

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

PAULA CAROLINA BEJO WOLKERS

**IMPACTO DOS NOVOS PONTOS DE CORTE DE
SENSIBILIDADE NAS TAXAS DE RESISTÊNCIA
ANTIMICROBIANA DE CEPAS INVASIVAS DE PNEUMOCOCO
RECUPERADAS DE PACIENTES COM PNEUMONIA**

UBERLÂNDIA

2009

PAULA CAROLINA BEJO WOLKERS

**IMPACTO DOS NOVOS PONTOS DE CORTE DE
SENSIBILIDADE NAS TAXAS DE RESISTÊNCIA
ANTIMICROBIANA DE CEPAS INVASIVAS DE PNEUMOCOCCO
RECUPERADAS DE PACIENTES COM PNEUMONIA**

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

Orientador: Prof. Dr. Orlando Cesar Mantese

UBERLÂNDIA

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

- W862i Wolkers, Paula Carolina Bejo, 1983-
Impacto dos novos pontos de corte de sensibilidade nas taxas de resistência antimicrobiana de cepas invasivas de pneumococo recuperadas de pacientes com pneumonia / Paula Carolina Bejo Wolkers. - 2009. 54 f.: il.
Orientador: Orlando Cesar Mantese.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.
Inclui bibliografia.
1. Bacteriologia médica - Teses. 2. Streptococcus pneumoniae - Teses. I. Mantese, Orlando Cesar. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 579.61

Paula Carolina Bejo Wolkers

Impacto dos Novos Pontos de Corte de Sensibilidade nas Taxas de Resistência Antimicrobiana de Cepas Invasivas de Pneumococo Recuperadas de Pacientes com Pneumonia

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

Orientador: Prof. Dr. Orlando Cesar Mantese

Uberlândia, 29 de maio de 2009

Banca Examinadora

Prof. Dr. Eitan Naaman Berezin – Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

Prof. Dr. Gesmar Rodrigues Silva Segundo - UFU

Prof. Dr. Marcelo Simão Ferreira - UFU

Prof. Dr. Carlos Henrique Martins - UFU

Prof. Dr. Paulo Gontijo - UFU

Dedico este trabalho às pessoas que amo e que sempre me apoiaram e estiveram ao meu

lado, com todo meu amor e gratidão

Aos meus pais, **Paulo e Cristina;**

Ao meu esposo **Rodrigo.**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por eu estar aqui;

Aos meus pais, por tudo o que sou;

Ao meu esposo e aos seus pais, pela paciência, carinho, dedicação, força e cumplicidade;

Aos meus familiares, a minha irmã e aos amigos, pelo carinho, força e compreensão;

Ao Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Ciências da saúde, Prof. Dr. Carlos Henrique, aos demais professores e à secretária do Curso, Elaine de Fátima Silvério, pela boa vontade e dedicação, por terem contribuído para a minha formação, pela ajuda nos momentos em que necessitei;

Aos Colegas do Curso de Pós-Graduação, em especial, a Jackeline Rodrigues Álvares e a Tatiany Calegari, pela amizade e ajuda nos momentos difíceis;

Aos chefes e à toda equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia em especial à equipe do laboratório de Bacterologia, pela colaboração neste trabalho;

À Prof^a Dr^a Maria Cristina de Cunto Brandileone e a toda equipe do Instituto Adolfo Lutz, pela fundamental contribuição na execução deste estudo;

À diretoria e à gerência de enfermagem do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, em especial, à Diretora, Selma Andrade Coelho, e à Gerente, Adelaide Taitson Cardoso, pelo apoio, compreensão e paciência.

Aos colegas de trabalho do Hospital de Clínicas, principalmente, a toda a equipe da UTI – Pediátrica e Ambulatório de Pediatria da Universidade Federal de Uberlândia, em especial, ao Dr. Allan de Paula, às enfermeiras Luci Mazer, Simonia Mara de Oliveira, pela amizade, compreensão e colaboração;

Ao meu orientador, Dr. Orlando César Mantese, verdadeiro mestre, de quem nunca me esquecerei e a quem para sempre admirarei, por todas as suas qualidades como orientador, como profissional e, principalmente, como ser humano.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar o impacto dos novos pontos de corte de sensibilidade à penicilina nas taxas de resistência de cepas invasivas de pneumococo, obtidas de pacientes internados com pneumonia. Cepas invasivas de pneumococo isoladas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, MG, a partir de amostras de pacientes internados, foram identificadas e enviadas ao Instituto Adolfo Lutz (IAL), em São Paulo, SP, para confirmação da identificação, sorotipagem e determinação da sensibilidade aos antimicrobianos. De abril de 1999 a dezembro de 2008, foram enviadas ao IAL 330 cepas invasivas de pneumococo, sendo 195 (59%) provenientes de pacientes com diagnóstico de pneumonia. Destas, vinte foram excluídas e 175 analisadas: 89 (50,9%) eram do sexo masculino e a idade variou de um ano a 86,8 anos, com média de 24,6 anos e mediana de 4,4 anos; as fontes de recuperação foram sangue (110 amostras [62,9%]) e líquido pleural (65[37,1%]). Foram detectadas 43 cepas oxacilina-resistentes (24,6% das 175) e, segundo os critérios do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (2007), (concentração inibitória mínima [CIM] $\leq 0,06\mu\text{g/mL}$ para sensibilidade [S], 0,12 a $1\mu\text{g/mL}$ para resistência intermediária [RI] e $\geq 2\mu\text{g/mL}$ para resistência plena [RP]) 27 cepas apresentaram RI (15,4%) e 12 RP (6,9%) para penicilina. De acordo com critérios atualmente propostos pelo *CLSI*, em 2008 ($\leq 2\mu\text{g/mL}$ para S, $4\mu\text{g/mL}$ para RI e $\geq 8\mu\text{g/mL}$ para RP), apenas uma cepa confirmou a resistência (RI) à penicilina. Foi detectada sensibilidade diminuída ao cotrimoxazol (64%), à tetraciclina (17,1%), à eritromicina (8,6%), à clindamicina (8,6%) e à ofloxacina (0,6%). A resistência (RI) à ceftriaxona foi detectada em uma cepa, simultaneamente resistente à penicilina. Não foi observada resistência a cloranfenicol, rifampicina ou vancomicina. Com a aplicação dos novos pontos de corte para sensibilidade *in vitro*, as taxas de resistência à penicilina caíram 97,3%, de 22,4% para 0,6%.

Palavras-chave: Pneumococo, Resistência antimicrobiana.

ABSTRACT

The aim of this search was to evaluate the impact of penicillin and ceftriaxone new susceptibility breakpoints in reporting resistance of pneumococcus invasive strains obtained from patients hospitalized for pneumonia. Pneumococcus strains obtained from normally sterile fluids from pneumonic patients were isolated and identified at Uberlândia Federal University Clinical Analysis and forwarded to Adolfo Lutz Institute, in São Paulo, SP, for further identification, serotyping and antimicrobial susceptibility determination. From April 1999 to December 2008, 330 invasive pneumococcus strains were forwarded to Adolfo Lutz Institute. 195 of them were obtained from pneumonic patients. After exclusion of the invalid samples, 175 strains were analyzed: patients were from one to 86.8 years old (mean of 24.6 years and median of 4.4 years), 89 (50.9%) male and the strains were isolated from blood (110 occasions [62.9%]) and pleural fluid (65 occasions [37.1%]). According to the former breakpoints to define penicillin susceptibility (minimum inhibitory concentration [MIC] $\leq 0.06 \mu\text{g/mL}$ for susceptible [S], 0.12 to $1 \mu\text{g/mL}$ for intermediate resistance [IR] and $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ for plain resistance [PR]), there were 27 strains IR (15.4%) and 12 PR (6.9%) amongst 42 strains (24%) oxacillin-resistant. According to the new breakpoints ($\leq 2 \mu\text{g/mL}$ for S, $4 \mu\text{g/mL}$ IR and $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ for PR), only one strain showed resistance (RI) to penicillin. Decreased sensibility was detected to sulfamethoxazole-trimethoprim (64%), to tetracycline (17.1%), to erythromycin (8.6%), to clindamycin (8.6%) and to ofloxacin (0.6%). There was only one strain resistant (IR) to ceftriaxone, simultaneously resistant to penicillin. The isolates were all susceptible to chloramphenicol, rifampin and vancomycin. When the new criteria of breakpoints were applied, decreased susceptibility rate declined in 97.3%.

Key words: Pneumococcus, Antimicrobial resistance.

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1.	Interpretação da sensibilidade do pneumococo à penicilina, segundo critério do <i>Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)</i> 2007 e CLSI, 2008.	29
Tabela 2.	Relação das cepas de pneumococo oxacilina-resistentes, obtidas de pacientes com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo a sensibilidade à penicilina.	37
Tabela 3	Taxas de resistência à penicilina, segundo os critérios do <i>Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)</i> , 2007 e CLSI, 2008, em cepas de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008.	39
Tabela 4.	Distribuição de amostras de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo a resistência aos outros antimicrobianos.	39
Gráfico 1.	Distribuição de amostras de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo faixa etária.	35
Gráfico 2	Distribuição de amostras de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo ano de obtenção. ¹ Abril a Dezembro	35
Gráfico 3	Distribuição de amostras de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo meses do ano	36
Gráfico 4	Distribuição de amostras de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo a fonte de recuperação.	36

LISTA DE ABREVIATURAS

AAP	-	<i>American Academy of Pediatrics</i>
ATP		Adenosina Trifosfato
CDC	-	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CEP	-	Comitê de Ética e Pesquisa
CLSI		<i>Clinical and laboratory Standards Institute</i>
CIM		Concentração Inibitória Mínima
DNA	-	Ácido Desoxirribonucléico
EUA	-	Estados Unidos da América
HC-UFU	-	Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
HIV	-	<i>Human immunodeficiency virus</i>
IAL		Instituto Adolfo Lutz
IgM	-	Imunoglobulina M
MG	-	Minas Gerais
NCCLS	-	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
OMS	-	Organização Mundial de Saúde
OPAS		Organização Pan-Americana de Saúde
Pnc7	-	Vacina Pneumocócica Conjugada 7-valente
PLP	-	Proteína Ligadora de Penicilina
RI	-	Resistência Intermediária

RP - Resistência Plena

S Sensível

SBIM Sociedade Brasileira de Imunizações

SIREVA - Sistema Regional de Vacinas

SP - São Paulo

UFU Universidade Federal de Uberlândia

WHO *World Health Organization*

LISTA DE SÍMBOLOS

CO₂ - Dióxido de Carbono

°C - Graus Celsius

mL Mililitro

mm Milímetro

µg Micrograma

µm Mícron

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
	1.1 – A bactéria	14
	1.2 – Aspectos epidemiológicos, patogênicos e clínicos.....	16
	1.3 – Fatores de risco para colonização e adoecimento.....	19
	1.4 – Profilaxia.....	20
	1.5 – Tratamento e Resistência Antimicrobiana.....	24
2	– OBJETIVOS	30
3	– CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
	3.1 – Casuística	31
	3.2 – Materiais e métodos.....	32
4	– RESULTADOS	34
5	– DISCUSSÃO	40
6	– CONCLUSÕES	43
	– REFERÊNCIAS	44
	– APÊNDICE A (Termo de Consentimento).....	51
	– APÊNDICE B (Termo de Consentimento para menores de 18 anos).....	52
	– ANEXO A (Ficha Clínica).....	53

1. INTRODUÇÃO

O *Streptococcus pneumoniae*, o pneumococo, é um dos agentes mais frequentes de pneumonia, otite média aguda, meningite e sinusite. (*AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. PNEUMOCOCCAL INFECTIONS* – AAP, 2006; FEDSON; MUSER; EKOLA 1999; OKEKE *et al.*, 2005a). É responsável por elevadas taxas de morbimortalidade em crianças abaixo de cinco anos e em adultos acima de 65 anos, particularmente nos países em desenvolvimento (*CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC*, 2008; FEDSON; MUSER; EKOLA, 1999).

A doença pneumocócica é endêmica em todo o mundo; entretanto, epidemias podem ocorrer, na maioria das vezes, em instituições fechadas, como escolas e acampamentos militares (KALIN, 1998). A pneumonia comunitária, a forma mais comum de doença pneumocócica em adultos, possui quadro clínico e radiológico, em geral, sugestivo (MANDELL *et al.*, 2007; SHANN, 1995).

A evolução clínica da infecção pneumocócica é influenciada por diversos fatores, tais como idade, doença de base, topografia, gravidade da infecção e a adequação do tratamento instituído (FEDSON; MUSER; EKOLA 1999). O tratamento para as infecções pneumocócicas é baseado na antibioticoterapia inicial que, em geral, é empírica quanto à etiologia e à sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos (JACOBS *et al.*, 2003). Diante do isolamento da bactéria em cultura e do antibiograma, a antibioticoterapia pode ser, então, devidamente ajustada (CDC, 200-; JACOBS *et al.*, 2003).

A partir do início da década de 1940, com a liberação da penicilina para uso clínico, ocorreu um declínio na mortalidade por infecção pneumocócica, quando, então, as cepas invasivas de pneumococo eram uniformemente sensíveis à penicilina (AUSTRIAN, 1963; AUSTRIAN *et al.*, 1976; FEDSON; MUSER; ESKOLA, 1999; TEELE, 1998). Desde essa data, a penicilina tem sido a droga de escolha para muitas doenças pneumocócicas (AAP, 2006; FEDSON; MUSER, 1994); entretanto, com a descrição crescente de cepas resistentes à penicilina, a partir da década de 1980, esquemas alternativos têm sido propostos (APPELBAUM, 1996; HEFFELFINGER *et al.*, 2000; KAPLAN, 2004; OKEKE *et al.*, 2005a).

