

**Secretaria de Estado da Saúde  
Coordenadoria de Controle de Doenças  
Instituto Adolfo Lutz**

**Curso de Especialização**

**Vigilância Laboratorial em Saúde Pública**

**Bianka Rinaldin Fonseca**

**FEBRE PURPÚRICA BRASILEIRA**

**Histórico, epidemiologia, situação atual no país  
e atualização quanto aos mecanismos de  
virulência envolvidos na infecção**

**CAMPINAS**

**2019**

**Bianka Rinaldin Fonseca**

**FEBRE PURPÚRICA BRASILEIRA**

**Histórico, epidemiologia, situação atual no  
país e atualização quanto aos mecanismos de  
virulência envolvidos na infecção**

Trabalho de conclusão de curso de especialização apresentado ao Instituto Adolfo Lutz- Unidade do Centro de Formação de Recursos Humanos para o SUS/SP-Doutor Antônio Guilherme de Souza como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Vigilância Laboratorial em Saúde Pública

Orientadora: Me. Eneida Gonçalves Lemes Marques

**CAMPINAS**

**2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Centro de Documentação – Coordenadoria de Controle de Doenças/SES-SP

©reprodução autorizada pelo autor, desde que citada a fonte

Fonseca, Bianka Rinaldin

Febre Purpúrica Brasileira: Histórico, epidemiologia, situação atual no país e atualização quanto aos mecanismos de virulência envolvidos na infecção/ Bianka Rinaldin Fonseca–Campinas, 2019.

36 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização-Vigilância Laboratorial em Saúde Pública)-Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, CEFOR/SUS-SP, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2019.

Área de concentração: Microbiologia em Saúde Pública

Orientação: Profa. Me. Eneida Gonçalves Lemes Marques

1-Febre Purpúrica Brasileira; 2-Haemophilus influenzae biogrupo aegyptius; 3-Fatores de virulência; 4-Epidemiologia; 5- Contexto histórico

SES/CEFOR/IAL-7/2019

Dedico o referente trabalho em memória aos meus avós, Neusa e Sebastião, eterno exemplo de honestidade e determinação.

À minha mãe Sirley, cujo apoio é sempre essencial para a realização de meus objetivos.

E ao meu companheiro Adriel, o qual me motiva a seguir juntos, sempre mais alto.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus, o qual me presenteia todos os dias com o dom da vida.

Agradeço aos meus familiares, Sirley, Ronaldo e Maricler, Sonia e Elcio, Guilherme e Gabriela que sempre me instigam a crescer e são verdadeiros exemplos de que família é sinônimo de união, apesar de todas as diferenças e dificuldades.

Ao meu namorado Adriel, que sempre me incentiva e me ajuda a vencer um obstáculo por vez.

À minha amiga Ana Paula, cuja amizade se fez quando éramos ainda crianças e permanece com a mesma harmonia e sinceridade da infância, mesmo com a distância e correrias do dia a dia.

À minha orientadora Me. Eneida, pela disponibilidade, paciência e dedicação com que me auxiliou e me inspirou na realização deste trabalho.

Às minhas colegas do curso de pós-graduação, Mikaely e Janssen, pelo companheirismo e risadas.

A todo o corpo colaborativo do Instituto Adolfo Lutz CLR Campinas, cuja participação direta ou indireta influenciou na minha aprendizagem, especialmente à Taíse, Thalita, Ana Paula, Marie, Ana Carolina, Salisa, Sonia, Edimilson, André, Carmen, Cleide, Celso, Luciano, Gleize, Elaine, Paulo, Maria Isabel, Jeane, Laura, Daniela, Isabela, Cristiane e Mário. Meu eterno agradecimento por doarem parte do tempo e da sabedoria de vocês na construção do conhecimento de jovens aprendizes.

*“Na medida em que vamos adquirindo mais conhecimento, as coisas se tornam menos compreensíveis e mais misteriosas.”*

*Albert Schweitzer*

## RESUMO

A Febre Purpúrica Brasileira (FPB) emergiu em 1984, no município de Promissão no estado de São Paulo, com sintomas semelhantes a meningococemia, precedida de conjuntivite purulenta, atingindo principalmente crianças. O agente etiológico somente foi isolado anos depois e ficou conhecido como *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius*, o qual era conhecido até aquele momento por causar infecções conjuntivais autolimitadas. Pesquisas com as cepas virulentas de FPB vêm sendo desenvolvidas desde então, na tentativa de revelar os fatores de virulência e mecanismos de patogenicidade envolvidos que favorecem a evolução para a infecção invasiva. No Brasil, os surtos ocorreram por um período de aproximadamente nove anos (1984-1993) em alguns estados do país, com altos índices de morbidade e mortalidade. Casos em outros países como Estados Unidos e Austrália foram relatados com sintomatologia muito similar, porém o microrganismo isolado apresenta características distintas da estirpe no Brasil. Frente à possibilidade do retorno da FPB em 2007 após casos suspeitos no estado do Pará e à semelhança dos sintomas com doenças endêmicas no país, este trabalho tem como objetivo aprimorar as ações de vigilância em saúde em relação à doença a partir do levantamento bibliográfico sobre o contexto histórico e epidemiológico no Brasil e no mundo e, ainda, trazer dados atualizados quanto aos mecanismos de virulência do microrganismo, envolvidos na infecção.

**Palavras-chave:** Febre Purpúrica Brasileira; *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius*; Fatores de virulência; Epidemiologia; Contexto histórico.

## ABSTRACT

Brazilian Purpuric fever (BPF) emerged in 1984 in the municipality of Promissão in the State of São Paulo, Brazil, with symptoms similar to meningococcaemia, preceded by purulent conjunctivitis, affecting mainly children. The etiological agent was isolated only years later and became known as *Haemophilus influenzae* biotype *aegyptius*, which was previously known to cause conjunctival self-limiting infections. Since then, researches with virulent strains of BPF have been developed in an attempt to reveal the virulence factors and mechanisms of pathogenicity involved that favor the evolution to invasive disease. In Brazil, the outbreaks of BPF have occurred over a period of about nine years (1984-1993) in some states of the country, with high rates of morbidity and mortality. Cases in other countries like United States and Australia have been reported with very similar symptoms; however, the microorganism seems to present distinct characteristics of the Brazilian strains. Facing with the possibility of returning the BPF in 2007, after suspected cases in the State of Pará and the similarity of symptoms with endemic diseases in the country, this study aims to collaborate with the improvement of the Brazilian health surveillance actions in relation to the BFP, based on a bibliographical survey about the historical and epidemiological context of the disease in Brazil and worldwide, besides bringing updated data on the mechanisms of virulence of the microorganism, involved in the infection.

