



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ

FIOCRUZ

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO
BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE E MEDICINA INVESTIGATIVA

TESE DE DOUTORADO

EFETIVIDADE DA VACINA MENINGOCÓCICA C CONJUGADA
E CARACTERIZAÇÃO DA *NEISSERIA MENINGITIDIS* EM SALVADOR,
BAHIA

CRISTIANE WANDERLEY CARDOSO

Salvador - Bahia - Brasil
2014

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO
BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE E MEDICINA INVESTIGATIVA

CRISTIANE WANDERLEY CARDOSO

Orientadora: Prof^ª Dr.^a. Joice Neves Reis Pedreira

Tese apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Biotecnologia em
Saúde e Medicina Investigativa
para a obtenção do grau de Doutor.

Salvador - Bahia - Brasil
2014

"ESTUDO DA INCIDÊNCIA DA DOENÇA MENINGOCÓCICA, EFETIVIDADE DA VACINA MENINGOCÓCICA CONJUGADA C E A CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DA NEISSERIA MENINGITIDIS EM SALVADOR, BAHIA."


CRISTIANE WANDERLEY CARDOSO

FOLHA DE APROVAÇÃO

COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Marco Aurélio Palazzi Sáfadi
Professor
FCMSCSP



Dra. Lorene Louise Silva Pinto
Professor Adjunto



Dra. Maria da Conceição Chagas de Almeida
Pesquisadora
CPqGM/FIOCRUZ

A Paulo, o motivador das pequenas e das grandes conquistas.

AGRADECIMENTOS

- A Dr^a. Joice Neves Reis Pedreira pelo incentivo, orientação do estudo e constante apoio;
- Ao Dr. Brendan Flannery pela inestimável colaboração na construção de idéias e concretização do presente trabalho e publicações;
- Ao Dr. Guilherme de Sousa Ribeiro por compartilhar seus conhecimentos e pelas importantes contribuições para a realização desse estudo;
- Ao Dr. Mitermayer Galvão Reis pela motivação e busca permanente da qualificação dos profissionais que se dedicam à saúde coletiva do Brasil;
- Ao Dr. Juarez Pereira Dias e Dr^a. Maria Conceição de Almeida pelas contribuições durante o processo de qualificação dessa tese;
- Aos professores e equipe administrativa do curso de pós-graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa do CPqGM/FIOCRUZ;
- Ao grupo de pesquisa das meningites da FIOCRUZ/CPqGM pela troca de experiências e excelente convivência;
- A Equipe da Secretaria Municipal de Saúde de Salvador pelo apoio e dedicação na realização das ações de vigilância e controle da doença meningocócica em Salvador;
- A Equipe da Diretoria de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Saúde do Estado da Bahia;
- A Organização Pan Americana de Saúde pelo apoio na realização das entrevistas de campo;
- Aos entrevistadores e participantes do estudo, pela aceitação em colaborar com esta pesquisa;
- A Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia (PP-SUS0001/2009) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/PROPD 1472/2008).

Tudo o que somos nasce com nossos pensamentos.
Em nossos pensamentos, fazemos o nosso mundo.

Siddhartha Gautama

CARDOSO, Cristiane Wanderley. Efetividade da vacina meningocócica C conjugada e caracterização da *Neisseria meningitidis* em Salvador, Bahia. 99 f. il. Tese (Doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2014.

RESUMO

Introdução: A doença meningocócica (DM) é causada pela bactéria *Neisseria meningitidis*, sendo um importante problema de saúde pública no mundo. Atualmente, a *Neisseria meningitidis* sorogrupo C (NmC) tem sido o principal agente da DM na Bahia. Em 2010 ocorreu uma epidemia de DM pela NmC em Salvador, e a fim de contê-la, a Secretaria Estadual de Saúde introduziu em fevereiro de 2010, a vacina meningocócica C conjugada (MenC) para crianças menores de cinco anos, incluindo campanhas de vacinação para indivíduos de 10 a 24 anos. **Objetivos:** Descrever a incidência da DM, avaliar a efetividade da vacina MenC e caracterizar os fenótipos e genótipos das cepas circulantes da *N. meningitidis* nos períodos pré e pós-introdução da vacina MenC. **Metodologia:** Realizamos um estudo descritivo-analítico, comparando incidências nas coortes de vacinados e não vacinados nos períodos pré e pós-introdução da vacina MenC. Analisamos a efetividade da vacina MenC utilizando o método “screening” e um estudo tipo caso-controle. A efetividade da vacina MenC foi baseada no odds-ratio (IC 95%; p-valor <0,05). Para caracterização molecular da NmC, utilizamos a técnica de Eletroforese em Campo Pulsátil (PFGE) e da Tipagem de Sequências Multilocus (MLST). **Resultados:** Entre crianças <5 anos, a incidência da DM (2,00 p/100.000 hab.) no período pós-vacina foi significativamente menor (RR 0,27; IC 95%, 0,09-0,75) do que as taxas médias (7,49 p/100.000 hab.) no período pré-vacina. Em ambos estudos, a efetividade de uma única dose da vacina MenC foi elevada, variando entre 79-100% e 89-100% (IC 95%), respectivamente. O fenótipo C:23:P1.14-6 foi o mais prevalente entre os isolados e os casos atribuídos à NmC foram associados ao tipo de sequências 3779 e 3780, ambas pertencentes ao complexo clonal 103. **Conclusão:** Os resultados dos estudos demonstraram elevada efetividade (100%) da vacina MenC introduzida em Salvador através de campanhas. No ano seguinte à introdução da vacina MenC, houve redução de 50% na incidência da DM em Salvador. Em 2010, a epidemia da DM em Salvador deveu-se à expansão do fenótipo C:23:P1.14-6, pertencente ao complexo clonal ST103, o qual já circulava em Salvador desde 1996.

Palavras-chave: doença meningocócica, efetividade, vacina meningocócica C conjugada, *Neisseria meningitidis*.

CARDOSO, Cristiane Wanderley. Effectiveness of meningococcal C conjugate vaccine and characterization of *Neisseria meningitidis* in Salvador, Bahia. 99 f. il. Tese (Doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2014.

ABSTRACT

Introduction: Meningococcal disease (MD) is caused by bacterium *Neisseria meningitidis* and is a major public health problem worldwide. Currently the *Neisseria meningitidis* serogroup C (NmC) has been the main cause of MD in Bahia, Brazil. In order to contain the 2010 epidemic of MD caused by NmC that occurred in the city of Salvador, the State Department of Health introduced in February 2010 the meningococcal C conjugate vaccine (MenC) to <5 year-old children, including vaccination campaigns for individuals from 10-24 years. **Objectives:** Describe trends in incidence of MD, estimate the effectiveness of MenC vaccine, and characterize the phenotypes and genotypes of the circulating strains of *N. meningitidis* in the pre and post-introduction of the MenC vaccine. **Methods:** A descriptive-analytical study was realized comparing incidences in cohorts vaccinated and unvaccinated pre and post introduction of the MenC vaccine. We analyze the effectiveness of MenC vaccine using the screening method and a case-control study. The effectiveness of MenC vaccine was based on the odds-ratio (CI 95%). We performed molecular analyses by pulsed field gel electrophoresis (PFGE) and by multi-locus sequencing typing (MLST). **Results:** Among children <5 years, the incidence of DM in the post-vaccine period (2.00 p/ 100,000 inhabitants) was significantly lower (RR 0.27, 95% CI 0.09 to 0.75) than the rates averages in the pre-vaccine period (7.49 p/ 100,000 inhab.). In both studies the effectiveness of a single dose of MenC vaccine was 100%, CI ranging from 79-100% and 89-100% (CI 95%), respectively. The phenotype C:23:P1.14-6 was the most prevalent among isolates and cases assigned to NmC were associated with the sequences types 3779 and 3780, both belonging to the clonal complex 103 which has been circulating in Salvador since 1996. **Conclusions:** The results of the studies showed high effectiveness (100%) of MenC vaccine introduced in Salvador through campaigns. In following the introduction of the MenC vaccine, there was a 50% reduction in the incidence of DM in Salvador. In 2010, the epidemic of DM in Salvador was due to the expansion of the phenotype C: 23: P1.14-6 belonging to the ST103 clonal complex, which was circulating in Salvador since 1996.

Keywords: meningococcal disease, effectiveness, meningococcal C conjugate vaccine, *Neisseria meningitidis*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Ilustração esquemática dos componentes da membrana externa da cápsula da <i>Neisseria meningitidis</i>	16
Figura 2. Número de casos e incidência da doença meningocócica por faixa etária. Brasil, 2000 a 2009.....	19
Figura 3. Surtos de DM pelo sorogrupo C. Brasil, 2001 a 2006.....	20
Figura 4. Surtos de DM pelo sorogrupo C. Brasil, 2007 a 2008.....	20
Figura 5. Surtos de DM pelo sorogrupo C. Brasil, 2009 a 2010.....	21

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CNS	Conselho Nacional de Saúde
CPqGM	Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz
CRM197	“Cross-Reactive Material” (Variante não Tóxica da Toxina Diftérica)
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
DM	Doença Meningocócica
DS	Distrito Sanitário
ET	“Electrophoretic Type” (Tipo Eletroforético)
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HCM	Hospital Couto Maia
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
MenC	Vacina Meningocócica C Conjugada
MLEE	“Multilocus Enzyme Electrophoresis” (Eletroforese de Enzima Multilocus)
MLST	“Multilocus Sequence Typing” (Tipagem por Sequenciamento de Multilocus)
MLRFT	“Multilocus Restriction Fragment Typing” (Tipagem de Fragmentos de Restrição de Multilocus)
MS	Ministério da Saúde
NmB	<i>Neisseria meningitidis</i> sorogrupo B
NmC	<i>Neisseria meningitidis</i> sorogrupo C
OMP	“Outer Membrane Protein” (Proteína da Membrana Externa)
OR	“Odds-Ratio” (Razão de Chances)
PCR	“Polimerase Chain Reaction” (Reação da Polimerase em Cadeia)
PFGE	“Pulse Field Gel Electrophoresis” (Eletroforese em Campo Pulsado)
PorA	Porina A
PorB	Porina B
RFLP	“Restriction Fragment Length Polymorphism” (Polimorfismo dos Fragmentos de Restrição)
RR	“Relative Risk” (Risco Relativo)
SI-API	Sistema de Informações do Programa Nacional de Imunizações
SINAN	Sistema de Informações de Agravos de Notificação

ST Sequence Typing
TT “Tetanus Toxoid” (Toxóide Tetânico)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 DOENÇA MENINGOCÓCICA	12
1.2 AGENTE ETIOLÓGICO	14
1.3 EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA MENINGOCÓCICA	17
1.4 PREVENÇÃO DA DOENÇA MENINGOCÓCICA	22
1.5 EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR.....	25
2 JUSTIFICATIVA	27
3 OBJETIVOS	27
3.1 GERAL.....	27
3.2 ESPECÍFICOS.....	27
4 ASPECTOS ÉTICOS	28
5 CAPÍTULO 1	28
5.1 Impact of vaccination during an epidemic of serogroup C meningococcal disease in Salvador, Brazil.....	29
6 CAPÍTULO 2	35
6.1 Effectiveness of Meningococcal C Conjugate Vaccine in Salvador, Brazil: A Case-control Study.....	36
7 CAPÍTULO 3	60
7.1 Meningococcal disease and expansion of the ST 103 clonal complex in Salvador, Brazil.....	61
8 DISCUSSÃO	71
9 CONCLUSÕES	77
10 REFERÊNCIAS	78
ANEXOS	89
1. Anexo A - Parecer do comitê de ética	90
APÊNDICES	91
1. Apêndice A - Questionário do caso.....	92
2. Apêndice B - Questionário do controle	95
3. Apêndice C - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	97

1 INTRODUÇÃO

1.1 DOENÇA MENINGOCÓCICA

A denominação Doença Meningocócica (DM) é adotada mundialmente (HART e ROGERS, 1993) e foi descrita pela primeira vez por Vieusseux em 1805, depois de uma epidemia em Genebra, Suíça (VIEUSSEUX, 1805). Trata-se de uma infecção exclusivamente humana, causada pela bactéria *Neisseria meningitidis*, conhecida como meningococo, e transmitida por meio de gotículas de secreção oronasal. O contágio ocorre de indivíduo infectado (doente ou portador) para indivíduo suscetível, sem a intermediação do ambiente (MORAES e BARATA, 2005).

Os sintomas mais comuns da doença são febre alta, cefaléia, rigidez na nuca, vômitos, confusão mental, fotofobia e abaulamento da fontanela em lactentes. O meningococo causa um amplo espectro de doenças humanas e outras manifestações da doença meningocócica incluem artrite séptica, pericardite, pneumonia purulenta, otite, conjuntivite, sinusites, e uretrites. A meningococcemia crônica, apesar de ser uma síndrome rara, pode se apresentar como febre, erupção cutânea, dores articulares e dor de cabeça cursando durante várias semanas (PERKINS *et al.*, 1996).

Nem sempre todos os sintomas estão presentes, especialmente em lactentes, o que faz da doença um grande desafio para a área da assistência, tendo em vista que o diagnóstico precoce é fundamental para redução das taxas de letalidade. Entretanto, mesmo quando a doença é diagnosticada e o tratamento adequado e precoce é iniciado, 10-20% dos pacientes morrem, tipicamente entre 24 e 48 horas após o início dos sintomas (GILLESPIE e HAWKEY, 2005).

Além da elevada taxa de letalidade da DM, um igual percentual de sobreviventes pode apresentar sequelas permanentes, incluindo surdez, retardo mental, e amputação (EDWARDS e BAKER, 1981).

O espectro clínico da DM inclui as formas meníngeas, septicêmicas e mista (meningite e septicemia), esta última denominada de meningococcemia. Essas apresentações podem ocorrer discretamente ou misturar-se com outra durante a evolução clínica. A meningococcemia pode ser anunciada através do desenvolvimento de erupções macopapular arroseadas que formam petéquias. Rapidamente a doença pode resultar em lesões da pele púrpuras ou equimóticas que são hemorrágicas e necróticas. Choque fulminante pode ser o quadro dominante da meningite meningocócica assim como a sepse (MURRAY *et al.*, 2007). Gangrena pode ocorrer nas extremidades (membros superiores e inferiores) devido a

constricção periférica e o óbito pode ocorrer como resultado de uma coagulação intravascular disseminada. Necrose hemorrágica aguda das glândulas adrenais representam a marca da síndrome de Waterhouse-Friderichsen (AGRAHARKAR *et al.*, 2000).

Desde a introdução de vacinas conjugadas contra o *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) e a consequente redução na incidência de infecções por este agente (ROSEINSTEIN *et al.*, 2001; RIBEIRO *et al.*, 2003), *S. pneumoniae* e *N. meningitidis* tornaram-se as causas mais comuns de meningite bacteriana no mundo, sendo esta última a única bactéria capaz de gerar epidemias de meningite (WHO, 2012).

Alguns estudos realizados em países desenvolvidos, estimam que para controlar a DM em epidemias, os custos podem chegar a mais de 3 milhões de dólares e em endemias oscilam entre US\$4.000-6.500 por paciente, variando de região para região (PAHO, 2012). O Brasil carece de estudos que informem os custos com DM. Um estudo realizado em crianças que foram hospitalizadas com DM confirmada por exames laboratoriais e/ou diagnóstico médico, no período de 2009 na cidade de Curitiba-PR, demonstrou que para os Planos de Saúde Complementar o custo médio diário de internamento por paciente é de R\$1.175,00 e de R\$865,91 para os pacientes do Sistema Único de Saúde (SAKAGAMI, 2009).

Muito mais importante que os recursos financeiros dispendidos pelos governos através dos seus órgãos de saúde pública, são as reais consequências da DM através das suas altas taxas de mortalidade e de sequelas permanentes nos indivíduos acometidos pela doença.

O agente etiológico da DM, é responsável por significativa morbidade e mortalidade em lactentes e crianças jovens (BILUKHA e ROSENSTEIN, 2005). Os fatores de risco da DM podem estar agrupados, dependendo do hospedeiro, do agente etiológico e de fatores ambientais. Nem sempre é muito fácil estabelecer quais são os verdadeiros grupos de risco para DM. O risco da doença é alto entre o grupo de imunocomprometidos, indivíduos com doenças crônicas, tais como falência hepática, lúpus eritematoso, mieloma múltiplo e asplenia (MURRAY *et al.*, 2007), indivíduos com deficiência de complemento, portadores do vírus HIV, profissionais microbiologistas que atuam diretamente com a *N. meningitidis* (STANWELL-SMITH *et al.*, 1994; WALPORT, 2001; ROSENSTEIN *et al.*, 2006; CDC, 2013), indivíduos com história de infecção viral, aglomeração familiar, doença subjacente crônica e tabagismo ativo e passivo (FISHER *et al.*, 1997; CARTWRIGHT *et al.*, 1991).

1.2 AGENTE ETIOLÓGICO

Após 82 anos da descrição da doença por Vieusseux (1805), Anton Weichselbaum observou a bactéria no líquido cefalorraquidiano e nomeou o microrganismo de *Diplococcus intracellularis* (WEICHSELBAUM, 1887). O agente etiológico da DM, *Neisseria meningitidis* (meningococo), é uma bactéria Gram-negativa atualmente classificada no filo Proteobacteria, classe Beta Proteobacteria, ordem Neisseriales, família Neisseriaceae (MURRAY *et al.*, 2007). Apresentam-se em forma de cocos em pares (diplococo), sem esporos, aeróbios, e possuem paredes adjacentes achatadas, dando-lhes aparência de “grãos de café” e tamanhos entre 0,6-0,8µm. Diferenciam-se das demais espécies de *Neisseria* por utilizarem a glicose como fonte de energia. Exigem condições especiais para o crescimento em meio de agar chocolate, tais como temperatura entre 35-37°C, umidade aproximada de 50%, e atmosfera de 3 a 10% de CO₂ (VOLK *et al.*, 1996).

A bactéria contém duas membranas, interna ou citoplasmática e externa, que são separadas por uma camada de peptidoglicano (MORLEY e POLLARD, 2002; MACLENNAN *et al.*, 2000) (FIGURA 1). A membrana externa composta por lipídios, proteínas e lipo-oligossacarídeos (VAN DEUREN *et al.*, 2000), exerce importante papel na patogênese da DM devido à capacidade de aderir-se às células do hospedeiro, causar lesão tecidual, inibir o transporte de proteínas, oferecer resistência contra a fagocitose e realizar lise mediada por complemento (MORLEY e POLLARD, 2002). Os mecanismos patogênicos que atuam após a adesão à mucosa, realizados pela *N. meningitidis* através dos *pilli*, são facilitados pela produção de enzimas que degradam a IgA.

O polissacarídeo da cápsula, em função da sua especificidade imunológica, constitui o principal antígeno da *N. meningitidis* e até recentemente, determinava a classificação da bactéria em 13 sorogrupos: A, B, C, D, E, H, I, K, L, W, X, Y e Z, sendo os meningococos dos sorogrupos A, B, C, W, X, e Y os de maior importância para saúde coletiva e os principais agentes da DM, destacando-se por serem os mais frequentes causadores de doença invasiva (VEDROS, 1987; MORLEY e POLLARD, 2002). Vale salientar que havia controvérsias nas bibliografias consultadas quanto ao total de sorogrupos, dada pela inclusão ou não do sorogrupo D, seja porque as características da cepa não são suficientes para classificá-la como grupo, seja por ser raro na população ou pelo fato do polissacarídeo deste sorogrupo não estar bem definido quanto a sua composição química estrutural (VEDROS, 1984; ZOLLINGER, 1990). Atualmente, as novas recomendações classificam a bactéria em

12 sorogrupos, não mais incluindo o sorogrupo D, e excluindo os números 29 e 135 dos sorogrupos E e W, respectivamente (HARRISON *et al.*, 2013).

Estima-se que 90% dos casos endêmicos e epidêmicos sejam causados pelas bactérias dos sorogrupos A, B e C (MACLENNAN *et al.*, 2000). Os sorogrupos por sua vez são subdivididos em sorotipos e sorosubtipos, de acordo com as diferenças imunológicas das principais proteínas da membrana externa (*outer membrane protein*) ou OMP. O sorotipo da cepa é determinado pela OMP das classes 2 e 3 e Porina B (PorB); a OMP de classe 1, Porina A (PorA) estabelece o subtipo. O lipo-oligossacarídeo da membrana é outro antígeno, que determina o imunotipo (TZENG e STEPHENS, 2000) (FIGURA 1).

Por convenção, sorogrupos são representados por letras maiúsculas e os sorotipos por numerais arábicos (BRANHAM, 1953; 1958). Atualmente existem mais de 20 sorotipos de *N. meningitidis*, pelo menos 10 subtipos e mais de 11 imunotipos (RIEDO *et al.*, 1995). A classificação completa de cada meningococo possui sorogrupo, sorotipo, sorosubtipo e imunotipo.

Os seres humanos são os únicos hospedeiros da *N. meningitidis* cujo nicho ecológico é a mucosa nasofaríngea (CAUGANT e MAIDEN, 2009). Tal colonização representa uma relação comensal entre o hospedeiro e a bactéria, com o hospedeiro não apresentando nenhuma patologia detectável. Em média, o portador sadio alberga o meningococo por cerca de cinco a seis meses podendo ultrapassar este período (MACLENNAN *et al.*, 2006), contudo a duração depende das propriedades da bactéria e nem todas as cepas colonizadoras tem a mesma propensão para estabelecer um relacionamento comensal de longo prazo com um determinado hospedeiro (CAUGANT e MAIDEN, 2009).

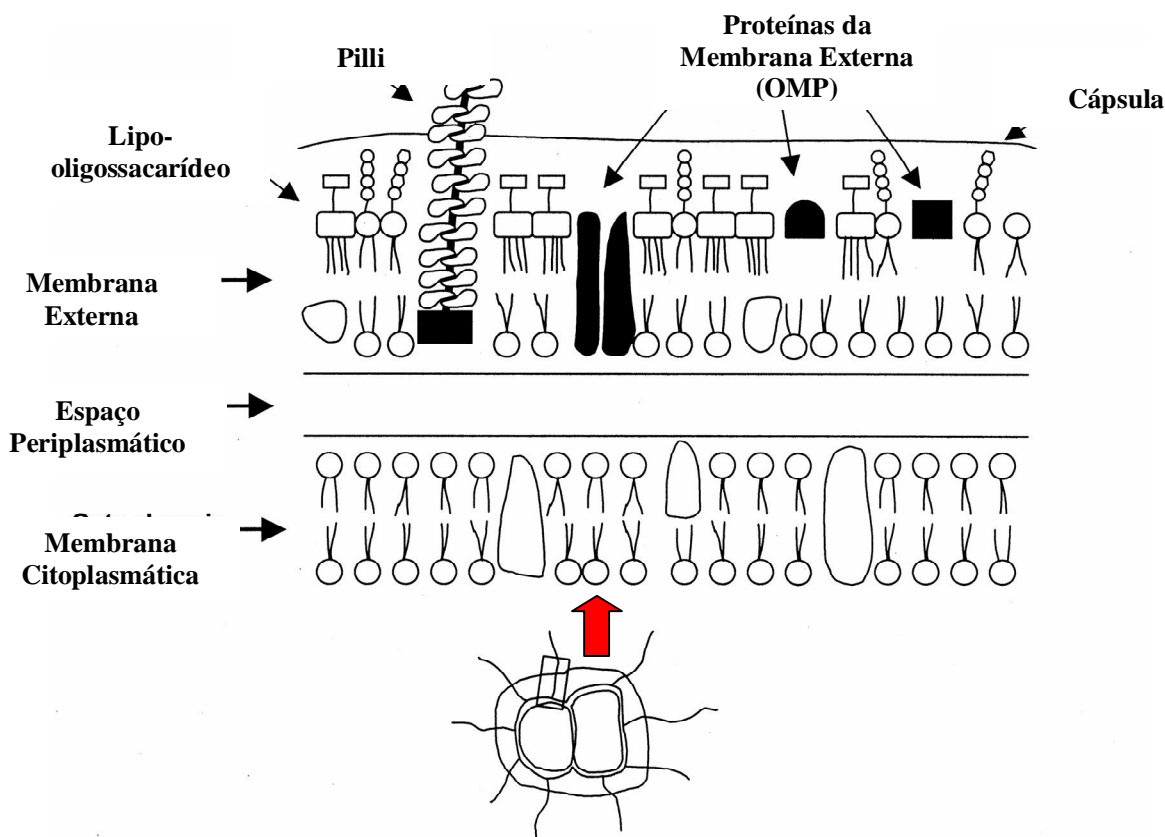
A bactéria está presente na nasofaringe de 8-25% da população humana (ROSENSTEIN *et al.*, 2001) sendo estimada entre 10-35% em adultos jovens na Europa e Estados Unidos (CARTWRIGHT *et al.*, 1987; SWARTLEY *et al.*, 1997). Nos países da América Latina, observam-se poucos estudos de colonização da *N. meningitidis* que indiquem dados estimativos (SÁFADI *et al.*, 2013). No Brasil, um recente estudo longitudinal realizado em Campinas, São Paulo resultou numa prevalência geral de 10% de portadores, sendo que em adolescentes de 17 a 19 anos a prevalência foi de 12% (MORAES *et al.*, 2013).

Durante epidemias, a prevalência de indivíduos colonizados pela *N. meningitidis* pode chegar até 50% (RIEDO *et al.*, 1995), sendo que as taxas de colonização variam com a idade, condição sócio-econômica e com a cepa bacteriana circulante, mas não variam sazonalmente ou com a imunidade de grupo (WHO, 1998).

Em ambientes fechados como residências estudantis, creches e campos militares, a transmissão do agente pode aumentar significativamente, de forma que a prevalência de portadores pode alcançar 100% (CAUGANT *et al.*, 1992). Contudo, estudos indicam que a taxa de colonização e um específico sorogrupo não podem predizer epidemias, não existindo modelos que expliquem associações entre elevadas prevalências em portadores, o complexo clonal e propensão de causar doença (MOORE e OSTERHOLM, 1998; WHO, 1998; CAUGANT e MAIDEN, 2009).

O modelo tradicional de transmissão da doença descreve que, usualmente, a bactéria é introduzida no domicílio por um adulto e subseqüentemente disseminada para uma criança (MUNFORD *et al.*, 1974). Por razões desconhecidas, o meningococo pode invadir a mucosa faríngea e disseminar na corrente sanguínea, causando sepse. O estado de portador sadio permite que a criança adquira a imunidade natural, entretanto permanece responsável pela persistência da transmissão na comunidade (LEPOW *et al.*, 1999).

FIGURA 1. Ilustração esquemática dos componentes da membrana externa da cápsula da *Neisseria meningitidis*.



(adaptado de Yih-Ling Tzeng, David S. Stephens, 2000)

1.3 EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA MENINGOCÓCICA

A DM continua sendo uma grave ameaça para a saúde global e muitos casos resultam em sequelas neurológicas, podendo ser 50% fatais quando não tratados (WHO, 2014).

Endêmica em muitos países, a DM apresenta mundialmente uma incidência anual de 1 a 3 casos por 100.000 habitantes, com repetidas epidemias, principalmente em países em desenvolvimento, quando pode alcançar incidências entre 100 e 800 por 100.000 habitantes (CDC, 2014).