A resistência antimicrobiana é particularmente premente nos países em desenvolvimento, em parte devido ao elevado número de infecções, ao uso abusivo de antimicrobianos e à vigilância ineficaz das taxas de resistência, o que acarreta consideráveis encargos econômicos e sociais (OKEKE *et al.*, 2005b).

Com o objetivo de monitorar o padrão de resistência aos antimicrobianos e o perfil de sorotipos de pneumococo na América Latina, foi criado o Projeto SIREVA (Sistema Regional de Vacinas) pela Organização Pan-americana de Saúde (OPAS), em 1993, com a participação de seis países, entre eles o Brasil. A partir de 2004, o programa foi ampliado para abranger outras bactérias (*Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis*) e outros países (número atual de vinte); passou a ser designado SIREVA II (OPAS, 2007; OPAS, 2008a). Trata-se de um programa de vigilância laboratorial, no qual são analisadas (contabilizadas e descritas) características laboratoriais, tais como o sorotipo e o padrão de resistência *in vitro* das cepas das bactérias recuperadas (NASCIMENTO-CARVALHO *et al.*, 2001; OPAS, 2007; OPAS, 2008a). Desde abril de 1999, Uberlândia, MG, participa da rede nacional do Projeto SIREVA, por meio do envio de cepas de pneumococo isoladas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas de Uberlândia (HC-UFU) para o Instituto Adolfo Lutz (IAL), em São Paulo, SP.

Os países são incentivados a realizar uma monitorização adequada para a doença pneumocócica, a fim de estabelecer uma medida de referência da doença e acompanhar o impacto da vacinação, inclusive diante da possibilidade das vacinas conjugadas resultarem em mudanças significativas na prevalência de sorotipos que causam doenças pneumocócicas invasivas (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2007).

1.1 A bactéria

O *Streptococcus pneumoniae*, o pneumococo, foi descrito pela primeira vez, em 1881, simultaneamente por Louis Pasteur e por George Sternberg, isolado da saliva humana (WATSON; MUSER; VERHOEF, 1995; WILLETT, 1992). É uma bactéria encapsulada, Gram-positiva que apresenta, em cultura, forma oval ou esférica e, em esfregaços, forma de lança. Possui 0,5 a 2,0 μm de diâmetro e é, tipicamente, observada em pares (diplococos) ou, por vezes, em pequenas cadeias (KELLOG *et al.*, 2001; HENRICHSEN, 1995; MULHOLLAND, 1999; WILLETT, 1992; WHO, 2007). A bactéria produz α hemólise em placa de ágar-sangue na presença de O_2 e, na sua ausência produz β hemólise. As condições ideais de crescimento incluem o ambiente com anaerobiose ou microaerofilia, concentração de CO_2 de 5% a 10% e temperatura estável, entre 35° e 37° C (FEDSON; MUSER; EKOLA, 1999; WILLETT, 1992). O meio aeróbico pode ser fatal para o pneumococo, devido à produção de uma quantidade significativa de peróxido de hidrogênio, uma vez que, sendo

catalase-negativo e não produzindo peroxidase, o acúmulo de peróxido de hidrogênio torna-se letal (KELLOGG *et al.*, 2001; WILLETT, 1992).

Para o crescimento *in vitro*, é ideal que o pneumococo seja cultivado em meios sólidos como o ágar-sangue e o ágar chocolate. Geralmente, as colônias jovens de pneumococo são circulares, brilhantes, acinzentadas ou mucoides e o reconhecimento presuntivo é dado pela produção da α hemólise pelas colônias na superfície da placa, pela sensibilidade à optoquina, pelo teste de solubilidade à bile e pela coloração ao Gram (FEDSON; MUSER; EKOLA, 1999; HENRICHSEN, 1995; KELLOGG *et al.*, 2001; WILLETT, 1992). O teste *quellung* ou reação de Neufeld, emprega o antissoro específico que reage com o polissacarídeo capsular, tornando a cápsula visível ao exame microscópico. É uma reação de precipitação na qual a bactéria em suspensão é observada microscopicamente, além de proporcionar a identificação segura do pneumococo, permite o reconhecimento de seu sorotipo. É um teste rápido, porém de alto custo. (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE - FUNASA, 1994; KELLOGG *et al.*, 2001; SORENSEN, 1993; WILLETT, 1992).

O pneumococo possui uma cápsula externa composta por polissacarídeos complexos que formam um gel hidrofílico na sua superfície, constituindo antígenos que, em geral, suscitam reação imune específica (KALIN, 1998; WILLETT, 1992). A parede celular que fica abaixo da cápsula é constituída, basicamente, pelo arcabouço de peptidoglican e pelo ácido teicoico ribitol. Este, também denominado polissacarídeo C, é o maior componente da parede e contém em sua composição, a fosfocolina e a galactosamina-6-fosfato essencial para o crescimento da bactéria. A membrana celular contém o ácido teicoico ligado ao ácido graxo (TOMASZ, 1981; WILLETT, 1992). Nesta membrana, o determinante antigênico dominante é a fosfocolina (WILLETT, 1992).

A cápsula é a maior responsável pela virulência do pneumococo. O mecanismo mais importante pelo qual a virulência é promovida tem, provavelmente, a função de proteger as bactérias contra a ingestão imediata por fagócitos (KALIN, 1998). Além da cápsula polissacarídica, outras estruturas também conferem a virulência ao pneumococo como a pneumolisina e fragmentos da parede celular pneumocócica (GILLESPIE, 1989; SPREER *et al.*, 2004; WATSON, MUSER e VERHOEF, 1995). Em humanos, a pneumolisina tem a capacidade de inibir a síntese de anticorpos pelos linfócitos B e ela é altamente citotóxica para várias células, inclusive do sistema nervoso (MIMS *et al.*, 1995; SPREER *et al.*, 2004).

O polissacarídeo capsular pneumocócico consiste num antígeno T-independente do tipo 2, cujas características essenciais são a incapacidade de induzir memória imunológica e o desenvolvimento de anticorpos com distribuição restrita a isotipos de imunoglobulinas,

predominantemente da classe IgM, (JANEWAY Jr. *et al.*, 1999; KALIN, 1998; SANDERS *et al.*, 1993). A resposta inflamatória do hospedeiro também é estimulada por componentes da parede celular, liberados durante a autólise, ocasião em que ocorre um estímulo direto nas células do sistema imune, com produção de linfocinas e ativação do sistema do complemento (TUOMANEN *et al.*, 1985).

Na patogênese da doença pneumocócica, podem estar envolvidas também outras proteínas, tais como a neuramidase, a autolisina, a hialuronidase e as adesinas de superfície (MIMS *et al.*, 1995; TUOMANEN; AUSTRIAN; MASURE, 1995).

De acordo com o determinante antigênico da cápsula, o agente pode ser classificado em sorogrupo ou sorotipos, em dois sistemas possíveis: o sistema americano, que enumera na ordem cronológica de descoberta e o dinamarquês, que agrupa os sorotipos com semelhança estrutural e imunologicamente relacionados (GILLESPIE, 1989; WATSON, MUSER e VERHOEF, 1995). Os sorotipos que são antigênicamente relacionados uns aos outros são incluídos juntos em grupos, por exemplo: 9A, 9L, 9N e 9V. Os sorotipos sem uma relação antigênica a outros sorotipos são apresentados apenas por números, por exemplo: os tipos 1, 2, 3, 4, 5. Os sorotipos são numerados na ordem cronológica de descoberta, e agrupados com os sorotipos semelhantes na estrutura. Os sorotipos recebem o mesmo número quando apresentam antígenos semelhantes. Dentro de cada grupo designado como F (*first*), os sorotipos que foram primeiramente isolados e os próximos do mesmo grupo recebem as letras A, B, C, de acordo com a ordem de sua descoberta (HENRICHSEN, 1995; KALIN, 1998).

Segundo a especificidade antigênica do polissacarídeo capsular, há 91 diferentes sorotipos de pneumococo atualmente descritos (HENRICHSEN, 1995; PARK *et al.*, 2007) contidos em 46 grupos numerados de 1 a 48, não estando em uso os números 26 e 30 (FREIRE, 2002). A capacidade de invadir o hospedeiro e causar doenças graves pode ser diferente para cada sorotipo (KALIN, 1998).

1.2 Aspectos epidemiológicos, patogênicos e clínicos

O pneumococo é responsável por elevadas taxas de morbimortalidade em crianças abaixo de cinco anos e em adultos acima de 65 anos, particularmente nos países em desenvolvimento (BRANDILEONE *et al.*, 2003; CDC, 2004?; DI FABIO *et al.*, 2001;

WEBER; RUTALA, 2003). Nos países industrializados, mortes por doença pneumocócica ocorrem principalmente entre os idosos, nos quais a pneumonia associada à bacteremia está relacionada com letalidade de 10% a 20% e a bacteremia pneumocócica de 60% (WHO, 2007). Estima-se que o pneumococo seja responsável por cerca de dois terços do total de ocorrências de pneumonia bacterêmica, sendo mais frequente em pacientes idosos e em menores de cinco anos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE IMUNIZAÇÕES - SBIM, 2008). Nos países em desenvolvimento, as infecções bacterianas respiratórias agudas matam mais de três milhões de crianças a cada ano, e estima-se que até 70% destas infecções sejam provocadas pelo pneumococo (OKEKE *et al.*, 2005a).

Nos Estados Unidos da América (EUA), o pneumococo é o agente mais comumente identificado como causa de pneumonia comunitária, representando de 9% a 55% dos casos de pneumonia adquirida na comunidade — entre os pacientes que requerem hospitalização (HEFFELFINGER *et al.*, 2000). Na dependência da presença de fatores de risco como idade avançada, comorbidade e determinadas condições clínicas iniciais, a mortalidade varia de 0,7% a 57% entre adultos internados, ao passo que, para os doentes não internados, estima-se uma mortalidade em torno de 1% (MANDELL *et al.*, 2007). Na Europa e nos EUA, a incidência anual de doenças pneumocócicas invasivas varia de 10 a 100 casos por 100 000 habitantes (WHO, 2007).

No Brasil, durante o ano de 2004, a frequência de hospitalização por pneumonia em crianças menores de cinco anos foi de 2.500 casos para 100.000, com mortalidade de 25/100.000 (BRICKS; BEREZIN, 2006). Em 2005, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que 1,6 milhões de pessoas morrem anualmente de doença pneumocócica, incluindo a quantidade de 700.000 a um milhão de crianças com idade menor que cinco anos (WHO, 2007).

O pneumococo faz parte da microbiota da nasofaringe humana e é transmitido de pessoa a pessoa através de secreções respiratórias, veiculado por aerossóis (FEDSON, MUSHER, ESKOLA, 1999). A bactéria é altamente sensível ao ressecamento e, para que a transmissão ocorra, é necessário o contato direto entre hospedeiros (WHO, 2007). Por essa característica, a transmissão do pneumococo ocorre com maior frequência entre indivíduos confinados, em ambientes lotados (familiares no domicílio, crianças na escola, recrutas, prisioneiros, asilados). A infecção respiratória viral, recente ou atual, constitui fator de risco para aquisição da bactéria e adoecimento (SBIM, 2008).

Em países em desenvolvimento cifras de colonização acima de 50% são encontradas em crianças antes de completarem seis meses de idade, ao passo que, em países desenvolvidos, as

taxas são, em geral, inferiores e a colonização tende a ocorrer mais tarde (OKEKE *et al.*, 2005a). No Brasil, há registros de taxas de portadores que variam de 21,1% em São Paulo a 49% em Fortaleza (BRASIL, 2006).

A doença pneumocócica é causada tanto pela propagação contígua a partir da mucosa nasofaríngea aos seios da face ou orelha média ou ao trato respiratório inferior por aspiração, quanto pela invasão da corrente sanguínea ou linfática, com ou sem acometimento de focos secundários (OBARO; MADHI, 2006; WHO, 2007). A invasão do tecido alveolar pelo pneumococo resulta em edema e aumento de secreção, o que facilita a multiplicação rápida dos microorganismos. As células sanguíneas, principalmente os leucócitos polimorfonucleares, acumulam-se no alvéolo infectado, levando à consolidação do lobo ou segmento pulmonar (MIMS *et al.*, 1995; WILLET, 1992). A pneumonia pode favorecer a invasão e a infecção da cavidade pleural ou pericárdica pelo pneumococo. (WILLET, 1992).

A pneumonia comunitária, a forma mais comum de doença pneumocócica em adultos, possui quadro clínico e radiológico, em geral, bastante sugestivo. Na radiografia, há evidência de infiltrado, consolidação lobar, às vezes acompanhada de derrame pleural. Nos pacientes internados com pneumonia pneumocócica, a bacteremia é detectada em, aproximadamente, 25% dos adultos e em 12% a 16% das crianças menores de dois anos. A ocorrência de bacteremia constitui um fator de risco para morbimortalidade da doença (AAP, 2006; CDC, 2000-; CDC 2004?; LUJAN *et al.*, 2004; MANDELL *et al.*, 2007; WEBER; RUTALA, 2003).

Os sintomas de infecção respiratória aguda baixa são febre, hipotermia, calafrios, suores, tosse, aumento e mudança na cor das secreções respiratórias, desconforto torácico e dispneia. Podem também compor o quadro a anorexia, a fadiga, a mialgia, a dor abdominal, a dor torácica e de cabeça (MANDELL *et al.*, 2007). Em crianças, é típico o quadro agudo de febre, dificuldade respiratória caracterizada por taquipneia com ou sem tosse, redução da expansão torácica e tiragem subcostal, acompanhada de crepitações na ausculta pulmonar (MULHOLLAND, 1999; NASCIMENTO-CARVALHO; SOUZA-MARQUES, 2004). A Organização Mundial de saúde (OMS) desenvolveu uma diretriz que recomenda taquipneia como o principal indicador para o diagnóstico clínico de infecções respiratórias inferiores (NASCIMENTO-CARVALHO; SOUZA-MARQUES, 2004; OBARO; MADHI, 2006).

