



FACULDADE DE
MEDICINA
FUNDADA EM 1963

MESTRADO EM BIOCÊNCIAS

DISSERTAÇÃO

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos Após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023

Zubaida Argentina Chiau

Maputo, 05 de Março de 2025



FACULDADE DE
MEDICINA
FUNDADA EM 1963

MESTRADO EM BIOCÊNCIAS

DISSERTAÇÃO

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos Após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

Dissertação apresentada ao Departamento de Microbiologia, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Bociências na área de concentração em Microbiologia pela Faculdade de Medicina da Microbiologia pela Universidade Eduardo Mondlane.

Estudante: Zubaida Argentina Chiau

Supervisor: Prof. Dr. José João Sumbana

Co-Supervisor: MSc. Aquino Albino Nhantumbo

Maputo, 05 de Março de 2025

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, **Zubaida Argentina Chiau**, declaro por minha honra que esta dissertação nunca foi apresentada para a obtenção do grau ou num outro âmbito e que constitui o resultado do meu labor individual. Esta dissertação é apresentada em cumprimento parcial dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Biociências pela Universidade Eduardo Mondlane

Maputo, 05 de Março de 2025

(Zubaida Argentina Chiau)

**Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a
Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da
Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.**

DEDICATÓRIA

A minha mãe **Argentina Francisco Chiau** (*in
memoriam*), pelos ensinamentos.

Ao meu tio **João Lucas Chiau**, que
apoiou-me incansavelmente.

Ao meu irmão **Silvestre Humberto Manjate**,
pelo amor e apoio.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

AGRADECIMENTOS

À Deus

Por colocar pessoas especiais no meu caminho, as quais contribuíram para o meu crescimento como pessoa e profissional, e por ter iluminado o meu caminho para que pudesse terminar mais uma etapa académica na minha vida.

Aos meus pais

Que infelizmente não acompanharam esta etapa de formação, no entanto estarão sempre presentes em minha memória. Em especial a minha mãe, Argentina Francisco Chiau (*in memoriam*), por todos ensinamentos, pela mulher guerreira e motivadora que foi.

Ao meu tio

João Lucas Chiau, pela educação, apoio e incentivo, que a cada dificuldade nunca duvidou da minha capacidade e isso me move a ser melhor a cada dia. Muito obrigada.

Ao Prof. Dr. José João Sumbana (Supervisor)

Sou imensamente grata por ter tido a oportunidade de trabalhar sob sua supervisão, sobretudo pelo exemplo de profissionalismo, pesquisador e motivação constante, essencial para enfrentar os desafios e aprimorar a qualidade da pesquisa. Obrigada por acreditar em mim, incentivar-me e sempre orientar para que eu seja uma excelente pessoa e profissional.

Ao MSc. Aquino Albino Nhantumbo (Co-Supervisor)

Pela oportunidade de ingressar a equipe de pesquisa, pelo exemplo de competência no exercício da pesquisa científica. Minha eterna gratidão pela dedicação incansável, disponibilidade em partilhar seus conhecimentos e por confiar em mim. Agradeço também, por transformar sempre os erros em oportunidade de aprendizagem e por valorizar sempre os aspectos positivos.

Ao programa de Vigilância Nacional de Meningite (VINAME)

Pelo financiamento para a realização deste trabalho e a todos colaboradores envolvidos, em especial ao Dr. Ezequias Siteo, pela eficiência e prontidão no envio das amostras e as bases de dados do Hospital Central de Nampula. Ao Dr. Quilson, Dr. Amir, Dr. Marcos, Dra. Elvira, Dra. Elsa e Dr. Carlos pelo acolhimento e apoio na realização do trabalho de campo no Hospital Central da Beira. Muito obrigada.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

A Universidade Eduardo Mondlane (Direcção Científica)

Gostaria de expressar minha profunda gratidão ao programa Research, Extension and Post-graduate Management (UEM-ASDI 2017 - 2022), pelo apoio financeiro e académico fornecido ao longo do desenvolvimento deste mestrado. A bolsa foi fundamental para a realização desta pesquisa, possibilitando o acesso a recursos essenciais e a dedicação integral ao projecto.

Aos pesquisadores do Laboratório de Referência de Microbiologia do INS

Ao Dr. Jerónimo Langa e MSc. Jucunú Chitio por permitirem a realização do presente trabalho, agradecer pelos ensinamentos e pelas palavras motivadoras. Aos colaboradores do laboratório, Alcides Munguambe, Lena Coutinho, Ermelinda Covane, Imelda Miambo e Engrácio Cotonia, quero agradecer pelo acolhimento e disponibilidade em partilhar seus conhecimentos.

Aos meus irmãos e primos

Agradeço pelo encorajamento constante, pelas palavras de incentivo e por estarem sempre ao meu lado, tanto nos momentos de dúvida quanto nas celebrações das conquistas. Seu apoio emocional e compreensão foram essenciais para a minha perseverança e sucesso, em especial ao meu irmão Silvestre Humberto Manjate e a minha prima Ruth Lucas Chiau. Sou grata.

Aos professores e coordenadores do mestrado em Biociências

Estou profundamente grata por ter tido a oportunidade de aprender com profissionais dedicados e inspiradores. A experiência adquirida durante este período ficará marcada não apenas na minha trajetória académica, mas também na minha vida profissional futura.

Aos meus colegas e amigos do programa do mestrado em Biociências

Ivete Samuel, Marcília Chirindzane, José Luís, Stela Correia e Ventura Relvas, pela amizade, carinho, incentivo e pelos momentos incríveis e desafiadores que partilhamos. Obrigada.

Aos meus colegas de estágio no Laboratório de Microbiologia do INS

Arminda Siteo, Brenden Massicani, Matilde Leão e Valdo Moiane, agradeço pela troca de ideias, as discussões construtivas e a disposição para ajudar uns aos outros. Muito obrigada.

Agradecer a todos que porventura posso ter-me esquecido de mencionar, mas que fazem parte da minha vida e directa ou indirectamente sempre deram seu apoio. Muito obrigada.

**Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a
Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da
Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.**

Índice

DECLARAÇÃO DE HONRA.....	i
DEDICATÓRIA.....	ii
AGRADECIMENTOS	iii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS.....	xiii
1. Introdução.....	1
1.1. Problema.....	4
1.2. Questão de pesquisa	4
1.3. Justificativa.....	5
2. Objectivos.....	6
2.1. Objectivo geral	6
2.2. Objectivos específicos.....	6
3. Revisão da literatura	7
3.1. Características biológicas do <i>Streptococcus pneumoniae</i>	7
3.2. Factores de virulência do <i>Streptococcus pneumoniae</i>	9
3.2.1. Cápsula polissacarídica	9
3.2.2. Proteínas da superfície	10
3.2.3. Proteínas excretadas.....	11
3.2.4. Proteínas citoplasmáticas	12
3.3. Patogénese do <i>Streptococcus pneumoniae</i>	13
3.4. Epidemiologia da meningite pneumocócica	15
3.5. Resistência antimicrobiana.....	16

**Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a
Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da
Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.**

3.6.	Diagnóstico laboratorial	17
3.6.1.	Exame microscópico do líquido cefalorraquidiano	17
3.6.2.	Cultura e isolamento de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	18
3.6.3.	Teste de bile solubilidade.....	18
3.6.4.	Reacção de Quellung	19
3.6.5.	Reacção em cadeia da polimerase em tempo real.....	19
3.6.5.1.	Serotipagem de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	21
3.7.	Tratamento da meningite pneumocócica.....	21
3.8.	Prevenção da meningite pneumocócica	22
3.8.1.	Vacinas pneumocócicas conjugadas	23
3.8.2.	Vacinas pneumocócicas polisacarídicas.....	25
4.	Enquadramento teórico.....	26
5.	Metodologia.....	27
5.1.	Fluxograma.....	27
5.2.	Tipo de pesquisa.....	27
5.3.	Descrição do local de estudo	28
5.4.	Período do estudo	29
5.5.	População de estudo	29
5.6.	Modo de selecção das amostras	29
5.7.	Critérios de inclusão.....	29
5.8.	Critérios de exclusão	29
5.9.	Amostragem e Tamanho da amostra	30
5.10.	Procedimentos, técnicas e instrumentos de colheita de dados.....	30
5.11.	Procedimentos laboratoriais	31
5.11.1.	Detecção molecular de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	31
5.11.2.	Extracção e purificação de DNA genómico.....	32

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

5.11.3. Determinação dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> por PCR multiplex	33
6. Variáveis de estudo	34
7. Plano de gestão e análise de dados	35
8. Aspectos éticos	35
9. Resultados.....	36
9.1. Características demográficas e clínicas dos pacientes com suspeita de meningite no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula.....	36
9.2. Frequência de <i>Streptococcus pneumoniae</i> no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula entre 2018 e 2023	37
9.3. Distribuição dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula entre 2018 e 2023.....	38
9.3.1. Distribuição dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> de acordo com as faixas etárias... ..	39
9.3.2. Distribuição temporal dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	40
9.3.3. Distribuição dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> e cobertura vacinal	41
9.3.4. Distribuição dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> de acordo com o estado vacinal... ..	42
10 Discussão.....	43
10.1. Frequência de <i>Streptococcus pneumoniae</i> em crianças menores de 5 anos no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula.....	43
10.2. Distribuição dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula entre 2018 e 2023	45
10.2.1. Distribuição dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> de acordo com as faixas etárias... ..	47
10.2.2. Distribuição temporal dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	47
10.2.3. Distribuição dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> de acordo com a cobertura e estado vacinal	48
11. Conclusão	52

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

12. Limitações	53
13. Recomendações	54
14. Referências bibliográficas	55
15. Apêndice	79
15.1. Formulário de notificação de casos de meningite	79
16. Anexos	81
16.1. Anexo 1. Extração e purificação de DNA genómico	81
16.2. Anexo 3. Sequências dos primers e sondas para Multiplex PCR	82
16.3. Anexo 2. Cálculos de multiplex PCR para serotipagem do <i>Streptococcus pneumoniae</i>	84

**Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a
Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da
Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfologia do <i>Streptococcus pneumoniae</i> ao microscópio, mostrando diplococos gram positivos lanceolados (A) e sua estrutura interna (B).....	7
Figura 2. Patogénese do <i>Streptococcus pneumoniae</i> na meningite..	8
Figura 3. Factores de virulência de <i>Streptococcus pneumoniae</i> .	9
Figura 4. Secções transversais das meninges, evidenciando as alterações morfológicas.....	13
Figura 5. Barreira hematoencefálica durante a meningite bacteriana aguda..	14
Figura 6. Taxas de mortes atribuíveis ao <i>Streptococcus pneumoniae</i> em 2015 no Mundo. ...	15
Figura 7. Morfologia de <i>Streptococcus pneumoniae</i> ao microscópio corado pelo método de gram da amostra de LCR.	17
Figura 8. Crescimento de colónias de <i>Streptococcus pneumoniae</i> , opacas com α -hemólise (cor esverdeada) ao seu redor em ágar sangue.	18
Figura 9. Teste de bile solubilidade de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	18
Figura 10. Identificação dos serotipos capsulares de <i>Streptococcus pneumoniae</i> visualizados na reacção de Quellung.	19
Figura 11. Serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> incluídos nas diferentes vacinas pneumocócicas.....	24
Figura 12. Meningite pneumocócica e o impacto das vacinas.	26
Figura 13. Fluxograma da metodologia usada no presente estudo.	27
Figura 14. Localização de Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula.....	28
Figura 15. Distribuição dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> de acordo com as faixas etárias no HCB e HCN, de 2018 á 2023.	39
Figura 16. Distribuição temporal dos serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i> entre 2018 e 2023.....	40

**Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a
Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da
Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.**

Figura 17. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* identificados em amostras de LCR de crianças menores de 5 anos entre 2018 e 2023.....41

Figura 18. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* de acordo com o estado vacinal das crianças menores de 5 anos no HCB e HCN, entre 2018 e 2023.....42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Volume e concentração dos reagentes usados nas reacções de PCR.31

Tabela 2. Sequências dos primers e sondas para a triplex – PCR.31

Tabela 3. Condições térmicas para a o processo de PCR na identificação de *Streptococcus pneumoniae*.32

Tabela 4. Reacções de PCR para a detecção dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae*. ...33

Tabela 5. Características demográficas e clínicas dos participantes do estudo.....36

Tabela 6. Frequência de *Streptococcus pneumoniae* em crianças de acordo com idade e género no HCB e HCN entre 2018 e 2023.37

Tabela 7. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* identificados em crianças menores de 5 anos no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula entre 2018 e 2023.....38

Tabela 8. Sequências dos primers e sondas para Multiplex PCR dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae*.82

Tabela 9. Cálculos de multiplex PCR para serotipagem do *Streptococcus pneumoniae*.84

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

RESUMO

Introdução: A meningite pneumocócica é uma das principais causas de hospitalizações no mundo, contribuindo para elevadas taxas de mortalidade e sequelas a médio e longo prazo em crianças, o que mostra a necessidade da contínua implementação dos programas de imunização. Em Moçambique, a vacina pneumocócica conjugada 13-valente (PCV13), foi introduzida no Programa Alargado de Vacinação em Dezembro de 2017, sendo fundamental a realização de estudos para compreender o seu impacto.

Objectivo: Avaliar o perfil epidemiológico da meningite pneumocócica em crianças menores de 5 anos após a introdução da vacina pneumocócica conjugada 13-valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, entre 2018 e 2023.

Metodologia: Realizamos um estudo observacional, transversal retrospectivo usando dados do Sistema de Vigilância Nacional de Meningite colhidos entre Janeiro de 2018 e Setembro de 2023. As amostras de líquido cefalorraquidiano foram colhidas em crianças menores de 5 anos com suspeita de meningite no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula e testadas por reacção da polimerase em cadeia em tempo real para a identificação de *Streptococcus pneumoniae*. A determinação dos serotipos capsulares foi feita por reacção da polimerase em cadeia multiplex sequencial. A análise estatística consistiu no uso do software estatístico SPSS versão 20.0 (IBM, EUA).

Resultados: Um total de 2552 amostras de líquido cefalorraquidiano foram testadas, 2187 (85,7%) do Hospital Central de Nampula e 364 (14,3%) do Hospital Central da Beira. Do total das 2552 amostras incluídas no estudo, 121 (4,7%) foram positivas para *Streptococcus pneumoniae*, onde 69 (57%) amostras foram obtidas de pacientes do sexo masculino e 52 (43%) do sexo feminino. Um total de 76 (62,8%) amostras de líquido cefalorraquidiano foram elegíveis para a serotipagem tendo sido identificados os seguintes serotipos vacinais (vacina PCV13): 18C/18F/18B/18A (14; 18,4%), 19F (2; 2,6%), 9V/9A (1; 1,6%), 14 (1; 1,6%) e 1 (7; 9,2%); e serotipos não-vacinais: 15B/15C (21; 27,6%), 38 (9; 11,8%), 24F/24A/24B (3; 3,9%), 12F/12A/12B/44/46 (2; 2,6%), 8 (2; 2,6%), 16F, 22F/22A, 35B e 7C/7B2 (1; 1,3%), obtidos em maior proporção no Hospital Central de Nampula. Os serotipos 15B/15C e 18C/18F/18B/18A foram prevalentes em crianças de 0 a 11 meses no Hospital Central da Nampula e dos 24 á 59 meses no Hospital Central da Beira, principalmente entre 2020 e 2023. A cobertura da vacina PCV13 em relação aos serotipos identificados no Hospital Central de Nampula e Hospital Central da Beira entre 2018 e 2023 foi de 34,2%. Os serotipos não-vacinais 24F/24A/24B e 35B foram prevalentes em crianças com vacinação completa, contudo houve uma emergência e predominância do serotipo 15B/15C em crianças com a vacinação incompleta.

Conclusão: O estudo evidencia a redução da frequência de meningite pneumocócica em crianças menores de 5 anos de idade após a introdução da PCV13 no Hospital Central da Beira e o Hospital Central de Nampula. Entretanto, há emergência de serotipos não-vacinais, sugerindo a vigilância contínua dos serotipos de meningite pneumocócica e a necessidade de novos métodos de prevenção da meningite pneumocócica no país.

Palavras-chave: Epidemiologia, meningite pneumocócica, crianças menores de 5 anos de idade, PCV13, serotipos, Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

ABSTRACT

Introduction: Pneumococcal meningitis is the main cause of hospitalisation globally, that contribute to an increasing of mortality rates and sequelae in the medium- and long-term of paediatric populations. This underscores the continued necessity for the implementation of effective immunisation programmes. In Mozambique, the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) was introduced into the Expanded Vaccination Programme in December 2017. However, further studies are essential to fully comprehend its impact.

Objective: To evaluate the epidemiological profile of pneumococcal meningitis in children under 5 after the introduction of PCV13 at Beira Central Hospital and Nampula Central Hospital between 2018 and 2023.

Methods: We conducted a retrospective cross-sectional observational study using data from the National Meningitis Surveillance System collected between January 2018 and September 2023. Cerebrospinal fluid (CSF) samples were collected from children under the age of 5 with suspected meningitis at Beira Central Hospital and Nampula Central Hospital and tested by real-time polymerase chain reaction (PCR) for the identification of *Streptococcus pneumoniae*. The capsular serotypes were determined by multiplex sequential PCR. Statistical analysis consisted of using SPSS statistical software version 20.0 (IBM, USA).

Results: A total of 2552 cerebrospinal fluid samples were tested, 2187 (85.7%) from Nampula Central Hospital and 364 (14.3%) from Beira Central Hospital. Of the total of 2552 samples included in the study, 121 (4.7%) were positive for *Streptococcus pneumoniae*, where 69 (57%) samples were obtained from male patients and 52 (43%) from females. A total of 76 (62.8%) cerebrospinal fluid samples were eligible for serotyping and the following vaccine serotypes (PCV13 vaccine) were identified: 18C/18F/18B/18A (14; 18.4%), 19F (2; 2.6%), 9V/9A (1; 1.6%), 14 (1; 1.6%) and 1 (7; 9.2%); and non-vaccine serotypes: 15B/15C (21; 27.6%), 38 (9; 11.8%), 24F/24A/24B (3; 3.9%), 12F/12A/12B/44/46 (2; 2.6%), 8 (2; 2.6%), 16F, 22F/22A, 35B and 7C/7B2 (1; 1.3%), obtained in greater proportion at Nampula Central Hospital. Serotypes 15B/15C and 18C/18F/18B/18A were prevalent in children aged 0 to 11 months at Nampula Central Hospital and 24 to 59 months at Beira Central Hospital, mainly between 2020 and 2023. PCV13 vaccine coverage in relation to the serotypes identified at Nampula Central Hospital and Beira Central Hospital between 2018 and 2023 was 34.2 per cent. Non-vaccine serotypes 24F/24A/24B and 35B were prevalent in children with complete vaccination, however there was an emergence and predominance of serotype 15B/15C in children with incomplete vaccination.

Conclusion: The study shows a reduction of the frequency of pneumococcal meningitis in children under five years of age following the introduction of PCV13 vaccine at Beira Central Hospital and Nampula Central Hospital. However, non-vaccine serotypes have emerged, indicating the necessity for continuous surveillance of pneumococcal meningitis serotypes and the development of new pneumococcal meningitis prevention methods in the country.

Keywords: Epidemiology, pneumococcal meningitis, children under five years of age, PCV13, serotypes, Beira Central Hospital and Nampula Central Hospital.

**Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a
Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da
Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.**

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

BHE	Barreira hematoencefálica
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (Centros de Controle e Prevenção de Doenças)
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CISM	Centro de Investigação em Saúde da Manhica
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> (Instituto de Padrões Clínicas e Laboratoriais)
CPS	<i>Capsular Polysaccharide</i> (Cápsula polisacarídica)
DAMPs	<i>Damage-Associated Molecular Pattern Signallings</i> (Padrões moleculares associados ao dano)
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DNTP	Deoxirribonucleotídeo trifosfato
DP	Doença pneumocócica
DPI	Doença pneumococia invasiva
dTTP	Deoxitimidina trifosfato
HCB	Hospital Central da Beira
HCN	Hospital Central de Nampula
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
LCR	Líquido cefalorraquidiano
INE	Instituto Nacional de Estatística
INS	Instituto Nacional de Saúde
<i>lytA</i>	Gene da autolisina
MBA	Meningite bacteriana aguda

**Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a
Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da
Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.**

MISAU	Ministério da Saúde
NT	Não-tipificável
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAV	Programa Alargado de Vacinação
PAMP	<i>Pathogen Associated Molecular Pattern</i> (Padrões Moleculares Associados a Patógenos)
PBP	<i>Penicillin-binding proteins</i> (Proteínas Ligadoras de Penicilina)
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i> (Reacção de Cadeia da Polimerase)
PCV	Vacina pneumocócica conjugada
PCV-7	Vacina pneumocócica conjugada 7-valente
PCV-10	Vacina pneumocócica conjugada 10-valente
PCV-13	Vacina pneumocócica conjugada 13-valente
PPSV23	Vacina pneumocócica de polissacarídeo 23-valente
PL	Punção lombar
qPCR	<i>Quantitative polymerase chain reaction</i> (Reacção de Cadeia da Polimerase em Tempo Real)
SNC	Sistema nervoso central

Unidades

µg	Micrograma
M	Molar
mg	Miligramas
ml	Mililitro
mm	Milímetros
µL	Microlitro
µM	Micromolar

1 Introdução

A meningite pneumocócica é uma infecção fatal do sistema nervoso central (SNC) causada pela bactéria *Streptococcus pneumoniae*, resultando na inflamação das três camadas (meninges) que recobrem o cérebro e a medula espinhal (Najmadden *et al.*, 2024). Acomete principalmente crianças e constitui um grave problema de saúde pública em todo o mundo, especialmente em países de baixa e média renda devido a diversos factores, tais como: altas taxas de morbimortalidade, potencial endémico, gastos vultuosos no tratamento e a frequência de sequelas neurológicas (Wright *et al.*, 2021; Da Silva *et al.*, 2024).

Estima-se que, em 2019, cerca de 1.28 milhão de casos novos de meningite ocorreram em crianças <5 anos globalmente, resultando em aproximadamente 112 mil mortes, sendo a maior proporção atribuída ao *S. pneumoniae* compreendendo 17.3% do total de mortes (Wunrow *et al.*, 2023). Além disso, a doença deixa 1 em cada 5 crianças com incapacidades de longa duração, como, perda de audição, visão e deficiência cognitiva. Esses factores reflectem em elevados danos sociais e financeiros à saúde pública mundial (WHO, 2021).

Na África Subsaariana, a meningite bacteriana resultou em cerca de 743 mil casos incidentes e crianças <5 anos e mais de 79 mil mortes em 2019, correspondendo a 50% dos casos de meningite em menores de 5 anos em todo o mundo. Desses casos, estima-se que 13% estavam associados a meningite causada por *S. pneumoniae* (Wunrow *et al.*, 2023). Os mesmos autores reportaram uma incidência de 297 por 100.000 habitantes e uma taxa de mortalidade estimada em 1.230 em crianças <5 anos em Moçambique. A taxa de letalidade varia de 5 a 50%, sendo que as sequelas neurológicas ocorrem em até 50% dos sobreviventes. No entanto, a dinâmica temporal da meningite pneumocócica, incluindo a sazonalidade e as tendências seculares, são pouco caracterizadas em muitas partes do mundo (Paireau *et al.*, 2016).

O *S. pneumoniae* ou pneumococo é uma bactéria gram-positiva, extracelular e oportunista que coloniza as superfícies mucosas do tracto respiratório superior humano assintomaticamente, no entanto, pode migrar para tecidos e órgãos estéreis e causar infecções invasivas como a meningite (Weiser *et al.*, 2018).

A meningite é uma doença com rápido início e tem sua etiologia baseada na faixa etária e porta de entrada do agente, sendo frequente a espécie bacteriana, *Streptococcus pneumoniae*, transmitida por secreções da nasofaríngea (Lorton *et al.*, 2018; Fernandez & Sakurada, 2023).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

A transmissão, colonização e invasão dependem da notável capacidade do *S. pneumoniae* de escapar da resposta imune do hospedeiro (Weiser *et al.*, 2018). O pneumococo pode atingir o líquido cefalorraquidiano (LCR) através da disseminação hematogénica por dois mecanismos principais: 1) infectando células imunes, que por sua vez levam o patógeno para o sistema nervoso, e 2) atravessando capilares sanguíneos e entrando no LCR como patógenos livres podendo causar um dano tecidual causado quando a susceptibilidade genética do hospedeiro é explorada pela virulência bacteriana (Hersi *et al.*, 2024).

As manifestações clínicas da meningite variam com base nos factores como idade, duração da doença e agente causador. Os principais sinais e sintomas da meningite incluem a febre, hipotermia, abaulamento de fontanelas, convulsões, rigidez da nuca, dor lombar, dispneia, surgimento de erupções maculopapulares e perda de consciência (Da Silva *et al.*, 2024). Os sinais e sintomas tem baixa sensibilidade no diagnóstico da meningite, sendo importante o diagnóstico laboratorial realizado através das análises citológicas, bioquímicas, microbiológicas, serológicas e moleculares do LCR (Wang *et al.*, 2024).

O diagnóstico para identificar a meningite pneumocócica, consiste basicamente na cultura bacteriana (padrão-ouro), entretanto, apresenta uma baixa sensibilidade devido ao uso de antibióticos antes da punção lombar (PL), bem como à baixa quantidade e qualidade do LCR, que podem contribuir para subestimar a incidência da meningite (Ali *et al.*, 2021).

A identificação de base molecular é vital para a confirmação de patógenos em amostras biológicas devido a sua alta sensibilidade e especificidade na detecção do patógeno, podendo ser utilizadas directamente em espécimes clínicos, possibilitando a detecção dos mesmos na ausência do patógeno viável da cultura (Rios, 2014; Da Silva *et al.*, 2024). A detecção do pneumococo, normalmente é baseada na detecção o molecular do gene *lytA*, expresso naturalmente em todos isolados de pneumococos (Rios, 2014). O gene *lytA* codifica a enzima peptidase de mureína que desempenha um papel crucial na degradação da parede celular do *S. pneumoniae*, liberando conteúdo celular que pode ser detectado em testes laboratoriais. A proteína *lytA* é imunogénica e altamente conservada entre as estirpes de *S. pneumoniae* e não é observada entre outras espécies do género *Streptococcus* (Afshar *et al.*, 2020).

A serotipagem (identificação de serotipos) é feita através da cápsula e tem como padrão-ouro a reacção de Quellung, entretanto os reagentes são dispendiosos, exige o isolado viável e necessita de técnicos altamente qualificados (Rios, 2014). A cápsula é uma característica fundamental do

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

S. pneumoniae e desempenha um papel importante na virulência, pois, é composta por uma variedade de estruturas polisacarídicas que ajudam as bactérias a escapar do sistema imunológico do hospedeiro. Existem pelo menos 100 serotipos identificados com base nas estruturas de polissacarídeos capsulares (CPS) (Akkoyunlu, 2024).

A triagem precoce de patógenos com tratamento relevante pode prevenir a taxa de letalidade e complicações neurológicas (Ali *et al.*, 2021). A etiologia correcta da meningite é fundamental para melhorar a clínica do paciente, reduzindo o uso desnecessário de antibióticos, resultando em situações clínicas que podem estender o tempo de internamento hospitalar (Felix *et al.*, 2024).

O tratamento da meningite inicialmente é empírico, baseado na epidemiologia dos microrganismos mais frequentes em cada faixa etária e nos padrões locais de resistência (Wibbert, 2019). Para tratar a meningite, são usados antibióticos de diferentes classes como β -lactâmicos (penicilina, cefotaxima e imipenem), macrolídeos (eritromicina e azitromicina) e quinolonas (levofloxacina) (Huang *et al.*, 2022). Embora os métodos gerais de tratamento sejam eficazes, o tratamento antimicrobiano pode ficar comprometido à medida que o microrganismo desenvolve resistência aos antimicrobianos comumente usados (Li *et al.*, 2023).

Nos últimos 30 anos, avanços consideráveis foram feitos sobre a gestão epidémica e controlo de doenças por meio da vacinação e da compreensão das contribuições do hospedeiro e do patógeno para os desfechos clínicos (Wall *et al.*, 2021). Embora os programas de vacinação tenham sido implementados em muitos países e tenham tido um impacto considerável na doença (Paireau *et al.*, 2016; Skar *et al.*, 2024).

A epidemiologia global da meningite é altamente dinâmica, as mudanças nos últimos 25 anos em crianças foram influenciadas pelo uso generalizado de vacinas. A vacinação continua sendo o pilar mais importante do roteiro liderado pela OMS para controlar a meningite até 2030 (Wall *et al.*, 2021).

Diante desse contexto, a realização do presente estudo visa compreender a epidemiologia da meningite pneumocócica em Moçambique após a introdução da PCV13 em crianças menores de 5 anos, através do monitoramento periódico dos serotipos entre 2018 e 2023.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

1.1 Problema

A incidência das doenças pneumocócicas (DP) é alta em Moçambique, tendo sido registados 416 episódios por 100.000 crianças <5 anos com doenças pneumocócicas invasivas em 2009, mostrando a necessidade da contínua imunização (Morais, 2012). Em 2012, um estudo realizado no Hospital Distrital da Manhica (HDM), relatou uma frequência de 7% de casos de meningite por *S. pneumoniae* (Sigauque *et al.*, 2018). Entre 2013 e 2014, um estudo em três Hospitais quaternários do país, nomeadamente os Hospitais Centrais de Maputo, Beira e Nampula, relatou uma frequência de 32,8% de casos de meningite por *S. pneumoniae* e identificou alguns serotipos não-vacinais após a introdução da vacina pneumocócica 10 valente (PCV10), como os serotipos 12 e 15B/15C não cobertos pela PCV13 (Nhantumbo *et al.*, 2016).

As PCVs são altamente eficazes na prevenção da meningite pneumocócica causada pelos diferentes serotipos, incluindo 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F e 23F. Entretanto, a imunização resulta em uma mudança epidemiológica de serotipos, através da redução de serotipos vacinais e aumento na frequência dos serotipos não-vacinais, e alguns desses são associados a multirresistência (Chang *et al.*, 2021). Por outro lado, a introdução de vacinas requer um maior investimento financeiro, que é parcialmente compensado pela economia de custos de saúde com a redução da doença (Chen *et al.*, 2018). Entretanto, as doenças pneumocócicas estão associadas a custos económicos substanciais anuais do sistema de saúde de cerca de US\$ 13,7 bilhões e custos sociais de US\$ 14,3 bilhões globalmente (Li *et al.*, 2023).

A elevada incidência da meningite em Moçambique, associada ao acesso limitado aos serviços de saúde e barreiras ao tratamento adequado, fazem da vacinação contra a meningite uma prioridade.

A vacina PCV10 foi introduzida no Programa Nacional de Imunização em 2013 e abrangia 10 serotipos (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5 e 7F) em Moçambique, sendo posteriormente substituída em Dezembro de 2017 no norte do país, pela vacina PCV13, que contém 3 serotipos adicionais (PCV10+3, 6A e 19A) (Pires & Araújo, 2018).

1.2 Questão de pesquisa

Qual é o perfil epidemiológico da meningite pneumocócica após a introdução da PCV13 em crianças menores de 5 anos no HCB e HCN entre 2018 e 2023?

1.3 Justificativa

A meningite pneumocócica continua sendo uma das causas de morbimortalidade em crianças a nível mundial, sendo crítica na África subsariana devido à sua magnitude, gravidade e patogenicidade, além de resultar em consequências a curto e longo prazo que pode culminar com danos irreversíveis no sistema nervoso central ou a óbito (Hadley *et al.*, 2024). Por esta razão, a OMS tem vindo a desenvolver políticas para a redução da mortalidade infantil através do uso das vacinas (Skar *et al.*, 2024).

