

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
INSTITUTO BIOMÉDICO
BIOMEDICINA

LARISSA ALEXANDRA SILVA RODRIGUES

**PREVALÊNCIA DE COLONIZAÇÃO E RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS
EM *Streptococcus pneumoniae* ISOLADOS DE PACIENTES ADULTOS
COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Orientador: Prof. Dr. Felipe Piedade Gonçalves Neves

Co-orientadora: Nayara Torres Cardoso Marques

NITERÓI, RJ

2019

LARISSA ALEXANDRA SILVA RODRIGUES

**PREVALÊNCIA DE COLONIZAÇÃO E RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS
EM *STREPTOCOCCUS PENUMONIAE* ISOLADOS DE PACIENTES
ADULTOS COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Orientador: Prof. Dr. Felipe Piedade Gonçalves Neves

Co-orientadora: Nayara Torres Cardoso Marques

Niterói, RJ

2019

Ficha catalográfica automática - SDC/BIB
Gerada com informações fornecidas pelo autor

S586p Silva rodrigues, Larissa Alexandra
PREVALÊNCIA DE COLONIZAÇÃO E RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS
EM Streptococcus pneumoniae ISOLADOS DE PACIENTES ADULTOS COM
LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO / Larissa Alexandra Silva
rodrigues ; Felipe Piedade Gonçalves Neves, orientador ;
Nayara Torres Cardoso Marques, coorientadora. Niterói, 2019.
40 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina)-
Universidade Federal Fluminense, Instituto Biomédico,
Niterói, 2019.

1. Pesquisa biomédica. 2. Produção intelectual. I.
Gonçalves Neves, Felipe Piedade, orientador. II. Cardoso
Marques, Nayara Torres, coorientadora. III. Universidade
Federal Fluminense. Instituto Biomédico. IV. Título.

CDD -

LARISSA ALEXANDRA SILVA RODRIGUES

**PREVALÊNCIA DE COLONIZAÇÃO E RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS
EM *Streptococcus pneumoniae* ISOLADOS DE PACIENTES ADULTOS
COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**

Aprovada em de de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. Felipe Piedade Gonçalves Neves – UFF (Orientador)

Professora Dra. Cláudia R. V. de Mendonça Souza – UFF

Professora Dra. Rachel Leite Ribeiro – UFF

Professora Dra. Júlia Peixoto de Albuquerque – UFF (Suplente)

Dedico este trabalho aos meus pais, Anísio e Nilza, pelo amor incondicional, por estarem sempre ao meu lado me incentivando e apoiando. Sem eles, não teria sido possível chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Por tudo que superei e alcancei na Vida eu agradeço ao meu amado Deus.

Aos meus amados pais, Anisio e Nilza, pelo amor sem medida, pelo carinho pela dedicação, pela educação, por moverem fundos e mundos para que eu chegasse até aqui. Este título não é só meu, ele é nosso, é para que vocês se orgulhem de mim, e pra que meus filhos, um dia, tenham por mim pelo menos metade da admiração que eu tenho por vocês. Obrigada por tanto!

Aos meus irmãos, Davidson e Elzo, por sempre estarem do meu lado me apoiando e me protegendo. Mesmo longe o nosso laço é mais forte que tudo.

Ao João, pelo companheirismo, pelo amor, pelo incentivo. Obrigada por ser meu suporte em todas as horas.

Ao meu orientador, Prof. Felipe Piedade, por me abrir as portas do laboratório e da ciência. Obrigada pelos ensinamentos, por sua confiança, pela incansável dedicação, pela paciência e incentivo na orientação que tornaram possível a conclusão desta monografia.

À minha co-orientadora, Nayara Marques, que também foi uma amiga, uma mãe. Obrigada por todo o auxílio, pela paciência, por acreditarem em mim, mesmo quando eu não acreditava. Gratidão por tudo que me ensinou.

Às minhas meninas, Larisa, Mirta, Emma, Evelyn, Anira, Dirce, por estarem sempre presentes compartilhando todos os momentos mesmo longe, afinal a amizade não depende do tempo nem da distância mas sim da conexão.

À minha best, Marly por estar comigo todos os dias compartilhando histórias, sorrisos, desespero, fraquezas, alegrias mesmo longe.

À minha querida tia Ariana, pelo carinho e apoio aqui no Brasil, e à todos os meus familiares em Cabo Verde.

À minha família de Nitéroí, Danilda, Laly, Hernani, Alex, Funa. Nós não dividimos somente o mesmo espaço e sim uma vida. Gratidão por todas as histórias, pelos sorrisos, pelas conversas, pela amizade, que com certeza foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

Aos melhores amigos que a UFF poderia me dar, Gabriela, Amanda, Nicolas, Priscila, por tornarem a universidade mais agradável e divertida. Vocês foram fundamentais para a minha formação.

Aos meus amigos, Renan, Andry, Cibele, Iza, pela parceria no ECO I, na fila do bandeirão e nos rolês,

Aos meus queridos companheiros de laboratório, Rafael, Amanda B., Filipe, Viviane e Amanda S. pela amizade e por tornarem o laboratório um ambiente mais divertido.

À todos os membros do Laboratório de Cocos Gram-positivos, por todas as colaborações, ensinamentos e amizade. Obrigada André por sempre me salvar.

Às queridas professoras Cláudia, Rachel e Júlia, obrigada pela honra de comporem a minha banca e por serem responsáveis pela minha paixão à microbiologia. Sou grata por todos os ensinamentos.

Ao PROGEM, pelo auxílio financeiro.

À Universidade Federal Fluminense e todo o corpo docente, que ao longo da minha formação ofereceu um ambiente de estudo agradável, motivador e repleto de oportunidades.

RESUMO

Streptococcus pneumoniae é um patógeno frequentemente associado a doenças graves como meningite, bacteremia e pneumonia. As taxas de ocorrência das doenças pneumocócicas permanecem elevadas em todo o mundo, especialmente em crianças, idosos e em pacientes de risco, como aqueles com doenças reumáticas autoimunes (AIRD). O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune crônica caracterizada por uma resposta anormal a autoantígenos. As doenças infecciosas são uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes com AIRD, respondendo por aproximadamente um quarto da mortalidade geral no LES. Esse estudo transversal visou determinar a prevalência de colonização pneumocócica em pacientes adultos (≥ 18 anos de idade) com LES atendidos nos ambulatórios de reumatologia do HUAP/UFF e do HUPE/UERJ. Entre junho e dezembro de 2018, foram coletados dois “swabs” (nasofaringe e orofaringe) de 229 adultos. O isolamento do pneumococo foi feito por cultura após o enriquecimento em caldo, usando ágar sangue com e sem gentamicina para “swabs” de orofaringe e nasofaringe, respectivamente. Após o isolamento e identificação, a suscetibilidade aos antimicrobianos foi testada por difusão em ágar e/ou Teste-E[®]. Pneumococos não-suscetíveis a penicilina (PNSP), resistentes e intermediárias a eritromicina foram submetidas ao Teste-E para determinar a concentração mínima inibitória (CMI) à penicilina, ceftirixona e/ou eritromicina. Dos 229 pacientes, 11 (4,8%) eram portadoras de pneumococo. Todos os onze portadores foram identificados por cultura em ágar sangue com gentamicina empregada para isolamento a partir de “swab” de orofaringe. Em um desses portadores, também foi possível isolar, por cultura em ágar sangue, o pneumococo a partir do “swab” de nasofaringe. Todas as 12 amostras foram sensíveis a cloranfenicol, levofloxacina, rifampicina e vancomicina. Foram detectados quatro (33,3%) PNSP, com CMI entre 0,075 $\mu\text{g/ml}$ e 2 $\mu\text{g/ml}$ para penicilina, e entre 0,016 $\mu\text{g/ml}$ e 0,25 $\mu\text{g/ml}$ para ceftirixona. As duas (16,6%) amostras não suscetíveis à eritromicina apresentaram CMI de 0,38 $\mu\text{g/ml}$ e 3 $\mu\text{g/ml}$. Multirresistência foi observada em duas (16,6%) amostras. A prevalência de colonização pneumocócica foi baixa na população investigada. A colonização pneumocócica de adultos com LES foi mais facilmente detectada na orofaringe empregando meio de cultura seletivo. Foi observada resistência a importantes agentes usados para o tratamento de doenças pneumocócicas, como penicilina e eritromicina, frequentemente associada a multirresistência, o que merece bastante atenção.