**Keywords:** Brazilian Purpuric Fever; *Haemophilus influenzae* biotype *aegyptius*; Virulence factors; Epidemiology; Historical context.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	8
2. OBJETIVOS .....	10
2.1 Objetivo Geral.....	10
2.2 Objetivos Específicos .....	10
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
4. REVISÃO DA LITERATURA.....	12
4.1 Histórico da doença.....	12
4.2 Síndrome febril aguda com manifestação hemorrágica: Febre Purpúrica Brasileira.....	15
4.2.1 Aspectos epidemiológicos.....	16
4.3 Cloropídeos como vetores mecânicos de <i>H. influenzae</i> biogrupo <i>aegyptius</i> .....	17
4.4 Agente etiológico: <i>Haemophilus influenzae</i> biogrupo <i>aegyptius</i> .....	18
4.4.1 Diferenças entre cepas de <i>H. aegyptius</i> de casos FPB e não- FPB e prováveis fatores de virulência.....	20
4.4.1.1 Cápsula polissacarídica e Lipopolissacarídeo .....	21
4.4.1.2 Proteínas extracelulares e proteínas de superfície .....	22
4.4.1.3 Genes de virulência.....	24
5. CONCLUSÃO.....	27
REFERÊNCIAS.....	29

## 1. INTRODUÇÃO

Em 1984 no município de Promissão, no estado de São Paulo, as autoridades em saúde pública foram surpreendidas por relatos de surtos de conjuntivite purulenta, cuja evolução para choque séptico culminou no óbito de todos os atingidos. A manifestação clínica incluía febre alta, vômito, dor abdominal e púrpura fulminante descritas exclusivamente em crianças entre três meses a 10 anos de idade. A doença de evolução rápida e fulminante, cuja letalidade foi estimada em 70%, aparentemente emergente, repercutiu no mundo todo e chamou a atenção de órgãos de saúde internacionais que colaboraram nas investigações dos casos. Seu relato inédito no Brasil e evolução clínica marcante ficaram registrados na sua denominação: Febre Purpúrica Brasileira (FPB) (BERKLEY & HARRISON, 1987; BRANDILEONE et al., 1989; FLEMING & BERKLEY, 1987).

O agente etiológico causador da doença, somente foi isolado em espécimes estéreis de casos ocorridos em 1986 na cidade de Serrana, a 290 km de Promissão, após frascos de hemocultura bifásicos especiais terem sido desenvolvidos pelo Instituto Adolfo Lutz (BERKLEY & HARRISON, 1987). Conhecido como *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius*, este agente nunca tinha sido relatado antes em casos de infecções invasivas, ele era conhecido somente por manifestações de conjuntivite purulenta. Os fatores de virulência desta cepa invasiva responsáveis pelo acometimento rápido e brutal de ordem sistêmica ainda permanece até hoje alvo de estudos, mesmo após três décadas de seu aparecimento (FLEMING & BERKLEY, 1987; PEREIRA, 2015).

Durante os nove anos em que esteve em circulação (1984-1993), a FPB atingiu crianças de várias cidades localizadas em estados brasileiros como São Paulo, Paraná, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (SILVA, 1996). Casos em outros países como Estados Unidos e Austrália foram relatados com sintomatologia muito similar, contudo o microrganismo isolado não parece compartilhar das mesmas características genotípicas que no Brasil, contribuindo para a singularidade do agente brasileiro (MCINTYRE et al., 1987; SMOOT et al., 2002; VIRATA et al., 1998).

Uma suspeita do retorno da FPB foi relatada em 2007 na Ilha de Marajó, no estado do Pará, após 14 anos de seu desaparecimento, o que trouxe à tona questionamentos sobre o comportamento de doenças que podem reemergir depois de tantos anos sem casos confirmados e o que as ações da vigilância em saúde têm

implantado afim de prevenir e acompanhar a reincidência destas doenças (SANTANA-PORTO et al., 2009).

Este trabalho, pautado no eixo III - Vigilância em Saúde do Plano Estadual de Saúde - PES /2016-2019, com base na diretriz 2 (fortalecer o sistema estadual de vigilância epidemiológica de doenças e agravos transmissíveis) e objetivo 2 (aprimorar ações de vigilância em saúde das doenças emergentes/reemergentes), visa recordar o contexto histórico e epidemiológico da FPB e trazer atualizações sobre características do seu agente causador, com base em revisão bibliográfica, a fim de alertar e reproduzir conhecimentos sobre esta doença pouco comum, que corre o risco de ser negligenciada devido à semelhança dos seus sintomas com outras doenças endêmicas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Relatar com base no levantamento bibliográfico o contexto histórico e epidemiológico da Febre Purpúrica Brasileira no Brasil e no mundo e abordar sobre os estudos posteriores relativos aos potenciais mecanismos de virulência do agente envolvido.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Efetuar o levantamento bibliográfico em bancos de dados sobre o contexto histórico da Febre Purpúrica Brasileira no Brasil e no mundo;
- Buscar com base na literatura, os potenciais mecanismos de virulência sobre o agente *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius*, envolvidos na FPB;
- Abordar sobre a atual situação no país em relação à manifestação da doença.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de uma revisão de literatura realizada por meio de busca de artigos científicos indexados no banco de dados PubMed, ScienceDirect e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS). As palavras-chave de busca utilizadas foram: “Febre Purpúrica Brasileira”, “*Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius*” e “Clone FBP” e os descritores empregados referem-se a “infecções por *Haemophilus*”, “*Haemophilus influenzae*”. Foram incluídos artigos periódicos e teses com assuntos referentes à epidemiologia da doença e fatores de virulência do agente epidemiológico. Os artigos escolhidos estavam em português e inglês.

Os critérios de inclusão e exclusão, assim como o período de seleção dos artigos não foram estabelecidos, devido ao número reduzido de documentos disponível nos bancos de dados referente ao tema.

## 4. REVISÃO DA LITERATURA

### 4.1 Histórico da doença

Entre 14 de outubro e 15 de dezembro de 1984 no município de Promissão no estado de São Paulo, 10 crianças, entre três meses a oito anos de idade apresentaram quadro de febre alta, vômito, dor abdominal e púrpura fulminante, a qual acometia principalmente a face e as extremidades, além da presença frequente de lesões necróticas e cianose. Todas evoluíram para óbito após 24 horas do aparecimento da púrpura. As culturas de líquido foram negativas para todos os casos e somente a cultura de uma lesão de pele colhida sem assepsia, apresentou crescimento da bactéria *Haemophilus aegyptius* (Hae). A faixa etária atingida e a característica fulminante da doença levantou suspeitas de doença meningocócica, meningite viral e arbovirose, contudo, os exames laboratoriais não confirmaram estas hipóteses. Apesar da sintomatologia ser similar à meningococemia, não havia relatos recentes de casos confirmados de doença meningocócica em Promissão, o que exigiu uma investigação mais detalhada dos casos. Foram realizadas entrevistas com os pais e médicos das crianças afetadas, e observou-se que tinham em comum a ocorrência de conjuntivite purulenta, em média 3 a 15 dias antes do aparecimento dos sintomas sistêmicos. Naquele momento, estava havendo um surto de conjuntivite na cidade (FLEMING & BERKLEY, 1987; HARRISON et al., 1989; IRINO et al., 1987).