Em Moçambique, embora a vacinação e o tratamento antimicrobiano tenham impacto significativo, a frequência da meningite por *S. pneumoniae* continua sendo preocupante (Nhantumbo *et al.*, 2016). Devido à escassez de relatos sobre a epidemiologia da meningite pneumocócica após a introdução da PCV13 em Moçambique, há necessidade de compreender o seu perfil epidemiológico. Adicionalmente, o presente estudo traz evidências científicas sobre a epidemiologia da meningite pneumocócica através da identificação de mudanças temporais dos serotipos, o que permite a verificação da efectividade das políticas de saúde referentes à prevenção da meningite por *S. pneumoniae*, assim como promover acções em benefício dos grupos mais vulneráveis como crianças, com novas formulações ou alterações das vacinas actuais (Wall *et al.*, 2021).

2 Objectivos

2.1 Objectivo geral

Avaliar o perfil epidemiológico da meningite pneumocócica em crianças menores de 5 anos após a introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e no Hospital Central de Nampula, 2018 – 2023.

2.2 Objectivos específicos

- Descrever as características demográficas e clínicas de crianças menores de 5 anos de idade com suspeita de meningite;
- Identificar o *S. pneumoniae* em amostras de líquido cefalorraquidiano em crianças menores de 5 anos de idade;
- Determinar os serotipos de *S. pneumoniae* causadores da meningite em crianças menores de 5 anos de idade;
- Caracterizar a distribuição dos serotipos de *S. pneumoniae* de acordo com faixas etárias, tempo (ano) e estado vacinal em crianças menores de 5 anos de idade.

3 Revisão da literatura

3.1 Características biológicas do *Streptococcus pneumoniae*

O *S. pneumoniae* foi isolado pela primeira vez da saliva de um paciente com raiva em 1881 por Louis Pasteur e a associação entre a pneumonia lobar, sendo reportada por Friedlander e Talamon em 1883 (Brooks & Mias, 2018; Dion & Ashurst, 2022). Entre 1915 e 1945, foi descrita a estrutura química e a antigenicidade do polissacarídeo capsular pneumocócico, a sua associação com a virulência e o papel dos polissacáridos bacterianos na doença humana (Gierke *et al.*, 2021).

A espécie *S. pneumoniae* é constituída por cocos gram-positivos que se dispõem aos pares ou em cadeias curtas (Gierke *et al.*, 2021). Quando se apresentam aos pares, as bordas adjacentes são achatadas e as externas lanceoladas (Weiser *et al.*, 2018). Os pneumococos são anaeróbios facultativos, catálase negativa e crescem em ágar sangue (Dion & Ashurst, 2022) (Figura 1).

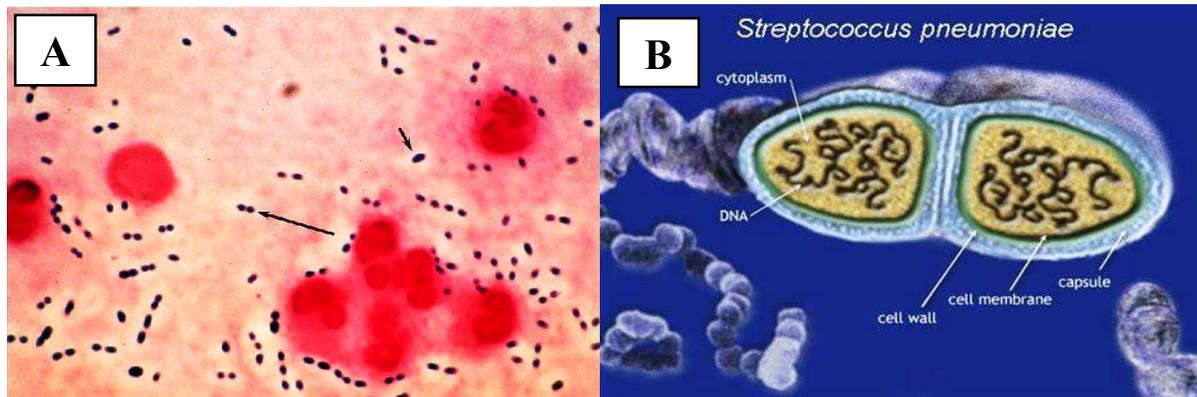


Figura 1. Morfologia do *Streptococcus pneumoniae* ao microscópio, mostrando diplococos gram positivos lanceolados (A) e sua estrutura interna (B).

Fonte: Roiz, (2018).

A maioria dos pneumococos são encapsulados e as suas superfícies são compostas por polissacáridos complexos determinantes da sua patogenicidade, também antigénicos formam a base para classificar pneumococo por serotipos (Gierke *et al.*, 2021). O *S. pneumoniae* coloniza a nasofaringe do hospedeiro assintomaticamente, mas pode migrar para tecidos e órgãos estéreis e causar infecções como a meningite, pneumonia e bacteriemia sendo responsável pela maioria dos casos em crianças, mesmo em regiões com altas taxas de cobertura vacinal (Weiser *et al.*,

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

2018; Gil *et al.*, 2023) (Figura 2). Estima-se que 40% a 50% de crianças saudáveis e 20%-30% dos adultos saudáveis são portadores de *S. pneumoniae* (Dion & Ashurst, 2022).

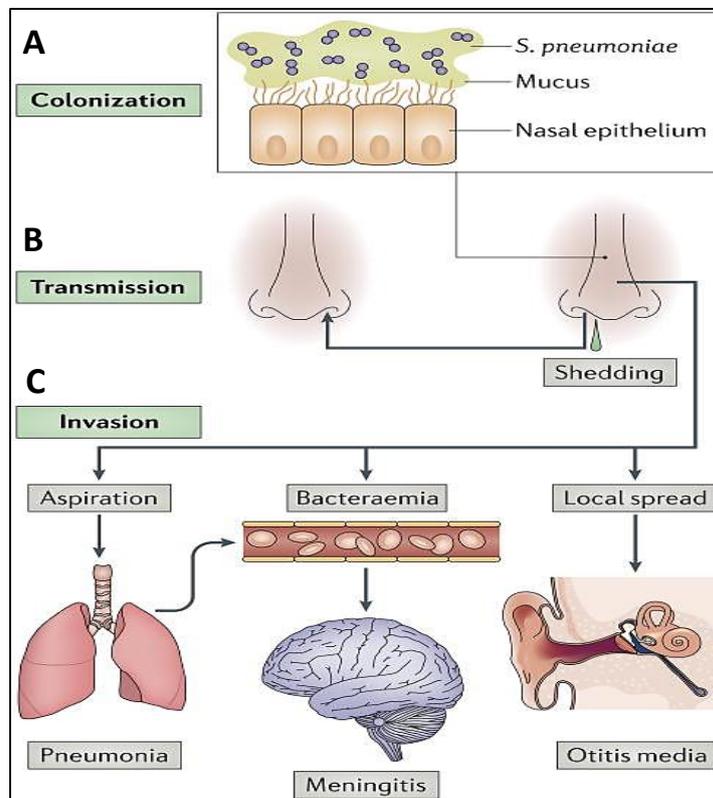


Figura 2. Patogênese do *Streptococcus pneumoniae* na meningite. O *S. pneumoniae* coloniza a mucosa do tracto respiratório superior (A). Os portadores da doença podem liberar *S. pneumoniae* nas suas secreções nasais e transmitir as outras pessoas (B). A disseminação além do seu nicho ao longo do epitélio nasal, seja por aspiração, bacteriemia ou disseminação local, pode levar a doenças invasivas, como pneumonia, meningite e otite média (C).

Fonte: Weiser *et al.*, (2018).

A colonização por *S. pneumoniae* começa nos primeiros meses de vida, sendo transmitida por contacto com secreções respiratórias de pacientes ou portadores (Weiser *et al.*, 2018; Chikhaoui *et al.*, 2022). O período de incubação varia de 2 a 10 dias, com média de 3 a 4 dias (Grando, 2013). Sua transmissão, colonização e invasão são facilitadas pela capacidade de escapar ou explorar as respostas inflamatórias e imunes do hospedeiro (Weiser *et al.*, 2018).

A incidência e gravidade das infecções também estão associadas a condições do hospedeiro, como presença de imunodeficiências congénitas ou adquiridas (HIV, insuficiência renal crónica, uso de medicamentos imunossupressores), deficiência funcional esplênica (anemia falciforme e outras hemoglobinopatias) ou resposta anormal do sistema imune inato (Hirose, 2014).

3.2 Factores de virulência do *Streptococcus pneumoniae*

O pneumococo possui vários factores de virulência, incluindo a cápsula polissacarídica, proteínas da superfície, proteínas excretadas e proteínas citoplasmáticas (Almeida, 2018). (Figura 3). Os factores de virulência definem o potencial de invasibilidade da bactéria, através de antígenos que constituem a cápsula e induzem a resposta imunológica e protecção contra a infecção pneumocócica, tornando-os potenciais alvos para o desenvolvimento de vacinas pneumocócicas (ex: cápsula) (Almeida, 2018).

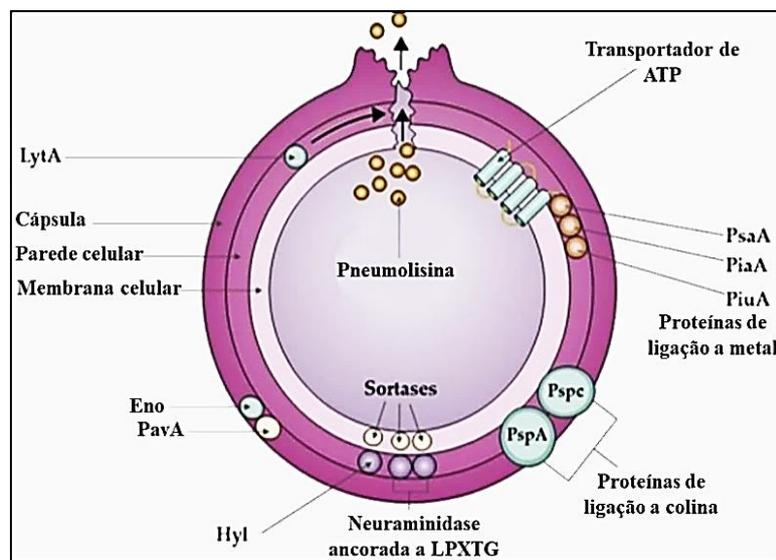


Figura 3. Factores de virulência de *Streptococcus pneumoniae*. Cápsula, proteínas de superfície A e C (*PspA* e *PspC*), neuroaminidase ancorada a LPXTG (Proteínas de superfície celular que contêm o motivo peptídico conservado- LPXTG), hialuronato liase, adesão e virulência pneumocócica A (*PavA*), enolase (*Eno*), pneumolisina, autolisina (*LytA*) e proteínas pneumocócicas de ligação a metal – antígeno de superfície A (*PsaA*), aquisição de ferro A (*PiaA*) e captação de ferro A (*PiuA*).

Fonte: Carvalho, (2022).

3.2.1 Cápsula polissacarídica

A cápsula de *S. pneumoniae* é crucial no desenvolvimento de vacinas pneumocócicas devido ao seu papel na virulência da bactéria e na capacidade da vacina de induzir a resposta imunológica eficaz (Chang *et al.*, 2021). Adicionalmente, a cápsula é descrita como um polímero de alto peso molecular, composto de subunidades oligossacarídicas repetitivas, cada uma contendo 2 a 8 moléculas (Alterthum *et al.*, 2018).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

A cápsula polissacarídica protege a célula bacteriana da fagocitose e é considerada principal factor de virulência, pois tem um papel importante na invasão e disseminação ao tracto respiratório (Alterthum *et al.*, 2018).

O *S. pneumoniae* pode apresentar dois fenótipos com relação à expressão da cápsula: opaco e transparente (Shainheit *et al.*, 2014).

O fenótipo opaco caracteriza-se pelo aumento da quantidade de cápsula, que promove a virulência na corrente sanguínea, devido a um aumento da resistência à opsonização e à fagocitose enquanto o fenótipo transparente, se caracteriza pela menor expressão de cápsula, expondo mais a parede celular, fosforilcolina e proteínas 4700 de superfície e, conseqüentemente, confere uma melhor ligação às células epiteliais e colonização do tracto respiratório superior (Shainheit *et al.*, 2014).

A cápsula de *S. pneumoniae*, devido à sua diversidade antigénica, é usada para identificar e diferenciar serotipos (Amoêdo, 2017). Quando sai do tracto respiratório superior, o pneumococo aumenta os níveis de polissacarídeo capsular, mascarando antígenos e evitando fagocitose e opsonização (Geno *et al.*, 2015). Após a colonização, se não eliminado pelo sistema imunológico, o pneumococo se espalha para as vias respiratórias inferiores e outros órgãos, tornando-se patogénico (Brooks & Mias, 2018).

A cápsula polissacarídica de *S. pneumoniae* inibe as vias: clássica e alternativa do complemento, reduzindo a opsonização e a interacção de imunoglobulinas e C3b/iC3b com receptores fagocíticos. Além disso, dificulta o aprisionamento em armadilhas extracelulares de neutrófilos e o reconhecimento de ligantes por receptores Toll-like, prejudicando a defesa antibacteriana mediada por MyD88 (Dion & Ashurst, 2022).

3.2.2 Proteínas da superfície

As proteínas pneumocócicas são diversificadas e incluem a proteína de superfície pneumocócica A (PspA), proteína de superfície pneumocócica B (PspB), proteína de ligação ao manganês A (PsaA), e proteína de adesão pneumocócica (PspC) (Dion & Ashurst, 2022). Auxiliam na evasão imune, aquisição de nutrientes e colonização do hospedeiro (Paton & Carlone, 2021).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

As outras proteínas que actuam na virulência de pneumococo, incluem a pneumolisina, proteína de superfície pneumocócica A e autolisina. A que permite a adesão do organismo às superfícies celulares desempenha um papel na inflamação no hospedeiro (Dion & Ashurst, 2022).

A proteína PspA, factor de virulência de *S. pneumoniae*, interfere no sistema complemento e na fagocitose. Por sua capacidade de induzir resposta imune protectora, é um alvo promissor para vacinas (Kauppinen *et al.*, 2021). A proteína de superfície pneumocócica B (PspB) tem uma função semelhante à PspA, ajudando na evasão do sistema imunológico. Ela também está envolvida na virulência e é um possível alvo para estratégias vacinais (Jerse *et al.*, 2022).

A proteína PsaA é fundamental para a adesão de *S. pneumoniae* às células hospedeiras, a captura de manganês é essencial para sua sobrevivência, e o estabelecimento da colonização e infecção (Barocchi *et al.*, 2023).

A proteína de adesão pneumocócica (PspC) é uma proteína que facilita a adesão do *S. pneumoniae* ao epitélio das vias respiratórias. Ela também está envolvida na interacção com o sistema imunológico e pode influenciar a virulência (Zhou *et al.*, 2024).

3.2.3 Proteínas excretadas

A secreção de proteínas pelas membranas de *S. pneumoniae* é essencial para a liberação de factores que ajudam na sua sobrevivência e crescimento em diversos ambientes (George *et al.*, 2024). As proteínas de superfície são secretadas e contribuem para a colonização da nasofaringe promovendo a adesão e modulando as respostas imunes (George *et al.*, 2024).

O *S. pneumoniae* secreta uma série de proteínas de adesão celular do hospedeiro, incluindo adesina A de superfície pneumocócica (PsaA), enolase (Eno), peptidoglicano-N-acetilglucosamina desacetilase (PgdA) e metaloprotease B de zinco (ZmpB). Essas proteínas têm sido implicadas na ligação de proteínas do hospedeiro, como E-caderina, plasmina e colágeno.

O *S. pneumoniae* utiliza proteínas secretadas e hidrolases da parede celular para inibir a fagocitose e a via clássica do complemento. Essas proteínas também favorecem a competência, a variação antigénica e a resistência a antibióticos (George *et al.*, 2024).

3.2.4 Proteínas citoplasmáticas

As proteínas citoplasmáticas desempenham papéis cruciais na virulência de *S. pneumoniae*. A autolisina é uma enzima que actua na lise das células bacterianas incluindo *S. pneumoniae*, quebrando as ligações glicosídicas na parede celular. O mecanismo da autolisina pode levar à liberação de componentes da parede celular, como ácidos teicóicos e pneumolisina, que contribuem para a inflamação e a disseminação da infecção (Gritzfeld & Briles, 2023).

A *LytA* é uma autolisina identificada como a primeira entre as três principais enzimas líticas (autolisina-*lytA*, pneumolisina-*ply* e N-acetilmuraminidase-*lytB*) em *S. pneumoniae*. Essa enzima desempenha um papel crucial na degradação do peptidoglicano da parede celular bacteriana, actuando especificamente na clivagem da ligação entre N-acetil-muramoil e L-alanina. Essa acção resulta na lise celular, liberando antígenos pneumocócicos, como pneumolisina, peptidoglicano e ácidos teicóicos, que podem ser prejudiciais às células do hospedeiro (Brooks & Mias, 2018).

A síntese de proteínas de virulência de *S. pneumoniae* causa danos às células hospedeiras e inibe a produção de citocinas, como a interleucina-12, prejudicando a activação dos fagócitos. Essa inibição ocorre devido à liberação de antígenos e à degradação das células bacterianas, reduzindo a eficácia da fagocitose (Brooks & Mias, 2018; Brady *et al.*, 2020).

O *S. pneumoniae* utiliza mecanismos de evasão imunológica para escapar da resposta do hospedeiro (Bakaletz *et al.*, 2018). Suas proteínas citoplasmáticas reduzem citocinas e dificultam a activação do sistema complemento. A *LytA*, além de promover a autólise, protege a bactéria da resposta imune, favorecendo sua sobrevivência e colonização (Brady *et al.*, 2020).

A pneumolisina, toxina de *S. pneumoniae*, causa lise celular formando poros nas membranas (Andrew & Wright, 2023). Ela contribui para a formação de biofilmes, interfere no sistema imunológico e age como pró-inflamatória, promovendo danos celulares e aumentando a produção de citocinas e quimiocinas inflamatórias (Brooks & Mias, 2018).

A sortase A é uma enzima que está envolvida na ancoragem de proteínas de superfície na parede celular. Embora seja uma proteína de ligação, a sortase A participa na construção e manutenção das estruturas de superfície sendo crucial para a adesão e colonização das células do hospedeiro. Adicionalmente, estas proteínas citoplasmáticas desempenham papéis diversos e críticos na virulência de *S. pneumoniae* (Clancy & O'Brien, 2022).

3.3. Patogénese do *Streptococcus pneumoniae*

A meningite pneumocócica é uma doença infecciosa e fatal do Sistema Nervoso Central (SNC) por *S. pneumoniae*, onde ocorre a inflamação das meninges, as três membranas que cobrem o cérebro e a medula espinal (Figura 4).

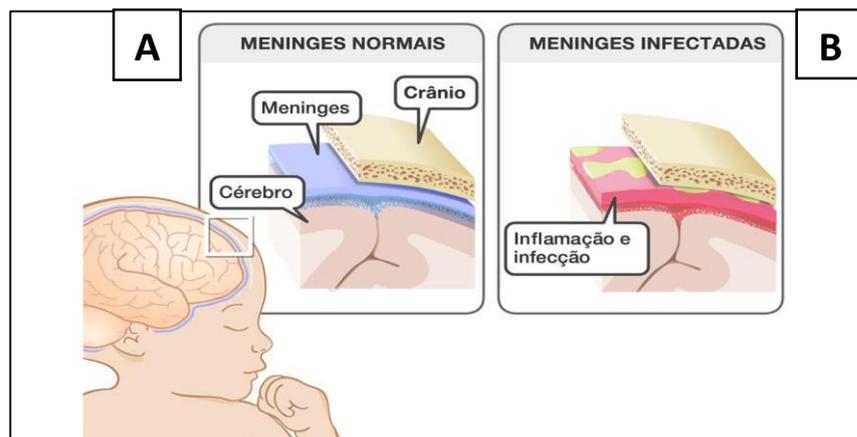


Figura 4. Secções transversais das meninges, evidenciando as alterações morfológicas. A) Meninges normais: a anatomia saudável das meninges, com coloração homogênea e bem definida, sem edema ou infiltração celular. B) Meninges inflamadas: mudanças patológicas resultantes de uma infecção, como meningite, causado pelo aumento da vascularização e infiltrados celulares (linfócitos e macrófagos).

Fonte: Adaptado de SickKids Staff, 2009 & Alves, (2021).

A patogénese das meningites bacterianas geralmente segue um padrão sequencial: colonização nasofaríngea, invasão sanguínea pela mucosa, circulação para o sistema nervoso central (SNC) e entrada subsequente no SNC (Weight *et al.*, 2019). Em alguns casos, a meningite bacteriana ocorre por invasão directa do SNC através da placa cribiforme (Wall *et al.*, 2021).

Em indivíduos imunocompetentes, a colonização da nasofaringe por *S. pneumoniae* é eliminada pela imunidade da mucosa, apesar da invasão epitelial (Aguilera & Lenz, 2020). A bacteriemia geralmente antecede a translocação do patógeno pela barreira hematoencefálica (BHE) e/ou barreira do líquido cefalorraquidiano para o SNC (Wall *et al.*, 2021). O *S. pneumoniae* entra no LCR através do espaço subaracnóide, da BHE e plexo úrinóide (Barichello *et al.*, 2019).

O *S. pneumoniae* multiplica-se e liberta compostos bacterianos altamente imunogénicos, e os receptores reconhecem estes componentes bacterianos, levando à activação da resposta imune do hospedeiro, e aumento da gravidade da doença (Giridharan *et al.*, 2021). Esta defesa é garantida pela complexidade da BHE, onde pericitos, astrócitos, microglia e células endoteliais

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

especializadas trabalham em sinergismo para resistir à invasão de patógenos e matar bactérias na entrada (Rustenhoven & Kipnis, 2019) (Figura 5).

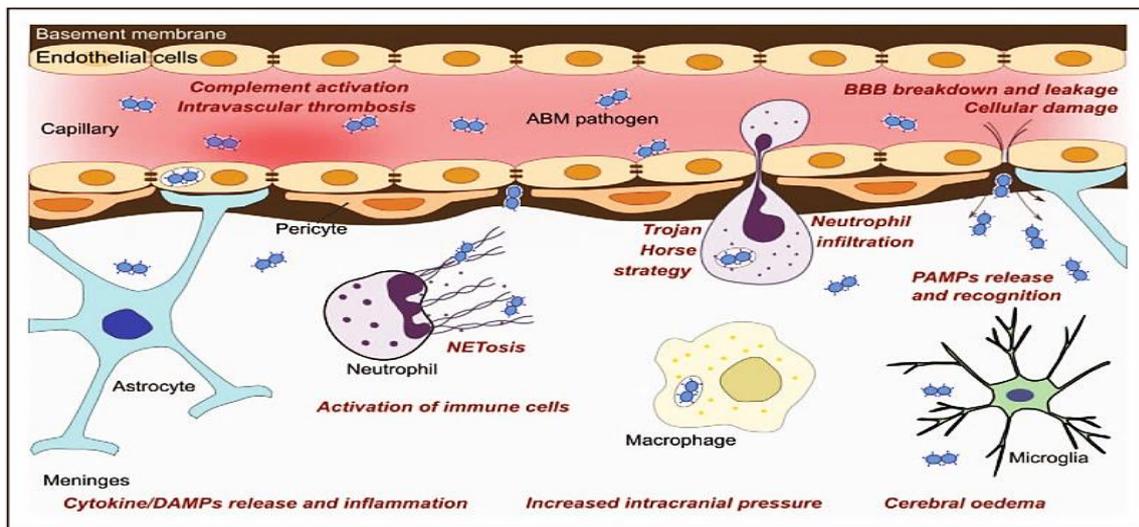


Figura 5. Barreira hematoencefálica durante a meningite bacteriana aguda. A figura mostra estirpes de *S. pneumoniae* (diplococos Gram positivos) na corrente sanguínea, atravessando o endotélio capilar por vias transcelular e paracelular, e sendo transportadas pela BHE por fagócitos infiltrados. O reconhecimento do patógeno por PAMPs activa macrófagos, micróglia, astrócitos e pericitos, que produzem DAMPs e geram uma resposta inflamatória para combater as bactérias, recrutando neutrófilos. Embora essa resposta ajude a eliminar as bactérias, também activa processos de fibrinólise e coagulação, resultando em danos teciduais, quebra da BHE e vazamento, o que pode causar morte ou sequelas neurológicas nos sobreviventes.

Fonte: Wall *et al.*, (2021).

As bactérias rompem a barreira hematoencefálica (BHE) ao interagir com receptores de laminina e usar vias endocíticas, como a sinalização de receptores de factor activador de plaquetas (Anil & Banerjee, 2020). Contudo, os mecanismos exactos que permitem às bactérias causadoras de meningite subverter as barreiras do SNC não são totalmente compreendidos (Wall *et al.*, 2021).

No processo inflamatório, *S. pneumoniae* se replica rapidamente no SNC, liberando *Pathogen Associated Molecular Pattern* (PAMPs) que se ligam a receptores toll-like (TLR 2, 3, 4 e 9). Isso desencadeia a liberação de *Damage-Associated Molecular Pattern Signallings* (DAMPs) via o factor nuclear Kappa, intensificando a resposta inflamatória (Káňová *et al.*, 2019).

A liberação de citocinas e quimiocinas atrai neutrófilos para o LCR, ajudando na eliminação bacteriana, mas também pode causar danos ao SNC e aumentar a inflamação (Yau *et al.*, 2018; Mohanty *et al.*, 2019).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

3.4. Epidemiologia da meningite pneumocócica

A meningite pneumocócica é uma grave preocupação de saúde pública global, com altas taxas de mortalidade, especialmente no cinturão da meningite (Chikhaoui *et al.*, 2022). A taxa de mortalidade varia entre 10 e 40% e uma alta taxa de sequelas neurológicas (30 a 55%) dos sobreviventes (Giridharan *et al.*, 2021). As sequelas frequentemente relatadas são; défices neurológicos, perda auditiva, deficiência cognitiva e epilepsia (Barichello *et al.*, 2019).

De acordo com a OMS, do total de 5,83 milhões de mortes globais ocorridas entre crianças <5 anos em 2015, 294 mil foram causadas por infecções pneumocócicas, com a maioria destas mortes a ocorrer em África e no Sudeste Asiático (Wahl *et al.*, 2018). Em relação à morbidade, foram registados 3,7 milhões de episódios de infecções pneumocócicas graves em 2015, enquanto 630 mil casos de pacientes com deficiência por meningite pneumocócica foram registados em 2016 (Wahl *et al.*, 2018; Chikhaoui *et al.*, 2022).

A maior carga de meningite ocorre na África subsaariana, com metade dos 2,8 milhões de casos estimados e 58% das 318.400 mortes são estimadas anualmente (Figura 6). Até um quarto dos sobreviventes de meningite bacteriana pode ficar com sequelas, incluindo comprometimento cognitivo, paralisia e perda auditiva sendo que crianças menores de 5 anos são maioritariamente afectadas (Kwambana-Adams *et al.*, 2020).

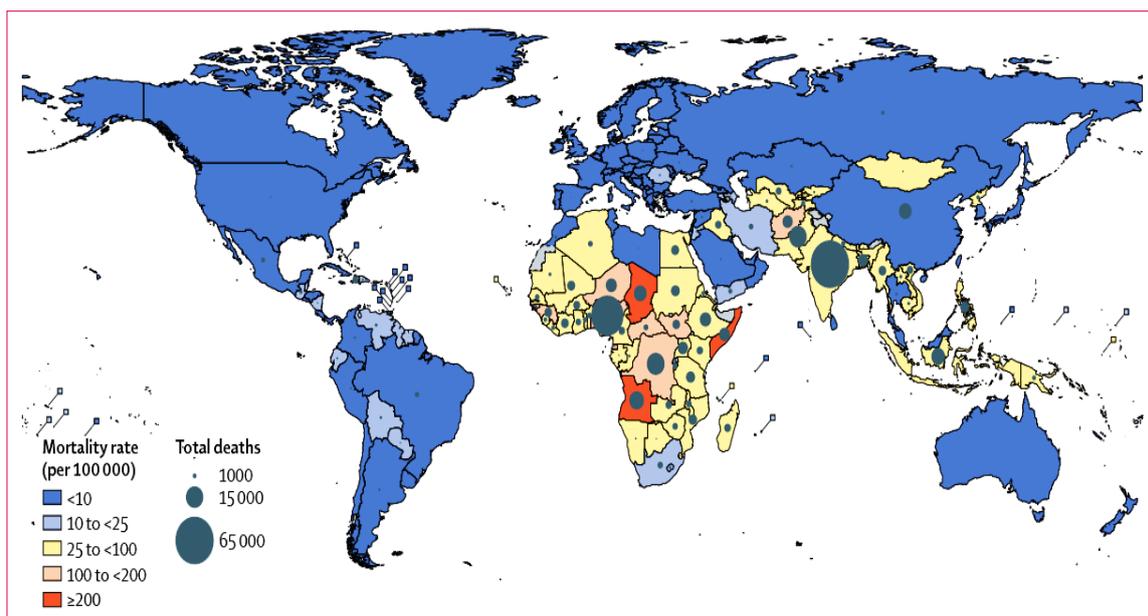


Figura 6. Taxas de mortes atribuíveis ao *Streptococcus pneumoniae* em 2015 no Mundo.

Fonte: Wahl *et al.*, (2018).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

Na África Subsaariana, a incidência de meningite em crianças é de 21 casos por 100.000 habitantes, com mortalidade de até 90% em casos graves (Hadley *et al.*, 2024). A PCV13 foi adoptada em 23 dos 26 países da região, mas surtos de *S. pneumoniae* continuam, como mostrado por nove surtos de meningite pneumocócica entre 2000 e 2018 (Hadley *et al.*, 2024). A mortalidade por meningite neonatal é maior em países em desenvolvimento (40-58%) em comparação com países desenvolvidos (10%) (Barichello *et al.*, 2023).

Em Moçambique, tal como nos outros países de baixa e média renda, a incidência das doenças pneumocócicas é alta, tendo sido registados 416 episódios por 100.000 crianças <5 anos com doenças pneumocócicas invasivas em 2009, mostrando a necessidade da contínua imunização (Morais, 2012). Em 2012, um estudo realizado no Hospital Distrital da Manhiça (HDM), relatou uma frequência de 7% de casos de meningite pneumocócica (Sigauque *et al.*, 2018). Entre 2013 e 2014, em Moçambique reportou-se uma frequência de 32,8% de casos de meningite pneumocócica, após a introdução da PCV10 (Nhantumbo *et al.*, 2016).

A OMS recomenda a inclusão das vacinas PCVs nos programas de imunização de rotina, especialmente em países com alta mortalidade infantil e prevalência de HIV, para prevenir doenças pneumocócicas, como a meningite (Sigauque *et al.*, 2018). A introdução das vacinas PCVs reduziu infecções por serotipos vacinais e resistentes, mas aumentou as infecções por serotipos não-vacinais (Chikhaoui *et al.*, 2022).

3.5. Resistência antimicrobiana

A resistência antimicrobiana de *S. pneumoniae* é uma preocupação global crescente, com taxas alarmantes e custos projectados de até US\$ 1 trilhão até 2050 (Oh *et al.*, 2021). A disseminação global de novos mecanismos de resistência representa um desafio significativo para o tratamento efectivo das doenças infecciosas (Zahari *et al.*, 2023). A resistência crescente aos antibióticos dificulta o tratamento da meningite, agravada pela venda livre de medicamentos para humanos e animais, o que acelera o surgimento e a disseminação dessa resistência (Zahari *et al.*, 2023).