Palavras-chaves: *Streptococcus pneumoniae*, colonização, lúpus eritematoso sistêmico, resistência a antimicrobianos, doenças reumáticas autoimunes.

ABSTRACT

Streptococcus pneumoniae is a pathogen often associated with serious diseases such as pneumonia, bacteremia, and meningitis. Globally, the incidence of pneumococcal diseases remains high, especially in children, elderly adults, and patients at high risk such as those with autoimmune rheumatic diseases (AIRD). Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease characterized by an abnormal self-antigen response. Infectious diseases are a major cause of morbidity and mortality in patients with AIRD, accounting for approximately 25% mortality among patients with SLE. This cross-sectional study aimed to determine the prevalence of pneumococcal colonization in adult patients (≥ 18 years old) with SLE who attended the rheumatology outpatient room of the HUAP/UFF and HUPE/UERJ. Between June and December 2018, we recruited 229 adults to collect two swabs from each one: nasopharynx and oropharynx. Pneumococcal isolation was performed by culture after broth enrichment using blood agar with and without gentamicin for oropharyngeal and nasopharyngeal swabs, respectively. After isolation and identification, susceptibility to antimicrobial agents was tested by the disk diffusion test and/or E-Test[®]. Penicillin-non-susceptible pneumococci (PNSP), as well as erythromycin-resistant and intermediate isolates were subjected to E-Test[®] to determine the minimum inhibitory concentrations (MIC) for penicillin, ceftriaxone, and/or erythromycin. Eleven (4.8%) of the 229 patients were colonized with *S. pneumoniae*. All eleven carriers were identified by culturing on blood agar with gentamicin from oropharynx swab. In one of these carriers, it was also possible to isolate, by culturing on blood agar, the microorganism from the nasopharynx. All 12 pneumococcal isolates were susceptible to chloramphenicol, levofloxacin, rifampicin, and vancomycin. Four (33.3%) PNSP were detected, with MICs between 0.075 $\mu\text{g/ml}$ and 2.0 $\mu\text{g/ml}$ for penicillin, and between 0.016 $\mu\text{g/ml}$ and 0.25 $\mu\text{g/ml}$ for ceftriaxone. The two (16.6%) non-erythromycin susceptible isolates had MICs of 0.38 $\mu\text{g/ml}$ and 3.0 $\mu\text{g/ml}$. Multidrug resistance was observed in two (16.6%) isolates. We detected a low prevalence of pneumococcal colonization in the patients analysed. Oropharynx, using selective culturing, was found to be a more accurate site to investigate pneumococcal carriage. We observed resistance to major antimicrobial agents used to treat pneumococcal diseases, penicillin and erythromycin, often associated with multidrug resistance.

keywords: *Streptococcus pneumoniae*, colonization, systemic lupus erythematosus, antimicrobial resistance, autoimmune rheumatic diseases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma indicando as etapas de coleta, isolamento, identificação e teste de suscetibilidade antimicrobiana12

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.....	17
Tabela 2.....	18
Tabela 3.....	18

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIRD	Doenças reumáticas autoimunes
AS	Ágar sangue
ASG	Ágar sangue com gentamicina
CE	Cultura pós-enriquecimento
CGE	Cultura com gentamicina pós-enriquecimento
CMI	Concentração mínima inibitória
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DPI	Doença pneumocócica invasiva
Eri	Eritromicina
HUAP	Hospital Universitário Antônio Pedro.
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
I	Intermediário
LES	Lúpus Eritematoso Sistêmico
NS	Não suscetível
PCR	Reação em cadeia da polimerase.
Pen	Penicilina
PNSP	Pneumococos não-suscetíveis à penicilina
R	Resistente
S	Sensível
SBGG	Sociedade Brasileira de Geriatria e Gerontologia

SBIIm	Sociedade Brasileira de Imunizações
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFF	Universidade Federal Fluminense
VPC	Vacina pneumocócica conjugada
VPP23	Vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 O gênero <i>Streptococcus</i>	1
1.2 <i>Streptococcus pneumoniae</i> e doenças pneumocócicas	2
1.3 Tratamento e resistência a antibióticos	3
1.4 Vacinação antipneumocócica	4
1.5 Epidemiologias das doenças pneumocócicas.....	5
1.6 Pacientes reumáticos	6
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral	10
2.2 Objetivos específicos	10
3 MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1 Desenho e população de estudo	11
3.2 Isolamento de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	12
3.2.1 Teste de susceptibilidade a optoquina	12
3.2.2 Teste de bile solubilidade	13
3.3 Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos	13
3.4 Aspectos éticos.....	14
4 RESULTADOS	15
4.1 Prevalência de colonização	15
4.2 Teste de suscetibilidade a antimicrobianos	15
5 DISCUSSÃO	18
6 CONCLUSÃO	22

7	REFERÊNCIAS	23
---	--------------------------	----

1. INTRODUÇÃO

2.

2.1. O gênero *Streptococcus*

3.

4. O gênero *Streptococcus* engloba espécies bacterianas de cocos Gram positivos, que normalmente crescem aos pares ou em cadeias curtas. A maioria das espécies é anaeróbia facultativa e cresce melhor em condições de anaerobiose ou uma atmosfera aumentada de CO₂. Fermentam carboidratos, o que resulta na produção de ácido láctico e, ao contrário de *Staphylococcus* sp., são catalase negativos. As necessidades nutricionais desses microrganismos são complexas, tornando necessário cultivá-los em meios de cultura enriquecidos com sangue ou soro (INGRAHAM&INGRAHAM, 2001; KONEMAN et al., 2001; MURRAY; ROSETHAL; PFALLER, 2006).

5. Consistem em um grupo heterogêneo de bactérias e, portanto, a diferenciação das espécies é relativamente complexa, sendo empregados pelo menos três diferentes esquemas fenotípicos para a classificação desses microrganismos: classificação sorológica de Lancefield, padrões hemolíticos em ágar sangue de carneiro (beta-hemolíticos, lise completa das hemácias; alfa-hemolíticos, lise parcial das hemácias; e não hemolíticos) e propriedades fisiológicas/bioquímicas (FACKLAM, 2002).

6. Para facilitar a identificação laboratorial, os estreptococos foram divididos em dois grandes grupos: os beta-hemolíticos e os não beta-hemolíticos, este último englobando espécies alfa-hemolíticas e não-hemolíticas. Dentre as espécies beta-hemolíticas de importância clínica, podemos destacar *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus agalactiae*. Com relação aos estreptococos não beta-hemolíticos, suas colônias são circundadas por uma cor esverdeada, e podemos destacar a espécie *Streptococcus pneumoniae* como o patógeno mais importante desse grupo (FACKLAM, 2002; TORTORA; CASE; FUNKE, 2017).

7.

7.1. *Streptococcus pneumoniae* e doenças pneumocócicas

8.

9. *Streptococcus pneumoniae*, também conhecido como pneumococo, são cocos encapsulados Gram-positivos que se apresentam aos pares ou em cadeias curtas. A cápsula polissacarídica desta bactéria é um fator de virulência essencial e permite a distinção de mais de 90 sorotipos, que são definidos com base nas diferenças de composição da cápsula (WHO, 2012).

10. O teste de sensibilidade à optoquina é utilizado como padrão para a identificação de pneumococos devido à capacidade de diferenciar *S. pneumoniae* de outros estreptococos alfa-hemolíticos. No entanto, há relatos na literatura de amostras atípicas de *S. pneumoniae*, que se mostram resistentes à optoquina. A bile-solubilidade é outro teste que deve ser empregado para a identificação dos pneumococos, no qual a espécie é classicamente solúvel e, embora também haja resultados atípicos, eles são pouco comuns. Contudo, esse teste é bem menos usado na rotina diagnóstica (PINTO et al., 2013).

11. A colonização do trato respiratório superior (nasofaringe e orofaringe) por *S. pneumoniae* é um pré-requisito para desenvolvimento das doenças pneumocócicas e também um passo importante no desenvolvimento da resistência antimicrobiana, pois fornece o ambiente para a recombinação genética e troca de material genético entre pneumococos e outros estreptococos comensais (CORNICK; BENTLEY, 2012). Esse micro-organismo é transmitido geralmente por gotículas respiratórias, principalmente em ambientes com muita aglomeração e entre indivíduos com contato próximo, como familiares e crianças que frequentam creches e escolas. Crianças pequenas são consideradas os principais reservatórios desse agente (WHO, 2012).