Estudos retrospectivos revelaram que entre fevereiro e julho de 1984 em Londrina, no estado do Paraná, houve a incidência de 13 casos similares, com conjuntivite purulenta antecedente, em crianças entre 6 meses a 10 anos. Destes, sete morreram e os sobreviventes tinham em comum a necrose das extremidades dos membros. Apesar de não ter sido isolado nenhum microrganismo nos exames realizados, surtos por *Neisseria meningitidis* (Nm) estavam ocorrendo no local e os aspectos clinico-epidemiológicos direcionaram para o diagnóstico de doença meningocócica na forma de meningococemia. A doença emergente com alta letalidade em crianças, ainda não tinha seu agente etiológico revelado e ficou conhecida como Febre Purpúrica Brasileira (FPB). Para auxiliar na investigação epidemiológica, estabeleceu-se a definição de casos suspeitos como aqueles que apresentassem febre alta ( $> 38,5^{\circ}\text{C}$ ) em crianças menores de 10 anos, dor abdominal e vômito, sem evidências de meningite, desenvolvimento de petéquias ou púrpura em até 72 horas após os sintomas, exames sorológicos negativos e hemoculturas

negativas, obtidas antes da administração de antimicrobianos (FLEMING & BERKLEY, 1987; HARRISON et al., 1989; IRINO et al., 1987).

Frente à gravidade da situação, em janeiro de 1985, órgãos como o Center for Disease Control (CDC) foram convidados a participar das investigações dos surtos e alguns médicos foram encaminhados como representantes para auxiliar nas pesquisas (SILVA, 1996).

O agente etiológico da doença, o *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius*, somente foi isolado de espécimes estéreis e de secreção de conjuntiva em um surto de FPB ocorrido entre março a junho de 1986 em Serrana - SP, a partir da coleta de sangue em frascos de hemocultura bifásicos especiais, desenvolvidos pelo Instituto Adolfo Lutz, que consistiam em ágar chocolate inclinado, cuja base era Mueller-Hinton, com caldo de infusão cérebro-coração suplementado com 1-2% de gelatina e 0-05% de polianborol sulfonato de sódio como anticoagulante (BERKLEY & HARRISON, 1987). Casos esporádicos foram notificados ao Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) em outras cidades do Estado de São Paulo, como Bauru, Marília, Ribeirão Preto, Presidente Prudente, São José do Rio Preto, Campinas, Serra Azul, Nova Granada e Votuporanga (IRINO et al., 1987).

O primeiro caso suspeito de FPB no Mato Grosso foi notificado em agosto de 1989, no município de Boa Ventura, envolvendo uma criança cujo quadro clínico era compatível e evoluiu para óbito. Até abril de 1990, foram notificados 26 casos suspeitos no estado, distribuídos em Boa Ventura, Alto Taquari, Cuiabá, Lucas do Rio Verde, Nortelândia e Várzea Grande. Destes, 10 casos foram confirmados, sendo três casos definitivos, a partir de hemocultura positiva para Hae e caso clínico típico e sete casos possíveis a partir da sintomatologia. De 10 casos confirmados, seis morreram e um foi submetido à amputação das extremidades dos dedos das mãos e pés após choque séptico. Os outros 16 casos não puderam ser definidos devido à falta de testes para exclusão de meningococemia. Contudo, dois destes casos tiveram a cultura de secreção de conjuntiva positiva para Hae, o que sugere forte suspeita de FPB (PERKINS e BROOME, 1992; PREVENTION, 1990).

Em 1991 no município de Maracajú no Mato Grosso do Sul, o CVE recebe a primeira notificação de caso suspeito de FPB no estado, posteriormente outros municípios como Campo Grande e Naviraí também tiveram casos reportados (SILVA, 1996).

Entre 1984 e 1993, a FPB foi notificada em cinco estados: São Paulo (210 casos), Paraná (13 casos), Mato Grosso (32 casos) e Mato Grosso do Sul (21 casos), equivalente a um total de 276 casos confirmados, com prevalência em crianças menores de cinco anos de idade. Destes, aproximadamente 106 morreram e 65 tiveram o agente isolado de material biológico como sangue, líquido (hemorrágico), secreção de conjuntiva ou orofaringe e lesões de pele (SILVA, 1996).

Além do Brasil, houve o relato de dois casos de FPB na Austrália em 1986, envolvendo uma criança de três anos de idade, com histórico de conjuntivite purulenta antecedente aos sintomas sistêmicos similares a meningococemia, amputação de extremidades necrosadas e cultura de sangue positiva para Hae (MCINTYRE et al., 1987). O outro caso, segundo Wild et al. (1989 apud HARRISON; SIMONSEN; WALDMAN, 2008), incluía sintomas semelhantes à FPB e a cultura de secreção de conjuntiva foi positiva para *Haemophilus sp.*, porém não foi identificado a nível de espécie (WILD et al., 1989). Em 1998 nos Estados Unidos, houve o relato de um caso fatal de FPB em uma criança de um ano de idade, confirmado a partir da presença de Hae na hemocultura, associado a uma infecção pelo vírus Epstein-Barr (VIRATA et al., 1998).