Globalmente, a maior incidência de DM ocorre entre lactentes (LEPOW *et al.*, 1999; ROSENSTEIN *et al.*, 2000). Tanto na forma endêmica, como na forma epidêmica, o maior número de casos de DM ocorre em crianças com idade inferior a 5 anos, particularmente, entre 6 e 24 meses. Entretanto, há situações em que durante as epidemias, observa-se um deslocamento da faixa etária acometida para crianças maiores, adolescentes e adultos jovens (PELTOLA, 1998). De acordo com o sexo, a doença apresenta um pequeno predomínio em pacientes do sexo masculino e com relação à variação sazonal, encontra-se maior percentual de casos no inverno (WHO, 1995; MORAES e BARATA, 2005).

A epidemiologia da DM geralmente apresenta variações a depender da região, do período e do sorogrupo circulante (BEGG, 1995). Estas variações são reflexos das propriedades patogênicas das cepas prevalentes de *N. meningitidis*, das condições socioeconômicas, ambientais e da imunidade da população (TZENG e STEPHENS, 2000).

Na África, por exemplo, na região que ficou conhecida como "cinturão da meningite" (MOLESWORTH *et al.*, 2002; LAFORCE, 2009) que vai do Senegal a Etiópia, grandes epidemias ocorrem em ciclos de 8 a 10 anos ao longo de um século com o predomínio do sorogrupo A. Este mesmo sorogrupo iniciou uma epidemia na China em 1960 e propagou-se na Rússia e países escandinavos, alcançando o Brasil em 1970 (CAUGANT, 1998). Entretanto, na Europa e América do Norte, o sorogrupo A não circula desde a segunda guerra mundial (SCHWARTZ *et al.*, 1989).

Diferente das epidemias causadas pelo sorogrupo A, a transmissão da DM causada por isolados do sorogrupo B resulta em um aumento moderado da incidência, contudo os prolongados surtos podem resultar em significativo impacto na mortalidade e morbidade (GRIFFISS *et al.*, 1987; LYSTAD e AASEN, 1991; TZENG e STEPHENS, 2000), a exemplo das regiões onde predomina a circulação desse sorogrupo, como Estados Unidos e Europa (HARRISON *et al.*, 2009; COHN *et al.*, 2010).

Durante várias décadas, o sorogrupo W tem sido conhecido por estar associado a casos clínicos, incluindo epidemias, de pequenas dimensões. Em 2000 e 2001, dois surtos de DM coincidentes com a estação de peregrinação islâmica (Hajj) para Meca e Medina na Arábia Saudita foram ocasionados pelo sorogrupo W, além de vários casos ocorridos na Ásia, Europa, Estados Unidos e África de indivíduos que viajaram para Arábia Saudita e tiveram contato com os peregrinos (WILDER-SMITH *et al.*, 2003). No final de 2011, o Chile registrou uma mudança no comportamento da DM, com o predomínio do sorogrupo W pertencente ao complexo clonal ST-11, confirmando laboratorialmente 117 casos de DM no ano de 2012. Desses, 103 (88%) foram sorogrupados, dos quais 60 (58%) pertenciam ao sorogrupo W (VALENZUELA *et al.*, 2013). O surgimento do sorogrupo W como agente responsável por epidemias tem implicações para a saúde pública, aumentando as preocupações dos órgãos de saúde quanto à necessidade de racionalizar a utilização dos estoques globais disponíveis da vacina e adaptar as estratégias de resposta às epidemias quanto aos perfis epidemiológicos (WHO, 2014).

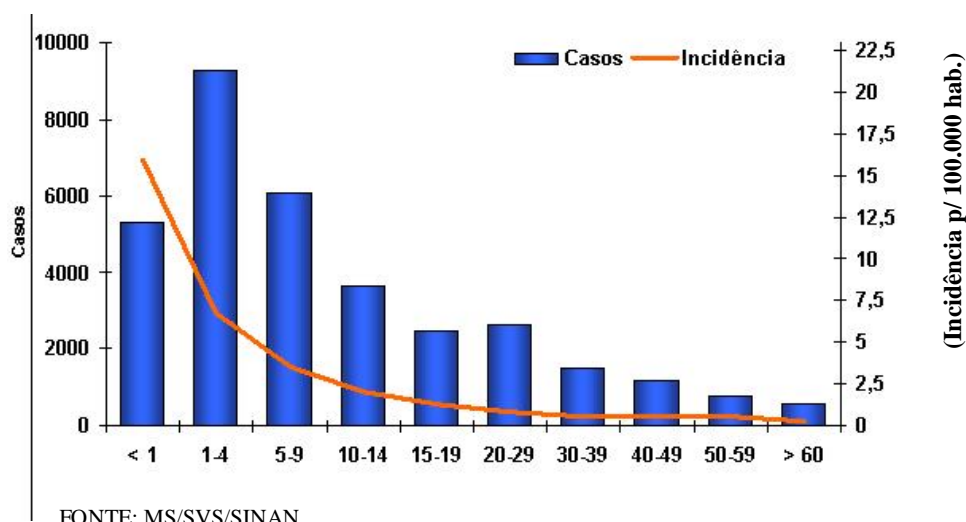
O Brasil apresenta registros de importantes epidemias da DM. Entre 1945 e 1952 ocorreu no município de São Paulo um aumento acentuado da incidência da DM pelo sorogrupo A. A taxa de incidência elevou-se de dois casos por 100.000 habitantes em 1944, para quase nove casos por 100.000 habitantes em 1945. A epidemia atingiu o pico máximo em 1947 (24,2 por 100.000 habitantes) e a incidência voltou aos valores endêmicos em 1952 (2,67 por 100.000 habitantes) (MORAES e BARATA, 2005). Uma segunda onda epidêmica ocorreu em 1971 com uma incidência de 100 casos por 100.000 habitantes e predominância do sorogrupo C que até então não havia sido associado a surtos de grandes proporções (MORAIS *et al.*, 1974). Em 1974 iniciou-se uma nova onda provocada pelo sorogrupo A, sem que a incidência pelo sorogrupo C tivesse interrompido ou retornado aos valores endêmicos (MORAES e BARATA, 2005).

Em Salvador, a doença seguiu o mesmo perfil epidemiológico da Bahia e do país, apresentando na década de 70 incidência anual de 4 casos por 100.000 habitantes, com elevação no ano de 1975, quando atingiu o patamar de 39 casos por 100.000 habitantes, com casos associados principalmente ao sorogrupo C (BRYAN *et al.*, 1990). Uma segunda epidemia ocorreu em 1978, devido ao sorogrupo A, atingindo uma incidência de aproximadamente 18 casos por 100.000 habitantes e a partir desse ano, apresentou tendência de declínio, registrando em 1982 uma incidência de 3,8 casos por 100.000 habitantes com predomínio do sorogrupo B, seguido do sorogrupo C (BRYAN *et al.*, 1990).

No início da década de 80, o país registrou baixas incidências da DM, variando entre 1,0-1,3 por 100.000 habitantes (REQUEJO, 2005), porém em 1986, ocorreu elevação no número de casos, com surtos identificados em diversas regiões do país, provocados pela introdução da cepa cubana B4, 7: P1. 19,15 (SACCHI *et al.*, 1992; BRASIL, 2001; LEMOS *et al.*, 2007). Entre os anos de 1990 a 2001 foram notificados 68.332 casos de DM no país, e uma incidência anual média estimada entre 1 e 3 casos por 100.000 habitantes apresentando um pico epidêmico em 1996 com incidência de 4,1 por 100.000 habitantes (REQUEJO, 2005). Na Bahia, a partir da década de 90, registrou-se o maior número de casos de DM em Salvador causado pelo sorogrupo B (CORDEIRO *et al.*, 2007); posteriormente, nesta mesma década, ocorreu uma redução proporcional deste sorogrupo e um aumento progressivo do sorogrupo C com significativa substituição do sorogrupo B pelo sorogrupo C a partir do ano de 2007 (BRASIL, 2009).

No período de 2000 a 2009, observou-se que a maior incidência da DM no Brasil ocorreu em menores de 5 anos, decrescendo à medida que aumenta a faixa etária (FIGURA 2). Até o ano de 2005, o sorogrupo B predominava no país e a partir desse ano, ocorreu a inversão dos sorogrupos circulantes, prevalecendo o sorogrupo C em todas as regiões brasileiras, com exceção da região Sul, onde o sorogrupo B continuou prevalecendo (CORDEIRO *et al.*, 2007; BRASIL, 2012).

FIGURA 2. Número de casos e incidência (por 100.000 habitantes) da doença meningocócica por faixa etária. Brasil, 2000 a 2009.

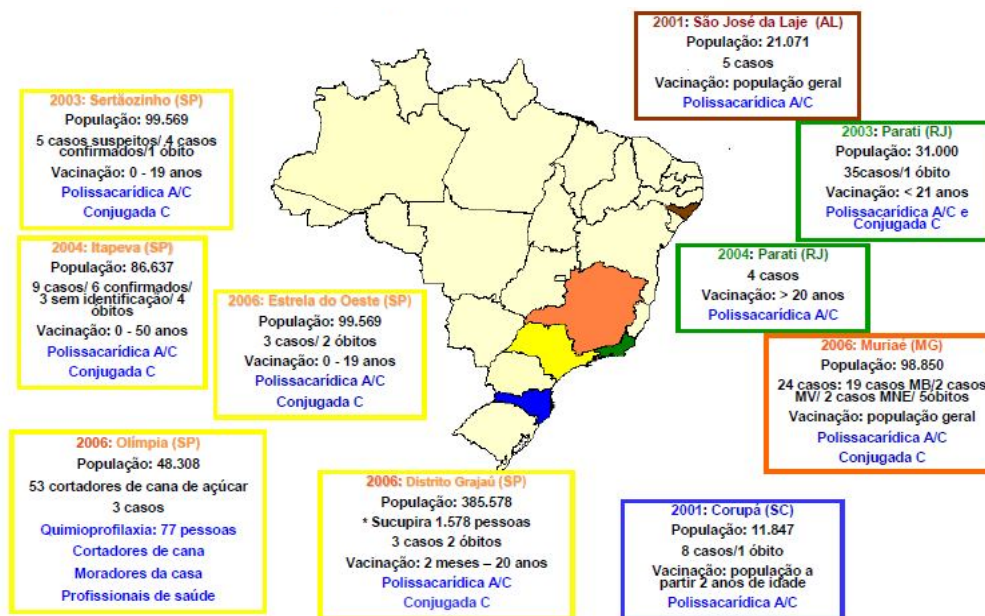


Baseado em casos com sorogrupos identificados, a incidência acumulada da doença meningocócica em Salvador pelo sorogrupo C foi de 0,1 casos por 100.000 habitantes no período de 2000 a 2006 (CARDOSO *et al.*, 2012).

No período de 2001 a 2010, foram registrados 37 surtos da DM pelo sorogrupo C no Brasil, dos quais 06 (16%) ocorreram na Bahia. O maior número de surtos concentrou-se na região Sudeste (n=26, 70%), principalmente no Estado São Paulo (n=16, 43%) (BRASIL, 2012) (FIGURAS 3, 4 e 5).

Em 2011, segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), foram confirmados 19.427 casos de meningites no Brasil, sendo que 7.196 (37%) corresponderam a meningites bacterianas entre os quais, 3.382 (47%) ocorreram em crianças menores de dois anos de idade (BRASIL, 2012). Do total de casos confirmados de meningites bacterianas, 2.736 (38%) corresponderam a DM dos quais 400 (33%) ocorreram em menores de dois anos. Neste mesmo ano, no Estado da Bahia, foram confirmados 1.348 casos de meningites com 128 óbitos, sendo 447 (33%) de origem bacteriana, destacando-se a DM com 182 (41%) casos e 60 óbitos (BRASIL, 2012).

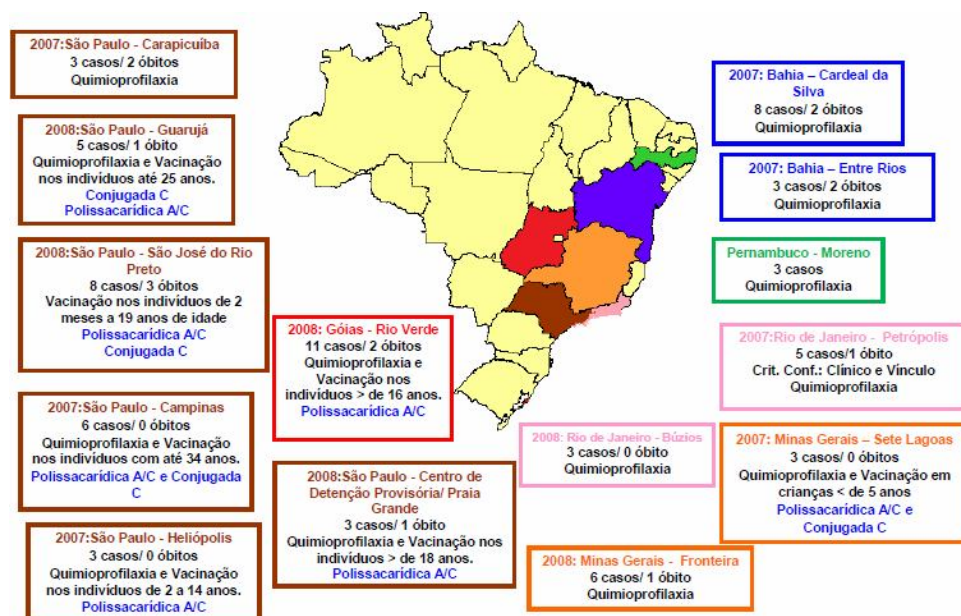
FIGURA 3. Surtos de DM pelo sorogrupo C. Brasil, 2001 a 2006.



Fonte: SVS/MS

(Adaptado de Camile de Moraes, 2014)

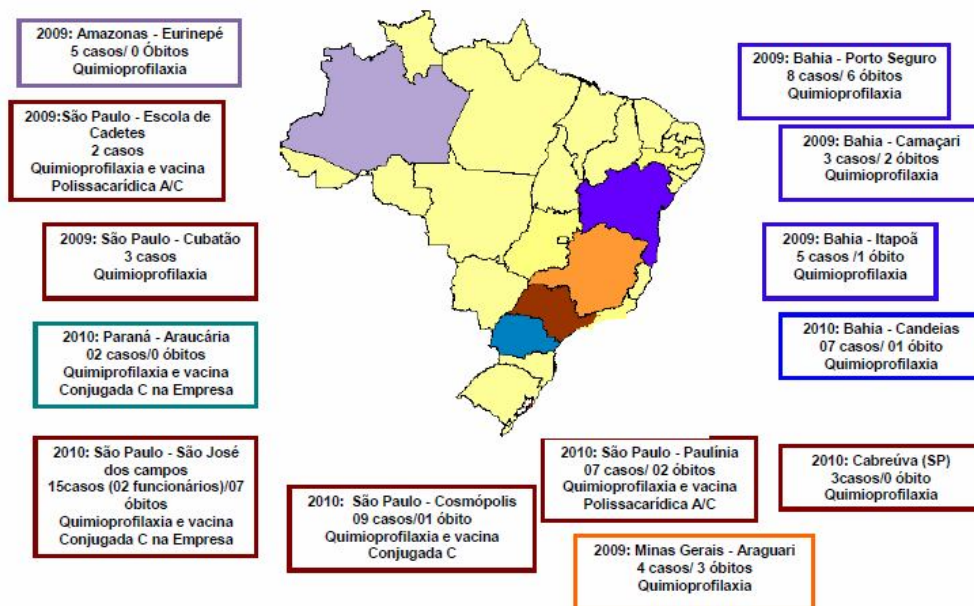
FIGURA 4. Surtos de DM pelo sorogrupo C. Brasil, 2007 a 2008.



Fonte: SVS/MS

(Adaptado de Camile de Moraes, 2014)

FIGURA 5. Surtos de DM pelo sorogrupo C. Brasil, 2009 a 2010.



Fonte: SVS/MS

(Adaptado de Camile de Moraes, 2014)

1.4 PREVENÇÃO DA DOENÇA MENINGOCÓCICA

A prevenção de infecções em humanos devido à *Neisseria meningitidis* permanece um desafio global, apesar dos antibióticos e vacinas (WHO, 2012).

Para a prevenção da DM são adotadas duas importantes medidas: a quimioprofilaxia e as vacinas. A quimioprofilaxia é realizada após a identificação de casos com o objetivo de evitar a ocorrência de casos secundários devido a contatos íntimos. É considerada uma medida de controle eficaz, embora não assegure efeito protetor duradouro e absoluto. Consiste na administração de antibióticos, inclusive em gestantes, de acordo com o peso do indivíduo, sendo analisados o prazo de infectividade e o período de incubação da doença. No Brasil, a droga de escolha para a quimioprofilaxia é a Rifampicina®, de 12 em 12 horas, sendo a dosagem recomendada 600 mg/dose para adultos, 10 mg/Kg/dose para crianças maiores de um mês até 10 anos e 5 mg/Kg/dose para crianças menores de um mês, devendo ser administrada preferencialmente até 48 horas da exposição ao caso índice (BRASIL, 2010).

Considera-se contato íntimo os residentes do mesmo domicílio, pessoas que dividem o mesmo dormitório, crianças que freqüentam a mesma creche e indivíduos expostos de forma direta às secreções do doente (BRASIL, 2010).

Outras medidas preventivas importantes são as vacinas, que podem ser polissacarídicas ou polissacarídicas conjugadas. As vacinas são específicas para determinados sorogrupos, sendo as mais disponíveis aquelas contra o meningococo dos sorogrupos A, C, W e Y.

As vacinas polissacarídicas que podem ser bivalentes (contra os sorogrupos A e C), trivalentes (contra os sorogrupos A, C e W) ou quadrivalentes (contra os sorogrupos A, C, W e Y) registram baixa eficácia no grupo de menores de 2 anos e produzem imunidade de curta duração (12 a 24 meses) em adultos (WHO, 2011). Além disso, o uso repetido dessas vacinas acarreta uma tolerância imunológica, onde cada dose aplicada reduz a eficácia da vacina. Dessa forma, são recomendadas apenas aos viajantes para áreas hiperendêmicas e no controle de surtos. Recentemente o Brasil mudou a estratégia e adotou a administração das vacinas conjugadas para o controle de surtos (DANZING, 2004; BILUKHA *et al.*, 2005; BRASIL, 2010; SÁFADI, *et al.*, 2014).

As vacinas polissacarídicas conjugadas podem ser monovalentes (contra o sorogrupo A ou C) ou quadrivalente (contra sorogrupos A, C, W, Y), e também incluem uma composição de vacina baseada no *Haemophilus influenza* tipo B e *Neisseria meningitidis* sorogrupo C (HibMenC). Essas vacinas contêm na sua composição antígenos polissacarídeos conjugados à proteína diftérica (CRM197) ou do toxóide tetânico (TT). Esta composição induz memória

imunológica mais duradoura, apresentando maior eficácia para crianças a partir dos dois meses de idade (BRASIL, 2009; WHO, 2011; CDC 2012).

Outro importante aspecto preventivo resultante das vacinas polissacarídicas conjugadas é a possibilidade da redução da colonização nasofaríngea e, portanto, a indução da imunidade de grupo, comumente conhecida como imunidade de rebanho (MATTHEW e POLLARD, 2005). Através de um estudo seccional de três anos realizado no Reino Unido, observou-se uma redução de 66% da colonização pelo sorogrupo C em estudantes de 15 a 17 anos após um ano de introdução da vacina MenC (MAIDEN e STUART, 2002).

A vacina MenC foi introduzida no calendário nacional básico de vacinação do Brasil a partir do 2º semestre de 2010 para a faixa etária de 2 meses até 23 meses e 29 dias. Em 2012, o esquema vacinal foi mantido em menores de um ano (2 doses e um reforço) sendo atualmente esta a única faixa etária a ser contemplada pela referida vacina (BRASIL, 2012).

A vacina conjugada contra o meningococo A, MenAfriVac®, foi introduzida na África em dezembro de 2010 nos países de Burkina Faso, e regiões selecionadas do Mali e Níger, expandindo em 2011 para Camarões, Chade, Nigéria, Gana, Benin, Senegal e Sudão. Desde o período da introdução, foram imunizadas mais de 100 milhões de pessoas e a expectativa é de eliminar as epidemias causadas pelo *Neisseria meningitidis* sorogrupo A no conhecido “cinturão da meningite” africano (WHO, 2014).

A vacina conjugada quadrivalente que protege simultaneamente dos meningococos A, C, W e Y e contém na sua composição antígenos polissacarídeos conjugados à proteína diftérica foi licenciada em 2005. Posteriormente, em 2010 uma segunda vacina quadrivalente conjugada ao toxóide diftérico (CRM197) tornou-se disponível. Em alguns países, essa vacina é licenciada para indivíduos da faixa etária de 2-55 anos e em outros países a partir de 11 anos sem limite de idade. No Canadá e Estados Unidos, ambas as vacinas quadrivalentes são amplamente utilizadas, sendo que neste último país, recomenda-se a aplicação em adolescentes de 11 a 12 anos e uma dose de reforço para aqueles que ingressam na escola aos 16 anos (BILUKHA e ROSENSTEIN, 2005; WHO, 2011; CDC 2012). Em 2012, uma vacina conjugada ao toxóide tetânico (MenACWY-TT; Nimenrix®) foi introduzida na Europa inicialmente com o esquema de uma dose para crianças de um ano e no Canadá para idades de um a 55 anos. Em 2013, a vacina conjugada quadrivalente (MCV4-CRM; Menveo®) foi licenciada nos Estados Unidos para uso em crianças de 2 a 23 meses (CDC, 2013; HEDARI *et al.*, 2014).

A fim de controlar a DM, algumas iniciativas foram tomadas por diversos países, dentre elas as estratégias de vacinação visando aplicar o maior número de doses por faixa etária em

um curto espaço de tempo. O Reino Unido por exemplo, introduziu em 1999 a vacina MenC alcançando um significativo sucesso, apresentando uma redução de 76% dos casos de DM pelo sorogrupo C no grupo alvo de adolescentes no primeiro ano após a introdução da vacina MenC (RAMSAY *et al.*, 2001; TROTTER *et al.*, 2004).

Após a introdução da vacina MenC em diversos países, vários estudos foram realizados em função da resposta alcançada. Observou-se que a proteção conferida por essas vacinas mostrou-se diretamente relacionada à idade nas crianças que a recebiam, sendo que naquelas com mais de um ano de idade, a proteção demonstrou-se maior e mais duradoura quando comparada com as crianças que a receberam nos primeiros meses de idade (CANO *et al.*, 2004; MILLER *et al.*, 2001; TROTTER *et al.*, 2004).

Os resultados dos estudos de TROTTER *et al.* (2004) e de SALLERAS *et al.* (2004), revelaram a importância da introdução de uma dose de reforço após um ano de idade a fim de garantir proteção em longo prazo aos lactentes imunizados no primeiro ano de vida. Em outros países, onde ocorre grande número de casos de DM em crianças menores de um ano, foi adotada a vacinação a partir dos três meses de idade (duas doses no intervalo de dois meses) sendo um reforço entre 12 e 15 meses. Crianças com 12 meses devem receber dose única. No Brasil, a vacina MenC foi introduzida em 2010 seguindo este esquema no calendário nacional (BRASIL, 2010). Neste mesmo ano, antes da introdução da vacina MenC no calendário nacional, as Secretarias de Saúde do Estado da Bahia e de Salvador adotaram a estratégia de vacinação para crianças menores de cinco anos de idade e indivíduos de 10 a 24 anos através de campanhas de vacinação (BRASIL, 2012).

Nos locais onde as vacinas foram implantadas, tem havido uma queda significativa no número de casos da doença e uma grande redução no número de óbitos e incapacidades causadas por DM e septicemia (TROTTER *et al.*, 2004; CANO *et al.*, 2004). No entanto, uma parte da doença meningocócica e septicemia não são evitáveis por vacinação, pois nem todas as vacinas cobrem todas as sub-linhagens de bactérias causadoras da doença. Atualmente um grande desafio é o desenvolvimento e introdução de uma vacina contra o meningococo do sorogrupo B (PELTOLA, 1998; TZENG e STEPHENS, 2000; SÁFADI e BARROS, 2006).

O polissacarídeo capsular do meningococo B tem sua estrutura antigênica (ácido a-2-8-N-acetilneuroamínico) similar àquela encontrada em tecidos neurais embrionários humanos. Essa característica, além de impossibilitar sua imunogenicidade, traz ainda o risco de que reações de auto-imunidade possam advir com uso de vacinas baseadas nesta estrutura antigênica (WYLE *et al.*, 1972; FINNE *et al.*, 1983; FRASCH, 1987).

Em função disso, os estudos se concentram no desenvolvimento de vacinas contra o meningococo B que se mostrem imunogênicas e sem riscos. Uma alternativa foi o desenvolvimento de vacinas que utilizassem os componentes não capsulares do meningococo B. Um dos problemas enfrentados é que estas vacinas são específicas para os sorosubtipos de meningococo B incluídos na sua composição, e dessa forma, não oferecem proteção abrangente para outros sorosubtipos (BJUNE *et al.*, 1991).

Uma alternativa para driblar esta característica peculiar do meningococo B tem sido a obtenção de uma vacina através da chamada vacinologia reversa, que consiste em identificar proteínas antigênicas a partir do seqüenciamento do genoma da bactéria (RAPPUOLI, 2001).

Assim, nos últimos anos, alguns progressos foram alcançados nesse sentido, levando a testes em adultos, crianças e, mais recentemente em lactentes. Duas empresas farmacêuticas, Novartis e Pfizer (anteriormente Wyeth), estudam a formulação de vacinas que possam fornecer ampla proteção contra o sorogrupo B (MRF, 2012), principal sorogrupo circulante na Europa e Estados Unidos (CDC, 2012). Entretanto, ainda é preciso tempo para que de fato a elaboração, produção e introdução de uma nova vacina contra o meningococo sorogrupo B possa causar redução na incidência de casos pela doença (ANDREWS *et al.*, 2014).

1.5 EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR

Para melhor entender a dinâmica da transmissão da *N. meningitidis* na população, a caracterização molecular do patógeno é fundamental. Os avanços na tipagem molecular ofereceram melhor entendimento na epidemiologia e biologia dos meningococos cuja diversidade genética, embora extensa, é altamente estruturada (TZENG e STEPHENS, 2000).

Estudos já identificaram pelo menos 37 grupos de meningococos relacionados e conhecidos como complexos clonais. Tais grupos têm sido a unidade predominante na análise da biologia e epidemiologia da população meningocócica. Uma minoria de complexos clonais, tais como ST-103, ST-11, ST-41-44, ST-32 entre outros, são conhecidos como linhagens hiperinvasivas, e responsáveis por um desproporcional número de casos da doença em todo mundo (CAUGANT, 2008).

No que se refere aos métodos moleculares, algumas técnicas foram desenvolvidas para caracterizar a *N. meningitidis*, auxiliar na determinação das tendências na epidemiologia do meningococo e identificar os principais clones com potencial epidêmico. Dentre as técnicas, surgiu a que avalia as variações da eletroforese de enzima multilocus (MLEE). Esta técnica determina a mobilidade eletroforética de uma seleção de enzimas constitutivas em gel amido.

