou datilografado)

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Participante\*

\_\_\_\_\_  
Data

\*Requer-se a assinatura do participante somente se tiver idade para deliberar sobre o consentimento.

\_\_\_\_\_  
Nome do pai ou responsável legal  
(em letra de fôrma ou datilografado)

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pai ou responsável legal\*

\_\_\_\_\_  
Data

\_\_\_\_\_  
Nome do Investigador

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Investigador

\_\_\_\_\_  
Data

Anexo B – Tabela de Eventos Adversos

PROTOCOLO ST-PV-001BR / 0887X-100974

Nome do Paciente:
Nome da mãe ou responsável:
Número do Prontuário:

Sintomas	Data 1a. Dose: ____ / ____ / ____													
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9	Dia 10	Dia 11	Dia 12	Dia 13	Dia 14
Vermelhidão														
Dor Local														
Inchaço Local														
Enjôo														
Vômito														
Sonolência														
Irritabilidade														
Choro														
Alergia														
Falta de Apetite														
Febre														
Ausente= 0 Leve=1 Moderado=2 Severo=3														

Sintomas	Data 2a. Dose: ____ / ____ / ____													
	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9	Dia 10	Dia 11	Dia 12	Dia 13	Dia 14
Vermelhidão														
Dor Local														
Inchaço Local														
Enjôo														
Vômito														
Sonolência														
Irritabilidade														
Choro														
Alergia														
Falta de Apetite														
Febre														
Ausente= 0 Leve=1 Moderado=2 Severo=3														

Obs.: Medir com a régua a região de vermelhidão e com o termômetro a febre.

## Anexo C – Pacientes asmáticos

ASMA	Iniciais	Dnasc.	Sexo		VPP23	anti-PS4	pós	anti-PS6	pós	anti-PS9	pós	anti-PS14	pós	anti-PS18	pós	anti-PS19	pós	anti-PS23	pós
1	AFS	06/06/1994	M	beclometasona	02/08/2001	1,3	3,2	0,64	2,2	1,1	2,2	3,8	50	1,3	10,9	3,3	9	0,33	2,3
2	GMC	10/04/1995	F	beclometasona	Não	0,61	4,6	1,9	21,1	7,7	17,7	1,9	7,5	0,83	13,4	5,4	35,1	1,1	8,7
3	DJX	07/03/1998	M	beclometasona	23/01/2002	2,9	2,9	6,5	7,6	4,3	5,2	15,6	30,5	9,6	11,1	16,5	24	7,2	9,6
4	JGE	06/01/1996	M	fluticasona	Não	0,99	2,4	3,4	5,9	1,6	2	6,2	7,6	1,6	2,7	5,3	23,4	2,5	3,8
5	EAS	28/02/1994	M	budesonida	Não	0,25	3,8	0,75	8	0,3	3,9	0,82	14,6	0,75	4	3,4	7,1	0,35	2,8
6	ABL	13/08/1997	F	beclometasona	Não	0,43	3,6	1,4	4,8	0,63	0,93	1,8	6,4	0,46	10,7	1,3	3,2	2,7	2,9
7	NSO	05/10/1997	F	beclometasona	SI	1,1	1,1	0,79	3,6	6,6	5	20,9	16,7	14,7	6,5	1,7	2	0,64	2,3
8	GFB	18/02/1996	M	fluticasona	12/07/2000	0,5	1,3	1,5	11	0,76	1,6	1,4	7,3	0,4	1,8	1,3	2,8	0,69	1,6
9	LLP	10/12/2000	M	beclometasona	Não	1,3	3,5	2,3	6,2	1,2	2,6	3	10,9	1,6	3,4	5	9,4	2	3,5
10	MAS	03/08/1997	M	beclometasona	Não	0,9	2	1,1	4,5	2,1	4,4	8,2	6,3	2,2	3	1	3,8	1,8	3,5
11	RSS	07/04/1996	M	fluticasona	Não	1,1	5,9	1,7	2,3	1,7	7,9	7,9	24,6	1,1	2,3	4,5	50	1,6	6
12	AAM	03/01/1996	M	beclometasona	Não	0,33	1,9	0,7	0,8	0,52	0,85	1,7	8,3	1	0,97	1,8	1,8	0,72	0,7
13	RHC	18/03/1998	M	beclometasona	11/04/2002	0,87	0,86	2,6	4,5	1,4	5,2	4,4	6,5	1	1,1	2,8	11	1,9	2,9
14	ASO	29/06/1994	M	beclometasona	11/09/2003	1	1,3	1,9	4,9	1,6	1,8	30,4	35,8	5,4	8,2	10,6	10,9	2,7	9,3
15	PFN	25/02/1999	M	beclometasona	Não	0,35	0,32	1,5	5,6	1,2	1,2	2,2	17,7	0,86	1,7	2,1	2,3	3,6	2,1
16	LCM	08/09/1995	M	beclometasona	Não	1,2	1,4	2,1	7,2	7,4	6,7	4,6	18,9	1,8	3,2	9,2	8,9	0,99	2,5
17	SMS	25/12/1998	F	budesonida	Não	0,33	0,6	0,92	1,1	1,2	3	4,4	5,1	7,3	6,2	2,1	3,6	0,65	1,2
18	LSF	12/03/1998	M	beclometasona	Não	0,38	5	0,52	4	0,34	4,8	3,2	5,1	0,52	5,8	1,3	4,3	0,47	4,9