Em 2007, a Secretaria de Vigilância em Saúde emitiu uma nota técnica esclarecendo a hipótese da ocorrência de FPB no município de Anajás, localizado na Ilha de Marajó no estado do Pará. O evento aconteceu entre 01 de agosto a 31 de agosto de 2007 e envolveu sete crianças de 2-8 anos, cujos sintomas incluíam febre alta, vômito, púrpura e conjuntivite purulenta recente, sendo que cinco morreram após 24 horas do início da febre e sem antibioticoterapia. Com exceção de um caso, todos tiveram contato entre si. As duas crianças sobreviventes foram submetidas à coleta de líquido, sangue e secreção de conjuntiva. Devido ao local afastado, as amostras para cultura foram semeadas em ágar sangue enriquecido com soro de coelho, ao invés de ágar chocolate enriquecido com soro de cavalo como recomendado. Os espécimes foram transportados de barco por vários dias em temperatura ambiente, com destino ao Laboratório de Saúde do Estado do Pará e ao Instituto Evandro Chagas para testes microbiológicos e virais. As amostras de soro e líquido cefalorraquidiano foram testadas por PCR no Instituto Adolfo Lutz. A cultura dos materiais não apresentou crescimento bacteriano, a sorologia foi negativa para todos os testes realizados, assim como o teste de PCR convencional. Foram investigados 1598 alunos do ensino fundamental, dos quais 7% relataram ter tido conjuntivite entre

julho a setembro de 2017 e ter tratado com medicamentos caseiros. Após o último caso de FPB, outras 17 pessoas apresentaram conjuntivite purulenta e foram tratadas com solução tópica de amoxicilina e cloranfenicol e 76 comunicantes com rifampicina oral (SANTANA-PORTO et al., 2009).

#### **4.2 Síndrome febril aguda com manifestação hemorrágica: Febre Purpúrica Brasileira**

A repercussão da Febre Purpúrica Brasileira introduziu a doença na Lista Nacional de Notificação Compulsória (HARRISON et al., 1989). O seu quadro clínico similar a outras patologias compõe a chamada Síndrome Febril Aguda com manifestação hemorrágica que inclui doenças como a Hantavirose, Dengue, Febre maculosa, Doença meningocócica, Leishmaniose visceral e Chagas agudo. A FPB atinge crianças entre três meses a 10 anos de idade e os sintomas típicos consistem em: febre alta (acima de 38,5°C), taquicardia, erupção cutânea macular difusa, tipo petéquias, púrpuras e outras sufusões hemorrágicas e hipotensão, manifestações digestivas como náuseas, vômitos, dor abdominal, enterorragias e diarreia, oligúria e anúria, agitação, sonolência, cefaleia e convulsão, choque séptico e coagulação intravascular disseminada (CIVD). Para o diagnóstico laboratorial deve ser coletado material suficiente para a cultura de sangue, líquor, secreção da conjuntiva e raspado de lesão de pele para o isolamento do agente infeccioso *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius*. As alterações nos exames laboratoriais geralmente incluem plaquetopenia, leucopenia com linfocitose ou leucocitose com linfopenia, azotemia e disfunção de órgãos múltiplos no caso de evolução para CIVD. O tratamento consiste no uso de ampicilina ou cloranfenicol intravenoso ou amoxicilina por via oral e necessita de internação (CIEVS MINAS, 2014). A administração intravenosa de ampicilina e cloranfenicol antes do desenvolvimento de petéquias ou púrpura mostrou uma tendência à melhor sobrevivência dos pacientes quando comparado àqueles que receberam terapia somente após as manifestações sistêmicas (BERKLEY & HARRISON, 1987; FLEMING & BERKLEY, 1987).

Os sintomas sistêmicos são precedidos por conjuntivite purulenta, entre três a 15 dias (BERKLEY & HARRISON, 1987; BRANDILEONE et al., 1989; FLEMING & BERKLEY, 1987). Segundo as orientações do CVE (Centro de Vigilância

Epidemiológica), os casos de conjuntivite somente são notificados frente à manifestação de surtos e o tratamento para conjuntivite bacteriana consiste na administração de antimicrobianos tópicos por sete dias como quinolonas, tobramicina 0,3%, cloranfenicol ou gentamicina 0,3%. Estudos já relataram que medicamentos de uso tópico para o tratamento da conjuntivite purulenta por Hae não previnem a evolução para infecção sistêmica, sendo que a administração por via oral apresenta efeitos mais satisfatórios contra a evolução da FPB (BERKLEY & HARRISON, 1987; FLEMING & BERKLEY, 1987; PERKINS et al., 1992).

#### **4.2.1 Aspectos epidemiológicos**

Entre 1984 e 1991, os surtos de FPB emergiram no estado do Paraná (cidade de Londrina) e alcançaram outros estados como São Paulo (Promissão e Serrana), Mato Grosso (Cuiabá, Alto Taquari, Várzea Grande, Boa Ventura, Nortelândia e Lucas do Rio Verde) e Mato Grosso do Sul (Campo Grande, Maracaju e Nivarai), atingindo crianças entre três meses a 10 anos de idade. Casos esporádicos ocorreram em outras cidades como Fartura, Valparaíso, Guariba, Bauru, Marília, Ribeirão Preto, Presidente Prudente, São José do Rio Preto, Campinas, Serra Azul, Nova Granada e Votuporanga. Foram confirmados 38 casos de FPB até o final de 1985, representando letalidade de 71% (HARRISON; SIMONSEN; WALDMAN, 2008; IRINO et al., 1987).

Em relação à população pediátrica ter sido a única acometida, especula-se a possibilidade do sistema imunológico ainda imaturo apresentar maior vulnerabilidade frente aos antígenos exclusivos de Hae e a ocorrência de surtos concomitantes de conjuntivite pode ter conferido imunidade ao restante da população (HARRISON; SIMONSEN; WALDMAN, 2008).

Segundo Silva (1996), foram notificados aproximadamente 276 casos de FPB entre 1984 e 1993, dos quais 106 evoluíram para óbito. Devido à similaridade dos sintomas de FPB com a manifestação mais severa da Doença Meningocócica (meningococcemia) e à sua alta frequência em algumas das regiões afetadas, acredita-se que o número de casos relatados de FBP esteja subestimado, pois em casos fulminantes não há tempo hábil suficiente para a coleta de todos os exames necessários e para a investigação etiológica detalhada, o que pode ter levado a uma confirmação precipitada dos casos de FBP como casos de meningococcemia (DONALISIO et al., 2004).

Depois do surto relatado em Anajás em 2007 não houve nenhum outro relato de caso de FPB no Brasil, porém cogita-se a hipótese da doença ser ainda erroneamente diagnosticada como meningococemia com base nos aspectos clínico/epidemiológicos, assim como aconteceu em Londrina em 1984 (FLEMING & BERKLEY, 1987; HARRISON; SIMONSEN; WALDMAN, 2008). Um estudo retrospectivo dos critérios de confirmação de DM entre 1993 a 2002, mostrou que o critério clínico/epidemiológico é o mais utilizado para o diagnóstico de meningococemia sem meningite, com base na presença de petéquias e casos co-primários e secundários, sendo que as manifestações hemorrágicas também são típicas de FPB (DONALISIO et al., 2004).