A resistência de *S. pneumoniae* à penicilina levou o aumento do uso ampliado de cefalosporinas, macrolídeos, fluoroquinolonas e vancomicina no tratamento (Cardoso, 2018). As cefalosporinas de terceira geração são amplamente utilizadas para combater estirpes resistentes à penicilina,

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

mas seu uso crescente tem gerado preocupações sobre o desenvolvimento de resistência cruzada com outros antibióticos, limitando opções para infecções futuras. Por outro lado, os macrolídeos, como a azitromicina, têm sido empregados devido à sua eficácia contra estirpes resistentes à penicilina (Cillóniz *et al.*, 2018).

3.6. Diagnóstico laboratorial

A abordagem clássica para o diagnóstico da meningite pneumocócica é a cultura em meios enriquecidos, tais como, ágar sangue e ágar chocolate. Para a identificação de *S. pneumoniae* em laboratório, são utilizadas algumas características fenotípicas, nomeadamente: morfologia da colónia, α -hemólise em ágar 5% sangue, susceptibilidade à optoquina, solubilidade ao desoxicolato de sódio (bile-solubilidade), uma reacção positiva a anticorpos contra os polissacarídeos capsulares (reacção de Quellung) e a detecção molecular (Cardoso, 2018).

3.6.1. Exame microscópico do líquido cefalorraquidiano

Em casos de suspeita de infecção, a cultura deve ser sempre precedida do exame microscópico de esfregaços corados pelo gram, etapa crucial na identificação de *S. pneumoniae*. Durante o exame microscópico, a amostra é corada com corantes específicos, como cristal violeta e safranina (Van de Beek *et al.*, 2022). Os diplococos gram-positivos, em forma de pares esféricos roxos no microscópio, são indicativos de infecção por *S. pneumoniae*, ajudando na detecção rápida e fornecendo informações sobre a morfologia e estrutura celular da bactéria. (Van de Beek *et al.*, 2022) (Figura 7).

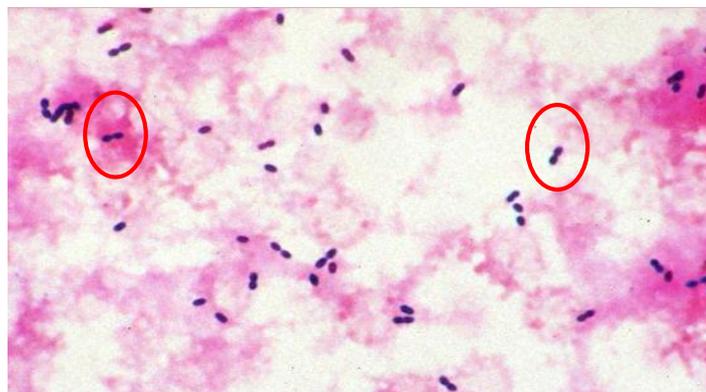


Figura 7. Morfologia de *Streptococcus pneumoniae* ao microscópio corado pelo método de gram da amostra de LCR.

Fonte: Jaffri *et al.*, (2019).

3.6.2. Cultura e isolamento de *Streptococcus pneumoniae*

A cultura de *S. pneumoniae* em ágar sangue é caracterizada pelo isolamento das colónias, que são pequenas, arredondadas e podem apresentar alfa-hemólise (halo esverdeado) (Figura 8). Embora tenha baixa sensibilidade, é considerada o padrão-ouro para o diagnóstico da meningite pneumocócica, pois fornece dados sobre a susceptibilidade aos antibióticos. No entanto, devido à esterilização das amostras de LCR com antibióticos antes da colheita, apenas 22% dos casos de meningite pneumocócica são detectados por cultura (Nhantumbo, 2014; Cardoso, 2018).



Figura 8. Crescimento de colónias de *Streptococcus pneumoniae*, opacas com α -hemólise (cor esverdeada) ao seu redor em ágar sangue.

Fonte: Alterthum *et al.*, (2018).

3.6.3. Teste de bile solubilidade

A identificação de *S. pneumoniae* é realizada por testes bioquímicos, destacando-se a sensibilidade aos sais biliares, como o desoxicolato, que activa autolisinas e causa lise celular. Esse teste é fundamental para diferenciar *S. pneumoniae* de outras espécies estreptocócicas (Cardoso, 2018) (Figura 9).



Figura 9. Teste de bile solubilidade de *Streptococcus pneumoniae*. No tubo A está presente um tubo turvo indicando o teste negativo e no tubo B, a solução está translúcida reflectindo a ocorrência de lise celular que indica teste positivo.

Fonte: Adaptado de Santos *et al.*, (2022).

3.6.4. Reacção de Quellung

A reacção de Quellung é o método padrão-ouro para determinar os tipos capsulares de *S. pneumoniae*, baseando-se na interacção entre os antígenos capsulares e anti-soros específicos, tornando a cápsula visível (Figura 10). Alguns isolados podem apresentar resultados negativos e são chamados de não-tipáveis, geralmente porque não possuem cápsula, ou seja, são desprovidos de encapsulamento (Jia *et al.*, 2022).

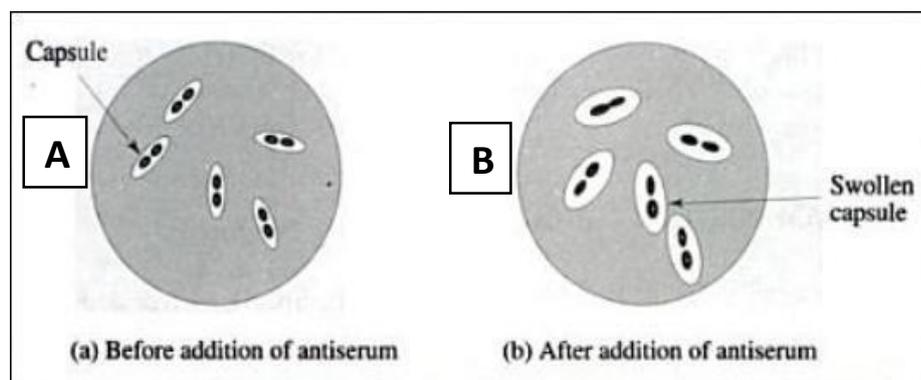


Figura 10. Identificação dos serotipos capsulares de *Streptococcus pneumoniae* visualizados na reacção de Quellung. Cápsula do pneumococo antes da adição de anti-soros (A), estrutura da parede celular após a adição de anti-soros causando um aumento do volume da cápsula (B).

Fonte: Alterthum *et al.*, (2018).

3.6.5. Reacção em cadeia da polimerase em tempo real

O método recomendado pela OMS para a detecção de pneumococos é a reacção em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR, do inglês *quantitative polymerase chain reaction*) para o gene *lytA* desenvolvido pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), em Atlanta, EUA (Simões *et al.*, 2016; Cardoso, 2018). A qPCR é uma técnica importante no diagnóstico da meningite e na vigilância epidemiológica das características dos pneumococos não cultiváveis (Silva-Costa *et al.*, 2018).

As técnicas moleculares apresentam um rendimento maior em relação a cultura de LCR (8%), e uma das razões relacionadas ao baixo rendimento pode ser o tratamento prévio com drogas antimicrobianas. Embora os ensaios baseados em PCR para a detecção directa de pneumococos a partir de amostras clínicas tenham limitações, eles também oferecem várias vantagens, como rapidez, alta sensibilidade e independência da viabilidade bacteriana (Silva-Costa *et al.*, 2018).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

Nas últimas décadas, diferentes testes moleculares foram desenvolvidos utilizando uma série de alvos tidos como específicos para a identificação de pneumococos, tais como pneumolisina - gene *ply*, autolisina - gene *lytA*, adesina de superfície pneumocócica A - gene *psaA* e superóxido dismutase dependente de manganês - gene *sodA* (Cardoso, 2018).

O isolamento de *S. pneumoniae* em cultura é a técnica padrão-ouro para o diagnóstico da meningite, entretanto nem sempre é positiva. Alguns factores podem contribuir para o aumento do número de casos da meningite com cultura negativa, tais como: antibióticoterapia empírica no tratamento; uso indiscriminado de antibióticos (aquisição sem prescrição médica, ou prescrições inadequadas), pouco volume do espécime clínico, e inóculo bacteriano insuficiente para crescimento em meio de cultura (estágio muito precoce da doença ou colheita e/ou acondicionamento inadequado da amostra) (Rocchetti, 2011; De Souza *et al.*, 2023).

Os dados sobre o agente etiológico podem ser perdidos, o que pode comprometer a vigilância epidemiológica. Na ausência dos dados fornecidos pela cultura, outros critérios devem ser utilizados para a escolha da linha terapêutica mais apropriada (De Souza *et al.*, 2023).

O método qPCR em tempo real detecta até um mínimo de 10 cópias do genoma bacteriano em 200uL de amostra biológica, apresentando desta forma uma elevada sensibilidade. Os ensaios baseados em qPCR para detectar pneumococos a partir de amostras clínicas não requerem bactérias viáveis e apresentam sensibilidade muito alta, constituindo uma ferramenta importante no diagnóstico de infecções pneumocócicas invasivas (Rocchetti, 2011; Rios, 2014).

A extracção de DNA é essencial para remover inibidores e melhorar a sensibilidade e especificidade da PCR. No entanto, o processo envolve várias etapas que podem introduzir contaminação cruzada, seja através de instrumentos (como pipetas e tubos), partículas de DNA suspensas no ar ou manuseio inadequado. Além disso, a extracção nem sempre elimina todos os inibidores, como proteínas e sais, podem permanecer na amostra e interferir na reacção da PCR, reduzindo a eficiência da amplificação e levando a resultados falso-negativos (Karami *et al.*, 2020).

O processo de extracção também pode não conseguir recuperar 100% do DNA alvo devido à sua degradação, ligações a outros componentes celulares ou até mesmo à natureza da matriz da amostra (por exemplo, fluidos corporais). Isso significa que a quantidade de DNA disponível para amplificação na PCR pode ser insuficiente (Schmitt *et al.*, 2021).

A PCR em tempo real utiliza DNA polimerase modificada cuja actividade pode superar os inibidores de PCR presentes em matrizes clínicas, permitindo a amplificação dos genes alvo directamente de amostras clínicas, sem a necessidade de extrair o DNA (Vuong *et al.*, 2016).

3.6.5.1. Serotipagem de *Streptococcus pneumoniae*

A serotipagem do *S. pneumoniae* foi desenvolvida no início do século XX usando painéis de anti-soro específico produzidos em animais e dirigidos contra polissacáridos da cápsula (Raymond *et al.*, 2013).

Actualmente, a PCR multiplex é uma ferramenta poderosa para a serotipagem de *S. pneumoniae*, oferecendo resultados rápidos e eficazes de múltiplos serotipos em uma única análise. Apresenta uma alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico clínico, vigilância epidemiológica e pesquisa sobre *S. pneumoniae* (Akkoyunlu, 2024). Entretanto, o método padrão-ouro para a definição do tipo capsular do pneumococo baseia-se na reacção de Quellung, descrita por Neufeld (Almeida, 2012). É baseado nas reacções entre antígenos dos polissacarídeos capsulares do pneumococo e anticorpos produzidos pela imunização de coelhos com os diferentes serotipos. Esta técnica só pode ser realizada em isolados viáveis e não em amostras, requer pessoal altamente qualificado e é dispendiosa (Varghese *et al.*, 2017).

Alguns tipos capsulares são agrupados em serogrupos por apresentarem antígenos em comum (Varghese *et al.*, 2017). A identificação dos serotipos circulantes de *S. pneumoniae* é essencial para a vigilância epidemiológica das doenças pneumocócicas. A falta de determinação dos serotipos dificulta a formulação das PCVs e avaliação do impacto do uso das mesmas, o que fundamentou a realização do presente estudo (Almeida, 2012; Santos *et al.*, 2013).

3.7. Tratamento da meningite pneumocócica

Os antibióticos são utilizados no combate ao pneumococo, tendo a penicilina como a droga mais usada no tratamento de infecções pneumocócicas invasivas. Entretanto, a resistência de pneumococos ao medicamento tem demandado a adição de novas linhas terapêuticas (Sharew *et al.*, 2021).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

A antibioticoterapia empírica é administrada após a suspeita de meningite bacteriana, num intervalo entre a admissão e a administração de antibióticos (Xu *et al.*, 2024).

O tratamento empírico recomendado para a meningite, consiste na administração intravenosa (IV) de penicilina G cristalina e gentamicina (200 e 5 mg/Kg, respectivamente) para crianças menores de 2 meses, e para crianças maiores de 2 meses, é recomendada a administração intravenosa de penicilina G (dose diária de 500.000 IU/Kg) mais gentamicina (Nhantumbo, 2014).

O tratamento de primeira linha para meningite pneumocócica consiste no uso da penicilina G e gentamicina, em caso de resistência recomenda-se a administração de cefalosporinas da terceira geração, tais como a ceftriaxona/cefotaxima. A vancomicina é usada como o tratamento de segunda linha para meningite bacteriana em todas as faixas etárias devido ao amplo espectro de acção e uma meia-vida longa (8 horas no sangue, 14 horas no LCR) (Nhantumbo, 2014).

O sucesso da evolução clínica da meningite, entre diversos factores, é influenciado pela escolha do tratamento adequado e rápido (Sharew *et al.*, 2021).

Quando os antibióticos são fornecidos de forma adequada e precisa, eles podem efectivamente combater as infecções bacterianas. No entanto, tem sido demonstrado que uma proporção significativa do uso de antibióticos em torno de 50% é considerada desnecessária. O uso excessivo de antibióticos é um dos factores que contribuem para a emergência e disseminação de resistência aos antibióticos (Sharew *et al.*, 2021).

3.8. Prevenção da meningite pneumocócica

A descoberta da cápsula na superfície do pneumococo foi especulada por Pasteur em 1881, desde então, tem sido foco de investigação. Desde o início, foi evidenciado que o hospedeiro produz anticorpos contra os tipos específicos de *S. pneumoniae*. Este facto permitiu a compreensão de que a cápsula era de natureza proteica, porém em 1925 foi demonstrado que constituída, por polissacarídeos, sendo o primeiro antigénio não proteico a ser reconhecido (Paton & Trappetti, 2019).

A primeira experiência humana de vacinação pneumocócica baseada na administração de uma mistura de polissacarídeos de células inteiras mortas de *Streptococcus pneumoniae* foi realizada em mineiros sul-africanos em 1911. Após resultados encorajadores, duas vacinas 7-

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

valentes de polissacarídeo tornaram-se disponíveis nos EUA em 1946 (Van Werkhoven & Huijts, 2018).

Todavia, estas vacinas foram retiradas do mercado em 1954, devido à descoberta da penicilina, com a expectativa geral de que este novo tratamento eliminaria a pneumonia. As vacinas pneumocócicas tornaram-se novamente um assunto de interesse em 1970 devido ao surgimento de estirpes pneumocócicas com uma susceptibilidade reduzida aos antimicrobianos (Van Werkhoven & Huijts, 2018).

Existem diferentes serotipos de *S. pneumoniae*, mas a maioria dos casos de meningite pneumocócica são causados por um subconjunto de serotipos patogénicos (Wasserman *et al.*, 2021). Para fazer face a carga da DP em crianças, foram desenvolvidas vacinas como a PCV e originalmente direccionadas para os serotipos mais predominantes entre a DPI (Ganaie *et al.*, 2020; Chang *et al.*, 2021). Os serotipos de *S. pneumoniae* diferem na capacidade de colonização, transmissão, virulência, manifestações de doença, idade em que predominam, distribuição geográfica, resistências aos antimicrobianos e capacidade para causar doença (Amoêdo, 2017). Até o momento, foram identificados 100 serotipos capsulares pneumocócicos e a prevalência de serotipos difere de acordo com idade, região e tempo de vigilância (Si Hyun *et al.*, 2016; Ganaie *et al.*, 2020).

3.8.1. Vacinas pneumocócicas conjugadas

Existem 2 tipos de vacinas pneumocócicas: as vacinas conjugadas e as vacinas polissacarídeas (Tereziu & Minter, 2022).

As estratégias de prevenção direccionadas à população pediátrica disponíveis são as vacinas pneumocócicas conjugadas (Santos, 2012; Amoêdo, 2017).

As PCVs consistem na combinação de polissacarídeos seleccionados ligados a proteínas transportadoras, o que permite estimular a resposta dependente de células T e induzir memória imunológica, principalmente após 3 doses no primeiro ano de vida. A primeira vacina aprovada foi a PCV7 em 2000 nos EUA, para o uso em crianças e continha os 7 principais serotipos (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F e 23F) responsáveis por DI nesta população (Amoêdo, 2017).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

A PCV7 foi posteriormente retirada do mercado quando ficou claro que havia uma necessidade de vacinas com mais serotipos pneumocócicos (Principi & Esposito, 2016). Relativamente à PCV10, esta tem na sua composição polissacáridos capsulares purificados de 10 serotipos: 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F e 23F (WHO, 2012) (Figura 11). Em 2010, foi licenciada a PCV13 (Prennar13) e recomendada nos EUA para a prevenção da DPI em crianças. Esta vacina é administrada a crianças dos 2, 4, 6 anos, 12 aos 15 meses (Nurse-Lucas *et al.*, 2016).

Serotipos	4	6B	9V	14	18C	19F	23F	1	5	7F	3	6A	19A	22F	33F	8	10A	11A	12F	15B	2	9N	17F	20	
PCV7																									
PCV10																									
PCV13																									
PCV15																									
PCV20																									
PPSV23																									

Figura 11. Serotipos de *Streptococcus pneumoniae* incluídos nas diferentes vacinas pneumocócicas.

Fonte: Adaptado de Kobayashi *et al.*, (2023).

O uso das PCVs, além de diminuir a incidência de infecção pneumocócica, pode reduzir o consumo de antimicrobianos devido à consequente redução de casos e da circulação de estirpes resistentes (Viana, 2020).

O fenómeno de substituição de serotipos, sobretudo daqueles resistentes a antimicrobianos, após o advento das PCVs representa um enorme desafio para o sucesso do tratamento (Von Specht *et al.*, 2021). Contudo, devido à uma pressão selectiva causada pela PCV, os serotipos não-vacinais começaram a ocupar o nicho dos vacinais, isto é, houve redução da colonização e da DPI causada por serotipos vacinais (Alterthum *et al.*, 2018).

A vacinação provoca a redistribuição dos serotipos mais frequentes, causando colonização e, consequentemente a doença pneumocócica invasiva. Essa substituição de serotipos, é conhecida como “*replacement*” (Paton & Trappetti, 2019).

Outro evento que ocorre é o “*Switching*” capsular, isto é, os pneumococos de serotipos vacinais adquirem os genes que codificam a síntese da cápsula de um serotipo não vacinal; assim, ocorre a troca de cápsula que é expressa na superfície da célula bacteriana (Alterthum *et al.*, 2018). Esse mecanismo de troca permite que os clones geralmente associados a serotipos vacinais persistam

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

após a vacinação, mantendo seu *background* genético, porém expressando outro serotipo em sua superfície (Paton & Trappetti, 2019).

3.8.2. Vacinas pneumocócicas polisacarídicas

A vacina PPSV23 é uma vacina inactivada, licenciada em 1983, que incorpora antígenos da cápsula polissacarídica de 23 serotipos de *S. pneumoniae*, cobrindo 90% de todos os serotipos responsáveis pela doença invasiva na altura em que a vacina foi licenciada (WHO, 2012).

As vacinas conjugadas de polissacarídeos actuais têm sido muito eficazes na redução das taxas da DPI (Briles *et al.*, 2019). A PPSV23 inclui os seguintes serotipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F e 33F (WHO, 2019; Cardoso, 2018).

A PPSV23 tem uma maior cobertura de serotipos, longa história de experiência, no entanto apresenta algumas limitações como imunidade independente de células T e a inexistência de memória imunológica (Amoêdo, 2017). Esta vacina é recomendada para uso em indivíduos idosos, entretanto, não pode ser administrada em crianças com idade < 2 anos, devido à natureza polissacarídica do antígeno (Nurse-Lucas *et al.*, 2016).

A vacina PPSV23 é pouco imunogénica em lactentes < 2 anos, uma vez que nesta idade o sistema imune ainda não está apto a produzir a resposta induzida directamente de polissacarídeos livres (Wang *et al.*, 2018). Os polissacarídeos não são capazes de induzir resposta imunológica T-dependente de longa duração, não geram memória imunológica, demonstram pouca eficácia contra DPI em pacientes com doenças crónicas, não previnem a colonização nasofaríngea (Wang *et al.*, 2018).

4. Enquadramento teórico

O Homem: é o maior reservatório do pneumococo, transportando-os assintomaticamente na nasofaringe, e actuando como vectores que transmitem a bactéria para indivíduos não infectados (O'Brien & Wolfson., 2023).

Estirpes pneumocócicas: variam em patogenicidade, pois algumas podem estar na nasofaringe sem causar doença, enquanto outras têm maior capacidade de causar infecções. A virulência de uma estirpe depende de factores genéticos e virulentos específicos (Miller & Andrews., 2024).

Surgimento de vacinas: estabeleceu-se um avanço importante da ciência, no que se refere a políticas para a prevenção de doenças imunopreveníveis. Em Moçambique, medidas de intervenção assumem um importante papel no controlo da morbimortalidade (Sigaúque *et al.*, 2018). As estratégias de vacinação ao longo do tempo melhoraram significativamente a qualidade de vida e reduziram a mortalidade, salvando aproximadamente 3 milhões de vidas por ano (WHO, 2021). A vacinação tem sido crucial na redução da meningite pneumocócica, mas ainda há desafios como, lidar com a substituição e resistência de serotipos em crianças, e melhorar o acesso à vacinação (Von Specht *et al.*, 2021) (Figura 12).

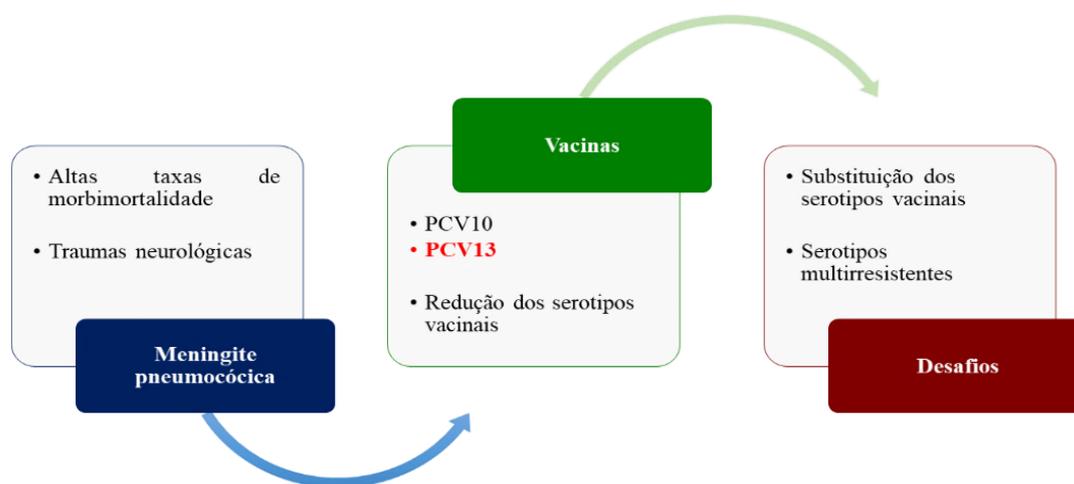


Figura 12. Meningite pneumocócica e o impacto das vacinas.

Fonte. Adaptado de Brueggemann *et al.*, (2021).

Monitoramento: a vigilância epidemiológica das infecções invasivas por *S. pneumoniae* permite a avaliação do efeito das vacinas na distribuição dos serotipos e a necessidade de novas formulações ou alterações das vacinas actuais (Brueggemann *et al.*, 2021).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

5. Metodologia

5.1. Fluxograma

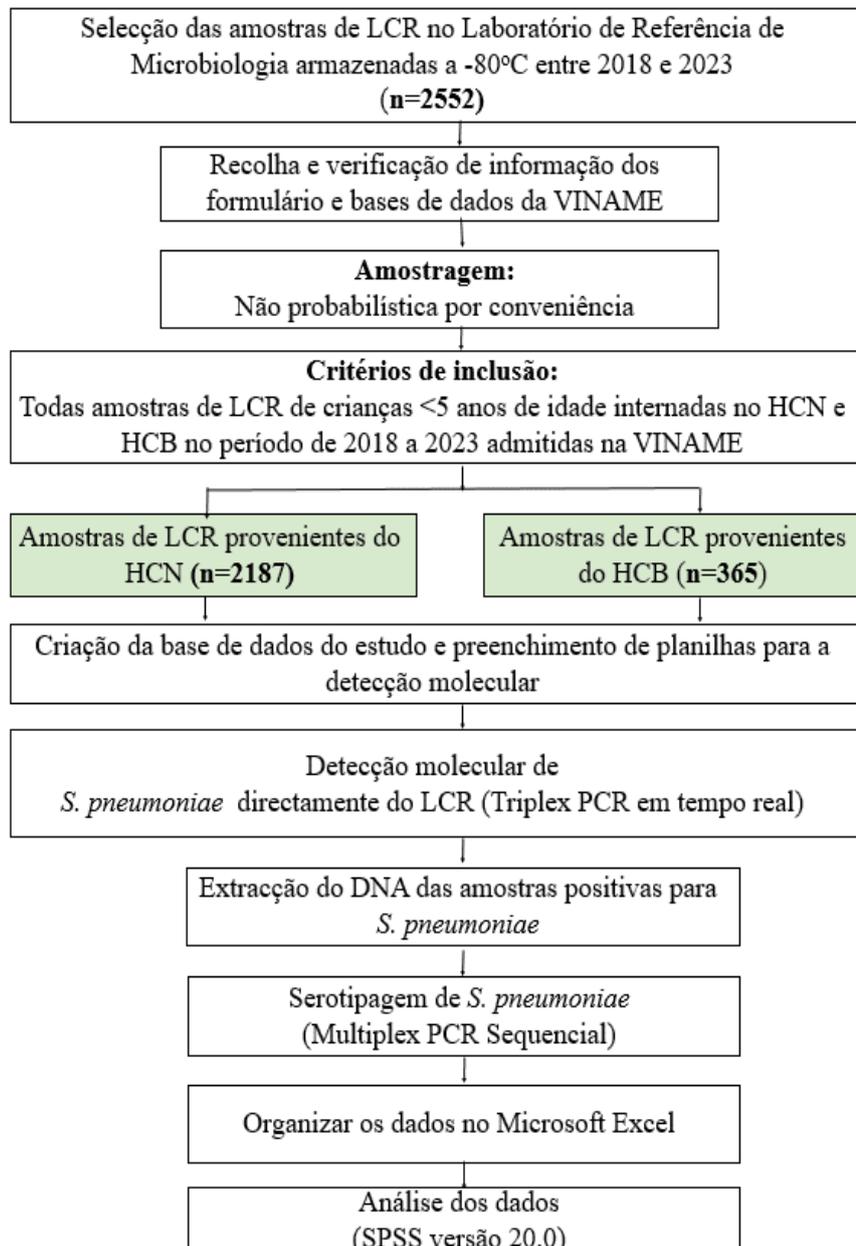


Figura 13. Fluxograma da metodologia usada no presente estudo.

5.2. Tipo de pesquisa

O presente estudo é observacional transversal retrospectivo que decorreu entre 2018 e 2023, como parte da Vigilância Sentinela Alargada para Meningite Bacteriana Aguda (MBA) pediátrica pelo Instituto Nacional de Saúde (INS) em Moçambique.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

5.3. Descrição do local de estudo

O estudo foi realizado nos serviços de internamento de pediatria (postos sentinela) de dois Hospitais quaternários do país, nomeadamente: HCB e HCN (Figura 14). Estes hospitais desempenham o papel de unidades de saúde de referência nas regiões Centro e Norte, respectivamente, e oferecem vários serviços especializados de saúde hospitalar e ambulatória para todas as faixas etárias, em várias especialidades. Estes hospitais constituem postos sentinela do Ministério da Saúde (MISAU), para vigilância de doenças invasivas, e foram seleccionados com base na experiência dos casos de doenças invasivas notificados e da existência de laboratórios de microbiologia funcionais (Nhantumbo, 2014).

O HCN localiza-se na província de Nampula. A província de Nampula tem 23 distritos, e uma população de 5.758.920, área 79.010 Km², a densidade populacional 50,44 habitantes/Km² (INE, 2017). A O Departamento de Pediatria desta unidade hospitalar possui 184 camas, com 78 profissionais pediátricos (Nhantumbo, 2014).

O HCB localiza-se na província de Sofala, que se situa na região centro do país com uma área de 67.753 km², dividida em 13 distritos, 5 municípios e uma população estimada em 2.259.248 habitantes (INE, 2017). O Departamento de Pediatria deste hospital possui 150 camas, com 58 profissionais pediátricos (Nhantumbo, 2014).



Figura 14. Localização de Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

5.4. Período do estudo

O presente estudo foi realizado no período de 15 de Junho a 14 de Novembro de 2024, usando amostras de líquido cefalorraquidiano colhidas entre 2018 e 2023.

5.5. População de estudo

O presente estudo incluiu amostras de LCR colhidas em crianças < 5 anos com suspeita de meningite nos serviços de internamento da pediatria do HCB e HCN, e admitidas na Vigilância Sentinela Alargada para a Meningite Bacteriana Aguda pediátrica pelo INS em Moçambique.

5.6. Modo de selecção das amostras

No presente estudo foram incluídas todas as amostras de LCR colhidas e armazenadas no Laboratório de Referência de Microbiologia do INS provenientes do HCB e HCN. Foram revistas todas as notificações encontradas nos formulários e/ou bases de dados referentes aos casos suspeitos ou confirmados de meningite em crianças <5 anos de idade entre 2018 e 2023.

5.7. Critérios de inclusão

Foram elegíveis para o presente estudo, todas amostras de LCR de crianças menores de 5 anos de idade, com suspeita clínica de meningite, internadas no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula no período de 2018 á 2023. As amostras foram previamente colhidas no âmbito da Vigilância de Nacional de Meningite implementado pelo INS.

5.8. Critérios de exclusão

Foram excluídas deste estudo todas as amostras de LCR de crianças menores de 5 anos de idade internadas no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula sem dados demográficos (idade, género e proveniência), amostra com o volume insuficiente ou armazenamento inadequado (amostras que foram descongeladas e recongeladas inúmeras vezes, comprometendo a sua qualidade).

5.9. Amostragem e Tamanho da amostra

No presente estudo foi utilizada uma amostragem não probabilística por conveniência, uma vez que foram incluídos todos casos que apresentarem os critérios estabelecidos (Martins *et al.*, 2019). Na amostragem por conveniência os elementos da amostra são escolhidos por conveniência do pesquisador, sendo seleccionados por sua disponibilidade e acessibilidade e não por um critério estatístico (Nielsen *et al.*, 2017). Não houve cálculo de tamanho de amostra porque foram incluídas todas as amostras colhidas no período do estudo (Wibbelt, 2019).