12. A partir da colonização transitória da mucosa do trato respiratório superior, certos sorotipos pneumocócicos podem ocasionalmente causar doença pneumocócica invasiva (DPI). A DPI continua sendo uma causa considerável de morbimortalidade, sobretudo em países de menor renda, com o maior risco de doença associado a crianças com idade inferior a 5 anos, idosos e determinados grupos de risco, como, por exemplo, pacientes com HIV e doenças reumáticas autoimunes (WHO, 2012 ; CORCORAN et al., 2017).

13. As doenças pneumocócicas podem ser graves, como meningite, bacteremia e pneumonia, ou mais brandas, como sinusite e otite média aguda. A doença pneumocócica mais comum está relacionada à pneumonia adquirida na comunidade (PAC), que representa uma infecção importante do trato respiratório com alta prevalência na população em geral e com heterogeneidade clínica e gravidade variável (ALIBERTI et al., 2014).

14.

14.1. Tratamento e resistência a antibióticos

15.

16. Antimicrobianos da classe dos β -lactâmicos, sobretudo penicilina, são os fármacos de escolha para o tratamento das doenças pneumocócicas. Constituem ainda opções terapêuticas para infecções respiratórias os macrolídeos ou seus derivados (p. ex., azitromicina) e fluoroquilonas (p. ex., levofloxacina). No entanto, em casos de meningite, pode ser necessária a utilização de cefalosporinas de terceira geração (p. ex., ceftriaxona e cefotaxima) isoladamente ou em combinação com vancomicina (BEREZIN et al., 2002; TAVARES, 2000).

17. A disseminação de amostras de pneumococos resistentes a antimicrobianos usados no tratamento das doenças pneumocócicas é motivo de preocupação mundial, devido aos problemas gerados no tratamento adequado de pacientes com doenças causadas por amostras resistentes (MANDELL et al., 2007).

18. O mecanismo de resistência à penicilina e a outras beta-lactâmicos em *S. pneumoniae* é a modificação das proteínas de ligação à penicilina (PBPs), enzimas envolvidas na etapa final da síntese da parede celular bacteriana. A resistência a beta-lactâmicos em pneumococos surgiu do desenvolvimento de genes *pbp* em mosaico, que codificam PBPs com afinidade reduzida ao agente antimicrobiano (CORNICK; BENTLEY, 2012).

19. Os macrolídeos constituem alternativas para o tratamento das doenças pneumocócica quando um paciente apresenta resposta alérgica a beta-lactâmicos ou a infecção é ocasionada por uma cepa resistente a ação da penicilina. A resistência aos macrolídeos é determinada principalmente pela presença de genes como *mef(A/E)*, que codifica uma bomba de efluxo, e/ou *erm(B)*, que codifica uma metilase, resultando na modificação da subunidade

23S do RNA ribossômico. Os pneumococos podem ser identificados em três fenótipos quanto à sua resistência a macrolídeos: M, que confere resistência somente aos macrolídeos; o iMLS_B (indutivo), que confere resistência aos lincosamídeos e estreptograminas B induzida pelo macrolídeo, e o fenótipo cMLS_B (constitutivo), com resistência a esses três grupos de antimicrobianos (CORNICK; BENTLEY, 2012).

20.

20.1. **Vacinação antipneumocócica**

21.

22. As vacinas contra *Streptococcus pneumoniae* são baseadas no uso de polissacarídeos capsulares, que induzem anticorpos tipo-específicos que ativam e fixam o complemento, promovendo opsonização e fagocitose. A prevenção da aquisição de *S. pneumoniae* por vacinação representa um método eficaz para reduzir a carga da doença em crianças e adultos (ALIBERTI et al., 2014).

23. Atualmente, existem três vacinas antipneumocócicas disponíveis no mercado: a polissacarídica 23-valente (VPP23) e as conjugadas 10-valente (VPC10) e 13-valente (VPC13). A VPC 7-valente foi retirada do mercado (WHO, 2012).

24. As vacinas pneumocócicas exclusivamente polissacarídicas estão associadas a imunogenicidade fraca ou ausente em crianças com menos de 2 anos de idade e falha em qualquer idade em induzir uma resposta de anticorpos após a revacinação. A VPP23 inclui os sorotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F e 33F. Embora abranja um grande número de sorotipos, carece do efeito impulsionador da revacinação, o que limita seu uso em todas as faixas etárias (RÁKÓCZI; SZEKANECZ, 2017).

25. Para imunização primária, a VPP23 é administrada como uma dose única intramuscular ou subcutânea. A revacinação não é normalmente recomendada em indivíduos imunologicamente saudáveis, mas uma ou duas revacinações tem sido praticadas em indivíduos imunocomprometidos. A vacina é recomendada para as populações comprovadamente em maior risco de morbidade e mortalidade por doenças causadas por pneumococos, incluindo idosos. Entretanto, não deve ser administrada em crianças com idade

< 2 anos, porque não induz uma resposta imune adaptativa satisfatória (RÁKÓCZI; SZEKANECZ, 2017). Em crianças com ≤ 2 anos de idade, as respostas de anticorpos desencadeadas pela VPP23 são geralmente ruins e a vacinação demonstrou na maioria dos estudos não ser protetora (WANG et al., 2018).

26. Pesquisadores espanhóis publicaram um estudo de coorte retrospectivo para determinar a eficácia da vacinação com a VPP23 na prevenção da PAC em adultos com 60 anos de idade. Eles descobriram que, durante os primeiros cinco anos após a vacinação, a VPP23 foi 48% eficaz na prevenção de PAC (RÁKÓCZI e SZEKANECZ, 2017).

27. Para contornar alguns dos problemas inerentes a vacina polissacarídica, foram desenvolvidas as vacinas conjugadas (VPCs), pela combinação do polissacarídeo capsular dos sorotipos com proteínas carreadoras. As vacinas conjugadas normalmente fornecem respostas imunológicas mais robustas do que as vacinas polisacarídicas (BOGAERT; DE GROOT; HERMANS, 2004).

28. A VPC10 protege contra 10 sorotipos: 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F e 23F. Já a VPC13 inclui os sorotipos 3, 6A e 19A, além daqueles encontrados na VPC10. No Brasil, a VPC10 entrou em 2010 no Programa Nacional de Imunizações para vacinação infantil e foi gradativamente incluída nas mais diferentes regiões do país (BRASIL, 2010). Por sua vez, a VPC13 está disponível desde 2010 em clínicas de vacinação privadas e substituiu a VPC7, que era comercializada desde 2001. As vacinas conjugadas exercem maior imunogenicidade e induzem a memória de células B, diferente das vacinas exclusivamente polissacarídicas (WHO, 2012). Os efeitos das VPCs dependem da distribuição do sorotipo e estrutura clonal da população pneumocócica. Cada sorotipo pode ser composto por várias linhagens com diversos padrões de resistência antimicrobiana e potencial para causar DPIs (NEVES et al., 2017).

29.

29.1. **Epidemiologias das infecções pneumocócicas**

30.

31. Segundo a Organização Mundial de Saúde, a cada ano aproximadamente 1,6 milhões de pessoas morrem em decorrência das infecções pneumocócicas, incluindo nesses dados a morte 808.694 de crianças com idade inferior a 5 anos (WHO, 2017), sendo a maioria por pneumonia, com índices equivalentes a duas crianças por hora na América Latina. Em 2007, a doença pneumocócica matou 8 mil crianças no Brasil (GARCIA et al., 2006; LOPES; BEREZIN, 2009).

32. As doenças pneumocócicas são uma das principais causas de morbidade e mortalidade em crianças e idosos e são consideradas um problema de saúde pública significativo em todo o mundo (WALKER et al., 2013) A introdução da VPC7 em crianças reduziu significativamente a ocorrência de DPI, embora também tenha sido observado um aumento relativo nas taxas de DPI causadas por sorotipos não vacinais. Assim, a emergência do sorotipo 19A (sorotipo não-VPC7 e não-VPC10) tem sido motivo de preocupação em várias regiões do mundo, incluindo o Brasil (CHRISTOPHE et al., 2018; NEVES et al., 2017).

33. A vacinação infantil também afeta a incidência de infecções graves na população adulta. Uma grande cobertura de vacinação pneumocócica em crianças pode reduzir a transmissão da infecção a outras pessoas, por exemplo, contatos com adultos. Esse fenômeno é chamado imunidade de rebanho (RÁKÓCZI; SZEKANECZ, 2017).