Além das características clínicas, o diagnóstico da pneumonia comunitária é apoiado, geralmente, por radiografia torácica (MANDELL *et al.*, 2007), considerada “padrão ouro” (OBARO; MADHI, 2006). A hemocultura tem sido muito utilizada para o diagnóstico etiológico de pneumonia pneumocócica (NASCIMENTO-CARVALHO *et al.*, 2001); entretanto, é útil somente quando a doença se apresenta na forma bacterêmica (OBARO;

MADHI, 2006). Recomenda-se a realização de hemoculturas na rotina de investigação etiológica de pneumonias bacterianas em pacientes hospitalizados (SBIM, 2008; MANDELL *et al.*, 2007).

1.3 Fatores de risco para colonização e adoecimento

Vários fatores podem propiciar a infecção e a colonização pelo pneumococo, entre eles fatores ambientais tais como aglomerações humanas, frequência em creches, baixo nível socioeconômico, estação de inverno e primavera, concomitância de infecções virais respiratórias e a presença de fumante no domicílio (FEDSON, MUSER, ESKOLA, 1999; MANDELL *et al.*, 2007; OBARO; MADHI, 2006; PETER; KLEIN, 1997; TSOLIA *et al.*, 2004; SBIM, 2008).

O principal fator de risco para o desenvolvimento da doença pneumocócica é a idade: crianças até dois anos e adultos acima de 60 anos; entre outros fatores, estão a existência de doenças crônicas de base, o consumo de álcool e de tabaco e a adequação do tratamento instituído. Para as crianças, o desmame precoce, antes dos seis meses de idade constitui risco adicional de adoecimento (CAMPBELL Jr.; SILBERMAN, 1998; FEDSON, MUSER; ESKOLA, 1999; GILLESPIE, 1989; MANDELL *et al.*, 2007; MULHOLLAND, 1999; SBIM, 2008; TEELE, 1998; WHO, 2007). As principais doenças predisponentes para a infecção pneumocócica estão relacionadas com alterações imunológicas, tais como a esplenectomia funcional ou anatômica, a hipo ou agamaglobulinemia, a infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), as deficiências do complemento, as neoplasias malignas, a síndrome nefrótica e a cirrose hepática; doenças metabólicas tais como o diabetes melito, e doenças respiratórias crônicas como a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (FEDSON, MUSER; ESKOLA, 1999; GILLESPIE, 1989; MULHOLLAND, 1999; OKEKE *et al.*, 2005a; TEELE, 1998; WHO, 2007).

Existem também situações de risco que podem piorar o prognóstico dos pacientes com doença invasiva pneumocócica, entre elas a pneumonia comunitária, tais como consumo excessivo de álcool, idade avançada, presença de leucopenia, ocorrência de bacteremia e concomitância de doenças crônicas debilitantes (neoplasias, imunossupressão, doença neurológica, insuficiência cardíaca congestiva, doença arterial coronariana, diabetes melito (MANDELL, 2007).

1.4 Profilaxia

Para o combate da doença pneumocócica, é possível utilizar estratégias como o controle de fatores de risco para colonização e adoecimento, o tratamento eficaz de doentes e a vacinação. A vacina pneumocócica representa uma importante estratégia para o combate às doenças invasivas pneumocócicas. Os anticorpos contra antígenos polissacarídeos capsulares conferem proteção sorotípica específica contra infecções pneumocócicas. As vacinas pneumocócicas são destinadas a cobrir os sorotipos mais frequentemente associados com doenças pneumocócicas mais graves (MULHOLAND 1999; WHO, 2007).

A vacina pneumocócica 23-valente, licenciada nos EUA em 1983 (Pneumovax 23®, MS&D), contém 25 µg de cada polissacarídeo capsular dos sorotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9N, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, e 33F (WHO, 2007; AAP, 2006; WEBER; RUTALA, 2003). Induz anticorpos que aumentam a opsonização, a fagocitose e a destruição dos pneumococos, mas não é eficaz em crianças menores de dois anos de idade, pois a resposta a antígenos polissacarídicos é T-independente, de curta duração e não induz memória imunológica (BRASIL, 2006). É indicada essencialmente para uso em crianças mais velhas e em adultos que estejam em alto risco para doença pneumocócica. Não é licenciado para uso em crianças com idade inferior a 2 anos (APPELBAUM, 2002; WHO, 2007). As indicações da vacina, além da presença de fatores de risco, incluem pessoas com 65 anos ou mais, cujo estado vacinal é desconhecido, ou que tenham sido vacinadas com menos de 65 anos de idade, ou quando já se tenham passado, no mínimo cinco anos da primovacinação (APPELBAUM, 2002, MANDELL *et al.*, 2007). O potencial de cobertura dos sorotipos mais frequentemente isolados, no Brasil, é de 86,2% (BRASIL, 2006).

A vacina heptavalente (Pnc-7. Prevenar®, Wyeth), primeira vacina pneumocócica preparada com antígenos polissacarídicos conjugados à proteína, foi licenciada nos EUA, no ano 2000. Cada dose de 0,5 mL Pnc-7 contém 2 mg polissacarídeos capsulares dos sorotipos 4, 9V, 14, 19F e 23F, 2 mg de oligossacarídeo do sorotipo 18C, e 4 mg de polissacarídeo sorotipo 6B. Cada um destes sorotipos é conjugado separadamente com uma proteína diftérica (CRM197) produzida por uma cepa mutante do *Corynebacterium diphtheriae* e adsorvidos em fosfato de alumínio para aumentar a resposta imunitária (BRANDILEONE *et al.*, 2003; BRASIL, 2006; CDC, 2004?; ESKOLA; ANTTILA, 1999; WEBER; RUTALA, 2003; WHO, 2007).

A Pnc-7 é altamente imunogênica em todos os grupos etários, mas está atualmente licenciada para utilização apenas em crianças com idade inferior a 5 anos. Segundo a WHO

(2007), a principal indicação da vacina consiste na idade até dois anos (esquema de vacinação universal) e na presença de fatores de risco para adoecimento e morte pelo pneumococo (WHO, 2007). A Pnc-7 induz a resposta imune pela célula-T dependente caracterizada pelo estabelecimento de memória imunológica. Também estimula a imunidade da mucosa, resultando em redução do estado de portador em nasofaringe e, provavelmente, em redução da transmissão do pneumococo na comunidade (WHO, 2007).

A Pnc-7 apresenta cobertura de 65%-80% dos sorotipos associados à doença pneumocócica invasiva entre crianças em países industrializados ocidentais. Essa cobertura varia em diferentes populações e pode ser mais baixa em muitos países em desenvolvimento (WHO, 2007). No Brasil, a vacina tem o potencial de cobertura de 70%, para cepas obtidas de crianças com idade de sete meses a dois anos, com pneumonia (BRASIL, 2006).

As doenças ou condições que constituem indicação para a vacinação pneumocócica são: diabetes melito, anemia falciforme, asplenia anatômica ou funcional, síndrome nefrótica ou insuficiência renal crônica, fístula liquórica, fibrose cística, doenças cardiovasculares, pulmonares e hepáticas, alcoolismo, doenças neurológicas crônicas incapacitantes, implante de cóclea, trissomias, hematopatias crônicas, doenças de depósito, prematuros menores de um ano submetidos a ventilação mecânica, imunodeficiências congênitas, câncer, transplante de órgãos ou medula óssea, tratamento citorrredutor, infecção pelo HIV (AAP, 2006; APPELBAUM, 2002; BRASIL, 2006). Nos casos de esplenectomia eletiva, a vacina deve ser administrada, pelo menos, duas semanas antes da cirurgia e esse intervalo é também recomendado entre a vacinação e o início de um tratamento com drogas imunossupressoras. Pacientes sob quimioterapia ou radioterapia devem receber a vacina quinze dias antes do início do tratamento ou devem aguardar o prazo mínimo de três meses após a interrupção do tratamento imunossupressor, para receber a vacina (BRASIL, 2006).

No Brasil, o Ministério da Saúde, no ano de 1993, iniciou a implantação dos Centros de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIEs), destinados ao atendimento de indivíduos portadores de quadros clínicos especiais. Entre outros produtos, as vacinas pneumocócicas são disponibilizadas gratuitamente aos pacientes que se enquadram nos critérios estabelecidos (BRASIL, 2006).

A vacina Pnc-7 é registrada em mais de 70 países e, em alguns, integra o Calendário Nacional de Vacinação, com recomendação de esquema universal em crianças abaixo de dois anos de idade (BRICKS; BEREZIN, 2006; WHO, 2007; WHO, 2008). Na maioria, mas não em todos os países, são administradas três doses da vacina no primeiro ano de vida. Uma dose de reforço administrado após doze meses de idade pode melhorar a resposta imune e pode

afetar especialmente a colonização nasofaríngea de pneumococos. Alguns países industrializados adotaram um calendário baseado na entrega de duas doses infância (por exemplo, dois meses e quatro meses) e uma terceira dose de doze a treze meses. (WHO, 2007). A OMS considera como prioridade a inclusão desta vacina nos programas nacionais de imunização, principalmente em países onde mortalidade entre crianças menores de cinco anos é maior que 50 para cada 1000 nascidos vivos ou onde mais de 50 000 crianças morrem anualmente. Os países com alta prevalência de infecção pelo HIV ou com prevalência de outras condições que aumentam o risco de doença pneumocócica, como doença falciforme, também devem priorizar a introdução da Pnc-7 no programa de imunização (WHO, 2007). A Sociedade Brasileira de Pediatria recomenda a vacinação em todas as crianças até cinco anos de idade (SBP, 2009).

A introdução da vacina Pnc7 reduziu as taxas de incidência de infecções pneumocócicas (APPELBAUM, 2002, WHO, 2008). Os resultados da vigilância, atingidos após dois anos da introdução da vacina em escala nacional nos EUA, evidenciaram queda de 75% na taxa de ocorrência da doença pneumocócica invasiva, em crianças com idade até cinco anos. O declínio na incidência entre as pessoas com idade acima de cinco anos, não vacinadas, provavelmente, da diminuição da transmissão da bactéria a partir das crianças mais jovens, um fenômeno conhecido como "imunidade indireta" ou "imunidade de rebanho". Em vários países, houve redução da infecção por cepas resistentes aos antimicrobianos (WHO, 2007; SBIM, 2008; BRICKS; BEREZIN, 2006). Estudos de vigilância têm detectado um aumento na incidência de doença pneumocócica causada pelos sorotipos não incluídos nas vacinas após utilização generalizada das vacinas; entretanto, ainda é assunto controverso se de fato ocorre o fenômeno de substituição dos sorotipos, em populações amplamente vacinadas (BRICKS; BEREZIN, 2006).

Como medida de combate a doença pneumocócica, é importante também estabelecer estratégias de controle do aumento e disseminação da resistência aos antimicrobianos. Com este objetivo Okeke e colaboradores (2005b) propõem, entre outras mediadas:

- para a população: educação para promover a utilização adequada de antimicrobianos e desencorajamento da automedicação, educação sobre higiene e transmissão da doença, estímulo ao aleitamento materno exclusivo em lactentes jovens;
- para os profissionais de saúde: regulamentação profissional para o uso de antimicrobianos, decisão médica com apoio de ferramentas clínicas (protocolos e orientações), educação continuada dos profissionais médicos sobre a resistência e acesso a informações recentes sobre a droga;

- para instituições de saúde (ensino e assistência): introdução dos módulos de Farmácia Clínica integrada com o corpo clínico assistencial, em unidades hospitalares; instituição de comissões de controle de infecção que supervisionem o uso dos antimicrobianos e realize vigilância para o consumo de antimicrobianos;
- para instituições governamentais: adoção de estratégias e regulamentação nacionais do uso de medicamentos, da padronização do tratamento de doenças infecciosas, do registro de todas as drogas e estabelecimentos e a dispensação de antimicrobianos por prescrição e só por estabelecimentos licenciados;
- para a indústria farmacêutica: mais incentivos à investigação e desenvolvimento de antimicrobianos, produção dos antimicrobianos de acordo com boas práticas de normas de fabricação com acompanhamento, supervisão e garantia de qualidade de agentes antimicrobianos; produção de vacinas eficazes e eficientes.

Como o padrão de resistência aos antibióticos e a prevalência de sorotipos de pneumococo variam em diferentes populações, em diferentes regiões geográficas e, provavelmente, ao longo do tempo, é fundamental o estabelecimento do perfil dos sorotipos prevalentes numa determinada comunidade e o conhecimento das taxas de resistência, para fundamentar a escolha do melhor tratamento empírico inicial (DI FABIO *et al.*, 2001; MANTESE, 1999). Para alcançar esse objetivo, é indispensável o estabelecimento de vigilância populacional da resistência antimicrobiana por meio de redes de laboratório.

1.5 Tratamento e resistência antimicrobiana

A decisão de tratar a pneumonia comunitária em regime ambulatorial ou hospitalar é influenciada por vários fatores, tais como a idade do paciente, a progressão e gravidade das manifestações clínicas, a extensão do acometimento pulmonar, a presença de complicações da doença, a presença de comorbidades de base, a resposta a um eventual tratamento inicial e aspectos sociais e econômicos do paciente (MANDELL *et al.*, 2007; NASCIMENTO-CARVALHO; SOUZA-MARQUES, 2004).