5.10. Procedimentos, técnicas e instrumentos de colheita de dados

A selecção das amostras e a colheita de dados foi realizada obedecendo as seguintes etapas:

- I. **Seleccção das amostras:** foram verificadas e seleccionadas amostras de LCR conservadas a -80°C no Laboratório de Referência de Microbiologia do Instituto Nacional de Saúde, que reuniram os critérios de inclusão do estudo;
- II. **Verificação de dados demográficos e clínicos:** para cada amostra seleccionada foram colhidos e verificados minuciosamente os dados demográficos e clínicos correspondentes, a partir dos registos obtidos dos formulários de notificação de caso, assim como das bases de dados da Vigilância Nacional de Meningite;
- III. **Criação da base de dados do estudo:** após a selecção das amostras e a verificação dos dados, foi criada uma base de dados intitulada “PNEUMO-EPID” utilizando o Microsoft Excel que envolveu uma organização sistemática da informação;
- IV. **Codificação das amostras para os procedimentos laboratoriais:** após a criação da base de dados, as amostras foram codificadas e organizadas em planilhas.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

5.11. Procedimentos laboratoriais

5.11.1. Detecção molecular de *Streptococcus pneumoniae*

A detecção molecular de *S. pneumoniae* foi realizada através da PCR em tempo-real (Santos, 2012). As amostras de LCR foram submetidas a uma triplex PCR em tempo real através de iniciadores específicos para os genes alvos *lytA* (*S. pneumoniae*), *sodC* (*N. meningitidis*) e *hpd3* (*H. influenzae*) (Tabela 1) (Ouattara *et al.*, 2019). As reacções de PCR em tempo real foram preparadas em volumes descritos na tabela 2.

Tabela 1. Volume e concentração dos reagentes usados nas reacções de PCR.

Reagentes	Volume (µL)	[nM]
Água ultrapura (Sem nucleases)	1,5	-
PerfeCta® MultiPlex qPCR ToughMix	12,5	-
Iniciadores (Foward)	1	500
Iniciadores (Reverse)	1	500
Sondas (Fluorescência)	1	250
DNA	2	-
Total	25	

Fonte: CDC, (2023).

As sondas a serem usadas incluem Cy5 (*lytA* – *S. pneumoniae*), FAM (*sodC* – *N. meningitidis*) e HEX (*hpd* – *H. influenzae*) (Tabela 2). Todas as reacções foram preparadas em placas de 96 poços (Ouattara *et al.*, 2019).

Tabela 2. Sequências dos primers e sondas para a triplex – PCR.

Alvo de PCR em tempo real	Primer/ Sonda	Sequência (5'–3')	Conc. (nM)
<i>S. pneumoniae</i>	<i>lytA</i> -F	ACGCAATCTAGCAGATGAAGCA	200
	<i>lytA</i> -R	TCGTGCGTTTTAATTCCAGCT	200
	<i>lytA</i> -P	5'-FAM TGCCGAAAACGC"TGATACAGGGAG-3'- SpC6 "T"=BHQ1	200

Fonte: CDC, (2023).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

As amplificações foram executadas no termociclador da Agilent AriaMx Real-Time PCR (Agilent Technologies) e as condições de PCR em tempo real foram seguidas de acordo com o protocolo desenvolvido por Ouattara e colaboradores., (2019). Os ciclos seguiram condições térmicas específicas para garantir a amplificação do material genético descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Condições térmicas para a o processo de PCR na identificação de *Streptococcus pneumoniae*.

Nº de ciclos	Temperatura	Tempo	Função
1 Ciclo 40 Ciclos	95°C	10 Minutos	Desnaturação das fitas de DNA: essa etapa permite que as cadeias de DNA se separem, formando duas fitas simples
	95°C	15 Segundos	Anelamento dos <i>primers</i> : durante esta fase, os iniciadores se ligam às regiões específicas do DNA alvo
	60°C	1 Minuto	Extensão de novas fitas do DNA: essa etapa permite que o DNA polimerase adicione nucleotídeos, sintetizando novas fitas de DNA

Fonte: CDC, (2023).

O ponto denominado limiar de ciclo (Cycle threshold) - Ct detecta o ciclo no qual a reacção atinge o limiar da fase exponencial é $Ct \leq 35$. Os resultados de Ct entre 35 e 40 foram interpretados como inconclusivos e desta forma foram realizadas diluições nas proporções de 1:5 e 1:10 para novas reacções. Os valores de $Ct > 35$ foram considerados negativos (Ouattara *et al.*, 2019).

Todas as reacções incluíram um controlo negativo contendo todos os componentes da reacção, excepto o DNA, foram substituídas por água ultrapura para PCR. Todas as reacções também incluíram um controlo positivo (PC-Plasmid) (Ouattara *et al.*, 2019).

5.11.2. Extração e purificação de DNA genómico

A extração e purificação de DNA bacteriano foi realizada em todas amostras com resultados inconclusivos (limiar de ciclo entre 35 e 40) através do DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN Group, Alemanha) de acordo com as instruções do fabricante (Anexo 1). O DNA genómico purificado foi colhido em tubo de 1,5 ml e armazenado a -20°C para a serotipagem (Munguambe *et al.*, 2018).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

5.11.3. Determinação dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* por PCR multiplex

A determinação dos serotipos de *S. pneumoniae* incluiu 41 pares de oligonucleotídeos (Anexo 1) de acordo com as recomendações do *Center for Disease Control and Prevention* (CDC, EUA), agrupadas em 12 reacções sequenciais de multiplex PCR para identificação de 38 serotipos de *S. pneumoniae* (Ouattara *et al.*, 2019). Na primeira reacção foram utilizados controlos, iniciadores e sondas referentes aos serotipos alvos para esta reacção (Tabela 4).

Tabela 4. Reacções de PCR para a detecção dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae*.

Reacções	Serotipos	Reacções	Serotipos	Reacções	Serotipos
Reacção 1	3	Reacção 5	6A/6B/6C/6D	Reacção 9	21
	22A/22F		6B/6D		13
	22A		6A/6B		24F/24A/24B
	22F		6B/6D		9V/9A
Reacção 2	12F/44	Reacção 6	19F	Reacção 10	1
	23A		31		14
	35B		7B/7C1		23F
	15A/15F		7B/7C2		28A/28F
Reacção 3	9L/9N	Reacção 7	10A	Reacção 11	37
	19A		7F/7A		11B/11C
	8		15B/15C		10F
	16F		17F		18C/18F/18B/18A
Reacção 4	33A/33F/37	Reacção 8	4	Reacção 12	5
	11A/11D/11E		32		39
	23B		35F/47F		35A
	20		38		2

Fonte: CDC, (2023).

Os serotipos não identificados nas primeiras reacções, foram testadas nas reacções seguintes até a sétima reacção. Os serotipos não identificados após as 12 reacções foram considerados como não-tipificáveis (Ouattara *et al.*, 2019).

As reacções foram preparadas em um volume final de 25µl, incluindo *primers* e sondas (Anexo 2), 2,5µl de LCR ou DNA, 12,5µl de Mastermix (PerfeCta® MultiPlex qPCR ToughMix, QuantaBio) e água sem nucleases (Anexo 2) (Ouattara *et al.*, 2019; CDC, 2022).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

6. Variáveis de estudo

Objectivos específicos	Variáveis e tipo de variáveis	Fonte das variáveis	Tipo de teste/análise
Descrever as características demográficas e clínicas de crianças menores de 5 anos de idade com suspeita de meningite;	<p>1. Dados Demográficos</p> <p>a) Faixas etárias</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 – 11 Meses • 12 – 23 Meses • 24 – 59 Meses <p>(qualitativa ordinal)</p> <p>b) Proveniência</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hospital Central da Beira • Hospital Central de Nampula <p>(quantitativa nominal)</p> <p>2. Dados clínicos (vacinação)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Não vacinado • 1ª Dose • 2ª Dose • 3ª Dose (qualitativa ordinal) 	Formulários de notificação de caso ou base de dados	<p>Variáveis quantitativas: Média, testes de proporção e desvio padrão.</p> <p>Variáveis qualitativas: Frequências absolutas e relativas</p>
Identificar o <i>S. pneumoniae</i> em amostras de líquido cefalorraquidiano em crianças menores de 5 anos de idade;	<p>3. Casos de meningite</p> <ul style="list-style-type: none"> • Número de casos positivos de <i>S. pneumoniae</i> • Número de casos negativos de <i>S. pneumoniae</i> (quantitativa nominal) 	Multiplex PCR-Real Time	<p>Variáveis qualitativas: Frequências absolutas e relativas</p>
Determinar os serotipos de <i>S. pneumoniae</i> causadores da meningite em crianças menores de 5 anos de idade;	<p>4. Serotipos</p> <ul style="list-style-type: none"> • PCV-10: 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5, 7F. • PCV-13 (PCV10 + 3, 6A e 19A). • Não-vacinais: 22A, 22F, 12F/44, 23A, 35B, 15A/15F, 9L/9N, 8, 16F, 33A/33F/37, 23B, 20, 31, 7B/7C1, 7B/7C2, 10A, 15B/15C, 32, 35F/47F, 38, 21, 10F, 13, 24F/24A/24B, 37, 11B/11C, 39, 35A, 2 (qualitativa nominal) 	Formulários de notificação de caso ou base de dados e Multiplex PCR-Real Time	<p>Variáveis qualitativas: Frequências absolutas e relativas.</p>
Caracterizar a distribuição dos serotipos de <i>S. pneumoniae</i> de acordo com faixas etárias, tempo (ano) e estado vacinal em crianças menores de 5 anos de idade.	<p>5. Faixas etárias</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 – 11 Meses • 12 – 23 Meses • 24 – 59 Meses (qualitativa ordinal) <p>6. Hospital</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hospital Central de Nampula • Hospital Central da Beira <p>(qualitativa ordinal)</p>	Formulários de notificação de caso ou base de dados e Multiplex PCR-Real Time	<p>Variáveis qualitativas: Frequências absolutas e relativas.</p>

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

	<p>7. Ano</p> <ul style="list-style-type: none">• 2018, 2019, 2020, 2021, 2022 e 2023 (qualitativa ordinal) <p>8. Situação vacinal</p> <ul style="list-style-type: none">• Não vacinado• 1ª Dose• 2ª Dose• 3ª Dose (qualitativa ordinal)		
--	---	--	--

7. Plano de gestão e análise de dados

Os dados foram introduzidos no Microsoft Excel 2016 e analisados no software estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* - SPSS (IBM, EUA), versão 25.0. As variáveis categóricas foram apresentadas como frequências absolutas (n) e relativas (%). As variáveis quantitativas foram descritas em média, valor mínimo e máximo (De Lima, 2017; Nhantumbo *et al.*, 2017). Os serotipos foram categorizados como: PCV10; PCV13 e serotipos não-vacinais (Chikhaoui *et al.*, 2022).

8. Aspectos éticos

O presente estudo foi aprovado pelo Comité Institucional de Bioética para a Saúde da Faculdade de Medicina (CIBS-FAMED) com a referência: CIBSFM&HCM/04/2023 (Anexo 3). Os dados sociodemográficos e clínicos, e amostras dos pacientes foram colhidos da Vigilância Nacional de Meningite (VINAME) com a referência 180/CNBS/20. Os dados dos pacientes no presente estudo foram codificados para evitar a identificação dos envolvidos. Adicionalmente, os dados colhidos foram usados apenas para este estudo e não foram usados para outros fins.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

9. Resultados

9.1. Características demográficas e clínicas dos pacientes com suspeita de meningite no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula

O presente estudo incluiu um total de 2552 amostras de LCR no universo de 2874 casos suspeitos admitidos no âmbito da Vigilância Nacional de Meningite, colhidas no período de 2018 e 2023, tendo variado de 13,2% a 22,3%. A maioria das amostras 2187/2552 (85,7%) foi colhida no HCN e 365 (14,3%) no HCB. Os participantes foram na sua maioria do sexo masculino, 1477 (57,9%) contra 1075 (42,1%) do sexo feminino, principalmente da faixa etária dos 0 a 11 meses com 1297 (50,8%). Um total de 1676/2552 (65,6 %) pacientes não apresentou dados sobre o estado vacinal, seguida de pacientes com 2 doses (n=235, 9,2%) e 1 dose (n=232, 9,1%). Das 2552 crianças incluídas no estudo, apenas 182 (7,1%) completaram o esquema vacinal com as três doses da PCV13 (Tabela 5).

Tabela 5. Características demográficas e clínicas dos participantes do estudo.

Variáveis	Casos suspeitos de meningite (n=2552)	Percentagem (%)
Faixas etárias		
0 – 11 Meses	1297	50,8
12 – 23 Meses	384	15,0
24 – 59 Meses	871	34,1
Sexo		
Feminino	1075	42,1
Masculino	1477	57,9
Hospital		
HCB	365	14,3
HCN	2187	85,7
Estado vacinal		
Não vacinado	227	8,9
1 Dose	232	9,1
2 Doses	235	9,2
3 Doses	182	7,1
Sem informação	1676	65,6
Ano		
2018	387	15,2
2019	345	13,2
2020	406	15,9
2021	348	13,9
2022	497	19,5
2023	569	22,3

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

9.2. Frequência de *Streptococcus pneumoniae* no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula entre 2018 e 2023

Um total de 2552 amostras de LCR, foram submetidas a uma triplex PCR em tempo real tendo sido identificados 121 (4,7%) casos positivos para o *S. pneumoniae*. Do total das amostras positivas 20/121 (0,7%) foram colhidas no HCB e 101 (4,0%) no HCN.

A maior frequência dos casos positivos de *S. pneumoniae* foi registada em pacientes do sexo masculino (n=69, 57%), sendo 54 do HCN e 15 do HCB. A faixa etária dos 0 a 11 meses apresentou uma alta frequência de casos de *S. pneumoniae* para ambos hospitais (Tabela 6).

Embora o presente estudo tenha tido como foco a identificação do *S. pneumoniae*, outras espécies bacterianas foram identificadas, nomeadamente: *H. influenzae* (n=30, 1,2%) e *N. meningitidis* (n=7, 0,3%), devido à técnica usada de multiplex PCR.

Tabela 6. Frequência de *Streptococcus pneumoniae* em crianças de acordo com idade e género no HCB e HCN entre 2018 e 2023.

Características	Frequência de casos positivos de <i>S. pneumoniae</i> (n=121)	Frequência de casos negativos (n=2540)	Total (n=2552)
Hospital Central da Beira			
Faixas etárias			
0 - 11 Meses	8 (4,4%)	175 (95,6)	183 (100%)
12 - 23 Meses	5 (9,6%)	47 (90,4%)	52 (100%)
24 - 59 Meses	7 (5,4%)	123 (94,6%)	130 (100%)
Total	20 (5,5%)	345 (94,5%)	365 (100%)
Sexo			
Masculino	15 (7,0%)	199 (93,0)	214 (100%)
Feminino	5 (3,3%)	146 (96,7%)	151 (100%)
Total	20 (5,5%)	345 (94,5%)	365 (100%)
Hospital Central de Nampula			
Faixas etárias			
0 - 11 Meses	48 (4,3%)	1066 (95,7%)	1114 (100%)
12 - 23 Meses	15 (4,5%)	317 (95,5%)	332 (100%)
24 - 59 Meses	38 (5,1%)	703 (94,9%)	741 (100%)
Total	101 (4,6%)	2086 (95,4%)	2187 (100%)
Sexo			
Masculino	54 (4,3%)	1209 (95,7%)	1263 (100%)
Feminino	47 (5,1%)	877 (94,9%)	924 (100%)
Total	101 (4,6%)	2086 (95,4%)	2187 (100%)

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

9.3. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula entre 2018 e 2023

Do total de 121 amostras positivas para *S. pneumoniae*, 76 amostras (62,8%) foram serotipadas e 45 (37,2%) não foram incluídas para a serotipagem devido à falta de qualidade. Do total de 76 amostras serotipadas, 67 (88%) foram tipificáveis principalmente para 15B/15C (21; 27,6%), 18C/18F/18B/18A (14; 18,4%), 38 (9; 11,8%), 1 (7; 9,2%), 24F/24A/24B (3; 3,9%), 19F (2; 2,6%), 8 (2; 2,6%), 12F/12A/12B/44/46 (2; 2,6%), 9V/9A (1; 1,3%), 14 (1; 1,3%), 23F (1; 1,3%), 22F/22A (1; 1,3%), 35B (1; 1,3%), 16F (1; 1,3%) e 7C/7B2 (1; 1,3%) e 9 (9; 11,8%) não foi possível identificar os serotipos.

No HCN registou-se uma alta prevalência dos serotipos: 15B/15C, 18C/18F/18B/18A, 38, 1 e não tipificáveis, enquanto no HCB apenas o serotipo 15B/15C foi predominante. Os serotipos 14, 19B, 22F/22A, 23F, 35B, 38, 8 e 9V/9A foram identificados somente no HCN e os serotipos 16F e 7C/7B2 no HCB.

Tabela 7. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* identificados em crianças menores de 5 anos no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula entre 2018 e 2023.

Serotipos	HCB (n=13)		HCN (n=63)		Total (n=76)
		%		%	
PCV7					
4	0	0	0	0	0 (0,0%)
6B	0	0	0	0	0 (0,0%)
9V/9A	0	0	1	1,6	1 (1,3%)
14	0	0	1	1,6	1 (1,3%)
18C/18F/18B/18A	2	15,4	12	19,0	14 (18,4%)
19F	0	0	2	3,2	2 (2,6%)
23F	0	0	1	1,6	1 (1,3%)
PCV10					
1	1	7,7	6	9,5	7 (9,2%)
5	0	0	0	0	0 (0,0%)
7F	0	0	0	0	0 (0,0%)
PCV13					
3	0	0	0	0	0 (0,0%)
6A	0	0	0	0	0 (0,0%)
19A	0	0	0	0	0 (0,0%)
Não-PCV13					
15B/15C	5	38,5	16	25,4	21 (27,6%)
38	0	0	9	14,3	9 (11,8%)

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

24F/24A/24B	1	7,7	2	3,2	3 (3,9%)
12F/12A/12B/44/46	1	7,7	1	1,6	2 (2,6%)
8	0	0	2	3,2	2 (2,6%)
16F	1	7,7	0	0	1 (1,3%)
22F/22A	0	0	1	1,6	1 (1,3%)
35B	0	0	1	1,6	1 (1,3%)
7C/7B2	1	7,7	0	0	1 (1,3%)
Não tipificáveis	1	7,7	8	12,7	9 (11,8%)

9.3.1. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* de acordo com as faixas etárias

O estudo identificou uma alta frequência dos serotipos 15B/15C e 18C/18F/18B/18A principalmente em crianças na faixa etária dos 24 a 59 meses no HCB. Por outro lado, os mesmos serotipos incluindo os serotipos não tipificáveis foram ainda mais predominantes entre crianças de 0 a 11 meses no HCN (Figura 16). Além disso, o serotipo 38 também se destacou na faixa etária dos 24 a 59 meses. Embora o serotipo 18C/18F/18B/18A seja coberto pela PCV13, sua frequência se manteve em todas as faixas etárias após a introdução da vacina.

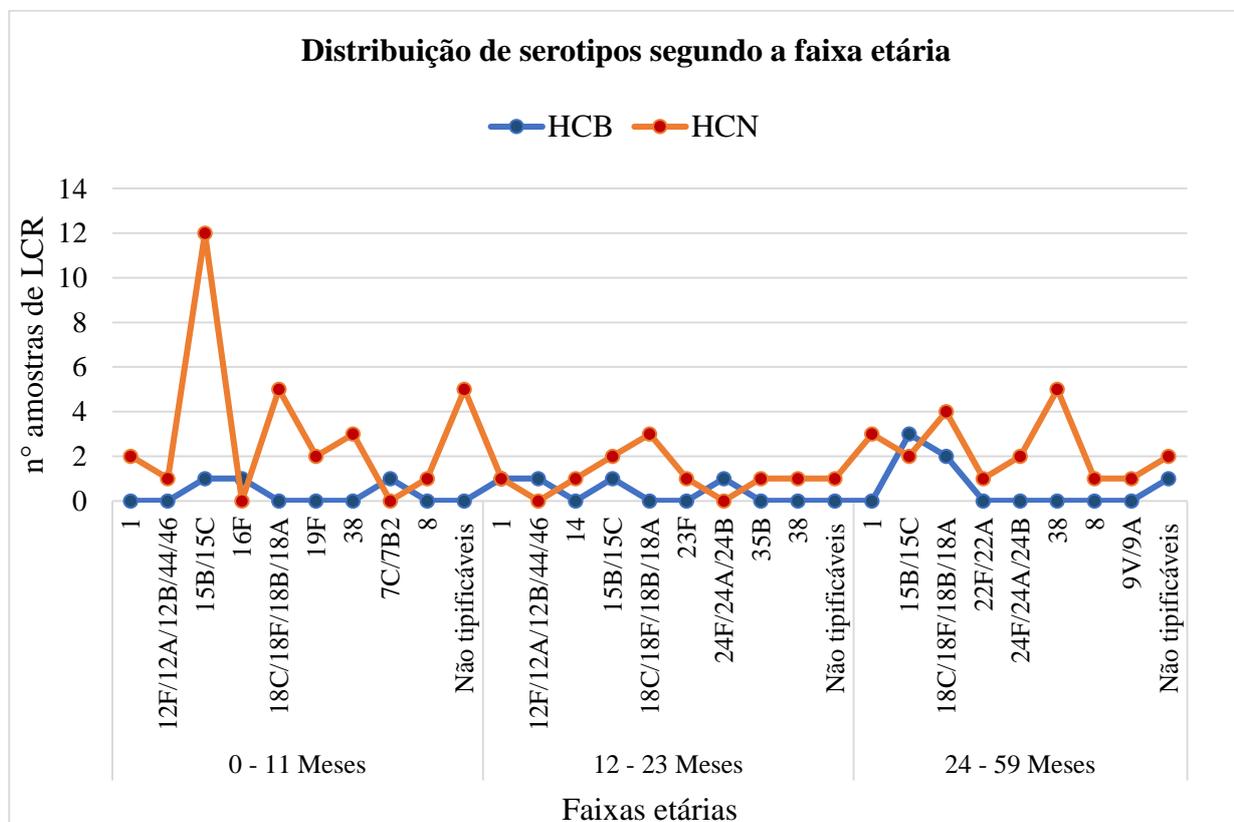


Figura 15. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* de acordo com as faixas etárias no HCB e HCN, de 2018 á 2023.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

9.3.2. Distribuição temporal dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae*

Os resultados do presente estudo mostram uma alta frequência de serotipos 15B/15C, 18C/18F/18B/18A, 38 e 24F/24A/24B, entre 2020 e 2021 (Figura 17). Adicionalmente, observou-se uma redução considerável dos serotipos cobertos pela PCV13 entre 2018 e 2019 para ambos hospitais incluídos no estudo.

Em 2020, no HCB, foi registado um aumento na detecção de serotipos, com predominância dos não-vacinais. Entre os quais, destacaram-se os serotipos 15B/15C, 24F/24A/24B, 12F/12A/12B/44/46 e 16F. Entretanto, o serotipo 18C/18F/18B/18A mostrou-se prevalente, embora seja coberto pela PCV13.

Em 2021, registou-se principalmente os serotipos, 18C/18F/18B/18A, 15B/15C, 38, 35B e 24F/24A/24B no HCN para além de serotipos não tipificáveis.

Entre 2022 e 2023, no HCN, os serotipos predominantes foram 15B/15C, 18C/18F/18B/18A, 1 e não tipificáveis. No entanto, durante esse período, apenas o serotipo 15B/15C foi identificado no HCB.

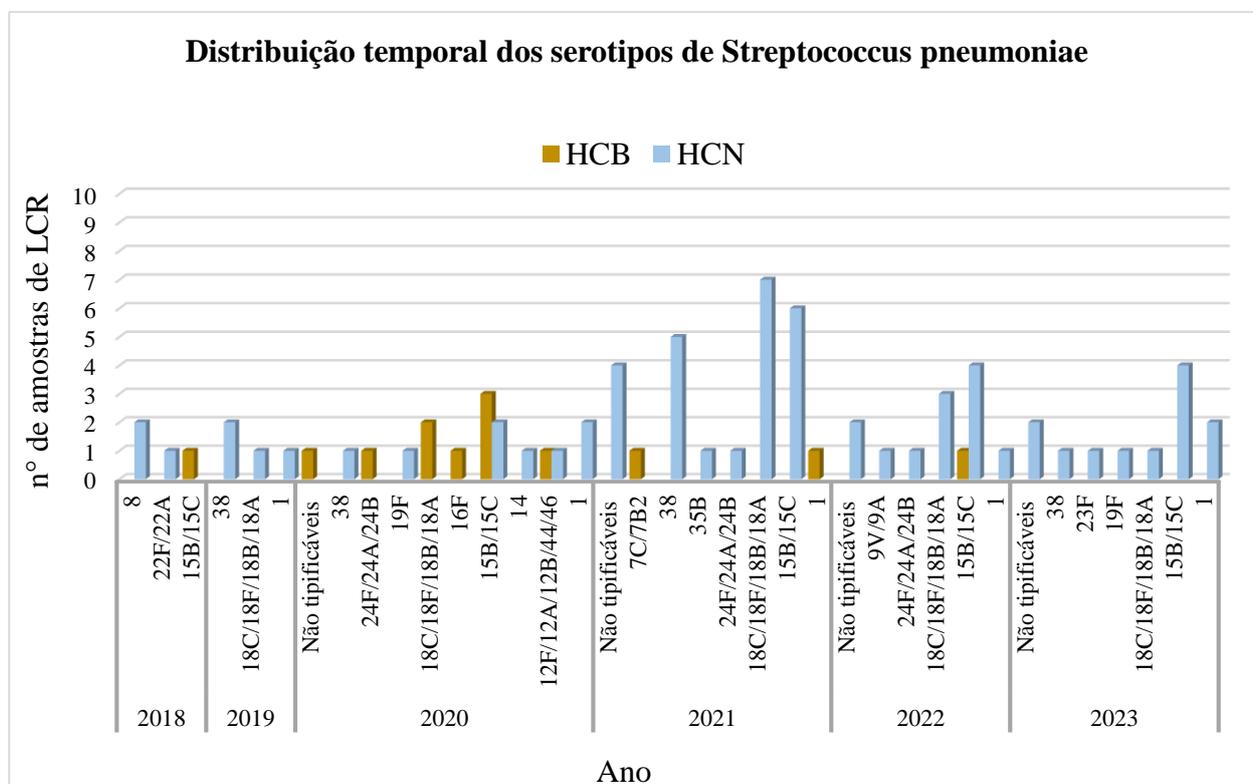


Figura 16. Distribuição temporal dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* entre 2018 e 2023.

9.3.3. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* e cobertura vacinal

Em relação à cobertura vacinal dos serotipos pneumocócicos identificados em crianças menores de 5 anos, os resultados do presente estudo evidenciam que a vacina PCV13 abrange apenas 34,2% dos serotipos identificados (18C/18F/18B/18A, 1, 19F, 9V/9A, 14, e 23F). Adicionalmente, os serotipos 4, 6B, 5, 7F, 3 e 6A, que também são cobertos pela PCV13, não foram identificados na população estudada.

Cerca de 65,8% dos serotipos identificados no presente estudo não são cobertos pela vacina PCV13, incluindo os serotipos, 15B/15C, 38, 24F/24A/24B, 12F/12A/12B/44/46, 8, 22F/22A, 35B, 16F e 7C/7B2 (Figura 18).

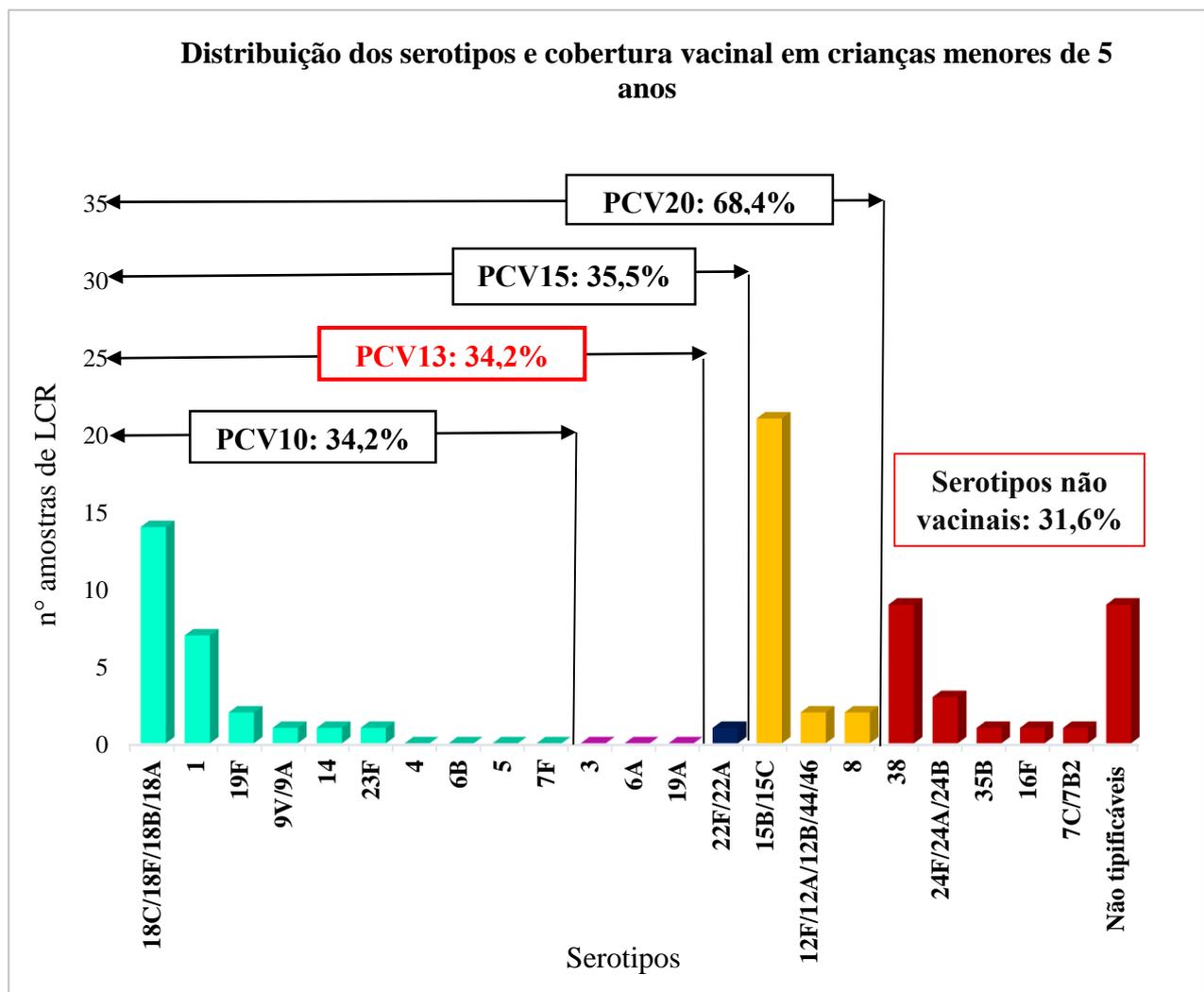


Figura 17. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* identificados em amostras de LCR de crianças menores de 5 anos entre 2018 e 2023.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

9.3.4. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* de acordo com o estado vacinal

As crianças vacinadas completamente (n=6; 7,9%), apresentaram a infecção por serotipos vacinais 18C/18F/18B/18A (n=3; 3,9%), assim como os serotipos não-PCV13, 24F/24A/24B (n=1; 1,3%) e 35B (n=1; 1,3%).

Os serotipos não cobertos pela PCV13; 15B/15C (n=3; 3,9%), 24F/24A/24B (n=1; 1,3%), 12F/12A/12B/44/46 (n=1; 1,3%), foram comuns em crianças com a vacinação incompleta (1 ou 2 doses), principalmente no HCN.

As crianças não vacinadas apresentaram principalmente a infecção pelo serotipo não-PCV13 15B/15C (n=2; 2,6%) e vacinal 9V/9A (n=1; 1,3%).