34. *Streptococcus pneumoniae* é conhecido por colonizar assintomaticamente o trato respiratório superior de seres humanos e, desta forma, se disseminar e permanecer na comunidade, estando determinados sorotipos melhores adaptados a causar doenças invasivas (MALFROOT et al., 2004; SA-LEAO et al., 2011). A frequência de colonização das crianças é potencializada quando frequentam creches, sobretudo em países em desenvolvimento (WHO, 2012). A colonização por *S. pneumoniae* ocorre no início da infância e se espalha rapidamente entre crianças e familiares. Por esse motivo, a prevenção da primeira aquisição de *S. pneumoniae* entre crianças com o uso de uma vacina representa um método eficaz para reduzir a infecção em populações de crianças e adultos (ALIBERTI et al., 2014).

35.

35.1. **Pacientes reumáticos**

36.

37. O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune crônica caracterizada por uma resposta autoimune anormal a autoantígenos que podem afetar virtualmente quaisquer órgãos e tecidos (PAGLIA et al., 2017). É caracterizada por um amplo espectro de manifestações clínicas, mas seu curso e envolvimento de órgãos são imprevisíveis.

38. O LES afeta indivíduos de todas as raças, sendo 9 a 10 vezes mais frequente em mulheres durante a idade reprodutiva. A incidência estimada em diferentes locais do mundo é de aproximadamente 1 a 22 casos para cada 100.000 pessoas por ano e a prevalência pode variar de 7 a 160 casos para cada 100.000 pessoas. No Brasil, um estudo realizado na região Nordeste estimou uma incidência de LES em torno de 8,7 casos para cada 100.000 pessoas por ano (BRASIL, 2014).

39. Embora, nas últimas décadas, tenha sido observada uma melhora na sobrevida dos pacientes com LES, os mecanismos patogênicos subjacentes a doença ainda não são claros e o risco de morte no LES ainda é 3 vezes maior em comparação à população em geral. Observa-se também um aumento de 5 vezes no risco de morte por doenças infecciosas, que são responsáveis por aproximadamente um quarto da mortalidade geral no LES (SCHURDER et al., 2018).

40. As infecções são uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes com AIRD. Os fatores que contribuem para o aumento do risco de doenças infecciosas são disfunção do sistema imunológico induzida pela doença, lesão de órgão ou mucosa (por exemplo, infartos do baço e úlceras de pele), comorbidades, hospitalizações frequentes, procedimentos cirúrgicos e uso de medicamentos imunossupressores (PAPADOPOULOU; SIPSAS, 2014).

41. Pacientes com doenças reumáticas inflamatórias autoimunes (AIRD) apresentam um risco aumentado de contrair infecções, principalmente quando recebem medicamentos imunomoduladores (BROYDE et la., 2016). A

AIRD pode estar associada à imunodeficiência secundária e esses pacientes também recebem drogas imunossupressoras que podem afetar as respostas imunes protetoras à vacinação (RÁKÓCZI; SZEKANECZ, 2017).

42. Na Holanda, a incidência relatada de DPI aparece 13 vezes maior em pacientes com LES em comparação à população geral . Estudos apontam que as doenças causadas por pneumococos ocorreram mais cedo, com mais frequência e são mais graves em pacientes com LES quando comparadas com pacientes sem LES. Os pacientes com LES apresentam risco aumentado de DPI, sendo necessária a vacinação contra *S. pneumoniae* (SCHURDER et al. 2018).

43. Antes da administração da vacina pneumocócica a um paciente com AIRD, deve-se determinar o momento ideal da vacinação, o tipo de vacina a ser usada (VPC13 ou VPP23) e a estratégia de vacinação. A sequência de administração é determinada pela alta imunogenicidade da VPC13, sendo a primeira a ser administrada, seguida pela VPP23, que protege contra um grande número de sorotipos (GREENBERG et al., 2014).

44. Estudos recentes sugeriram que os melhores resultados clínicos poderiam ser alcançados se a VPC13 fosse administrada primeiro a pacientes que não receberam a vacina pneumocócica. Pacientes pré-vacinados com a VPP23 devem receber a VPC13 após 1 ano. Em adultos imunocomprometidos, a vacinação com a VPP23 deve ser repetida pelo menos 5 anos após a dose mais recente da VPP23, após a administração da VPC13 (RÁKÓCZI; SZEKANECZ, 2017).

45. Os dados sobre a eficácia a longo prazo da VPP23 na população em geral são limitados. Musher et al. (2010) concluíram que a vacinação primária com a VPP23 induziu resposta de anticorpos que persistiu durante pelo menos os cinco anos de seu período de observação.

46. Até 2018, o Ministério da Saúde não disponibilizava vacinas pneumocócicas conjugadas aos adultos com AIRD, limitando-se apenas à dispensação de duas doses da VPP23. Neste contexto, um estudo recém-publicado com 54 pacientes adultos com LES sob acompanhamento no Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de

Janeiro (HUPE/UERJ) mostrou que a resposta imune humoral à VPP23 é limitada, sendo protetora em menos de 50% dos vacinados (REZENDE et al., 2016). Contudo, em 2019, o Ministério da Saúde do Brasil aprovou o uso da VPC13 para indivíduos de alto risco para desenvolvimento de DPI com ≥ 5 anos de idade, que incluem pacientes que vivem com HIV/Aids, transplantados de células-tronco hematopoiéticas (medula óssea), transplantados de órgãos sólidos e pacientes oncológicos (BRASIL, 2019).

47. A Sociedade Brasileira de Imunizações (SBIIm) e a Sociedade Brasileira de Geriatria e Gerontologia (SBGG) recomendam a vacinação de pessoas com idade ≥ 60 anos com as vacinas VPC13 e VPP23 da seguinte forma:

48. - Iniciar com uma dose da VPC13 seguida de uma dose de VPP23, seis a doze meses depois e uma segunda dose de VPP23 após cinco anos;

49. - Para aqueles anteriormente vacinados com uma dose de VPP23, recomenda-se um intervalo de um ano para a aplicação da segunda dose de VPP23, com intervalo mínimo de dois meses entre as duas;

50. - Para aqueles anteriormente vacinados com duas doses de VPP23, recomenda-se uma dose de VPC13, com intervalo mínimo de um ano após a última dose de VPP23. Se a segunda dose de VPP23 foi aplicada antes dos 65 anos, recomenda-se uma terceira dose depois dessa idade, com intervalo mínimo de cinco anos da última dose (SBIIm; SBGG, 2016).

51. Pacientes com AIRD apresentam um risco aumentado de contrair doenças infecciosas, principalmente quando recebem medicamentos imunomoduladores. A alta prevalência de cepas multirresistentes e a considerável morbimortalidade associada a infecções invasivas destacam a importância da prevenção com a vacinação, principalmente em pacientes com risco aumentado (BROYDE et al., 2016).

52. *Streptococcus pneumoniae* é uma das principais causas de doenças invasivas e infecções do trato respiratório (ADEGBOLA et al., 2014), particularmente em países de baixa renda, onde os dados epidemiológicos

ainda são limitados e, quando disponíveis, o foco é para crianças menores de 5 anos, considerada a principal população-alvo para doenças pneumocócicas. Por outro lado, indivíduos imunocomprometidos correm alto risco de desenvolver graves doenças pneumocócicas e estudos com foco nessas populações são menos comuns em todo o mundo. No Brasil, não há estudos publicados avaliando a prevalência do pneumococo na população de pacientes com doenças reumáticas imunomediadas. Por isso, torna-se necessário o estudo das infecções pneumocócicas nessa população de risco, a fim de melhorar o desfecho clínico desses indivíduos.

53. **OBJETIVOS**

54.

54.1. **Objetivo geral**

55.

56. Determinar a prevalência de colonização pneumocócica em pacientes adultos (≥ 18 anos de idade) com lúpus eritematoso sistêmico (LES) atendidos nos ambulatórios de reumatologia do Hospital Universitário Antônio Pedro da Universidade Federal Fluminense (HUAP/UFF) e do Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HUPE/UERJ).

57.

57.1. **Objetivos específicos**

58.

- Investigar qual abordagem é mais sensível para detecção da colonização pneumocócica de adultos com LES;
- Determinar o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das amostras de *Streptococcus pneumoniae* isoladas dos pacientes com LES.