A evolução clínica da infecção pneumocócica é influenciada por diversos fatores, tais como idade, doença de base, topografia, gravidade da infecção e a adequação do tratamento instituído (MANDELL *et al.*, 2007; NASCIMENTO-CARVALHO; SOUZA-MARQUES, 2004). A escolha do antibiótico para tratamento inicial das infecções de trato respiratório geralmente é empírica. (JACOBS *et al.*, 2003). Diante do isolamento da bactéria em cultura e do antibiograma, a antibioticoterapia deve ser, então, devidamente ajustada. A penicilina é a droga de escolha para muitas doenças pneumocócicas; entretanto, com a descrição crescente de cepas resistentes à penicilina, a partir da década de 1980, esquemas alternativos têm sido propostos (APPELBAUM, 2002; BRANDILEONE, 2007; CDC, 200-; KAPLAN, 2004; MANDELL *et al.*, 2007). A penicilina é barata, amplamente disponível e pode ser usada no tratamento de crianças com pneumonia causada por pneumococos sensíveis e com resistência intermediária à penicilina (BARTLETT *et al.*, 2000; HEFFELFIGER, 2000; KAPLAN, 2004; MULHOLLAND, 1999; OKEKE *et al.*, 2005a).

Os testes empregados para avaliação da sensibilidade *in vitro* do pneumococo aos antimicrobianos são a difusão em disco e a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) por diluição em ágar, macrodiluição em tubos ou microdiluição em placa e o E teste (APPELBAUM, 1994; JORGENSEN; FERRARO, 1998).

O teste da difusão em disco é baseado na inibição do crescimento bacteriano ao redor de um disco de antibiótico na placa de ágar, produzindo um halo de inibição cujo diâmetro é inversamente proporcional à CIM. O resultado desse teste é expresso como sensível ou resistente, ou seja, de natureza qualitativa (APPELBAUM, 1994; JORGENSEN; FERRARO, 1998). Para realização desse teste são utilizados discos contendo 1µg de oxacilina; se a cepa de pneumococo que cresce na placa forma um halo maior ou igual a 20mm ao redor, é considerada sensível à penicilina; quando o halo é menor que 20mm, é considerada resistente (APPELBAUM, 1994; NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY

STANDARDS- NCCLS, 1997). Contudo, esse critério não permite distinguir as cepas com resistência plena daquelas com resistência intermediária à penicilina.

A microdiluição em placa consiste na inoculação de cepas em pequenos poços de uma placa onde se podem testar até doze antimicrobianos diferentes (JORGENSEN; FERRARO, 1998). A avaliação visual da turvação nos poços determina o resultado em que a menor concentração do antimicrobiano, capaz de inibir o crescimento visível da bactéria, corresponde à CIM (JORGENSEN; FERRARO, 1998). As cepas de pneumococo que apresentam zona igual ou maior que 20mm no teste de triagem com disco de oxacilina são consideradas sensíveis à penicilina e também a ampicilina, amoxicilina, à cefotaxima, cefprozil, cefpodoxima, ceftriaxona, cefuroxima, imipenem e meropenem. (HARWELL; BROWN, 2000; VENGLARCIK, 2000).

O E teste (AB Biodisk; Solna, Suécia) emprega fitas plásticas muito finas (com 50mm x 3mm) impregnadas, na sua superfície inferior, com um gradiente de concentração de antibiótico e, na sua superfície superior, marcadas com uma escala de concentração para interpretação visual dos resultados; baseia-se no princípio do estabelecimento de um gradiente antimicrobiano, num meio de ágar inoculado. A fita pode detectar uma variação de CIM de 0,016µg/mL a 256µg/mL, representando um total de 29 valores diferentes de CIM para cada antibiótico (APPELBAUM, 1994; JORGENSEN; FERRARO, 1998; NGUI-YEN *et al.*, 1992; MACIAS *et al.*, 1994). Dentre as vantagens do E teste, estão a flexibilidade na seleção do antibiótico a ser testado, a simplicidade na execução do exame e a rapidez com a qual se obtêm os resultados (JORGENSEN; FERRARO, 1998; NGUI-YEN *et al.*, 1992). A desvantagem é o alto custo das fitas o exame pode ser viável quando se deseja testar um menor número de antibióticos (JORGENSEN; FERRARO, 1998).

O pneumococo tem adquirido resistência a diferentes classes de antibióticos, incluindo penicilina, macrolídeos, fluoroquinolonas e sulfametoxazol-trimetoprim (JACOBS *et al.*, 2003). A propagação mundial da resistência antimicrobiana do pneumococo está relacionada com a propagação de alguns poucos sorotipos altamente resistentes, tais como o 6B, 19F e 23F (APPELBAUM, 2002).

Nos EUA, na era pré-vacinal, a prevalência de pneumococos com resistência plena à penicilina oscilava entre 25% a 50% e com resistência intermediária, entre 11% a 28%. Em algumas partes do mundo, essas taxas são ainda mais elevadas. (APPELBAUM, 2002). No Brasil, a resistência à penicilina tem sido relatada em valores aproximados de 13,7% de resistência plena, 19,4% de resistência intermediária e a resistência a ceftriaxona, eritromicina, sulfametoxazol-trimetropim e cloranfenicol são, respectivamente: 4,3%, 4,6%,

44,1%, 0,4% para resistência plena e 15,5%, 0,1%, 9,2%, 0% para resistência intermediária (OPAS, 2007).

Os antibióticos β -lactâmicos inibem a síntese da parede celular por meio da junção com as proteínas ligadoras de penicilina (PLPs), que são responsáveis pela manutenção da parede celular da bactéria (APPELBAUM, 2002). A resistência do pneumococo à penicilina decorre da produção de PLPs alteradas por parte da bactéria. As PLPs denominadas *majors* são a 1a, 1b, 2a, 2b, 2x e 3, cada uma delas codificada por um determinante genético distinto (TOMASZ, 1997). Alterações são mais comuns no grupo PLP1 e PLP2, principalmente em PLP 2b, resultando numa diminuição da afinidade pelos β -lactâmicos e, assim, diminuindo a sensibilidade ao antibiótico (APPELBAUM, 2002; FEDSON, MUSHER; ESKOLA, 1999; FREIRE, 2002; KAPLAN, 2004; TOMASZ, 1997). Como o processo de diminuição da sensibilidade envolve alterações cumulativas nas PLPs, há diferentes graus de resistência entre os pneumococos, expressa *in vitro*, pela elevação do CIM; e como nem todos os β -lactâmicos apresentam a mesma afinidade pelas PLPs, as alterações nas diferentes enzimas acarretam diferentes padrões de sensibilidade a esses antibióticos (FEDSON, MUSHER; ESKOLA, 1999; TOMASZ, 1997). O desenvolvimento de alta resistência aos β -lactâmicos, aparentemente, depende de mutações específicas nas PLPs 2x, 2b e 1a (SORIANO *et al.*, 2008).

A síntese de toda PLP no pneumococo é mediada cromossomicamente (TOMASZ, 1997). As alterações nas PLPs resultam, provavelmente, de mutações sucessivas no código genético ou de substituição de segmentos do cromossomo, por fragmentos provenientes de outras espécies de estreptococos, ocorrendo em três etapas: aquisição do traço genético de resistência, transferência dos genes entre diferentes cepas (transferência horizontal) e expansão clonal de determinadas cepas resistentes (transferência vertical dos genes) (MAIDEN, 1998; TOMASZ, 1997). Acredita-se que as alterações cromossômicas, uma vez estabelecidas, sejam estáveis e possam ser mantidas mesmo após a retirada da pressão seletiva do β lactâmico (MAIDEN, 1998; TOMASZ, 1997). Contudo, existe documentação da reversão do processo, por meio da restrição do consumo de β lactâmicos na comunidade (DOWELL *et al.*, 1998).

Cepas isoladas de pneumococos resistentes a penicilina são mais comumente resistentes a outras classes de antibióticos principalmente ao sulfametoxazol-trimetoprim. (APPELBAUM, 2002; KAPLAN, 2004). Quanto maior a CIM da penicilina G, maior será a probabilidade de a cepa ser resistente aos macrolídeos (APPELBAUM, 2002).

As cepas de pneumococo resistente às cefalosporinas são simultaneamente resistentes à penicilina, pois as alterações características da resistência às cefalosporinas determinam diminuição da sensibilidade à penicilina (BRADLEY; SCHELD, 1997; MAIDEN, 1998; MANDELL *et al.*, 2007). A resistência do pneumococo às cefalosporinas manifesta-se de modo gradativo, em decorrência de alterações cromossômicas sucessivas, à semelhança do que ocorre com a penicilina (MAIDEN, 1998). Como os genes que codificam a resistência às cefalosporinas estão situados em *locus* cromossômicos próximos, há uma chance maior de serem transportados conjuntamente (no processo de transformação genética), o que pode resultar em uma disseminação epidemiologicamente mais rápida das cepas cefalosporino-resistentes em relação às penicilino-resistentes (MAIDEN, 1998). Entretanto, já foram descritas cepas mais intensamente resistentes à ceftriaxona do que à penicilina, nas quais são detectadas discretas alterações na PLP (KLUGMAN, 1996). Os pneumococos com resistência às cefalosporinas apresentam alterações nas PLPs 1a e 2x (FREIRE, 2002).

A resistência aos macrolídeos pode ocorrer por um dos dois diferentes mecanismos. O mecanismo de bomba de efluxo, conhecido como fenótipo M, que remove efetivamente os antibióticos macrolídeos das células por meio de um bombeamento ATP-dependente. Essa forma de resistência é codificada pelo gene *mefMA* e é associado com as CIMs de eritromicina em torno de 1-32 µg/mL. As cepas isoladas com fenótipo M geralmente são sensíveis a clindamicina. (KAPLAN, 2004; APPELBAUM, 2002) O segundo mecanismo, menos comum, denominado MLS_B (macrolídeo-lincosamina-estreptogramina B) é codificado pelo gene *ermM* que expressa uma enzima ribossômica que bloqueia a ligação dos macrolídeos, clindamicina e estreptogramina ao ribossomo 23S da bactéria. Essas cepas manifestam resistência de alto nível à eritromicina (CIM acima de 64 µg/mL) e resistência à clindamicina e à estreptogramina B (APPELBAUM, 2002; KAPLAN, 2004). Recentemente, diferentes mecanismos de resistência aos macrolídeos têm sido descritos (APPELBAUM, 2002). A resistência ao sulfametoxazol-trimetoprim é atribuída à alteração da afinidade da enzima ligadora da droga codificada por mutação genética (APPELBAUM, 2002).

As quinolonas atuam nas bactérias sensíveis ligando as enzimas gyrase e topoisomerase IV, inibindo, assim, a replicação do DNA e causando a morte bacteriana. A DNA gyrase é necessária para a replicação do DNA e a topoisomerase IV é essencial para a separação de DNA cromossômico replicado, o que lhe permite ser embalado dentro da célula. Para o pneumococo, a topoisomerase IV consiste no principal alvo das quinolonas (APPELBAUM, 2002) e a resistência às fluoroquinolonas está relacionada com a ocorrência de mutações nos genes determinantes da topoisomerase IV (*parC*) e DNA girase A (*gyrA*). As cepas com alta

resistência a toda classe das fluoroquinolonas apresentam, em geral, as duas mutações simultaneamente (KAPLAN, 2004). Um mecanismo de efluxo ativo também pode estar envolvido na resistência às quinolonas, geralmente resultando em menor nível de resistência. A levofloxacin, gatifloxacin e moxifloxacin apresentam os melhores desempenhos *in vitro*, com menores CIMs, para o pneumococo (APPELBAUM, 2002).

A resistência do pneumococo à tetraciclina decorre da ação no gene *tetM*, transmitido, em geral, no transposon TN1545, que contém os genes para resistência à tetraciclina e ao cloranfenicol. O gene *tetM* codifica uma proteína que protege contra a inibição da síntese protéica ribossômica induzida pelo antibiótico (APPELBAUM, 2002).

Os pneumococos resistentes a três ou mais classes distintas de antibióticos são considerados multirresistentes. Descritos inicialmente na África do Sul, hoje são relatados em todo o mundo (APPELBAUM, 2002).

Cepas de pneumococo resistente à penicilina, colonizando ou infectando hospedeiros, são isoladas, com mais frequência, de crianças jovens do que de crianças maiores e adultos. Sorotipos que comumente são isolados de crianças colonizadas ou doentes são também, os que mais comumente expressam resistência à penicilina: 6A/B, 14, 19F e 23F (KAPLAN, 2004; KALIN, 1998).

Para a implantação de medidas e políticas públicas de combate à resistência do pneumococo aos antimicrobianos, é fundamental conhecer os fatores de risco para o aparecimento e manutenção do fenômeno. De acordo com Okeke e colaboradores (2005b), os fatores de risco para resistência, em especial nos países em desenvolvimento são:

- abuso de antimicrobianos em humanos; animais e em plantas;
- uso de antimicrobianos de má qualidade;
- controle inadequado de infecção em instituições de saúde;
- higiene, saneamento e saúde pública precários;
- falta de fiscalização no uso de antimicrobianos;
- má adesão do paciente à terapia antimicrobiana

Estudos evidenciam a não associação entre a falência do tratamento antimicrobiano com penicilina e a resistência de cepas de pneumococo a penicilina em pacientes com diagnóstico de pneumonia. (CARDOSO *et al.* 2008; HEFFELFINGER *et al.*, 2000)

Evidências clínicas, dados farmacocinéticos e farmacodinâmicos sugerem que a terapia com os β -lactâmicos é eficaz contra cepas de pneumococos que apresentam resistência intermediária à penicilina. A duração de tempo em que os níveis no soro e/ou tecidos excedem a CIM, 40% a 50% do intervalo de dosagem, é o fator farmacodinâmico crucial

correlacionado com a eficácia terapêutica dos β -lactâmicos contra o pneumococo. Diante da resposta adequada ao tratamento com β lactâmicos de pacientes com doença pneumocócica invasiva (exceto meningite), mesmo quando causada por cepas com concentração inibitória mínima (CIM) até $2,0\mu\text{g/mL}$, tem sido recomendada uma redefinição das categorias de sensibilidade (HEFFELFINGER *et al.*, 2000). Novos pontos de corte de sensibilidade *in vitro* à penicilina foram finalmente propostos em 2008 (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI, 2008) (**Tabela 1**). Para as cepas invasivas, com exceção daquelas obtidas de pacientes com meningite, os valores propostos para a penicilina são de concentração inibitória mínima (CIM) $\leq 2\mu\text{g/mL}$ para sensibilidade (S), $4\mu\text{g/mL}$ para resistência intermediária (RI) e $\geq 8\mu\text{g/mL}$ para resistência plena (RP). O critério tradicional (CLSI, 2007) categorizava o pneumococo como sensível com CIM $\leq 0,06\mu\text{g/mL}$, resistência intermediária com CIM for de 0,1 a $1,0\mu\text{g/mL}$, e resistente com CIM $\geq 2,0\mu\text{g/mL}$. Essas categorias podem ter relevância clínica para tratamento de otite média e meningite, não é adequado para orientar o tratamento de pneumonia (HEFFELFINGER *et al.*, 2000).