As variações na mobilidade das enzimas são causadas por diferenças em função da substituição dos aminoácidos nas sequências polipeptídicas. O perfil alélico gerado a partir da mobilidade das enzimas determina o tipo eletroforético (ET) e corresponde ao genótipo da bactéria (SELANDER *et al.*, 1986). Os ETs relacionados formam um complexo clonal cujas cepas que o constituem estão associadas geneticamente, sendo provenientes de um ancestral comum. No entanto, esta técnica requer bastante trabalho e tempo para sua execução além de apresentar dificuldades quanto à reprodução de resultados de uma mesma cepa entre laboratórios (ENRIGHT e SPRATT, 1999).

Para superar as desvantagens da técnica da MLEE, outro método foi desenvolvido com base nos princípios do MLEE e a Tipagem de Sequências de Multilocus (MLST) consiste no sequenciamento direto de fragmentos internos de sete genes constitutivos (*abcZ*, *adK*, *aroE*, *fumC*, *gdh*, *pdhC* e *pgm*) (MAIDEN *et al.*, 1998) oferecendo resultados únicos, distinguindo mais alelos por locus e permitindo maior nível discriminatório dos isolados. Outra vantagem desta técnica é permitir que os dados entre diversos laboratórios sejam comparados devido à existência de um banco de dados global (<http://pubmlst.org>) que armazena informações de milhares de seqüências de genes constitutivos de cepas de *N. meningitidis*, como também de outras espécies bacterianas e permite o monitoramento de cepas relacionadas a endemias ou epidemias de meningites meningocócicas (JOLLEY *et al.*, 2004).

O grau de robustez da técnica MLST em predizer o perfil antigênico carece de maior análise, especialmente no contexto de vacinas baseadas em proteínas uma vez que este método utiliza sequências centrais conservadas. O problema é que estas não predizem necessariamente associações entre muitos antígenos devido à falta de concordância introduzida pela recombinação (STEPHENS, 2009). Além disso, para a maioria dos países em desenvolvimento atingidos pela DM, esta técnica representa alto custo em equipamentos e reagentes.

A tipagem de fragmentos de restrição de multilocus (MLRFT) apresenta-se como método alternativo de tipagem ao MLST, onde os produtos de reação de polimerase em cadeia (PCR) correspondentes aos fragmentos que deveriam ser seqüenciados pelo MLST são cortados com enzimas de restrição e o polimorfismo gerado determina um padrão alélico específico. É um método altamente discriminatório, de excelente reprodutibilidade, além de ser relativamente simples e barato (DIEP *et al.*, 2003).

Outros métodos têm sido utilizados e exercem importante papel no monitoramento e compreensão da evolução da DM, a exemplo da técnica de eletroforese em campo pulsado (PFGE), que possui a característica de subdividir as diferentes cepas circulantes dentro de

uma região geográfica (RAYMOND *et al.*, 1997), o polimorfismo de fragmentos de restrição (RFLP) (BJORVATN *et al.*, 1992), métodos baseados em PCR e a ribotipagem (STULL *et al.*, 1988), sendo este último utilizado no Brasil em 1988-1989. A ribotipagem auxiliou na conclusão de que o clone ET-5 ainda era a cepa prevalente e responsável pelo aumento da incidência de casos sete anos após a campanha de vacinação na grande São Paulo (SACCHI *et al.*, 1988).

De uma maneira abrangente, as políticas públicas de saúde para vigilância e controle da DM podem ser favorecidas com a utilização da epidemiologia molecular uma vez que esta oferece uma compreensão avançada da dinâmica da *Neisseria meningitidis* e permite a identificação de determinantes de patogenicidade associados à transmissão da doença.

2 JUSTIFICATIVA

A doença meningocócica é um importante problema de saúde pública, dado seu potencial epidêmico, sua letalidade e sequelas. A doença é considerada endêmica no Brasil, apresentando surtos epidêmicos como o ocorrido em Salvador, Bahia no ano de 2010. Em resposta ao aumento da incidência da doença, a vacina MenC foi introduzida em Salvador antes da sua inclusão no calendário nacional de imunizações e abrangeu as faixas etárias mais acometidas pela doença. Diante deste cenário, estudos tornaram-se necessários para determinar o impacto desta intervenção na incidência da doença, caracterizar as cepas circulantes da *Neisseria meningitidis* e avaliar a efetividade da vacina MenC.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Avaliar o impacto da Vacina MenC introduzida em Salvador no ano de 2010.

3.2 ESPECÍFICOS

1. Descrever a incidência da DM nos períodos antes e após a introdução da vacina MenC;
2. Avaliar a efetividade da vacina MenC introduzida em Salvador em 2010;
3. Descrever as características fenotípicas e genotípicas das cepas circulantes nos períodos pré e pós-introdução da vacina MenC.

4 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) conforme atribuições conferidas pela CONEP/CNS/MS (carta Doc. 32-04/97), com base na resolução 196 e suas complementares, através do parecer final nº 235/2011.

5 CAPÍTULO 1

Os resultados dos estudos da incidência da DM e análise da efetividade da vacina MenC conjugada foram **publicados** em: *Vaccine* 30 (2012) 5541- 5546.

(<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.044>).

O presente artigo visou atender aos objetivos da tese identificando o cenário epidemiológico da doença meningocócica (DM) em Salvador através do estudo da série histórica das incidências da doença meningocócica sorogrupo C no período de 2000 a 2011 bem como a prevalência do sorogrupo da *Neisseria meningitidis*. Descrevemos toda estratégia de vacinação adotada pelas Secretarias de Saúde do Estado da Bahia e de Salvador para a realização das campanhas de vacinação. O estudo da efetividade da vacina foi realizado através do método “screening” no qual identificamos que entre os indivíduos de 10-24 anos de idade, uma dose única de vacina MenC foi 100% efetiva (IC 95%, 79-100%).

5.1. ARTIGO 1

Vaccine 30 (2012) 5541–5546



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Vaccine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vaccine

Impact of vaccination during an epidemic of serogroup C meningococcal disease in Salvador, Brazil

Cristiane W. Cardoso^{a,b}, Lorene Louise Silva Pinto^{c,d}, Mitermayer G. Reis^{a,d},
Brendan Flannery^e, Joice N. Reis^{a,f,*}

^a Gonçalo Moniz Research Center, Oswaldo Cruz Foundation, Brazilian Ministry of Health, Salvador, Brazil

^b Municipal Secretary of Health of Salvador, Brazil

^c Secretary of Health for the State of Bahia, Salvador, Brazil

^d School of Medicine, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

^e Pan American Health Organization, Brasília, Brazil

^f School of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 January 2012

Received in revised form 26 May 2012

Accepted 14 June 2012

Available online 27 June 2012

Keywords:

Neisseria meningitidis

Meningococcal vaccine

Bacterial meningitis

ABSTRACT

To combat rising incidence of serogroup C meningococcal disease in the city of Salvador, Brazil, the Bahia state immunization program initiated routine childhood immunization with meningococcal C conjugate vaccine (MenC) in February 2010, followed by mass MenC vaccination of city residents 10–24 years of age from May through August 2010. We analyzed trends in incidence of reported cases of meningococcal disease and serogroup distribution among meningococcal isolates identified in hospital-based surveillance in Salvador from January 2000 to December 2011 and estimated vaccine effectiveness using the screening method. Annual incidence of serogroup C meningococcal disease increased from 0.1 cases per 100,000 population during 2000–2006 to 2.3 in 2009 and 4.1 in 2010, before falling to 2.0 per 100,000 in 2011. Estimated coverage of mass vaccination reached 80%, 67% and 41% among 10–14, 15–19 and 20–24 year olds, respectively. Incidence in 2011 was significantly lower than average rates in 2008–2009 among children <5 years, but reductions among 10–24 year olds were not significant. Among 10–24 year olds, a single dose of MenC vaccine was 100% effective (95% confidence interval, 79–100%) against serogroup C meningococcal disease. Low coverage in the population targeted for mass vaccination may have limited impact on ongoing transmission of serogroup C meningococcal disease despite high vaccine effectiveness.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Epidemics of bacterial meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, the meningococcus, were first reported in Brazil in 1920 [1]. Meningococcal epidemics since the 1970s have been associated with serogroups B and C (the last meningococcal A epidemic in Brazil occurred in 1974) [2]. Following the predominance of meningococcal serogroup B during the 1990s, serogroup C outbreaks emerged throughout Brazil after 2000, gradually replacing B as the most prevalent serogroup [3,4]. With the rising incidence and high associated case-fatality of meningococcal serogroup C disease among young children and the availability of effective conjugate vaccines, several state and local governments purchased

meningococcal serogroup C polysaccharide-protein conjugate vaccines (MenC) for routine infant immunization or outbreak control in targeted age groups.

From 2007 to 2009, meningococcal serogroup C disease increased substantially in the state of Bahia, with a five-fold increase in the number of cases reported in the capital, Salvador. In 2009, 194 cases of meningococcal disease (1.5 cases per 100,000 population) with 50 deaths (39% case-fatality) were reported to the Bahia state health department, with 50% of the cases and 48% of the deaths occurring in Salvador [5]. Meningococcal serogroup C conjugate vaccine was introduced into the routine childhood immunization schedule of the state of Bahia in February 2010, with a two-dose primary immunization series (at 2 and 4 months) followed by a booster dose in the second year of life. All children younger than five years in the state of Bahia were eligible to receive at least one dose of MenC conjugate vaccine. During the first semester of 2010, unusually high numbers of meningococcal disease cases and deaths among persons older than 10 years occurred in the city of Salvador, leading the state immunization program to

* Corresponding author at: Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde, Rua Waldemar Falcão, 121, Salvador, Bahia 40296-710, Brazil. Tel.: +55 71 3176 2301; fax: +55 71 3176 2281.

E-mail addresses: joice@ufba.br, joice@conveniado.bahia.fiocruz.br (J.N. Reis).

conduct mass vaccination (a single dose) of city residents 10–24 years of age from May to August 2010. We analyzed data from meningitis surveillance and immunization programs to evaluate the impact of vaccination on rates of meningococcal disease among vaccinated age groups and those not targeted for vaccination.

2. Methods

2.1. Surveillance for meningococcal disease

Reporting of suspected cases of meningitis is mandatory in Brazil. Suspected cases of meningitis are reported by public and private health facilities to municipal and state health departments using standardized case report forms from the national Notifiable Diseases Information System [*Sistema de Informação de Agravos de Notificação* (SINAN)]. Case report forms include patient identification, age, gender, clinical signs and symptoms, samples collected, diagnostic tests performed, antibiotic susceptibility and cerebrospinal fluid (CSF) evaluation. Suspected meningococcal disease includes the presence of fever, intense headache, profuse vomiting, neck stiffness, clinical signs of meningeal irritation (Kernig or Brudzinski), convulsions or petechial or purpurial rash. In infants, clinical signs may include irritability, persistent crying and bulging fontanelle. Clinical presentation of meningococcal disease is reported as meningitis, meningococemia or meningitis with meningococemia based on physician diagnosis and laboratory findings. Confirmed cases of meningococcal disease are defined by isolation of meningococci or positive antigen detection tests in blood, CSF or normally sterile fluid specimens from suspected cases. For surveillance purposes, suspected cases may also be classified as confirmed based on epidemiologic link to a laboratory-confirmed case, or by identification in Gram stain of gram-negative diplococci in a patient with suggestive symptoms and petechial or purpurial rash.

2.2. Vaccination against meningococcal serogroup C disease

Brazil's national immunization program provides vaccines included in the recommended immunization schedule through the Unified Health System [*Sistema Unico de Saúde* (SUS)], Brazil's public health system. State governments have autonomy to purchase and provide vaccines not included in the national immunization program through the state immunization program. Bahia, with a population of 13.6 million inhabitants, ranks fourth most populous among Brazil's 27 states (including the Federal District) and had an annual estimated health budget of US\$ 1.5 billion in 2010 [6]. In February 2010, MenC-tetanus toxoid conjugate vaccine (MenC-TT, Neisvac-C[®], Baxter Vaccines) was introduced into the routine infant immunization schedule in the state of Bahia, Brazil, with financing from the state government. After August, 2010, infants began receiving MenC-CRM₁₉₇ conjugate vaccine (Novartis Vaccines), which was provided to all states for universal infant immunization through Brazil's national immunization program. The recommended schedule in all state immunization programs was two doses in the first year of life (either at 2 and 4 months or 3 and 5 months of age), followed by one dose in the second year of life (at 12 or 15 months). Catch-up vaccination was provided for children younger than two years of age in most states. In the state of Bahia, catch-up vaccination included children younger than five years; one dose of MenC was recommended for those at least 12 months of age in February 2010.

In addition, the state of Bahia purchased 1,876,863 doses of MenC-TT in 2010 to control the epidemic of meningococcal serogroup C disease in Salvador, the state capital and most populous city (estimated population 2,676,606, 21% of the state population).

MenC-TT vaccine was used for mass vaccination of persons 10–19 years old in May and June 2010. In August 2010, the state government received 447,983 doses of MenC-CRM₁₉₇ from Brazil's national immunization program, which were used for mass vaccination of persons 20–24 years with a single dose. Children 5–9 years of age were not vaccinated.

MenC vaccination was offered at 52 vaccination posts throughout the city. Vaccination was offered on Saturday and Sunday at the beginning of each phase to minimize disruption of normal vaccination services. Social mobilization focused on the first two days of vaccination for each age group. Due to poor turnout among 20–24 year olds in 2010, vaccination was offered for persons in this age group during the second weekend in February 2011, and at large universities the following week.

MenC doses administered by age group at each vaccination post were reported to the immunization unit of the Salvador municipal health department. For children younger than five years, MenC doses administered were also registered in the information system of the national immunization program according to whether the dose was the first, second or third dose for a child. We estimated coverage with at least one dose of MenC vaccine among children younger than five years using number of administered doses registered as the first dose in the information system of the national immunization program (<http://pni.datasus.gov>, accessed May 24, 2012). We estimated coverage with one dose of MenC vaccine among persons 10–24 years of age by dividing the number of administered doses registered in summary sheets for MenC vaccination campaigns by the estimated population of the target age group in the city of Salvador. Population estimates for Salvador from the 2010 census were obtained from the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE), the Brazilian census bureau.

2.3. Laboratory methods

N. meningitidis isolated from patients with meningococcal disease were sent to the Central Public Health Laboratory for the state of Bahia or the Molecular Biology Research Laboratory at the Gonçalo Moniz Research Center at the Oswaldo Cruz Foundation in Salvador for characterization using serogroup-specific antisera (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), as described previously [7,8].

2.4. Statistical analysis

For suspected meningitis cases, annual reporting rates for 2000–2011 were calculated by dividing the yearly number of suspected meningitis cases among city residents reported to the state health department by the estimated population of Salvador, Brazil. Similarly, annual cumulative incidence of confirmed meningococcal serogroup C disease was calculated by dividing the number of serogroup C cases in each age group by the corresponding population of Salvador. Rates were not adjusted for the proportion of confirmed meningococcal disease of unknown serogroup. We obtained population estimates for the city of Salvador from IBGE and used 2000 census data and intercensal projections from the census bureau to calculate rates for 2001 through 2007; for 2008 through 2011, we used the 2010 census estimate of the population. For confirmed meningococcal serogroup C disease, we calculated age-specific relative risk (RR) and corresponding 95% confidence intervals contrasting incidence in 2011 to average pre-vaccine incidence in 2008 and 2009. For 2011, we estimated vaccine effectiveness (VE) of one dose of MenC vaccine among 10–24 year olds using the screening method [9], as $(1 - \text{odds ratio [OR] of vaccination among confirmed meningococcal C cases to the population}) \times 100$. Exact confidence intervals for the OR were used to estimate the lower 95% confidence limit for vaccine effectiveness.

3. Results

Following seven years from 2000 to 2006 of declining reporting rates of suspected meningitis cases in the city of Salvador, suspected meningitis rates increased substantially during 2007 through 2010, reaching 14.9 suspected meningitis cases per 100,000 population (Fig. 1). Confirmed cases of meningococcal disease followed a similar pattern, falling from 74 confirmed cases in 2000 to a low of 15 in 2004 and then increasing rapidly from 2008 through 2010. From 2000 through 2006, meningococcal serogroup was identified for isolates from 127 (45%) of 281 confirmed cases (Fig. 1); 105 (83%) were serogroup B, 20 (16%) were serogroup C and 2 (1%) were other serogroups (A [$n=1$] and W135 [$n=1$]). From 2007 through 2011, serogroup was determined for 335 (77%) of 437 meningococcal cases, and serogroup C replaced B as the most prevalent serogroup identified among confirmed cases of meningococcal disease (Fig. 1).

Based on cases with known serogroup, cumulative incidence of serogroup C meningococcal disease in the city of Salvador was 0.1 cases per 100,000 population per year from 2000 through 2006 (Fig. 2) with 1 death (case-fatality, 5%). In 2007, 13 cases (0.45 cases/100,000 population) of serogroup C meningococcal disease were identified with 2 deaths (case-fatality, 15%); in 2008, 53 cases (1.8 cases/100,000 population) were identified with 4 deaths (8%) and in 2009, 69 cases (2.3 cases/100,000 population) with 10 deaths (14.5%). From 2007 to 2009, children younger than five years old accounted for 34 (25%) of 135 cases (incidence, 4.8 cases/100,000 children <5 per year; Fig. 3) and 4 (25%) of 16 deaths. Among 10–24 year olds, there were 43 (32%) cases (5.2 cases/100,000 population/year) and 3 deaths.

MenC vaccine was introduced into the routine infant immunization schedule in the city of Salvador in February 2010, with a catch-up vaccination campaign for all children younger than 5 years. In the first month, 87,111 doses of MenC were administered to children <5 years, reaching an estimated 44% coverage of the target population with at least one dose. By December 2010, an estimated 92% of children younger than 5 years had received at least one dose of MenC vaccine (Table 1).

In the first six months of 2010, cases of meningococcal disease continued to increase, with 93% of 63 cases among persons 10–24 years of age. The state health department purchased an additional MenC vaccine and conducted mass vaccination in three phases of persons 10–24 years of age. The first phase, targeting 10–14 year olds, began May 30; 160,554 (93%) of 172,624 MenC doses administered in this age group were applied in the first weekend of the campaign, reaching 75% of the target population. The second phase, targeting those 15–19 years began June 12; 145,249 (96%) of 151,884 MenC doses administered in this age group were applied in the first weekend. The third phase, targeting 20–24 year olds, was delayed until August 14; only 68,362 (67%) of 102,565 MenC doses administered in this age group were applied in the first weekend. At the end of the third phase, coverage with at least one dose of MenC had reached 80% among 10–14 year olds, 67% among 15–19 year olds, and 40% among 20–24 year olds (Table 1). An additional opportunity for 20–24 year olds was provided on February 12–13, 2011, during which 28,647 MenC doses were administered in this age group.

To evaluate the short-term effect of MenC vaccination, we contrasted age-specific incidence of meningococcal serogroup C disease in 2011 to average incidence in 2008–2009 for targeted and non-targeted age groups for MenC vaccination (Table 2). Among children <5, incidence of serogroup C meningococcal disease fell from 7.5 cases per 100,000 per year during 2008–2009, to 4.0 in 2010 and 2.0 per 100,000 in 2011, and was significantly lower in 2011 than during 2008–2009. Among 10–24 year olds, rates of serogroup C disease were lower in 2011 than in 2010, but were

not significantly lower than during 2008–2009 before mass vaccination. Similarly, rates of serogroup C disease among children 5–9 years and adults 25 years and older who were not targeted for vaccination fell in 2011 but were not significantly different from rates during 2008 to 2009 (Table 2). During 2011, there were 55 confirmed cases of serogroup C meningococcal disease and 21 were eligible for MenC vaccination; 4 case-patients were <5 years ($2 < 1$ year of age) and 17 were 10–24 years old, none had received MenC vaccine. Based on the surveillance data, the effectiveness of a single dose of MenC vaccine for prevention of serogroup C meningococcal disease was 100% (95% confidence interval, 79–100%).

4. Discussion

The introduction of MenC conjugate vaccine for infants in the state of Bahia coincided with increasing incidence of meningococcal serogroup C disease. The capital city of Salvador experienced historic numbers of cases in older children and adults; the resulting panic and demand for MenC vaccine quickly consumed available supplies in the private sector, even at approximately US\$ 100/dose. In 2010, the Bahia state government invested US\$ 30 million to purchase MenC vaccines, including US\$ 10 million to purchase vaccine for the city of Salvador. MenC vaccine was offered at no charge through the state immunization program; however, because supplies were limited, vaccine was offered only to persons in age groups that experienced the highest disease incidence.

A single dose of MenC vaccine after the first year of life has been shown to be highly effective for preventing both epidemic and sporadic meningococcal disease [10–13]. The decision to offer a single dose of MenC vaccine to children 1–4 years old and individuals 10–24 years of age during the epidemic in Salvador was based on local epidemiology, resource constraints and experience with MenC vaccines during meningococcal serogroup C epidemics in the United Kingdom and other countries [4,11,12,14]. For infants, the state health department prioritized available MenC vaccine to provide two doses to prevent disease in the first year of life, followed by a booster in the second year of life. Administrative data suggested good uptake of MenC vaccine among young children, although surveys were not conducted to determine what proportion of children completed recommended schedules. However, cases of meningococcal serogroup C disease continued to occur among persons who were eligible for vaccination, prompting an investigation of vaccine effectiveness. The results of this study identified no confirmed cases of meningococcal serogroup C disease in vaccinated or partially vaccinated individuals through December 2011, consistent with the high effectiveness of MenC conjugate vaccines observed in the United Kingdom, Quebec, Spain and other settings [10,15–17]. Reasons for non-vaccination among case patients who were eligible to receive MenC vaccine need to be investigated to inform future vaccination strategies. Offering MenC vaccine over an extended period of time might have helped achieve coverage targets; national vaccination campaigns against influenza A(H1N1) and rubella in Brazil achieved coverage targets among persons 20–29 years old by providing multiple opportunities for vaccination over an extended period [18,19].

The increase in serogroup C meningococcal disease in Salvador, Brazil, was characterized by elevated attack rates among adolescents and young adults, as well as young children, with high case-fatality, similar to patterns of epidemic meningococcal disease described in other settings [10,15,16]. Data from surveillance for meningococcal disease, especially the availability of population-based data to compare disease incidence by age group in the city of Salvador [7], helped prioritize limited vaccine supplies. The increase of meningococcal serogroup C disease in Salvador followed a shift from predominance of serogroup B to serogroup C

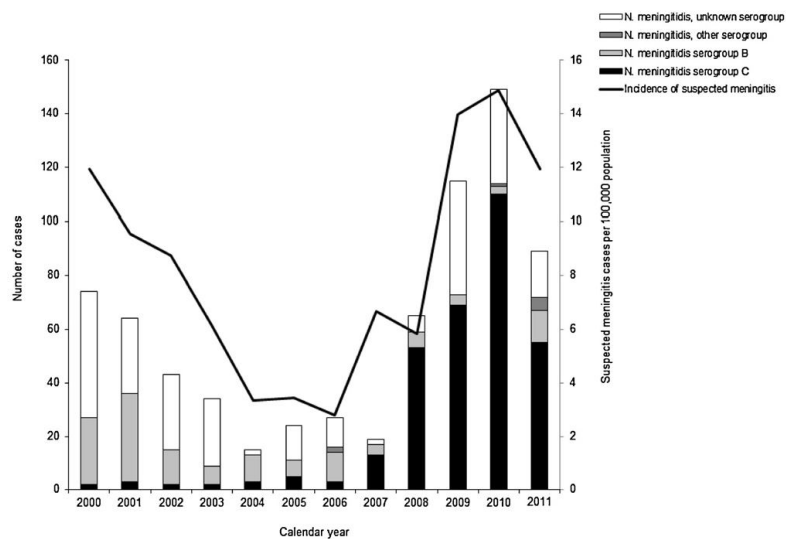


Fig. 1. Reporting rates of suspected meningitis cases and frequency of confirmed meningococcal disease, according to serogroup of isolate, among residents of Salvador, Brazil, 2000–2011.

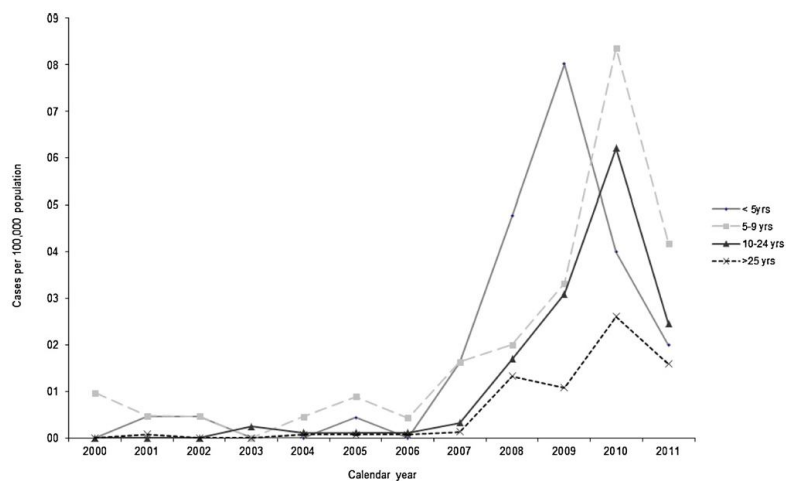


Fig. 2. Reported incidence of meningococcal serogroup C disease among residents of the city of Salvador, Brazil, according to age category, 2000–2011.

Table 1

Number of MenC vaccine doses administered and estimated coverage of target population for routine and catch-up immunization of children and mass vaccination of persons 10–24 years of age in the city of Salvador, Brazil, 2010.

Age group, years	Population	Time period	Number of MenC doses administered	% of target population
<5	200,272	February–December 2010	184,600 ^a	92.2
10–14	214,814	May–August 2010	172,624	80.4
15–19	225,379	June–August 2010	151,884	67.4
20–24	252,066	August 2010	102,565 ^b	40.7

^a Excludes doses registered as second or third doses.

^b Excludes doses administered in February 2011.

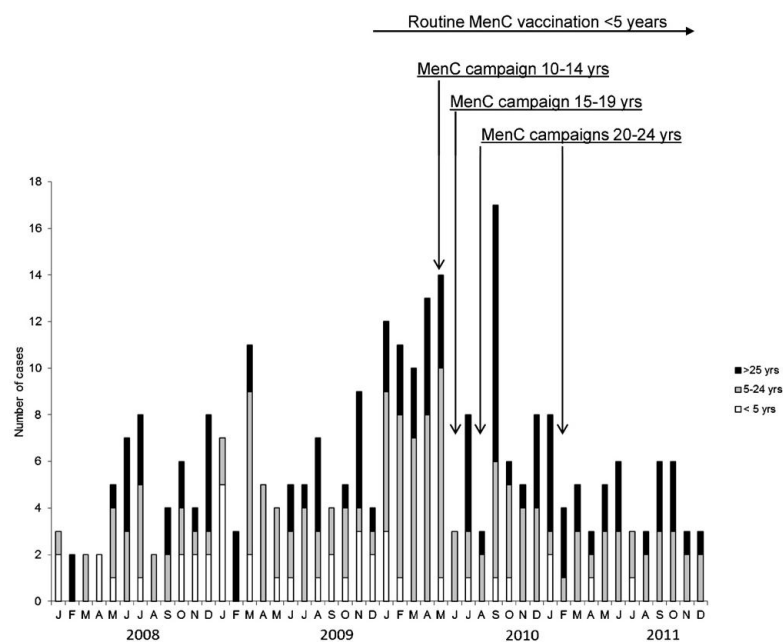


Fig. 3. Confirmed cases of meningococcal serogroup C disease among residents of the city of Salvador, Bahia, by age group of case patient, January 2008 through December 2011.

first described in São Paulo in southeast Brazil [3], and spreading throughout the country [4]. While the emergence of a virulent serogroup C clone belonging to sequence type 103 complex may have contributed to epidemics in Brazil, steadily increasing incidence of serogroup C meningococcal disease has been reported from the greater São Paulo metropolitan area since the late 1980s [3]. Further, meningococcal epidemics may occur due to a variety of factors; shifts of predominant serogroup have been identified in other settings in Brazil without occurrence of epidemics [20]. For example, serogroup C meningococci belonging to the sequence type 103 complex have been identified in Salvador since 1996 (J. Reis, unpublished data). This clone has been associated with epidemics of meningococcal disease in Europe and other regions since 2000 [3,21]. Natural cycles in meningococcal disease complicate

efforts to document short-term impact of vaccination. Continuous surveillance in Brazil for meningococcal disease and strain characterization is needed to establish a baseline for vaccine impact assessments.