## Anexo D – Pacientes com fibrose cística

FC	Iniciais	Dnasc.	Sexo	VPP23	anti-PS4	pós	anti-PS6	pós	anti-PS8	pós	anti-PS9	pós	anti-PS10	pós	anti-PS11	pós	anti-PS12	pós	anti-PS13	pós	anti-PS14	pós	anti-PS15	pós	anti-PS16	pós	anti-PS17	pós	anti-PS18	pós	anti-PS19	pós	anti-PS20	pós	anti-PS21	pós	anti-PS22	pós	anti-PS23	pós
1	AAG	06/03/1996	M	Não	0,58	2,1	1,4	5,5	1,3	3,4	2,1	6,1	0,67	2,6	4	4,6	1	2,2																						
2	EJZ	29/12/1995	F	SI	1	2,7	2,1	8,6	2,4	10,1	6,3	15,2	2	8,9	3,1	13,7	2,9	10																						
3	JGT	09/06/1999	M	Não	0,8	4,4	2,1	5,0	1,3	7,2	9	12,7	1,1	2,4	4,1	18,7	1,6	12,5																						
4	GPL	25/10/1997	M	10/05/2000	1	2,2	2,6	4,9	1,9	3,6	2,9	6	0,89	1,7	4,7	31,2	1,6	6,4																						
5	GPL	04/10/1996	M	10/05/2000	1,3	5	2,7	21	2,3	10,4	4	27,1	1,7	8,2	4,2	50	2,1	19,5																						
6	MHG	18/02/1997	M	23/08/2002	0,61	5,0	0,81	12,4	1,6	5,0	1,4	5,0	1,1	5,0	4	45	0,99	14,6																						
7	J-P	08/04/1999	F	02/07/2001	0,41	5,5	0,76	12,8	0,47	3,4	4,3	17,4	0,42	3,9	9	21	0,6	4																						
8	HCM	17/05/1999	M	Não	0,5	0,85	0,98	2,1	0,67	0,8	2	6,3	0,74	1,1	1,9	1,9	0,66	0,92																						
9	MIB	22/12/2000	F	28/05/2003	0,72	2,9	1,5	2,7	4,2	5,7	3	4,8	1,5	2	4,1	5,3	3,9	4,7																						
10	LSB	17/01/1996	F	03/02/1998	1,6	9,9	2,5	42,1	3,8	5,5	7,4	13,5	4,2	7,8	12,8	41,8	4,5	14,8																						
11	PEP	06/11/1997	M	16/08/2001	0,93	3,1	1,7	11,8	1,4	2,8	2,3	5,1	0,92	3,9	1,5	1,7	1	3,7																						
12	JRP	15/09/2000	M	23/10/2002	0,53	5,7	1,3	14,3	0,85	4,1	4,9	25,3	0,53	4,8	1,4	13,3	0,94	11,1																						
13	LGG	24/02/1995	F	16/07/1999	0,65	13,3	1,4	10,3	1	7,6	2	5,0	0,82	23,3	2,4	10,6	1,2	33,5																						
14	DLS	18/10/2000	M	Não	0,83	2,9	2,4	2,3	0,82	2,1	3,3	8,9	0,78	2	2,7	3	1,4	3,3																						
15	MFR	10/05/2001	M	Não	0,1	2,3	0,28	5	0,08	1,9	0,3	24,3	0,05	3,4	0,23	0,65	0,11	2,1																						
16	GCS	13/06/2001	F	Não	0,18	2,3	0,48	3,1	1,2	4,7	10,7	27,3	0,62	2	2,7	5,3	0,69	1,1																						
17	GCS	21/02/1999	M	Não	0,85	1,2	1,5	2,9	0,96	1,3	2,3	4	0,9	0,97	3	3,5	1,3	1,5																						
18	VZD	28/07/1998	M	25/08/2000	0,35	1,7	0,78	2,8	0,74	1,7	2,2	16,4	0,32	1,6	1,1	11,6	0,53	1,5																						