Pereira (2015) mostrou que o diagnóstico molecular de *N. meningitidis* na época pode ter apresentado interferência de Hae-FPB. Análises no genoma do Hae, revelaram a presença do gene *crgA*, a mesma estrutura encontrada em Nm e utilizada na época e por muitos anos como alvo de detecção deste microrganismo em testes laboratoriais, o que traz à tona a possibilidade de casos de FPB terem sido negligenciados e ainda diagnosticados como meningococemia. É pouco provável que os casos de FPB ainda ocorram nas regiões em que foram notificadas há anos atrás, pois acredita-se que o nível de atenção e o conhecimento nestes locais direcionem mais prontamente à suspeita da doença, frente à relação de ocorrência de surtos de conjuntivite e septicemia (HARRISON; SIMONSEN; WALDMAN, 2008). Deve-se ter atenção aos casos suspeitos em novas regiões, como o ocorrido em Anajás, visto que as autoridades de saúde adotaram como hipótese diagnóstica somente as doenças endêmicas do local, sem o uso de meio de cultura apropriado para *Haemophilus sp.* Cabe ressaltar também, a importância em orientar a população pela procura de atendimento especializado no caso de conjuntivite, tendo em vista que todos os casos suspeitos de FPB apresentaram conjuntivite antecedente que incluíam remédios caseiros como tratamento (SANTANA-PORTO et al., 2009).

#### **4.3 Cloropídeos como vetores mecânicos de *H. influenzae* biogrupo *aegyptius***

Em 1933, Bengtson ao abordar sobre o aumento da incidência de casos de conjuntivite aguda em crianças no verão, relacionou o fato com o crescimento da população de moscas da família *Chloropidae*, como a espécie *Liohippelates pusio*

(anteriormente chamada de *Hippelates pusio*), em meses mais quentes, e a caracterizaram como um importante vetor mecânico de *H. aegyptius*. Estas moscas são conhecidas no meio popular como “lambe-olhos” e devido a seus hábitos alimentares e conseqüente tropismo por regiões como os olhos, boca e nariz, propiciam o desenvolvimento de infecções oculares (BENGTSON, 1933). A hipótese foi confirmada por William J. Payne e colaboradores, ao manipular a cadeia de transmissão em moscas do tipo *Liohippelates pusio* e causar conjuntivite aguda por Hae em coelhos (PAYNE et al., 1977).

Durante os surtos de FPB no Mato Grosso, observou-se o aumento da presença de moscas ao redor dos olhos de crianças com conjuntivite, as quais revelaram ser das espécies *Liohippelates peruanus* e *Hippelates neoproboscideus*. Destas espécies, foram isoladas cepas invasivas de Hae, o que propõe a forte relação dos cloropídeos na transmissão da FPB (TONDELLA et al., 1994).

Uma pesquisa na Ilha do Marajó, no estado do Pará, relatou a relação do aumento da densidade de moscas pertencentes principalmente à família *Chloropidae*, inclusive insetos dos gêneros *Liohippelates* e *Hippelates*, como vetores mecânicos de *Chlamydia trachomatis* e o desenvolvimento de tracoma em crianças. Tendo em vista a possibilidade de transmissão de Hae pelos cloropídeos, o aumento da população de moscas pode influenciar no aparecimento de casos suspeitos de FPB como ocorreu em 2007 em Anajás, na Ilha do Marajó (REILLY et al., 2007; SANTANA-PORTO et al., 2009).

#### **4.4 Agente etiológico: *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius***

O gênero *Haemophilus* pertence à família *Pasteurellaceae*, composta por 24 espécies. Apresentam-se em forma de cocobacilos ou bacilos curtos Gram-negativos, anaeróbios facultativos e imóveis. A denominação *Haemophilus* provem do grego e significa “quem ama sangue”, nome que se refere à sua principal característica de crescer na presença de fator X (hemina e hematina) e/ou fator V (nicotinamida adenina dinucleotídeo) presentes em eritrócitos. O meio mais utilizado para seu cultivo é o ágar chocolate com 5% de sangue de carneiro ou cavalo, cujo preparo permite a lise dos eritrócitos e liberação dos fatores no meio. Está presente na microbiota comensal de animais e seres humanos, principalmente no trato respiratório superior, onde destaca-

se a espécie *H. influenzae* (Hi), a qual pode ser encapsulada ou não encapsulada (não tipável - NTHi). O tipo encapsulado possui 6 sorotipos capsulares (a,b,c,d,e,f), em que o tipo b (Hib) é admitido como o mais virulento devido à presença do polissacarídeo capsular - PRP (poliribosil-ribitol-fosfato). Reconhecido como o principal agente de meningite em crianças menores de um ano de idade, a vacina contra Hib foi incluída no Programa Nacional de Imunizações em 1999 e contribuiu significativamente para a diminuição da notificação de casos. Atualmente, nota -se o aumento de infecções invasivas por NTHi e a urgência para a introdução de vacinas (COELHO, 2015; WINN et al., 2008).

O agente causador da FPB foi primeiramente descrito por Robert Koch em 1883, durante a Comissão Alemã de Cólera no Egito. O pesquisador intrigado com a infecção ocular comum na população, realizou esfregaços de secreção de conjuntiva de pacientes egípcios afetados e relatou a presença de bacilos curtos. Anos depois, em 1886, o pesquisador John E. Weeks notou microrganismos com morfologia similar em esfregaços de secreções de conjuntiva de pacientes com conjuntivite aguda e teve sucesso em isolá-los, descrevendo-os como contagiosos ao infectar voluntários saudáveis com secreções contaminadas. Weeks relatou surtos de conjuntivite aguda típica nos Estados Unidos, principalmente em crianças. Após várias denominações consideradas sinônimos (Bacilo de *Koch-Weeks*, *Bacillus aegyptius*, *Haemophilus conjunctivitis*), foi denominado oficialmente em 1980 como *Haemophilus aegyptius* (*Hae*) na publicação do livro "Approved lists of bacterial names" (HARRISON; SIMONSEN; WALDMAN, 2008; SKERMAN et al., 1989; WEEKS, 1996).

A bactéria *H. aegyptius* é não encapsulada e possui mais de 70% de sequências homólogas de DNA quando comparada ao Hi, por esta razão são consideradas da mesma espécie. Em relação aos testes bioquímicos, Hae requer fator X e fator V para o crescimento, não produz hemólise e é negativo para a produção de indol, ornitina descarboxilase e fermentação de D – Xilose, teste este que o diferencia de *H. influenzae* biotipo III (CASIN; GRIMONT; GRIMONT, 1986; SWAMINATHAN et al., 1989). Antes do isolamento de *H.aegyptius* no surto de Serrana em 1986, Hae era comumente relacionado com infecções conjuntivais, enquanto que sua patogenicidade para infecções invasivas era desconhecida e relatada somente em um caso de endocardite em Israel (BERKLEY & HARRISON, 1987; PORATH et al., 1986). Após o episódio da FPB, o clone virulento de *H. aegyptius* capaz de causar púrpura fulminante, adquiriu a denominação *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius*,

mantendo no nome sua similaridade com a espécie *H. influenzae* e suas características particulares como a manifestação clínica (WINN et al., 2008).