Tabela 1 Interpretação da sensibilidade do pneumococo à penicilina, segundo critério do *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2007 e CLSI, 2008.*

Interpretação	CIM penicilina ($\mu\text{g/mL}$) ¹	
	CLSI, 2007	CLSI, 2008 ²
Sensível	$\leq 0,06$	≤ 2
Resistência intermediária	0,1-1	4
Resistência plena	≥ 2	≥ 8

1. Concentração inibitória mínima da penicilina, em $\mu\text{g/mL}$

2. Exceto para cepas obtidas de pacientes com meningite, para as quais vale o critério tradicional (CLSI, 2007)

2. OBJETIVOS

Avaliar, em cepas de pneumococo obtidas de pacientes internados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU), com diagnóstico de pneumonia:

- As taxas de resistência à penicilina e outros antimicrobianos segundo critérios tradicionais (CLSI, 2007);
- As taxas de resistência à penicilina segundo critérios atuais (CLSI, 2008)
- O impacto dos novos critérios nas taxas de resistência à penicilina.

3. CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Casuística

Este é um estudo de vigilância laboratorial, de série de casos, cujos dados laboratoriais de sorotipagem e sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos de cepas invasivas de pneumococo foram obtidos de pacientes internados no HC-UFU com diagnóstico de pneumonia. O caso índice consiste de cepa de pneumococo, isolada no Laboratório de Análises Clínicas do HC-UFU, a partir de espécimes clínicos (sangue ou líquido pleural) de paciente internado com pneumonia. O trabalho obteve aprovação do CEP-UFU (protocolo 009/08). Foram colhidos dados da ficha individual do paciente como: dados de identificação (nome, data de nascimento, idade, sexo, endereço, data de admissão e alta, duração de internação) e clínicos, como história, diagnóstico nosológico, tratamento antimicrobiano, evolução para sobrevivência ou morte e fonte de recuperação da bactéria (ANEXO A). Essas fichas integram um banco de dados de vigilância laboratorial do *Streptococcus pneumoniae*, em colaboração com o Projeto SIREVA (Sistema Regional de Vacinas) da Organização Pan-americana de Saúde. As fichas são preenchidas em tempo real, sempre que há identificação laboratorial de uma cepa de pneumococo. O diagnóstico clínico, a indicação e realização da coleta dos espécimes clínicos e o tratamento estiveram a cargo exclusivamente dos médicos responsáveis pelos pacientes, não tendo nenhuma interferência da pesquisa. Foi aplicado o termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICES A e B) para os participantes da pesquisa em 2008; para os anos anteriores, foi concedida a dispensa pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia (CEP-UFU) (**Figura 1**).

A pesquisa foi realizada no HC-UFU, que é totalmente conveniado com o Sistema Único de Saúde (SUS) e atende a população de Uberlândia e de mais 120 municípios do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. Foi fundado em 1970 e, oficialmente, é órgão suplementar da universidade. Em agosto de 2004, após cumprir as exigências das Portarias Interministeriais 1000 e 1006 (MEC-MS), foi certificado como Hospital Universitário e, em dezembro de 2004 (Portaria 1704), por meio de novo convênio com a Secretaria Municipal de Saúde, estabeleceu relação formal com a rede de serviços, reafirmando uma parceria que existia desde a criação do SUS. No momento, conta com 511 leitos ativos, sendo o hospital federal com maior número de leitos ativos, todos disponibilizados ao SUS, em Minas Gerais (UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, 2007).

Uberlândia encontra-se localizada na região Nordeste do Triângulo Mineiro, Estado de Minas Gerais, Região Sudeste do Brasil, e possui, segundo o censo de 2000, 501.214 habitantes. Estima-se que em 2007 esse número tenha subido para 608.369 (INSTITUTO NACIONAL DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2009).

3.2 Materiais e Métodos

Os espécimes obtidos assepticamente foram devidamente processados e semeados em frascos para hemocultura (amostras de sangue) ou em placas de ágar-chocolate e ágar-sangue (líquido pleural), o mais rapidamente possível após a coleta e imediatamente, à chegada no laboratório. Somente um isolado de pneumococo por paciente foi considerado no estudo. As cepas de pneumococos foram isoladas e identificadas no HC-UFU, segundo os métodos internacionalmente descritos e encaminhadas para a Seção de Bacteriologia do IAL, São Paulo, SP, para confirmação da espécie, sorotipagem e determinação da sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos (BRANDILEONE, *et al.*, 1997; BRANDILEONE, 1999). Para o encaminhamento ao IAL, as cepas de pneumococo foram semeadas em tubos de tampa com rosca, preparados com ágar chocolate inclinado e mantidos refrigerados a 4° C até o momento da realização do transporte. No IAL, as cepas foram liofilizadas em leite desnatado a 20% e devidamente catalogadas.

A sensibilidade antimicrobiana foi avaliada pela técnica de difusão em disco para a oxacilina (1µg), tetraciclina, ofloxacina, cloranfenicol, eritromicina, sulfametoxazol-trimetoprim (cotrimoxazol), vancomicina e clindamicina em placas de ágar Mueller-Hinton suplementada com sangue de carneiro a 5%, segundo técnica padronizada (NCCLS, 1997; CLSI, 2005). Cepas resistentes à oxacilina (halo de inibição ≤ 19 mm) foram submetidas à determinação da concentração inibitória mínima (CIM) para a penicilina, pela técnica de microdiluição em caldo e consideradas, de acordo com os critérios tradicionais (CLSI, 2007; CLSI, 2005) sensíveis [S] (CIM $\leq 0,06\mu\text{g/mL}$), com resistência intermediária [RI] (CIM = 0,12 a $1\mu\text{g/mL}$) e com resistência plena [RP] (CIM $\geq 2\mu\text{g/mL}$). Segundo os critérios atuais (CLSI, 2008), os valores para interpretação dos resultados da CIM foram $\leq 2\mu\text{g/mL}$ para S, $4\mu\text{g/mL}$ para RI e $\geq 8\mu\text{g/mL}$ para RP. Cepas resistentes à oxacilina também foram submetidas à determinação da CIM de ceftriaxona e consideradas S com CIM $\leq 1\mu\text{g/mL}$, RI com CIM = $2\mu\text{g/mL}$ e RP com CIM $\geq 4\mu\text{g/mL}$ (NCCLS, 2002). Cepas sensíveis à oxacilina (halo de

inibição > 19 mm) foram consideradas sensíveis à penicilina e não submetidas à determinação da CIM, de acordo com a recomendação do CLSI, 2007.

Foram obtidos dados de abril de 1999 a dezembro de 2008 e os resultados, analisados pelos diferentes critérios (CLSI, 2007; CLSI, 2008), submetidos a análise estatística. Para a comparação de proporções do padrão de sensibilidade antimicrobiana nas diferentes faixas de idade, foi empregada a prova do qui-quadrado (χ^2) por meio do programa 'SPSS (*Statistical Package for Social Analysis*) 8.0 for Windows. Foram empregados testes de normalidade e homogeneidade das amostras, sempre que necessário. O nível para a rejeição da hipótese de nulidade foi fixado em 5% ($p < 0,05$).

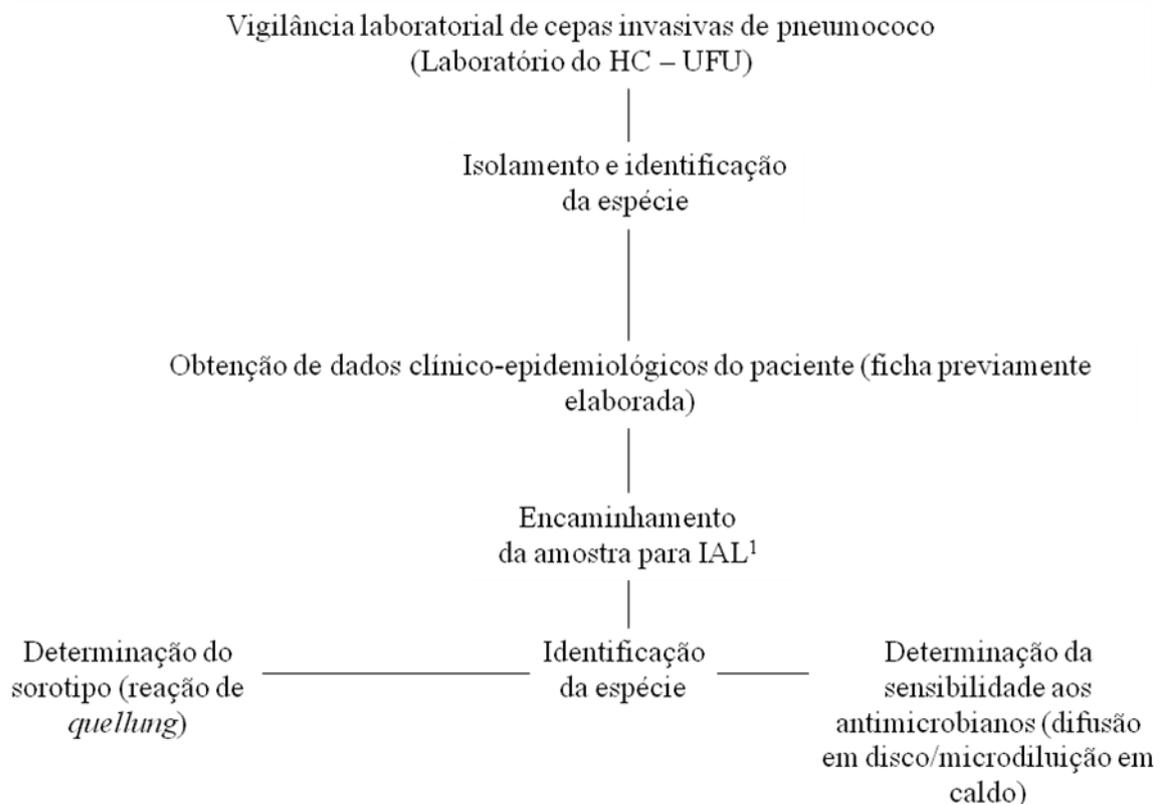


Figura 1 Fluxograma casuística, materiais e métodos.

¹ Instituto Adolfo Lutz

4. RESULTADOS

No período de nove anos e oito meses, de abril de 1999 a dezembro de 2008, foram encaminhadas 330 amostras para o Laboratório do IAL, sendo 195 (59%) provenientes de pacientes com diagnóstico de pneumonia. Destas, vinte foram excluídas por terem chegado mortas (15) ou não conferirem o registro (5). Das 175 restantes, 89 (50,9%) eram provenientes de pessoas do sexo masculino e a idade variou de um ano a 86,8 anos, com média de 24,6 anos (desvio padrão de 28,5 meses) e mediana de 4,4 anos, com intervalo interquartil 25-75 de 1,5 a 49,9 anos. O número de isolamento por faixa de idade foi de 60 em crianças até dois anos, 32 em crianças de dois a cinco anos, sete de cinco a dez anos, três de dez a dezoito anos, seis de dezoito a 30 anos, quatorze de 30 a 40 anos, nove de 40 a 50 anos, treze de 50 a 60 anos e 31 isolamentos em indivíduos acima de 60 anos de idade (**Gráfico 1**). O número de amostras válidas, obtidas nos anos de 1999 a 2008 foi de 14, 34, 13, 24, 33, 14, 10, 12, 9 e 12, respectivamente (**Gráfico 2**). Observou-se maior frequência de pneumonia pneumocócica no inverno nos meses de junho, julho e setembro (**Gráfico 3**). As fontes de recuperação foram o sangue em 110 amostras (62,9%) e líquido pleural em outras 65 (37,1%) (**Gráfico 4**).

Foram detectadas 43 cepas oxacilina-resistentes (24,6% das 175) e segundo critérios tradicionais (CLSI, 2005; CLSI, 2007) 27 apresentaram RI (15,4%) e 12 RP (6,9%) para penicilina (total de 22,3%) (**Tabelas 2 e 3**). De acordo com critérios atualmente propostos (CLSI, 2008) apenas uma cepa confirmou a resistência (RI) à penicilina (**Tabelas 2 e 3**).

A sensibilidade diminuída ao cotrimoxazol foi detectada em 64% das cepas testadas (112/175). A resistência à eritromicina e à clindamicina foi observada em quinze das 175 testadas (8,6%), todas simultaneamente resistentes a ambos antibióticos. A taxa de resistência à ofloxacina foi de 0,6% e à tetraciclina de 17,1%. A resistência (RI) à ceftriaxona foi detectada em apenas uma cepa simultaneamente resistente à penicilina. Não foi observada resistência ao cloranfenicol, rifampicina e vancomicina (**Tabela 4**).