## REFERÊNCIAS

Alpern ER, Alessandrine EA, McGowan KL, Bell LM, Shaw KN. Serotype prevalence of Occult pneumococcal bacteremia. *Pediatrics*. 2001;108:23-.

Alvarez AE, Ribeiro AF, Hesselm G, Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Cystic fibrosis at a Brazilian center of excellence clinical and laboratory characteristics of 104 patients and their association with genotype and disease severity. *J Pediatr*. 2004;80(5):371-9.

American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases. Policy Statement: Recommendations for the use of pneumococcal infections, including the use of pneumococcal conjugate vaccine (Pneumovax), pneumococcal polysaccharide vaccine, and antibiotic prophylaxis. *Pediatrics*. 2000;106:362-6.

Baldy JLS. Estreptococcias. In Veronese: tratado de infectologia. 3ª Ed. Focaccia R, editor científico. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

Bedran MBM, Camargos PAM, Leocádio Filho G, Bedran RM, Najjar HC. Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to penicillin in the State of Minas Gerais, Brazil from 1997-2004. *Braz J Infect Dis*. 2005;9(5):390-7.

Bellanti JA, Zeligs BJ. Current Concepts of Immune Interventions in Children with Respiratory Diseases. *Respiration*. 1994;61 Suppl 1:3-7.

Berezin EN, Cardenuto MD, Ferreira LL, Otsuka M, Guerra ML, Brandileone MCC. Distribution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes in nasopharyngeal carriage and in invasive pneumococcal disease in São Paulo, Brazil. *Pediatr Infect Dis J*. 2007;26(7):643-645.

Bisgaard H, Hermansen MN, Buchvald F, Loland L, Halkjaer LB, Bonnelykke K, Brasholt M, Heltberg A, Vissing NH, Thorsen SV, Stage M, Pipper CB. Childhood asthma bacterial colonization of airway in neonates. *N Engl J Med*. 2007;357(15):1487-95.

Black RE, Morris SS, Bryce J. Where and why are 10 million children dying every year? *Lancet* 2003;361:2226-34.

Black S, Eskola J, Whitney C, Shinefield H. Pneumococcal Conjugate Vaccine and Pneumococcal Common Protein Vaccines. Chapter 23. In Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA. *Vaccines*. 5th ed. Saunders Elsevier. 2008.

Black S, Shinefield H, Baxter R, Austrian R, Bracken L, Hansen J, Lewis E, Fireman B. Postlicensure surveillance for pneumococcal invasive disease

after use of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in northern California Kaiser Permanente. *Pediatr Infect Dis J.* 2004;23:485-9.

Black S, Shinefield H, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen JR, Elvin L, Ensor KM, Hackell J, Siber G, Malinoski F, Madore D, Chang I, Kohberger R, Watson W, Austrian R, Edwards K and the Northern California Kaiser Permanente Vaccine Study Center Group. Efficacy, safety, and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19:187-95.

Bogaert D, de Groot R, Hermans PWM. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet.* 2004;4:144-54.