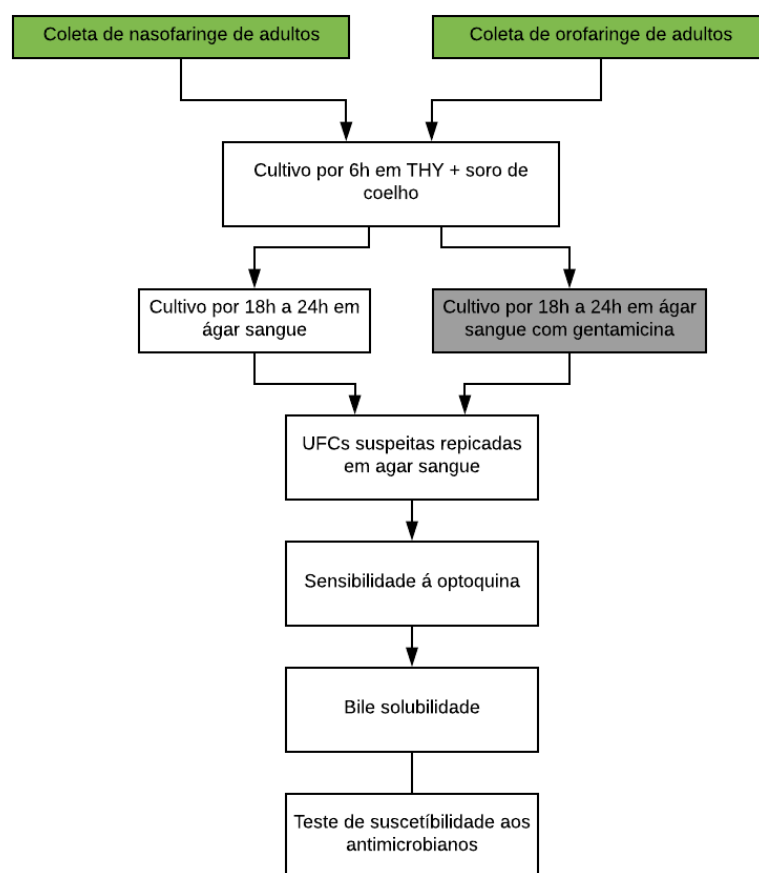
59. MATERIAL E MÉTODOS

59.1. Desenho e população de estudo

60. Foram analisados espécimes obtidos de 229 pacientes adultos (\geq 18 anos de idade) com LES regularmente atendidos nos ambulatórios de reumatologia do HUAP/UFF e no HUPE/UERJ, entre Junho e Dezembro de 2018.

61. Para a pesquisa de *S. pneumoniae*, foram coletadas, com auxílio de “swabs” estéreis, amostras de secreção de nasofaringe e orofaringe de cada paciente. Os “swabs” foram transportados, em até 6h, até o Laboratório Universitário Rodolpho Albino (LURA, Faculdade de Farmácia, UFF) em criotubos contendo 1,0 mL de meio de transporte STGG (2% leite desnatado em pó, 3% triptona, 0,5% glicose e 10% glicerol), onde se encontram armazenados a -80°C . Estas amostras foram denominadas com a sigla OPR E NPR.

62. A **figura 1** indica as etapas de isolamento, identificação e teste de suscetibilidade antimicrobiana.



64. **Figura 1.** Fluxograma indicando as etapas de coleta, isolamento, identificação e teste de suscetibilidade antimicrobiana.

65.

65.1. **Isolamento de *Streptococcus pneumoniae***

66.

67.

68. Com o auxílio de um vórtex, o material coletado da nasofaringe e da orofaringe de adultos foi homogeneizado no meio de transporte STGG e, em seguida, 200 µL dessa solução foram transferidos para 2,0 mL de caldo Todd Hewitt Acumedia, Neogen, EUA) suplementado, contendo 0,5% de extrato de levedura e 0,4 mL de soro de coelho, o que denominamos de caldo de enriquecimento.

69. Posteriormente, os meios de cultura foram incubados por 6h a 35-37°C em atmosfera com 5% CO₂. Em seguida, uma alíquota de 10 µL do crescimento em caldo de enriquecimento do material coletado da nasofaringe e foi semeada em placa contendo ágar soja triptona (TSA, Acumedia, Neogen, EUA) com 5% de sangue de carneiro (cultura pós-enriquecimento, CE) com posterior incubação a 35-37°C em atmosfera com 5% CO₂ por 18-24h. Para as amostras da orofaringe, outra alíquota de 10 µL do crescimento em caldo de enriquecimento também foi semeada em meio seletivo para isolamento de *S. pneumoniae*, o ágar sangue de carneiro suplementado com 5,0 µg/mL de gentamicina (cultura com gentamicina pós-enriquecimento, CGE).

70. Todas as amostras foram identificadas pela observação da alfa-hemólise com ou sem presença de depressão central na colônia, teste de sensibilidade à optoquina e bile-solubilidade (RODRIGUES et al., 2017).

71. As amostras identificadas como *S. pneumoniae* estão armazenadas em meio STGG a – 80°C.

72.

3.2.1. **Teste de susceptibilidade a optoquina**

73.

74. Foi preparada uma suspensão da amostra bacteriana a partir de um crescimento de 24h em ágar sangue de carneiro em solução de NaCl

(VETEC, Química Fina LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) a 0,85% estéril, sendo a suspensão final correspondente a 0,5 de turvação na escala de McFarland. A suspensão foi semeada com alça estéril sobre uma placa de ágar sangue de carneiro 5% de forma a se obter crescimento confluyente. Posteriormente, foi depositado um disco de optoquina de 5 µg (CECON, Centro de Controle e Produtos para Diagnóstico LTDA, São Paulo, SP) na superfície do meio, com o auxílio de uma pinça, seguido de incubação em atmosfera contendo 5% de CO₂ a 36±1°C por 24h. Após a incubação, foi feita a leitura do halo de inibição do crescimento bacteriano. A presença de halo ≥ 14 mm indica que o microrganismo é sensível à optoquina, característico de *S. pneumoniae* (BRASIL, 2004; MURRAY et al., 2003). Como controle positivo, foi utilizada a cepa de *S. pneumoniae* ATCC 49619.

75.

3.2.2 Teste de bile solubilidade

76.

77. Foi preparada uma suspensão da amostra bacteriana correspondente a 2 de turvação na escala de McFarland a partir de um crescimento recente em ágar sangue em solução de NaCl a 0,85% estéril (BRASIL, 2004; MURRAY et al., 2003). Para o teste, foram utilizados dois tubos de ensaio com transparência adequada para observar a presença de suspensão bacteriana, um tubo controle e um tubo teste. Ambos os tubos receberam 500 µL de suspensão bacteriana.

78. Em seguida, ao tubo teste foram adicionados 500 µL de solução de desoxicolato de sódio (Sigma Aldrich Co., St. Louis. MO, EUA) a 2%. As amostras foram então homogeneizadas em vortex, sendo então realizada a leitura imediata e em até 2h de incubação a 36±1°C. Se a suspensão do tubo teste voltar a ficar límpida, o teste é considerado positivo, o que é característico de *S. pneumoniae*. Como controle positivo, foi utilizada a cepa de *S. pneumoniae* ATCC 49619.

79.

3.3. Testes de suscetibilidade aos antimicrobianos

80.

81. Os testes de difusão em ágar foram executados conforme as recomendações do CLSI (2019). Foram utilizados discos impregnados com os seguintes antimicrobianos: clindamicina (2µg), cloranfenicol (30µg), eritromicina (15µg), oxacilina (1µg), levofloxacina (5µg), rifampicina (5µg), tetraciclina (30µg), e vancomicina (30µg) (CECON). A susceptibilidade a sulfametoxazol-trimetoprim foi avaliada por Teste-E® (AB Biodisk, Solsna, Suécia) e os pontos de corte para sensível, intermediário e resistente são $\leq 10 \mu\text{g/mL}$, 20-40 $\mu\text{g/mL}$ e $\geq 80 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. A cepa de *S. pneumoniae* ATCC 49619 foi utilizada como controle de qualidade. A multirresistência foi definida como resistência a três ou mais classes de antimicrobianos (MAGIORAKOS et al., 2012).