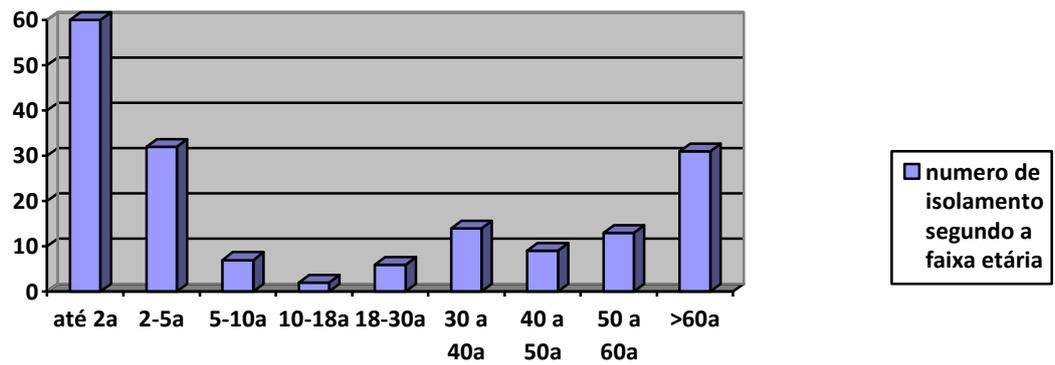


Gráfico 1 Distribuição de amostras de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo faixa etária

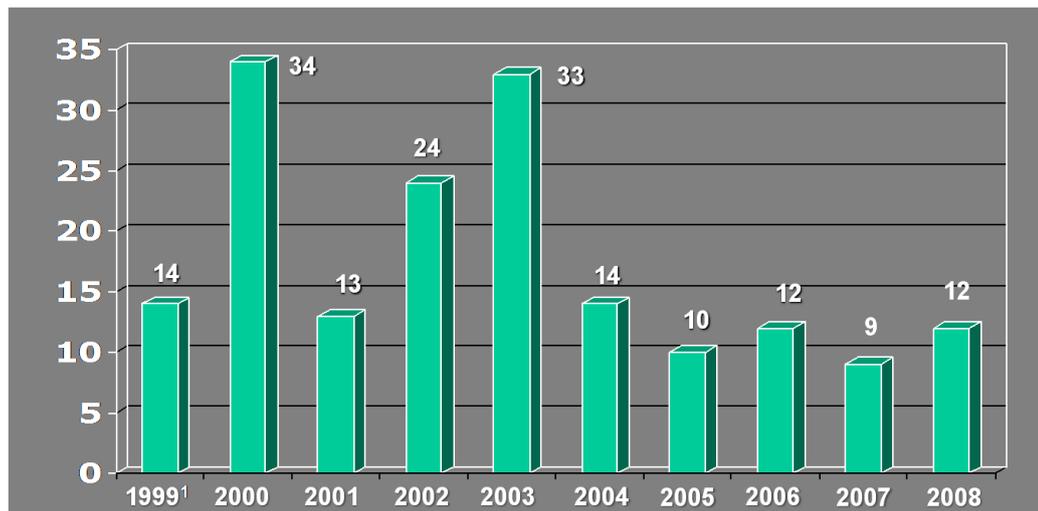


Gráfico 2 Distribuição de amostras de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo ano de obtenção.

¹Abril a Dezembro

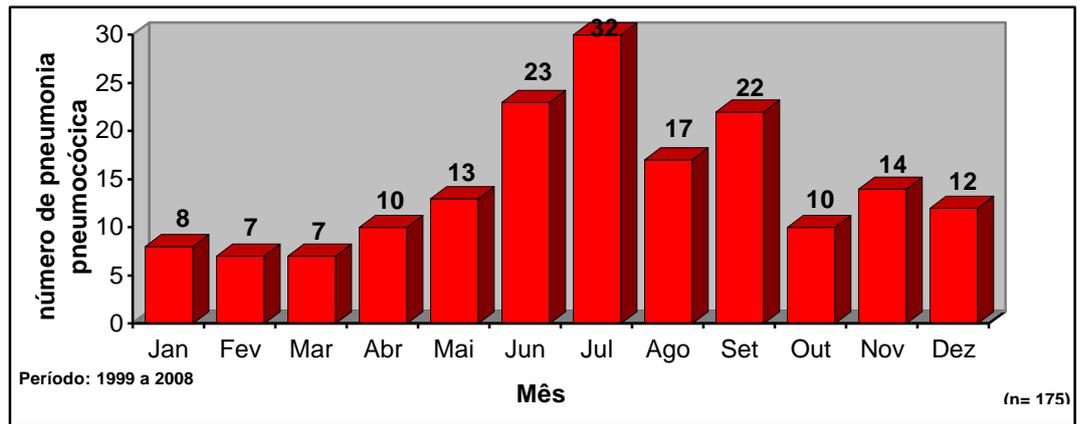


Gráfico 3: Distribuição de amostras de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo meses do ano.



Gráfico 4 Distribuição de amostras de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo a fonte de recuperação.

Tabela 2 Relação das cepas de pneumococo oxacilina -resistentes, obtidas de pacientes com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo a sensibilidade à penicilina

(continua)

Amostra	CIM ¹	Categoria Tradicional ²	Categoria Atual ³
22	0,25	I	S
38	0,125	I	S
46	0,25	I	S
52	0,25	I	S
77	0,5	I	S
89	2	R	S
121	0,125	I	S
124	2	R	S
135	0,125	I	S
140	0,125	I	S
144	0,125	I	S
152	1	I	S
155	2	R	S
158	0,25	I	S
163	0,25	I	S
168	0,25	I	S
183	0,125	I	S
184	0,125	I	S
185	0,25	I	S
202	2	R	S
206	0,03	S	S
208	1	I	S
210	0,125	I	S
215	0,25	I	S
221	0,125	I	S
223	0,25	I	S
237	0,125	I	S
250	0,25	I	S

(continuação)

Tabela 2 Relação das cepas de pneumococo oxacilina -resistentes, obtidas de pacientes com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo a sensibilidade à penicilina.

Amostra	CIM ¹	Categoria	
		Tradicional ²	Atual ³
257	2	R	S
265	0,007	S	S
273	0,125	I	S
277	0,06	S	S
284	0,125	I	S
289	4	R	I
296	2	R	S
299	2	R	S
305	2	R	S
306	2	R	S
307	2	R	S
309	1	I	S
323	0,03	S	S
330	2	R	S

¹Concentração inibitória mínima (CIM) da penicilina em µg/mL.

²Categoria de sensibilidade *in vitro* à penicilina segundo critério tradicional (CLSI, 2007): sensível com CIM ≤ 0,06 µg/mL (S); resistência intermediária com CIM de 0,12 a 1 µg/mL (I) e resistência plena com CIM ≥ 2 µg/mL (R).

³Categoria de sensibilidade *in vitro* à penicilina segundo critério atual (CLSI, 2008): sensível com CIM ≤ 2 µg/mL (S); resistência intermediária com CIM = 4 µg/mL (I) e resistência plena com CIM ≥ 8 µg/mL (R).

Tabela 3 Taxas de resistência à penicilina, segundo os critérios do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), 2007 e CLSI, 2008, em cepas de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008.

Resistência	Número ¹	%	Número ²	%
Intermediária	27	15,4	1	0,6
Plena	12	6,9	0	0
Total ³	39	22,3	1	0,6

¹.Segundo critério do CLSI, 2007

².Segundo critério do CLSI, 2008

³.Total de 175 cepas avaliadas

Tabela 4 Distribuição de amostras de pneumococo obtidas de pacientes internados com pneumonia, no período de 1999 a 2008, segundo a resistência aos outros antimicrobianos.

ANTIMICROBIANO ¹	NÚMERO DE CEPAS RESISTENTES ²	% de RESISTÊNCIA
Cotrimoxazol	112	64
Tetraciclina	30	17,1
Eritromicina	15	8,6
Clindamicina	15	8,6
Ofloxacina	1	0,6
Ceftriaxona	1	0,6

¹Não houve resistência *in vitro* ao cloranfenicol, rifampicina e vancomicina.

²Total de 175 cepas testadas.

5. DISCUSSÃO

A resistência à penicilina foi detectada em 22,3% das cepas testadas, segundo o critério tradicional de sensibilidade *in vitro* (CLSI,2005; CLSI, 2007), próximo das taxas de 25,9% e 25,6% publicadas em levantamentos que empregaram o mesmo critério, tanto de âmbito nacional (OPAS, 2007) quanto internacional (CDC, 2008), respectivamente. O estudo nacional avaliou 4.169 cepas invasivas de pneumococo, sendo 878 provenientes de pacientes com pneumonia, obtidas durante o período de 2000 a 2005 (OPAS, 2007). O sistema de vigilância do Projeto SIREVA é voluntário e tem atraído a colaboração de vários centros em diversos estados brasileiros e países latino-americanos, nos últimos treze anos (BRANDILEONE *et al.*, 1995; BRANDILEONE *et al.*, 1997; BRANDILEONE *et al.*, 1998; BRANDILEONE, 1999; BRANDILEONE *et al.*, 2003; DI FABIO *et al.*, 2001; KERTSZ *et al.*, 1998; OPAS, 2007; OPAS, 2008a) e a distribuição dos resultados segundo a região geográfica tem revelado alguma heterogeneidade de cifras no território nacional. Por exemplo, foram encontrados, no Estado de Minas Gerais, valores de 12,8% para RI e 2,1%, para RP, dentre 94 cepas obtidas de 1993 a 1998 (BRANDILEONE, 1999). A ampliação deste estudo, incluindo amostras coletadas até 1999, mas restritas às crianças até seis anos de idade, evidenciou uma taxa global de resistência de 20,7% (DI FABIO *et al.*, 2001), cujo valor é próximo ao de 20%, encontrado em estudos locais em território nacional (NASCIMENTO-CARVALHO *et al.*, 2003; KOETH *et al.*, 2004). Em Minas Gerais, estudos locais têm apontado cifras de 11,8% de cepas oxacilina-resistentes (BEDRAN *et al.*, 2005) a 15,5% de cepas invasivas de pneumococo com resistência à penicilina, de acordo com os critérios tradicionais (MANTESE. *et al.*, 2003).

Frente à resposta adequada ao tratamento com β -lactâmicos (penicilina ou ampicilina), de pacientes com doença pneumocócica invasiva (exceto meningite), mesmo quando causada por cepas resistentes à penicilina (com CIM até 2,0 μ g/mL), tem sido recomendada uma redefinição das categorias de sensibilidade (HEFFELFINGER *et al.*, 2000). Segundo critérios tradicionais, a categorização em resistente tem relevância clínica em casos de otite média aguda e meningite, mas não em pneumonia (HEFFELFINGER *et al.*, 2000; KAPLAN, 2004). De fato, estudos em crianças e adultos com pneumonia causada por cepas de pneumococo resistentes à penicilina (com CIM até 2 μ g/mL) ou ceftriaxona (com CIM até 1 μ g/mL), têm demonstrado resposta eficaz diante do tratamento com penicilina ou cefalosporina de terceira geração (HEFFELFINGER *et al.*, 2000; KAPLAN, 2004). Dados farmacocinéticos e

farmacodinâmicos corroboram estas observações. Um indicador preditivo da eficácia clínica consiste na presença da concentração sérica ou tecidual de β -lactâmicos acima da CIM para pneumococo durante pelo menos 40% a 50% do intervalo de tempo entre as doses (HEFFELFINGER *et al.*, 2000). Este objetivo é alcançado com o emprego da penicilina em doses de 8 a 15 milhões de unidades por dia (intervalos de quatro a seis horas) para adultos e de 100.000 a 300.000 unidades/kg/dia (4 a 6 doses) para crianças, para tratamento de pneumonia causada por cepa de pneumococo com CIM $\leq 4\mu\text{g/mL}$ (HEFFELFINGER *et al.*, 2000). Cardoso *et al.*, 2008, propõe 200.000 unidades/kg/dia para o tratamento de crianças com pneumonia causada por cepa de pneumococo com CIM até 2 $\mu\text{g/mL}$.

Novos pontos de corte de sensibilidade *in vitro* para a penicilina (CLSI, 2008) foram recentemente propostos. Com a adoção dos novos critérios, houve, neste estudo, uma diminuição nas taxas de resistência de 97,3%, ou seja, de 22,3% para 0,6% das cepas testadas. É possível observar, também, uma queda nas taxas de resistência à penicilina, ao empregar os diferentes critérios, em levantamentos de âmbito nacional (OPAS, 2008a; OPAS, 2008b). Ao analisar 768 cepas invasivas obtidas durante o ano de 2006, dentre 168 cepas de pacientes com pneumonia, foi possível observar uma taxa de resistência à penicilina, segundo critério tradicional (CLSI, 2007) de 39,3% (RI=21,4% e RP=17,9%) (OPAS, 2008a). Ao analisar 874 cepas invasivas de pneumococo obtidas durante o ano de 2007, dentre 162 cepas de pacientes com pneumonia, a taxa de resistência à penicilina, segundo critério atual (CLSI, 2008) foi de 12,3% (RI) (OPAS, 2008b). Apesar de referirem-se a amostras diferentes, uma coletada em 2006 (OPAS, 2008a) e outra em 2007 (OPAS, 2008b), a queda na taxa de resistência foi tão expressiva (de 68,7%) para tão curto espaço de tempo, que permite supor que a principal variável foi a mudança no critério de definição de resistência.