#### **4.4.1 Diferenças entre cepas de *H. aegyptius* de casos FPB e não- FPB e prováveis fatores de virulência**

Os isolados provenientes de surtos foram submetidos a diversos estudos para o levantamento da caracterização bioquímica, genética e epidemiológica das cepas em circulação. A capacidade de cepas de *Hae* isoladas de casos confirmados de FPB causarem infecção sistêmica foi confirmada ao inocular as mesmas em ratos jovens, os quais desenvolveram septicemia após 24 horas da aplicação em mais de 50% da população em estudo, enquanto que as cepas não-FPB, ao serem inoculadas não causaram a mesma manifestação e não foram recuperadas. Estes achados apontam para o fato das linhagens *Hae*-FPB serem mais virulentas e possuírem fenótipos exclusivos que possibilitem sua sobrevivência *in vivo* (PEREIRA, 2015; RUBIN; GLOSTER; CARLONE, 1989).

Estudos com cepas de *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius* provenientes de casos definitivos de FPB no estado de São Paulo entre 1984 e 1986, revelaram que o agente responsável pelos surtos possuía características distintas de outras cepas da mesma espécie isoladas de casos de conjuntivite purulenta sem a manifestação de FPB, como a presença de um plasmídeo de 24 - MDa, com perfil de restrição igual denominado 3031 (devido ao fato de ter sido encontrada primeiro na linhagem F3031), padrão de proteína SDS-PAGE 3031, padrão de mobilidade de enzima ET 2, padrão de restrição de rDNA tipo 3 e 4, reação positiva pela técnica de ELISA com anticorpo monoclonal preparado com uma cepa de um caso definitivo e resistência relativa a sulfametoxazol+trimetoprima (SXT) (BRENNER et al., 1988). Estes dados apontam para a hipótese de que as cepas de *Hae* responsáveis pelos surtos de FPB no Brasil, pertencem a um mesmo clone. Um estudo do Instituto Adolfo Lutz de 1989 apoia essa teoria, ao constatar, a partir da soro aglutinação em lâmina, que os componentes antigênicos das cepas causadoras dos surtos no estado de SP são específicos e estão epidemiologicamente relacionados, além de apresentarem padrão antigênico diferente dos casos de FPB da Austrália (BRANDILEONE et al., 1989).

A possibilidade dos genes de virulência estarem no plasmídeo 24 MDa, foi descartada ao confirmar sua ausência em três cepas isoladas de sítios estéreis em

casos de FPB, e pesquisas no sequenciamento do plasmídeo não identificaram genes que contribuíssem para a virulência, exceto a presença do gene *bp1008* que apresenta grande similaridade com a proteína AA09 produzida por *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, patógeno associado a periodontites, porém sua função no Hae é desconhecida (KROLL et al., 2002; TONDELLA; QUINN; PERKINS, 1995).

#### 4.4.1.1 Cápsula polissacarídica e Lipopolissacarídeo

Dada a importância da cápsula polissacarídica como fator de virulência de Hi em infecções invasivas, testes com anticorpos anti-cápsula de Hib foram realizados com clones de BPF e não obtiveram nenhuma reação (BRENNER et al., 1988). O gene cromossômico responsável pela expressão da cápsula em Hi é denominado *cap* e é flanqueado pela sequência de inserção IS1016 (KROLL; LOYNDS; MOXON, 1991). Em uma pesquisa, o elemento IS1016 foi encontrado em estirpes de casos de FPB sem indícios de haver o gene *cap* (DOBSON; KROLL; MOXON, 1992; STROUTS et al., 2012), o que sugere a possibilidade do microrganismo ter sido provido de cápsula no passado ou ter adquirido a sequência de inserção de patógenos encapsulados e desenvolvido alterações que desencadearam a possibilidade de causar infecções graves (KARLSSON; MELHUS, 2006). Análises recentes descrevem o isolamento de NTHi IS1016 positivas em infecção invasiva e sua semelhança com a forma Hib em causar infecções em crianças (SATOLA; NAPIER; FARLEY, 2008).

O lipopolissacarídeo (LPS) é outro fator de virulência que contribui efetivamente no desencadeamento de sepse devido à presença do lipídio A, um glicopeptídeo imunorreativo (BEUTLER, 2002). Comparações do LPS foram realizadas no intuito de averiguar se o LPS de cepas FPB eram mais ativas que não-FPB, porém os resultados mostraram que eram similares em tamanho, composição e sem evidências de maior toxicidade (ERWIN; MUNFORD, 1989). Em contrapartida, Rubin e Geme em 1993 observaram diferenças fenotípicas no LPS de cepas FPB após infecção em ratos jovens, fato este que se confirmou em estudos posteriores (PEREIRA, 2015), sugerindo que *in vivo* o LPS possa sofrer modificações que favoreçam a sobrevivência do microrganismo e aumente sua virulência, assim como o afirmado para *Mycobacterium tuberculosis* (KHULLER et al., 1982).

#### 4.4.1.2 Proteínas extracelulares e proteínas de superfície

As estirpes de FPB também apresentam a proteína 145 kDa (P145) na membrana externa, a qual é forte candidata à virulência da bactéria, visto que ratos apresentaram a presença de anticorpos anti-P145, cuja atuação *in vitro* pareceu prevenir contra a bacteremia, o que aponta P145 como um imunógeno (RUBIN, 1995).

A espécie *H. influenzae*, produz proteases que clivam a principal barreira de defesa presente nas mucosas, o anticorpo IgA1. Estas proteases podem ser do IgA1 tipo 1 que cliva uma ligação prolil-seril na posição 231 a 232 e IgA1 tipo 2 que cliva uma ligação prolil-treonilo entre os resíduos 235 e 236 (KILIAN et al., 1983). As cepas isoladas de FPB no Brasil, apresentam produção exclusiva de protease IgA1 do tipo 2 codificada pelo gene *iga*, quando comparadas ao clone não-FPB e o clone FPB da Austrália que produz IgA1 tipo 1, entretanto ainda não há confirmação da sua real contribuição na patogenicidade do clone invasivo (CARLONE et al., 1989; KILIAN; POULSEN; LOMHOLT, 2002; LOMHOLT; KILIAN, 1995).

Um importante nutriente que possibilita a sobrevivência da célula bacteriana dentro do hospedeiro é a aquisição de ferro, considerado também um fator de virulência devido à consequente destruição vascular (CROSA, 1989). Este mecanismo pode ser mediado pela síntese de quelantes de ferro para o meio externo, chamados sideróforos, que possibilita que o metal seja internalizado para o citosol ou por mecanismos distintos como a presença de proteínas de superfície, que se ligam à transferrina e transportam o ferro para dentro da célula (CROSA, 1989; OTTO; VERWEIJ-VAN VUGHT; MACLAREN, 1992). *Haemophilus* por exemplo, usa este mecanismo de captação de ferro independente de sideróforos e a própria concentração de ferro no meio estimula a expressão de genes que ativam ou não esta função. Estudos *in vitro* com as cepas de FPB mostraram que a captação de ferro parece envolver mecanismos diferentes da ligação à transferrina, apesar da existência de genes e proteínas homologas àqueles descritos para *Hi* e *Neisseria sp.* (SMOOT et al., 1998, 1999).

A proteína Hap (*Haemophilus* adhesion and penetration) é codificada pelo gene *hap* e representa um fator de virulência relevante na adesão e penetração de células epiteliais em *Hi* (HENDRIXSON; ST GEME, 1998). Tanto as cepas FPB e não FPB, demonstraram ter a presença de *hap* pseudogene, cópias de genes

degeneradas, que leva à perda funcional da proteína. A falta da expressão da mesma pode ser um dos fatores que levou a adaptação à conjuntiva como um novo nicho (KILIAN; POULSEN; LOMHOLT, 2002; STROUTS et al., 2012).

As cepas de FPB possuem fimbrias curtas e finas e pili longo similar aos de Hi, cuja semelhança no sequenciamento sugere que se ligam na mesma estrutura na célula hospedeira. Algumas estirpes não possuem pili, mas apresentam aderência *in vitro* em células conjuntivais e hemaglutinação, o que demonstra que a patogenicidade de Hae é independente do pili (ST GEME; FALKOW; FALKOW, 1993; ST GEME; GILSDORF; FALKOW, 1991).

A aglutinação dos eritrócitos humanos já foi relatada em alguns estudos (BRENNER et al., 1988; ST GEME; GILSDORF; FALKOW, 1991) e, a fim de observar este fenômeno, uma pesquisa notou que estirpes de FPB produzem produtos extracelulares que são absorvidos pelos eritrócitos, dentre eles foi isolada uma molécula de 60 kDa. Ao ser inoculada em coelhos, estes apresentaram sintomatologia idêntica às observadas em pacientes com FPB, o que indica forte relação desta hemaglutinina com as manifestações hemorrágicas da doença (BARBOSA et al., 2003).

As adesinas são complexos de superfície da célula bacteriana que reconhecem componentes moleculares do hospedeiro e permitem sua colonização (HULTGREN et al., 1993). Uma nova família de adesinas foi recentemente descrita e ganhou rapidamente a atenção, a Oca (Oligomeric coiled-coil adhesions) a qual faz parte da família de Adesinas Autotransportadoras Trimétricas monoméricas (TAA), capaz de modular a especificidade ao hospedeiro (BAROCCHI; MASIGNANI; RAPPUOLI, 2005; LINKE et al., 2006). As adesinas YadA e NadA já foram descritas em espécies de *Yersinia* e em *N.meningitidis* respectivamente, como fatores indispensáveis para o desenvolvimento da infecção (COMANDUCCI et al., 2002; TAMM et al., 1993). Uma busca por homólogos de Oca revelou a presença de HadA (Haemophilus adhesin A) exclusivamente em linhagens de cepas FPB. Esta adesina apresentou perfil de adesão e invasão quando expressa em cepas de *Escherichia coli* não invasiva, pois induziu à aderência maciça em células epiteliais conjuntivas de Chang (human conjunctival cells) e promoveu a invasão de células não fagocíticas (SERRUTO et al., 2009). A proteína HadA fornece uma nova interação entre bactéria e hospedeiro e um fator de virulência contribuinte no desenvolvimento de FPB,

principalmente devido à presença exclusiva em linhagens de Hae-FPB (PEREIRA, 2015; SERRUTO et al., 2009; STROUTS et al., 2012).

#### 4.4.1.3 Genes de virulência

Comparações genéticas também mostram que Hae possui extensa diversidade genotípica dentro da espécie, fato este que pode contribuir para a manifestação de clones patogênicos e não patogênicos (MUSSER; SELANDER, 1990). Os estudos para identificação e caracterização genotípica dos fatores de virulência para Hae são escassos, a primeira pesquisa direcionada a este campo, abordou técnicas de biologia molecular como a hibridização subtrativa por PCR (Reação em Cadeia de Polimerase), a qual revelou que o clone FPB isolado no Brasil, possui 13 fragmentos de DNA que não estão presentes em estirpes não-FPB e FPB australiano. Estes fragmentos nunca antes foram descritos em espécies de *H. influenzae* e apresentam função desconhecida (SMOOT et al., 2002). Sugere-se que estes genes foram adquiridos por outros microrganismos, devido à semelhança com regiões em *Salmonella enterica* sorovar Typhi e *Photorhabdus luminescens*, assim como a produção de bacteriocina similar à produzida por *Pseudomonas aeruginosa*. Estes achados propõem a transferência horizontal de genes para Hae que conferiram a ele a capacidade de invasão pela infecção primária na conjuntiva (MCGILLIVARY et al., 2005).

A mesma técnica de hibridização subtrativa, revelou em outras pesquisas a presença de dois genes somente em cepas FPB com ou sem plasmídeo 24 MDa, denominados *bpf001* e *bpf002*. O gene *bpf001* codifica um polipeptídeo de 195 aminoácidos e a busca em bancos de dados correlacionou este produto com a proteína NMB0419 produzida por *Neisseria meningitidis* (Nm) sorogrupo B, devido à alta semelhança no peso molecular e sequenciamento. Estudos funcionais com o gene *bpf001* não responderam bem às manipulações, sendo usada a proteína NMB0419 em substituição, a qual mostrou-se estar diretamente relacionada com a invasão das células epiteliais respiratórias, propondo a hipótese da transferência horizontal de genes entre Nm e Hae (LI et al., 2003).