This study is subject to a number of limitations. First, cases of meningococcal disease may have been missed or not reported to the health department, isolates were not obtained for all episodes of meningococcal disease for serogrouping and MenC vaccination may not have been correctly recorded in case report forms. Cases of serogroup C disease in vaccinated individuals may have been missed, however, active case investigations did not identify confirmed meningococcal disease (regardless of serotype) in vaccinated or partially vaccinated individuals. Second, improvements in surveillance and determination of serogroup for confirmed cases

Table 2

Cumulative incidence of confirmed meningococcal serogroup C disease by time period and age group, Salvador, Brazil, 2008–2011.

Age group, years	Population	Beginning of vaccination	2008–2009 ^a		2010		2011		Relative risk ^b 2011 vs. 2008–9 (95% CI)
			Cases	Incidence per 100,000	Cases	Incidence per 100,000	Cases	Incidence per 100,000	
<5	200,272	February–10	30	7.49	8	3.99	4	2.00	0.27 (0.09–0.75)
5–9	161,475	N/A	13	4.03	18	11.15	9	5.57	1.38 (0.59–3.23)
10–14	214,814	May–10	20	4.66	15	6.98	5	2.33	0.5 (0.18–1.33)
15–19	225,379	June–10	10	2.22	13	5.77	5	2.22	1 (0.34–2.92)
20–24	252,066	August–10	10	1.98	15	5.95	7	2.78	1.4 (0.53–3.67)
25–29	297,758	N/A	7	1.18	13	4.37	9	3.02	2.57 (0.95–6.90)
30–39	476,921	N/A	12	1.26	17	3.56	8	1.68	1.33 (0.54–3.26)
40–49	392,966	N/A	15	1.91	9	2.58	4	1.15	0.6 (0.19–1.8)
50+	445,694	N/A	5	0.56	2	0.45	4	0.90	1.6 (0.42–5.9)

^a Pre-vaccine comparison period defined as January 2008–December 2009. Average annual incidence during the pre-vaccine period was calculated as the total number of cases divided by twice the estimated population in 2010.

^b Relative risk (RR) compares cumulative incidence in 2011 versus annual incidence during pre-vaccine period (2008–2009).

contributed to higher detection rates of serogroup C disease. However, the replacement of serogroup B and emergence of a dominant serogroup C clone suggested a true increase in serogroup C disease during the period. To control for improvements in surveillance, we calculated relative risks over a short period with high detection rates. We analyzed unadjusted rates, without redistribution of cases of unknown serotype; therefore, rates are minimum estimates of serogroup C disease incidence during the period. Third, meningococcal disease incidence was not stable during the pre-vaccine period and comparisons of age-specific relative risk of disease were based on few cases. For calculation of relative risk, we chose a pre-vaccine period when rates of serogroup C disease were increasing, potentially leading to an overestimation of vaccine impact. In addition, declining incidence of serogroup C disease in 2011 among non-targeted groups suggested that factors other than MenC vaccination may have contributed to lower rates. Differentiating between vaccine impact and secular trends was complicated by natural variability in meningococcal disease [20,22]. Finally, we did not account for MenC vaccination in the private sector. If individuals at lower risk of disease were more likely to be vaccinated, vaccine effectiveness (specifically, the lower confidence limit) may have been overestimated. However, persons of lower socioeconomic status may have been more likely to receive MenC vaccine than persons of higher status during the campaign, when MenC vaccine was offered at public clinics.

The state of Bahia was the second Brazilian state to introduce MenC conjugate vaccine for infants; later the same year, MenC was added to recommended infant immunizations provided by Brazil's national immunization program. Nationally, catch-up vaccination with a single dose of MenC was offered only for children <2 years old. To date, mass vaccination of older children and young adults to control epidemic disease has only been conducted in the city of Salvador. Surveillance for meningococcal disease needs to be improved. Ongoing surveillance will inform vaccination strategies in other parts of the state and throughout Brazil, as well as to monitor the long-term effectiveness of a single dose of MenC vaccine in this population.

Acknowledgments

We thank Alcina Marta Andrade, Marlene Tavares, Aline Anne Ferreira de Deus, Orgali Marques, Ceuci Nunes and Maria de Fátima Guirra for providing information on immunization program and meningococcal disease notification; Amanda Cohn from the U.S. Centers for Disease Control and Prevention for helpful comments on the manuscript; Ana Rita de Cássia L. Vasconcelos and, most of all, the immunization program team of the Municipal Health Department of Salvador, Brazil. This study was supported by grants from the Bahia State Foundation for the support of research (PP-SUS0001/2009) and National Program of Post-doctoral (CAPES-PNPD 1472/2008).

References

- [1] de Moraes JC, Barata RB. Meningococcal disease in Sao Paulo, Brazil, in the 20th century: epidemiological characteristics. *Cad Saude Publica* 2005;21(September–October (5)):1458–71.
- [2] Fonseca CMJ, Barata R. O livro da meningite uma doença sob a luz da cidade. São Paulo: Segmento Farma; 2004.
- [3] de Lemos AP, Yara TY, Gorla MC, de Paiva MV, de Souza AL, Gonçalves MI, et al. Clonal distribution of invasive *Neisseria meningitidis* serogroup C strains circulating from 1976 to 2005 in greater Sao Paulo, Brazil. *J Clin Microbiol* 2007;45(April (4)):1266–73.
- [4] Harrison LH, Trotter CL, Ramsay ME. Global epidemiology of meningococcal disease. *Vaccine* 2009;27(June (Suppl. 2)):B51–63.
- [5] Epidemiologic Surveillance Department. In: Bahia State Health Department, editor. Epidemiological bulletin. Salvador, Bahia: Epidemiologic Surveillance Department; 2010.
- [6] Brasil. Secretaria de Saúde do Estado da Bahia. Relatório de Gestão SESAB 2010; 2010, p. 21. Available from: <http://www.saude.ba.gov.br/2010> [cited 09.07.2011].
- [7] Cordeiro SM, Neves AB, Ribeiro CT, Petersen ML, Gouveia EL, Ribeiro GS, et al. Hospital-based surveillance of meningococcal meningitis in Salvador, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007;101(November (11)):1147–53.
- [8] Wedege E, Hoiby EA, Rosenqvist E, Froholm LO. Serotyping and subtyping of *Neisseria meningitidis* isolates by co-agglutination, dot-blotting and ELISA. *J Med Microbiol* 1990;31(March (3)):195–201.
- [9] Farrington CP. Estimation of vaccine effectiveness using the screening method. *Int J Epidemiol* 1993;22(August (4)):742–6.
- [10] Snape MD, Pollard AJ. Meningococcal polysaccharide-protein conjugate vaccines. *Lancet Infect Dis* 2005;5(January (1)):21–30.
- [11] Cano R, Larrauri A, Mateo S, Alcalá B, Salcedo C, Vazquez JA. Impact of the meningococcal C conjugate vaccine in Spain: an epidemiological and microbiological decision. *Euro Surveill* 2004;9(July (7)):11–5.
- [12] de Greeff SC, de Melker HE, Spanjaard L, Schouls LM, van Derende A. Protection from routine vaccination at the age of 14 months with meningococcal serogroup C conjugate vaccine in the Netherlands. *Pediatr Infect Dis J* 2006;25(January (1)):79–80.
- [13] Trotter CL, Andrews NJ, Kaczmarski EB, Miller E, Ramsay ME. Effectiveness of meningococcal serogroup C conjugate vaccine 4 years after introduction. *Lancet* 2004;364(July (9431)):365–7.
- [14] Miller E, Salisbury D, Ramsay M. Planning, registration, and implementation of an immunisation campaign against meningococcal serogroup C disease in the UK: a success story. *Vaccine* 2001;20(October (Suppl. 1)):S58–67.
- [15] Brooks R, Woods CW, Benjamin Jr DK, Rosenstein NE. Increased case-fatality rate associated with outbreaks of *Neisseria meningitidis* infection, compared with sporadic meningococcal disease, in the United States, 1994–2002. *Clin Infect Dis* 2006;43(July (1)):49–54.
- [16] Whalen CM, Hockin JC, Ryan A, Ashton F. The changing epidemiology of invasive meningococcal disease in Canada, 1985 through 1992. Emergence of a virulent clone of *Neisseria meningitidis*. *JAMA* 1995;273(February (5)):390–4.
- [17] Mooney JD. Conjugate vaccine is highly effective for controlling epidemics of meningococcus C infection in young people. *Evid Based Healthc Public Health* 2005;9:200–2.
- [18] Teixeira AM, Samad SA, Souza MA, Segatto TC, Morice A, Flannery B. Brazilian experience with rapid monitoring of vaccination coverage during a national rubella elimination campaign. *Rev Panam Salud Publica* 2011;30(July (1)):7–14.
- [19] Domingues CM, de Oliveira WK. Uptake of pandemic influenza (H1N1)-2009 vaccines in Brazil. *Vaccine* 2012;30(July (6)):4744–51.
- [20] Harrison LH. Epidemiological profile of meningococcal disease in the United States. *Clin Infect Dis* 2010;50(March (Suppl. 2)):S37–44.
- [21] Caugant DA. Population genetics and molecular epidemiology of *Neisseria meningitidis*. *APMIS* 1998;106(May (5)):505–25.
- [22] Cohn AC, MacNeil JR, Harrison LH, Hatcher C, Theodore J, Schmidt M, et al. Changes in *Neisseria meningitidis* disease epidemiology in the United States, 1998–2007: implications for prevention of meningococcal disease. *Clin Infect Dis* 2009;50(January (2)):184–91.

6 CAPÍTULO 2

Artigo submetido para publicação na revista *Plos One*.

Visando atender aos objetivos previstos na tese, realizamos análises da avaliação da efetividade da vacina MenC através de um estudo caso-controle, o qual apresenta uma melhor representação da estimativa da cobertura vacinal da população de risco quando comparado com o método “screening”, anteriormente descrito no capítulo 1. As informações sobre a utilização da vacina MenC foram obtidas a partir de casos e indivíduos da mesma idade a partir dos mesmos bairros (controles) e a efetividade da vacina MenC foi estimada com base no odds-ratio obtidos em análise de regressão logística condicional. Foram identificadas as características clínicas dos casos de DM incluídos no estudo, as coberturas vacinais por faixa etária nos períodos pré e pós introdução da vacina MenC e as razões de não vacinação. As vacinas MenC administradas durante a epidemia de DM em Salvador foram altamente efetivas, sugerindo que o alcance rápido de boas coberturas vacinais contribuem para o controle da DM em grandes centros urbanos.

6.1 ARTIGO 2

PLOS ONE

Effectiveness of Meningococcal C Conjugate Vaccine in Salvador, Brazil: A Case-control Study
--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	PONE-D-14-43207
Article Type:	Research Article
Full Title:	Effectiveness of Meningococcal C Conjugate Vaccine in Salvador, Brazil: A Case-control Study
Short Title:	Effectiveness of MenC Vaccine in Brazil
Corresponding Author:	Joice Reis Federal University of Bahia Salvador, BRAZIL
Keywords:	Neisseria meningitidis; meningococcal disease; meningococcal C conjugate vaccine; case-control study
Abstract:	<p>Background: During a citywide epidemic of serogroup C meningococcal disease in Salvador in 2010, Brazil, the state government initiated mass vaccination targeting two age groups with high attack rates: individuals aged <5 years and 10-24 years. More than 600,000 doses of meningococcal serogroup C conjugate vaccines were administered. We performed a case-control study to evaluate vaccine uptake, document vaccine effectiveness and identify reasons for non-vaccination.</p> <p>Methods and Findings: Population-based surveillance identified patients with laboratory-confirmed invasive meningococcal C (MenC) disease during 2010. Information on MenC vaccination was obtained from case patients and age-matched individuals from the same neighborhoods. MenC vaccine effectiveness was estimated based on the exact odds ratios obtained by conditional logistic regression analysis. Of 51 laboratory-confirmed cases of serogroup C meningococcal disease among patients <5 and 10-24 years of age 50 were included in the study and matched with 240 controls. Overall case-fatality was 25%. MenC vaccine coverage among controls increased from 7.1% to 70.2% after initiation of the vaccination campaign. None of the 50 case patients but 70 (29.2%) of the 240 control individuals, including 59 (70.2%) of 84 matched with cases from the period after MenC vaccination, had received at least one MenC vaccine dose. Overall effectiveness of MenC was 98% with a lower 95% exact confidence limit of 89%.</p> <p>Conclusions: MenC vaccines administered during the meningococcal epidemic were highly effective, suggesting that rapid vaccine uptake through campaigns contributed to control of meningococcal disease.</p>
Order of Authors:	<p>Cristiane Wanderley Cardoso</p> <p>Guilherme Sousa Ribeiro</p> <p>Mitermayer G Reis</p> <p>Brendan Flannery</p> <p>Joice Reis</p>
Suggested Reviewers:	<p>Leonard W Mayer Centers for Disease Control and Prevention lw11@cdc.gov Expert in meningococcal disease surveillance</p> <p>Arthur L Reingold University of California Berkeley School of Public Health reingold@berkeley.edu Expert in Public Health and Epidemiology</p>
Opposed Reviewers:	
Additional Information:	
Question	Response

<p>Financial Disclosure</p> <p>Please describe all sources of funding that have supported your work. A complete funding statement should do the following:</p> <p>Include grant numbers and the URLs of any funder's website. Use the full name, not acronyms, of funding institutions, and use initials to identify authors who received the funding.</p> <p>Describe the role of any sponsors or funders in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. If they had no role in any of the above, include this sentence at the end of your statement: "<i>The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.</i>"</p> <p>If the study was unfunded, provide a statement that clearly indicates this, for example: "<i>The author(s) received no specific funding for this work.</i>"</p> <p>* typeset</p>	<p>This work was supported by the grants from the Bahia State Foundation (PP-SUS0001/2009) and Secretary of Health Surveillance (SVS/MS - 284/2013). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript</p>
<p>Competing Interests</p> <p>You are responsible for recognizing and disclosing on behalf of all authors any competing interest that could be perceived to bias their work, acknowledging all financial support and any other relevant financial or non-financial competing interests.</p> <p>Do any authors of this manuscript have competing interests (as described in the PLOS Policy on Declaration and Evaluation of Competing Interests)?</p> <p>If yes, please provide details about any and all competing interests in the box below. Your response should begin with this statement: <i>I have read the journal's policy and the authors of this manuscript have the following competing interests:</i></p> <p>If no authors have any competing</p>	<p>The authors have declared that no competing interests exist</p>

<p>interests to declare, please enter this statement in the box: "<i>The authors have declared that no competing interests exist.</i>"</p> <p>* typeset</p>	
<p>Ethics Statement</p> <p>You must provide an ethics statement if your study involved human participants, specimens or tissue samples, or vertebrate animals, embryos or tissues. All information entered here should also be included in the Methods section of your manuscript. Please write "N/A" if your study does not require an ethics statement.</p> <p>Human Subject Research (involved human participants and/or tissue)</p> <p>All research involving human participants must have been approved by the authors' Institutional Review Board (IRB) or an equivalent committee, and all clinical investigation must have been conducted according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki. Informed consent, written or oral, should also have been obtained from the participants. If no consent was given, the reason must be explained (e.g. the data were analyzed anonymously) and reported. The form of consent (written/oral), or reason for lack of consent, should be indicated in the Methods section of your manuscript.</p> <p>Please enter the name of the IRB or Ethics Committee that approved this study in the space below. Include the approval number and/or a statement indicating approval of this research.</p> <p>Animal Research (involved vertebrate animals, embryos or tissues)</p> <p>All animal work must have been conducted according to relevant national and international guidelines. If your study involved non-human primates, you must provide details regarding animal welfare and steps taken to ameliorate suffering; this is in accordance with the recommendations of the Weatherall report, "The use of non-human primates in</p>	<p>The study was approved by the Institutional Review Board of the Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz/FIOCRUZ (IORG00002090/IRB000026120). Written informed consent was obtained from all participants and/or their parents.</p>

<p>research." The relevant guidelines followed and the committee that approved the study should be identified in the ethics statement.</p> <p>If anesthesia, euthanasia or any kind of animal sacrifice is part of the study, please include briefly in your statement which substances and/or methods were applied.</p> <p>Please enter the name of your Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) or other relevant ethics board, and indicate whether they approved this research or granted a formal waiver of ethical approval. Also include an approval number if one was obtained.</p> <p>Field Permit</p> <p>Please indicate the name of the institution or the relevant body that granted permission.</p>	
<p>Data Availability</p> <p>PLOS journals require authors to make all data underlying the findings described in their manuscript fully available, without restriction and from the time of publication, with only rare exceptions to address legal and ethical concerns (see the PLOS Data Policy and FAQ for further details). When submitting a manuscript, authors must provide a Data Availability Statement that describes where the data underlying their manuscript can be found.</p> <p>Your answers to the following constitute your statement about data availability and will be included with the article in the event of publication. Please note that simply stating 'data available on request from the author' is not acceptable. If, however, your data are only available upon request from the author(s), you must answer "No" to the first question below, and explain your exceptional situation in the text box provided.</p> <p>Do the authors confirm that all data underlying the findings described in their manuscript are fully available without restriction?</p>	<p>Yes - all data are fully available without restriction</p>
<p>Please describe where your data may be found, writing in full sentences. Your answers should be entered into the box</p>	<p>All relevant data are within the paper</p>

<p>below and will be published in the form you provide them, if your manuscript is accepted. If you are copying our sample text below, please ensure you replace any instances of XXX with the appropriate details.</p> <p>If your data are all contained within the paper and/or Supporting Information files, please state this in your answer below. For example, "All relevant data are within the paper and its Supporting Information files."</p> <p>If your data are held or will be held in a public repository, include URLs, accession numbers or DOIs. For example, "All XXX files are available from the XXX database (accession number(s) XXX, XXX)." If this information will only be available after acceptance, please indicate this by ticking the box below.</p> <p>If neither of these applies but you are able to provide details of access elsewhere, with or without limitations, please do so in the box below. For example:</p> <p>"Data are available from the XXX Institutional Data Access / Ethics Committee for researchers who meet the criteria for access to confidential data."</p> <p>"Data are from the XXX study whose authors may be contacted at XXX."</p> <p>* typeset</p>	
Additional data availability information:	

1 Running title: Effectiveness of MenC Vaccine in Brazil

2

3 **Effectiveness of Meningococcal C Conjugate Vaccine in**
4 **Salvador, Brazil: A Case-control Study**

5 Cristiane Wanderley Cardoso^{1,2}, Guilherme Sousa Ribeiro^{1,3}, Mitermayer Galvão Reis¹,
6 Brendan Flannery⁴, Joice Neves Reis^{1, 5 *}

7

8 ¹ Gonçalo Moniz Research Center, Oswaldo Cruz Foundation, Brazilian Ministry of
9 Health, Salvador, Brazil

10 ² Municipal Secretary of Health of Salvador, Salvador, Brazil

11 ³ Institute of Collective Health, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

12 ⁴ Pan American Health Organization, Brasília, Brazil

13 ⁵ School of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

14

15 * Corresponding Author:

16 E-mail: joyce@ufba.br

17

18

19

20 **Abstract**

21 **Background:** During a citywide epidemic of serogroup C meningococcal disease in
22 Salvador in 2010, Brazil, the state government initiated mass vaccination targeting two
23 age groups with high attack rates: individuals aged <5 years and 10-24 years. More than
24 600,000 doses of meningococcal serogroup C conjugate vaccines were administered.
25 We performed a case-control study to evaluate vaccine uptake, document vaccine
26 effectiveness and identify reasons for non-vaccination.

27 **Methods and Findings:** Population-based surveillance identified patients with
28 laboratory-confirmed invasive meningococcal C (MenC) disease during 2010.
29 Information on MenC vaccination was obtained from case patients and age-matched
30 individuals from the same neighborhoods. MenC vaccine effectiveness was estimated
31 based on the exact odds ratios obtained by conditional logistic regression analysis. Of
32 51 laboratory-confirmed cases of serogroup C meningococcal disease among patients
33 <5 and 10-24 years of age 50 were included in the study and matched with 240 controls.
34 Overall case-fatality was 25%. MenC vaccine coverage among controls increased from
35 7.1% to 70.2% after initiation of the vaccination campaign. None of the 50 case patients
36 but 70 (29.2%) of the 240 control individuals, including 59 (70.2%) of 84 matched with
37 cases from the period after MenC vaccination, had received at least one MenC vaccine
38 dose. Overall effectiveness of MenC was 98% with a lower 95% exact confidence limit
39 of 89%.

40 **Conclusions:** MenC vaccines administered during the meningococcal epidemic were
41 highly effective, suggesting that rapid vaccine uptake through campaigns contributed to
42 control of meningococcal disease.

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53 **Introduction**

54 *Neisseria meningitidis* causes severe and life-threatening invasive diseases, such as
55 meningitis and meningococcal sepsis. Despite timely antibiotic treatment, case-fatality
56 often exceeds 10% and one quarter of survivors develop significant neurological
57 disabilities or require limb amputation [1]. Meningococcal disease affects individuals of
58 all age groups, but incidence is highest among children under five years of age. During
59 epidemics and in outbreak situations, meningococcal disease incidence tends to increase
60 mainly among older children, adolescents and young adults [2].

61 An epidemic of serogroup C meningococcal meningitis occurred in 2010 in the city of
62 Salvador, the state capital and third most populous city of Brazil (estimated population
63 2,676,606, 21% of the state population). To combat the epidemic, the state government
64 introduced a conjugate vaccine against serogroup C meningococcal (MenC) disease for
65 children <5 years prior to national introduction of MenC vaccination in Brazil's
66 National Immunization Program. However, incidence of meningococcal disease
67 continued to increase among older children and adolescents. Therefore, the MenC
68 vaccination campaign was gradually extended to also include those 10-24 years of age.
69 In total, more than 611,673 doses of MenC vaccine were administered during the
70 campaigns. A prior study has shown that mass vaccination of residents of Salvador was
71 associated with decreased MenC incidence in targeted age groups. Although MenC
72 cases continued to occur, no confirmed cases of serogroup C meningococcal disease
73 were reported among vaccinated individuals [3]. In order to estimate the effectiveness
74 of MenC vaccination in containing this citywide epidemic of serogroup C
75 meningococcal disease and to collect information on uptake of MenC vaccine among
76 targeted age groups and on reasons for non-vaccination in areas in which cases
77 occurred, we conducted a case-control study of confirmed cases of serogroup C
78 meningococcal disease identified before and after mass vaccination.

79

80 **Materials and Methods**

81 **Mass vaccination against meningococcal serogroup C disease**

82 MenC vaccine was introduced in four stages: vaccination of children <5 years of age
83 began in February, 2010; followed by mass vaccination of children 10-14 years of age
84 on 30-31 May; adolescents 15-19 years of age on 12-13 June; and adults 20-24 years on

85 14-15 August, 2010. Children <12 months received two doses of MenC vaccine in the
86 first six months of life followed by a third dose at 12-15 months of age; all other age
87 groups received just one vaccine dose, including those 12-59 months of age in February
88 2010.

89

90 **Surveillance for meningococcal disease cases**

91 Cases of meningococcal disease were identified between January 1st and December 31st
92 of 2010 as part of ongoing, population-based surveillance in Salvador, Brazil [4].
93 Reporting of suspected cases of meningococcal disease to health authorities is
94 mandatory in Brazil. During 2010, the state reference hospital for infectious diseases
95 (Couto Maia Hospital) reported 86% of the suspected cases of meningococcal disease in
96 the city of Salvador, Brazil. We used two methods to ascertain meningococcal disease
97 cases. First, we performed active hospital-based surveillance at Couto Maia Hospital by
98 reviewing laboratory records five days a week to identify patients with evidence of *N.*
99 *meningitidis* infection in blood or cerebrospinal fluid. In addition, we assessed the
100 national Notifiable Diseases Information System [*Sistema de Informação de Agravos de*
101 *Notificação* (SINAN)] to identify cases of meningococcal disease from other public or
102 private health facilities in Salvador. We included in this case-control study all cases of
103 laboratory confirmed serogroup C meningococcal disease among residents of Salvador,
104 Brazil in age groups targeted for MenC vaccination (<5 years of age or 10-24 years of
105 age). A laboratory-confirmed case of meningococcal disease was defined as isolation of
106 *N. meningitidis* from blood or cerebrospinal fluid (CSF) from a patient with clinical
107 signs and symptoms of meningococcal disease (fever, headache, vomiting, neck
108 stiffness, meningeal irritation, seizures, petechial or purpurial rash). Patients with
109 laboratory-confirmed *N. meningitidis* disease caused by a non-C serogroup and those
110 for whom serogroup were not determined were excluded from the case-control study.
111 Patients with clinical signs and symptoms compatible with meningococcal disease
112 without laboratory confirmation were not included.

113

114 ***N. meningitidis* isolation and serogrouping**

115 *N. meningitidis* isolated from patients with meningococcal disease were sent to the
116 Central Public Health Laboratory for the state of Bahia and/or to the Molecular Biology
117 and Pathology Laboratory at the Gonçalo Moniz Research Center, Oswaldo Cruz

118 Foundation, in Salvador for characterization using serogroup-specific antisera (Difco
119 Laboratories, Detroit, MI, USA) [4,5].

120

121 **Control selection**

122 For each case we attempted to select four or eight community controls, matched with
123 cases by age and neighborhood of residence. Four controls were matched with cases that
124 occurred before public MenC vaccination for each targeted age group, while eight
125 controls were matched for cases that occurred after public MenC vaccination. We
126 increased the number of control individuals for the period after public MenC
127 vaccination because we expected fewer cases and higher vaccination coverage among
128 controls in that period. Eligible control individuals were identified by visiting the first
129 four households to the left of an index case household and looking for one age-matched
130 individual who accepted to participate in the study in each household. Age-matching
131 was performed according to targeted age groups for vaccination: <5, 10-14, 15-19 and
132 20-24 years of age. If the expected number of controls could not be completed after this
133 initial search, the same approach for searching age-matched controls was performed in
134 the first four households to the right of the index case household, followed by searching
135 in the household immediately in front of the index case household and in the first four
136 households to the left and to the right of that household.

