

Monitorização da infeção a *Haemophilus influenzae* em crianças após a introdução da vacina para o *Haemophilus influenzae* serotipo b no Programa Nacional de Vacinação

Maria Paula Bajanca Lavado, Célia Betencourt, Paula Cristóvão
paula.lavado@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência de Infeções Respiratórias/Agentes bacterianos,
Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

_Introdução

O *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) é um microrganismo Gram negativo cujo nicho ecológico é o trato respiratório humano. Para além de colonizar a nasofaringe de pessoas saudáveis, o *H. influenzae* é normalmente responsável por infeções respiratórias e ainda infeções invasivas graves como a meningite e a septicemia, principalmente nas crianças (1). A presença ou ausência de cápsula tem sido associada à maior ou menor virulência das estirpes. As estirpes responsáveis por infeções invasivas possuem cápsula, ao contrário da maior parte das estirpes isoladas de outras infeções ou de pessoas saudáveis. Estas estirpes foram agrupadas em seis serotipos, designados de a-f.

_As estirpes capsuladas, nomeadamente as de serotipo b (Hib) eram, até à introdução da vacina conjugada, responsáveis pela maior parte dos casos de infeção invasiva (2). A vacina para o Hib, licenciada em Portugal em 1994 e incluída no Programa Nacional de Vacinação (PNV) no ano 2000 para administração a crianças até aos 5 anos de idade, resultou na eliminação da quase totalidade das infeções invasivas por este serotipo nas populações onde a vacinação foi implementada (3, 4). Contudo, esta vacina não protege contra a infeção invasiva por estirpes não capsuladas (NC) ou de serotipos não b sendo, atualmente, as estirpes NC as responsáveis pela maior parte destas infeções (5, 6). A vacinação tem também impacto na ecologia da colonização do trato respiratório, assim como nos perfis de resistência aos antibióticos.

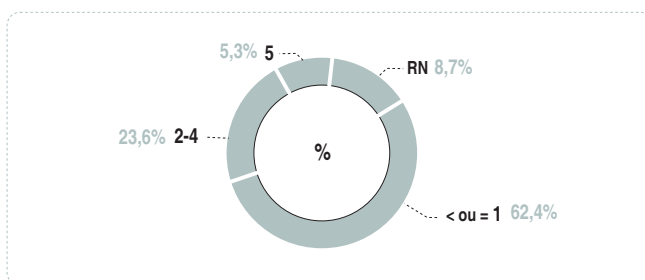
_O Laboratório Nacional de Referência a Infeções Respiratórias - Agentes bacterianos, do Departamento de Doenças Infecciosas, INSA, IP, tem como uma das suas funções principais, no âmbito da referência e vigilância, a monitorização da infeção (*) por *H. influenzae*, em estreita colaboração com a Direcção Geral de Saúde e com o "European Center for Disease Prevention and Control", sendo responsável por caracterizar todas as estirpes isoladas de infeção invasiva, divulgando os resultados às Autoridades de Saúde competentes.

_O objetivo deste estudo é monitorizar a infeção a *H. influenzae* após a introdução da vacina Hib no nosso país, através da caracterização de estirpes isoladas entre 2001 e 2012 de crianças em idade pré-escolar (< ou = 5 anos), dando destaque ao serotipo capsular e à resistência aos agentes antimicrobianos.

_Material e Métodos

Caracterizaram-se 1742 estirpes de *H. influenzae* isoladas no período pós vacinal, de crianças com idade igual ou inferior a 5 anos (Gráfico 1) em 30 Laboratórios Hospitalares em Portugal. Destes, apenas 16 Laboratórios (**) tiveram uma participação mais ativa na vigilância desta infeção, enviando 5 ou mais estirpes para caracterização.

Gráfico 1: Distribuição por grupo etário.

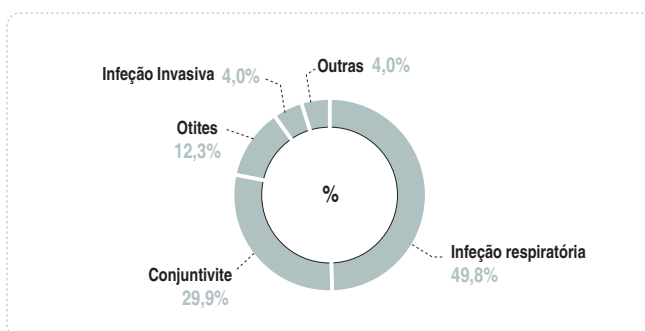


_A produção de β -lactamase foi pesquisada pelo método colorimétrico, utilizando nitrocefim como substrato. A determinação da concentração inibitória mínima (CIM, mg/L) foi realizada pelo método de microdiluição em placa (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. USA) para 13 antibióticos (ampicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, cefaclor, cefuroxima, ceftriaxone, cefepime, meropenem, cloranfenicol, tetraciclina, rifampicina, trimetoprim/sulfametoxazol, ciprofloxacina e azitromicina); os "breakpoints" utilizados foram os estabelecidos pelo CLSI (7). Foi efetuada a pesquisa de cápsula e caracterizado o serotipo capsular por "Polymerase Chain Reaction" (8).