82. As amostras cujos testes de difusão em ágar indicaram resistência à penicilina (que foi avaliada com o disco de oxacilina) foram submetidas a testes para a determinação das concentrações mínimas inibitórias (CMI) por Teste-E® (AB Biodisk) para penicilina; para interpretação, utilizamos o critério para penicilina V oral ($\leq 0,06 \mu\text{g/mL}$ - suscetível, 0,12-1 $\mu\text{g/mL}$ - intermediário e $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ - resistente).

83. Da mesma forma, as amostras resistentes a eritromicina foram avaliadas por Teste-E® (AB Biodisk) para eritromicina. Para determinar os diferentes fenótipos de resistência aos macrolídeos, as amostras resistentes à eritromicina foram submetidas à técnica de duplo-disco, dispondo os discos de clindamicina e eritromicina a uma distância de 20 mm (CLSI, 2019).

84.

3.4. Aspectos éticos

85.

86. Esse projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal Fluminense sob o número CAAE 82847617.6.0000.5243.

87.

4. **RESULTADOS**

88.

89. **4.1 Prevalência de colonização**

90.

91. Foram recrutados 229 pacientes adultos com idade ≥ 18 anos com lúpus eritematoso sistêmico (LES) atendidos nos ambulatórios de reumatologia do Hospital Universitário Antônio Pedro da Universidade Federal Fluminense (HUAP/UFF) e do Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HUPE/UERJ), dos quais foram coletados “swabs” de orofaringe e nasofaringe.

92. Dentre os 229 adultos recrutados, foram identificados 11 (4,8%) indivíduos portadores de pneumococos. Todos os 11 portadores foram identificados por cultura em ágar sangue com gentamicina empregada para isolamento a partir de “swab” de orofaringe. Em um desses portadores, também foi possível isolar, por cultura em ágar sangue, o pneumococo a partir do “swab” de nasofaringe.

93. Todas as 12 amostras isoladas foram alfa-hemolíticas e solúveis em sais biliares. Metade das amostras foi resistente à optoquina.

94.

95. **4.2 Testes de suscetibilidade aos antimicrobianos**

96.

97. As 12 amostras de pneumococo foram testadas quanto à suscetibilidade a nove antimicrobianos. Todas as amostras foram sensíveis a cloranfenicol, levofloxacina, vancomicina e rifampicina. As duas amostras isoladas do mesmo paciente (OPR 46 e NPR 46) foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados. A maior taxa de não suscetibilidade foi observada

para penicilina (n=4; 33,3%). Os resultados dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos estão na **Tabela 1**.

98.

99.

100.

101. **Tabela 1.** Perfil de susceptibilidade das 12 amostras de *Streptococcus pneumoniae* isoladas de pacientes adultos com lúpus eritematoso sistêmico.

102.	Antimicrobiano	103. S (%)	104. I (%)	105. R (%)
106.	Cloranfenicol	107. 100	108. -	109. -
110.	Levofloxacina	111. 100	112. -	113. -
114.	Vancomicina	115. 100	116. -	117. -
118.	Rifampicina	119. 100	120. -	121. -
122.	Clindamicina	123. 91,7	124. -	125. 8,3
126.	Eritromicina	127. 83,3	128. 8,3	129. 8,3
130.	Tetraciclina	131. 75	132. 8,3	133. 16,6
134.	Penicilina	135. 66,6	136. NS	33,3
137.	Sulfametoxazol-trimetoprim*	138. 91,7	139. NS	8,3%

140. S, sensível; I, intermediário; R, resistente; NS, não-susceptível.

141. * Resultado > 32 µg/mL obtido por Teste-E®.

142.

143. Foram identificadas quatro (33,3%) amostras de pneumococos não suscetíveis à penicilina (PNSP) por técnica de difusão em ágar. Essas amostras foram submetidos à determinação da CMI para penicilina e para ceftriaxona por Teste-E®. As CMIs para penicilina variaram entre 0,075 µg/ml e

2.0 µg/ml e, por sua vez, as CMI's para ceftriaxona variaram entre 0,016 µg/ml e 0,25 µg/ml (**Tabela 2**).

144.

145.

146.

147.

148. **Tabela 2.** Concentração mínima inibitória para penicilina e ceftriaxona determinada por Teste-E® das quatro amostras de *Streptococcus pneumoniae* não susceptíveis à penicilina.

149. A mostra	150. CMI (µg/ml) / Pen	151. CMI (µg/ml) / Ctx
152. OP R 14	153. 0,075 / I	154. 0,016 / S
155. OP R 25	156. 1 / I	157. 0,25 / S
158. OP R 28	159. 2 / R	160. 0,25 / S
161. OP R 106	162. 1,5 / I	163. 0,032 / S

164. CMI, concentração mínima inibitória; Ctx, ceftriaxona; I, intermediário; Pen, penicilina; R, resistente; S, sensível.

165.

166.

167. As duas (16,6%) amostras não suscetíveis à eritromicina foram submetidas também à determinação da concentração mínima inibitória (CMI) por Teste-E®. A amostra intermediária à eritromicina (OPR 14) apresentou CMI = 0,38 µg/ml (intermediário) e, por sua vez, a amostra resistente (OPR 106) apresentou CMI = 3,0 µg/ml (resistente).

168. Duas (16,6%) amostras apresentaram perfil de multirresistência e estão listadas na **Tabela 3**.

169.

170. **Tabela 3.** Perfis de multirresistência observados entre as amostras estudadas.

171.

172. Amostra	173. Perfil de resistência (R+I)
174. OP R 14	175. Clindamicina, eritromicina, penicilina, tetraciclina
176. OP R 106	177. Eritromicina (I), penicilina, tetraciclina

178. I, Intermediário; R, Resistente.

179.

180.

181.

182.

183.

5. DISCUSSÃO

184.

185. Este estudo teve como principal objetivo avaliar a prevalência de colonização pneumocócica em pacientes adultos com lúpus eritematoso sistêmico. As doenças pneumocócicas são uma preocupação global de saúde pública, principalmente em países de baixa renda. Embora o Brasil, seja considerado um país de renda média alta, a desigualdade social é uma característica marcante do país. O principal habitat de *S. pneumoniae* é o trato respiratório superior humano. A colonização desse sítio desempenha um papel importante no desenvolvimento e transmissão das doenças pneumocócicas em todas as faixas etárias (NEVES et al., 2013).

186. Embora a colonização pneumocócica seja principalmente assintomática, é normalmente o primeiro passo para desenvolver as doenças pneumocócicas invasivas. A colonização não é apenas crucial para o desenvolvimento de doenças invasivas; ela também fornece base para a propagação horizontal dos pneumococos (BOGAERT; DE GROOT; HERMANS, 2004).

187. Estudos realizados por nosso grupo em Niterói desde 2010 têm revelado que a prevalência de colonização em crianças < 6 anos de idade em nosso meio varia de 23% a 49% (NEVES et al., 2013; 2017), superior aquela observada em adultos, corroborando a literatura que afirma que a prevalência de colonização em crianças pode variar de 20% a 80%, e há uma menor proporção do estado de portador de pneumococo em adultos (WHO, 2012). Contudo, segundo dados do projeto SIREVA II no Brasil, em 2014, houve destaque para casos de meningite pneumocócica em indivíduos na faixa etária de 30 a 49 anos, para sepse/bacteremia na faixa ≥ 60 anos e para pneumonia na faixa etária ≥ 60 anos (OPAS, 2016). Isso ressalta a importância de se conduzir estudos de colonização pneumocócica em todas as faixas etárias.

188. A prevalência de colonização na população adulta investigada foi de aproximadamente 5%. Em 2018, outro estudo desenvolvido por nosso grupo também revelou uma prevalência de colonização baixa (32/285; 8,3%) em

adultos moradores de um aglomerado subnormal (popularmente conhecido como favela) assistidos em uma Clínica da Família do município de Niterói (CARDOSO et al., 2018).

189. Na Holanda, Krone al. (2015) avaliaram a colonização por *S. pneumoniae* na nasofaringe, orofaringe e saliva coletadas de 135 idosos com idade ≥ 60 anos da comunidade com gripe. No total, todas as culturas combinadas identificaram 22 (8%) portadores. O número de amostras de orofaringe (n=10) foi superior às das da saliva (n=6) e nasais (n=6). Tais resultados estão condizentes com o nosso estudo, uma vez que o maior número de portadores identificados foi de orofaringe. Entretanto, outro estudo para detecção de colonização pneumocócica revelou que amostras nasofaríngeas são mais frequentemente isoladas que amostras orofaríngeas em adultos (WATT et al., 2004).