137

138 **Data collection**

139 For the cases identified during active case finding at Couto Maia Hospital, we collected
140 data on demographics, clinical presentation and laboratory findings by interviewing the
141 patient or legal guardian and by medical chart review using standardized data entry
142 forms. For cases identified from the SINAN database, we collected data by interview to
143 complete the information obtained from SINAN. Data were collected by proxy from
144 family members of deceased case patients. Demographic data were also collected from
145 controls using the standardized questionnaire. For both cases and controls, data on prior
146 use of MenC vaccination, on number of MenC vaccine doses received and date of
147 vaccination were collected through review of personal vaccination cards, the official
148 document used by the Brazilian Ministry of Health to record vaccination history. If the
149 vaccination card was unavailable, we collected data on MenC vaccination by interview
150 of the study subject or legal guardian, to obtain verbal information on vaccine use. Self-

151 report of MenC vaccination was accepted if respondents could provide information on
152 three of five questions about date, provider or injection site. This validation was adapted
153 from the verbal validation used in Brazil during a national rubella vaccination campaign
154 in 2008 [6]. Study participants were considered vaccinated if they had received one or
155 more dose of MenC conjugate vaccine at least 14 days before the date of the
156 corresponding case patient's disease onset. Reasons for non-vaccination were collected
157 for individuals in targeted age groups who were not vaccinated in MenC vaccination
158 campaigns.

159 **Ethics Statement**

160 The study was approved by the Institutional Review Board of the Centro de Pesquisa
161 Gonçalo Moniz/FIOCRUZ (IORG00002090/IRB000026120). Written informed consent
162 was obtained from all participants and/or their parents.

163

164 **Statistical analysis**

165 Case and control data were double entered and validated in Epi-Info version 3.5.1 (CDC
166 /USA). Clinical characteristics of cases were described by absolute and relative
167 frequencies or by means and standard deviations. Characteristics of case and control
168 subjects were compared using McNemar's test for paired proportions or paired *t* test for
169 continuous data. We compared MenC conjugate vaccine coverage among controls from
170 the period before and after vaccine introduction for all control individuals combined and
171 stratified by age group, MenC vaccine source (public versus private) and documented
172 versus self-reported vaccination. Exact odds ratios (OR) for MenC vaccination and 95%
173 confidence intervals (95% CI) were estimated using exact conditional logistic regression
174 analysis, which provides a point estimate and 95% confidence limit in the absence of
175 cases among vaccinated persons. MenC vaccine effectiveness was calculated as $(1 -$
176 $OR) \times 100$. Separate estimates of MenC vaccine effectiveness were calculated for the
177 period before and after public vaccination, and considering only documented vaccine
178 doses. Reasons for non-vaccination in MenC vaccination campaigns were contrasted for
179 cases and controls using McNemar's test. For all comparisons, statistical significance
180 was set at $p < 0.05$. Statistical analyses were performed in Epi Info version 3.5.1. or in
181 SAS 9.3 (SAS Institute Inc.; USA).

182

183

184 **Results**

185 From January to December, 2010, 123 laboratory-confirmed cases of meningococcal
186 disease were reported to the notifiable diseases reporting system in Salvador, Brazil
187 (Figure 1). Serogroup was determined for 113 cases diagnosed by meningococcal
188 culture or latex agglutination reaction; 110 (97%) were serogroup C and 3 were
189 serogroup B. Serogroup was unknown for two cases confirmed by meningococcal
190 culture and 8 cases diagnosed based on microscopic examination of CSF. Of the 110
191 confirmed MenC cases, 88 (80%) were admitted to the public infectious diseases
192 reference hospital (Couto Maia Hospital). Clinical presentations included
193 meningococemia (n= 43; 39%), meningitis (n= 32; 29%), and both meningococemia
194 and meningitis (n= 35; 32%) (Table 1). Reported symptoms included fever in all cases;
195 headache, vomiting and other signs and symptoms of meningococcal infection were
196 common. Diarrhea was reported in 11 (10%) of 110 cases. Overall case-fatality was
197 25% (27 patients). Patients who died ranged in age from 0 to 68 years (median, 25
198 years). In addition, 19 (17%) were admitted to the intensive care unit and 11 (10%)
199 patients recovered with neurologic sequella (motor deficit [n=4], bilateral hearing loss
200 [n=2], visual impairment [n=2] and lower limb amputation [n=3]) (Table 1). Of the 110
201 confirmed cases of meningococcal serogroup C disease reported in Salvador in 2010, 11
202 cases occurred among children aged 5-9 years and 48 cases occurred among adults aged
203 25 years or older, age groups not targeted for MenC vaccination and not included in the
204 case-control study (Table 1). Of 51 MenC cases in 2010 aged <5 years or 10-24 years,
205 40 had symptom onset prior to MenC conjugate vaccine campaigns targeting their age
206 group. One case in a two year old child from the pre-campaign period was excluded
207 from the study because the case patient's residence was not found and matched controls
208 could not be enrolled. Among the 11 confirmed MenC cases in the post-campaign
209 period, 4 occurred among children aged <5 years and 7 occurred among 10-24 year olds
210 eligible to receive MenC vaccine in targeted city-wide vaccination campaigns. A total
211 of 50 confirmed cases of MenC disease were included in the case-control evaluation,
212 including 12 (24%) of 27 fatal cases. Case patients were more likely to be male than
213 age-matched neighborhood control individuals (64% vs. 44%, $p<0.01$; Table 2). A total
214 of 70 (30%) of the 240 control individuals received at least one dose of MenC vaccine
215 at any time prior to enrollment in the study. Of these, 44 (63%) had documented record
216 of vaccination date. Among 39 cases included from the pre-campaign period, none had

217 received MenC conjugate vaccine, versus 11 (7%) of 156 age-matched neighborhood
218 controls who received one or more doses of MenC conjugate vaccine at least 14 days
219 before the corresponding case patient's illness onset; of these, 9 received MenC
220 conjugate vaccine in the private sector (Table 3). Exact odds ratio for vaccine
221 effectiveness in the pre-campaign period was not statistically significant (Table 4). In
222 the post-campaign period, 0 of 11 case patients and 59 (70%) of 84 matched control
223 individuals had received MenC conjugate vaccine at least 14 days before the case
224 patient's symptom onset; 50 (85%) of 59 controls individuals received MenC vaccine in
225 public vaccination campaigns. Combining both periods, overall effectiveness of MenC
226 conjugate vaccines estimated from exact conditional logistic regression was 98% with a
227 lower 95% confidence limit of 89% (Table 4).

228 The main reasons given for case patients and control individuals for not being
229 vaccinated in MenC campaigns were lack of information about vaccination campaigns
230 and lack of time. Not wanting to be vaccinated was also mentioned for control
231 individuals (Table 5).

232

233 **Discussion**

234 We performed the first case-control study in Brazil to evaluate effectiveness of MenC
235 conjugate vaccine in containing a citywide epidemic of meningococcal disease. We also
236 assessed vaccine uptake and identified reasons for non-vaccination. The results of this
237 case-control study are consistent with a high effectiveness of meningococcal serogroup
238 C conjugate vaccines, which were demonstrated in a variety of settings using different
239 study designs [7-9]. Observational studies of MenC vaccine effectiveness are important
240 because meningococcal conjugate vaccines were licensed based on evidence of an
241 immune response in vaccinated subjects using serum bactericidal activity (SBA) as the
242 immunologic correlate of protection rather than efficacy trials [10]. However, trends in
243 disease incidence before and after vaccine introduction may not provide accurate
244 estimates of vaccine effectiveness because incidence of serogroup C meningococcal
245 disease may vary greatly in the absence of vaccination, especially during localized
246 epidemics [11-12]. Surveillance data from the city of Salvador showed declines in
247 serogroup C meningococcal disease incidence that were greatest in age groups targeted
248 for MenC vaccination [3]. Salvador was the only city in Brazil that conducted mass
249 vaccination of teenagers in response to meningococcal C disease outbreaks. This

250 strategy was adopted to reduce attack rates in heavily affected age groups as well as to
251 reduce transmission by preventing meningococcal carriage among older children and
252 adolescents. One dose of MenC conjugate vaccine has been shown to reduce carriage
253 among older children [7,8,9,13,14]. This case-control study provided evidence that
254 publicly-funded vaccination campaigns increased vaccine coverage in the targeted
255 population residing in areas where meningococcal cases continued to occur. In addition,
256 detailed vaccine histories collected during case investigations confirmed the official
257 surveillance data that did not identify MenC vaccine use among confirmed cases of
258 serogroup C meningococcal disease.

259 The United Kingdom was the first country to introduce meningococcal C conjugate
260 vaccines and a number of vaccine effectiveness evaluations were conducted, including a
261 case-control study that reported vaccine effectiveness of 93% (95% CI 39-99%) among
262 adolescents aged 15-19 years [15]. Reductions in serogroup C meningococcal disease
263 incidence following MenC vaccination and mass campaigns have since been reported
264 from several settings [7,13,16]. Meningococcal serogroup C polysaccharide-protein
265 conjugate vaccines were found to be safe and immunogenic in young children and were
266 licensed in Brazil in 2003, but were only available in the public sector in Special
267 Vaccine Reference Centers (CRIES) for children with high risk conditions or other
268 indications (congenital or acquired asplenia, congenital immunodeficiencies, indication
269 for cochlear implant, bone marrow transplant recipients and deposit [17]. MenC
270 vaccines were introduced for universal infant vaccination in Brazil's National
271 Immunization Program in the second half of 2010 [18], but the state government of
272 Bahia anticipated national introduction of routine childhood vaccination in response to
273 the meningococcal epidemic to prevent cases in children. Following the initial
274 introduction for children <5 years, serogroup C meningococcal disease continued to
275 occur in older age groups, prompting mass vaccination of broader age groups. During
276 the outbreak period, a total of 2,507 contacts of MenC cases were treated
277 prophylactically with rifampin (n=2,487) or ciprofloxacin (n=20); no cases of
278 meningococcal disease occurred among contacts.

279 Before publicly-funded MenC vaccination campaigns were conducted for targeted age
280 groups, the epidemic of meningococcal disease in Salvador led to high demand for
281 MenC vaccines in private clinics, where a vaccine dose cost approximately US\$100. In
282 the case-control study, few control individuals from areas where cases had occurred had
283 purchased MenC vaccine in the private sector, while uptake of publicly-funded vaccine

284 in targeted campaigns was much higher. The purchase of MenC vaccine by the state
285 government of Bahia for mass vaccination of 10 to 24 year olds represented an
286 investment of approximately US\$ 30 million. The MenC vaccine was offered at no cost
287 in city-wide campaigns targeted to age groups with the highest attack rates. Lack of
288 information about these campaigns was one of the main reasons given for non-
289 vaccination. Better communication strategies are needed to reach higher levels of
290 vaccination coverage in emergency responses.

291 *Neisseria meningitidis* occasionally invades the bloodstream and cause serious invasive
292 disease, manifesting as meningitis or septicemia [19,20]. High case-fatality and severity
293 of meningococcal disease in affected individuals, including permanent sequelae,
294 motivated the state government to conduct mass vaccination targeting the most affected
295 age groups. In the present study, we observed a prevalence of 71% of cases who
296 progressed to septicemia, 25% case-fatality and permanent disabilities in 10% of
297 survivors, including motor deficit, bilateral hearing loss, diplopia and lower limb
298 amputation. Data from a recent meta-analysis of long term sequelae following
299 meningococcal meningitis showed that the most frequent complication is sensorineural
300 hearing loss which may be profound in 2.1% of affected individuals [21].

301 In United States, septicemia is the predominant presentation in about 30% of cases of
302 meningococcal disease and 10%-14% of cases are fatal. Of patients who recover 11%-
303 19% have permanent hearing loss, mental retardation, loss of limbs, or other serious
304 sequelae [22]. In Brazil, an analysis of clinical syndrome among meningococcal disease
305 cases reported to Brazil's national notifiable diseases system (SINAN) from 2000-2011
306 identified meningococemia in 29%, meningitis in 39% and meningitis with
307 meningococemia in 32% [23]. Meningococcal disease particularly affects children
308 aged <5 years, especially infants. However during outbreaks and epidemics, increased
309 numbers of cases are often observed in adolescents and young adults [2,24]. During the
310 epidemic of serogroup C meningococcal disease in Salvador, Brazil, adolescents
311 experienced high attack rates.

312 This case-control investigation was subject to several limitations. Active investigations
313 for serogroup C meningococcal disease may have missed some cases as isolates were
314 not obtained for all episodes of meningococcal disease for serogrouping. In addition, we
315 cannot be certain that all recognized serogroup C meningococcal cases have been
316 reported to the health department. Documentation of vaccination was not available for
317 all individuals enrolled in the study and self-report may be biased; vaccination status

318 was obtained by proxy for some case patients. Finally, the study area was limited to the
319 city of Salvador, Brazil, and did not include meningococcal cases or controls from other
320 parts of the state of Bahia.

321

322 **Conclusions**

323 This case-control study provided critical information about vaccine uptake among
324 targeted age groups in areas where meningococcal cases were occurring. Combating
325 meningococcal disease epidemics in large populations is challenging. Mass
326 immunization with MenC conjugate vaccine for target groups proved effective in
327 preventing serogroup C meningococcal disease in Salvador, Brazil. MenC vaccination
328 campaigns may be useful to prevent meningococcal C disease during epidemics.

329

330 **Acknowledgments**

331 We thank all patients and relatives, interviewers and interviewees, study group of
332 meningitis at Gonçalo Moniz Research Center/Oswaldo Cruz Foundation, Pan
333 American Health Organization, Couto Maia Hospital and the surveillance team at the
334 Municipal Health Secretariat of Salvador, Brazil.

335 **References**

- 336 1. CDC (2013) Meningococcal disease. Signs e Symptoms. Available:
337 <http://www.cdc.gov/meningococcal/about/symptoms.html>. Accessed 14 March
338 2014.
- 339 2. Tzeng YL, Stephens DS (2000) Epidemiology and pathogenesis of Neisseria
340 meningitidis. *Microbes and infection* 2: 687-700.
- 341 3. Cardoso CW, Pinto LLS, Reis MG, Flannery B, Reis JN (2012) Impact of
342 vaccination during an epidemic of serogroup C meningococcal disease in
343 Salvador, Brazil. *Vaccine* 30: 5541-5546.
- 344 4. Cordeiro SM, Neves AB, Ribeiro CT, Petersen ML, Gouveia E, et al. (2007)
345 Hospital-based surveillance of meningococcal meningitis in Salvador, Brazil
346 *Trans R Soc Trop Med Hyg* 101: 1147-1153.

- 347 5. Wedege E, Hoiby EA, Rosenqvist E, Froholm LO (1990) Serotyping and
348 subtyping of *Neisseria meningitidis* isolates by co-agglutination, dot-blotting
349 and ELISA. *J Med Microbiol* 31: 195–201.
- 350 6. Teixeira AMS, Samad SA, Souza MA, Segatto TC, Morice A, et al. (2011)
351 Brazilian experience with rapid monitoring of vaccination coverage during a
352 national rubella elimination campaign. *Rev Panam Salud Publica* 30: 7-14.
- 353 7. Bose A, Coen P, Tully J, Viner R, Booy R (2003) Effectiveness of
354 meningococcal C conjugate vaccine in teenagers in England. *Lancet* 361: 675-
355 676.
- 356 8. Trotter CL, Andrews NJ, Kaczmarski EB, Miller E, Ramsay ME (2004)
357 Effectiveness of meningococcal serogroup C conjugate vaccine 4 years after
358 introduction. *Lancet* 364: 365-367.
- 359 9. Larrauri A, Cano R, Garcia M, Mateo SD (2005) Impact and effectiveness of
360 meningococcal C conjugate vaccine following its introduction in Spain. *Vaccine*
361 23: 4097-4100.
- 362 10. World Health Organization (2011) *Weekly epidemiological record* 86: 521-540.
363 Available: <http://www.who.int/wer/2011/wer8647.pdf>. Accessed: 14 Jan 2014.
- 364 11. de Moraes JC, Barata RB (2005) Meningococcal disease in Sao Paulo, Brazil, in
365 the 20th century: epidemiological characteristics. *Cad Saude Publica* 21: 1458-
366 1471.
- 367 12. Irving T, Blyuss K, Colijn C, Trotter C (2012) Modelling Meningococcal
368 Meningitis in the African Meningitis Belt. *Epidemiology and Infection* 140:
369 897-905.
- 370 13. de Greeff SC, de Melker HE, Spanjaard L, Schouls LM, van Derende A (2006)
371 Protection from routine vaccination at the age of 14 months with meningococcal
372 serogroup C conjugate vaccine in the Netherlands. *Pediatr Infect Dis J* 25: 79–
373 80.
- 374 14. Coen P, Cartwright K, Stuart J (2000) Mathematical modelling of infection and
375 disease due to *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica*. *Int J Epidemiol*
376 29: 180-188.
- 377 15. Harrison LH, Trotter CL, Ramsay ME (2009) Global epidemiology of
378 meningococcal disease. *Vaccine* 27: B51-63.

- 379 16. Cano R, Larrauri A, Mateo S, Alcalá B, Salcedo C, et al. (2004) Impact of the
380 meningococcal C conjugate vaccine in Spain: an epidemiological and
381 microbiological decision. *Euro Surveill* 9: 11–15.
- 382 17. Brasil (2013) Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. Imunobiológicos
383 especiais e suas indicações. Available:
384 ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/imuni/5imunobio_indica.pdf. Accessed 17
385 Jan 2014.
- 386 18. Brasil (2013) National Immunization Program (NIP): 40 years. In: MS, editor. 1^a
387 ed. Brasília. pp. 1.001.
- 388 19. Sáfadi MAP, Gonzalez-Ayala S, Jákel A, Wieffer H, Moreno C, et al. (2013)
389 The epidemiology of meningococcal disease in Latin America. 1945-2010: an
390 unpredictable and changing landscape. *Epidemiol Infect* 141: 447-458.
- 391 20. Stephens DS, Greenwood B, Brandtzaeg P (2007) Epidemic meningitis,
392 meningococcaemia, and *Neisseria meningitidis*. *Lancet* 369: 2196-2210.
- 393 21. Edmond K, Clark A, Korczak VS, Sanderson C, Griffiths UK, et al. (2010)
394 Global and regional risk of disabling sequelae from bacterial meningitis: a
395 systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 10: 317-328.
- 396 22. CDC (2013) Factsheet: Meningococcal Disease and Meningococcal Vaccine.
397 Available: <http://www.cdc.gov/vaccines/vpd-vac/mening/vac-mening-fs.htm>.
398 Accessed 14 March 2014.
- 399 23. Azevedo L, Toscano C, Bierrenbach A (2013) Bacterial Meningitis in Brazil:
400 Baseline Epidemiologic Assessment of the Decade Prior to the Introduction of
401 Pneumococcal and Meningococcal Vaccines. *PLoS ONE* 8: e64524.
- 402 24. Peltola H, Kataja JM, Makela PH (1982) The age distribution of meningococcal
403 disease as predictor of an epidemic? *Lancet* 2: 595-597.

Figure Legends

Figure 1. Design of case-control study

Tables

Table 1. Clinical characteristics of laboratory-confirmed cases of invasive meningococcal serogroup C disease, identified between 01/01/2010 and 31/12/2010 in Salvador, Brazil.

Characteristics	Age groups	Age groups	Total (n=110)
	targeted for MenC vaccination (n=51)	not targeted for MenC vaccination (n=59)	
n (%) or mean \pm SD			
Age groups			
0-5 years	6 (12)	-	6 (6)
6-9 years	-	11 (19)	11 (10)
10-14 years	14 (28)	-	14 (13)
15-19 years	13 (26)	-	13 (12)
20-24 years	17 (36)	-	17 (15)
> 25 years	-	48 (81)	48 (44)
Male Sex	32 (64)	35 (59)	67 (61)
Clinical Presentation			
Meningococemia	22 (43)	21 (36)	43 (39)
Meningitis	18 (35)	14 (24)	32 (29)
Meningococemia and meningitis	11 (22)	24 (40)	35 (32)
Signs and Symptoms			
Fever	51 (100)	59 (100)	110 (100)
Headache	41 (82)	52 (88)	93 (85)
Vomiting	36 (71)	44 (75)	80 (73)
Skin lesions	31 (62)	36 (61)	67 (61)

Neck stiffness	23 (46)	27 (46)	50 (45)
Abdominal pain	10 (20)	9 (15)	19 (17)
Lower limb pain	10 (20)	17 (29)	27 (24)
Seizures	7 (14)	3 (5)	10 (9)
Diarrhea	6 (12)	5 (8)	11 (10)
Altered mental status	5 (10)	19 (32)	24 (22)
Laboratory			
CSF ^a white cells (mm ³)	7.770±4.014	8.040±3.323	8.187±3.473
CSF protein (mg/dL)	387±228	408±215	397±214
CSF glucose (mg/dL)	29±17	28±14	28±15
White blood cells (X10 ³ /mm ³)	20±12	17±11	17±10
Platelets (X10 ³ /mm ³)	157±95	184±82	239±237
Outcome			
Death	12 (24)	15 (25)	27 (25)
ICU ^b admission	10 (20)	9 (15)	19 (17)
Permanent disabilities ^c	05 (10)	06 (10)	11 (10)

^aCSF: Cerebrospinal fluid

^bICU: Intensive Care Unit

^cPermanent disabilities included motor deficit (4), bilateral hearing loss (2), diplopia (2), lower limb amputation (3).

Table 2. Characteristics of case patients with laboratory-confirmed serogroup C meningococcal disease and age-matched residents of affected neighborhoods included in case-control study, Salvador, Brazil, 2010

Characteristics	Cases	Controls
	(N=50)	(N=240)
	N (%) or mean ±SD	
Age groups		
0-5 years	6 (12)	36 (15)
10-14 years	14 (28)	68 (28)
15-19 years	13 (26)	60 (25)
20-24 years	17 (36)	76 (32)

Male sex ^a	32 (64)	106 (44)
Working, for those ≥ 18 years of age ^b	6 (26)	26 (27)
Student, for those 10-24 years of age ^c	27 (61)	111 (54)
Exposed to secondhand smoke at house	17 (34)	70 (29)
Number of residents per household	5.0 \pm 2.1	5.2 \pm 2.1
Ratio of number of residents at household per household room	1.2 \pm 0.6	1.2 \pm 0.6

^a Conditional logistic regression $P < 0.01$. No other characteristic were statistically different between cases and controls.

^b Frequencies calculated for 23 cases and 98 controls older than 18 years, respectively.

^c Frequencies calculated for 44 cases and 204 controls with 10 to 24 years old, respectively.

Table 3. MenC vaccination status among control individuals before and after public MenC vaccination, according to age group and MenC vaccine provider.

Age group and vaccine source	MenC vaccination among control individuals before public vaccination campaign (N=156) ^a	MenC vaccination among control individuals after public vaccination campaign (N=84) ^a	P value ^b
no. vaccinated / total (%)			
Overall	1/156 (7.1)	59/84 (70.2)	<0.001
By age groups			
0-5 years	1/8 (12.5)	20/28 (71.4)	0.005
10-14 years	2/44 (4.5)	19/24 (79.2)	<0.001
15-19 years	4/44 (9.1)	8/16 (50.0)	0.001
20-24 years	4/60 (6.7)	12/16 (75.0)	<0.001
By vaccine provider			
Private provider	9/156 (5.8)	9/84 (10.7)	0.130
Public provider	2/156 (1.3)	50/84 (59.5)	<0.001

^a Periods of MenC conjugate vaccine campaigns: February-December 2010 for <5 years old; May-August 2010 for 10-14 years old; June-August 2010 for 15-19 years old; and August 2010 for 20-24 years old.

^b Fisher exact test.

Table 4. MenC conjugate vaccine effectiveness and coverage among case and control subjects.

Subgroups	Cases (N=50)	Controls (N=240)	Odds Ratio (IC 95%)^a	Effectiveness in % (95% CI)	P value
Vaccine Coverage, n/N (%)					
Overall	0/50 (0.0)	70/240 (29.2)	0.02 (0.00-0.10)	98.4 (89.8-100.0)	<0.001
By vaccination period^b					
Before vaccine introduction	0/39 (0.0)	11/156 (7.1)	0.23 (0.00-1.51)	77.5 (0.0-100.0) ^c	0.142
After vaccine introduction	0/11 (0.0)	59/84 (70.2)	0.02 (0.00-0.11)	98.3 (88.6-100.0)	<0.001
By vaccination status confirmed by immunization card verification	0/33 (0.0)	44/103 (42.7)	0.03 (0.00-0.21)	97.0 (78.7-100.0)	<0.001

^aExact odds ratio estimated using exact conditional logistic regression analysis.

^bPeriods of MenC conjugate vaccine campaigns: February-December 2010 to < 05 years old; May-August 2010 to 10-14 years old; June-August 2010 to 15-19 years old; and August 2010 to 20-24 years old.

^cThe minimum level for the effectiveness lower confidence interval limit was set as zero.

Table 5. Reported reasons for non-vaccination among case patients with illness onset after public MenC vaccination and matched individuals from affected neighborhoods

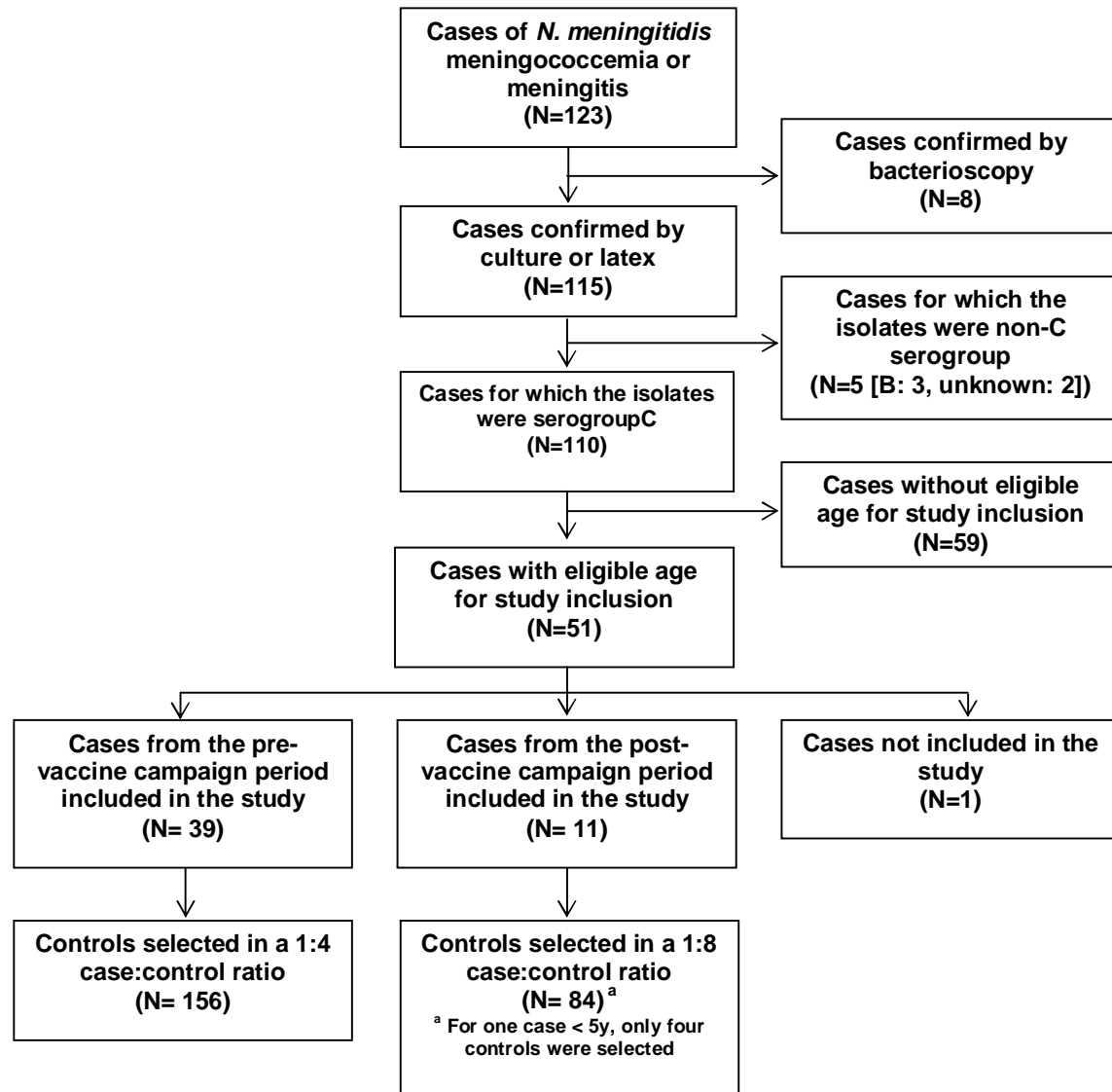
Reason for non-vaccination	Cases	Controls
	patients (n=11) ^{a,b}	individuals (n=17) ^b
	n/N (%)	
Lack of time	4/11 (36)	2/17 (12)
Lack of information about the campaign	7/11 (64)	6/17 (35)
Did not want to be vaccinated	0/11 (0)	9/17 (53)

^a All 11 cases of *N. meningitidis* serogroup C invasive disease that occurred after MenC conjugate vaccine campaign initiation were unvaccinated.