Algumas observações podem ser feitas quanto à sensibilidade das cepas a outros antimicrobianos. A elevada taxa de resistência encontrada para o cotrimoxazol (64%) está de acordo com relatadas em estudos nacionais de 62,7% (BEREZIN *et al.*, 1996), 78,5% (BRANDILEONE, 1999), 65,7% (NASCIMENTO-CARVALHO *et al.*, 2003), 54,5% (KOETH *et al.*, 2004), 59,1% (OPAS, 2007; OPAS, 2008a) e pode comprometer a indicação desse quimioterápico no tratamento das infecções pneumocócicas. Permanecem relativamente baixas as cifras para a eritromicina (8,6%), clindamicina (8,6%) e ofloxacina (0,6%), comparáveis com as relatadas em outros estudos nacionais: para eritromicina valores de 2,4% (BRANDILEONE, 1999), 4,8% (OPAS, 2007; OPAS, 2008a), 5,7% (NASCIMENTO-CARVALHO *et al.*, 2003) e 3,8% (KOETH *et al.*, 2004); para clindamicina valores de 2,9% (NASCIMENTO-CARVALHO *et al.*, 2003) e 3,1% (KOETH *et al.*, 2004) e para ofloxacina

valores de 6,3% (NASCIMENTO-CARVALHO *et al.*, 2003) e 1,9% (KOETH *et al.*, 2004). A resistência do pneumococo às fluorquinolonas é considerada incomum ou rara, mas evidencia aumento em algumas regiões do mundo (CDC, 2001; KAPLAN, 2004). Diferentemente do que ocorre com a penicilina, a resistência a essas drogas predomina em cepas recuperadas de adultos, particularmente entre os idosos com 65 anos ou mais, provavelmente pela elevada densidade de utilização destes compostos (CDC, 2001).

O fato de todas as quinze cepas resistentes à eritromicina serem também resistentes à clindamicina sugere a manifestação do fenótipo MLS_B , caracterizado pela resistência constitutiva aos macrolídeos, lincosaminas e estreptogramina B (HYDE *et al.*, 2001). Não houve resistência *in vitro* ao cloranfenicol, à rifampicina ou à vancomicina.

O encontro de apenas uma cepa de pneumococo resistente (RI) à ceftriaxona confere uma taxa estimada de 0,6% de resistência, inferior às encontradas em estudos de vigilância populacional de âmbito nacional (OPAS, 2008a; OPAS 2008b). Dentre 412 cepas invasivas obtidas de pacientes sem meningite, coletadas durante o ano de 2006 (OPAS, 2008a) e 2007 (OPAS 2008b), foi detectada uma taxa de resistência à ceftriaxona de 9% (37/412 cepas), sendo 8,7% (36/412) com RI e 0,3% (1/412) com RP. Nos EUA, o *Active Bacterial Core Surveillance (ABCs) Report* detectou, dentre 3.514 cepas invasivas obtidas durante o ano de 2007, uma taxa de resistência à cefotaxima de 6,9% (RI=5,5% e RP=1,4%) (CDC, 2008).

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

Como a escolha do antibiótico é influenciada pela categorização laboratorial (em sensível ou resistente, de acordo com a CIM), a adoção de novos pontos de corte deve aumentar as taxas de cepas relatadas como *sensíveis* e consolidar a importância da manutenção da penicilina no tratamento da pneumonia pneumocócica.

6. CONCLUSÕES

Segundo o critério tradicional de ponto de corte, a taxa de resistência à penicilina foi de 22,3%, sendo 15,4% de resistência intermediária e 6,9% de resistência plena;

Segundo o critério atual de ponto de corte, a taxa de resistência à penicilina foi de 0,6% (resistência intermediária);

Com a adoção dos novos pontos de corte para sensibilidade *in vitro* à penicilina, as taxas de resistência diminuíram em 97,3%.

A elevada taxa de resistência ao cotrimoxazol, de 64%, está de acordo com as encontradas em outros estudos nacionais e deve comprometer a indicação desse quimioterápico no tratamento das infecções pneumocócicas.

A adoção de novos pontos de corte deve aumentar as taxas de cepas relatadas como *sensíveis* e consolidar a importância da manutenção da penicilina no tratamento da pneumonia pneumocócica.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Pneumococcal Infections. In: ____ - **Report of the Committee on Infectious Diseases**. 27 ed., Elk Grove Village (Illinois): AAP, 2006. p. 525-37.
- APPELBAUM, P. C. Antibiotic-resistant pneumococci: facts and fiction. **J Chemother**, Firenze, v. 6, p. s7-s24, 1994. Supplement 4.
- APPELBAUM, P. C. Epidemiology and *in vitro* susceptibility of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. **Pediatr Infect Dis J**, Baltimore, v. 15, n. 10, p. 932-939, 1996.
- APPELBAUM, P. C. Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: Implications for Drug Selection. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 34, p. 1613–20, May. 2002.
- AUSTRIAN, R. The current status of bacteremic pneumococcal pneumonia. Reevaluation of an underemphasized clinical problem. **Trans Assoc Am Physicians**, Philadelphia, v. 76, p. 117, 1963.
- AUSTRIAN, R. *et al.* Prevention of pneumococcal pneumonia by vaccination. **Trans Assoc Am Physicians**, Philadelphia, v. 89, p. 184-194, 1976.
- BARTLETT, J G, *et al.* Practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults. **Clin Infect dis**, Chicago, v. 31, n.2, p. 347-382, Aug. 2000.
- BEDRAN, M.B.M. *et al.* Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to penicillin in the state of Minas Gerais, Brazil from 1997-2004. **Braz J Infect Dis**, Salvador, v. 9, n. 5, p. 390-7, Oct. 2005.
- BEREZIN, E. N. *et al.* *Streptococcus pneumoniae* penicillin-nonsusceptible strains in invasive infections in São Paulo, Brazil. **Pediatr Infect Dis J**, Baltimore, v. 15, n. 11, p. 1051-1053, Nov. 1996.
- BRADLEY, J. S.; SCHELD, W. M. The challenge of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* meningitis: current antibiotic therapy in the 1990s. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 24, p. S213-221, 1997. Supplement 2.
- BRANDILEONE, M.C.C. *et al.* Appropriateness of a pneumococcal conjugate vaccine in Brazil: potential impact of age and clinical diagnosis, with emphasis on meningitis. **J Infect Dis**, Chicago, v. 187, n. 8, p. 1206-1212, Apr. 2003.
- BRANDILEONE, M. C. C. *et al.* Characteristics of isolates *Streptococcus pneumoniae* from middle aged and elderly adults in Brazil: capsular serotypes and antimicrobial sensitivity to invasive infections. **Braz J Infect Dis**, Salvador, v. 2 , n. 2, p. 90-96, 1998.
- BRANDILEONE, M. C. C. **Distribuição de sorotipos, resistência antimicrobiana e perfil molecular de *Streptococcus pneumoniae* isolado de doença invasiva no Brasil: 1993 a 1998**. 1999. 155f. Tese (Doutorado em Doenças Infecciosas e Parasitárias). Escola Paulista de Medicina - Universidade de São Paulo, São Paulo. 1999.

BRANDILEONE, M. C. C. *et al.* Distribution of serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolated from invasive infections over a 16-year period in the greater São Paulo area, Brazil. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 33, n. 10, p. 2789-2791, oct. 1995.

BRANDILEONE, M. C. C. *et al.* Prevalence of serotypes and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from Brazilian children with invasive infections. **Microb Drug Resist**, New York, v. 3, n. 2, p. 141-146, 1997.

BRANDILEONE, M.C.C. **SIREVA no Brasil: Funcionamento e Apresentação de Dados.** Out. 2007. Disponível em:
<http://www.paho.org/spanish/ad/fch/im/17Brandileone_SIREVA_Brasil.pdf> Acesso em: 19 jan. 2009

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual dos centros de referência para imunobiológicos especiais.** 3.ed. Brasília, 2006.

BRICKS, L.F.; BEREZIN, E. Impact of Pneumococcal Conjugate Vaccine on the Prevention of Invasive Pneumococcal diseases. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, v. 82, p. S67-74, Jul./Ago. 2006. Supplement 3.

CAMPBELL Jr., G. D.; SILBERMAN, R. Drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 26, n. 5, p. 1188-1195, May 1998.

CARDOSO, M. R. A. *et al.* Penicillin-resistant pneumococcus and risk of treatment failure in pneumonia. **Arch Dis Child**, London, v. 93, p. 221-225, 2008.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Emerging Infections Program Network, *Streptococcus pneumoniae*, 2007. **Active Bacterial Core Surveillance Report**, 2008 Disponível em: <<http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/abcs/survreports/spneu07.pdf>>. Acesso 25 fev. 2009.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Pneumococcal Disease. **Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases.** [2004?], Disponível em: <<http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/pneumo-508.pdf>>. Acesso 17 jan. 2009

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Pneumococcal Disease in This Chapter. **Antibiotic Resistance Surveillance Toolkit.** [200-]. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/drpsurveillancetoolkit/docs/PneumococcalDisease.pdf>>. Acesso 17 jan. 2009.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Resistance of *Streptococcus pneumoniae* to fluorquinolones- United States, 1995-1999. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)**, Atlanta, n. 50, p. 800-804, 2001.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement.** Wayne, 2008. (CLSI document M100-S18, v. 28, n.1 and replaces M100-S17, v. 27, n.1)

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement**. Wayne, 2005. (CLSI/NCCLS document M100-S15).

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement**. Wayne, 2007. (CLSI Publication M100-S17)

DI FABIO, J.L. *et al.* C. Evolution of *S. pneumoniae* serotypes and penicillin susceptibility in Latin America, Sireva-Vigía Group, 1993 to 1999. **Pediatr Infect Dis J**, Baltimore, v. 20, n. 10, p. 959-967, Oct. 2001.

DOWELL, S. F. *et al.* Otitis media-principles of judicious use of antimicrobial agents. **Pediatrics**, Springfield, v. 101. n. 1, p. 165-171, Jan. 1998.

ESKOLA, J.; ANTTILA, M. Pneumococcal conjugate vaccines. **Pediatr Infect Dis J**, Baltimore, v. 18, n. 6, p. 543-551, Jun. 1999.

FEDSON, D. S.; MUSER, D. M.; ESKOLA, J. Pneumococcal vaccine. In: PLOTKIN, S. A.; ORENSTEIN, W. A. **Vaccines**. 3th ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1999. p. 553-608.

FREIRE, H. B. M. Infecções pneumocócicas: considerações atuais. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 1, p. 3-4. Fev. 2002.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação Geral do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública. **Epidemiological Surveillance of *S. pneumoniae* in Brazil**. Brasília, 1994.

GILLESPIE, S. H. Aspects of pneumococcal infection including bacterial virulence, host response and vaccination. **J Med Microbiol**, Edinburgh, v. 28, n. 4, p. 237-248, Apr. 1989.

HARWELL, J. I.; BROWN, R. B. The drug-resistant pneumococcus: clinical relevance, therapy and prevention. **Chest**, Chicago, v. 117, n. 2, p. 530-541, 2000.

HEFFELFINGER, J. D. *et al.* Management of community-acquired pneumonia in the era of pneumococcal resistance: a report from the Drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* Therapeutics Working Group. **Arch Intern Med**, Chicago, v. 160, n. 10, p. 1399-1408, May 2000.

HENRICHSEN, J. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 33, n. 10, p. 2759-2762, Oct. 1995.

HYDE, T. B. *et al.* Macrolide resistance among invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates. **JAMA**, Chicago, v. 286, n. 15, p. 1857-1862, Oct. 2001.

INSTITUTO NACIONAL DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Cidades**. Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>. Acesso em: 30 abr. 2009.

JACOBS, M.R. *et al.* The Alexander Project 1998-2000: susceptibility of pathogens isolated from community-acquired respiratory tract infection to commonly used antimicrobial agents. **J Antimicrob Chemother**, England, v. 52, p. 229-46, Jul. 2003.

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

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

KALIN, M. Pneumococcal serotypes and their clinical relevance. **Thorax**, London, v. 53, n. 3, p. 159-162, 1998.

KAPLAN, S.L. Review of antibiotic resistance, antibiotic treatment and prevention of pneumococcal pneumonia. **Paediatr Respir Rev**, England, v. 5, p. s153-s158, Jan. 2004. Supplement A.

KELLOGG, J. A. *et al.* Identification of *Streptococcus pneumoniae* revisited. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 39, n. 9, p. 3373-3375, 2001.

KERTSZ D.A. *et al.* Invasive *Streptococcus pneumoniae* infection in Latin American children: results of the Pan American Health Organization Surveillance Study. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 26, n. 6, p. 1355-61, Jun. 1998.

KLUGMAN, K. P. The clinical relevance of *in vitro* resistance to penicillin, ampicillin, amoxicillin and alternative agents, for the treatment of community-acquired pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis*. **J Antimicrob Chemother**, London, v. 38, p. 133-140, Jul. 1996. Supplement A.

KOETH, L.M. *et al.* Antimicrobial resistance among respiratory tract pathogens of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* in Sao Paulo Brazil from 1996-2000. **Int J Antimicrob Agents**, Netherlands, v. 23, n.4, p. 356-361, Apr. 2004.

LUJAN, M. *et al.* Prospective observational study of bacteremic pneumococcal pneumonia: Effect of discordant therapy on mortality. **Crit. Care Med.**, New Jersey, v. 32, n. 3, p. 625-31. Mar. 2004.

MACIAS, E. A. *et al.* Comparison of E test with standard broth microdilution for determining antibiotic susceptibilities of penicillin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 32, n. 2, p. 430-432, Feb. 1994.

MAIDEN, M. C. J. Horizontal genetic exchange, evolution, and spread of antibiotic resistance in bacteria. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 27, S12-20, Aug. 1998. Supplement 1.

MANDELL, L. A. *et al.* Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society Consensus Guidelines on the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 44, p. S27-72, Mar. 2007. Supplement 2.

MANTESE, O. C. Pneumococo Resistente à Penicilina: Implicações Práticas. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, v. 75, p. S74-S90, Jul./Ago. 1999. Supplement 1.

MANTESE, O.C. *et al.* Prevalência de Sorotipos e Resistência Antimicrobiana de Cepas Invasivas do *Streptococcus pneumoniae*. **J Pediatr**, Rio Janeiro, v. 79, n. 6, p 537-42, Nov./dez. 2003.

MIMS, C. A.; DIMMOCK, N. J.; NASH, A.; STEPHEN, J. **MIMS pathogenesis of infectious disease**. 4th ed. New York: Academic Press, 1995. 415p.

MULHOLLAND, K. Strategies for the control of pneumococcal diseases. **Vaccine**, Amsterdam, v. 17, p. S79-84, 1999. Supplement 1.