_Resultados

Da amostra analisada verificou-se que as infeções mais comuns foram as infeções respiratórias com 49,8% dos casos. Seguiram-se as conjuntivites (29,9%), e as otites (12,3%). A infeção invasiva foi, como esperado, a menos frequente representando apenas 4% do total de infeções em crianças (Gráfico 2).

Gráfico 2: Tipo de infeção.



→ continua

artigos breves_ n. 2

_A resistência à ampicilina por produção de β -lactamase foi observada em 12,5% das amostras. Entre as estirpes não produtoras de β -lactamase, 2,2% demonstraram uma suscetibilidade diminuída à ampicilina e à amoxicilina/ácido clavulânico (CIM > ou = 2 mg/L) assim como às cefalosporinas. Estas estirpes designam-se por BLNAR (β -lactamase negativas e resistentes à ampicilina) pela sua diminuição de afinidade aos antibióticos β -lactâmicos devido a mutações no gene *ftsI* que codifica a PBP3 (9). Ainda relativamente à suscetibilidade aos antibióticos (considerando as estirpes de suscetibilidade intermédia e as resistentes) salienta-se 16,6% de resistência à ampicilina, 9,5% ao cefaclor, 4,3% à cefuroxima e 30% de resistência ao trimetoprim/sulfametoxazol. Há a referir a ausência de estirpes resistentes às cefalosporinas de 3ª geração (cefotaxime) e 4ª geração (cefepime), assim como à ciprofloxacina (Gráfico 3).

_Em relação ao serotipo capsular, a grande maioria (98,3%) das estirpes eram não capsuladas. A pequena percentagem (1,7%) de estirpes que apresentam cápsula abrangeu todos os serotipos capsulares com exclusão do serotipo c. Uma estirpe de serotipo d foi pela primeira vez caracterizada em 2009 num latente com meningite, não sendo conhecido até então qualquer caso de uma infeção invasiva por *H. influenzae* serotipo d na Europa (10).

_Discussão

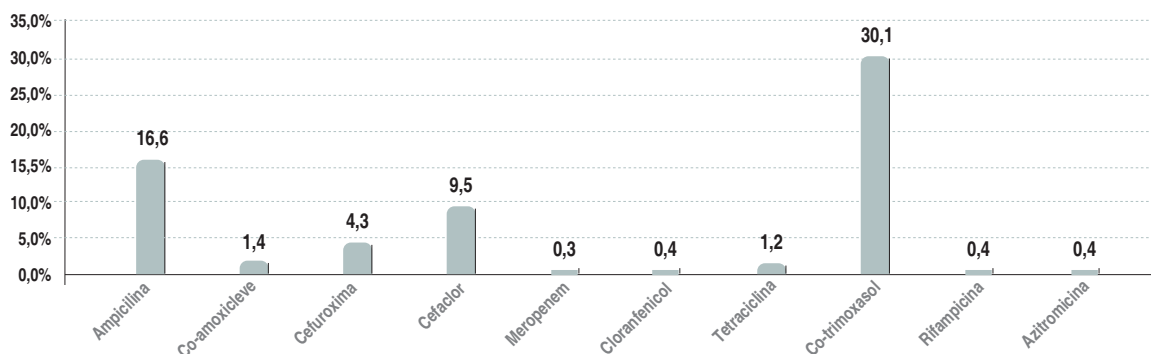
Desde a implementação da vacina Hib que a epidemiologia das infeções a *H. influenzae* tem sofrido alterações. Nas décadas de 80-90, o *H. influenzae* tipo b era responsável por mais de 90% dos casos de infeção invasiva em crianças, apresentando com elevada frequência um perfil de multirresistencia a 3 ou mais antibióticos (ampicilina, tetraciclina, cloranfenicol e por vezes trimetoprim/sulfametoxazol). As estirpes NC eram nessa altura responsáveis por infeções de menor gravidade (11).

_Como consequência da introdução da vacina, observou-se não só a diminuição na circulação do serotipo b como ainda a diminuição no número de estirpes com perfil de multirresistência. Observou-se também uma diminuição drástica da infeção invasiva, assim como uma quase eliminação das meningites associadas a este agente. As estirpes NC são atualmente responsáveis pela maior parte das infeções, incluindo as invasivas. Outros serotipos (a, d, e, f) têm sido caracterizados em todo o tipo de infeções (4, 10, 12). Com efeito, no nosso Laboratório foi caracterizada, pela primeira vez, em 2001 uma estirpe invasiva de serotipo não b (serotipo f) isolada de um doente de 91 anos de idade (4).