Brandileone MCC, Casagrande ST, Guerra MLLS, Zanella RC, Andrade ALSS, Di Fabio JL. Increase in numbers of  $\beta$ -lactam-resistant invasive *Streptococcus pneumoniae* in Brazil and the impact of conjugate vaccine coverage. *J Med Microbiol.* 2006;55:567-74.

Brandileone MCC, Vieira VSD, Casagrande ST, Zanella RC, Guerra MLLS, Bokermann S, de Moraes JC, Baldacci ER, Chamone CB, Oliveira MAA, de Matos DGC, Arruda TMC, Coelho MFC, D'Avila SM, Dos Santos AR, Di Fabio JL. Prevalence of serotypes and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from Brazilian children with invasive infections. *Microb Drug Resist.* 1997;3(2):141-6.

Burns MW. The pattern of bacterial infection in bronchial diseases in Australia. A serological and bacteriological survey. *Med J Aust.* 1972;2(13):697-701.

Camargos P, Fischer GB, Mocelin H, dias C, Ruvinsky R. Penicillin resistance and serotyping of *Streptococcus pneumoniae* in Latin America. *Paediatr Respir Rev.* 2006;7:209-14

Carvalhanas TRMP, Brandileone MCC, Zanella RC. Meningites Bacterianas. *Boletim Epidemiológico Paulista.* Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD). Centro de Vigilância Epidemiológica. SP. n. 17. 2005.

Centers for Disease Control and Prevention. Immunization Schedules. 2009. Available from: <http://www.cdc.gov/vaccines/recs/schedules/default.htm>.

Centers for Disease Control and Prevention. Pneumococcal Disease. In *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. (Pink Book).* Atkinson W, Wolfe S, Hamborsky J, McIntyre L, eds. 11th ed. Washington DC: Public Health Foundation, 2009. 217-230.

Centers for Disease Control and Prevention. Preventing Pneumococcal Disease Among Infants and Young Children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2000;49(RR-9):1-38.



Centro de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Meningites. Casos, Coef. De Incidência, Óbitos, e Letalidade de Meningites Segundo Etiologias. Estado de São Paulo, 2004 a 2009. Disponível em: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/meni0409\\_cobetiol.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/meni0409_cobetiol.htm).

Cheung YB, Zaman SM, Nsekpong ED, Van Beneden CA, Adegbola RA, Greenwood B, Cutts FT. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Gambian children Who participated in a 9-valent pneumococcal conjugate vaccine Trial and in their younger siblings. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28(11):00-00.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). MIC interpretive Standards (mcg/ml) for *Streptococcus pneumoniae*. In: Performance Standards for antimicrobial testing; Eighteenth Informational Supplement. CLSI/NCCLS M100-S18. 2008.

Conception NF, Frasch CE. Pneumococcal type 22F polysaccharide absorption improves the specificity of a pneumococcal-polysaccharide enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001;8(2):266-72.

Cystic Fibrosis Foundation. Annual Report. 2008. Available from: [www.cff.org](http://www.cff.org).

Cystic Fibrosis Foundation. Patient Registry. Annual Data Report. 2007.  
Available from: [www.cff.org](http://www.cff.org).

Dagan R, Givon-Lavi N, Zamir O, Sikuler-Cohen M, Guy L, Janco J, Yagupsky P, Fraser D. Reduction of nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* after administration of a 9-valent pneumococcal conjugate vaccine to toddlers attending Day care centers. *J Infect Dis*. 2002;185:927-36.

Dagan R. Impact of pneumococcal conjugate vaccine on infectious caused by antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15(Suppl 3):16-20.

De Roux A, Marx A, Burkhardt O, Schweiger B, Borkowski A, Banzhoff A, Pletz MW, Lode H. Impact of corticosteroids on the immune response to a MF59-adjuvanted influenza vaccine in elderly COPD-patients. *Vaccine*. 2006;24(10):1537-42.

De Schutter I, Malfroot A, Piérard D, Lauwers S. Pneumococcal Serogroups and serotypes in severe pneumococcal pneumonia in Belgian children: Theoretical coverage of the 7-valent and 9-valent pneumococcal conjugate vaccines. *Pediatr Pulmonol*. 2006;41:765-70.