O serotipo 18C/18F/18B/18A foi comum em todos estados vacinais (Figura 19).

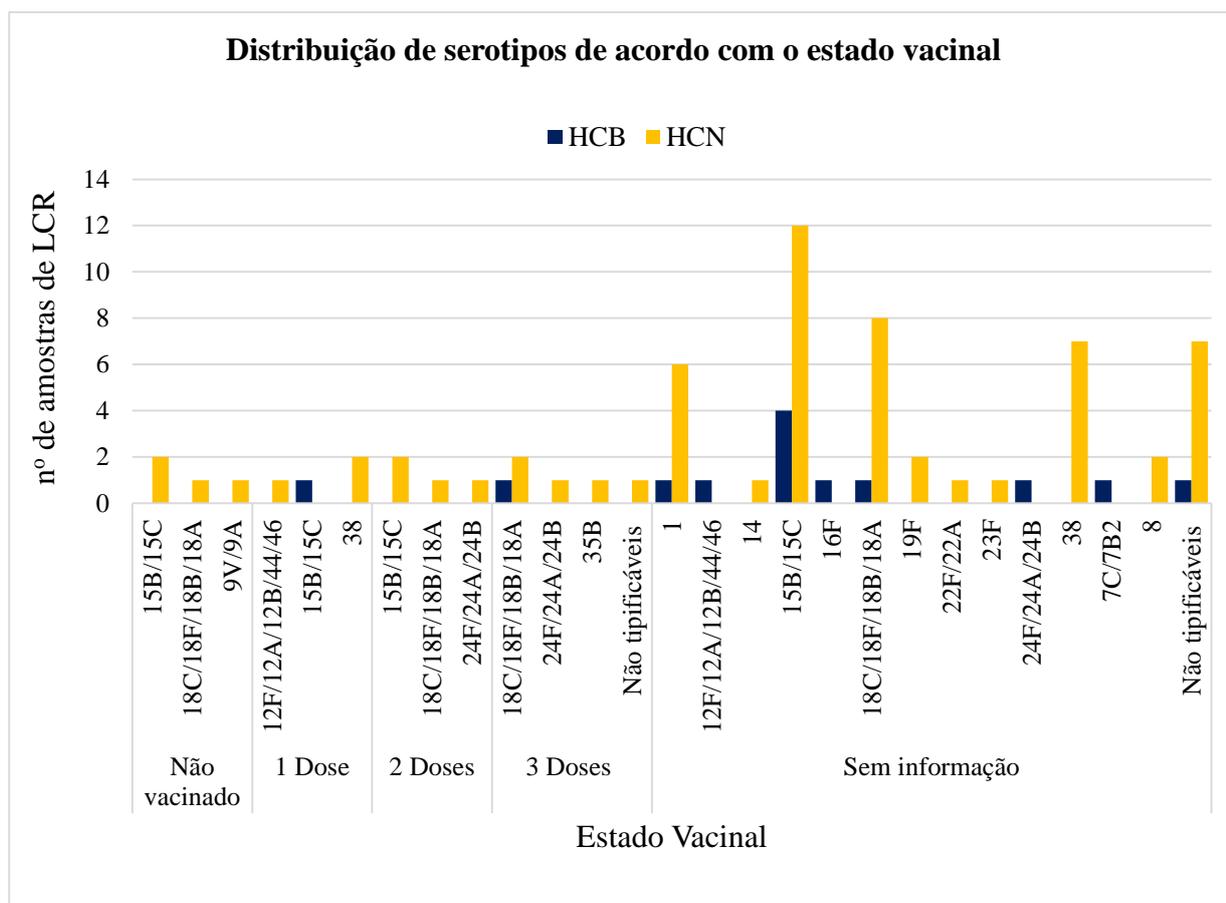


Figura 18. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* de acordo com o estado vacinal das crianças menores de 5 anos no HCB e HCN, entre 2018 e 2023.

10 Discussão

10.1. Frequência de *Streptococcus pneumoniae* em crianças menores de 5 anos no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula

O *S. pneumoniae* é a principal causa de morbimortalidade e sequelas neurológicas em crianças menores de 5 anos de idade com meningite em todo o mundo. Para prevenir e controlar doenças pneumocócicas, as vacinas pneumocócicas conjugadas foram desenvolvidas e implementadas em todo o mundo (Skar *et al.*, 2024).

Os achados do presente estudo evidenciam uma redução da frequência de meningite pneumocócica em crianças menores de 5 anos no Hospital Central da Beira (HCB) e Hospital Central de Nampula (HCN). Estudo anterior realizado por Nhantumbo *et al.* (2017), reportaram uma frequência maior de 32,8% (121/369) no período pós-PCV10. A redução da meningite pneumocócica foi também reportada em países como Quênia e Tanzânia, em crianças de 0 a 5 anos com uma taxa em torno de 60%, após a implementação da PCV13 em 2014, incluindo a incidência de infecções pneumocócicas invasivas, especialmente nas áreas urbanas com maior cobertura vacinal (WHO, 2022).

Em Burkina Faso, nos primeiros 2 anos após a introdução da PCV13, reportou-se uma redução substancial da meningite em aproximadamente 32% (Soeters *et al.*, 2019).

As reduções na incidência da doença pneumocócica invasiva já foram também relatadas na África do Sul, país vizinho de Moçambique, em 79% entre crianças <5 anos por 6 anos após a introdução do PCV13 e na Gâmbia em 55% entre crianças <2 anos por 3 anos pós-PCV13 (Mackenzie *et al.*, 2016).

As tendências de redução da meningite pneumocócica, com taxas variando de 30% a 70% foram reportadas anteriormente em alguns países da África Subsaariana, como na Camarões e Senegal, após a introdução da PCV13 (Faye *et al.*, 2019; Libwea *et al.*, 2021).

Os resultados descritos neste estudo corroboram também com os resultados reportados em diferentes países como Peru, Taiwan, China, Brasil e Estados Unidos, após a introdução de PCVs que indicam uma redução na taxa de meningite pneumocócica em torno de 40% a 89%. Adicionalmente, constataram a redução na taxa de hospitalização, morte e resistência antimicrobiana (Hu *et al.*, 2022; Huang *et al.*, 2023; Ochoa *et al.*, 2024). Embora a incidência de meningite por *S. pneumoniae* tenha diminuído globalmente devido às vacinas pneumocócicas, a ampliação da cobertura vacinal continua sendo crucial, especialmente em áreas vulneráveis.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

Além disso, estratégias adicionais, como diagnóstico precoce e tratamentos eficazes, são essenciais para reduzir a mortalidade e as sequelas neurológicas (Anglemyer *et al.*, 2024).

No HCN constatou-se maior número de casos de meningite por *S. pneumonia* (101), contra 20 obtidos do HCB. Resultados similares foram obtidos por Nhantumbo *et al.* (2015), que verificaram uma frequência alta da meningite pneumocócica no HCN (137/259, 52,9%). Adicionalmente, estes autores reportaram um aumento no número de casos de meningite por *S. pneumoniae* (n=20) no HCB entre 2013 e 2015, em relação ao estudo anterior realizado em três hospitais centrais do país que constatou 9 de 17 casos de meningite pneumocócica (Nhantumbo *et al.*, 2015). Todavia, os dados do presente estudo sobre a frequência da meningite precisam ser interpretados considerando a limitação do número de amostras obtidos no HCB (n=365) contra 2187 no HCN.

As crianças do sexo masculino apresentaram maior frequência de meningite pneumocócica. Achados semelhantes foram reportados no estudo de Frasson *et al.*, (2021) no estado do Rio Grande do Sul, que indicam maior incidência de casos de meningite do sexo masculino.

A maior prevalência de infecções graves por *S. pneumoniae* em crianças do sexo masculino segue uma tendência global, atribuída à maior susceptibilidade masculina a infecções bacterianas. Em contraste, indivíduos do sexo feminino costumam apresentar respostas imunológicas mais robustas, influenciadas por factores hormonais, genéticos e imunológicos, que também modulam a auto-imunidade e a resposta a doenças infecciosas (Dias *et al.*, 2022).

Dados publicados pela Sociedade de Pediatria de São Paulo (2024) apontam que, entre 2018 e 2023, 58,4% dos casos de meningite pneumocócica pediátrica no Brasil ocorreram no sexo masculino, com maior prevalência em crianças menores de 1 ano.

Os dados obtidos no presente estudo corroboram com os achados anteriores, pois a faixa etária de 0 a 11 meses mostrou a maior frequência de casos, reforçando a tendência de maior vulnerabilidade dessa faixa etária (Nhantumbo *et al.*, 2015).

A meningite pneumocócica, afecta principalmente crianças menores de 1 ano devido à imaturidade do sistema imunológico e barreiras fisiológicas ineficazes, como a barreira hematoencefálica. As crianças menores de 1 ano apresentam a maior incidência da doença e um risco elevado de complicações graves, mostrando a necessidade de maior protecção (Yau *et al.*, 2018).

10.2. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula entre 2018 e 2023

Em relação a distribuição dos serotipos, observou-se uma frequência menor de serotipos cobertos pela PCV13 (18C/18F/18B/18A, 19F, 9V/9A, 14 e 1). Os nossos achados são semelhantes aos descritos na Gâmbia, após a implementação da vacina PCV13, observou-se uma redução considerável das infecções causadas por serotipos de *S. pneumoniae* (Sanneh *et al.*, 2019).

Em Burkina Faso, foram identificados serotipos similares, entre crianças menores de 5 anos, 1, 18C/18F/18B/18A, 23F e 14, entre 2016 e 2017, destacando a prevalência de serotipos não cobertos pela vacina (Soeters *et al.*, 2019). No entanto, dados divergentes foram reportados por Kim *et al.* (2022) na Coreia, que indicam maior prevalência dos serotipos 10A (n=14, 32,6%), 19A (n=4, 9,3%) e 23B (n=4, 9,3%) em crianças menores de 5 anos no período pós-PCV13.

A distribuição dos serotipos após a introdução da PCV13 difere entre países. Na Tunísia, foram reportados os serotipos 14, 19F e 3; na Finlândia, 14, 3 e 23F; na Bulgária, 3 e 19F; na Eslovênia, uma variedade de serotipos como 14, 9V, 3, 7F, 19A e 1; e nos Estados Unidos, os serotipos 6B, 14, 19F, 23F, 3, 6A e 19A (Ktari *et al.*, 2023; Opavski *et al.*, 2023).

Os nossos achados mostram que os serotipos cobertos pela PCV13 nomeadamente: 5, 6A, 6B, 4, 3, e 19A, não foram identificados. No período em que a PCV10 estava em uso, os serotipos 5 (14,5%), 6A/6B (13,0%), 4 (4,3%), 3 (2,9%) e 19A (1,4%) foram os mais frequentes (Nhantumbo *et al.*, 2017). Esses dados sugerem que a PCV13 pode ter sido eficaz na redução ou eliminação de determinados serotipos predominantes no país (Li *et al.*, 2024).

Um estudo conduzido pela Unidade de Pesquisa Médica da Gâmbia (MRC Unit The Gambia) sobre o impacto da PCV13 no Hospital Real de Vitória em Banjul, constatou o desaparecimento dos serotipos 3, 4, 5, 6A/6B e 7F cobertos pela PCV13 (Soeters *et al.*, 2019). Em Burkina Faso, um estudo reportou resultados divergentes de presença de serotipos 3, 4, 5, 6A/6B e 7F/7, assim como a eliminação dos serotipos 19A, 19F e 9V/9A (Soeters *et al.*, 2019). Esses achados reflectem uma diversidade na distribuição de serotipos em diferentes países após a introdução da vacina (Li *et al.*, 2024).

Os dados do presente estudo evidenciam que a introdução da PCV13 em Moçambique reduziu os serotipos vacinais de *S. pneumoniae*, mas gerou o fenómeno de substituição de serotipos, principalmente devido ao surgimento de serotipos não cobertos pela PCV13. O processo de substituição de serotipos, ocorre quando os serotipos-alvo da vacina são eliminados, criando

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

espaço para a ocorrência de colonização e infecções por serotipos não-vacinais (Paton & Trappetti, 2019).

Em Moçambique, os serotipos não-vacinais identificados no presente estudo incluem: 15B/15C, 38, 24F/24A/24B, 12F/12A/12B/44/46, 8, 22F/22A, 35B, 16F e 7C/7B2 que já foram relatados antes da implementação da PCV13 (Nhantumbo *et al.*, 2017; Massora *et al.*, 2019). Um outro estudo realizado na África Ocidental, com foco na região subsaariana com objectivo de analisar mudanças na filogeografia e no resistoma das meningites pneumocócicas antes e após a introdução da vacina PCV, evidenciou um aumento na circulação de serotipos não vacinais, como 15B/15C, 12F, 24F e 35B, na África Subsaariana (Senghore *et al.*, 2021). Esses dados ressaltam a complexidade da epidemiologia dos serotipos pneumocócicos e a necessidade de vigilância contínua após a introdução das vacinas para orientação das medidas de tratamento e controlo das infecções (Amin-Chowdhury *et al.*, 2020).

A distribuição dos serotipos entre os hospitais revelou variações. No HCN foi observada uma maior prevalência de serotipos (15B/15C, 18C/18F/18B/18A, 38, 1 e não tipificáveis) e 15B/15C no HCB. Os serotipos 14, 19B, 22F/22A, 23F, 35B, 38, 8 e 9V/9A foram identificados somente no HCN e os serotipos 16F e 7C/7B2 no HCB. Em Moçambique, dados referentes ao período pré-PCV13, indicam que os serotipos 5, 9V, 6A, 12 e 1 são prevalentes no HCN, evidenciando uma divergência dos resultados obtidos e mudança na epidemiologia da infecção por meningite pneumocócica no País (Nhantumbo *et al.*, 2016).

O serotipo 15B/15C identificado em maior número no presente estudo, tendo sido reportado anteriormente no Hospital Central de Maputo, região sul do País mostrando a sua disseminação e importância do monitoramento contínuo dos serotipos causadores da meningite pneumocócica (Nhantumbo *et al.*, 2016; Schmitt & Oliveira, 2022).

A alta prevalência de serotipos não vacinais entre diferentes regiões geográficas reportada no presente estudo destaca a importância de estudos epidemiológicos abrangentes que reflectem a cobertura nacional para identificar novos serotipos emergentes e monitorar a sua prevalência (Perniciaro *et al.*, 2019).

A disseminação inter-regional de serotipos de *S. pneumoniae* pode ser afectada por diversos factores, como mobilidade populacional, cobertura vacinal, políticas de saúde pública e características ambientais (Moore *et al.*, 2019; Andrews & Whitney, 2020; Walker & Roberts, 2021; Schmitt & Oliveira, 2022).

10.2.1. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* de acordo com as faixas etárias

No presente estudo constatou-se uma alta prevalência dos serotipos 15B/15C, 18C/18F/18B/18A e 38 em crianças na faixa etária de 0 a 11 meses no HCN e dos 24 a 59 no HCB, excepto o serotipo 38. Achados discordantes foram obtidos no estudo realizado na Servia no qual entre crianças menores de 2 anos, os serotipos comuns foram 19F, 14, 6B e 6A; dos 2 a 5 anos, predominaram os serotipos 14, 19F, 6A e 3 (Opavski *et al.*, 2023).

Estudo realizado no Canada indica que diversos serotipos de *S. pneumoniae* afectam crianças menores de 5 anos, sendo os serotipos 6B, 14, 19F, 23F e 18C associados a infecções pneumocócicas invasivas principalmente em crianças com menos de 12 meses (Jodoïn *et al.*, 2020). Adicionalmente, outros estudos indicam que os serotipos 19A, 14, 6B, 23F e 7F são comuns, entre crianças dos 12 e 23 meses de idade, ressaltando a importância da vigilância local (Hsu *et al.*, 2019).

Um estudo realizado em Israel, observou uma prevalência dos serotipos 19A, 7F, 3, 22F e 6A em crianças na faixa etária de 24 a 59 meses, com variações influenciadas pela cobertura vacinal e pelo perfil epidemiológico (Dagan *et al.*, 2021).

A prevalência e distribuição dos serotipos variam conforme a idade, cobertura vacinal e período de vigilância (Nzoyikorera *et al.*, 2023).

10.2.2. Distribuição temporal dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae*

A distribuição temporal dos serotipos, revelou a emergência de serotipos não vacinais 15B/15C, 38, 24F/24A/24B, 12F/12A/12B/44/46, 35B e 16F entre 2020 e 2021, e por outro lado a redução dos serotipos vacinais entre 2018 e 2019. Estimativas da OMS (2024), indicam que a cobertura vacinal em Moçambique foi de 80% em 2018 e 2019, o que pode explicar a redução dos serotipos vacinais observados no presente estudo. Porém, a cobertura vacinal no País reduziu nos anos seguintes: 68% (2020), 56% (2021), 55% (2022) e 55% em 2023, o que pode fundamentar a alta frequência dos serotipos vacinais 18C/18F/18B/18A, assim como a emergência de serotipos não vacinais, principalmente os serotipos 15B/15C e 38 (OMS, 2024).

Existem diversos factores que podem contribuir para a baixa cobertura vacinal em países africanos, incluindo o tamanho da população, a localização das comunidades, a falta de estoques

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

de vacinas, além de instabilidade política e conflitos, restringem as actividades dos serviços de saúde (Bobo *et al.*, 2022). Estudo sobre barreiras à imunização infantil na África Subsaariana conduzido por Bangura e colaboradores., (2020), reportaram que a baixa cobertura de vacinação infantil é atribuída a barreiras enfrentadas pelos pais, como falta de conhecimento, dificuldades financeiras, distância dos pontos de vacinação, falta de apoio e desconfiança nos programas de imunização, assim como do sistema de saúde, limitações dos profissionais e infra-estruturas inadequadas que dificultam o armazenamento e fornecimento adequado das vacinas.

Os meios de comunicação social são destacados como ferramentas essenciais para sensibilizar e promover percepções positivas sobre a vacinação e os serviços de saúde (Bobo *et al.*, 2022).

Durante a pandemia da COVID-19, as actividades de imunização de rotina enfrentaram sérios riscos de interrupção devido à sobrecarga do sistema de saúde, à diminuição da demanda por vacinas em função das exigências do distanciamento físico (Lan *et al.*, 2023). Além disso, nos Estados Unidos, assim como em outros países diversos estudos apontaram um declínio nas doses de vacinação de rotina durante a pandemia (Santoli *et al.*, 2020). O medo de contrair o SARS-CoV-2 em ambientes médicos também pode ter desencorajado muitas famílias a buscar atendimento (Lan *et al.*, 2023).

10.2.3. Distribuição dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae* de acordo com a cobertura e estado vacinal

A cobertura da vacina PCV13 no presente estudo foi de 34,2% (18C/18F/18B/18A, 1, 19F, 9V, 9A, 14 e 23F). Estudos realizados antes da implementação da PCV13 no país, relataram uma cobertura em torno de 81,2% dos serotipos identificados (Nhamtumbo *et al.*, 2017), evidenciando uma redução de 47% dos serotipos cobertos pela PCV13.

Dados semelhantes foram verificados na África do Sul, onde a implementação de um esquema de vacinação com três doses, seguido por uma dose de reforço, demonstrou ser eficaz na rápida redução da carga de serotipos cobertos pela PCV13 (Gottberg *et al.*, 2014). Além disso, a imunização com as vacinas pneumocócicas no Peru resultou na diminuição da taxa de colonização por serotipos vacinais, o que proporcionou uma protecção indirecta à população, contribuindo para a redução geral da incidência de doenças pneumocócicas (Ochoa *et al.*, 2024).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

Os nossos resultados evidenciam uma predominância de serotipos não vacinais em 65,8%, destacando a necessidade de considerar vacinas mais abrangentes. Estudo conduzido por Paton & Trappetti, (2019), explica que a vacinação provoca mudança na distribuição dos serotipos mais frequentes. Devido à pressão selectiva causada pela vacina pneumocócica, os serotipos não-vacinais começaram a ocupar o nicho dos vacinais (Alterthum *et al.*, 2018).

As vacinas de maior valência contra *S. pneumoniae*, como a PCV15 (desenvolvida pela Merck) e a PCV20 (desenvolvida pela Pfizer), oferecem protecção contra serotipos como 22F/22A e outros serotipos identificados no estudo, incluindo 24F/24A/24B, 8 e 15B/15C (Méroc *et al.*, 2023). O serotipo 15B/15C foi o mais identificado no nosso estudo, destacando-se como um dos principais alvos para a vacinação (Amin-Chowdhury *et al.*, 2020).

As vacinas PCV15 e PCV20 oferecem protecção adicional em comparação com a PCV13. A PCV15 cobre os serotipos da PCV13, adicionando protecção contra 22F e 33F, enquanto a PCV20 inclui sete serotipos adicionais: 8, 10A, 11A, 12F, 15B, 22F e 33F, oferecendo uma cobertura mais ampla contra infecções pneumocócicas (Huang *et al.*, 2019). Os mesmos autores destacam que a introdução dessas vacinas de alta valência pode ter um impacto significativo na saúde pública, especialmente no programa de vacinação pediátrica na África do Sul.

Um estudo realizado na África do Sul, aponta que duas vacinas pneumocócicas de alta valência, a PCV15 e a PCV20 poderão estar disponíveis no país até 2024 ou 2025 (Huang *et al.*, 2019). Ambas vacinas ainda não foram incorporadas ao Programa Alargado de Vacinação em Moçambique, o que mostra a importância da vigilância contínua dos serotipos circulantes (Amin-Chowdhury *et al.*, 2020).

Os resultados obtidos neste estudo estão alinhados com os achados de Méroc *et al.*, (2023), pois destacam que, apesar do sucesso dos programas nacionais de vacinação pediátrica com PCVs, a meningite pneumocócica causada por serotipos não vacinais continua a ser uma preocupação.

O impacto das vacinas pneumocócicas é influenciado por diversos factores, incluindo a imunogenicidade, a eficácia e efectividade contra doenças, a taxa de transporte nasofaríngeo, as taxas de cobertura vacinal, o esquema vacinal utilizado, a qualidade da vigilância epidemiológica e a dinâmica de reposição de serotipos (Camacho-Moreno *et al.*, 2024). Estes factores devem ser controlados durante a implementação de novos programas de vacinação contra a meningite pneumocócica para garantir sua eficácia e o controlo adequado das infecções em Moçambique.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

As alterações na prevalência de serotipos ou o surgimento de novos serotipos na população podem ser atribuídas a modificações na estrutura genómica das regiões *cps* (loci específicos no genoma de *S. pneumoniae* que desempenham um papel crucial na biossíntese do polissacarídeo capsular). Essas alterações resultam em mudanças na antigenicidade da bactéria, conforme descrito por Sari *et al.*, (2024). Adicionalmente, destaca-se que diferentes serotipos de *S. pneumoniae* apresentam imunogenicidade variável, mesmo quando estão conjugados a proteínas transportadoras idênticas. Isso ocorre porque o sistema imunológico do hospedeiro reconhece e responde de maneira específica a cada serotipo, o que pode resultar em diferentes níveis de produção de anticorpos e em respostas variadas de células T de memória (Sari *et al.*, 2024).

Em relação ao estado vacinal, 7,9% de crianças vacinadas completamente apresentaram uma frequência dos serotipos 18C/18F/18B/18A (PCV13); 24F/24A/24B e 35B (não-PCV13). Todavia, resultados controversos descritos por Perniciaro *et al.*, (2019), indicam que crianças, com vacinação completa tiveram maiores chances de contrair uma doença pneumocócica invasiva pelo serotipo 10A, porém, crianças com vacinação completa tiveram maiores chances de desenvolver doenças pneumocócicas invasivas por serotipos não-vacinais como 12F, 10A, 15B e 15C.

Os nossos resultados destacam que 6,5% de crianças com vacinação incompleta apresentaram uma alta prevalência dos serotipos, 24F/24A/24B, 12F/12A/12B/44/46, 15B/15C e 38, não cobertos pela PCV13. Estudo realizado por Balsells *et al.*, (2017), sobre a distribuição de serotipos de *S. pneumoniae* no período pós-PCV13 em diversos países, indicam que crianças com vacinação incompleta apresentaram uma predominância dos serotipos 19A, 3, e 6A.

A vacinação incompleta pode levar a uma resposta imune insuficiente, podendo resultar em uma menor protecção contra os serotipos de *S. pneumoniae* incluídos na vacina (Jansen *et al.*, 2019), mostrando a necessidade do cumprimento da cobertura vacinal no país. A imunidade da PCV13 é cumulativa, pois cada dose fortalece a resposta imunológica (Jansen *et al.*, 2019). A primeira dose inicia o reconhecimento dos antígenos capsulares pelas células B; as doses subsequentes fortalecem a memória imunológica e a produção de anticorpos, além de activar células T auxiliares, garantindo uma protecção mais robusta e duradoura contra os sorotipos cobertos pela vacina (Balsells *et al.*, 2017).

As crianças não vacinadas apresentaram os serotipos 15B/15C (2,6%; não vacinal) e 9V/9A (1,3%; vacinal), entretanto, o serotipo 18C/18F/18B/18A foi comum em todos estados vacinais

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

no nosso estudo. Achados de López *et al.*, (2022), indicam que o estado de vacinação é um forte indicador de infecção, pois, crianças não vacinadas tiveram maiores chances de desenvolver infecções por serotipos 14, 19A, 19F, 6A, 6B e 7F. Adicionalmente, explicam que em algumas populações, a cobertura vacinal pode ser insuficiente, permitindo que serotipos como 18C/18F/18B/18A permaneçam e se espalhem entre crianças não totalmente vacinadas, contribuindo para a manutenção desses serotipos na comunidade.

Estudos realizados por Dagan *et al.*, (2023), ressaltam que crianças que já foram expostas a infecções naturais por serotipos 18 podem desenvolver uma forma de imunidade que não é completamente coberta pela vacinação, contribuindo para a prevalência desse serotipo na população pediátrica. Na Alemanha, verificou-se que as chances da ocorrência da meningite pneumocócica por serotipos vacinais foram maiores em crianças não vacinadas (Perniciaro *et al.*, 2019).

No entanto, estudos anteriores mostram que a imunização em massa pode proporcionar protecção indirecta, influenciando a prevalência dos serotipos tanto na população vacinada quanto na não vacinada, ao reduzir a transmissão do *S. pneumoniae* (Kalata *et al.*, 2019).

Os pacientes sem informação do estado vacinal (76,3%) apresentaram maior número de serotipos nomeadamente; 15B/15C, 18C/18F/18B/18A, 1, 38 e serotipos não tipificáveis. A ausência de registos vacinais pode dificultar a identificação de indivíduos em risco e a implementação de intervenções preventivas adequadas, ressaltando a necessidade de um sistema eficaz de monitoramento e educação em saúde para garantir que a população esteja ciente da importância da vacinação e de seu estado vacinal (Baker *et al.*, 2019).

Estudos demonstram que indivíduos sem conhecimento do seu estado vacinal têm maior probabilidade de estar expostos a uma variedade de serotipos de *S. pneumoniae*. Essa exposição pode resultar em infecções mais graves, uma vez que muitos serotipos não estão cobertos pelas vacinas disponíveis, aumentando assim a incidência da meningite (Lamberti *et al.*, 2018).

Após a introdução das vacinas conjugadas, a incidência de doenças pneumocócicas invasivas, como a meningite tem diminuindo em algumas partes do mundo. No entanto, é crucial continuar com a vigilância para monitorar o comportamento clínico e a prevalência de serotipos emergentes (Skar *et al.*, 2024).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

11. Conclusão

Este estudo avaliou a epidemiologia da meningite pneumocócica após a introdução da PCV13 em crianças menores de 5 anos e permitiu chegar às seguintes conclusões:

- a) Os nossos achados indicam uma redução da frequência de meningite pneumocócica, principalmente em crianças do sexo masculino na faixa etária dos 0 a 11 meses.
- b) Os serotipos de *S. pneumoniae* cobertos pela PCV13 mostram uma redução (19F, 9V, 14 e 1) e predominância de 18C/18F/18B/18A.
- c) Existência de alta frequência de serotipos não vacinais, 15B/15C, 38, 24F/24A/24B, 12F/12A/12B/44/46, 8, 16F, 22F/22A, 35B e 7C, principalmente no Hospital Central de Nampula.
- d) Existência de alta frequência dos serotipos 15B/15C, 18C/18F/18B/18A, 38 e não tipificáveis em crianças de 0 a 11 meses no HCN, com maior predominância em 2021.
- e) A faixa etária dos 24 a 59 meses foi mais afectada no HCB, havendo um aumento na detecção de serotipos em 2020 e predominância dos serotipos 15B/15C e 18C/18F/18B/18A.
- f) As crianças com vacinação completa e incompleta apresentaram infecções por serotipos vacinais e não vacinais, sendo o serotipo 18C/18F/18B/18A comum entre todos os grupos.

12. Limitações

Apesar dos achados importantes deste estudo, algumas limitações foram observadas:

- a) Número reduzido de amostras proveniente do Hospital Central da Beira (que foi 6 vezes menor) relativamente às amostras obtidas do Hospital Central de Nampula.

- b) Falta de dados demográficos e clínicos como a idade, género e estado vacinal, decorrente do sub-registo nos formulários de notificação de casos, o que contribuiu para a exclusão de amostras e inconsistências na análise da distribuição dos serotipos de acordo com o estado vacinal.

13. Recomendações

A meningite pneumocócica em crianças é uma condição grave que pode ser efectivamente controlada através de estratégias de prevenção e tratamento adequadas. Nossos achados mostram a necessidade de:

- I. Desenvolvimento de estratégias de prevenção e consciencialização para a imunização completa de crianças menores de 5 anos, que devem focar em sensibilizar pais, profissionais de saúde, educadores e líderes comunitários sobre a importância da vacinação através de:
 - ✓ **Campanhas de sensibilização pública:** divulgação de informações sobre a importância da vacinação por meio de redes sociais, rádios, eventos comunitários, distribuição de materiais educativos em hospitais, escolas e locais público;
 - ✓ **Treinamento de profissionais de saúde:** capacitação de médicos e enfermeiros para orientar pais sobre os benefícios da vacinação, bem como o fornecimento de materiais didáticos para uso durante consultas pediátricas;
 - ✓ **Mobilização de líderes comunitários e religiosos:** envolvimento de líderes locais para disseminar informações em suas comunidades e inclusão de mensagens de saúde pública em eventos religiosos e comunitários;
 - ✓ **Garantia de acesso à vacinação:** implementação de campanhas móveis em áreas rurais e remotas.
- II. Monitoria contínua da emergência de novos serotipos e avaliação da eficácia das vacinas na prevenção da meningite pneumocócica.
- III. Realização de mais estudos sobre a epidemiologia da meningite ao nível do País para geração de evidências para a recomendação da introdução da vacina PCV20.