^b Cases and controls frequencies for all the reported reasons for not being vaccinated after MenC conjugate vaccine campaign initiation were statistically different (Fisher exact $P < 0.01$).

^c Of the 25 controls from the period after MenC conjugate vaccine campaign initiation, 8 had received the MenC conjugate vaccine within less than 14 days of occurrence of the matched case and, therefore, were not considered as vaccinated.

Figure 1.



7 CAPÍTULO 3

Artigo a ser submetido para publicação.

Neste artigo, visamos atender aos objetivos da tese analisando as características epidemiológicas dos casos de doença meningocócica confirmados laboratorialmente através de vigilância ativa no período de 1 de janeiro de 2001 a 31 dezembro de 2012 e descrevendo as características fenotípicas e genotípicas das cepas da *Neisseria meningitidis*. As características dos pacientes infectados pela *N. meningitidis* do sorogrupo B e sorogrupo C foram comparadas e analisadas e as características da *Neisseria meningitidis* foram conduzidas através das técnicas de “Pulsed-field Gel Electrophoresis” (PFGE) e “Multilocus Locus Sequence Typing” (MLST). A análise por PFGE demonstrou que 71,3% dos isolados foram relacionados com o sorotipo:subtipo 23:P1.14-6 (60), 23: nt (7), e NT: nt (10) referente ao tipo de sequencia (ST) 3779 e ST 3780, ambos pertencentes ao complexo clonal ST-103. Desde 2007, observa-se uma predominância do fenótipo C:23:P1.14-6, o qual contribuiu com a epidemia de doença meningocócica em Salvador em 2010, que resultou na introdução da vacina MenC.

7.1 ARTIGO 3

Meningococcal disease and expansion of the ST 103 clonal complex in Salvador, Brazil

Running Title: Meningococcal disease: incidence and serogroups in Brazil

Lorena Galvão de Araújo*¹, Cristiane W. Cardoso*^{1,2}, Mitermayer G. Reis¹, Albert I. Ko^{1,3}, Joice N. Reis^{1,4}, Soraia Machado Cordeiro^{1,4§}

¹Gonçalo Moniz Research Center, Oswaldo Cruz Foundation, Brazilian Ministry of Health, Salvador, Brazil; ²Municipal Secretary of Health of Salvador, Salvador, Brazil; ³Department of Epidemiology of Microbial Diseases, Yale School of Public Health, New Haven, USA;

⁴School of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

* These authors contributed equally to this work.

§ Reprints or correspondence: Soraia Machado Cordeiro, Ph.D; Faculdade de Farmácia - UFBA; Rua Barão de Jeremoabo s/n - Ondina; 40170-115 Salvador - Bahia; Brazil; Tel.: +55 (71) 3283-6942; e-mail: soraiamc@ufba.br, soraiamc@yahoo.com.br

Abstract

Meningococcal disease (MD) is caused by *Neisseria meningitidis* and is a major public health problem worldwide. Currently the *Neisseria meningitidis* serogroup C (NmC) has been the main cause of MD in the state of Bahia, Brazil. An epidemic of serogroup C MD occurred in 2010 in the city of Salvador. An active hospital-based surveillance for MD was performed from 1 January 2001 to 31 December 2012. In this study we described and analyzed characteristics of patients infected either with *N. meningitidis* serogroup B or serogroup C. Statistical significance ($p < 0.05$) for comparison of proportions and means was assessed by χ^2 test or t-test. Analysis of serogroup:serotype:serosubtype were performed and Pulse-Field Gel Electrophoresis (PFGE) and Multilocus Sequence-Typing (MLST) techniques were conducted. A total of 108 isolates of serogroup C meningococcal were analyzed by PFGE and 36 by MLST. The analysis identified 8 PFGE patterns and the largest group, with 71.3% (77) of the isolates, was related to serotype:serosubtype 23:P1.14-6 (60), 23:nt (7) and NT:nt (10) related to ST 3779 and ST 3780, both belonging to clonal complex ST 103. The ST 3779 has been identified in Salvador since 1996 and, together with ST 3780, became predominant after 2005. There was a predominance of C:23:P1.14-6 phenotype strain in Salvador from 2007 to 2012, which contributed to the local epidemic of MD in 2010. Our findings may improve molecular epidemiology studies of *N. meningitidis* in Brazil as well as help understanding meningococcal C disease during citywide epidemics.

Key words: meningococcal disease, *Neisseria meningitidis*, molecular epidemiology

Introduction

Meningococcal disease (MD), an infection caused by the bacterium *Neisseria meningitidis*, has become the leading cause of bacterial meningitis after dramatic reductions in the incidence of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b infections by the use of conjugate vaccines [1-3]. The epidemiology of the disease varies widely around the globe [4]. These variations are due to several factors, including the pathogenic properties of the prevalent strains of *N. meningitidis* [5].

In Brazil, *N. meningitidis* serogroup B (NmB) was associated with the majority of cases during the 1980s, with a peak in 1996. Since 2001, however, the number and proportion of cases due to serogroup C have been increasing markedly, followed by a reduction in the cases due to serogroup B [6, 7]. An epidemic of MD serogroup C occurred in 2010 in the city of Salvador (estimated population 2,676,606, 21% of the state population), the state capital and third most populous city of Brazil. To combat the epidemic, the state government introduced meningococcal serogroup C conjugate vaccine (MenC) for children < 5 years and also included mass vaccination for individuals 10-24 years old, prior to the national introduction of MenC vaccination in Brazil's National Immunization Program [8].

Few studies have been conducted in Brazil that assess the phenotype prevalence of *N. meningitidis* isolates and sequence types (STs) in epidemics and in pre and post vaccines introduction periods. In order to describe the epidemiological characteristics of cases of MD, and to assess the molecular epidemiology of the bacterium we conducted an analysis of serogroup:serotype:serosubtype and STs of *N. meningitidis* in disease-associated in pre and post period of MenC vaccine introduction in Salvador.

Materials and methods

Surveillance

From 1 January 2001 to 31 December 2012, active hospital-based surveillance for MD was performed in Couto Maia Hospital, the state reference hospital for infectious diseases in Salvador [9]. Notification of meningitis cases to state health officials is mandatory and during the study period, Couto Maia Hospital reports represented 86% to 90% of the cases among residents of Salvador. Cases were defined by the isolation of *N. meningitidis* from cerebrospinal fluid (CSF) specimens and/or by positive latex agglutination test result from a patient with clinical signs and symptoms of meningitis. A study team of physicians and

medical students reviewed laboratory records five days a week to identify new culture isolations. Demographic and clinical presentations of the patients were collected during interviews and/or medical chart review.

Laboratory methods

N. meningitidis isolated from patients with MD were sent to the Molecular Biology Research Laboratory at the Gonçalo Moniz Research Center at the Oswaldo Cruz Foundation in Salvador for characterization using serogroup-specific antisera (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), as described previously [7, 10].

Serotyping and serosubtyping for *N. meningitidis* isolates were performed in a Medical Biology Division, Bacteriology Department at Adolfo Lutz Institute, Brazil, by dot blot analyses using whole-cell suspension as previously described [7].

Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)

N. meningitidis serogroup C (NmC) isolates were examined by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) after digestion of bacterial DNA with *Sma I* (New England Biolabs), as previously described [11]. The *Sma I* fingerprints were analyzed using GelCompar II software (Applied Maths, Belgium). A 1.5% band position tolerance was used for gel comparisons. All patterns were visually inspected after computer analyses. Clustering of patterns was performed by unweighted pair group with arithmetic averaging (UPGMA). Patterns that were identified as indistinguishable by the computer and after visual inspection were assigned a pattern designation.

Multilocus sequence typing (MLST)

MLST was performed according to the methods of Maiden et al. [12]. Primers, determination of a sequence alleles, and designation of STs are described on the Multi Locus Sequence Typing website (<http://neisseria.org/nm/typing/mlst>).

Statistical analysis

We selected residents of the city of Salvador and patients with laboratory-confirmed meningococcal invasive disease identified in Couto Maia Hospital. Cases were double entered and validated in Epi-Info v.3.5.1 (CDC/USA). Clinical characteristics of cases were described by absolute and relative frequencies or by means and standard deviations. Statistical significance for comparison of proportions and means was assessed by χ^2 test or t-test.

Differences were considered statistically significant when the two-tailed P-value was < 0.05 . Statistical analyses were performed in Epi Info v.3.5.1 (CDC/USA) and in SPSS v.18.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

Results

During the 10-year study, meningococcal serogroup was identified for isolates from 391 (53%) of 733 cases of MD admitted in the Bahia's public infectious diseases reference hospital (Couto Maia Hospital). There was a male predominance among all cases with confirmed serogroup, but with no significant difference between cases infected with NmB and cases infected with NmC (55% vs.58%, $p < 0.5$; Table1). Patients infected with NmB were younger than those infected with NmC (median 7 years vs. median 14 years, $p < 0.01$; Table 1). Deaths were more prevalent in patients infected with NmC than in patients infected with NmB (8% vs. 13%, $p < 0.04$; Table 1). There was a significant difference between patients infected with NmB and patients infected with NmC in terms of intensive care unit admissions (10% vs.18%, $p < 0.01$; Table 1). There was also a difference in days of stay in hospital, with patients infected with NmC having remained an average of four days longer at hospital than patients infected with NmB (Table 1). A slight difference in the results of laboratory analyzes was observed in patients infected with NmC, with lower glucose (27 ± 18 , $p < 0.01$) and higher protein (369 ± 295 , $p < 0.03$) when compared to patients infected with NmB (Table 1). Among 733 cases included in the study, the serogroup was determined for 391 (53%) *N. meningitidis* cases diagnosed by culture: 184 (47%) serogroup B, 194 (50%) serogroup C, 8 (2%) serogroup W, and 5 (1%) serogroup Y. From 2001 to 2006, NmB was the prevalent serogroup in the population. After this period, the proportion of cases due to NmC increased markedly until 2012, followed by a reduction in cases due to NmB (Figure 1).

Of 391 *N. meningitidis* cases with determined serogroups, 371 (95%) serotypes and 254 (65%) serosubtypes were identified. The most frequent serogroup:serotype:serosubtype from 2001 to 2006 was B:4,7:P1.19,15 with a decrease in 2007, although it continued present in the study population until 2009 (Figure 1). From 2005, an increase in the frequency of serogroup:serotype:serosubtype C:23:P1.14-6 occurred, which became prevalent from 2007.

A total of 108 isolates of NmC were analyzed by PFGE and 36 by MLST. The analysis identified 8 PFGE patterns: 3 with one isolate each, and 5 ranging in number of isolates from 4 to 77. The PFGE group A was the largest one with 71.3% of the isolates (77 of 108 isolates) and related to serotype:serosubtype 23:P1.14-6 (n=60), 23:nt (n=7), and NT:nt (n=10) which were related to ST 3779 and ST 3780. The ST 3779 has been identified since

1996 and, together with ST 3780, became predominant after 2005. ST 3779 and ST 3780 were represented by clonal complex ST-103 (Figure 3). The second PFGE group (B) with 11 isolates serotype:serosubtype 4,7:P1.19,15 belonging to clonal complex ST-33. The PFGE patterns C (9 isolates) and D (4 isolates) with phenotype 2a:P1.5 and 2a:P1.5, 2 shared the same ST-11 and CC ET-37. The PFGE pattern E (4 isolates) shared the phenotype 2b:P1.3 and 2b:P1.5 with ST-8 and CC cluster A4.

Discussion

In this active hospital-based surveillance for MD we observed a male predominance among patients which meningococcal serogrouping were identified, and no significant difference among gender in patients infected by NmB and NmC. Some studies report that for unknown reasons the risk of MD is higher among males until approximately age 45, at which time the risk becomes higher among women [3].

NmB accounts for a substantial proportion of cases in U.S.A. and other parts of the world, and for about half of invasive infections in infants [13-15]. In this study from 2001 to 2012, NmB prevailed from 2001 to 2006 when the most affected age group was younger than the age group whose cases were due to NmC. However, in Brazil, after a predominance of NmB, an increase in number and proportion of MD cases caused by NmC has been observed since 2005 in different regions [16]. In Salvador, the replacement of NmB by NmC took place in 2007 [7, 8]. In contrast to countries in Europe and North America, an important feature observed in Brazil is the absence of peak incidence of cases of MD in adolescents in endemic periods [16, 17]. The high incidence of cases in teenagers due to NmC recorded in Salvador in 2010 could be attributed to the occurrence of epidemics. During epidemics and in outbreak situations, MD incidence tends to increase mainly among older children, youngsters and young adults [18, 19].

The results of this study showed that the frequency of deaths and days of stay in hospital were higher in patients infected by NmC than in patients infected by NmB. Added to other risk factors, these results may have been attributed to the fact that older individuals were predominant among patients infected with NmC. Older individuals are at higher risk for MD with regard to complications [20, 21]. We also observed differences between glucose and protein averages in patients infected with NmB and patients infected with NmC. Despite these results, most published studies report that we still do not know which strategies or combination of strategies *N. meningitidis* uses to become more virulent, and if the answer depends not only on *N. meningitidis* strategies, but also on the host, or on both [14, 22, 23].

Alterations in the blood cerebrospinal fluid barrier and metabolism of glucose by neural cells have been implicated in the genesis of hypoglycorrhachia [24, 25]. Diversity in bacterial cell surface area and surface hydrophobicity within *N. meningitidis* could influence steps in meningococcal pathogenesis [26].

The analysis by PFGE in this study showed that the largest group, with 71.3% of the isolates, was related to serotype:serosubtype 23:P1.14-6 (61), 23:nt (7) and NT:nt (10) related to ST 3779 and ST 3780. ST 3779 and ST 3780 belong to clonal complex ST103. An important increase has been observed in the proportion of cases attributed to NmC that is associated with the ST 103 complex and this serogroup is currently responsible for most cases of the disease in Brazil since 2002 [27].

In Salvador, since 2007 we observed a predominance of C:23:P1.14-6 phenotype strain, which contributed to the epidemic of MD in the city in 2010. This epidemic motivated the introduction of MenC conjugate vaccine in Salvador prior to the national introduction of MenC vaccination in Brazil's National Immunization Program [8]. The predominance of C:23:P1.14-6 phenotype strain that we found in our analysis is in accordance with a finding from a cross-sectional study during an outbreak of MD serogroup C occurred in 2010 in São Paulo, Brazil, where the C:23:P1.14-6 phenotype strain was dominant and the most prevalent clonal complex was ST 103, represented by 3780 [25]. It reinforces the concept that the dominance of a particular strain is an important marker of epidemic conditions [3, 28, 29].

This study is subject to a number of limitations. First, the study area was limited to the city of Salvador. Second, active investigations for MD serogroup C may have been missed, and third, some isolates were not obtained for all episodes of MD for serogrouping. However, considering the fact that in most middle income countries where basic statistics on MD are available, there is not much information on the molecular characteristics of the dominant strains such as the multi-locus ST [30, 31], this study may assist to enhance the knowledge of the molecular epidemiology of MD in Brazil, as well as better understand the epidemics of MD in large citywide epidemics.

Acknowledgements

We thank the clinical, laboratory and administrative staff of Couto Maia Hospital, especially Ana Maria Maia and Neide Oliveira Silva; Ana Paula S. Lemos from São Paulo Secretary of Health for providing information about serotype and serosubtype; and Lee W. Riley and Warren D. Johnson Jr for critical advice during study implementation. Most of all we thank the study patients and their families.

This publication made use of the Neisseria Multi Locus Sequence Typing website (<http://pubmlst.org/neisseria/>) developed by Keith Jolley and sited at the University of Oxford (Jolley e Maiden 2010, *BMC Bioinformatics*, **11**:595). The development of this site has been funded by the Wellcome Trust and European Union.

Financial support

Grants from the Brazilian National Research Council (300.861/96) and National Institutes of Health, USA (TW-00919, TW-007303).

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Ethical approval

The Institutional Review Boards of the Oswaldo Cruz Foundation, Brazilian Ministry of Health in Salvador, Bahia, Brazil, and Weill Medical College of Cornell University in New York, NY, U.S.A.

References

1. Rosenstein, N.E. and Perkins, B.A. *Update on Haemophilus influenzae serotype b and meningococcal vaccines*. *Pediatr Clin N Amer*, 2000. **47**: p. 337-352.
2. Ribeiro, G.S., et al. *Prevention of Haemophilus influenzae type B (HIB) meningitis and emergence of serotype replacement with type A strains after introduction of HIB immunization in Brazil*. *J Infect Dis*, 2003. **187**(1): p. 109-116.
3. Harrison, L.H. *Prospects for vaccine prevention of meningococcal infection*. *Clinical microbiology reviews*, 2006. **19**(1): p. 142-164.
4. Black, S.B. and Plotkin S.A. *Meningococcal disease from the public health policy perspective*. *Vaccine*, 2012. **30S**: p. B37– B39.
5. Tzeng, Y.L. and Stephens D.S. *Epidemiology and pathogenesis of Neisseria meningitidis*. *Microbes and infection*, 2000. **2**: p. 687-700.
6. Sáfaci, M.A.P. and Barros, A.P. *Meningococcal conjugate vaccines: efficacy and new combinations*. *J Pediatr*, 2006. **82**(3 Suppl): p. S35-44.
7. Cordeiro, S.M., et al. *Hospital-based surveillance of meningococcal meningitis in Salvador, Brazil*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2007. **101**(11): p. 1147-1153.

8. Cardoso, C.W., et al. *Impact of vaccination during an epidemic of serogroup C meningococcal disease in Salvador, Brazil*. *Vaccine*, 2012. **30**: p. 5541-5546.
9. Brasil. Secretaria de Saúde do Estado da Bahia. Hospital Couto Maia. Available from: www.saude.ba.gov.br. Accessed 27 July 2014.
10. Wedege, E., et al. *Serotyping and subtyping of Neisseria meningitidis isolates by co-agglutination, dot-blotting and ELISA*. *J Med Microbiol*, 1990. **31**(3): p. 195-201.
11. Popovic, T., et al. *Evaluation of pulsed-field gel electrophoresis in epidemiological investigations of meningococcal disease outbreaks caused by Neisseria meningitidis serogroup C*. *J Clin Microbiol*, 2001. **39**(1): p. 75-85.
12. Maiden, M.C.J., et al. *Multilocus sequence typing: A portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms*. *PNAS*, 1998. **95**(6): p. 3140-3145.
13. Stephens, D.S., Greenwood, B. and Brandtzaeg, P. *Epidemic meningitis, meningococcaemia, and Neisseria meningitidis*. *Lancet*, 2007. **369**: p. 2196-2210.
14. Harrison, L.H., Trotter, C.L. and Ramsay, M.E. *Global epidemiology of meningococcal disease*. *Vaccine*, 2009. **27**(Suppl 2): p. B51-B63.
15. Cohn, A.C., et al. *Changes in Neisseria meningitidis Disease Epidemiology in the United States, 1998–2007: Implications for Prevention of Meningococcal Disease*. *CID*, 2010. **50**: p.184-191.
16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância a Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Sistema de Informação de Agravos de Notificação Sinan Net. Available from: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/>. Accessed 27 July 2014.
17. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância a Saúde. *Saúde Brasil 2012: uma análise da situação de saúde e dos 40 anos do programa de imunizações*, ed. 1. vol. 1. 2013, Brasília. p. 536.
18. Peltola, H., Kataja, J.M. and Makela, P.H. *The age distribution of meningococcal disease as predictor of an epidemic?* *Lancet*, 1982. **2**: p. 595-597.
19. Bilukha, O.O. and Rosenstein, N.E. *Prevention and control of meningococcal disease Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)*. *MMWR Recomm Rep*, 2005. **54**: p. 1-21.
20. Center for Disease Control and Prevention. *Age as a risk factor*. Available at: <http://www.cdc.gov/meningococcal/about/risk-age.html>. Accessed 28 July 2014.
21. Olivares, R., Bouyer, J. and Hubert, B. *Risk factors for death in meningococcal disease*. *Pathol Biol (Paris)*, 1993. **41**(2): p. 164-168.

22. Feavers, I.M. *Bacterial genomics: ABC of meningococcal diversity*. Nature, 2000: p. 451-452.
23. Manchanda, V., Gupta, S. and Bhalla, P. *Meningococcal disease: history, epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, antimicrobial susceptibility and prevention*. Indian J Med Microbiol, 2006. **24**(1): p. 7-19.
24. Hatipoglu, M., et al. *Cerebrospinal fluid/blood glucose should be used as a good diagnostic tool and mortality indicator in bacterial meningitis*. Am J Emerg Med 2014. **32**(5): p. 470.
25. Tamune, H., et al. *Cerebrospinal fluid/blood glucose ratio as an indicator for bacterial meningitis*. Am J Emerg Med 2014. **32**(3): p. 263-266.
26. Bartley, S.N., et al. *Attachment and Invasion of Neisseria meningitidis to Host Cells Is Related to Surface Hydrophobicity, Bacterial Cell Size and Capsule*. PLoS ONE, 2013. **8**(2): p. e55798.
27. Sáfadi, M.A.P., et al. *Carriage rate and effects of vaccination after outbreaks of serogroup C meningococcal disease, Brazil, 2010*. Emerging infectious diseases, 2014. **20**(5): p. 806-811.
28. Raghunathan, P.L., et al. *Predictors of immunity after a major serogroup W-135 meningococcal disease epidemic, Burkina Faso*. J Infect Dis, 2002. **193**: p. 607-616.
29. Trotter, C.I. and Greenwood, B.M. *Meningococcal carriage in the African meningitis belt*. Lancet Infect Dis, 2007. **7**: p. 797-803.
30. Greenwood, B., et al. *Can we defeat meningococcal disease in low and middle income countries?* Vaccine, 2012. **30S**: p. B63-B66.
31. Kaddara, M., et al. *Global support for new vaccine implementation in middle-income countries*. Vaccine, 2013. **31S**: p. B81-B96.

Table 1. Characteristics of subjects included in the study, according to serogroups B and C, Salvador, Brazil, 2001-2012.

Characteristics	B (N=185)	C (N=193)	p value ^a
	N (%) or mean ± SD		
Male sex	101(55)	112(58)	0.5
< 5 years	74(40)	37(19)	0.01
5-9 years	35(19)	32(16)	0.2
10-14 years	25(13)	34(18)	0.8
15-24 years	33(18)	44(23)	0.2
> 25 years	18(10)	46(24)	0.01
Clinical evolution			
ICU ^b admission	18(10)	35(18)	0.01
Days at ICU	9 ± 9.4	11 ± 11.4	0.01
Outcome			
Days at hospital ^c	17 ± 9.5	21 ± 15.6	0.01
Deaths	14(8)	25(13)	0.04
Laboratory analysis (CSF) ^d			
WBC ^e (cells/mm ³)	6,901 ± 3,854	7,029 ± 4,000	0.6
Glucose (mg/dL)	33 ± 28.4	27 ± 17.9	0.01
Protein (mg/dL)	308 ± 162	369 ± 295	0.03

^a χ^2 and t-test^b ICU: Intensive Care Unit^c Days at hospital: Mean calculated for 176 cases serogroup B and 185 serogroup C, respectively.^d CSF: Cerebrospinal fluid^e WBC: White Blood Cells

Total of subjects according to serogroups: N=391. Others serogroups: N=13; W (N=8); Y (N=5)

Figure 1. Frequency of prevalent phenotype strains of *N. meningitidis*, Salvador, Brazil, 2001-2012.