Del Campo R, Morosini MI, de La Pedrosa EGG, Fenoll A, Muñoz-Almagro C, Máiz L, Baquero F, Cantón R. Population Structure, antimicrobial resistance, and mutation frequencies of *Streptococcus pneumoniae* isolates from Cystic Fibrosis patients. *J Clin Microbiol.* 2005;43(5):2207-14.

Di Fabio JL, Castañeda E, Agudelo CI, De La Hoz F, Hortal M, Camou T, Echániz-Avilés G, Barajas MNC, Heitmann I, Hormazabal JC, Brandileone MCC, Vieira VSD, Regueira M, Ruvinsky R, Corso A, Lovgren M, Talbot JÁ, De Quadros C, The PAHO SIREVA-VIGÍA Group. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and penicillin susceptibility in Latin America, Sireva-Vigía Group, 1993 to 1999. *Pediatr Infect Dis J.* 2001;20:959-67.

Doern GV, Brogden-Torres B. Optimum use of selective plated media in primary processing of respiratory tract specimens from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol.* 1992;30(10):2740-42.

Fedson DS, Musher DM, Eskola J. Pneumococcal Vaccine. Chapter 22. In Plotkin SA, Orenstein WA. *Vaccines*. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 1999.

Feikin DR, Klugman KP. Historical changes in pneumococcal serogroup distribution: implications for the era of pneumococcal conjugate vaccines. *Clin Infect Dis.* 2002;35:547-55.

Fireman B, Black SB, Shinefield HR, Lee J, Lewis E, Ray P. Impact of the pneumococcal conjugate vaccine on otitis media. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:10-6.

Gabastou JM, Agudelo CI, Brandileone MCC, Castañeda E, Lemos APS, Di Fabio JL, et al. Caracterización de aislamientos invasivos de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* en América Latina y El Caribe: SIREVA II, 2000–2005. *Rev Panam Salud Publica*. 2008;24(1):1–15.

Garside JP, Kerrin DP, Brownlee KG, Gooi HC, Taylor JM, Conway SP. Low gammaglobulin subclass 2 levels in paediatric cystic fibrosis patients followed over a 2-year period. *Pediatr Pulmonol*. 2007;42:125-30.

Global Initiative for Asthma – GINA. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. NIH. National Heart, Lung, and Blood Institute. Revised 2002. Available from: [www.ginasthma.com](http://www.ginasthma.com).

Global Initiative for Asthma – GINA. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. NIH. National Heart, Lung, and Blood Institute. Updated 2008. Available from: [www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org).

Hausdorff WP, Bryant J, Paradiso PR, Siber GR. Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: implications for conjugate vaccine formulation and use, part I. *Clin Infect Dis*. 2000;30:100-21.

Hausdorff WP. Invasive pneumococcal disease in children: geographic and temporal variations in incidence and serotype distribution. *Eur J Pediatr.* 2002;161:S135-9.

Henckaerts I, Durant N, De Grave D, Schuerman L, Poolman J. Validation of a routine opsonophagocytosis assay to predict invasive pneumococcal disease efficacy of conjugate vaccine in children. *Vaccine.* 2007;25:2518-27.

Hortal M, Lovgren M, De La Hoz F, Agudelo CI, Brandileone MC, Camou T, Casagrande S, Castañeda E, Corso A, Echaniz G, Hormazabal JC, Pace J, Palacio R, Perez-Giffoni G, Ruvinsky R, Di Fabio JL, PAHO SIREVA-Vigía Study Group. Antibiotic Resistance in *Streptococcus pneumoniae* in six Latin American countries: 1993-1999. Surveillance. *Microb Drug Resist.* 2001;7(4):391-401.

Hortal M, Ruvinsky R, Rossi A, Agudelo CI, Castañeda E, Brandileone MC, Camou T, Palacio R, Echaniz G, Di Fabio JL. Impacto de *Streptococcus pneumoniae* en las neumonías Del niño latinoamericano. Grupo SIREVA-Vigía. *Rev Panam Salud Publica.* 2000;8(3):185-95.

Huss A, Scott P, Stuck AE, Trotter C, Egger M. Efficacy of pneumococcal vaccination in adults: a meta-analysis. *CMAJ.* 2009;180:48-58.

Jacobs MR, Good CE, Beall B, Bajaksouzian S, Windau AR, Whitney CG. Changes in serotypes and antimicrobial susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* strains in Cleveland: a quarter century of experience. *J Clin Microbiol.* 2008;46(3):982-90.

Jódar L, Butler J, Carlone G, Dagan R, Goldblatt D, Käyhty H, Klugman K, Plikaytis B, Siber G, Kohberger R, Chang I, Cherian T. Serological criteria for evaluation and licensure of new pneumococcal conjugate vaccine formulations for use in infants. *Vaccine.* 2003;21:3265-72.

Juhn YJ, Kita H, Yawn BP, Boyce TG, Yoo KH, McGree ME, Weaver AL, Wollan P, Jacobson RM. Increased risk of serious pneumococcal disease in patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;122(4):719-23.

Klugman KP, Madhi SA, Huebner RE, Kohberger R, Mbelle N, Pierce N. A Trial of a 9-valent pneumococcal conjugate vaccine in children with and those without HIV infection. *N Engl J Med.* 2003;349:1341-8.

Koskela M. Serum antibodies to pneumococcal C polysaccharide in children: response to acute pneumococcal otitis media or to vaccination. *Pediatr Infect Dis J.* 1987;6:519-26.

Kraft M. The role of bacterial infections in asthma. *Clin Chest Med.* 2000;21(2):301-13.

Lahiri T, Waltz DA. Preimmunization anti-pneumococcal antibody levels are protective in a majority of patients with cystic fibrosis. *Pediatrics*. 2001;108(4):E62.

Lakshman R, Murdoch C, Race G, Burkinshaw R, Shaw L, Finn A. Pneumococcal nasopharyngeal carriage in children following heptavalent pneumococcal conjugate vaccination in infancy. *Arch Dis Child*. 2003;88:211-4.

Landesman SH, Smith PM, Schiffman G. Pneumococcal vaccine in elderly patients with COPD. *Chest*. 1983;84(4):433-5.

Lee HJ, Kang JH, Henrichsen J, Konradsen HB, Jang SH, Shin HY, Ahn HS, Choi Y, Hessel L, Nam SW. Immunogenicity and safety of a 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in healthy children and in children at increased risk of pneumococcal infection. *Vaccine*. 1995;13(16):1533-8.

Lee TA, Weaver FM, Weiss KB. Impact of pneumococcal vaccination on pneumonia rates in patients with COPD and asthma. *J Gen Intern Med*. 2007;22:62-7.

Leibovitz E. The effect of vaccination on *Streptococcus pneumoniae* resistance. *Curr Infect Dis Rep*. 2008;10:182-91.

Lepoutre A, Varon E, Georges S, Gutmann L, Lévy-Bruhl D. Impact of infant pneumococcal vaccination on invasive pneumococcal diseases in France, 2001-2006. *Eurosurveillance*. 2008;13(27-39):367-372. Available from: [www.eurosurveillance.org](http://www.eurosurveillance.org).

Malfroot A, Adam G, Ciofu O, Döring G, Knoop C, Lang AB, Van Damme P, Dab I, Bush A. Immunisation in the current management of cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros*. 2005;4:77-87.

Malfroot A, Verhaegen J, Dubru JM, Kerschaver EV, Leyman S. A cross-sectional survey of the prevalence of *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal carriage in Belgian infants attending Day care centres. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10:797-803.

Masten B, McWilliams B, Lipscomb M, Archibeque T, Qualls C, Kelly HW, Schuyler M. Immune response to hepatitis B vaccine in asthmatic children. *Pediatr Pulmonol*. 2003;36(6):522-8.

May JR, Herrick NC, Thompson D. Bacterial infection in cystic fibrosis. *Arch Dis Child*. 1972;47:908-13.

Mbelle N, Huebner RE, Wasas AD, Kimura A, Chang I, Klugman KP. Immunogenicity and impact on nasopharyngeal carriage of a nonavalent pneumococcal conjugate vaccine. *J Infect Dis*. 1999;180:1171-6.



Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais. 3a ed. 2006.

Muñoz-Almagro C, Jordan I, Gene A, Latorre C, Garcia-Garcia JJ, Pallares R. Emergence of Invasive Pneumococcal Disease Caused by Nonvaccine Serotypes in the Era of 7-Valent Conjugate Vaccine. *Clin Infect Dis*. 2008;46:174-82.

Nascimento-Carvalho CM, Freitas-Souza LS, Moreno-Carvalho OA, Alves NN, Caldas RM, Barberino MG, Duarte J, Brandão MA, Mendonça DR, Silva A, Guerra ML, Brandileone MC, Di Fabio JL. Invasive pneumococcal strains isolated from children and adolescents in Salvador. *J Pediatr (Rio J)*. 2003;79(3):209-14.

Nascimento-Carvalho CMC, Lopes AA, Gomes MDBS, Magalhães MP, Oliveira JR, Vilas-Boas AL, Ferracuti R, Brandileone MCC, Guerra MLLS, Alves NN, Athayde LA, Caldas RM, Barberino MGMA, Duarte J, Brandão MAS, Rocha H, Benguigui Y, Di Fabio JL. Community Acquired pneumonia among pediatric outpatients in Salvador, northeast Brazil, with emphasis on the role of pneumococcus. *Braz J Infect Dis*. 2001;5(1):13-20.

O'Brien KL, Moulton LH, Reid R, Weatherholtz R, Oski J, Brown L, Kumar G, Parkinson A, Hu D, Hackell J, Chang I, Kohberger R, Siber G, Santosham M.

Efficacy and safety of seven-valent conjugate pneumococcal vaccine in American Indian children: group randomised Trial. *Lancet*. 2003;362:355-61.

O'Brien KL, Millar EV, Zell ER, Bronsdon M, Weatherholtz R, Reid R, et al. Effect of pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal colonization among immunized and unimmunized children in a community-randomized trial. *J Infect Dis*. 2007;196:1211-20.

Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS). Informe regional de SIREVA II, 2006: datos por país y por grupos de edad sobre las características de los aislamientos de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*, en procesos invasores. THS/EV – 2008;001:1-286.

Örtqvist, A. Pneumococcal vaccination: current and future issues. *Eur Respir J*. 2001;18:184-95.

Overturf GD, the Committee on Infectious Disease, Committee on Infectious Disease 1999-2000, Ex-Officio, Liaisons, Consultant and Staff. Technical Report: Prevention of Pneumococcal Infections, Including the Use of Pneumococcal Conjugate Vaccines and Antibiotic Prophylaxis. American Academy of Pediatrics. *Pediatrics*. 2000;106:367-76.

Paris K, Sorensen RU. Assessment and clinical interpretation of polysaccharide antibody responses. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2007;99:462-4.

Philit F, Etienne J, Calvet A, Mornex JF, Trillet V, Aymard M, Brune J, Cordier JF. Agents infectieux associés aux décompensations des bronchopathies chroniques obstructives et aux attaques d'asthme. *Rev Mal Respir.* 1992;9(2):191-6.

Pneumococcal Molecular Epidemiology Network (PMEN). 2009. Available from : [http://www.sph.emory.edu/PMEN/pmen\\_ww\\_spread\\_clones.html](http://www.sph.emory.edu/PMEN/pmen_ww_spread_clones.html).

Reinert RR. The antimicrobial resistance profile of *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(Suppl. 3):7-11.

Reis FJC, Damaceno N. Fibrose Cística. *J Pediatr.* 1998;74(Supl. 1):S76-94.

Rose MA, Gruendler M, Schubert R, Kitz R, Schulze J, Zielen S. Safety and immunogenicity of sequential pneumococcal immunization in preschool asthmatics. *Vaccine.* 2009;27:5259-64.

Rose MA, Schubert R, Kujumdshiev S, Kitz R, Zielen S. Immunoglobulins and immunogenicity of pneumococcal vaccination in preschool asthma. *Int J Clin Pract.* 2006;60(11):1425-31.

Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr*. 1998;132(4):589-95.

Rückinger S, Von Kries R, Reinert RR, van der Linden M, Siedler A. Childhood invasive pneumococcal disease in Germany between 1997 and 2003: variability in incidence and serotype distribution in absence of general pneumococcal conjugate vaccination. *Vaccine*. 2008;26(32):3984-6.