NASCIMENTO-CARVALHO C. M. *et al.* Cepas invasivas de pneumococos isoladas de crianças e adolescentes em Salvador. **J Pediatr** , Rio de Janeiro, v. 79, n. 3, p. 209-14. Mai/Jun. 2003.

NASCIMENTO CARVALHO, C. M. C. *et al.* Community Acquired Pneumonia Among Pediatric Outpatients in Salvador, Northeast Brazil, with Emphasis on Role of Peumococcus. **Braz J Infect Dis**, Salvador, v. 5, n.1, p. 13-20, jan. 2001.

NASCIMENTO-CARVALHO, C. M.; SOUZA-MARQUES, H. H.. Recomendação de Sociedade Brasileira de Pediatria para antibioticoterapia em crianças e adolescentes com pneumonia comunitária. **Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health**, Washington v. 15, n. 6, p. 380-387, 2004.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS.
Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard. Villanova, 1997.(NCCLS Publication M2-A5)

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS).
Supplemental tables. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twelfth Informational Supplement. Villanova, 2002. (NCCLS Publication M100-S12, v. 22, n. 1. M2-A7 and M7-A5).

NGUI-YEN, J. H. *et al.* Evaluation of the E test by using selected Gram-positive bacteria. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 30, n.8, p. 2150-2152, Aug. 1992.

OBARO, S. K.; MADHI, S. A. Bacterial Pneumonia Vaccines And Childhood Pneumonia: Are We Winning, Refining, Or Redefining? **Lancet Infect Dis**, New York, v. 6, n. 3, p. 150–61, Mar. 2006.

OKEKE, I. N. *et al.* Antimicrobial resistance in developing countries. Part I: recent trends and current status. **Lancet Infect Dis**, New York, v. 5, n. 8 p. 481–93, Aug. 2005a.

OKEKE, I. N. *et al.* Antimicrobial resistance in developing countries. Part II: strategies for containment. **Lancet Infect Dis**, New York, v. 5, n. 9, p. 568–80, Sept. 2005b.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (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.** Documentos Técnicos. Tecnología, Atención en Salud e Investigación (THR). Medicamentos Esenciales, Vacunas y Tecnologías en Salud (EV), Washington , 002, p. 48-60. 2007.

_____. **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.** Documentos Técnicos. Tecnología, Atención en Salud e Investigación (THR). Medicamentos Esenciales, Vacunas y Tecnologías en Salud (EV), Washington, 001, p. 39- 46, 2008a.

_____. **Informe Regional de SIREVA II, 2007: datos por país y por grupo de edad sobre las características de los aislamientos de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis* em processos invasores.** Documentos Técnicos. Tecnologías Esenciales de Salud. Tecnología, Atención en Salud e Investigación (THR). Medicamentos Esenciales, Vacunas y Tecnologías en Salud (EV). Washington, 003, p. 40-48, 2008b.

PARK, I. H. *et al.* Discovery of a new capsular serotype (6C) within serogroup 6 of *Streptococcus pneumoniae*. **J Clin Microbiol.** Washington, v. 45, n. 4, p. 1225-1233, Apr. 2007.

PETER, G.; KLEIN, J. O. *Streptococcus pneumoniae*. In: LONG, S. S.; PICKERING, L. K.; PROBER, C. G. **Principles and practice of pediatric infectious diseases.** New York, 1997. p. 828-835.

SANDERS, L. A. M. *et al.* Defective antipneumococcal polysaccharide antibody response in children with recurrent respiratory tract infections. **J Allergy Clin Immunol**, St Louis, v. 91 (1 Pt 1), p. 110-119, 1993.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE IMUNIZAÇÕES. Doença Pneumocócica Invasiva (DPI) Importância e impacto na Saúde. **Informativo Sociedade Brasileira de Imunizações.** Rio de Janeiro, ano 2, n. 12, Abr. 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Novo Calendário de Vacinas da SBP.** Rio de Janeiro, 2009. Disponível em:
<http://www.sbp.com.br/show_item2.cfm?id_categoria=21&id_detalhe=2619&tipo_detalhe=s> Acesso 14 fev. 2009.

SHANN, F. The management of pneumonia in children in developing countries. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 21, p. S218-25, 1995. Supplement 3

SORENSEN, U. B. S. Typing pneumococci using 12 pooled antisera. **J Clin Microbiol**, Washington, v.31, n.8, p. 2097-2100, Aug. 1993.

SORIANO, F. *et al.* Breakthrough in penicillin resistance? *Streptococcus pneumoniae* isolates with penicillin/cefotaxime MICs of 16 mg/L and their genotypic and geographical relatedness. **J Antimicrob Chemother**, London, v.62, n.6, p. 1234–1240. Dec. 2008.

SPREER, A. *et al.* Differences in Clinical Manifestation of *Streptococcus pneumoniae* Infection Are Not Correlated with *In vitro* Production and Release of the Virulence Factors Pneumolysin and Lipoteichoic and Teichoic Acids. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 42, n. 7, p. 3342-3345, July 2004.

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

TOMASZ, A. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 24, p. S85-88, 1997.

TOMASZ, A. Surface components of *Streptococcus pneumoniae*. **Rev Infect Dis**, Chicago, v. 3, n. 2, p. 190-211, 1981.

TSOLIA, M.N. *et al.* Etiology of Community- Acquired Pneumonia in hospitalized School-age children: Evidence for High Prevalence of Viral Infections. **Clin infect dis**, v. 39, n. 5, p. 681-686, 2004.

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

TUOMANEN, E. I. *et al.* The induction of meningeal inflammation by components of the pneumococcal cell wall. **J Infect Dis**, Chicago, v. 151, n. 5, p. 859-868, 1985.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA (UFU). **Plano Diretor do Hospital de Clínicas**. Uberlândia, 2007. 82 p.

VENGLARCIK, J. S 3rd. *Streptococcus pneumoniae* antimicrobial susceptibility testing. **Pediatr Infect Dis J**, Baltimore, v. 19, n. 4, p. 329-331, Apr. 2000.

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

WEBER, D. J.; RUTALA, W. A.. *Streptococcus pneumoniae* Infections: Microbiology, Epidemiology, Treatment and Prevention. **Medscape**. Disponível em: <http://www.medscape.com/viewprogram/2281_pnt>, Acesso em: 23 abr. 2003.

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

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization—WHO position paper. **Wkly Epidemiol Rec**, Geneva, v. 82, p. 93–104, 2007

_____ **Target Product Profile for the Pneumococcal Advanced Market Commitment. Independent Assessment Committee**. Department of International Health. Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health. Baltimore, 2008. Disponível em: <http://www.vaccineamc.org/updatedec_08.html>. Acesso em 23 de fevereiro de 2009.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “Prevalência de sorotipos e resistência à penicilina de cepas invasivas de *Streptococcus Pneumoniae* em pacientes com diagnóstico de pneumonia admitidos em um Hospital Universitário”.

Nesta pesquisa, nós estamos buscando conhecer a prevalência dos sorotipos das cepas invasivas de *Streptococcus Pneumoniae* (bactéria também chamada de pneumococos) em pacientes com pneumonia e a resistência dessas bactérias ao antibiótico penicilina considerando também aspectos epidemiológicos como idade, sexo, tempo de internação e evolução clínica.

A sua participação será o seguinte: serão colhidos dados da sua ficha clínica. Essas fichas clínicas fazem parte de um banco de dados do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HCU) com a finalidade de vigilância epidemiológica dos pneumococos (bactéria que é o foco deste estudo). Essas fichas foram preenchidas por colaboradores Laboratório de Análises Clínicas do HCU a partir do momento em que o laboratório identificou o pneumococo no exame de cultura de sangue e/ou líquido pleural que foi colhido e solicitado pelo seu médico. Nestas fichas constam dados de sua identificação, dados da evolução e história clínica, tratamento antimicrobiano instituído (antibiótico), diagnóstico(s), fonte da amostra e resultados de testes laboratoriais e são preenchidas usando o seu prontuário e os resultados laboratoriais e estão armazenadas em um banco de dados do HCU.

.Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e, ainda assim, sua identidade será preservada.

Você não terá nenhum ônus ou ganho financeiro por participar da pesquisa.

Você e a sua assistência no HCU não correrão risco adicional por este estudo, já que o diagnóstico, a indicação e realização da coleta dos espécimes clínicos e o tratamento são indicados exclusivamente pelo seu médico. Os dados de sua identificação serão mantidos em sigilo e jamais divulgados pelos pesquisadores.

Os benefícios serão comunitários e indiretos, à medida que este estudo colaborará com a fundamentação da escolha de sorotipos para construção de vacinas pneumocócicas e colaborará para padronização de antimicrobianos (antibióticos) no tratamento de pneumonia.

Você é livre para parar de participar a qualquer momento sem nenhum prejuízo para você.

Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você.

Se houver qualquer dúvida a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com:

- Pesquisadores: Universidade Federal de Uberlândia – Hospital de Clínicas
Av. Pará, 1720. Campus Umuarama. CEP: 38 405-382. Uberlândia. MG. Fone: 3218 2000, ramais: 23 67 ou 22 58.

- - Comitê de Ética e Pesquisa (CEP/UFU) Av. João Naves de Ávila, nº 2121, Bloco J, Campus Santa Mônica – Uberlândia- MG, CEP: 38408-100, Fone: 3239 4531.

Aluna: Paula Carolina Bejo Wolkers

Ramal: 2367

(Assinatura da pesquisadora/aluna do Mestrado em Ciências da Saúde)

Orientador: Prof. Dr. Orlando C. Mantese

Ramal: 2258

(Assinatura do orientador/pesquisador)

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

(Participante da pesquisa)

APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA MENORES DE 18 ANOS

Estamos convidando seu filho(a) para participar da pesquisa “Prevalência de sorotipos e resistência à penicilina de cepas invasivas de *Streptococcus Pneumoniae* em pacientes com diagnóstico de pneumonia admitidos em um Hospital Universitário”.

Nesta pesquisa, nós estamos buscando conhecer a prevalência dos sorotipos das cepas invasivas de *Streptococcus Pneumoniae* (bactéria também chamada de pneumococos) em pacientes com pneumonia e a resistência dessas bactérias ao antibiótico penicilina considerando também aspectos epidemiológicos como idade, sexo, tempo de internação e evolução clínica.

A participação do seu filho(a) será o seguinte: serão colhidos dados da ficha clínica dele (a). Essas fichas clínicas fazem parte de um banco de dados do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HCU) com a finalidade de vigilância epidemiológica dos pneumococos (bactéria que é o foco deste estudo). Essas fichas foram preenchidas por colaboradores Laboratório de Análises Clínicas do HCU a partir do momento em que o laboratório identificou o pneumococo no exame de cultura de sangue e/ou líquido pleural que foi colhido e solicitado pelo médico do seu filho(a). Nestas fichas constam dados da identificação do seu filho (a), dados da evolução e história clínica, tratamento antimicrobiano instituído (antibiótico), diagnóstico(s), fonte da amostra e resultados de testes laboratoriais e são preenchidas usando o prontuário do seu filho(a) e os resultados laboratoriais e estão armazenadas em um banco de dados do HCU.

Em nenhum momento seu filho(a) ou você serão identificados. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim sua identidade e a identidade de seu filho(a) serão preservadas.

Você ou seu filho(a) não terão nenhum ônus ou ganho financeiro por participar da pesquisa.

Você, seu filho(a) e assistência dele(a) no HCU não correrá risco adicional por este estudo, já que o diagnóstico, a indicação e realização da coleta dos espécimes clínicos e o tratamento são indicados exclusivamente pelo médico do seu filho(a). Os dados de identificação dele(a) e seu serão mantidos em sigilo e jamais divulgados pelos pesquisadores.

Os benefícios serão comunitários e indiretos, na medida em que este estudo colaborará com a fundamentação da escolha de sorotipos para construção de vacinas pneumocócicas e colaborará para padronização de antimicrobianos (antibióticos) no tratamento de pneumonia.

Você é livre para decidir pelo seu filho(a) a parar de participar a qualquer momento da pesquisa sem nenhum prejuízo para o senhor(a) ou para seu filho (a).

Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você.

Caso haja qualquer dúvida a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com:

- Pesquisadores: Universidade Federal de Uberlândia – Hospital de Clínicas

Av. Pará, 1720. Campus Umuarama. CEP: 38 405-382. Uberlândia. MG. Fone: 3218 2000, ramais: 23 67 ou 22 58.

- Comitê de Ética e Pesquisa (CEP/UFU) Av. João Naves de Ávila, nº 2121, Bloco J, Campus Santa Mônica – Uberlândia- MG, CEP: 38408-100, Fone: 3239 4531.

Aluna: Paula Carolina Bejo Wolkers

Ramal: 2367

(Assinatura da pesquisadora/aluna do mestrado em Ciências da Saúde)

Orientador: Prof. Dr. Orlando C. Mantese

Ramal: 2258

(Assinatura do orientador/pesquisador)

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

(Responsável pelo participante da pesquisa)

ANEXO A**FICHA CLÍNICA**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA – HOSPITAL DE CLÍNICAS
LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS – SETOR DE BACTERIOLOGIA
AV. PARÁ, 1720. CAMPUS UMUARAMA. CEP 38 405-382. UBERLÂNDIA. MG.

Ficha número:

Nome:		PT:
Endereço:		
Data de nascimento:	Idade:	Sexo:
Data de internação:	Peso:	Altura:
Data de alta:	Evolução:	

História Clínica:

Exame Físico:

Diagnóstico clínico:

Tratamento Antimicrobiano:

Evolução Clínica:

Fonte da Amostra:	Data da coleta:
Disco de optoquina:	Disco de oxacilina:
Antibiograma:	
CIM (E teste) penicilina:	
Kirby-Bauer: S-	
R-	

IAL: Sorotipo:
Antibiograma: