



Colonização nasofaríngea pelo *Streptococcus pneumoniae* em crianças com doença falciforme usando penicilina profilática

*Nasopharyngeal colonization by Streptococcus pneumoniae
in children with sickle cell disease receiving prophylactic penicillin*

Patricia B. Blum Fonseca¹, Josefina Aparecida P. Braga², Antônia Maria de O. Machado³,
Maria Cristina de C. Brandileone⁴, Calil Kairalla Farhat⁵

Resumo

Objetivos: Determinar a prevalência de colonização nasofaríngea pelo pneumococo em crianças com doença falciforme, em uso de profilaxia com penicilina; identificar fatores de risco para colonização; sorotipar as cepas isoladas e avaliar a resistência antimicrobiana.

Metodologia: Foram colhidos 188 swabes de nasofaringe de 98 crianças com doença falciforme em acompanhamento no Hospital São Paulo, da Universidade Federal de São Paulo, no período de 09 de abril de 2002 a 28 de fevereiro de 2003. O isolamento e a identificação dos pneumococos seguiram procedimentos padronizados. A concentração inibitória mínima para penicilina foi determinada pelo método do *E-test*. A sorotipagem foi realizada pela reação de Neufeld-Quellung com anti-soros para 46 sorotipos.

Resultados: A idade variou de 4 meses a 17 anos (média e desvio padrão de 6,8±4,7 anos). Das 98 crianças do estudo, 13 apresentaram colonização pelo pneumococo (prevalência de 13,3%). O maior risco de colonização ocorreu em menores de 2 anos de idade ($p = 0,02$). A prevalência de cepas com resistência intermediária à penicilina foi de 21,4%, não sendo evidenciada resistência plena. Também não houve cepas resistentes à eritromicina, ceftriaxona e vancomicina. Os sorotipos isolados mais freqüentes foram o 18C e o 23F.

Conclusões: O uso profilático de penicilina diminuiu a colonização nasofaríngea pelo pneumococo e não determinou aumento da resistência a esse antimicrobiano nas crianças com doença falciforme. A penicilina ainda pode ser usada na profilaxia e no tratamento dos episódios febris dessas crianças.

J Pediatr (Rio J). 2005;81(2):149-54: Anemia falciforme, infecção pneumocócica, resistência antibiótica.

Abstract

Objectives: To determine the prevalence of nasopharyngeal pneumococcus colonization in children with sickle cell disease undergoing penicillin prophylaxis, to identify risk factors for colonization and to serotype and determine antibiotic resistance in pneumococci obtained from those children.

Methods: Between April 9, 2002 and February 28, 2003, 188 nasopharyngeal swabs were obtained from 98 children with sickle cell disease in follow-up at the *Hospital São Paulo – Universidade Federal de São Paulo*. Pneumococci were isolated and identified by standard methods. The minimal inhibitory concentration for penicillin was determined by the *E-test* method. Isolates were serotyped with the use of type-specific antisera for 46 different serotypes (Neufeld-Quellung reaction).

Results: The age of children ranged from 4 months to 17 years (median and standard deviation 6.8±4.7 years). Thirteen of the 98 children had nasopharyngeal pneumococcus colonization (13.3% prevalence). There was a significantly greater risk of colonization among children less than 2 years old ($p = 0.02$). Twenty-one percent of isolates had intermediate penicillin resistance. There were no isolates highly resistant to penicillin. All isolates were susceptible to erythromycin, ceftriaxone, or vancomycin. The most frequently identified serotypes were 18C and 23F.

Conclusions: Penicillin prophylaxis reduced pneumococcal nasopharyngeal colonization and did not increase the prevalence of penicillin-resistant pneumococci in children with sickle cell disease. Penicillin can be used not only for prophylaxis, but also in the acute management of febrile states with these children.

J Pediatr (Rio J). 2005;81(2):149-54: Sickle cell anemia, pneumococcal infection, antibiotic-resistance.

1. Mestre em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (UNIFESP/EPM), São Paulo, SP.
2. Professora adjunta, Departamento de Pediatria, UNIFESP/EPM, São Paulo, SP.
3. Doutora em Medicina pela UNIFESP/EPM, São Paulo, SP.
4. Doutora em Ciências pela UNIFESP/EPM. Coordenadora do Projeto Sistema Regional de Vacinas (SIREVA) no Brasil.
5. Professor titular, Departamento de Pediatria, UNIFESP/EPM, São Paulo, SP.

Fonte financiadora: FAPESP (nº processo 2001/02501-0).

Artigo submetido em 12.08.04, aceito em 22.12.04.

Como citar este artigo: Fonseca PB, Braga JA, Machado AM, Brandileone MC, Farhat CK. Colonização nasofaríngea pelo *Streptococcus pneumoniae* em crianças com doença falciforme usando penicilina profilática. *J Pediatr (Rio J)*. 2005;81:149-54.

Introdução

Diversos estudos confirmam a relação entre a colonização nasofaríngea e o risco de se desenvolver infecção invasiva pelo *Streptococcus pneumoniae*^{1,2}. A prevalência da colonização dessa bactéria em nasofaringe pode ser influenciada por diversos fatores, como idade, área geográfica, população estudada, participação em creches e uso da profilaxia com penicilina nas crianças com doença falciforme^{3,4}.

A taxa de colonização nasofaríngea no Brasil varia de 30 a 50% em crianças^{5,6}, porém não encontramos na literatura nenhum estudo brasileiro que avaliasse as crianças com doença falciforme. Nos Estados Unidos (EUA), a taxa de colonização nasofaríngea nesses pacientes varia de 5 a 17%, e tais resultados não podem ser extrapolados para uma população diferente^{3,7,8}.

Na população geral, a resistência do *Streptococcus pneumoniae* à penicilina está se tornando cada vez mais freqüente, sendo motivo de preocupação em todo mundo⁹. Essa preocupação aumenta nas crianças com doença falciforme que são expostas ao uso prolongado de penicilina, para diminuir o risco de infecção pneumocócica¹⁰, o que poderia selecionar cepas resistentes a esse antimicrobiano^{11,12}.

A resistência do pneumococo à penicilina no Brasil tem variado de 15 a 36% entre as cepas isoladas de doenças invasivas, semelhante às taxas encontradas entre as cepas colonizadoras, tendo a quase totalidade dessas cepas resistência intermediária à penicilina^{5,6,13,14}.

Estudos realizados com a finalidade de avaliar a resistência do pneumococo à penicilina em crianças falcêmicas submetidas à profilaxia com esse antimicrobiano apresentaram resultados controversos. Anglin et al.³ encontraram uma resistência intermediária em 2,9% das cepas isoladas em nasofaringe, e Norris et al.⁷ obtiveram 33% de resistência à penicilina; 36% dessas cepas apresentaram resistência elevada. Em ambos os estudos, não se observou aumento da resistência associado ao uso da profilaxia. Porém, Steele et al.⁸ realizaram estudo que evidenciou resistência à penicilina em 62% das cepas, enquanto o grupo-controle que não recebia penicilina apresentou resistência em 41%, associando o aumento da resistência ao uso da profilaxia.

Os objetivos desse estudo foram os seguintes: avaliar a prevalência da colonização nasofaríngea pelo *Streptococcus pneumoniae* em crianças com doença falciforme em uso de penicilina profilática, identificar fatores de risco para colonização e verificar o perfil de resistência antimicrobiana e os sorotipos das cepas isoladas.

Métodos

O estudo seccional foi realizado no Setor de Hematologia Pediátrica da Disciplina de Especialidades Pediátricas do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM), Hospital São Paulo, no período de abril de 2002 a fevereiro de 2003. O protocolo de pesquisa foi aprovado

pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo.

A população estudada foi constituída de 98 pacientes, com idade entre 4 meses e 17 anos, que tinham o diagnóstico de doença falciforme confirmado pelo teste de focalização isoelétrica ou por eletroforese de hemoglobina em pH alcalino, e faziam uso de profilaxia antimicrobiana com penicilina benzatina ou penicilina V, há mais de 1 mês. Todos os pacientes residiam no estado de São Paulo, sendo que a maioria morava na Grande São Paulo.

Foram excluídos do estudo os pacientes que não faziam profilaxia, os alérgicos à penicilina (que, por essa razão, usavam eritromicina) e os que haviam recebido a vacina antipneumocócica conjugada 7-valente, pois a vacina conjugada reduz a colonização nasofaríngea pelos sorotipos contidos na vacina^{15,16}.

No período do estudo, em todas as consultas (em geral a cada 4 meses) desses pacientes no ambulatório de Hematologia Pediátrica, os pais ou responsáveis pelas crianças foram entrevistados através de questionários pelo próprio pesquisador; nessas entrevistas, foram obtidos dados epidemiológicos referentes: (1) à criança (idade, sexo, raça, genótipo [HbSS, HbSC e HbS-beta talassêmia], freqüência em creches ou escolas); (2) à profilaxia (tempo de uso, tipo de medicação e aderência); (3) à vacinação (em relação à vacina polissacarídica pneumocócica 23-valente); (4) a infecções atuais ou ocorridas nos últimos 3 meses precedendo a coleta do material da nasofaringe; (5) à utilização atual de antibióticos, ou nos últimos 3 meses, excetuando a profilaxia; (6) a hospitalizações nos últimos 3 meses; (7) a condições de moradia.

O material de nasofaringe foi colhido durante as consultas no ambulatório, em um intervalo mínimo de 30 dias, através de suabe estéril de haste flexível, que era introduzido cuidadosamente pelo pesquisador na narina da criança, até uma profundidade correspondente a dois terços da distância entre o nariz e o lóbulo da orelha¹⁷. Em seguida, o suabe era imerso no próprio meio de transporte de Amies e encaminhado após 1 a 2 horas da coleta, em temperatura ambiente, para o setor de bacteriologia do Instituto Paulista de Doenças Infecciosas e Parasitárias, associado à UNIFESP.

O material era semeado em placa de ágar sangue contendo sangue de carneiro a 5%. Em seguida, as placas eram incubadas a 35±1 °C, com tensão de 5 a 10% de CO₂, em atmosfera produzida por jarra de vela, por 24 horas. A presença de zona cinza esverdeada ao redor das colônias (alfa-hemólise) era presuntiva de *Streptococcus pneumoniae*. A confirmação do agente foi realizada pelo teste de aglutinação rápida de partículas de látex e pela avaliação do halo de inibição em torno do disco de optoquina e, quando necessário, era feito também o teste da bile-solubilidade.

A avaliação da suscetibilidade à penicilina foi realizada pelo método da difusão em disco de oxacilina (1 µg), sendo o halo de inibição ≥ 20 mm considerado suscetível à penicilina, e o halo ≤ 19 mm, resistente à penicilina. A concentração inibitória mínima (CIM) para penicilina foi

determinada pelo método do *E-test* em todas as cepas de pneumococo resistentes à oxacilina (halo \leq 19 mm). A CIM para penicilina foi interpretada como suscetível se \leq 0,06 $\mu\text{g/ml}$, intermediária de 0,1 a 1 $\mu\text{g/ml}$ e como resistente se \geq 2,0 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁸. A resistência bacteriana também foi determinada para eritromicina, cotrimoxazol, levofloxacina, ceftriaxona e vancomicina pelo *E-test*.

A sorotipagem das cepas de pneumococo isoladas foi realizada pelo Instituto Adolfo Lutz através da reação de Neufeld-Quellung, com anti-soros produzidos no *Statem Serum Institute*, em Copenhagem, na Dinamarca.

Foi realizada a análise descritiva do perfil dos pacientes e das cepas de pneumococos. Para se verificar a significância das diferenças entre os grupos de crianças colonizadas e não-colonizadas, foi aplicado o teste do qui-quadrado de Pearson. O nível descritivo (p) $<$ 0,05 ou 5% foi considerado estatisticamente significativo, ao se rejeitar a hipótese de igualdade.

Resultados

Participaram do estudo 98 pacientes com doença falciforme, com idade que variou de 4 meses a 17 anos, com média e desvio padrão de $6,8 \pm 4,7$ anos, sendo 23 crianças (23,5%) com idade \leq 24 meses, 22 (22,5%) de 25 a 71 meses e 53 (54%) \geq 72 meses de idade. Quanto ao genótipo, 69 pacientes (70,4%) tinham anemia falciforme (HbSS), 18 (18,4%) eram portadores de HbSC, e 11 (11,2%), de HbS-beta talassemia.

Em relação ao tipo de profilaxia, 82 pacientes (83,7%) faziam uso de penicilina benzatina e 16 (16,3%) usavam penicilina V. O período de duração da profilaxia variou de 1 mês a 14 anos, com média de $4,4 \pm 3,4$ anos. Quanto à aderência ao uso da profilaxia, observou-se que 72 pacientes (73,5%) afirmaram que faziam uso regular da medicação. A vacina antipneumocócica polissacarídica 23-valente tinha sido aplicada em 68 crianças (69,4%).

O pneumococo foi isolado da nasofaringe de 13 das 98 crianças, representando uma colonização de 13,3% (IC 95%: 7 a 22%). Foram colhidas de 28 crianças apenas uma amostra de material da nasofaringe, duas amostras de 50 crianças e três amostras de 20 crianças. Foi obtido um total de 188 amostras de nasofaringe e, dessas, 14 foram positivas para pneumococo, isolando esse agente em 7,4% (IC 95%: 4 a 12%) dos suabes obtidos. Assim, entre as 13 crianças colonizadas, uma teve duas amostras isoladas positivas para *Streptococcus pneumoniae*.

Apenas uma criança (1/13, 7,7%) apresentou sinusite após a cultura de nasofaringe com presença do pneumococo, cinco pacientes (38,5%) não tiveram infecção após o isolamento dessa bactéria na nasofaringe, sendo que a amostra seguinte foi negativa, e sete (53,8%) não voltaram ao ambulatório após a identificação da amostra positiva.

A idade foi o único fator de risco para a colonização, sendo que os pacientes com idade \leq 24 meses foram mais colonizados (7/13 = 30,4%) quando comparados com as outras faixas etárias; não foi encontrado nenhum outro fator de risco para a colonização nasofaríngea (Tabela 1).

Cinco das 14 cepas isoladas (35,7%) apresentaram resistência na triagem com disco de oxacilina. Os resultados da avaliação da CIM mostraram que três das cinco cepas testadas apresentaram resistência intermediária à penicilina, todas com CIM de 0,25 $\mu\text{g/ml}$, o que representa uma taxa de resistência de 21,4% (3/14); não foi observada nenhuma cepa com resistência elevada à penicilina. Das 98 crianças avaliadas, três (3,1%) estavam colonizadas por cepa resistente à penicilina. Não foi observada resistência à eritromicina, ceftriaxona e vancomicina. Nove cepas (64,3%) eram resistentes ao cotrimoxazol e seis (42,9%), à levofloxacina.

Das 14 cepas isoladas dos 13 pacientes colonizados, foram sorotipadas 13. Os sorotipos encontrados e a respectiva suscetibilidade à penicilina encontram-se na Tabela 2.

Discussão

Desde os primeiros estudos realizados sobre a colonização do *Streptococcus pneumoniae*, os autores vêm concluindo que a taxa de isolamento dessa bactéria e, portanto, a identificação do estado de portador dependem, além de outros fatores, da metodologia utilizada. Em 1996, Norris et al.⁷ avaliaram a colonização pelo pneumococo em crianças com doença falciforme, obtendo o material através de suabe de nasofaringe ou de orofaringe, e verificaram que o número de amostras positivas para *Streptococcus pneumoniae* foi significativamente maior quando o material foi obtido de nasofaringe. Baseado nesses dados, nosso estudo utilizou amostras obtidas de nasofaringe.

Foi em 1984 que Anglin et al.³ publicaram o primeiro estudo que avaliou o efeito da penicilina profilática na colonização nasofaríngea e encontraram uma prevalência de 11,1% nos falcêmicos e de 37,1% no grupo-controle sem profilaxia. Outros autores encontraram taxas de colonização nas crianças com doença falciforme em uso de penicilina que variaram de 8 a 15,5%^{7,19,20}. Em nosso estudo, verificamos um resultado semelhante a esses, com uma taxa de colonização de 13,3%. Entretanto, devemos salientar que a maioria de nossos pacientes faziam uso de penicilina benzatina, diferindo de todos esses trabalhos nos quais os pacientes utilizavam a penicilina V oral.

Se compararmos a prevalência de colonização encontrada nesse trabalho com a de outros também realizados no Brasil, mas envolvendo crianças sem doença falciforme, verificamos uma taxa menor de colonização nos nossos pacientes. Em São Paulo, a taxa de colonização pneumocócica em crianças menores de 5 anos de idade foi de 34,8%⁵ e, em Fortaleza, de 55%⁶. Se considerarmos em nosso estudo apenas as crianças menores de 72 meses de idade, observamos uma prevalência de 20%, inferior à encontrada nesses estudos que envolvem crianças normais, sugerindo que a profilaxia com penicilina benzatina diminui a colonização pelo *Streptococcus pneumoniae*.

Vários estudos mostram que a idade da criança interfere na prevalência da colonização pelo *Streptococcus pneumoniae*, sendo maior a colonização entre as crianças menores

de 2 anos de idade^{4,21,22}. Estudando crianças com doença falciforme, Steele et al.⁸ observaram, nas crianças menores de 2 anos, 33% de colonização, 10% entre 2 e 5 anos e 6% acima de 5 anos, resultados muito parecidos com aqueles encontrados por Norris et al.⁷ e no presente estudo. Isso

comprova que os pacientes menores de 2 anos têm maior risco de colonização.

A aderência à profilaxia antimicrobiana não influenciou na prevalência da colonização, o que provavelmente se deve ao pequeno número de pacientes colonizados no

Tabela 1 - Avaliação dos fatores de risco entre as crianças falcêmicas colonizadas ou não pelo *Streptococcus pneumoniae*

| Fator de risco | n colonizados total = 13 n (%) | n não-colonizados total = 85 n (%) | p |
|--|--------------------------------------|--|-------|
| Idade | | | |
| ≤ 24 meses | 7 (30,4%) | 16 (69,6%) | 0,02* |
| 25 a 71 meses | 2 (9,1%) | 20 (90,9%) | |
| ≥ 72 meses | 4 (7,5%) | 49 (92,5%) | |
| Genótipo | | | |
| SS e Sß | 11 (13,8%) | 69 (86,2%) | 0,77 |
| SC | 2 (11,1%) | 16 (88,9%) | |
| Profilaxia | | | |
| Penicilina V | 11 (13,4%) | 71 (86,6%) | 0,92 |
| Penicilina benzatina | 2 (12,5%) | 14 (87,5%) | |
| Aderência | | | |
| Regular | 12 (16,7%) | 60 (83,3%) | 0,19 |
| Irregular | 1 (3,8%) | 25 (96,2%) | |
| Vacina Pneumo-23 | | | |
| Sim | 6 (8,8%) | 62 (91,2%) | 0,10 |
| Não | 7 (23,3%) | 23 (76,7%) | |
| Menores de 5 anos de idade no domicílio | | | |
| Sim | 3 (9,1%) | 30 (90,9%) | 0,58 |
| Não | 10 (15,4%) | 55 (84,6%) | |
| Menores de 6 anos de idade (n = 52) em creches ou escolas | | | |
| Sim | 2 (22,2%) | 7 (19,4%) | 0,85 |
| Não | 7 (77,8%) | 36 (80,6%) | |

* Teste do qui-quadrado com dois graus de liberdade.

Tabela 2 - Sorotipos identificados, idade e estado vacinal dos pacientes colonizados e suscetibilidade à penicilina das 14 cepas isoladas

| n paciente | Sorotipo | Idade | Vacina 23-valente | Suscetibilidade penicilina |
|------------|----------|----------|-------------------|----------------------------|
| 1 | 18C | 22 meses | não | S |
| 2 | 23F | 5,4 anos | sim | S |
| 2 | * | 5,7 anos | sim | S |
| 3 | 6B | 8,8 anos | sim | S |
| 4 | NT | 7 anos | sim | I |
| 5 | 19F | 10 meses | não | S |
| 6 | 10A | 7,8 anos | sim | S |
| 7 | NT | 9 anos | sim | S |
| 8 | 23B | 5,3 anos | sim | I |
| 9 | 19A | 20 meses | não | S |
| 10 | 6A | 6 meses | não | S |
| 11 | 23F | 10 meses | não | I |
| 12 | 33 | 6 meses | não | S |
| 13 | 18C | 7 meses | não | S |

* sorotipagem não realizada; NT = não-sorotipado pelo método; S = sensível; I = resistência intermediária.

estudo, ao método de avaliação da aderência e à interferência de outras variáveis, como a idade dos pacientes^{4,22}.

A imunização com a vacina polissacarídica antipneumocócica 23-valente parece não diminuir a prevalência da colonização nasofaríngea pelo *Streptococcus pneumoniae*²³, conforme também verificamos em nosso estudo; algumas crianças imunizadas estavam colonizadas pelo sorotipo vacinal.

A presença de crianças menores de 5 anos no domicílio e a participação em creches são fatores de risco para uma maior colonização^{5,6,24}. Não encontramos o mesmo resultado provavelmente pelo pequeno número de pacientes com irmãos menores de 5 anos e pela baixa percentagem de pacientes menores de 6 anos em creches ou escolas em nosso trabalho.

Não verificamos aumento da resistência pneumocócica à penicilina quando comparamos nossos dados com os diversos estudos realizados no Brasil, os quais envolvem cepas invasivas e colonizadoras^{5,6,13,14}; isso parece indicar que a penicilina ainda é segura tanto para profilaxia quanto para o tratamento inicial dos episódios febris nas crianças falcêmicas.

Cerca de 50 a 80% das cepas resistentes à penicilina também são resistentes ao cotrimoxazol^{5,14}. A alta frequência de resistência ao cotrimoxazol que vem sendo observada em diversos estudos (63 a 81%), e inclusive no nosso, inviabiliza o uso desse antibiótico para o tratamento das patologias nas quais o pneumococo é o principal agente etiológico. Encontramos em nossa casuística 42,9% das cepas resistentes à levofloxacina, o que difere da literatura, na qual 99% das cepas de pneumococo isoladas são sensíveis a esse antimicrobiano²⁵. Apesar de nossa amostra ser pequena, esse resultado mostra uma resistência maior do que a esperada. A frequência de resistência pneumocócica à ceftriaxona ainda é baixa, com taxas variando de acordo com a localidade de 0 a 8%^{5,6,13,19}. Em toda literatura avaliada até o momento, não existem cepas de pneumococo resistentes à vancomicina.

O número de cepas isoladas na nossa população foi pequeno e, assim, a real prevalência dos sorotipos não pôde ser determinada. A maioria das cepas encontradas (69,2%) em nossa população estava entre os principais sorotipos que causam doença invasiva no Brasil²⁶. Em relação aos sorogrupos, observamos que os mais frequentes foram 23 (23,1%), 6 (15,4%), 19 (15,4%) e 18 (15,4%), valores semelhantes aos encontrados nos países desenvolvidos, pois os sorogrupos 6, 14, 19 e 23 predominam nas infecções das crianças em todo o mundo, e o 18 nos países desenvolvidos²⁷. Infecções causadas pelos sorotipos 1 e 5 são frequentes em nosso país²⁷, e provavelmente não foram isolados, pois são pouco expressivos em termos de colonização nasofaríngea²⁸. Esses dados confirmam a utilidade do estudo da colonização nasofaríngea na monitorização do perfil das cepas invasivas.

Concluimos que a profilaxia tanto com penicilina V oral quanto com penicilina benzatina contribuem para diminuir a colonização nasofaríngea em pacientes falcêmicos; porém, os menores de 24 meses de idade permanecem sob

maior risco de colonização, apesar da profilaxia, e o uso prolongado da penicilina não determinou o aumento da resistência do pneumococo a esse antimicrobiano, parecendo ser ainda eficaz.

Referências

1. Gray BM, Coverse GM, Dillon HC. Epidemiological studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: acquisition, carriage and infection during the first 24 months of life. *J Infect Dis*. 1980;142:923-33.
2. Lloyd-Evans N, O'Dempsey TJ, Baldeh I, Secka O, Demba E, Todd JE, et al. Nasopharyngeal carriage of pneumococci in Gambian children and their families. *Pediatr Infect Dis J*. 1996;15:866-71.
3. Anglin DL, Siegel JD, Pacini DL, Smith SJ, Adams G, Buchanan GR. Effect of penicillin prophylaxis on nasopharyngeal colonization with *Streptococcus pneumoniae* in children with sickle cell anemia. *J Pediatr*. 1984;104:18-22.
4. Dagan R, Leibovitz E, Greenberg D, Yagupsky P, Fliss DM, Leiberman A. Dynamics of pneumococcal nasopharyngeal colonization during the first days of antibiotic treatment in pediatric patients. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17:880-5.
5. Ferreira LLM, Carvalho ES, Berezin EN, Brandileone MC. Colonização e resistência antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* isolado em nasofaringe de crianças com rinofaringite aguda. *J Pediatr (Rio J)*. 2001;77:227-34.
6. Rey LC, Wolf B, Moreira LB, Verhoef J, Farhat CK. *S. pneumoniae* isolados da nasofaringe de crianças saudáveis e com pneumonia: taxa de colonização e suscetibilidade aos antimicrobianos. *J Pediatr (Rio J)*. 2002;78:105-12.
7. Norris CF, Mahannah SR, Smith-Witley K, Frempong KO, McGowan KL. Pneumococcal colonization in children with sickle cell disease. *J Pediatr*. 1996;129:821-7.
8. Steele RW, Warrior R, Unkel PJ, Foch BJ, Howes RF, Shah S, et al. Colonization with antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in children with sickle cell disease. *J Pediatr*. 1996;128:531-5.
9. Klugman KP. Pneumococcal resistance to antibiotics. *Clin Microbiol Rev*. 1990;3:171-96.
10. Gaston MH, Verter JI, Woods G, Pegelow C, Kelleher J, Presbury G, et al. Prophylaxis with oral penicillin in children with sickle cell anemia: a randomized trial. *N Engl J Med*. 1986;314:1593-9.
11. Appelbaum PC. Epidemiology and in vitro susceptibility of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Pediatr Infect Dis J*. 1996;15:932-9.
12. Tomasz A. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Infect Dis*. 1997;24:S85-8.
13. Berezin EN, Carvalho LH, Lopes CR, Sanajotta AT, Brandileone MCC, Menegatti S, et al. Meningite pneumocócica na infância: características clínicas, sorotipos mais prevalentes e prognóstico. *J Pediatr (Rio J)*. 2002;78:19-23.
14. Mantese OC, Paula A, Moraes AB, Moreira TA, Guerra MLLS, Brandileone MCC. Prevalência de sorotipos e resistência antimicrobiana de cepas invasivas do *Streptococcus pneumoniae*. *J Pediatr (Rio J)*. 2003;79:537-42.
15. Dagan R, Melamed R, Muallen M, Piglauskay L, Greenberg D, Abramson O, et al. Reduction of nasopharyngeal carriage of pneumococci during the second year of life by a heptavalent conjugate pneumococcal vaccine. *J Infect Dis*. 1996;174:1271-8.
16. Mbelle N, Huerbner RE, Wasas AD, Kimura A, Chang I, Klugman KP. Immunogenicity and impact on nasopharyngeal carriage of a nonvalent pneumococcal conjugate vaccine. *J Infect Dis*. 1999;180:1171-6.
17. World Health Organization (WHO), Centers of Disease Control (CDC). Manual for the National surveillance of antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*: epidemiological and microbiological methods. August, 1994. Available from: <http://www.who.int/chd/publications/ari/bact/bact.htm>
18. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twelfth informational supplement. NCCLS, 22(1). Document M100-S12. Wayne, Pennsylvania: NCCLS, 2002.

19. Woods GM, Jorgensen JH, Waclawiw MA, Reid C, Wang W, Pegelow CH, et al. Influence of penicillin prophylaxis on antimicrobial resistance in nasopharyngeal *S. pneumoniae* among children with sickle cell anemia. *J Pediatr Hematol Oncol.* 1997;19:327-33.
20. Sakhalkar VS, Sarnaik AS, Asmar BI, Conner-Warren R, Shurney W, Abdel-Haq NM. Prevalence of penicillin-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* in nasopharyngeal cultures from patients with sickle cell disease. *South Med J.* 2001;94:401-4.
21. Novales MG, Sntos FS, Gallardo HG, Miranda BL, Aviles GE, Barajas MN, et al. *Streptococcus pneumoniae*: low frequency of penicillin resistance and high resistance to trimetoprim-sulfamethoxazole in nasopharyngeal isolates from children in a rural area in Mexico. *Arch Med Rev.* 1997;28:559-63.
22. Principi N, Marchisio P, Schito GC, Mannelli S and the Ascanius Project Collaborative Group. Risk factors for carriage of respiratory pathogens in the nasopharynx of health children. *Pediatr Infect Dis J.* 1999;18:517-23.
23. Wright PF, Sell SH, Vaughn WK, Andrews C, McConnell KB, Schiffman G. Clinical studies of pneumococcal vaccines in infancy. II. Efficacy and effect on nasopharyngeal carriage. *Rev Infect Dis.* 1981;3 Suppl:S108-12.
24. Dagan R, Melamed R, Muallen M, Piglansky L, Yagupsky P. Nasopharyngeal colonization in Southern Israel with antibiotic-resistant pneumococci during the first 2 years of life: relation to serotypes likely to be included in pneumococcal conjugate vaccines. *J Infect Dis.* 1996;174:1352-5.
25. Jones ME, Blosser-Middleton RS, Critchley IA, Thornsberry C, Saham DF, Yamakita J, et al. The activity of levofloxacin and comparator agents against clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* collect worldwide during 1999 and 2000. *Chemotherapy.* 2002;48:232-7.
26. Brandileone MC, Di Fabio JL, Vieira VS, Zanella RC, Casagrande ST, Pignatari AC, et al. Geographic distribution of penicillin resistance of *Streptococcus pneumoniae* in Brazil: genetic relatedness. *Microb Drug Resist.* 1998;4:209-17.
27. Sniadack DH, Schwartz B, Lipman H, Bogaerts J, Butler JC, Dagan R, et al. Potential interventions for the prevention of childhood pneumonia: geographic and temporal differences in serotype and serogroup distribution of sterile site pneumococcal isolates from children – implications for vaccine strategies. *Pediatr Infect Dis J.* 1995;14:503-10.
28. Berezin EN, Cardenuto MD, Otsuka M, Ferreira LL, Guerra ML, Brandileone MC, et al. Avaliação do uso de isolados de *Streptococcus pneumoniae* (SP) de swab de nasofaringe para avaliar resistência bacteriana em crianças de São Paulo. *Rev Paul Pediatr.* 2003;21:179-85.

Correspondência:

Patricia Belintani Blum Fonseca
Av. Dr. Altino Arantes, 1000/21, Vila Clementino
CEP 04042-004 – São Paulo, SP
Tel.: (11) 5594.5196
Fax: (11) 5078.8195
E-mail: patricia_blum@uol.com.br