_Relativamente à resistência à ampicilina, por produção de β -lactamase, a percentagem tem variado anualmente entre 10 a 13 %, não havendo alterações a assinalar em relação a este mecanismo de resistência. Contudo, o fenótipo de resistência BLNAR só foi detetado no período pós-vacinal, o que indica uma alteração no mecanismo de resistência não enzimática aos antibióticos β -lactâmicos. Nos nossos estudos de vigilância o fenótipo de multiresistência foi caracterizado pela última vez em 1994.

_O trabalho desenvolvido revela uma alteração na epidemiologia da infeção a *H. influenzae* doze anos após a introdução da vacina Hib, com um aumento de estirpes NC e a caracterização de outros serotipos circulantes. Por esta razão torna-se essencial a continuidade desta monitorização através de mais e melhores estudos de vigilância.

Gráfico 3: Resistência aos antibióticos (n=1445)



Meropenem e Azitromicina: as percentagens só incluem estirpes de suscetibilidade intermédia.

→ continua

artigos breves_ n. 1

Referências bibliográficas:

- (1) Tristram S, Jacobs M, Appelbaum P. Antimicrobial Resistance in *Haemophilus influenzae*. *Clin Microbiol Rev.* 2007; 20: 368-69.
- (2) Peltola H. *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century: global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:302-17.
- (3) Wenger J. Epidemiology of *Haemophilus influenzae* type b disease and impact of *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines in the United States and Canada. *Pediatr Infect Dis J.* 1998;17(9 Suppl): S132-6.
- (4) Bajanca, P, Caniça M, Multicenter Study Group. Emergence of noncapsulated and encapsulated non-b-type invasive *Haemophilus influenzae* isolates in Portugal (1989-2001). *J Clin Microbiol.* 2004;42:807-810.
- (5) Ladhani S, Slack M, Heath P, et al. Invasive *Haemophilus influenzae* disease, Europe, 1996-2006. *Emerg Infect Dis.* 2010;16:455-63.
- (6) Ulanova M, Tsang R. Invasive *Haemophilus influenzae* disease: changing epidemiology and host-parasite interactions in the 21st century. *Infect Genet Evo.* 2009;9:594-605.
- (7) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Nineteenth informational supplement M100-S19. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
- (8) Falla T, Crook D, Brophy L, et al. PCR for capsular typing of *Haemophilus influenzae*. *J Clin Microbiol.* 1994; 32:2382-86.
- (9) Barbosa R, Giufrè M, Cerquetti M, et al. Polymorphism in *ftsI* gene and β -lactam susceptibility in Portuguese *Haemophilus influenzae* strains: clonal dissemination of β -lactamase-positive isolates with decreased susceptibility to amoxicillin/clavulanic acid. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66:788-96.
- (10) Calado R, Betencourt C, Gonçalves H, et al. Complicated meningitis caused by a rare serotype of *Haemophilus influenzae* in Portugal. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;69:111-13.
- (11) Bajanca Lavado MP. Contribuição para o estudo da susceptibilidade aos antibióticos e dos mecanismos de resistência em estirpes de *Haemophilus influenzae* isoladas em Portugal. Porto, 1997. Tese de Doutoramento apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.
- (12) Bajanca P, Teixeira F, Caniça M. Nosocomial cross-infection of a child with cystic fibrosis with *Haemophilus influenzae* serotype e. [letter to the editor]. *J Hosp Infect.* 2005;60:185-186.

(*) Até início de 2009, este estudo de vigilância foi realizado no Laboratório anteriormente designado por Unidade de Resistência aos Antibióticos.

(**) Laboratórios participantes:

Centro Hospitalar Barreiro-Montijo, EPE (A. Jesus)
Centro Hospitalar de Coimbra, EPE (L. Albuquerque)
Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, EPE (L. Felício)
Hospital Cuf Descobertas (A. Neto)
Hospital Dona Estefânia (R. Ramos)
Hospital Espírito Santo (Laboratório de Bacteriologia)
Hospital Fernando da Fonseca, EPE (L. Sancho)
Hospital Garcia da Orta (J. Diogo)
Hospital Maria Pia (F. Teixeira)
Hospital Santa Luzia, Viana do Castelo (A. Santos)
Hospital Santa Maria (J. Melo Cristino, L. Lito, L. Monteiro, A. Fonseca)
Hospital Santo António (Laboratório de Bacteriologia)
Hospital São Francisco Xavier (F. Martins)
Hospital São Teotónio (J. Ribeiro)
Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP (Laboratórios de Bacteriologia, Lisboa/Porto)