14. Referências bibliográficas

1. Afshar, D., Rafiee, F., Kheirandish, M., Ohadian Moghadam, S., & Azarsa, M. (2020). Autolysin (lytA) recombinant protein: A potential target for developing vaccines against pneumococcal infections. *Clinical and Experimental Vaccine Research*, 9(2), 76–80. <https://doi.org/10.7774/cevr.2020.9.2.76>
2. Akkoyunlu, M. (2024). State of pneumococcal vaccine immunity. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 20(1), 2336358. <https://doi.org/10.1080/21645515.2024.2336358>.
3. Ali, S. A., Taj, M. K., & Ali, S. H. (2021). Antimicrobial Resistance Pattern of Bacterial Meningitis Among Patients in Quetta, Pakistan. *Infection and Drug Resistance*, 14, 5107–5120. <https://doi.org/10.2147/IDR.S339231>.
4. Almeida, S. C. G. (2018). Distribuição de sorotipos, perfil de suscetibilidade antimicrobiana e caracterização molecular de cepas de *Streptococcus pneumoniae* isoladas de doença pneumocócica invasiva nos períodos pré e pós a introdução da vacina pneumocócica 10-valente no Brasil. Doutorado em Ciências. São Paulo.
5. Amoêdo, A. C. T. (2017). Vacinação Pneumocócica em Idosos. Tese de Mestrado. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz. 79.
6. Amin-Chowdhury, Z., Collins, S., Sheppard, C., Litt, D., Fry, N. K., Andrews, N., & Ladhani, S. N. (2020). Characteristics of Invasive Pneumococcal Disease Caused by Emerging Serotypes After the Introduction of the 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine in England: A Prospective Observational Cohort Study, 2014–2018. *Clinical Infectious Diseases*, 71(8), e235–e243. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa043>
7. Andrews, S. M., van der Meulen, E. M., & Whitney, K. P. (2020). Public health interventions and their impact on pneumococcal serotype distribution across regions. *Clinical Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa504>
8. Anglemyer, A., Ren, X., Gilkison, C., Kumbaroff, Z., Morgan, J., DuBray, K., Tiong, A., Reingold, A., & Walls, T. (2024). The impact of pneumococcal serotype replacement on the effectiveness of a national immunization program: A population-based active surveillance cohort study in New Zealand. *The Lancet Regional Health: Western Pacific*, 46, 101082. <https://doi.org/10.1016/j.lanwpc.2024.101082>.
9. Anil, A., & Banerjee, A. (2020). Pneumococcal Encounter With the Blood-Brain Barrier Endothelium. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 590682. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.590682>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

10. Bakaletz, L. O., Klos, A. E., & Smith, D. J. (2018). "*Streptococcus pneumoniae*: A major respiratory pathogen." *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 413, 1-20. https://doi.org/10.1007/82_2018_116
11. Barichello, T., Collodel, A., Hasbun, R., & Morales, R. (2019). An Overview of the Blood-Brain Barrier. In T. Barichello (Ed.), *Blood-Brain Barrier* (pp. 1–8). Springer.
12. Barocchi, M. A., Rizzo, A., Catania, M. R., & Lazzarini, M. (2023). "Pneumococcal Surface Antigens and Their Role in Host Pathogenesis and Vaccine Development." *Frontiers in Microbiology*, 14, 960951. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.960951>.
13. Bar-Zeev, N., Swarthout, T. D., Everett, D. B., Alaerts, M., Msefula, J., Brown, C., Bilima, S., Mallewa, J., King, C., von Gottberg, A., Verani, J. R., Whitney, C. G., Mwansambo, C., Gordon, S. B., Cunliffe, N. A., French, N., & Heyderman, R. S. (2021). Impact and effectiveness of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on population incidence of vaccine and non-vaccine serotype invasive pneumococcal disease in Blantyre, Malawi, 2006–18: Prospective observational time-series and case-control studies. *The Lancet. Global Health*, 9(7), e989–e998.
14. Balsells, E., Guillot, L., Nair, H., Kyaw, M. H., & Hay, A. D. (2017). Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in children in the post-PCV era: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 12(5), e0177113.
15. Bangura, J. B., Xiao, S., Qiu, D., Ouyang, F., & Chen, L. (2020). Barriers to childhood immunization in sub-Saharan Africa: A systematic review. *BMC Public Health*, 20(1), Article 1. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09169-4>.
16. Bijlsma, M. W., Brouwer, M. C., Kasanmoentalib, E. S., Kloek, A. T., Lucas, M. J., Tanck, M. W., van der Ende, A., & van de Beek, D. (2016). Community-acquired bacterial meningitis in adults in the Netherlands, 2006-14: A prospective cohort study. *The Lancet. Infectious Diseases*, 16(3), 339–347.
17. Bobo, F. T., Asante, A., Woldie, M., Dawson, A., & Hayen, A. (2022). Child vaccination in sub-Saharan Africa: Increasing coverage addresses inequalities. *Vaccine*, 40(1), 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.11.005>.
18. Brady, A. M., McCoy, J. M., O'Brien, S. C., & Mavrakis, E. (2020). "Immune evasion strategies of *Streptococcus pneumoniae*." *Nature Reviews Microbiology*, 18(6), 350-364. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0385-6>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

19. Briles, D. E., Paton, J. C., Mukerji, R., Swiatlo, E., & Crain, M. J. (2019). Pneumococcal Vaccines. *Microbiology Spectrum*, 7(6), 7.6.2. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0028-2018>.
20. Brooks, L. R. K., & Mias, G. I. (2018). *Streptococcus pneumoniae*'s Virulence and Host Immunity: Aging, Diagnostics, and Prevention. *Frontiers in Immunology*, 9, 1366.
21. Brouwer, M. C., McIntyre, P., Prasad, K., & van de Beek, D. (2015). Corticosteroids for acute bacterial meningitis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2015(9), CD004405. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004405.pub5>.
22. Brueggemann, A. B., Jansen van Rensburg, M. J., Shaw, D., McCarthy, N. D., Jolley, K. A., Maiden, M. C. J., van der Linden, M. P. G., Amin-Chowdhury, Z., Bennett, D. E., Borrow, R., Brandileone, M.-C. C., Broughton, K., Campbell, R., Cao, B., Casanova, C., Choi, E. H., Chu, Y. W., Clark, S. A., Claus, H., ... Zhou, F. (2021). Changes in the incidence of invasive disease due to *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Neisseria meningitidis* during the COVID-19 pandemic in 26 countries and territories in the Invasive Respiratory Infection Surveillance Initiative: A prospective analysis of surveillance data. *The Lancet. Digital Health*, 3(6), e360–e370.
23. Bundy, L. M., & Noor, A. (2022). Neonatal Meningitis. In: *Stat Pearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
24. Caiyun, W., Hongmei, X., Gang, L., Jing, L., Hui, Y., Biquan, C., Wei, Z., Min, S., Lijun, D., Zhiwei, X., Lisu, H., Haibo, L., Dong, W., Songting, B., Qingwen, S., Chunhui, Z., Jianmei, T., Jianhua, H., Aiwei, L., Daojiong, L., Jinzhun, W., Xinhua, Z., Qing, C., Zhongbin, T., Yuan, C., Guolong, Z., Ping, X., Zhengzhen, T., Xuewen, S., Zhenghai, Q., Shiyong, Z., Lin, P., Huiling, D., Sainan, T.S and Yinghu, C (2024). A multi-center epidemiological study on pneumococcal meningitis in children from 2019 to 2020. 26(2): 131–138. Chinese. doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2308090.
25. Camacho-Moreno, G., Leal, A. L., Patiño-Niño, J., Vasquez-Hoyos, P., Gutiérrez, I., Beltrán, S., Álvarez-Olmos, M. I., Mariño, A.-C., Londoño-Ruiz, J. P., Barrero, R., Rojas, J. P., Espinosa, F., Arango-Ferreira, C., Suarez, M. A., Trujillo, M., López-Medina, E., López, P., Coronell, W., Ramos, N., ... Moreno, V. M. (2024). Serotype distribution, clinical characteristics, and antimicrobial resistance of pediatric invasive pneumococcal disease in Colombia during PCV10 mass vaccination (2017–2022). *Frontiers in Medicine*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1380125>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

26. Campos, A. F. (2022). Impacto de um programa de intervenção para uso racional de antimicrobianos associados ao diagnóstico rápido em infecções de corrente sanguínea por bacilos gram-negativos [Doutorado em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Universidade de São Paulo]. <https://doi.org/10.11606/T.5.2022.tde-17042023-110531>.
27. Cardoso, N. T. (2018). Impacto das Vacinas Pneumocócicas Conjugadas na Colonização por *Streptococcus pneumoniae* em Crianças e Adultos Assistidos em Instituições de Saúde em Niterói/Rj. Programa De Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas.107. Universidade Federal Fluminense Instituto Biomédico.
28. Cillóniz, C., Garcia-Vidal, C., Ceccato, A., & Torres, A. (2018). Antimicrobial Resistance Among *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Resistance in the 21st Century*, 13. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78538-7_2
29. Chan, K.-P. F., Ma, T.-F., Ip, M. S.-M., & Ho, P.-L. (2021). Invasive pneumococcal disease, pneumococcal pneumonia and all-cause pneumonia in Hong Kong during the COVID-19 pandemic compared with the preceding 5 years: A retrospective observational study. *BMJ Open*, 11(10), e055575.
30. Chang, B., Kinjo, Y., Morita, M., Tamura, K., Watanabe, H., Tanabe, Y., Kuronuma, K., Fujita, J., Oshima, K., Maruyama, T., Abe, S., Kasahara, K., Nishi, J., Kubota, T., Ohnishi, M., Suga, S., & Oishi, K. (2021). Distribution and Variation of Serotypes and Pneumococcal Surface Protein A Clades of *Streptococcus pneumoniae* Strains Isolated From Adult Patients With Invasive Pneumococcal Disease in Japan. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 617573. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.617573>.
31. Chen, C., Cervero Licerias, F., Flasche, S., Sidharta, S., Yoong, J., Sundaram, N., & Jit, M. (2018). Effect and cost-effectiveness of pneumococcal conjugate vaccination: A global modelling analysis. *The Lancet. Global Health*, 7(1), e58–e67. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30422-4](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30422-4).
32. Chikhaoui, A., Nzoyikorera, N., Diawara, I., Juhadi, Z., & Zerouali, K. (2022). Burden of invasive pneumococcal disease in children in Casablanca, Morocco four years after the introduction of pneumococcal vaccination. *The Pan African Medical Journal*, 41, 2. <https://doi.org/10.11604/pamj.2022.41.2.29449>.
33. Cole, J., Aberdein, J., Jubrail, J., & Dockrell, D. H. (2014). The role of macrophages in the innate immune response to *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*: Mechanisms and contrasts. *Advances in Microbial Physiology*, 65, 125–202. <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2014.08.004>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

34. Corcoran, M., Vickers, I., Mereckiene, J., Murchan, S., Cotter, S., Fitzgerald, M., Mcelligott, M., Cafferkey, M., O'flanagan, D., Cunney, R., & Humphreys, H. (2017). The epidemiology of invasive pneumococcal disease in older adults in the post-PCV era. Has there been a herd effect? *Epidemiology & Infection*, 145(11), 2390–2399. <https://doi.org/10.1017/S0950268817001194>.
35. Dagan, R., Givon-Lavi, N., & Shadmi, E. (2023). "Pneumococcal conjugate vaccine impact on serotype distribution and antibiotic resistance in children." *Clinical Infectious Diseases*, 76(1), 45-52. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab670>.
36. Da Silva, L. R., de Arruda, L. E. S., Barreto, I. de J. B., de Aragão, J. V. R., da Silva, M. L. F. I., Lira, G., Teixeira, C. M. B., & de Oliveira, E. C. A. (n.d.). Geography and public health: Analysis of the epidemiological dynamics of meningitis in Brazil, between 2010 and 2019. *Revista Brasileira de Epidemiologia (Brazilian Journal of Epidemiology)*, 27, e240031. <https://doi.org/10.1590/1980-549720240031>.
37. Dao, T. H., Echlin, H., McKnight, A., Marr, E. S., Junker, J., Jia, Q., Hayden, R., van Opijnen, T., Isberg, R. R., Tanoeiro, V. S., & Rosch, J. W. (2024). *Streptococcus pneumoniae* favors tolerance via metabolic adaptation over resistance to circumvent fluoroquinolones. *mBio*, 15(2), e02828-23. <https://doi.org/10.1128/mbio.02828-2>.
38. Davies, N. G., Flasche, S., Jit, M., & Atkins, K. E. (2021). Modeling the effect of vaccination on selection for antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Science Translational Medicine*, 13(606), eaaz8690. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaz8690>
39. De Souza, M. B., De Carvalho, E., Cergole-Novella, M. C., Molinari, D. A., Colpas, D. R., Dos Santos Carmo, A. M., Dos Santos Menezes Gaiotto Daros, V., & De Campos, I. B. (2023). Multiplex PCR to *Streptococcus pneumoniae* serotype identification directly in cerebrospinal fluid samples. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 42(3), 255–266. <https://doi.org/10.1007/s10096-023-04547-3>.
40. De Oliveira, J. L. H., A. M. P. Soares, R. R. S. Lima, e T. M. F. Nascimento (2022). "Impact of sample volume and extraction methods on the detection of low-abundance DNA targets." *Journal of Microbiological Methods*, 198, 106570.
41. Demczuk, W., Martin, I., Griffith, A., Lefebvre, B., McGeer, A., Tyrrell, G. J., Rio Zhanel, G. G., Kus, J. V., Hoang, L., Minion, Van Caesele, Gad, R. R., Haldane, D., Zahariadis, Mead, Steven, L., Strudwick, L., & Mulvey, M. R. (2022). Linear Regression Equations To Predict β -Lactam, Macrolide, Lincosamide, and Fluoroquinolone MICs from Molecular

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

- Antimicrobial Resistance Determinants in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(1), e01370-21.
42. Devine, V. T., Jefferies, J. M., Clarke, S. C., & Faust, S. N. (2015). Nasopharyngeal Bacterial Carriage in the Conjugate Vaccine Era with a Focus on Pneumococci. *Journal of Immunology Research*, 2015, 394368. <https://doi.org/10.1155/2015/394368>.
43. Dias, S. P., Brouwer, M. C., & van de Beek, D. (n.d.). Sex and Gender Differences in Bacterial Infections. *Infection and Immunity*, 90(10), e00283-22. <https://doi.org/10.1128/iai.00283-22>.
44. Dion, C. F., & Ashurst, J. V. (2022). *Streptococcus pneumoniae*. In StatPearls. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470537/>.
45. Do Nascimento, D.C (2023). Meningite Meningocócica C: avaliação da incidência da doença na faixa etária pediátrica no nordeste brasileiro após a introdução da vacina meningocócica C conjugada pelo Programa Nacional de Imunizações do Sistema Único de Saúde. *Brazilian Journal of Development*, v. 9, n. 8, p. 25194-25206, 2023.
46. Dos Santos, S. R., Passadore, L. F., Takagi, E. H., Fujii, C. M., Yoshioka, C. R. M., Gilio, A. E., & Martinez, M. B. (2013). Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolated from patients with invasive pneumococcal disease in Brazil before and after ten-pneumococcal conjugate vaccine implementation. *Vaccine*, 31(51), 6150–6154.
47. Du, Q., Shi, W., Yu, D., & Yao, K. (n.d.). Epidemiology of non-vaccine serotypes of *Streptococcus pneumoniae* before and after universal administration of pneumococcal conjugate vaccines. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 17(12), 5628–5637. <https://doi.org/10.1080/21645515.2021.1985353>.
48. Faye, P. M., Sonko, M. A., Diop, A., Thiongane, A., Ba, I. D., Spiller, M., Ndiaye, O., Dieye, B., Mwenda, J. M., Sow, A. I., Diop, B., Diallo, A., & Farrar, J. L. (2019). Impact of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine on Meningitis and Pneumonia Hospitalizations in Children aged <5 Years in Senegal, 2010–2016. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 69(Suppl 2), S66–S71. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz457>.
49. Frasson, A., Oliveira, P. R., & Silva, R. M. (2021). Meningite pneumocócica: Estudo epidemiológico no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 30(1), 1-10.
50. Felix, C. R. T., Soares, L. D. S., Silva, A. V. D. N. D., Farias Filho, A. M. D. S., Alves, S. I. A., Silva, J. C. C. D., Uesugi, J. H. E., & Ferreira, L. A. (2024). Prevalência, faixa etária

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

- e etiologia de meningite de 2011 a 2020 no Pará/Brasil. *Brazilian Journal of Health Review*, 7(2), e68563. <https://doi.org/10.34119/bjhrv7n2-245>.
51. Fernandez, R., & Sakurada, R. Y. (2023). Análise Etiológica, Epidemiológica e Evolutiva dos Casos de Meningite no Município de Cascavel-PR. *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, 5(3), 501–529. <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2023v5n3p501-529>.
52. Ganaie, F., Saad, J. S., McGee, L., van Tonder, A. J., Bentley, S. D., Lo, S. W., Gladstone, R. A., Turner, P., Keenan, J. D., Breiman, R. F., & Nahm, M. H. (2020). A New Pneumococcal Capsule Type, 10D, is the 100th Serotype and Has a Large cps Fragment from an Oral Streptococcus. *MBio*, 11(3), e00937-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.00937-20>.
53. García-Vidal, C., *et al.* (2021). Clinical utility of antigen detection tests for the diagnosis of pneumonia and meningitis. *Journal of Infection*. doi:10.1016/j.jinf.2021.04.007.
54. GBD 2016 Lower Respiratory Infections Collaborators. (2018). Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet. Infectious Diseases*, 18(11), 1191–1210. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30310-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30310-4).
55. GBD 2016 Meningitis Collaborators. (2018). Global, regional, and national burden of meningitis, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet. Neurology*, 17(12), 1061–1082. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30387-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30387-9).
56. Geno, K. A., Gilbert, G. L., Song, J. Y., Skovsted, I. C., Klugman, K. P., Jones, C., Konradsen, H. B., & Nahm, M. H. (2015). Pneumococcal Capsules and Their Types: Past, Present, and Future. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 871–899. <https://doi.org/10.1128/CMR.00024-15>.
57. Gil, E., Wall, E., Noursadeghi, M., & Brown, J. S. (2023). *Streptococcus pneumoniae* meningitis and the CNS barriers. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2022.1106596>.
58. Giridharan, V. V., Generoso, J. S., Collodel, A., Dominguni, D., Faller, C. J., Tardin, F., Bhatti, G. S., Petronilho, F., Dal-Pizzol, F., & Barichello, T. (2021). Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) Mediates Cognitive Impairment Triggered by

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

- Pneumococcal Meningitis. Neurotherapeutics, 18(1), 640–653. <https://doi.org/10.1007/s13311-020-00917-3>.
59. Goldberg, D. W., Tenforde, M. W., Mitchell, H. K., & Jarvis, J. N. (2018). Neurological Sequelae of Adult Meningitis in Africa: A Systematic Literature Review. *Open Forum Infectious Diseases*, 5(1), ofx246. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofx246>.
60. Gottberg, A. Von, Gouveia, L. de, Tempia, S., Quan, V., Meiring, S., Mollendorf, C. von, Madhi, S. A., Zell, E. R., Verani, J. R., O'Brien, K. L., Whitney, C. G., Klugman, K. P., & Cohen, C. (2014). Effects of Vaccination on Invasive Pneumococcal Disease in South Africa. *New England Journal of Medicine*, 371(20), 1889–1899. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1401914>.
61. Grando, I. M. (2013). Enfermedad Neumococica Invasiva: mecanismos moleculares de patogenicidade y proteccion. Tese de Doutoramento. Universidad Complutense de Madrid.
62. Griffiths, M. J., McGill, F., & Solomon, T. (2018). Management of acute meningitis. *Clinical Medicine (London, England)*, 18(2), 164–169. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.18-2-164>.
63. Hakenbeck, R., Brückner, R., Denapaite, D., & Maurer, P. (2012). Molecular mechanisms of β -lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Future Microbiology*, 7(3), 395–410. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.2>.
64. Harboe, Z. B., Benfield, T., & Skov, M. N. (2023). "The effect of pneumococcal vaccination on serotype replacement in children: A longitudinal study." *Frontiers in Microbiology*, 14, 842017. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.842017>.
65. Hasbun, R., Rosenthal, N., Balada-Llasat, J. M., Chung, J., Duff, S., Bozzette, S., Zimmer, L., & Ginocchio, C. C. (2017). Epidemiology of Meningitis and Encephalitis in the United States, 2011-2014. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 65(3), 359–363. <https://doi.org/10.1093/cid/cix319>.
66. Hsu, H. E., Shutt, K. A., Moore, M. R., & Whitney, C. G. (2019). Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* serotypes causing invasive disease in children. *Journal of the American Medical Association*, 321(16), 1561-1569.
67. Hersi, K., Gonzalez, F. J., & Kondamudi, N. P. (2024). Meningitis. In StatPearls. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459360/>.
68. Hirose, T. E. (2014). Análise De Casos De Meningite Pneumocócica No Estado Do Paraná. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Do Paraná. 134.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

69. Hu, T., Song, Y., Done, N., Liu, Q., Sarpong, E. M., Lemus-Wirtz, E., Signorovitch, J., Mohanty, S., & Weiss, T. (2022). Incidence of invasive pneumococcal disease in children with commercial insurance or Medicaid coverage in the United States before and after the introduction of 7- and 13-valent pneumococcal conjugate vaccines during 1998–2018. *BMC Public Health*, 22, 1677. <https://doi.org/10.1186/s12889-022-14051-6>
70. Huang, L.-D., Yang, M.-J., Huang, Y.-Y., Jiang, K.-Y., Yan, J., & Sun, A.-H. (2022). Molecular Characterization of Predominant Serotypes, Drug Resistance, and Virulence Genes of *Streptococcus pneumoniae* Isolates From East China. *Frontiers in Microbiology*, 13, 892364. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.892364>.
71. Huang, M., Cai, S., & Su, J. (2019). The Pathogenesis of Sepsis and Potential Therapeutic Targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(21), 5376. <https://doi.org/10.3390/ijms20215376>.
72. Huang, H., Lin, C.-Y., Chiu, N.-C., Huang, D. T.-N., Huang, C.-Y., & Chi, H. (2023). Antimicrobial susceptibility and serotype replacement of *Streptococcus pneumoniae* in children before and after PCV13 introduction in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 56(2), 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2022.08.018>.
73. Humphries, R., Bobenchik, A. M., Hindler, J. A., & Schuetz, A. N. (n.d.). Overview of Changes to the Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100, 31st Edition. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(12), e00213-21. <https://doi.org/10.1128/JCM.00213-21>.
74. Hyams, C., Trzcinski, K., Camberlein, E., Weinberger, D. M., Chimalapati, S., Noursadeghi, M., Lipsitch, M., & Brown, J. S. (2013). *Streptococcus pneumoniae* capsular serotype invasiveness correlates with the degree of factor H binding and opsonization with C3b/iC3b. *Infection and Immunity*, 81(1), 354–363. <https://doi.org/10.1128/IAI.00862-12>
75. Ikumapayi, U. N., Hill, P. C., Hossain, I., Olatunji, Y., Ndiaye, M., Badji, H., Manjang, A., Salaudeen, R., Ceesay, L., Adegbola, R. A., Greenwood, B. M., & Mackenzie, G. A. (2022). Childhood meningitis in rural Gambia: 10 years of population-based surveillance. *PLoS ONE*, 17(8), e0265299. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265299>.
76. Iovino, F., Engelen-Lee, J.-Y., Brouwer, M., van de Beek, D., van der Ende, A., Valls Seron, M., Mellroth, P., Muschiol, S., Bergstrand, J., Widengren, J., & Henriques-Normark, B. (2017). pIgR and PECAM-1 bind to pneumococcal adhesins RrgA and PspC mediating bacterial brain invasion. *The Journal of Experimental Medicine*, 214(6), 1619–1630. <https://doi.org/10.1084/jem.20161668>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

77. Iregbu, K. C., & Abdullahi, N. (2015). Profiles of acute bacterial meningitis isolates in children in National Hospital, Abuja. *Nigerian Medical Journal*, 56(4): 297-300.
78. Iroh Tam, P.-Y., Thielen, B. K., Obaro, S. K., Brearley, A. M., Kaizer, A. M., Chu, H., & Janoff, E. N. (2017). Childhood pneumococcal disease in Africa – a systematic review and meta-analysis of incidence, serotype distribution, and antimicrobial susceptibility. *Vaccine*, 35(15), 1817–1827. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.02.045>.
79. Isaacman, D. J., McIntosh, E. D., & Reinert, R. R. (2010). Burden of invasive pneumococcal disease and serotype distribution among *Streptococcus pneumoniae* isolates in young children in Europe: Impact of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and considerations for future conjugate vaccines. *International Journal of Infectious Diseases*, 14(3), e197–e209. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2009.05.010>.
80. Jaber, Z. K., Al-Deresawi, M. S., & Matrood, A. A. (2023). Mutation in Ompk35 are Evolution Pathway in Antibiotic Resistance. *HIV Nursing*, 23(1), 830–835.
81. Jansen, A. G. S., van der Ende, A., & de Greeff, S. C. (2019). Impact of incomplete vaccination on the incidence of invasive pneumococcal disease in children. *Vaccine*, 37(11), 1507-1512. doi:10.1016/j.vaccine.2019.01.058.
82. Jia, J., Shi, W., Dong, F., Meng, Q., Yuan, L., Chen, C., & Yao, K. (2022). Identification and molecular epidemiology of routinely determined *Streptococcus pneumoniae* with negative Quellung reaction results. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(4), e24293. <https://doi.org/10.1002/jcla.24293>.
83. Jerse, A. E., Kline, K. A., Cerny, T. L., & Doran, K. S. (2022). "Evaluation of Pneumococcal Surface Protein B (PspB) as a Vaccine Target in *Streptococcus pneumoniae*." *Vaccine*, 40(2), 275-284. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.11.032>.
84. Jodoin, S., Gauthier, L., Gray, S., & Boucher, D. (2020). "Serotypes of *Streptococcus pneumoniae* affecting children under 5 years old and their association with invasive pneumococcal infections." *Journal of Clinical Microbiology*, 58(7): e00278-20.
85. Joyce, L. R., Kim, S., Spencer, B. L., Christensen, P. M., Palmer, K. L., Guan, Z., Siegenthaler, J. A., & Doran, K. S. (2024). *Streptococcus agalactiae* glycolipids promote virulence by thwarting immune cell clearance. *Science Advances*, 10(22), eadn7848. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adn7848>.
86. Kalata, N. L., Nyazika, T. K., Swarthout, T. D., Everett, D., French, N., Heyderman, R. S., Gordon, S. B., & Jambo, K. C. (2019). Pneumococcal pneumonia and carriage in Africa before and after introduction of pneumococcal conjugate vaccines, 2000–2019: Protocol for

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

- systematic review. *BMJ Open*, 9(11), e030981. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-030981>.
87. Káňová, E., Tkáčová, Z., Bhide, K., Kulkarni, A., Jiménez-Munguía, I., Mertinková, P., Drážovská, M., Tyagi, P., & Bhide, M. (2019). Transcriptome analysis of human brain microvascular endothelial cells response to *Neisseria meningitidis* and its antigen MafA using RNA-seq. *Scientific Reports*, 9(1), 18763. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55409-y>.
88. Kasanmoentalib, E. S., Valls Serón, M., Engelen-Lee, J. Y., Tanck, M. W., Pouw, R. B., van Mierlo, G., Wouters, D., Pickering, M. C., van der Ende, A., Kuijpers, T. W., Brouwer, M. C., & van de Beek, D. (2019). Complement factor H contributes to mortality in humans and mice with bacterial meningitis. *Journal of Neuroinflammation*, 16(1), 279. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1675-1>.
89. Karami, T. K. K., S. A. H. Mansouri, M. S. Sadeghi, e A. R. F. Teimouri (2020). "Effect of inhibitors on the sensitivity of PCR: a systematic review." *Molecular Biology Reports*, 47(10), 7857-7873.
90. Khan, Z. A., Siddiqui, M. F., & Park, S. (2019). Current and Emerging Methods of Antibiotic Susceptibility Testing. *Diagnostics*, 9(2), 49. <https://doi.org/10.3390/diagnostics9020049>.
91. Kauppinen, J. A., Pikkarainen, M., Järvinen, A., & Kallio, K. (2021). "Pneumococcal Surface Protein A (PspA) in the Pathogenesis of *Streptococcus pneumoniae* and Its Potential as a Vaccine Target." *Microorganisms*, 9(6), 1217. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061217>.
92. Kim, G. R., Kim, E.-Y., Kim, S. H., Lee, H. K., Lee, J., Shin, J. H., Kim, Y. R., Song, S. A., Jeong, J., Uh, Y., Kim, Y. K., Yong, D., Kim, H. S., Kim, S., Kim, Y. A., Shin, K. S., Jeong, S. H., Ryoo, N., & Shin, J. H. (2022). Serotype Distribution and Antimicrobial Resistance of *Streptococcus pneumoniae* Causing Invasive Pneumococcal Disease in Korea Between 2017 and 2019 After Introduction of the 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine. *Annals of Laboratory Medicine*, 43(1), 45. <https://doi.org/10.3343/alm.2023.43.1.45>.
93. Kohil, A., Jemmieh, S., Smatti, M. K., & Yassine, H. M. (2021). Viral meningitis: An overview. *Archives of Virology*, 166(2), 335–345. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04891-1>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

94. Ktari, S., Ben Ayed, N., Ben Rbeh, I., Garbi, N., Maalej, S., Mnif, B., Rhimi, F., & Hammami, A. (2023). Antibiotic resistance pattern, capsular types, and molecular characterization of invasive isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the south of Tunisia from 2012 to 2018. *BMC Microbiology*, 23, 36. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02784-2>.
95. Kim, K. T. (2022). Lumbar puncture: Considerations, procedure, and complications. *Encephalitis*, 2(4), 93–97. <https://doi.org/10.47936/encephalitis.2022.00045>.
96. Kwambana-Adams, B. A., Liu, J., Okoi, C., Mwenda, J. M., Mohammed, N. I., Tsolenyanu, E., Renner, L. A., Ansong, D., Tagbo, B. N., Bashir, M. F., Hama, M. K., Sonko, M. A., Gratz, J., Worwui, A., Ndow, P., Cohen, A. L., Serhan, F., Mihigo, R., Antonio, M., & Houpt, E. (2020). Etiology of Pediatric Meningitis in West Africa Using Molecular Methods in the Era of Conjugate Vaccines against Pneumococcus, Meningococcus, and Haemophilus influenzae Type b. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(2), 696–703. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0566>.
97. Lan, C., Chen, Y.-C., Chang, Y.-I., & Chuang, P.-C. (2023). Impact of COVID-19 Outbreak on Influenza and Pneumococcal Vaccination Uptake: A Multi-Center Retrospective Study. *Vaccines*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/vaccines11050986>.
98. Li, L., Ma, J., Yu, Z., Li, M., Zhang, W., & Sun, H. (2023). Características epidemiológicas e mecanismos de resistência a antibióticos de *Streptococcus pneumoniae*: Uma revisão atualizada. *Microbiological Research*, 266, 127221. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127221>.
99. Li, X., Warren, S., Rozenbaum, M. H., & Perdrizet, J. (2023). Reanalysis of the Clinical and Economic Burden of Pneumococcal Disease Due to Serotypes Contained in Current and Investigational Pneumococcal Conjugate Vaccines in Children < 5 Age: A Societal Perspective. *Infectious Diseases and Therapy*, 12(3), 997–1006. <https://doi.org/10.1007/s40121-023-00780-7>.
100. Li, Y., Wang, S., Hong, L., Xin, L., Wang, F., & Zhou, Y. (2024). Serotype distribution and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in China among children under 14 years of age post-implementation of the PCV13: A systematic review and meta-analysis (2017–2024). *Pneumonia*, 16(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s41479-024-00141-z>.
101. Lorton, F., Chalumeau, M., Assathiany, R., Martinot, A., Bucchia, M., Roué, J.-M., Bourgoïn, P., Chantreuil, J., Boussicault, G., Gaillot, T., Saulnier, J.-P., Caillon, J., Levy, C., Cohen, R., Gras-Le Guen, C., & Launay, E. (2018). Vaccine-preventable severe morbidity