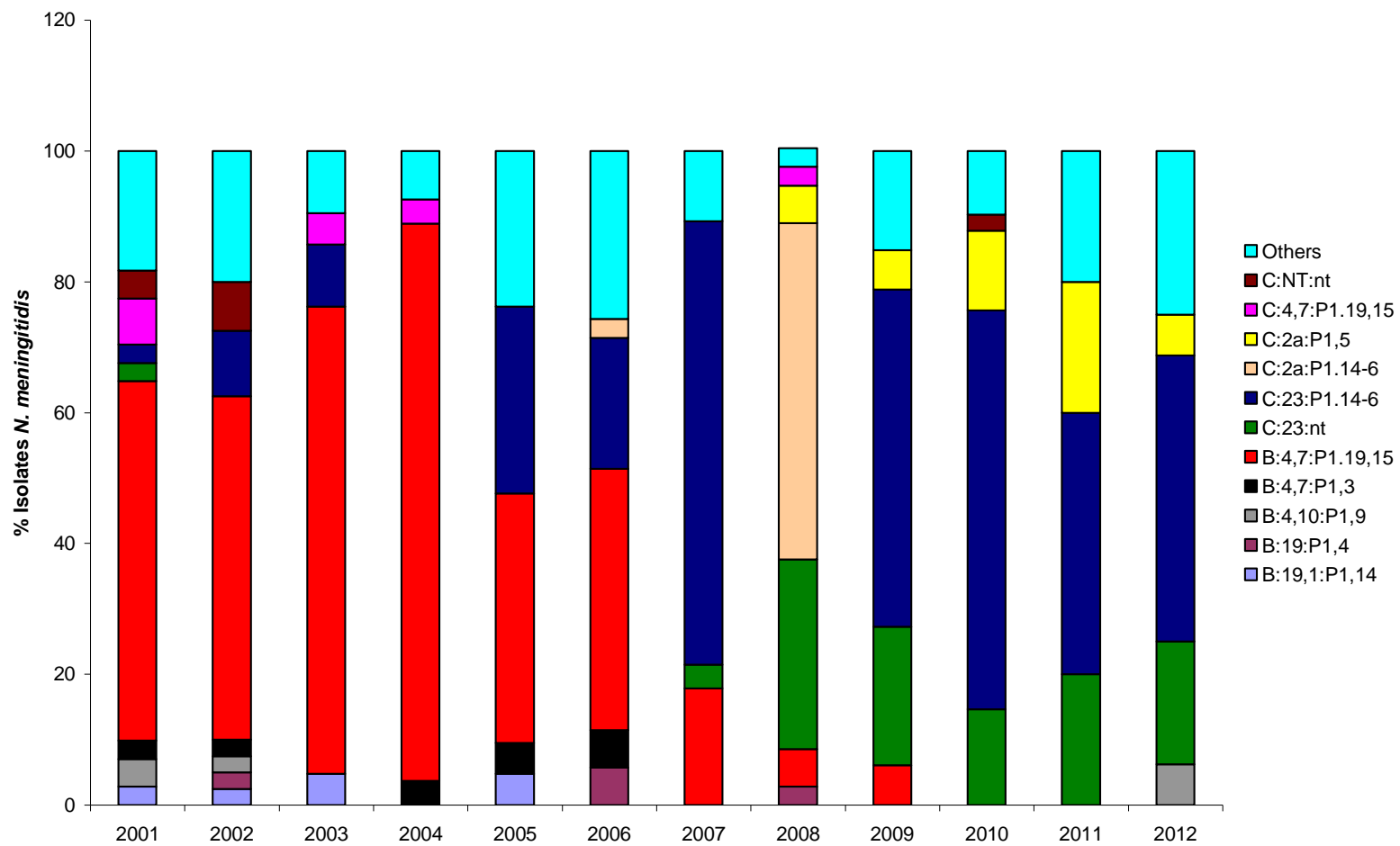
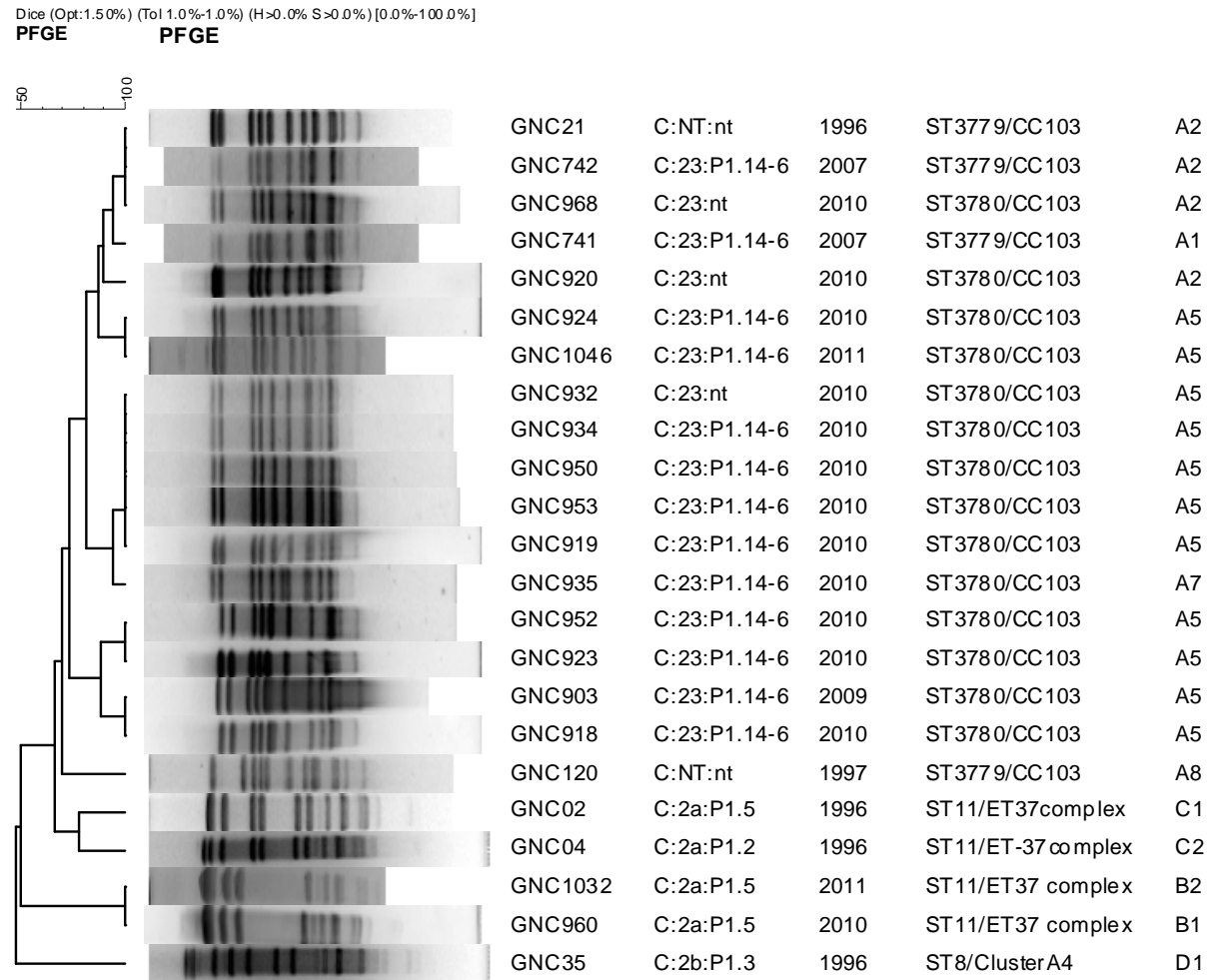


Figure 2. PFGE of *N. meningitidis* serogroup C isolates, Salvador, Brazil.



8 DISCUSSÃO

A introdução da vacina MenC para crianças na Bahia ocorreu devido ao aumento da incidência da doença meningocócica sorogrupo C. Em Salvador, este aumento foi caracterizado por elevadas incidências entre os adolescentes e adultos jovens, bem como crianças maiores que cinco anos e apresentou alta taxa de letalidade, similar aos padrões de epidemia de doença meningocócica descritos em outras localidades (PELTOLA, 1998; LAURRARI *et al.*, 2005; BEGG, 1995; SNAPE e POLLARD, 2005). A alta incidência de casos em adolescentes devido à NmC registrados em Salvador em 2010 pode ser atribuída ao período epidêmico. Durante as epidemias e em situações de surto, a incidência da doença meningocócica tende a aumentar entre as crianças mais velhas, adolescentes e adultos jovens (PELTOLA *et al.*, 1982; BILUKHA e ROSENSTEIN, 2005).

Antes da introdução da vacina MenC na rede pública de saúde, o elevado número de casos da doença meningocócica motivou uma busca da vacina MenC por parte da população nas clínicas privadas, provocando aumento do seu consumo, apesar desta vacina não ser acessível a todos os segmentos da sociedade devido ao elevado custo (em torno de US\$100).

A vacina MenC introduzida pelo Governo do Estado da Bahia representou um investimento na área da saúde pública equivalente a US\$30 milhões. Foi oferecida sem custos a população, entretanto, devido aos estoques e capacidade de produção dos laboratórios, sua oferta foi limitada para os grupos etários mais acometidos pela doença meningocócica.

Em Salvador, a decisão de oferecer uma única dose de vacina para os indivíduos de 1-4 anos e 14-24 anos foi baseada na epidemiologia local, nas limitações de recursos e nas experiências com vacinas MenC durante epidemias do meningococo sorogrupo C no Reino Unido e outros países (CANO *et al.*, 2004; DE GREEF *et al.*, 2006; MILLER *et al.*, 2001).

As campanhas públicas com a vacina MenC em Salvador, possibilitaram a administração da vacina na população de risco em faixas etárias específicas e foram eficazes para a prevenção da doença meningocócica sorogrupo C nas áreas afetadas.

Uma única dose da vacina MenC após o primeiro ano de vida tem sido altamente efetiva, tanto para o controle da DM esporádica como para o controle de epidemias (SNAPE e POLLARD, 2005; TROTTER *et al.*, 2004). Para as crianças <1 ano, a Secretaria Estadual de Saúde disponibilizou duas doses da vacina MenC seguido de um reforço no primeiro ano de vida. Os dados administrativos identificados neste estudo sugerem uma boa aceitação da vacina MenC entre as crianças e redução significativa da doença meningocócica, apesar das

pesquisas não terem sido conduzidas para determinar qual a proporção das crianças que concluíram o esquema vacinal.

Os resultados deste estudo revelaram que nenhum paciente com doença meningocócica tipo C havia sido vacinado e mostra-se consistente com a alta efetividade da vacina MenC observada no Reino Unido, Canadá, Espanha e outros países (SNAPE e POLLARD, 2005; TROTTER *et al.*, 2004). A Bahia foi o segundo estado brasileiro a introduzir a vacina MenC para crianças; posteriormente no segundo semestre do mesmo ano, a vacina MenC foi incorporada no calendário de vacinas do Programa Nacional de Imunizações. No Brasil, até o momento, a vacinação em massa para crianças <5 anos e indivíduos de 10-24 anos foi realizada apenas em Salvador, Bahia.

A vigilância contínua da DM poderá colaborar com as estratégias de vacinação a serem adotadas em outras partes do Brasil, e favorecer o monitoramento da efetividade a longo prazo de uma única dose da vacina MenC na população.

Em ambos estudos, a efetividade de uma única dose da vacina MenC foi elevada, com IC 95% variando entre 79-100% e 89-100%. O estudo de caso-controle ofereceu uma estimativa mais representativa da cobertura vacinal da população de risco. A oferta da vacina MenC durante um período prolongado pode ter colaborado para um melhor alcance das metas de cobertura vacinal; campanhas nacionais contra a influenza A (H1N1) e rubéola no Brasil alcançaram as metas de cobertura vacinal entre as pessoas de 20-29 anos de idade por proporcionar múltiplas oportunidades para a vacinação durante um prolongado período (TEIXEIRA *et al.*, 2011; DOMINGUES e OLIVEIRA, 2012). O Reino Unido, primeiro país a introduzir a vacina MenC em 1999, obteve uma efetividade de 93% através de um estudo caso-controle com adolescentes de 15-19 anos (BOSE *et al.*, 2003).

O resultados da vigilância ativa realizada durante 10 anos com pacientes com doença meningocócica confirmada laboratorialmente, demonstraram que frequência de óbitos e a média de dias de permanência dos pacientes infectados pela NmC foi maior que a dos pacientes infectados pela NmB e diferenças entre as médias de glicose e proteína das amostras do líquido cefalorraquidiano entre os pacientes infectados pela NmB e pacientes infectados pela NmC. Apesar disso, não se pode atribuir aos sorogrupos B ou C as diferenças encontradas devido a possibilidade da influência de outros fatores. A maioria dos estudos publicados evidenciam a possibilidade de fatores multi-causais frente a resposta dos indivíduos infectados pela bactéria, que vão desde as estratégias ou combinação de estratégias que a *N. meningitidis* utiliza para se tornar mais virulenta, até o fato de que a resposta não

dependa apenas das estratégias desta bactéria, mas também do hospedeiro e ambiente (FEAVARS, 2000; HARRISON *et al.*, 2005; MANCHANDA *et al.*, 2006).

A análise por PFGE neste estudo demonstrou que o maior grupo, com 71,3% dos isolados, foram relacionados com o sorotipo:subtipo 23:P1.14-6 (60), 23: nt (7), e NT: nt (10) referente ao tipo de sequência (ST) 3779 e ST 3780, ambos pertencentes ao complexo clonal ST-103. Desde 2002, foi observado um aumento importante na proporção de casos atribuídos a NmC associada com o complexo clonal ST 103, considerado hipervirulento (HARRISON *et al.*, 2009). Além de ter sido associado com as epidemias da doença meningocócica na Europa e outras regiões desde de 2000 (LEMOS *et al.*, 2007; CAUGANT, 1998), o complexo clonal ST 103 atualmente é responsável pela maioria dos casos de doença no Brasil (SÁFADI *et al.*, 2014).

Desde 2007, observa-se uma predominância do fenótipo C:23:P1.14-6, o qual contribuiu com a epidemia de doença meningocócica em Salvador em 2010, que resultou na introdução da vacina MenC. As análises desse estudo corroboram com o estudo transversal realizado em São Paulo, durante um surto de DM pelo sorogrupo C em 2010, no qual o fenótipo C:23:P1.14-6 foi dominante e o complexo clonal ST 103 foi o mais prevalente, representado por 3780 (SÁFADI *et al.*, 2014). Tais achados reforçam o conceito de que o domínio de uma cepa em particular é um importante marcador do desencadeamento de epidemias (RAGHUNATHAN *et al.*, 2002; HARRISON, 2006; TROTTER e GREENWOOD, 2007).

O presente estudo está sujeito a algumas limitações. Inicialmente, em virtude de uma possível subnotificação dos casos de DM por parte das unidades de saúde; Segundo, devido aos isolados da bactéria não terem sido obtidos para todos os episódios da DM e, terceiro, frente a possibilidade dos dados de vacinação na rede pública não terem sido registrados corretamente nos formulários, além de não termos captado os dados provenientes das clínicas privadas. Para o estudo caso-controle, acrescentamos como limitação, a ausência da apresentação do cartão comprobatório de vacinação por parte de alguns entrevistados.

No que se refere às análises, identificamos inicialmente como um possível viés, o fato de que para o cálculo do risco relativo, optamos pelo período pré-vacina, no qual as taxas de incidência da DM sorogrupo C estavam aumentando, o que pode ter direcionado resultados superestimados do impacto da vacina. Além disso, a redução da incidência da DM sorogrupo C em 2011 entre os grupos não-alvo da vacina, sugere que outros fatores podem ter contribuído para o alcance de incidências mais baixas.

9 CONCLUSÕES

- Os resultados dos estudos demonstraram que a efetividade de uma única dose da vacina MenC introduzida em Salvador através das campanhas de vacinação foi elevada, com IC 95% variando entre 79-100% e 89-100%;
- Entre crianças <5 anos, a incidência da DM no período pós-vacina (2,00 p/100.000 hab.) foi significativamente menor (RR 0,27; IC 95%, 0,09-0,75) do que as taxas médias no período pré-vacina (7,49 p/100.000 hab.);
- No ano seguinte à introdução da vacina MenC, houve uma redução de 50% na incidência dos casos da doença meningocócica em Salvador (de 4,1 casos por 100.000 habitantes para 2,0 casos por 100.000 habitantes);
- A epidemia deveu-se a expansão do complexo clonal ST103 que já circulava em Salvador desde 1996 com o predomínio do fenótipo C:23:P1.14-6.

10 REFERÊNCIAS

AGRAHARKAR, M. et al. Waterhouse-Friderichsen syndrome and bilateral cortical necrosis in meningitides sepsis. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 36, p. 396-400, 2000.

ANDREWS, S. M.; POLLARD, A. J. A. Vaccine against serogroup B *Neisseria meningitidis*: dealing with uncertainty. **Lancet Infect. Dis.**, v. 14, p. 426-434, 2014.

BEGG, N. Outbreak management. In: Cartwright, K. **Meningococcal disease**. West Sussex, John Wiley e Sons. p. 285-305, 1995.

BILUKHA, O. O.; ROSENSTEIN, N. National Center for Infectious Diseases. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention and control of meningococcal disease. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). **MMWR Recomm Rep.**, v. 54, p. 21, 2005.

BJORVATN, B. et al. DNA Fingerprinting in the epidemiology of African serogroup A *Neisseria meningitidis*. **Scand. J. Infect. Dis.**, v. 24, p. 323-332, 1992.

BJUNE, G. et al. Effect of outer membrane vesicle vaccine against group B meningococcal disease in Norway. **Lancet**, v. 338, p. 1093-1096, 1991.

BOSE, A. et al. Effectiveness of meningococcal C conjugate vaccine in teenagers in England. **Lancet**, v. 361, p. 675-676, 2003.

BRANHAM, S. E. Reference strains for the serologic groups of meningococcus. In: VEDROS, N. A. (Ed.). **Evolution of meningococcal disease**. Florida: CRC Press Inc., 1987. v. 2, p. 33-37.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Brasília-DF. 7. ed. 2009. p. 30.

_____. Atualização sobre critérios para vacinação em caso de surtos de doença meningocócica. Nota Técnica N.º 53/2011/CGDT/DEVIT/SVS/MS. Disponível em: <<http://semsa.manaus.am.gov.br/wp-content/uploads/2013/02/atualizacao-sobre-criterios-para-vacinao-em-caso-de-surtos-de-doenca-meningococica.pdf>>. Acesso em 30 jul. 2014.

_____. Introdução da vacina meningocócica C (conjugada) no calendário de vacinação da criança. Disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/it_meningo_implantacao.pdf>.
Acesso em: 11 jun. 2012.

_____. Meningites. Disponível em:
<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=37810>.
Acesso em: 08 jun. 2012.

_____. Tópico de vigilância em saúde. Disponível em: <<http://www.portal.saude.gov.br>>.
Acesso em: 09 jun. 2012.

_____. Análise da situação das doenças transmissíveis no Brasil. Disponível em:
<<http://www.portal.saude.gov.br>>. Acesso em: 09 jun. 2012.

BRASIL. Secretaria de Saúde do Estado da Bahia. Superintendência de Vigilância a Saúde. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. Situação epidemiológica das meningites na Bahia. **Bol. Epidemiol.**, v. 6, n. 1, 2012.

BRASIL. Secretaria Municipal de Saúde de Salvador. Coordenadoria de Saúde Ambiental. Subcoordenadoria de Vigilância Epidemiológica. Situação da Doença Meningocócica em Salvador. **Bol. Epidemiol.**, v. 1, n. 1, 2011.

BRYAN, J. P. et al. Etiology and mortality of bacterial meningitis in northeastern Brazil. **Rev. Infect. Dis.** v. 12, p. 128-35, 1990.

CARDOSO C. W. et al. Impact of vaccination during an epidemic of serogroup C meningococcal disease in Salvador, Brazil. **Vaccine**, v. 30, p. 5541-5546, 2012.

CARTWRIGHT, K.A. et al. Influenza A infection and meningococcal disease. **Lancet.** v. 338, p.554-557, 1991.

CAUGANT, D. A. Population genetics and molecular epidemiology of *Neisseria meningitidis*. **APMIS**, v. 106, p. 505-525, 1998.

_____. Genetics and evolution of *Neisseria meningitidis*: importance for the epidemiology of meningococcal disease. **Infect. Genet. Evol.**, v. 8, p. 558- 565, 2008.

CAUGANT, D. A.; MAIDEN, M. C. J. Meningococcal carriage and disease - Population biology and evolution. **Vaccine**, v. 27, p. B64-B70, 2009.

CDC. Center for Disease Control and Prevention. Meningococcal disease. Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. The pink book: course textbook-12th ed., second print (May 2012). Disponível em:
<<http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/mening.html#secular>>. Acesso em: 16 jun. 2012.

_____. Morbidity and Mortality Weekly Report. Prevention and Control of Meningococcal Disease. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP).v.62, n.2, 2013. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/tr/r6202.pdf>

_____. Meningococcal disease. Disponível em:
<<http://www.cdc.gov/meningococcal/global.html>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

COHN A. C. et al. Changes in *Neisseria meningitidis* disease epidemiology in the United States, 1998-2007: Implications for prevention of meningococcal disease. **CID**, v. 50, p. 184-191, 2010.

CORDEIRO, S. M. et al. Hospital-based surveillance of meningococcal meningitis in Salvador, Brasil. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 101, p. 1147-1153, 2007.

DANZIG, L. Meningococcal vaccines. **Pediatr. Infect. Dis. J.** v. 23, p. 285-292, 2004.

De GREEFF, S. C. et al. Protection from routine vaccination at the age of 14 months with meningococcal serogroup C conjugate vaccine in the Netherlands. **Pediatr. Infect. Dis. J.**; v. 25, p. 79-80, 2006.

DIEP, B. A.; PERDREAU-REMYNTO, F.; SENSABAUGH, G. F. Clonal characterization of *Staphylococcus aureus* by Multilocus Restriction Fragment Typing (MLRFT): A rapid screening approach for molecular epidemiology. **J. Clin. Microbiol.** v. 41, p. 4559-4564, 2003.

DOMINGUES, C. M.; OLIVEIRA, W. K. de. Uptake of pandemic influenza (H1N1)-2009 vaccines in Brazil. **Vaccine**. v. 30, p. 4744-4751, 2012.

EDWARDS, M. S.; BAKER, C. J. Complications and sequelae of meningococcal infections in children. **J. Pediatr.** v. 99, p. 540-545, 1981.

- ENRIGHT, M. C.; SPRATT, B. G. Multilocus sequence typing. **Trends Microbiol.** v. 7, p. 482-487, 1999.
- FEAVERS, I. M. Bacterial genomics: ABC of meningococcal diversity. **Nature.** v. 404, p. 451-452, 2000.
- FINNE, J.; LEINONEN, M.; MÄKELÄ, P. H. Antigenic similarities between brain components and bacteria causing meningitis: implications for vaccine development and pathogenesis. **Lancet.** v. 2, p. 355-357, 1983.
- FISCHER, M. et al. Tobacco smoke as a risk factor for meningococcal disease. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v.16, p. 979-983, 1997.
- FRASCH, C. E. Prospects for the prevention of meningococcal disease: special reference to group B. **Vaccine.** v. 5, p. 3-4, 1987.
- GILLESPIE, S. H.; HAWKEY, P. M. **Principles and practice of clinical bacteriology.** 2nd ed., cap. 14, p. 205-218, 2005.
- GRIFFISS, J. M.; BRANT, B. L.; JARVIS, G. A. Natural immunity to *N. meningitis*. In: VEDROS, N. A. (Ed.). **Evolution of meningococcal disease.** Florida: CRC Press Inc. 1987. v. 2, p. 99-119.
- HARRISON, L. H. Prospects for vaccine prevention of meningococcal infection. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 19, p. 142-164, 2006.
- HARRISON, L. H.; TROTTER, C. L.; RAMSAY, M. E. Global epidemiology of meningococcal disease. **Vaccine**, v. 27, p. B51-B63, 2009.
- HARRISON, O. B. et al. Description and nomenclature of *Neisseria meningitidis* capsule locus. **Emerg. Infect. Dis.** v. 19, p. 566-573, 2013.
- HART, C. A.; ROGERS, T. R. F. Meningococcal Disease. **J. Med. Microbiol.** v. 39, p. 3-25, 1993.
- HEDARI, C.P; KHINKARLY, R.H; DBAIBO, G.S. Meningococcal serogroups A, C, W135 e Y tetanus toxoid conjugate vaccine: a new conjugate vaccine against meningococcal invasive disease. **Infection and drug resistance.**v.7, p. 85-99, 2014.

- JOLLEY, K. A.; CHAN, M. S.; MAIDEN, M. C. MlstdbNet - distributed multi-locus sequence typing (MLST) databases. **BMC Bioinf.** v. 5, p. 86, 2004.
- LAFORCE, F. M. et al. Epidemic meningitis due to Group A *Neisseria meningitidis* in the African meningitis belt: A persistent problem with an imminent solution. **Vaccine.** v. 27, p. B13-B19, 2009.
- LAURRARI, A. et al. Impact and effectiveness of meningococcal C conjugate vaccine following its introduction in Spain. **Vaccine.** v. 23, p. 4097-4100, 2005.
- LEMOS, A. P. de et al. Clonal distribution of invasive *Neisseria meningitidis* serogroup C strains circulating from 1976 to 2005 in greater Sao Paulo, Brazil. **J. Clin. Microbiol.** v. 45, p. 1266-1273, 2007.
- LEPOW, M. L. et al. Meningococcal vaccines. In: Plotkin AS, Orenstein WA. **Vaccines.** 3rd ed. Philadelphia: Saunders, 1999. p. 711-727.
- LYSTAD, A.; AASEN, S. The epidemiology of meningococcal disease in Norway 1975-91. **NIPH Ann.** v. 14, p. 57-66, 1991.
- MACLENNAN, J. et al. Social behavior and meningococcal carriage in British teenagers. **Emerg. Infect. Dis.** v. 12, p. 950-957, 2006.
- MACLENNAN, J. M. et al. Safety, immunogenicity, and induction of immunologic memory by a serogroup C meningococcal conjugate vaccine in infants. **JAMA,** v. 283, p. 2791-2801, 2000.
- MAIDEN, M. C.; STUART, J. M. Carriage of serogroup C meningococci 1 year after meningococcal C conjugate polysaccharide vaccination. **Lancet,** v. 359, p. 1829-1831, 2002.
- MAIDEN, M. C. J. et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.,** v. 95, p. 3140-3145, 1998.
- MANCHANDA, V.; GUPTA, S.; BHALLA, P. Meningococcal disease: history, epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, antimicrobial susceptibility and prevention. **Ind. J. Med. Microbiol.,** v. 24, p. 7-19, 2006.

MILLER, E.; SALISBURY, D.; RAMSAY, M. Planning, registration, and implementation of an immunization campaign against meningococcal serogroup C disease in the UK: a success story. **Vaccine**, v. 20, p. S58-S67, 2001.

MOLESWORTH, A. M. et al. Where is the meningitis belt? Defining an area at risk of epidemic meningitis in Africa. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 96, p. 242-249, 2002.

MOORE K. A.; OSTERHOLM M. T. Meningococcal disease and public health practice: a complicated road map. **JAMA**, v. 279, p. 472-473, 1998.

MORAES, J. C. de; BARATA, R. B. Meningococcal disease in Sao Paulo, Brazil, in the 20th century: epidemiological characteristics. **Cad. Saúde Públ.**, v. 21, p. 1458-1471, 2005.

MORAES, J.C. et al. Prevalence of meningococcal carriage among adolescents in Campinas, Brazil. Abstract Poster Presented at ESPID, 2013.

MORAES, C. Epidemiologia das meningites no Brasil. In: REUNIÃO NACIONAL DE VIGILÂNCIA DAS MENINGITES, Brasília, maio, 2014.

MORAIS, J. S. de et al. Epidemic disease due to serogroup C *Neisseria meningitidis* in São Paulo, Brazil. **J. Infect. Dis.**, v. 129, p. 568-571, 1974.

MORLEY, S. L.; POLLARD, A. J. Vaccine prevention of meningococcal disease, coming soon? **Vaccine.**, v. 20, p. 666-687, 2002.

MRF. MENINGITIS RESEARCH FOUNDATION. UK MenB vaccine update. Disponível em: <<http://www.meningitis.org>>. Acesso em: 30 jul. 2014.

MUNFORD, R. S. et al. Spread of meningococcal infection within households. **Lancet.**; v. 1, p. 1275-1278, 1974.

MURRAY, P. R. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 9 ed., 2007. v. 1, cap. 39, p. 601-617.

O'HALLAHAN, J.; LENNON, D.; OSTER, P. The strategy to control New Zealand's epidemic of group B meningococcal disease. **Pediatr. Infect. Dis. J.** v. 23, p. S293-S298, 2004.

PAHO. Pan America Health Organization. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_contentview=articleid=6542eItemid=259elang=pt>. Acesso em: 24 jan. 2014.

PELTOLA, H. Meningococcal vaccines. **Drugs**, v. 55, p. 347-366, 1998.

PELTOLA, H.; KATAJA, J. M.; MAKELA, P. H. The age distribution of meningococcal disease as predictor of an epidemic? **Lancet**, v. 2, p. 595-597, 1982.