Santana MA, Matos E, Fontoura MS, Franco R, Barreto D, Lemos ACM. Prevalence of pathogens in Cystic Fibrosis patients in Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2003;7(1):69-72.

Schrag SJ, Beall B, Dowell S. Resistant pneumococcal infections. *World Health Organization*. 2001.

Sheikh A, Alves B, Dhami S. Pneumococcal vaccine for asthma. *Cochrane Database of Systematic Reviews 2002*, Issue 1. Art.No.:CD002165. DOI: 10.1002/14651858.CD002165.

Siber GR, Chang I, Baker S, Fernsten P, O'Brien KL, Santosham M, Klugman KP, Madhi SA, Paradiso P, Kohberger R. Estimating the protective concentration of anti-pneumococcal capsular polysaccharide antibodies. *Vaccine*. 2007;25(19):3816-26.

Siegrist CA. Vaccine Immunology. Chapter 2. In Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA. *Vaccines*. 5th ed. Saunders Elsevier. 2008.

Silk H, Zora J, Goldstein J, Tinkelman D, Schiffman G. Response to pneumococcal immunization in children with or without recurrent infections. *J Asthma*. 1998;35(1):101-12.

Singleton RJ, Hennessy TW, Bulkow LR, Hammitt LL, Zulz T, Hurlburt DA, et al. Invasive Pneumococcal Disease Caused by Nonvaccine Serotypes Among Alaska Native Children With High Levels of 7-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine Coverage. *JAMA*. 2007;297:1784-1792.

Sorensen RU, Hidalgo H, Moore C, Leiva LE. Post-immunization pneumococcal antibody titers and IgG subclasses. *Pediatr Pulmonol*. 1996;22:167-73.

Stein KE. Thymus-independent and thymus-dependent responses to polysaccharide antigens. *J Infect Dis*. 1992;165 (suppl):S49-52.

Talbot TR, Hartert TV, Mitchel E, Halasa NB, Arbogast PG, Poehling KA, Schaffner W, Craig AS, Griffin MR. Asthma as a risk factor for invasive pneumococcal disease. *N Engl J Med*. 2005;352:2082-90.

Thornburn AN, Hansbro PM, Gibson PG. Pneumococcal Vaccines for Allergic Airways Diseases. *Expert Opin Biol Ther.* 2009;9(5):621-.

Tsai CJ, Griffin MR, Nuorti JP, Grijalva CG. Changing epidemiology of pneumococcal meningitis after the introduction of pneumococcal vaccine in the United States. *Clin Infect Dis.* 2008;46:1664-72.

Tuomanen EI, Austrian R, Masure HR. Mechanisms of disease: pathogenesis of pneumococcal infection. *N Engl J Med.* 1995;332:1280-4.

Valenzuela MT, O'Loughlin R, De La Hoz F, Gomez E, Constenla D, Sinha A, Valencia JE, Flannery B, De Quadros CA. The burden of pneumococcal disease among Latin American and Caribbean children: review of the evidence. *Rev Panam Salud Publica.* 2009;25(3):270-9.

Vieira AC, Gomes MC, Rolo Filho M, Eudes Filho J, Bello EJM, de Figueiredo RB. *Streptococcus pneumoniae*: a study of strains isolated from cerebrospinal fluid. *J Pediatr (Rio J).* 2007;83(1):71-8.

Wong K, Roberts MC, Owens L, Fife M, Smith AL. Selective media for the quantitation of bacteria in cystic fibrosis sputum. *J Med Microbiol.* 1984;17:113-9.

World Health Organization (WHO). Acute Respiratory Infections.- Update  
February 2009. Available from:  
[http://www.who.int/vaccine\\_research/diseases/ari/en/](http://www.who.int/vaccine_research/diseases/ari/en/).

World Health Organization (WHO). Make every mother and child count.  
Geneva. The World Health Report. 2005.

World Health Organization. Recommendations for the production and control  
of pneumococcal conjugate vaccines. *WHO Technical Report Series*. 2005.  
No 927 Annex 2.

Yankaskas JR, Marshall BC, Sufian B, Simon RH, Rodman D. Cystic fibrosis  
adult care: consensus conference report. *Chest*. 2004;125:1S-39S.