190. Um estudo que avaliou a colonização da orofaringe por *S. pneumoniae* em pacientes geriátricos com idade média de 81 anos na área rural da Baixa Saxônia, Alemanha, não detectou a presença de pneumococos em nenhum indivíduo. Os pneumococos que colonizam cronicamente a faringe de idosos podem ser muito mais raros do que se pensava e provavelmente não são a fonte de pneumonia pneumocócica na terceira idade (JOMRICH et al., 2015).

191. No geral, populações adultas parecem não ser os principais reservatórios de pneumococos, independente de questões clínicas ou sociais. Entretanto, um estudo feito em Uganda para determinar a colonização orofaríngea por *S. pneumoniae* em 600 adultos com idade entre 18 e 55 anos infectados por HIV revelou uma prevalência maior, pois 108 (18%) participantes estavam colonizados por pneumococos. No estudo, porém, 512 (85,3%) indivíduos relataram ter um filho morando em sua casa, com 177 (29,5%) indivíduos tendo pelo menos um filho com menos de cinco anos vivendo na mesma residência (BLOSSOM et al., 2006). A alta frequência de indivíduos convivendo com crianças pode ter levado a maior prevalência de colonização pneumocócica nessa população em particular. Diante disso e dos nossos

achados, é possível sugerir que as crianças sejam a principal fonte de pneumococos para pacientes reumáticos.

192. Todas as amostras isoladas de pacientes envolvidos no presente estudo foram sensíveis a cloranfericol, levofloxacina, rifampicina e vancomicina, com o maior percentual de não susceptibilidade sendo observado para penicilina, que constitui a primeira opção terapêutica para tratamento das doenças pneumocócicas. Entretanto, todas as amostras foram suscetíveis a ceftriaxona, que muitas vezes é opção para tratamento de quadros de meningite (WHO, 2012).

193. No presente estudo, um terço das amostras foi não suscetível a penicilina. Estudos sistematicamente conduzidos por nosso grupo com crianças < 6 anos de idade revelaram uma frequência de PNSP de 24% na era pré-VPC10/13 e uma taxa de 39% na era pós-VPC10/13, justificada pela emergência de sorotipos não-vacinais multirresistentes (NEVES et al., 2018).

194. Com relação à eritromicina, as duas amostras não-susceptíveis foram multirresistentes, o que por si só já merece destaque. Contudo, uma dessas amostras chamou ainda mais a nossa atenção. A amostra OPR 14 foi isolada de um paciente assistido no Hospital Universitário Antônio Pedro/UFF, em Niterói, e apresentou um perfil de multirresistência (clindamicina, eritromicina, penicilina e tetraciclina) idêntico ao observado em amostras isoladas da nasofaringe de crianças em Niterói em 2014, pertencentes ao sorotipo 6C, que foram as prevalentes tanto em crianças assistidas em clínicas públicas como em privadas (NEVES et al., 2017). Embora esse dado não tenha entrado nos resultados desse trabalho, o ensaio de PCR para dedução do sorotipo, que se encontra em andamento no nosso laboratório, revelou que a amostra OPR 14 pertence ao sorogrupo 6, carecendo ainda da determinação do sorotipo.

195. As amostras do sorotipo 6C isoladas de crianças em 2014 que apresentaram o mesmo perfil de multirresistência eram geneticamente relacionadas entre si, pertencendo a um único clone definido por MLST (multilocus sequene typing), o ST386 (NEVES et al., 2018). Assim sendo, é

possível que a amostra isolada do paciente adulto com LES nesse estudo pertença ao mesmo sorotipo e clone daquelas prevalentes em crianças. Dessa forma, considerando que as crianças são tidas como o principal reservatório dessa espécie, é possível que a fonte de colonização para esse adulto tenha sido uma criança. Entretanto, não temos dados para confirmar tal suspeita. Porém, caso seja confirmado que a amostra OPR 14 pertence ao sorotipo 6C e ao clone ST386, poderemos afirmar que esse sorotipo/clone está em circulação em populações de Niterói há pelo menos 5 anos, tendo emergido após a vacinação infantil de rotina, principalmente com a VPC10.

196. O nosso estudo teve algumas limitações como, por exemplo, o baixo número de pacientes avaliados e o baixo número de amostras isoladas. Entretanto, trata-se de um estudo piloto realizado em um grupo muito específico de pacientes. Estudos desse tipo são raros, o que ressalta a sua importância, sobretudo no Brasil, onde a maioria dos estudos sobre o tema foi realizado em crianças com idade inferior a 6 anos.

197. Nossos dados ampliam o conhecimento sobre a epidemiologia das infecções por *S. pneumoniae* no Brasil após a implantação das vacinas conjugadas em crianças. É importante avaliar todos os grupos de risco para as doenças pneumocócicas, não apenas as crianças. A determinação dos sorotipos das amostras aqui isoladas constitui etapa futura desse trabalho e servirá de base para o entendimento de fenômenos que podem estar em andamento em nosso meio após a vacinação infantil de rotina contra doenças pneumocócicas, como a imunidade de rebanho e a substituição de sorotipos. Além disso, nossos resultados podem fornecer subsídios para que esquemas de tratamento com agentes antimicrobianos sejam mais efetivos em pacientes com LES.

198. Em suma, fica evidente a importância de monitorar os pacientes reumáticos para avaliar as melhores abordagens de prevenção e tratamento das doenças pneumocócicas nesse grupo de alto risco para o desenvolvimento de doenças infecciosas, com o intuito de melhorar o desfecho clínico de possíveis infecções pneumocócicas e, conseqüentemente, a qualidade de vida desses pacientes.

199.

6. **CONCLUSÃO**

200.

- A prevalência de colonização pneumocócica na população de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico estudada foi baixa;

201.

- A colonização pneumocócica de adultos com LES foi mais facilmente detectada na orofaringe empregando cultura em meio seletivo;

202.

- Um terço das amostras foi não-suscetível à penicilina e, por sua vez, a não-susceptibilidade a eritromicina foi somente observada em amostras multirresistentes.

203.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

204.

205. ADEGBOLA, R. A. et al. **Carriage of Streptococcus pneumoniae and Other Respiratory Bacterial Pathogens in Low and Lower-Middle Income Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis.** PLoS ONE, v. 9, n. 8, p. e103293, 1 ago. 2014.

206.

207. ALIBERTI, S. et al. **The role of vaccination in preventing pneumococcal disease in adults.** Clinical Microbiology and Infection, v. 20, p. 52–58, maio 2014.

208.

209. BEREZIN, E. N. et al. **Meningite pneumocócica na infância: características clínicas, sorotipos mais prevalentes e prognóstico.** Jornal de Pediatria, v. 78, n. 1, fev. 2002.

210.

211. BLOSSOM, D. B. et al. **Oropharyngeal colonization by Streptococcus pneumoniae among HIV-infected adults in Uganda: assessing prevalence and antimicrobial susceptibility.** International Journal of Infectious Diseases, v. 10, n. 6, p. 458–464, nov. 2006.

212.

213. BOGAERT, D.; DE GROOT, R.; HERMANS, P. **Streptococcus pneumoniae colonisation: the key to pneumococcal disease.** The Lancet Infectious Diseases, v. 4, n. 3, p. 144–154, mar. 2004.

214.

215. BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Informe Técnico para Implantação da Vacina Pneumocócica conjugada 13-valente em pacientes de risco \geq de 5 anos de idade, 2019.**

216.

217. BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Proposta para introdução da vacina pneumocócica 10valente (conjugada) no calendário básico de vacinação da criança, 2010.**

218.

219. BRASIL, , MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica.** ANVISA, 2004.

220.

221. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **PROCOLOS CLÍNICOS E DIRETRIZES TERAPÊUTICAS.** Brasil, 2014.

222.

223. BROYDE, A. et al. **Longterm Efficacy of an Antipneumococcal Polysaccharide Vaccine among Patients with Autoimmune Inflammatory Rheumatic Diseases.** The Journal of Rheumatology, v. 43, n. 2, p. 267–272, fev. 2016.

224.

225. CARDOSO, N. T. et al. **Population structure of Streptococcus pneumoniae colonizing children before and after universal use of pneumococcal conjugate vaccines in Brazil: emergence and expansion of the MDR serotype 6C-CC386 lineage.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 73, n. 5, p. 1206–1212, 1 maio 2018.