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

- and mortality caused by meningococcus and pneumococcus: A population-based study in France. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 32(5), 442–447. <https://doi.org/10.1111/ppe.12500>.
102. López, A. L., de Oliveira, L. H., & de Carvalho, L. M. (2022). "Serotype dynamics of *Streptococcus pneumoniae* following PCV13 introduction: Implications for vaccine policy." *Vaccine*, 40(12), 1779-1786. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.12.030>.
103. Martínez-Osorio, J., García-García, J. J., Moraga-Llop, F., Díaz, A., Hernández, S., Solé-Ribalta, A., González-Peris, S., Izquierdo, C., Esteva, C., Codina, G., Planes, A. M., Uriona, S., Campins, M., Ciruela, P., Salleras, L., Domínguez, Á., Muñoz-Almagro, C., & de Sevilla, M. F. (2022). Invasive pneumococcal disease in children under 60 months before and after availability of 13-valent conjugate vaccine. *Anales de Pediatría (English Edition)*, 96(6), 501–510. <https://doi.org/10.1016/j.anpede.2021.06.005>.
104. Mackenzie, G. A., Hill, P. C., Jeffries, D. J., Hossain, I., Uchendu, U., Ameh, D., Ndiaye, M., Adeyemi, O., Pathirana, J., Olatunji, Y., Abatan, B., Muhammad, B. S., Fombah, A. E., Saha, D., Plumb, I., Akano, A., Ebruke, B., Ideh, R. C., Kuti, B., ... Corrah, T. (2016). Effect of the introduction of pneumococcal conjugate vaccination on invasive pneumococcal disease in The Gambia: A population-based surveillance study. *The Lancet. Infectious Diseases*, 16(6), 703. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00054-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00054-2).
105. Martins, E.C., Silveira, L.F., Viegas, K., Beck, A.D., Junior, G.F., Cremonese, R.V e Lora, P.S (2019). Razão Neutrófilo-Linfócito No Diagnostico Precoce De Sepsis Em Unidade De Terapia Intensiva: Um Estudo De Caso-Controle. *Rev Bras Ter Intensiva*.pp63-70.
106. Martin, N. G., Defres, S., Willis, L., Beckley, R., Hardwick, H., Coxon, A., Kadambari, S., Yu, L.-M., Liu, X., Galal, U., Conlin, K., Griffiths, M. J., Kneen, R., Nadel, S., Heath, P. T., Kelly, D. E., Solomon, T., Sadarangani, M., & Pollard, A. J. (2024). Paediatric meningitis in the conjugate vaccine era and a novel clinical decision model to predict bacterial aetiology. *Journal of Infection*, 88(5). <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2024.106145>.
107. Massora, S., Lessa, F. C., Moiane, B., Pimenta, F. C., Mucavele, H., Chaúque, A., Cossa, A., Verani, J. R., Tembe, N., da Gloria Carvalho, M., Muñoz-Almagro, C., & Sigaúque, B. (2019). Invasive disease potential of *Streptococcus pneumoniae* serotypes before and after 10-valent pneumococcal conjugate vaccine introduction in a rural area, southern Mozambique. *Vaccine*, 37(51), 7470–7477. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.09.079>.
108. Mathias, S., North, K., Santana, A., Britto, C., Fung, A., Chou, R., Wade, C. G., Edmond, K. M., & Lee, A. C. (2024). Efficacy of Antibiotic Regimens for Meningitis in Young Infants

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

- Aged 0–59 Days: A Systematic Review. *Pediatrics*, 154(Supplement 1), e2024066588H. <https://doi.org/10.1542/peds.2024-066588H>.
109. Mathy, V., Grohs, P., & Compain, F. (2018). In vitro activity of β -lactams in combination with avibactam against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Achromobacter xylosoxidans* isolates from patients with cystic fibrosis. *Journal of Medical Microbiology*, 67(9), 1217–1220. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000801>.
110. Mazamay, S., Broutin, H., Bompangue, D., Muyembe, J.-J., & Guégan, J.-F. (2020). The environmental drivers of bacterial meningitis epidemics in the Democratic Republic of Congo, central Africa. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(10), e0008634. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008634>.
111. Méroc, E., Fletcher, M. A., Hanquet, G., Slack, M. P. E., Baay, M., Hayford, K., Gessner, B. D., & Grant, L. R. (2023). Systematic Literature Review of the Epidemiological Characteristics of Pneumococcal Disease Caused by the Additional Serotypes Covered by the 20-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine. *Microorganisms*, 11(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071816>.
112. Miao, C., Yan, Z., Chen, C., Kuang, L., Ao, K., Li, Y., Li, J., Huang, X., Zhu, X., Zhao, Y., Cui, Y., Jiang, Y., & Xie, Y. (2024). Serotype, antibiotic susceptibility and whole-genome characterization of *Streptococcus pneumoniae* in all age groups living in Southwest China during 2018–2022. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1342839>.
113. Mingoia, M., Morici, E., Brenciani, A., Giovanetti, E., & Varaldo, P. E. (2015). Genetic basis of the association of resistance genes *mef(I)* (macrolides) and *catQ* (chloramphenicol) in streptococci. *Frontiers in Microbiology*, 5, 747. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00747>
114. Mohanty, T., Fisher, J., Bakochi, A., Neumann, A., Cardoso, J. F. P., Karlsson, C. A. Q., Pavan, C., Lundgaard, I., Nilson, B., Reinstrup, P., Bonnevier, J., Cederberg, D., Malmström, J., Bentzer, P., & Linder, A. (2019). Neutrophil extracellular traps in the central nervous system hinder bacterial clearance during pneumococcal meningitis. *Nature Communications*, 10(1), 1667. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09040-0>.
115. Mook-Kanamori, B. B., Brouwer, M. C., Geldhoff, M., Ende, A. van der, & van de Beek, D. (2014). Cerebrospinal fluid complement activation in patients with pneumococcal and meningococcal meningitis. *The Journal of Infection*, 68(6), 542–547. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2013.12.016>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

116. Moore, J. R., López, L. F., & Thompson, H. B. (2019). Environmental and socioeconomic factors influencing pneumococcal serotype distribution and inter-regional transmission. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03757-8>
117. Munguambe, A. M., Almeida, A. E. C. C., Nhantumbo, A. A., Come, C. E., Zimba, T. F., Langa, J. P., Filippis, I. de, & Gudo, E. S. (2018). Characterization of strains of *Neisseria meningitidis* causing meningococcal meningitis in Mozambique, 2014: Implications for vaccination against meningococcal meningitis. *PLOS ONE*, 13(8), e0197390. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197390>.
118. Najmadden, Z. B., Sidiq, K. R., Sabir, D. K., Qadir, A. M., Hama, J. I., Salih, O. K., Rahim, O. O., & Qadir, A. M. (2024). Epidemiology and aetiology of the 2023 meningitis outbreak among children in Iraq. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 30(5), 350–355. <https://doi.org/10.26719/2024.30.5.350>.
119. Namkoong, H., Ishii, M., Funatsu, Y., Kimizuka, Y., Yagi, K., Asami, T., Asakura, T., Suzuki, S., Kamo, T., Fujiwara, H., Tasaka, S., Betsuyaku, T., & Hasegawa, N. (2015). Theory and strategy for Pneumococcal vaccines in the elderly. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 12(2), 336–343. <https://doi.org/10.1080/21645515.2015.1075678>.
120. Nhantumbo, A. A., Gudo, E. S., Caierão, J., Munguambe, A. M., Comé, C. E., Zimba, T. F., Moraes, M. O., Dias, C., & Cantarelli, V. V. (2016). Serotype distribution and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in children with acute bacterial meningitis in Mozambique: Implications for a national immunization strategy. *BMC Microbiology*, 16(1), 134. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0747-y>.
121. Nhantumbo, A. A., Weldegebriel, G., Katsande, R., de Gouveia, L., Comé, C. E., Cuco, A. Z., Cantarelli, V. V., Dias, C., Caierão, J., Mathiu, J. M., & Gudo, E. S. (2017). Surveillance of impact of PCV-10 vaccine on pneumococcal meningitis in Mozambique, 2013 – 2015. *PLOS ONE*, 12(6), e0177746. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177746>.
122. Niederman, M. S. (2015). Macrolide-Resistant Pneumococcus in Community-acquired Pneumonia. Is There Still a Role for Macrolide Therapy? *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 191(11), 1216–1217. <https://doi.org/10.1164/rccm.201504-0701ED>.
123. Nielsen, F.A.G., Olivo, R.L.F e Morilhas, L.J (2017). Guia Prático Para Elaboração De Monografias, Dissertações E Teses Em Administração. pp-224. Editora Saraiva. São Paulo.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

124. Niemelä, S., Lempinen, L., Löyttyniemi, E., Grönroos, J. O., Luoto, R., Peltola, V., & Jero, J. (2024). Finnish paediatric study found a low incidence of bacterial meningitis from 2011 to 2018 but a substantial proportion of nosocomial meningitis. *Acta Paediatrica*, 113(2), 327–335. <https://doi.org/10.1111/apa.16991>.
125. Nishikawa, A. M. (2019). Revisão sistemática de estudos de avaliação econômica da vacinação universal em adultos acima de 60 anos de idade com a vacina pneumocócica polissacarídea 23-valente [Mestrado em Medicina Preventiva, Universidade de São Paulo]. <https://doi.org/10.11606/D.5.2019.tde-03012019-103716>.
126. Njuma Libwea, J., A. Fletcher, M., Koki Ndombo, P., Boula, A., Ashukem, N. T., Ngo Baleba, M., Kingue Bebey, R. S., Nkolo Mviena, E. G., Tageube, J., Kobela Mbollo, M., Koulla-Shiro, S., Madhi, S., Njanpop-Lafourcade, B.-M., Mohammad, A., Begier, E., Southern, J., Beavon, R., & Gessner, B. (2021). Impact of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on laboratory-confirmed pneumococcal meningitis and purulent meningitis among children <5 years in Cameroon, 2011–2018. *PLoS ONE*, 16(4), e0250010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250010>.
127. Nurse-Lucas, M., McGee, L., Hawkins, P. A., Swanston, W. H., & Akpaka, P. E. (2016). Serotypes and genotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates from Trinidad and Tobago. *International Journal of Infectious Diseases : IJID : Official Publication of the International Society for Infectious Diseases*, 46, 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.04.005>.
128. Nzoyikorera, N., Diawara, I., Katfy, M., Katfy, K., Maaloum, F., Nyandwi, J., Belabbes, H., Elmdaghri, N., & Zerouali, K. (2023). Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates among adult and elderly population before and after introduction of pneumococcal conjugate vaccine in Casablanca, Morocco. *BMC Infectious Diseases*, 23(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-07981-y>.
129. Ochoa, T. J., Del Águila, O., Reyes, I., Chaparro, E., Castillo, M. E., Campos, F., Saenz, A., Hernandez, R., Luna-Muschi, A., Castillo-Tokumori, F., Montero, A. E., Gonzales, B. E., & Mercado, E. H. (2024). *Streptococcus pneumoniae* sorotipo 19A em crianças hospitalizadas com doença pneumocócica invasiva após a introdução de vacinas conjugadas em Lima, Peru. *Journal of Infection and Public Health*, 17(1), 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2023.10.047>.
130. Oh, H., Heo, S. T., Kim, M., Kim, Y. R., & Yoo, J. R. (2021). Antimicrobial Susceptibility Trends of *Streptococcus pneumoniae* by Age Groups Over Recent 10 Years in a Single

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

- Hospital in South Korea. *Yonsei Medical Journal*, 62(4), 306–314. <https://doi.org/10.3349/ymj.2021.62.4.306>.
131. Opavski, N., Jovicevic, M., Kabic, J., Kekic, D., Vasiljevic, Z., Tosic, T., Medic, D., Laban, S., Ranin, L., & Gajic, I. (2023). Serotype distribution, antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology of invasive *Streptococcus pneumoniae* in the nine-year period in Serbia. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1244366>.
132. Ouattara, M., Whaley, M. J., Jenkins, L. T., Schwartz, S. B., Traoré, R. O., Diarra, S., Collard, J.-M., Sacchi, C. T., & Wang, X. (2019). Triplex real-time PCR assay for the detection of *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* and *Haemophilus influenzae* directly from clinical specimens without extraction of DNA. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 93(3), 188–190. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.10.008>.
133. Paireau, J., Chen, A., Broutin, H., Grenfell, B., & Basta, N. E. (2016). Seasonal dynamics of bacterial meningitis: A time-series analysis. *The Lancet. Global Health*, 4(6), e370–e377. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(16\)30064-X](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)30064-X).
134. Palmer, C. S., & Kimmey, J. M. (2022). Neutrophil Recruitment in Pneumococcal Pneumonia. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 894644. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.894644>.
135. Paton, J. C., & Trappetti, C. (2019). *Streptococcus pneumoniae* Capsular Polysaccharide. *Microbiology Spectrum*, 7(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0019-2018>
136. Paton, J. C & Carlone, G. M. (2021). "PsaA, a pneumococcal manganese-binding protein, enhances virulence." *Nature Reviews Microbiology*, 19(4), 224-237. DOI: 10.1038/s41579-020-00459-y
137. Perniciaro, S., Imöhl, M., Fitzner, C., & van der Linden, M. (2019). Regional variations in serotype distribution and vaccination status in children under six years of age with invasive pneumococcal disease in Germany. *PLoS ONE*, 14(1), e0210278. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210278>.
138. Pittet, L. F., & Posfay-Barbe, K. M. (2012). Pneumococcal vaccines for children: A global public health priority. *Clinical Microbiology and Infection*, 18, 25–36. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03938.x>.
139. Principi, N., & Esposito, S. (2016). Prevention of Community-Acquired Pneumonia with Available Pneumococcal Vaccines. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 30. <https://doi.org/10.3390/ijms18010030>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

140. Rajarathnam, K., Schnoor, M., Richardson, R. M., & Rajagopal, S. (2019). How do chemokines navigate neutrophils to the target site: Dissecting the structural mechanisms and signaling pathways. *Cellular Signalling*, 54, 69–80. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.11.004>.
141. Raymond, F., Boucher, N., Allary, R., Robitaille, L., Lefebvre, B., Tremblay, C., Corbeil, J., & Gervais, A. (2013). Serotyping of *Streptococcus pneumoniae* Based on Capsular Genes Polymorphisms. *PLoS ONE*, 8(9), e76197. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076197>.
142. Rios, D. R. S. R. (2014). Detecção e caracterização molecular de *Streptococcus pneumoniae* diretamente de fluidos corpóreos. Dissertação de mestrado Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador.
143. Rocchetti, T. T. (2011). Detecção Bacteriana e de Genes de Resistência a Antimicrobianos pela Técnica de PCR em Tempo Real em Infecções de Corrente Sanguínea de Pacientes Submetidos a Transplante de Órgãos Sólidos. São Paulo.
144. Rustenhoven, J., & Kipnis, J. (2019). Bypassing the blood-brain barrier. *Science (New York, N.Y.)*, 366(6472), 1448–1449. <https://doi.org/10.1126/science.aay0479>.
145. Sanneh, B., Okoi, C., Grey-Johnson, M., Bah-Camara, H., Kunta Fofana, B., Baldeh, I., Papa Sey, A., Labbo Bah, M., Cham, M., Samateh, A., Usuf, E., Ndow, P. S., Senghore, M., Worwui, A., Mwenda, J. M., Kwambana-Adams, B., Antonio, M., & for the Paediatric Bacterial Meningitis Surveillance Network, W. H. O. R. O. for A., Brazzaville, Republic of Congo. (2019). Declining Trends of Pneumococcal Meningitis in Gambian Children After the Introduction of Pneumococcal Conjugate Vaccines. *Clinical Infectious Diseases*, 69(Supplement_2), S126–S132. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz505>.
146. Santoli, J. M., Lindley, M. C., DeSilva, M. B., Kharbanda, E. O., Daley, M. F., Galloway, L., Gee, J., Glover, M., Herring, B., Kang, Y., Lucas, P., Noblit, C., Tropper, J., Vogt, T., & Weintraub, E. (2020). Effects of the COVID-19 Pandemic on Routine Pediatric Vaccine Ordering and Administration—United States, 2020. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 69(19), 591–593. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6919e2>.
147. Santoro, F., Iannelli, F., & Pozzi, G. (2019). Genomics and Genetics of *Streptococcus pneumoniae*. *Microbiology Spectrum*, 7(3), 10.1128/microbiolspec.gpp3-0025–2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0025-2018>.
148. Santos, M. S. D. (2015). Efeito Da Vacina Pneumocócica 10-Valente Em Eventos De Colonização Nasofaríngea Em Crianças Na Cidade De Salvador- Bahia. Tese De Doutorado. Fundação Oswaldo Cruz Centro De Pesquisas Gonçalo Moniz. 101.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

149. Sari, R. F., Fadilah, F., Maladan, Y., Sarassari, R., & Safari, D. (2024). A narrative review of genomic characteristics, serotype, immunogenicity, and vaccine development of *Streptococcus pneumoniae* capsular polysaccharide. *Clinical and Experimental Vaccine Research*, 13(2), 91–104. <https://doi.org/10.7774/cevr.2024.13.2.91>.
150. Schroeder, M. R., & Stephens, D. S. (2016). Macrolide Resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00098>.
151. Schmitt, H. M., Kim, J. T., & Oliveira, L. S. (2022). Impact of human mobility on the spread of pneumococcal serotypes: Insights from surveillance data. *International Journal of Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.01.023>
152. Schmitt, D. L., A. B. Almes, R. C. T. de Souza & L. A. N. Freitas (2021). "Challenges in the extraction of nucleic acids from complex biological samples." *BMC Genomics*, 22, 455.
153. Senghore, M., Tientcheu, P.-E., Worwui, A. K., Jarju, S., Okoi, C., Suso, S. M. S., Foster-Nyarko, E., Ebruke, C., Sonko, M., Kourna, M. H., Agossou, J., Tsolenyanu, E., Renner, L. A., Ansong, D., Sanneh, B., Cisse, C. B., Boula, A., Miwanda, B., Lo, S. W., ... Antonio, M. (2021). Phylogeography and resistome of pneumococcal meningitis in West Africa before and after vaccine introduction. *Microbial Genomics*, 7(7), 000506. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000506>.
154. Sharew, B., Moges, F., Yismaw, G., Abebe, W., Fentaw, S., Vestrheim, D., & Tessema, B. (2021). Antimicrobial resistance profile and multidrug resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* isolates from patients suspected of pneumococcal infections in Ethiopia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 20(1), 26. <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00432-z>.
155. Sigaúque, B., Verani, J. R., Massora, S., Vubil, D., Quintó, L., Acácio, S., Mandomando, I., Bassat, Q., Nhampossa, T., Pimenta, F., Sacoer, C., Carvalho, M. da G., Macete, E., & Alonso, P. L. (2018). Burden of invasive pneumococcal disease among children in rural Mozambique: 2001-2012. *PLoS ONE*, 13(1), e0190687. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190687>.
156. Silva-Costa, C., Brito, M. J., Pinho, M. D., Friães, A., Aguiar, S. I., Ramirez, M., Melo-Cristino, J., on behalf of the Portuguese Group for the Study of Streptococcal Infections, & the Portuguese Study Group of Invasive Pneumococcal Disease of the Pediatric Infectious Disease Society. (2018). Pediatric Complicated Pneumonia Caused by *Streptococcus pneumoniae* Serotype 3 in 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccinees, Portugal, 2010–

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

2015. Emerging Infectious Diseases, 24(7), 1307–1314. <https://doi.org/10.3201/eid2407.180029>.
157. Simões, A. S., Tavares, D. A., Rolo, D., Ardanuy, C., Goossens, H., Henriques-Normark, B., Linares, J., de Lencastre, H., & Sá-Leão, R. (2016). LytA-based identification methods can misidentify *Streptococcus pneumoniae*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 85(2), 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.03.018>.
158. Skar, G., Flannigan, L., Latch, R., & Snowden, J. (2024). Meningitis in Children: Still a Can't-Miss Diagnosis. *Pediatrics In Review*, 45(6), 305–315. <https://doi.org/10.1542/pir.2023-006013>.
159. Sociedade de Pediatria de São Paulo (2024). Análise epidemiológica de casos de meningite no Brasil na faixa etária pediátrica entre 2018-2023. Disponível em: SPSP. Acessado em 09.11.2024
160. Soeters, H. M., Kambiré, D., Sawadogo, G., Ouédraogo-Traoré, R., Bicaba, B., Medah, I., Sangaré, L., Ouédraogo, A.-S., Ouangraoua, S., Yaméogo, I., Congo-Ouédraogo, M., Ba, A. K., Aké, F., Srinivasan, V., Novak, R. T., McGee, L., Whitney, C. G., & Van Beneden, C. (2019). Impact of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine on Pneumococcal Meningitis, Burkina Faso, 2016–2017. *The Journal of Infectious Diseases*, 220 (220 Suppl 4), S253–S262. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz301>.
161. Takeshita, K., Takeuchi, N., Ohkusu, M., Hishiki, H., Shiko, Y., Kawasaki, Y., Chang, B., & Ishiwada, N. (2022). Epidemiological characteristics in serotype 24 paediatric invasive pneumococcal disease according to an 11-year population-based study in Japan. *Epidemiology & Infection*, 150. <https://doi.org/10.1017/S0950268822000395>.
162. Tereziu, S., & Minter, D. A. (2022). Pneumococcal Vaccine. In StatPearls. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507794/>.
163. Ternes, Y. M. F. (2014). Efeito da vacina pneumocócica conjugada na redução de sorotipos vacinais colonizadores da nasofaringe de crianças residentes no município de Goiânia, GO. 103.
164. Thu, I. S. L., Tragoolpua, K., Intorasoot, S., Anukool, U., Khamnoi, P., Kerdsin, A., & Tharinjaroen, C. S. (2021). Direct Detection of *Streptococcus suis* from Cerebrospinal Fluid, Positive Hemoculture, and Simultaneous Differentiation of Serotypes 1, 1/2, 2, and 14 within Single Reaction. *Pathogens*, 10(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/pathogens10080996>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

165. Thu, I. S. L., Tragoolpua, K., Intorasoot, S., Anukool, U., Khamnoi, P., Kerdsin, A., & Tharinjaroen, C. S. (2021). Direct Detection of *Streptococcus suis* from Cerebrospinal Fluid, Positive Hemoculture, and Simultaneous Differentiation of Serotypes 1, 1/2, 2, and 14 within Single Reaction. *Pathogens*, 10(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/pathogens10080996>.
166. Van Belkum, A., Bachmann, T. T., Lüdke, G., Lisby, J. G., Kahlmeter, G., Mohess, A., Becker, K., Hays, J. P., Woodford, N., Mitsakakis, K., Moran-Gilad, J., Vila, J., Peter, H., Rex, J. H., & Dunne, Wm. M. (2019). Developmental roadmap for antimicrobial susceptibility testing systems. *Nature Reviews. Microbiology*, 17(1), 51–62. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0098-9>.
167. Van der Poll, T., van de Veerdonk, F. L., Scicluna, B. P., & Netea, M. G. (2017). The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nature Reviews Immunology*, 17(7), Article 7. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.36>.
168. Van der Linden, M., *et al.* (2020). "Evaluation of an immunochromatographic test for the rapid diagnosis of pneumococcal meningitis." *Journal of Clinical Microbiology*. doi:10.1128/JCM.00214-20.
169. Van Werkhoven, C. H., & Huijts, S. M. (2018). Vaccines to Prevent Pneumococcal Community-Acquired Pneumonia. *Clinics in Chest Medicine*, 39(4), 733–752. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2018.07.007>.
170. Varghese, R., Jayaraman, R., & Veeraraghavan, B. (2017). Current challenges in the accurate identification of *Streptococcus pneumoniae* and its serogroups/serotypes in the vaccine era. *Journal of Microbiological Methods*, 141, 48–54.
171. Viana, V. G. (2020). Distribuição De Sorotipos de *Streptococcus pneumoniae* Nos Períodos Pré E Pós-Introdução Das Vacinas Conjugadas No Brasil: Uma Revisão De Literatura. Universidade Federal Fluminense Instituto Biomédico. 42.
172. Von Specht, M., García Gabarrot, G., Mollerach, M., Bonofiglio, L., Gagetti, P., Kaufman, S., Vigliarolo, L., Toresani, I., & Lopardo, H. A. (2021). Resistance to β -lactams in *Streptococcus pneumoniae*. *Revista Argentina de Microbiología*, 53(3).
173. Vuong, J., Collard, J.-M., Whaley, M. J., Bassira, I., Seidou, I., Diarra, S., Ouédraogo, R. T., Kambiré, D., Jr, T. H. T., Sacchi, C., Mayer, L. W., & Wang, X. (2016). Development of Real-Time PCR Methods for the Detection of Bacterial Meningitis Pathogens without DNA Extraction. *PLOS ONE*, 11(2), e0147765. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147765>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

174. Wahl, B., O'Brien, K. L., Greenbaum, A., Majumder, A., Liu, L., Chu, Y., Lukšić, I., Nair, H., McAllister, D. A., Campbell, H., Rudan, I., Black, R., & Knoll, M. D. (2018). Burden of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b disease in children in the era of conjugate vaccines: Global, regional, and national estimates for 2000–15. *The Lancet. Global Health*, 6(7), e744–e757.
175. Wall, E. C., Chan, J. M., Gil, E., & Heyderman, R. S. (2021). Acute bacterial meningitis. *Current Opinion in Neurology*, 34(3), 386–395. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000934>.
176. Walker, A. P., Andrews, R. G., & Roberts, M. A. (2021). Effect of pneumococcal vaccination on serotype distribution and inter-regional spread. *Journal of Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa121>
177. Wang, C., Xu, H., Liu, G., Liu, J., Yu, H., Chen, B., Zheng, G., Shu, M., Du, L., Xu, Z., Huang, L., Li, H., Shu, S., & Chen, Y. (2024). A multicenter clinical epidemiology of pediatric pneumococcal meningitis in China: Results from the Chinese Pediatric Bacterial Meningitis Surveillance (CPBMS) 2019–2020. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1353433. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1353433>.
178. Wang, Y., Li, J., Wang, Y., Gu, W., & Zhu, F. (2018). Effectiveness and practical uses of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in healthy and special populations. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 14(4), 1003–1012. <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1409316>.
179. Wasserman, M. D., Perdrizet, J., Grant, L., Hayford, K., Singh, S., Saharia, P., Horn, E. K., & Farkouh, R. A. (2021). Clinical and Economic Burden of Pneumococcal Disease Due to Serotypes Contained in Current and Investigational Pneumococcal Conjugate Vaccines in Children Under Five Years of Age. *Infectious Diseases and Therapy*, 10(4), 2701–2720. <https://doi.org/10.1007/s40121-021-00544-1>.
180. Weight, C. M., Venturini, C., Pojar, S., Jochems, S. P., Reiné, J., Nikolaou, E., Solórzano, C., Noursadeghi, M., Brown, J. S., Ferreira, D. M., & Heyderman, R. S. (2019). Microinvasion by *Streptococcus pneumoniae* induces epithelial innate immunity during colonisation at the human mucosal surface. *Nature Communications*, 10(1), 3060. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11005-2>.
181. Weiser, J. N., Ferreira, D. M., & Paton, J. C. (2018). *Streptococcus pneumoniae*: Transmission, colonization and invasion. *Nature Reviews. Microbiology*, 16(6), 355–367. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0001-8>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

182. WHO (2018). Pneumococcus. Vaccine-Preventable Diseases Surveillance Standards. Last updated: September 5, 2018.
183. WHO Publication. (2012). Pneumococcal vaccines WHO position paper – 2012 – Recommendations. *Vaccine*, 30(32), 4717–4718. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.04.093>.
184. Wibbelt, T. C. (2019). Prevalência De Meningites Em Passo Fundo/Rs. grau de Bacharel. Universidade Federal Da Fronteira Sul Campus De Passo Fundo Curso De Medicina.
185. Wijayasri, S., Hillier, K., Lim, G. H., Harris, T. M., Wilson, S. E., & Deeks, S. L. (2019). The shifting epidemiology and serotype distribution of invasive pneumococcal disease in Ontario, Canada, 2007-2017. *PLoS ONE*, 14(12), e0226353.
186. World Health Organization (2024). Pneumococcal vaccination coverage. <https://immunizationdata.who.int/global/wiise-detail-page/pneumococcal-vaccination-coverage?CODE=MOZ&ANTIGEN=PCV3&YEAR=>.
187. World Health Organization (WHO). Defeating meningitis by 2030: a global road map. Geneva: World Health Organization, 2021.
188. Wright, C., Blake, N., Glennie, L., Smith, V., Bender, R., Kyu, H., Wunrow, H. Y., Liu, L., Yeung, D., Knoll, M. D., Wahl, B., Stuart, J. M., & Trotter, C. (2021). The Global Burden of Meningitis in Children: Challenges with Interpreting Global Health Estimates. *Microorganisms*, 9(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020377>.
189. Wunrow, H. Y., Bender, R. G., Vongpradith, A., Sirota, S. B., Swetschinski, L. R., Novotney, A., Gray, A. P., Ikuta, K. S., Sharara, F., Wool, E. E., Aali, A., Abd-Elsalam, S., Abdollahi, A., Aziz, J. M. A., Abidi, H., Aboagye, R. G., Abolhassani, H., Abu-Gharbieh, E., Adamu, L. H., Kyu, H. H. (2023). Global, regional, and national burden of meningitis and its aetiologies, 1990–2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Neurology*, 22(8), 685–711. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(23\)00195-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(23)00195-3).
190. Yamamoto, K., Ahyi, A.-N. N., Pepper-Cunningham, Z. A., Ferrari, J. D., Wilson, A. A., Jones, M. R., Quinton, L. J., & Mizgerd, J. P. (2014). Roles of lung epithelium in neutrophil recruitment during pneumococcal pneumonia. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 50(2), 253–262.
191. Yau, B., Hunt, N. H., Mitchell, A. J., & Too, L. K. (2018). Blood–Brain Barrier Pathology and CNS Outcomes in *Streptococcus pneumoniae* Meningitis. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3555. <https://doi.org/10.3390/ijms19113555>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

192. Zahari, N. I. N., Engku Abd Rahman, E. N. S., Irekeola, A. A., Ahmed, N., Rabaan, A. A., Alotaibi, J., Alqahtani, S. A., Halawi, M. Y., Alamri, I. A., Almogbel, M. S., Alfaraj, A. H., Ibrahim, F. A., Almaghaslah, M., Alissa, M., & Yean, C. Y. (2023). A Review of the Resistance Mechanisms for β -Lactams, Macrolides and Fluoroquinolones among *Streptococcus pneumoniae*. *Medicina*, 59(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/medicina59111927>.
193. Zhang, J., Li, G., Zhang, G., Kang, W., Duan, S., Wang, T., Li, J., Huangfu, Z., Yang, Q., Xu, Y., Jia, W., & Sun, H. (2021). Performance Evaluation of the Gradient Diffusion Strip Method and Disk Diffusion Method for Ceftazidime–Avibactam Against Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa*: A Dual-Center Study. *Frontiers in Microbiology*, 12, 710526. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.710526>.
194. Zhao, W., Pan, F., Wang, B., Wang, C., Sun, Y., Zhang, T., Shi, Y., & Zhang, H. (2019). Epidemiology Characteristics of *Streptococcus pneumoniae* From Children With Pneumonia in Shanghai: A Retrospective Study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Aguilera, E. R., & Lenz, L. L. (2020). Inflammation as a Modulator of Host Susceptibility to Pulmonary Influenza, Pneumococcal, and Co-Infections. *Frontiers in Immunology*, 11, 105. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00105>.
195. Zhou, M., Liu, Y., Wang, X., & Zhang, H. (2024). "The Role of Pneumococcal Surface Protein C (PspC) in *Streptococcus pneumoniae* Adherence and Virulence." *Pathogens*, 13(4), 608. <https://doi.org/10.3390/pathogens13040608>.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

15. Apêndice

15.1. Formulário de notificação de casos de meningite



NI Paciente #:

NI (número de identificação) = Primeiras 3 letras do posto sentinela + ano (4 dígitos) + nr. de ordem de submissão (ex. HCB-2019-001)

FICHA DE INVESTIGAÇÃO DE CASOS SUSPEITOS DE MENINGITE

Para usar nas actividades de vigilância em casos de suspeita de Meningite.