PERKINS, B. A.; PINNER, R. W.; STEPHENS, D. S. Medicine for the practicing physician. In: HURST J.W. (Ed.). **Appleton and Lange**. Norwalk, CT. p. 412-414, 1996.

RAGHUNATHAN, P. L. et al. Predictors of immunity after a major serogroup W-135 meningococcal disease epidemic, Burkina Faso. **J. Infect. Dis.** v. 193, p. 607-616, 2002.

RAMSAY, M. E. et al. Efficacy of meningococcal serogroup C conjugate vaccine in teenagers and toddlers in England. **Lancet**. v. 357, p. 195-196, 2001.

RAPPUOLI, R. Reverse vaccinology, a genome-based approach to vaccine development. **Vaccine**. v. 19, p. 2688-2691, 2001.

RAYMOND, N. J. et al. Molecular epidemiology of sporadic (endemic) serogroup C meningococcal disease. **J. Infect. Dis.** v. 176, p. 1277-1284, 1997.

REQUEJO, H. I. Z. Meningite meningocócica no Brasil - cem anos de história das epidemias. **Newslab**. ed. 73, p. 158-164, 2005.

RIBEIRO, G. S. et al. Prevention of *Haemophilus influenzae* type B (HIB) meningitis and emergence of serotype replacement with type A strains after introduction of HIB immunization in Brazil. **J. Infect. Dis.** v. 187, p. 109-116, 2003.

RIEDO, F. S.; PLIKAYTIS, B. D.; BROOME, C. V. Epidemiology and prevention of meningococcal disease. **Pediatr. Infect. Dis. J.** v. 14, p. 643-657, 1995.

ROSENSTEIN, N. E. et al. Meningococcal disease. **N. Engl. J. Med.** v. 344, p. 1378-1388, 2001.

ROSENSTEIN, N. E.; PERKINS, B. A. Update on *Haemophilus influenzae* serotype b and meningococcal vaccines. **Pediatr. Clin. N. Amer.** v. 47, p. 337-352, 2000.

ROSENSTEIN NE. et al. Meningococcal Disease. **N Engl J Med.** v. 344, p.1378-1388, 2001.

SACCHI, C. T. et al. Ongoing group B *Neisseria meningitidis* epidemic in São Paulo, Brazil, due to increased prevalence of a single clone of the ET-5 complex. **J. Clin. Microbiol.** v. 30, p. 1734-1738, 1992.

SÁFADI, M. A. P. et al. The epidemiology of meningococcal disease in Latin America 1945-2010: an unpredictable and changing landscape. **Epidemiol. Infect.** v. 141, p. 447-458, 2013.

SÁFADI, M. A. P.; BARROS, A. P. Meningococcal conjugate vaccines: efficacy and new combinations. **J. Pediatr.** v. 82, p. S35-S44, 2006.

SÁFADI, M. A. P. et al. Carriage rate and effects of vaccination after outbreaks of serogroup C meningococcal disease, Brazil, 2010. **Emerg. Infect. Diseases.** v. 20, p. 806-811, 2014.

SAKAGAMI, D. C. S. C. A Inserção da Vacina Contra Doença Meningocócica no Calendário de Vacinação de Curitiba para a Redução da Morbi-Mortalidade. Disponível em: <<http://www.webartigos.com/artigos/a-insercao-da-vacina-contradoenca-meningococica-no-calendario-de-vacinacao-de-curitiba-para-a-reducao-da-morbi-mortalidade/55602/>>. Acesso em: 24 jan. 2014.

SALLERAS, L.; DOMINGUEZ, A.; CARDENOSA, N. Impact of mass vaccination with polysaccharide conjugate vaccine against serogroup C meningococcal disease in Spain. **Vaccine.** v. 21, p. 725-728, 2003.

SCHWARTZ, B.; MOORE, P. S.; BROOME, C. V. Global epidemiology of meningococcal disease. **Clin. Microbiol. Rev.** v. 2, p. 118-124, 1989.

SELANDER, R. K. et al. Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. **App. Environ. Microbiol.** v. 51, p. 873-884, 1986.

SNAPE, M. D.; POLLARD, A. J. Meningococcal polysaccharide-protein conjugate vaccines. **Lancet. Infect. Dis.** v. 5, p. 21-30, 2005.

SOTOLONGO, P. F. et al. Vaccine against group B *Neisseria meningitidis*: protection trial and mass vaccination results in Cuba. **NIPH Ann.** v. 14, p. 195-207, 1991.

- STANWELL-SMITH, R.E. et al. Smoking, the environment and meningococcal disease: a case control study. **Epidemiol Infect.** v.112, p. 315-328, 1994.
- STEPHENS, D. S. Biology and pathogenesis of the evolutionarily successful, obligate human bacterium *Neisseria meningitidis*. **Vaccine.** v. 27, p. 71-77, 2009.
- STULL, T. L.; LIPUMA, J. J.; EDLIND, T. D. A broad-spectrum probe for molecular epidemiology of bacteria: ribosomal RNA. **J. Infect. Dis.** v. 157, p. 280-286, 1988.
- SWARTLEY, J. S. et al. Capsule switching of *Neisseria meningitidis*. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.** v. 94, p. 271-276, 1997.
- TEIXEIRA, A. M. et al. Brazilian experience with rapid monitoring of vaccination coverage during a national rubella elimination campaign. **Rev Panam Salud Publica.** v. 30, p. 7-14, 2011.
- TROTTER, C. L. et al. Effectiveness of meningococcal serogroup C conjugate vaccine 4 years after introduction. **Lancet.** v. 364, p. 365-367, 2004.
- TROTTER, C. L.; GREENWOOD, B. M. Meningococcal carriage in the African meningitis belt. **Lancet Infect. Dis.** v. 7, p. 797-803, 2007.
- TZENG, Y. L.; STEPHENS, D. S. Epidemiology and pathogenesis of *Neisseria Meningitidis*. **Microb. Infect.** v. 2, p. 687-700, 2000.
- VALENZUELA, M.T. et al. Emergencia de la cepa W135 causante de enfermedad meningocócica invasora en Chile 2012. **Rev. Med. Chile,** v.141, p. 959-967, 2013.
- VAN DEUREN, M. V.; BRANDTZAEG, P.; MEER, J. W. M. V. D. Update on meningococcal disease with emphasis on pathogenesis and clinical management. **Clin. Microbiol. Rev.** v. 13, p. 144-166, 2000.
- VEDROS, N. A. Evolution of meningococcal disease. In: **Development of meningococcal serogroups and serotyping.** Boca Raton: Florida, v. 2, 1987. p. 33-54.
- _____. Genus 1. *Neisseria*. In: **Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology.** ed. NR Krieg. The Williams e Wilkins Co., Baltimore. v. 1, p. 290-296, 1984.

VIEUSEAUX, M. Mémoire sur la maladie qui a regné a Geneve du printemps de 1805. *Journal de Médecine Chirurgie Pharmacie*, v. 11, p. 163, 1805. In: BATISTA, R. S. et al. (Ed.). **Medicina Tropical. Abordagem atual das doenças infecciosas e parasitárias**. Cultura Médica, 2000. p. 521-529.

VOLK, W. A. et al. **Essentials of medical microbiology**. 5 ed. Philadelphia: Copyright, Lippincott-Raven Publishers, 1996. p. 348-355.

WALPORT M.J. Complement-First of Two parts. **N Engl J Med.**, v. 344, p.1058-1066, 2001.

WEICHSELBAUM, A. Ueber die Aetiologie der akuten Meningitidis cerebrospinalis. *Otschr Med.*1887; 5: 573-83. In: BATISTA, R. S. et al. (Ed.). **Medicina Tropical. Abordagem atual das doenças infecciosas e parasitárias**. Cultura Médica, 2000. p. 521-529.

WHO. World Health Organization. Working Group. Foundation Marcel Mérieux. Control of epidemic meningococcal disease. **WHO practical guidelines**. Lyon: Fondation Marcel Mérieux, 1995.

_____. Meningococcal meningitis. Fact sheet n. 141. November 2012. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs141/en/>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

_____. Health topics. Meningitis. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/meningitis/en/>>. Acesso em: 30 abr. 2012.

_____. Weekly epidemiological record. n. 47, v. 86, p.521-540, 2011. Disponível em: <<http://www.who.int/wer/2011/wer8647.pdf>>. Acesso em: 30 jun. 2014.

_____. WHO/EMC/BAC/98.3 Control of epidemic meningococcal disease. WHO practical guidelines. 2nd edition. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/resources/publications/meningitis/whoemcbac983.pdf>>. Acesso em: 08 jan. 2014.

_____. Global Alert and Response (GAR). Meningococcal disease. Disponível em: <http://www.who.int/csr/don/2013_06_06_menin/en/>. Acesso em: 30 jun. 2014.

_____. Global Alert and Response (GAR). W135 strain of the disease. Disponível em: <http://www.who.int/csr/disease/meningococcal/w135/en/>. Acesso em: 30 jun. 2014.


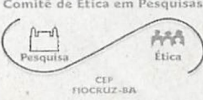
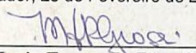
WILDER-SMITH, A.; GOH, K.T.; BARKHAM, T.; PATON, N.I. Hajj-associated outbreak strain of *Neisseria meningitis* serogroup W135: estimates of the attack rate in a defined population and the risk of invasive disease developing in carriers. **Clin. Infect. Dis.**, v.36, p. 679-683, 2003.

WYLE, F. A. et al. Immunologic response of man to group B meningococcal polysaccharide vaccines. **J. Infect. Dis.**, v. 126, p. 514-521, 1972.

ZOLLINGER W. D. New and improvement against meningococcal disease. In: WOODROW G. C.; LEVINE M. M. **New Generation Vaccines**. ed. New York: Marcel Dekker, 1990. p. 325-347.

ANEXOS

1. ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

 <p>Ministério da Saúde FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz</p>	 <p>Comitê de Ética em Pesquisas Pesquisa Ética CEP FIOCRUZ-BA</p>
Comitê de Ética em Pesquisa – CPqGM/FIOCRUZ	
PARECER FINAL Nº 235/2011	
Protocolo: 341	
<u>Projeto de Pesquisa:</u> "Epidemiologia da doença meningocócica e estudo da efetividade da vacina meningocócica C em Salvador-Bahia".	
<u>Pesquisador(a) Responsável:</u> Dr ^a Joice Neves Reis Pedreira	
<u>Instituição ou Departamento:</u> Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – FIOCRUZ	
Considerações:	
Após análise ética do projeto e realização dos esclarecimentos solicitados ao responsável, o CEP considera que o projeto atende aos princípios éticos de autonomia, beneficência, não maleficência, equidade e justiça.	
Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisas do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (CEP-CPqGM/FIOCRUZ), conforme atribuições conferidas pela CONEP/CNS/MS (Carta Doc.32-04/97), com base na Resolução 196/96 e suas complementares, julga aprovado o projeto supracitado.	
O CEP/CPqGM-FIOCRUZ especifica, abaixo, o período de vigência, bem como, determina as datas para o envio dos relatórios anual e final, referentes ao desenvolvimento do protocolo de pesquisa aprovado.	
<u>Vigência:</u> 25/02/2011 a 31/07/2012	
<u>Envio de Relatório Anual em:</u> 25/02/2012	
<u>Relatório Final:</u> 31/07/2012	
<i>The present study, entitled "Epidemiologia da doença meningocócica e estudo da efetividade da vacina meningocócica C em Salvador-Bahia" has been approved by the Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz - FIOCRUZ (IORG00002090 / IRB000026120) in February 25th 2011 meeting. The protocol and procedures presented in the project are in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human subject (institutional) and with the Helsinki Declaration of 1964, as revised in 2008. In the present version, this project is licensed and valid until July 31th 2012.</i>	
Salvador, 25 de Fevereiro de 2011.	
 <hr style="width: 100%;"/> Dr^a Maria Fernandã Rios Grassi Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa CPqGM/FIOCRUZ IORG-0002090 / IRB-00002612	
<hr style="width: 100%;"/> Rua Waldemar Falcão, nº 121, Candeal, Salvador, Bahia, CEP 40.296-710, Brasil. Tel: (55)-(71) 3176-2285 Fax: (55)-(71) 3176-2327, e-mail: cep@bahia.fiocruz.br	

APÊNDICES

V. APRESENTAÇÃO CLÍNICA:		
5.1	Dados vitais: TAS: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> TAD <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> TAM <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	
5.2	O paciente tinha lesões na pele? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Se sim, que tipo de lesão? (QLPE) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	LPE <input type="checkbox"/>
5.3	O paciente apresentou sinais neurológicos focais? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Se sim, qual? (QSNF) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	SNF <input type="checkbox"/>
5.4	O Hemograma do paciente foi feito nas primeiras 24h? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/>	HEM <input type="checkbox"/>
5.5	Qual a data do hemograma inicial? <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	HDIH <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
5.6	Eritrograma: Hb <input type="text"/> <input type="text"/> g/dL Plaquetas <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> x 10 ³ Ht <input type="text"/> <input type="text"/> % Leu <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> N <input type="text"/> <input type="text"/> %	
VI. TRATAMENTO:		
6.1	Esquema inicial incluiu: Penicilina <input type="checkbox"/> Cloranfenicol <input type="checkbox"/> Rocefin <input type="checkbox"/> Ceftazidina <input type="checkbox"/> 4 Combinação: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	EI <input type="checkbox"/>
6.2	O paciente foi tratado com esteróide IV? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/>	ESTER <input type="checkbox"/>
6.3	Se sim, por quantos dias? <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	DESTER <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
6.4	Qual a data de início de terapia com esteróide: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	IESTER <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
VII. EVOLUÇÃO CLÍNICA/ALTA:		
7.1	O paciente apresentou convulsões durante o internamento? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/>	FCVD <input type="checkbox"/>
7.2	O paciente evoluiu com abscesso cerebral? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/>	EABC <input type="checkbox"/>
7.3	Paciente evoluiu com sinais neurológicos focais: Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Qual? (QESNF) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	ESNF <input type="checkbox"/>
7.4	Paciente apresentou déficit neurológico na alta: Não tem <input type="checkbox"/> Perda auditiva <input type="checkbox"/> Déficit motor <input type="checkbox"/> Alterações nervos cranianos <input type="checkbox"/> Ataxia <input type="checkbox"/> Alteração estado mental <input type="checkbox"/> Outros ou não especificado <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/>	DEFCN <input type="checkbox"/>
7.5	Sorogrupo da amostra do HCMaia <input type="text"/>	SOROG <input type="checkbox"/>
7.6	Tipo de Alta Curado <input type="checkbox"/> Transferido <input type="checkbox"/> Outro diagn. <input type="checkbox"/> óbito <input type="checkbox"/> NSA <input type="checkbox"/> Data da Alta: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Não sabe <input type="checkbox"/>	FTAL <input type="checkbox"/> FDAL <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
7.7	Quantos dias ficou internado: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	FDI <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
7.8	Quantos dias internado na UTI? <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	FUTI <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
VIII. INFORMAÇÕES SOBRE VACINAS:		
8.1	Fez uso da vacina meningocócica C: Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/>	MENC <input type="checkbox"/>

8.2	Por que não se vacinou na campanha? Não teve tempo <input type="text" value="1"/> Não sabia <input type="text" value="2"/> Não teve vontade <input type="text" value="4"/> Não teve Transporte <input type="text" value="3"/> Não se Aplica <input type="text" value="8"/>	NAOVAC <input type="text"/>
8.3	Apresentou o cartão de vacina? Sim <input type="text" value="1"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/> Não <input type="text" value="0"/>	CVAC _/_/_/_
8.4	Se apresentou cartão: de 8.4 a 8.14 Data em que fez uso da vacina? Sem registro <input type="text" value="7"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	DVAC _/_/_/_
8.5	Qual o lote da vacina? Sem registro <input type="text" value="7"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	LOTV _ _ _ _
8.6	Qual o tipo de vacina? Conjugada <input type="text" value="1"/> Polissacarídea <input type="text" value="2"/> Sem registro <input type="text" value="7"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	TIPV <input type="text"/>
8.7	Qual o laboratório? Baxter <input type="text" value="1"/> Novartis <input type="text" value="2"/> Wyeth/Pfizer <input type="text" value="3"/> Sanofi-Pasteur <input type="text" value="4"/> Sem registro <input type="text" value="7"/> Outros <input type="text" value="5"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	LAB <input type="text"/>
8.8	Fez uso da 1ª dose: Sim <input type="text" value="1"/> Não <input type="text" value="0"/> Não sabe <input type="text" value="9"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	ANT1 <input type="text"/> ANT1I <input type="text"/>
8.9	Em que mês e ano fez uso da 1ª dose? Mês <input type="text"/> <input type="text"/> Ano <input type="text"/> <input type="text"/> Não sabe <input type="text" value="9"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	MES <input type="text"/> ANO <input type="text"/>
8.10	Fez uso da 2ª dose: Sim <input type="text" value="1"/> Não <input type="text" value="0"/> Não sabe <input type="text" value="8"/> Não se aplica <input type="text" value="9"/>	ANT2 <input type="text"/> ANT2I <input type="text"/>
8.11	Em que mês e ano fez uso da 2ª dose? Mês <input type="text"/> <input type="text"/> Ano <input type="text"/> <input type="text"/> Não sabe <input type="text" value="9"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	MES <input type="text"/> ANO <input type="text"/>
8.12	Fez uso da 3ª dose: Sim <input type="text" value="1"/> Não <input type="text" value="0"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/> Não sabe <input type="text" value="9"/>	ANT3 <input type="text"/> ANT3I <input type="text"/>
8.13	Em que mês e ano fez uso da 3ª dose? Mês <input type="text"/> <input type="text"/> Ano <input type="text"/> <input type="text"/> Não sabe <input type="text" value="9"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	MES <input type="text"/> ANO <input type="text"/>
8.14	Fez uso da Vacina em que lugar: Unidade de saúde <input type="text" value="1"/> Clínica Privada <input type="text" value="2"/> Trabalho <input type="text" value="3"/> Não sabe <input type="text" value="9"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	LVAC <input type="text"/>
8.15	NAO apresentou cartão (verificação verbal): de 8.16 a 8.20 A Vacina que você tomou protege contra que doença? Meningite <input type="text" value="1"/> Outra <input type="text" value="2"/> Não sabe <input type="text" value="9"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	VACMEN <input type="text"/>
8.16	Em que local do corpo recebeu a vacina? Antero-lateral da coxa <input type="text" value="1"/> braço <input type="text" value="2"/> Não sabe <input type="text" value="9"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	LOCVAC <input type="text"/>
8.17	Em que mês recebeu a vacina? Mês <input type="text"/> <input type="text"/> Não sabe <input type="text" value="9"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	QDOVAC <input type="text"/>
8.18	Onde recebeu vacina? Unidade de saúde <input type="text" value="1"/> Clínica Privada <input type="text" value="2"/> Escola <input type="text" value="3"/> Não sabe <input type="text" value="9"/> Local de trabalho <input type="text" value="4"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	ONDEVAC <input type="text"/>
8.19	Como era o comprovante de vacinação? Descreveu cartão <input type="text" value="1"/> Não descreveu cartão <input type="text" value="2"/> Não sabe <input type="text" value="9"/> Não se aplica <input type="text" value="8"/>	COMPVAC <input type="text"/>

3.7	Qual o laboratório? Baxter <input type="checkbox"/> 1 Novartis <input type="checkbox"/> 2 Wyeth/Pfizer <input type="checkbox"/> 3 Sanofi-Pasteur <input type="checkbox"/> 4 Outros <input type="checkbox"/> 5 S/ registro <input type="checkbox"/> 7 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	LAB <input type="checkbox"/>
3.8	Fez uso da 1ª dose: Sim <input type="checkbox"/> 1 Não <input type="checkbox"/> 0 Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	ANT1 <input type="checkbox"/> ANT1 <input type="checkbox"/>
3.9	Em que mês e ano fez uso da 1ª dose? Mês <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	MES <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Não se Aplica <input type="checkbox"/>
3.10	Fez uso da 2ª dose: Sim <input type="checkbox"/> 1 Não <input type="checkbox"/> 0 Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	ANT2 <input type="checkbox"/> ANT2 <input type="checkbox"/>
3.11	Em que mês e ano fez uso da 2ª dose? Mês <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	MES <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Não se Aplica <input type="checkbox"/>
3.12	Fez uso da 3ª dose: Sim <input type="checkbox"/> 1 Não <input type="checkbox"/> 0 Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	ANT3 <input type="checkbox"/> ANT3I <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Não se Aplica <input type="checkbox"/>
3.13	Em que mês e ano fez uso da 3ª dose? Mês <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	MES <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> ANO <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> Não se Aplica <input type="checkbox"/>
3.14	Fez uso da Vacina em que lugar: Unidade de saúde <input type="checkbox"/> 1 Clínica Privada <input type="checkbox"/> 2 Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8 Trabalho <input type="checkbox"/> 3	LVAC <input type="checkbox"/>
3.15	NÃO apresentou cartão (verificação verbal): de 3.15 a 3.20 A Vacina que você tomou protege contra que doença? Meningite <input type="checkbox"/> 1 Outra <input type="checkbox"/> 2 Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	VACMEN <input type="checkbox"/>
3.16	Em que local do corpo recebeu a vacina? Antero-lateral da coxa <input type="checkbox"/> 1 braço <input type="checkbox"/> 2 Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	LOCVAC <input type="checkbox"/>
3.17	Em que mês recebeu a vacina? Mês <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	QDOVAC <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
3.18	Onde recebeu vacina? Unidade de saúde <input type="checkbox"/> 1 Clínica Privada <input type="checkbox"/> 2 Escola <input type="checkbox"/> 3 Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Local de trabalho <input type="checkbox"/> 4 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	ONDEVAC <input type="checkbox"/>
3.19	Como era o comprovante de vacinação? Descreveu cartão <input type="checkbox"/> 1 Não descreveu cartão <input type="checkbox"/> 2 Não sabe <input type="checkbox"/> 9 Não se aplica <input type="checkbox"/> 8	COMPVAC <input type="checkbox"/>
3.20	Verificação verbal considera vacinado? Sim <input type="checkbox"/> 1 Não <input type="checkbox"/> 0 Não se Aplica <input type="checkbox"/> 8	VERVAC <input type="checkbox"/>

3. APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA MENINGOCÓCICA EM SALVADOR E ESTUDO DA EFETIVIDADE DA VACINA MENINGOCÓCICA TIPO C

Consentimento informado

Finalidade e procedimentos

A Fundação Oswaldo Cruz/Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz está apoiando a Secretaria Estadual de Saúde da Bahia (SESAB) na realização de um projeto de pesquisa sobre uma vacina que foi incluída em 2010 no Programa Estadual de vacinação a fim de reduzir o número de casos de uma doença. A vacina foi introduzida em 2010. Estamos monitorando os casos da doença em Salvador para saber se a infecção poderia ter sido prevenida pela vacina. Os resultados do estudo poderão trazer informações importantes para que os governos possam avaliar o impacto do uso de vacinas e controle da doença.

Sendo assim, estamos convidando pessoas pertencentes às faixas etárias elegíveis pela vacina durante a estratégia de vacinação de 2010 dos programas estadual e municipal de vacinação que não tiveram a doença e se foram ou não vacinados e que residam próximo de um local onde teve um caso da doença. Compararemos as respostas e outras informações para entendermos como a vacina está funcionando.

Esclarecemos que o Senhor (a) poderá se recusar a participar, sem nenhum prejuízo ou benefício direto para o Senhor (a) ou criança pela qual é responsável. Todas as informações obtidas serão confidenciais, respeitando todos os princípios que regem a Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196/96 e seus resultados serão utilizados estritamente para os objetivos definidos nesta pesquisa.

Dessa forma, gostaríamos de solicitar sua autorização para realizarmos a coleta de informações sobre o Senhor (a) e/ou a criança pela qual é responsável, respondendo a um questionário a ser aplicado por entrevistador treinado.

Pediremos para ver seu registro de vacinação e/ou o registro de vacinação da criança pela qual é responsável assim como documento de registro de nascimento. As perguntas levam aproximadamente 10 minutos.

(confidencialidade): Tudo o que for falado será mantido em segredo, conforme determinado por lei. Para proteger sua privacidade e/ou da criança pela qual é responsável, os registros serão identificados com códigos numéricos e não com nomes. Eles ficarão guardados em arquivos seguros e somente a equipe do projeto terá acesso. Seu nome e ou da criança pela qual é responsável não aparecerá quando os dados deste projeto forem divulgados.

(custo): Não há nenhum custo nem pagamento para você participar desta pesquisa.

(PESSOAS DE CONTATO): SE VOCÊ TIVER DÚVIDA SOBRE A PESQUISA OU ACHA QUE SUA CRIANÇA FOI DE ALGUMA FORMA PREJUDICADA AO PARTICIPAR DO PROJETO, PODE FALAR COM DR^a. JOICE NEVES REIS PEDREIRA OU DR^a CRISTIANE WANDERLEY CARDOSO ATRAVÉS DOS TELEFONES (71) 3176-2200/ 3176.2302 E 2201.8643/8633 OU ENDEREÇO: FIOCRUZ - CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ, RUA WALDEMAR FALCÃO, 121, CANDEAL - SALVADOR/BA CEP: 40296-710.

Nome: _____ Data

Nascimento: ____/____/____

Responsável: _____

(quando criança)

Concordo em participar desta pesquisa ou autorizo a participação de meu filho (a)* e dou minha permissão para os pesquisadores terem acesso a informações necessárias para sua realização. Tive oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas satisfatoriamente. Sei que a participação nesta pesquisa é por minha própria escolha e que mesmo tendo autorizado a minha participação e/ou do meu filho (a)*, posso sair e retirá-lo (a) da pesquisa quando quiser. Receberei uma cópia deste termo de consentimento.

Local e data:

Assinatura: _____

neto (a), sobrinho (a), enteado (a), afilhado (a)



Título do Projeto: Epidemiologia da doença meningocócica e estudo da efetividade da vacina meningocócica C em Salvador, Bahia.

Paciente: _____

Nº Projeto de Pesquisa: _____

Para ser lido para todos os pacientes menores de idade: As informações que seguem serão para um estudo que estamos realizando. Será feita uma entrevista na qual você deverá responder algumas perguntas. Por favor, escute cuidadosamente e pergunte sobre qualquer dúvida que você tenha.

Nós estamos pedindo para você nos ajudar porque você tem uma infecção. Muitos sinais desta infecção são similares a doença causada por uma inflamação nos tecidos circundantes do cérebro que se chama meninges. Nós gostaríamos de conseguir o máximo de informações possíveis para determinar a melhor maneira que podemos tratar e prevenir essa doença. Gostaríamos de lhe informar que este não é um estudo sobre tratamento e que você não terá benefício direto ao participar dele. Embora, o benefício desta informação poderá ajudar a prevenir e tratar melhor esta doença no futuro. Sua informação ajudará outras pessoas com esse problema no futuro.

Se você concordar em ajudar, nós faremos a você e a seus pais algumas perguntas. Nós só iremos te fazer algumas perguntas se você e seus pais concordarem.

Consentimento: Eu ouvi e entendi este termo de consentimento. Minhas perguntas foram respondidas. Eu, voluntariamente, concordo em participar:

Assinatura do Paciente Menores de Idade

Data Hora



Impressão Digital do Indivíduo

Assinatura da Testemunha

Data

Hora

Assinatura do Investigador

Data

Hora