226. CHRISTOPHE, B. L. et al. **Characterisation of Streptococcus pneumoniae isolates from invasive disease in adults following the introduction of PCV10 in Brazil.** Journal of Medical Microbiology, v. 67, n. 5, p. 687–694, 1 maio 2018.

227.

228. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100.** 29. ed. Clinical Laboratory Standards Institute, 2019.

229.

230. CORCORAN, M. et al. **The epidemiology of invasive pneumococcal disease in older adults in the post-PCV era. Has there been a herd effect?** Epidemiology and Infection, v. 145, n. 11, p. 2390–2399, ago. 2017.

231.

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

233.

234. FACKLAM, R. **What Happened to the Streptococci: Overview of Taxonomic and Nomenclature Changes.** Clinical Microbiology Reviews, v. 15, n. 4, p. 613–630, 1 out. 2002.

235.

236. GARCIA, S. et al. **Pneumococcal disease and vaccination in the Americas: an agenda for accelerated vaccine introduction.** Revista Panamericana de Salud Pública, v. 19, n. 5, p. 340–348, maio 2006.

237.

238. GREENBERG, R. N. et al. **Sequential administration of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in pneumococcal vaccine-naïve adults 60–64 years of age.** Vaccine, v. 32, n. 20, p. 2364–2374, abr. 2014.

239.

240. INGRAHAM&INGRAHAM. **Introdução à Microbiologia: uma abordagem baseada em estudos de casos**. 3. ed. Ed. CENGAGE Learnin, 2001.
- 241.
242. JOMRICH, N. et al. **Absence of *Streptococcus pneumoniae* in pharyngeal swabs of geriatric inpatients**. *Infectious Diseases*, v. 47, n. 7, p. 504–509, 3 jul. 2015.
- 243.
244. KONEMAN, E. et la. **Diagnóstico microbiológico**. 5. ed. Medsi, 2001.
- 245.
246. KRONE, C. L. et al. **Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Aged Adults with Influenza-Like-Illness**. *PLOS ONE*, v. 10, n. 3, p. e0119875, 19 mar. 2015.
- 247.
248. LA PAGLIA, G. M. C. et al. **Systemic lupus erythematosus**. One year in review 2017, 2017.
- 249.
250. LOPES, C. R. C.; BEREZIN, E. N. **Fatores de risco e proteção à infecção respiratória aguda em lactentes**. *Revista de Saúde Pública*, v. 43, n. 6, p. 1030–1034, dez. 2009.
- 251.
252. MAGIORAKOS, A.-P. et al. **Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance**. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 18, n. 3, p. 268–281, mar. 2012.
- 253.
254. MALFROOT, A. et al. **A cross-sectional survey of the prevalence of *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal carriage in Belgian infants attending day care centres**. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 10, n. 9, p. 797–803, set. 2004.
- 255.
256. MANDELL, L. A. et al. **Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society Consensus Guidelines on the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults**. *Clinical Infectious Diseases*, v. 44, n. Supplement_2, p. S27–S72, 1 mar. 2007.
- 257.
258. MURRAY, P. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 8. ed. ASM Press, 2003
- 259.
260. MURRAY; ROSETHAL; PFALLER. **Microbiologia Médica**. 7. ed. rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

261.

262. MUSER, D. M. et al. **Safety and antibody response, including antibody persistence for 5 years, after primary vaccination or revaccination with pneumococcal polysaccharide vaccine in middle-aged and older adults.** *The Journal of Infectious Diseases*, v. 201, n. 4, p. 516–524, 15 fev. 2010.

263.

264. MUSER, D. M.; ABERS, M. S.; BARTLETT, J. G. **Evolving Understanding of the Causes of Pneumonia in Adults, With Special Attention to the Role of Pneumococcus.** *Clinical Infectious Diseases*, v. 65, n. 10, p. 1736–1744, 30 out. 2017.

265.

266. NEVES, F. P. G. et al. **Nasopharyngeal carriage, serotype distribution and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* among children from Brazil before the introduction of the 10-valent conjugate vaccine.** *BMC Infectious Diseases*, v. 13, n. 1, p. 318, dez. 2013.

267.

268. NEVES, F. P. G. et al. **Pneumococcal carriage among children after four years of routine 10-valent pneumococcal conjugate vaccine use in Brazil: The emergence of multidrug resistant serotype 6C.** *Vaccine*, v. 35, n. 21, p. 2794–2800, maio 2017.

269.

270. NEVES, F. P. G. et al. **Population structure of *Streptococcus pneumoniae* colonizing children before and after universal use of pneumococcal conjugate vaccines in Brazil: emergence and expansion of the MDR serotype 6C-CC386 lineage.** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 73, n. 5, p. 1206–1212, 1 maio 2018.

271.

272. ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE (OPAS). **Informe regional de SIREVA II, 2014:** datos por país y por grupos de edad sobre las características de los aislamientos de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*, en procesos invasivos bacterianos. Washington, 2016.

273.

274. PAPADOPOULOU, D.; SIPSAS, N. V. **Comparison of national clinical practice guidelines and recommendations on vaccination of adult patients with autoimmune rheumatic diseases.** *Rheumatology International*, v. 34, n. 2, p. 151–163, fev. 2014.

275.

276. PINTO, T. C. A. et al. **Phenotypic and Molecular Characterization of Optochin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* Isolates from Brazil, with**

Description of Five Novel Mutations in the atpC Gene. Journal of Clinical Microbiology, v. 51, n. 10, p. 3242–3249, 1 out. 2013.

277.

278. RÁKÓCZI, É.; SZEKANECZ, Z. Pneumococcal vaccination in autoimmune rheumatic diseases. **RMD Open**, v. 3, n. 2, p. e000484, set. 2017.

279.

280. REZENDE, R. P. V. et al. **Immunogenicity of pneumococcal polysaccharide vaccine in adult systemic lupus erythematosus patients undergoing immunosuppressive treatment.** Lupus, v. 25, n. 11, p. 1254–1259, out. 2016.

281.

282. RODRIGUES, H. G. et al. **Pneumococcal nasopharyngeal carriage among children in Brazil prior to the introduction of the 10-valent conjugate vaccine: a culture- and PCR-based survey.** Epidemiology and Infection, v. 145, n. 8, p. 1720–1726, jun. 2017.

283.

284. SA-LEAO, R. et al. **Analysis of Invasiveness of Pneumococcal Serotypes and Clones Circulating in Portugal before Widespread Use of Conjugate Vaccines Reveals Heterogeneous Behavior of Clones Expressing the Same Serotype.** Journal of Clinical Microbiology, v. 49, n. 4, p. 1369–1375, 1 abr. 2011.

285.

286. SCHURDER, J. et al. **Pneumococcal infection in patients with systemic lupus erythematosus.** Joint Bone Spine, v. 85, n. 3, p. 333–336, maio 2018.

287.

288. SOCIEDADE BRASILEIRA DE IMUNIZAÇÕES (SBIM) E SOCIEDADE BRASILEIRA DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA (SBGG). **Guia de vacinação geriatria SBIm/SBGG**, 2016. Disponível em: <https://sbim.org.br/images/files/guia-geriatria-sbim-sbogg-3a-ed-2016-2017-160525-web.pdf> . Acesso em: 4 Dez 2019.

289.

290. TAVARES, W. **Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 33, n. 3, p. 281–301, jun. 2000.

291.

292. TORTORA; FUNKE; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed., 2017

293.

294. WALKER, C. L. F. et al. **Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea**. The Lancet, v. 381, n. 9875, p. 1405–1416, abr. 2013.

295.

296. WANG, Y. et al. **Effectiveness and practical uses of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in healthy and special populations**. Human Vaccines & Immunotherapeutics, v. 14, n. 4, p. 1003–1012, 3 abr. 2018.

297.

298. WATT, J. P. et al. **Nasopharyngeal versus Oropharyngeal Sampling for Detection of Pneumococcal Carriage in Adults**. Journal of Clinical Microbiology, v. 42, n. 11, p. 4974–4976, 1 nov. 2004.

299.

300. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire**. Wkly. Epidemiol. Rec, v. 87, p. 245-252, 2012.

301.

302. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Pneumonia**, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/pneumonia>. Acesso em: 3 Dez 2019.

303.

304.

305.

306.

307.

308.

309.

310.

311.

312.

313.

314.

315.

316.

317.

318.

319.

320.

321.

322.