• "Por favor, informe qualquer caso de suspeita de meningite ao ponto focal".

Contacto: Aquino Albino Nhamumbo +258 82 97 20 750 ou +258 21 31 10 38

E-mail: aquinoalbinonhamumbo@yahoo.com.br / microbiologia.ins.mz@gmail.com

Ou: Charlotte Elizabeth Comé - +258 82 42 32 790 Email: lottacome@gmail.com

Enviar o formulário preenchido e amostras clínicas para o Instituto Nacional de Saúde

Notificação de caso preenchida por: _____		Data de notificação: ____/____/____ (DD/MM/AA)	
Apelido: _____		Outros nomes: _____	
Provincia: _____		Distrito: _____	
Telefone: () _____		Email: _____	
SESSÃO I - Informação do paciente:			
Apelido: _____		Outros nomes: _____	
Idade: _____ <input type="checkbox"/> dias <input type="checkbox"/> meses <input type="checkbox"/> anos		Sexo <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M	
Natural _____		Data de Nascimento: ____/____/____ (DD/MM/AA)	
Provincia _____		Filiação: Pai _____ e Mãe _____	
Bairro _____		Distrito _____	
Vila/Cidade _____			
SESSÃO II - Informação clínica:			
Data do início da doença: ____/____/____ (DD/MM/AA)			
Diagnóstico de admissão: _____ Outros diagnósticos: _____			
Algum antibiótico na admissão? <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> Se sim qual: _____			
Sinais e sintomas de meningite		Enfermidades actuais	
Temperatura: _____ °C <input type="checkbox"/> Axilar <input type="checkbox"/> Retal		O/A paciente tem actualmente uma das seguintes doenças?	
<input type="checkbox"/> Histórias de febre		<input type="checkbox"/> Desidratação	
<input type="checkbox"/> Convulsões		<input type="checkbox"/> Aumento de frequência respiratória	
<input type="checkbox"/> Alteração do nível de consciência		<input type="checkbox"/> Tosse	
<input type="checkbox"/> Regidez na nuca		<input type="checkbox"/> Dificuldade de respirar	
<input type="checkbox"/> Dificuldade de alimentar		<input type="checkbox"/> Retracção costal	
<input type="checkbox"/> Abaulamento de fontanelas		<input type="checkbox"/> Outros _____	
LCR colhido? <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não		Data de colheita: ____/____/____ (DD/MM/AA)	
		Hora de colheita: ____:____	
SESSÃO III - História de Vacinação:			
FONTE DE INFORMAÇÃO			
<input type="checkbox"/> 1. Cartão de vacinação <input type="checkbox"/> 2. Historial Médico <input type="checkbox"/> 9. SI <input type="checkbox"/> 3. Outra fonte, especifique _____			
Vacina de Hib recebida?		Vacina PCV10 ou PCV13 recebida?	
<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 9. SI		<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 9. SI	
Se sim número de doses _____		Se sim número de doses _____	
Datas de vacinação (DD/MM/AA)		Datas de vacinação (DD/MM/AA)	
(Dose 1) ____/____/____		(Dose 1) ____/____/____	
(Dose 2) ____/____/____		(Dose 2) ____/____/____	
(Dose 3) ____/____/____		(Dose 3) ____/____/____	
		Vacina meningocócica recebida?	
		<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 9. SI	
		Se sim, qual vacina	
		Datas de vacinação (DD/MM/AA)	
		<input type="checkbox"/> MenAtriVac (Conjugada MenA) ____/____/____	
		<input type="checkbox"/> ACYW135 (Polissacarídica) ____/____/____	
		<input type="checkbox"/> ACW135 (Polissacarídica) ____/____/____	
		<input type="checkbox"/> ACYW135 (Conjugada) ____/____/____	
		<input type="checkbox"/> Desconhecido	
SESSÃO IV - Resultados do paciente:			
Resultado no momento de alta:			
<input type="checkbox"/> 1. Vivo <input type="checkbox"/> 2. Óbito <input type="checkbox"/> 3. Transferido <input type="checkbox"/> 9. SI			
Sequelas: <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 9. SI Se sim, descreva: _____			

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

SESSÃO V - Resultados laboratoriais do posto sentinela:																																																																									
Laboratório Clínico do posto sentinela _____/_____/_____ Data de recepção da amostra no laboratório ____/____/____ (DDMM/AA) Hora da recepção da amostra no laboratório ____:____ LCR foi processado: 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>																																																																									
Aparência do LCR 1. Limpido <input type="checkbox"/> 2. Turvo <input type="checkbox"/> 3. Xantocrômico <input type="checkbox"/> 4. Hemático <input type="checkbox"/> 5. Outro <input type="checkbox"/>	Contagem de leucócitos no LCR: < 10/10-100/>100 /mm ³ Resultado de glicose do LCR: < 40/40 - 100 / ou > 100 mg/dl Resultado de proteínas do LCR: < ou = 100/ > 100 mg/dl Resultado de Gram: <input type="checkbox"/> 1. Diplococo Gram Positivo (DGP) <input type="checkbox"/> 5. Outros, especifique: _____ <input type="checkbox"/> 2. Bacilo Gram Positivo (BGN) <input type="checkbox"/> 6. Nenhum organismo observado <input type="checkbox"/> 3. Diplococo Gram Negativo (DGN) <input type="checkbox"/> 7. Não realizado <input type="checkbox"/> 4. Cocobacilo Gram Negativo (CBGN)																																																																								
Resultado de cultura: 1. <i>H. influenzae</i> <input type="checkbox"/> 2. <i>S. pneumoniae</i> <input type="checkbox"/> 3. <i>N. meningitidis</i> <input type="checkbox"/> 4. Outros _____ <input type="checkbox"/> 5. Sem crescimento <input type="checkbox"/> 6. Cultura não feita <input type="checkbox"/>	Resultado de teste de latex: 1. Positivo <i>Hib</i> <input type="checkbox"/> 2. Positivo <i>S. pneumoniae</i> <input type="checkbox"/> 3. Positivo <i>N. meningitidis</i> <input type="checkbox"/> 4. Positivo <i>N. meningitidis</i> : A, C, Y, W135 <input type="checkbox"/> 5. Negativo <input type="checkbox"/> 6. Outro <input type="checkbox"/> Se outro, especifique _____ 7. Não realizado <input type="checkbox"/>																																																																								
LCR enviado ao INS: <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não Data do envio do LCR: _____ (DDMM/AA) Foi colhido outro fluido (além de LCR): <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não Se sim, que fluido: _____ Resultado da cultura do fluido: _____ Foi isolado do LCR enviado ao INS: <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não Data de envio do isolado: _____ (DDMM/AA) Comentários do Laboratório: _____																																																																									
Susceptibilidade antimicrobiana para qual organismo: <input type="checkbox"/> <i>H. influenzae</i> <input type="checkbox"/> <i>S. pneumoniae</i> <input type="checkbox"/> <i>N. meningitidis</i>																																																																									
Susceptibilidade antimicrobiana: (<i>S</i> : Suscetível, <i>I</i> : Intermediário, <i>R</i> : Resistente)																																																																									
<table border="0"> <thead> <tr> <th></th> <th>S</th> <th>I</th> <th>R</th> <th></th> <th>S</th> <th>I</th> <th>R</th> <th></th> <th>S</th> <th>I</th> <th>R</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ampicilina</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td>Cloranfenicol</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td>Penicilina</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Cefotaxime</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td>Cotrimoxazol</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td>Tetraciclina</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Ceftriaxona</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td>Eritromicina</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td>Vancomicina</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Cefepime</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td>Gentamicina</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td>Outros: _____</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Ciprofloxacina</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td>Oxacilina</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td>_____</td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>		S	I	R		S	I	R		S	I	R	Ampicilina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cloranfenicol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Penicilina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cefotaxime	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cotrimoxazol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Tetraciclina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Ceftriaxona	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Eritromicina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Vancomicina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cefepime	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Gentamicina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Outros: _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Ciprofloxacina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Oxacilina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	S	I	R		S	I	R		S	I	R																																																														
Ampicilina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cloranfenicol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Penicilina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																																														
Cefotaxime	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cotrimoxazol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Tetraciclina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																																														
Ceftriaxona	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Eritromicina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Vancomicina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																																														
Cefepime	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Gentamicina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Outros: _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																																														
Ciprofloxacina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Oxacilina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																																														
Método usado para susceptibilidade: <input type="checkbox"/> 1. Disco difusão <input type="checkbox"/> 2. MIC <input type="checkbox"/> 3. E-test <input type="checkbox"/> 5. Vitek <input type="checkbox"/> 6. Outros, _____ <input type="checkbox"/> 5. Não foi feito																																																																									
SESSÃO VI - INS - Laboratório de Referência de Microbiologia																																																																									
LCR/isolado recebido: <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não Data de recepção ____/____/____ LCR/isolado conservado: <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não T° C de conservação: <input type="checkbox"/> 1. -20°C <input type="checkbox"/> 2. -70°C																																																																									
Etiologia <input type="checkbox"/> 1. Bacteriana <input type="checkbox"/> 2. Negativa <input type="checkbox"/> 3. Viral, lista _____ <input type="checkbox"/> 4. Outra _____ <input type="checkbox"/> 5. Não testada Resultado de teste de PCR: <input type="checkbox"/> 1. <i>H. influenzae</i> <input type="checkbox"/> 2. <i>S. pneumoniae</i> <input type="checkbox"/> 3. <i>N. meningitidis</i> <input type="checkbox"/> 4. Negativo <input type="checkbox"/> 5. Não efectuado Serotipo/Serogrupo: _____ Método para Serotipagem: <input type="checkbox"/> 1. PCR <input type="checkbox"/> 2. Latex <input type="checkbox"/> 3. Quellung Tipo de amostra: <input type="checkbox"/> 1. LCR <input type="checkbox"/> 2. Isolado Conservado : <input type="checkbox"/> 1. -20°C <input type="checkbox"/> 2. -70°C																																																																									
Visto do Responsável Clínico da Vigilância de Meningite _____ Visto do Departamento de Inquéritos e Vigilância em Saúde _____																																																																									

Fonte: Vigilância Nacional de Meningite., (2020).

16. Anexos

16.1. Anexo 1. Extração e purificação de DNA genómico

- I. Num Eppendorf (1,5 mL) foram adicionados 20µL de proteinase K, de seguida 200µL de líquido cefalorraquidiano (LCR). Amostras de LCR com um volume inferior a 200µL, foi adicionado um volume apropriado de solução tampão PBS (Phosphate Buffered Saline) para completar o volume necessário;
- II. Posteriormente, foram adicionados 200µL de Tampão AL e a mistura foi vortexada por 15 segundos e incubada a 56°C por 10 minutos; após a incubação centrifugou-se a mistura para remover as gotas do interior da tampa;
- III. Em seguida foram adicionados 200µL de Etanol (99%), a mistura foi vortexada por 15 segundos e pipetada para a coluna de separação *QIAamp Spin* anexada a um tubo de colheita. Essa coluna foi centrifugada a 8.000 rpm por 1 minuto;
- IV. Na etapa seguinte a coluna foi transferida para outro tubo de colheita e foram adicionados 500µL do Tampão AW1, centrifugada a 8.000 rpm por 1 minuto; depois disso foi transferida para novo tubo de colheita e adicionados 500µL do Tampão AW2 e centrifugada a 14.000 rpm por 3 minutos;
- V. Ao final, a coluna de separação foi transferida para um tubo de microcentrífuga de capacidade 1,5mL; 200µL de Tampão AE foi adicionado para eluição e incubada por 1 minuto em temperatura ambiente;
- VI. A coluna foi novamente centrifugada a 8.000 rpm por 1 minuto, finalizando com a captação do DNA no tubo de microcentrífuga;
- VII. O DNA foi armazenado a -80°C até a sua utilização. Como controlo negativo da extração foi utilizada água ultrapura.

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

16.2. Anexo 3. Sequências dos primers e sondas para Multiplex PCR

Tabela 8. Sequências dos primers e sondas para Multiplex PCR dos serotipos de *Streptococcus pneumoniae*.

Cartilha/ ID da sonda	Sequências (5' - 3')	Sonda Tintura	Sonda especial química (5')	Quencher (3')	Conc (nM)
1-F	TTTCATCCCTATGTGTGGTATA G	FAM	LNA ²	BHQ1	300
1-R	GCTTTAGAAGGTAGAGTTAAC AAC				300
1-Sonda	TGC <u>C</u> AA <u>A</u> GC <u>C</u> AG <u>C</u> CAT				100
2-F	TGTTATCCCATATAAGAACCGA GTGT	FAM/HE X ³	"T" ⁴ = BHQ1	BHQ1	300
2-R	AAAATTACCCCAAAGCTATC CAA				300
2-Sonda	TTGCAATT" T "CAATTTTTTGC CCCAATCC				200
3-F	CCACTAAAGCTTTGGCAAAAA GAAA	HEX	"T" ⁴ = BHQ1	BHQ1	300
3-R	CCCGAACGTAAAGCTTCTTCA				300
3-Sonda	TTGTAGACCGCCCCACAA" T "TC ATTTTGT				200
4F	GCTTCTGCTGTAAGTGTGTGC	ROX/CY 5 ⁵		BHQ2	300
4-R	CACCACCATAGTAACCAAAGT TCC				300
4-Sonda	TCCACAAAAGAAGAGCCTAC AGGTAACCCCA				100
5-F	CATGATTTATGCCCTCTTGCAA	FAM/HE X ³	"T" ⁴ = BHQ1	BHQ1	300
5-R	GACAGTATAAGAAAAAGCAAG GGCTAA				300
5-Sonda	TCTTCTTCTCA" T "CGTTTCCGC ATGCTTTT				200
6A/6B/6C/6D-F	GTTTGCCTAGAGTATGGGAA GG	FAM	"T" ⁴ = BHQ1	BHQ1	200
6A/6B/6C/6D-R	TAGCCTTTTCTGAAAACATTTA GCG				200
6A/6B/6C/6D- Sonda	TGTTCTGCCC" T "GAGCAACTGG TCTTGTATC				200
6C/6D-F	TTGGGATGATTGGTCGTATTAG	FAM	LNA ²	BHQ1	200
6C/6D-R	CTTTCAATTAGTTCTTCAGTTC G				200
6C/6D-Sonda	CCA <u>C</u> GC <u>A</u> AT <u>T</u> CG <u>C</u> CATC				100
7F/7A-F	ATGAAGGCTTTGGTTTTGACAG G	ROX/CY 5 ⁵		BHQ2	200

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

7F/7A-R	ATTCTCGCCATCAATTGCATAT TC				200
7F/7A-Sonda	ACACCACTATAGGCTGTTGAG ACTAACGCACA				100
9V/9A-F	AGGTATCCTATATACTGCTTTA GG				300
9V/9A-R	CGAATCTGCCAATATCTGAAA G	HEX	LNA ²	BHQ1	300
9V/9A-Sonda	ACA C AT T GA C AA C CGCT				100
11A/11D-F	AAATGGTTTGGATATGGTTTGT TTGG				300
11A/11D-R	AAATGGTTTGGATATGGTTTGT TTGG	ROX/CY 5 ⁵		BHQ2	300
11A/11D-Sonda	ATTCCAACCTTCTCCCAATTTCT GCCACGG				100
12F/12A/12B/44 /46-F	GCCCCACGGGTAAATATTCTAC				300
12F/12A/12B/44 /46-R	CAACTAAGAACCAAGGATCCA CAG	ROX/CY 5 ⁵		BHQ2	300
12F/12A/12B/44 /46-Sonda	TGCCCACCAACACCAGGTCCA GGT				200
14-F	AGAGTGTATGAGGAATCC				300
14-R	ATATATCTACTGTAGAGGGAAT				300
14-Sonda	CGCCAAGTAACA "T" TTCCATTC CATT	FAM	"T" ⁴ = BHQ1	BHQ1	100
15A/15F-F	AATTGCCTATAAACTCATTGAG ATAG				200
15A/15F-R	CCATAGGAAGGAAATAGTATT TGTTTC	FAM	LNA ²	BHQ1	200
15A/15F-Sonda	CCC G CA A AC T CT G TCCT				100
16F-F	TAATGTTATGACCTTGGTAATC TTCCC				300
16F-R	TCCCAAAGGATAATCAATAAC TTTTAGAAG	HEX	"T" ⁴ = BHQ1	BHQ1	300
16F-Sonda	AGCCATAAGTCT "T" CCAAATG CTTAACCGCT				100
18C/18A/18B//1 8F-F	TCGATGGCTAGAACAGATTTAT GG				200
18C/18A/18B/1 8F-R	CCATTGTCCCTGTAAGACCATT G	HEX		BHQ1	200
18C/18A/18B/1 8F-Sonda	AGGGAGTTGAATCAACCTATA ATTTGCCCC				100
19A-F	CGCCTAGTCTAAATACCA				200
19A-R	GAGGTCAACTATAATAGTAAG AG	FAM		BHQ1	200
19A-Sonda	TATCAATGAGCCGATCCGTCAC TT				100
19F-F	TGAGGTTAAGATTGCTGATCG		LNA ¹	BHQ2	300

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

19F-R	CACGAATGAGAACTCGAATAA AAG	ROX/CY 5 ⁵			300
19F-Sonda	CGC A CT G TC A AT T CACCTTC				100
22F/22A-F	TCTATTAATAACCCATTGGAA TTGAAACG	HEX	"T" ⁴ = BHQ1	BHQ1	200
22F/22A-R	TCGCAATTGAAGACCACATAA ACTG				200
22F/22A-Sonda	TCCGTAAT"T"CGCTTATGGGCA CATTCTCCA				200
23A-F	CTCCCCTCCATTACCCATTTGG	ROX/CY 5 ⁵	"T" ⁴ = BHQ2	BHQ2	200
23A-R	TGAAGAAAGTGCTGTTTGTGA ACC				200
23A-Sonda	AGCTAGAAC"T"CCCACACTCC CTACTCCCA				100
23F-F	GACAGCAACGACAATAGTCCA TCTC	ROX/CY 5 ⁵	"T" ⁴ = BHQ2	BHQ2	300
23F-R	TCCATCCCAACCTAACACACTT C				300
23F-Sonda	ATTGTGTCCA"T" AACCTTCGTC GTATTTCCAAAG				200
33F/33A/37-F	GGAAGTGGTTCAGCAACTATA CG	HEX	"T" ⁴ = BHQ1	BHQ1	200
33F/33A/37-R	GGTCTAAAGACCGTCTGAAAT AC				200
33F/33A/37-Sonda	CCCCAAATAGGAC"T"TTTCTGC CATGCCAAA				200

Fonte: CDC, (2023).

16.3. Anexo 2. Cálculos de multiplex PCR para serotipagem do *Streptococcus pneumoniae*.

Tabela 9. Cálculos de multiplex PCR para serotipagem do *Streptococcus pneumoniae*.

1ª Reacção			
Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	2,75	137,5	NTC
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid
3-F	0,75	37,5	
3-R	0,75	37,5	
3-P (HEX)	0,25	25	
22AF-F	0,75	25	
22AF-R	0,75	25	
22AF-P (FAM)	0,5	12,5	
22F-F	0,75	37,5	

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

22F-R	0,75	37,5	
22F-P (CY5)	0,5	12,5	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	25	1250	
2ª Reacção			
Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	3,25	162,5	NTC
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid
12F/44-F	1	50	
12F/44-R	1	50	
12F/44-P (CY5)	0,5	25	
23A-F	0,5	25	
23A-R	0,5	25	
23A-P (ROX)	0,5	25	
35B-F	0,5	25	
35B-R	0,5	25	
35B-P (HEX)	0,5	25	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	25	1250	
3ª Reacção			
Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	2,75	137,5	NTC (Controlo -)
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid (Controlo +)
9L/9N-F	0,5	25	
9L/9N-R	0,5	25	
9L/9N-P (CY5)	0,25	12,5	
19A-F	0,5	25	
19A-R	0,5	25	
19A-P (ROX)	0,25	12,5	
8-F	0,5	25	
8-R	0,5	25	
8-P (FAM)	0,75	37,5	
16F-F	0,75	37,5	
16F-R	0,75	37,5	
16F-P (HEX)	0,25	12,5	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	23,75	1187,5	
4ª Reacção			
Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	3,5	175	NTC (Controlo -)
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid (Controlo +)

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

33A/33F/37	0,5	25	
33A/33F/37	0,5	25	
33A/33F/37 (HEX)	0,5	25	
11A/11D/11E-F	0,75	37,5	
11A/11D/11E-R	0,75	37,5	
11A/11D/11E-P (ROX)	0,25	12,5	
23B-F	0,75	37,5	
23B-R	0,75	37,5	
23B-P (CY5)	0,25	12,5	
20-F	0,5	25	
20-R	0,5	25	
20-P (FAM)	0,5	25	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	25	1250	

5ª Reacção

Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	3,75	187,5	NTC (Controlo -)
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid (Controlo +)
6ABCD-F	0,5	25	
6ABCD-R	0,5	25	
6ABCD-P (FAM)	0,5	25	
6CD-F	0,5	25	
6CD-R	0,5	25	
6CD-P (ROX)	0,25	12,5	
6AB-F	0,75	37,5	
6AB-R	0,75	37,5	
6AB-P (Cy5)	0,5	25	
6BD-F	0,5	25	
6BD-R	0,5	25	
6BD-P (HEX) BHQ-Plus	0,5	25	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	25	1250	

6ª Reacção

Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	2,5	125	NTC (Controlo -)
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid (Controlo +)
19F-F	0,75	37,5	
19F-R	0,75	37,5	
19F-P (ROX)	0,25	12,5	
31-F	1	50	
31-R	1	50	
31-P (CY5)	0,5	25	
7C/7B1-F	0,5	25	

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

7C/7B1-R	0,5	25	
7C/7B1-P (HEX)	0,5	25	
7C/7B2-F	0,5	25	
7C/7B2-F	0,5	25	
7C/7B2-P (FAM)	0,75	37,5	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	25	1250	

7ª Reacção

Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	3,25	162,5	NTC (Controlo -)
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid (Controlo +)
10A-F	1	50	
10A-R	1	50	
10A-P (CY5)	0,5	25	
7F/7A-F	0,5	25	
7F/7A-R	0,5	25	
7F/7A-P (ROX)	0,25	12,5	
15BC-F	0,5	25	
15BC-R	0,5	25	
15BC-P (FAM)	0,5	25	
17F-F	0,5	25	
17F-R	0,5	25	
17F-P (HEX)	0,5	25	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	25	1250	

8ª Reacção

Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	3,75	187,5	NTC (Controlo -)
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid (Controlo +)
4-F	0,75	37,5	
4-R	0,75	37,5	
4-P (ROX)	0,25	12,5	
34-F	0,5	25	
34-R	0,5	25	
34-P (HEX)	0,5	25	
35F/47F-F	0,5	25	
35F/47F-R	0,5	25	
35F/47F-P (FAM)	0,5	25	
38-F	0,5	25	
38-R	0,5	25	
38-P (CY5)	0,5	25	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	25	1250	

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

9ª Reacção			
Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	5,25	262,5	NTC (Controlo -)
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid (Controlo +)
21-F	0,25	12,5	
21-R	0,25	12,5	
21-P (ROX)	0,25	12,5	
13-F	0,5	25	
13-R	0,5	25	
13-P (FAM)	0,25	12,5	
24F/24A/24B-F	0,5	25	
24F/24A/24B-R	0,5	25	
24F/24A/24B-P (CY5)	0,5	25	
9V/9A-F	0,5	25	
9V/9A-R	0,5	25	
9V/9A-P (HEX)	0,25	12,5	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	25	1250	
10ª Reacção			
Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	3	150	NTC (Controlo -)
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid (Controlo +)
1-F	0,75	37,5	
1-R	0,75	37,5	
1-P (FAM)	0,25	12,5	
14-F	0,75	37,5	
14-R	0,75	37,5	
14-P (HEX)	0,5	25	
23F-F	0,75	37,5	
23F-R	0,75	37,5	
23F-P (ROX)	0,5	25	
28A/28F-F	0,5	25	
28A/28F-R	0,5	25	
28A/28F-P (CY5)	0,25	12,5	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	25	1250	
11ª Reacção			
Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	5	250	NTC (Controlo -)
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid (Controlo +)
37-F	0,5	25	

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

37-R	0,5	25	
37-P (FAM)	0,5	25	
11B/11C-F	0,25	12,5	
11B/11C-R	0,25	12,5	
11B/11C-P (HEX)	0,25	12,5	
10F-F	0,5	25	
10F-R	0,5	25	
10F-P (ROX)	0,5	25	
18C/18F/18B//18A-F	0,5	25	
18C/18F/18B//18A-R	0,5	25	
18C/18F/18B//18A-P (CY5)	0,25	12,5	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	25	1250	

12ª Reacção

Reagentes	Volume (µL)	Volume final	Controlos
H ₂ O	3,75	187,5	NTC (Controlo -)
Quanta - Perfecta multiplex PCR mix	12,5	625	PC-Plasmid (Controlo +)
5-F	0,5	25	
5-R	0,5	25	
5-P (FAM)	0,5	25	
39-F	0,75	37,5	
39-R	0,75	37,5	
39-P (CY5)	0,5	25	
35A-F	0,5	25	
35A-R	0,5	25	
35A-P (HEX)	0,5	25	
2-F	0,5	25	
2-R	0,5	25	
2-P (ROX)	0,25	12,5	
DNA/clinical specimen	2,5	125	
Total	25	1250	

Fonte: CDC, (2023).

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

a) Anexo 3. Carta de aprovação do estudo



Comité Institucional de Bioética em Saúde da
Faculdade de Medicina/Hospital Central de
Maputo



(CIBS FM&HCM)

Dr. Vasco António Muchanga, Presidente do Comité Institucional de Bioética em Saúde da Faculdade de Medicina/Hospital Central de Maputo (CIBS FM&HCM)

CERTIFICA

Que este Comité avaliou a proposta do (s) Investigador (es) Principal (is):

Nome (s): **Zubaida Argentina Chiau**

Protocolo de investigação: **Versão 1, de Agosto de 2023**

Cosentimentos informados: **Versão 1, de Agosto de 2023**

Guião de Entrevista: **Versão 1, de Agosto de 2023**

Do estudo:

TÍTULO; “Epidemiologia da Doença Pneumocócica Invasiva em Crianças Menores de 5 Anos Após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula em Moçambique, 2018 - 2023..”

Consta que:

1º Após revisão do protocolo pelos membros do comité durante a reunião do dia de 21 de Novembro de 2024 e que será incluída na acta **03/2024**, o CIBS FM&HCM, emite este informe notando que não há nenhuma inconveniência de ordem ética que impeça o início do estudo.

2º Que a revisão realizou-se de acordo com o Regulamento do Comité Institucional da FM&HCM – emenda 2 de 28 de Julho de 2014.

3º Que o protocolo está registado com o número **CIBS FM&HCM/04/2023**.

4º Que a composição actual do CIBS FM&HCM está disponível na secretária do Comité.

5º Não foi declarado nenhum conflito de interesse pelos membros do CIBS FM&HCM.

6º O CIBS FM&HCM faz notar que a aprovação ética não substitui a aprovação científica nem a autorização administrativa.

7º A aprovação terá validade de 1 ano, até 26 de Novembro de 2025. Um mês antes dessa data, o Investigador deve enviar um pedido de renovação se necessitar.

8º Recomenda-se aos investigadores que mantenham o CIBS informado do decurso do estudo no mínimo uma vez ao ano.

9º Solicitamos aos investigadores que enviem no final de estudo um relatório dos resultados obtidos

E emite

E emite

RESULTADO: **APROVADO**

Assinado em Maputo aos 26 de Novembro de 2024



Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

Anexo 4. Carta de cobertura do Hospital Central de Nampula



REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE
PROVINCIA DE NAMPULA
CONSELHO DOS SERVIÇOS PROVINCIAIS DE REPRESENTAÇÃO DO ESTADO
HOSPITAL CENTRAL DE NAMPULA
Direcção Científica

Ao:
Presidente do Conselho da Revisão Científica
Comité Institucional da Bioética para Saúde
Faculdade de Medicina

=MAPUTO=

N/Ref.º 714 /GDCP-HCN/2023

Data: 31 /07/2023

Assunto: CARTA DE COBERTURA INSTITUCIONAL

Endereçamos a V.Excia os nossos melhores cumprimentos.

A Direcção Científica e Pedagógica do Hospital Central de Nampula serve-se desta para comunicar a V.Excia que a Sra. ZUBAIDA ARGENTINA CHIAU – Mestranda em Biotecnologia na Faculdade de Medicina da Universidade Eduardo Mondlane, está **AUTORIZADA** a recolher amostras de líquido cefalorraquidiano e sangue no âmbito da vigilância Nacional de Meningite "VINAME" para fins de pesquisa com a finalidade de produção de dissertação intitulada: "Epidemiologia da Doença Pneumocócica Invasiva em Crianças Menores de 05 anos Após a introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13 - Valente no Hospitais Central de Nampula, 2018 - 2023.

Cordiais saudações.


HOSPITAL CENTRAL DE NAMPULA
O Director Científico e Pedagógico
GABINETE DO DIRECTOR CIENTÍFICO E PEDAGÓGICO
Assinado em 31/07/2023
João Carlos Henriques
(Médico Neurocirurgião consultor)

Hospital Central de Nampula
Av. Samora Machel
C. Postal nº 1061
NAMPULA

Tel: 26213005
Telefax: 26212149

Epidemiologia da Meningite Pneumocócica em Crianças Menores de 5 Anos após a Introdução da Vacina Pneumocócica Conjugada 13-Valente no Hospital Central da Beira e Hospital Central de Nampula, 2018 - 2023.

Anexo 5. Carta de cobertura do Hospital Central da Beira


REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE
MINISTÉRIO DA SAÚDE
HOSPITAL CENTRAL DA BEIRA
GABINETE DO DIRECTOR CIENTIFICO E PEDAGÓGICO
C. P. 1613 – TEL. + FAX: +258 – 23 – 312080



ASSUNTO: Carta de Cobertura para a Realização de Pesquisa

A Direcção do HCBeira é de parecer favorável que a Sr^a. Zubaida Argentina Chiau, estudante do curso de Mestrado em Biociências na Faculdade de Medicina da Universidade Eduardo Mondlane, com o protocolo de Dissertação intitulado "Epidemiologia da Doença Pneumocócica Invasiva conjugada 13-valente no HCBeira e HCNampula, 2018-2023" que realize a recolha de amostras de Líquido Cefalorraquidiano e Sangue, no âmbito da Vigilância Nacional de Meningite "VINAME". Por considerar-se relevante para o Ministério da Saúde em geral e em particular para nossa instituição.

A presente destina-se para a submissão do protocolo ao Comité de Bioética e Saúde.

Cordiais Saudações.

Beira, 11 de Maio de 2023

O Director Científico e Pedagógico,

Dr. Bonifácio Rodrigues Cebola
(Médico Legista)



Gab. do Director Tel/Fax 258-23-312078
Gab. do Dir. Clínica Tel/Fax 258-23-312080
Gab. da Administração Tel/Fax 258-23-311143

HCB Geral - 258-23-312071/3

B. do Macuti, Av. Mártires da Revolução n°727
C.P 1613, Email: hospitalcentraldabeira@yahoo.com