A transferência horizontal de genes ou transferência lateral é um importante mecanismo para aquisição de propriedades patogênicas e alvo de uma gama de pesquisas. Considera-se incluso neste processo, a conjugação (contato direto entre

as células bacterianas pelo pili sexual e transferência de material genético extra cromossômico, em forma circular, denominado plasmídeo), a transdução (a transferência de genes é mediada por um vírus bacteriano, o bacteriófago que incorpora seu material à célula hospedeira e pode recombinar genes e infectar outras células) e a transformação (mecanismo que incorpora fragmentos de DNA extracelular ao genoma da célula) (MORENO; GONZÁLEZ; BELTRÁN, 2009). A competência natural da célula bacteriana em absorver fragmentos de DNA extracelular, consiste em reciclar os nucleotídeos presentes e reutilizá-los ou, se houver homologia com o seu genoma, pode haver a recombinação do genótipo e aquisição de uma característica nova naquela célula (MAUGHAN; REDFIELD, 2009). Espécies da família *Pasteurellaceae*, como o *H. influenzae*, foram descritas como eficientes em absorver DNA extracelular, propriedade esta que possibilita a evolução da espécie (REDFIELD et al., 2006). Um grupo de investigadores detectou um *regulon* de competência designado CRP-S (*Sxy-dependent cyclic AMP receptor protein*) em Hi, composto por 26 genes, dos quais 17 genes foram indispensáveis para o processo de transformação (SINHA; MELL; REDFIELD, 2012). Embora análises *in silico* (simulação computacional), tenham demonstrado que Hae pode codificar todos os genes e locais de regulação necessários para a competência e transformação de Hi (STROUTS et al., 2012), somente um estudo relata a transformação bem sucedida em Hae-FPB, ao construir uma cepa deficiente da proteína de superfície - P1 de 48 kDa, conservada nestas estirpes (SEGADA; LESSE, 1997). Esta metodologia não surtiu efeito em reproduções posteriores e tem dificultado os avanços nas pesquisas associadas aos genes de virulência de Hae-FPB (LI et al., 2003; SERRUTO et al., 2009). Pereira (2015) aponta a dificuldade de manipulação genética de Hae como consequência da ausência de três genes que compõem o *regulon* CRP-S, principalmente o gene *HI0659*, cuja deleção em Hi eliminou a capacidade de transformação (SINHA; MELL; REDFIELD, 2012).

Devido à manifestação clínica muito semelhante entre a FPB e a meningococcemia, cogita-se a hipótese de ter ocorrido a transferência horizontal de genes de virulência entre Nm e Hae, conferindo a este capacidade invasiva, sendo que o processo inverso na direção Hi e Nm já foi descrito como transferência natural de genes entre patógenos comensais do trato respiratório (KROLL et al., 1998). Davis e colaboradores (2001), identificaram pela primeira vez a transferência lateral de genes associados à virulência na direção Hi e Nm, designados *lav*, responsáveis por

codificar auto transportadores (AT). Comparações de homologia da sequência de bases sugerem um novo AT em Hae-FPB e Hae – não FPB, codificado pelo gene *las*, proveniente possivelmente de mutações do gene *lav* (DAVIS et al., 2001; PEREIRA, 2015). A transferência horizontal do gene *las* foi manipulada entre cepas de Nm e NTHi, revelando um aumento de TNF $\alpha$  e IL-10 em um sistema celular endotelial *in vitro*. Estas citocinas estão relacionadas com o desenvolvimento de sepse nos casos de infecção por meningococo (BJERRE et al., 2004), o que reforça a hipótese do gene *las* estar intimamente relacionado à capacidade invasiva de *H. influenzae* biogrupo *aegyptius* associado a outros fatores ainda não descobertos (CURY et al., 2014).

O sequenciamento cromossômico de estirpes de Hae -FPB, possui 1.985.832 pb, codifica 1.892 genes e partilha 88% do genoma de estirpes não FPB, relação muito mais próxima do que com outras cepas de Hi. Foram identificadas 163 sequências codificadoras, das quais supõe-se que 22% sejam fatores de virulência como adesinas e invasinas, nunca descritas antes em Hi, exceto HadA (SERRUTO et al., 2009), e um repertório muito mais rico de Adesinas Autotransportadoras Trimétricas monoméricas (TAA) (STROUTS et al., 2012). O genoma específico de Hae possui uma família de genes de 10 membros que codifica proteínas do tipo TAA. Aproximadamente oito genes são homólogos de cepas FPB (genes *tab*) e não FPB (genes *tah*), cujas funções e implicações na virulência ainda são desconhecidas, enquanto que um gene (*tabA10*) está presente somente em Hae e corresponde à proteína HadA, corroborando com os achados de Serruto et al. (2009) (STROUTS et al., 2012).

Apesar dos achados relatados até então, é possível que a virulência de Hae-FPB tenha a contribuição de múltiplos fatores e análises como o de transcriptoma que consistem no conjunto completo de transcritos como o RNA mensageiro, RNA ribossômico, RNA transportador e microRNA, que seriam interessantes para a revelação destes fatores (PEREIRA, 2015).

## 5. CONCLUSÃO

A partir do contexto histórico, sabe-se hoje que a Febre Purpúrica Brasileira atingiu somente regiões agrícolas e curiosamente não afetou os grandes centros urbanos localizados a poucas milhas de distância dos locais afetados. Sabe-se também que cloropídeos do gênero *Liohippelates* e *Hippelates* parecem ser importantes vetores mecânicos de Hae, apesar de haver poucos estudos sobre a população destas moscas nas regiões acometidas pela doença.

Há ainda muitas indagações sem resposta referentes ao agente etiológico da FPB, a única confirmação certa é que *Haemophilus influenzae* biogrupo *aegyptius* é um exemplo da capacidade de evolução dentre os patógenos humanos. Os avanços tecnológicos na área de Biologia Molecular permitiram o progresso das pesquisas e cada vez mais aproxima-se de respostas. Devido à natureza fastidiosa de Hae e à dificuldade de sua manipulação genética, são escassos os estudos encontrados na literatura relativos a esse tema, principalmente sobre a resposta inflamatória *in vitro* e *in vivo*. Justamente pelo fato da etiologia da doença ser um enigma, ela ainda representa risco de reemergir e sua evolução de caráter fulminante é de rápida progressão e letal.

Enfrentar as doenças emergentes e reemergentes sempre foi um desafio. Frente às constantes mudanças das equipes que compõem a vigilância epidemiológica, muitas vezes sem a capacitação apropriada, e do fenômeno da globalização que fornece uma sociedade cada vez mais complexa, torna-se necessário que as organizações de serviços de saúde atuem de forma ágil sob enfoque preventivo e de promoção à saúde, atualizem conhecimentos e invistam em tecnologias e desenvolvimento de metodologias mais modernas, para que não haja surpresas com surtos de doenças emergentes e reemergentes, assim como o diálogo contínuo entre os órgãos de vigilância em saúde e demais redes de serviços de saúde público e privado é indispensável para promover o controle de doenças, contando com o apoio de institutos de pesquisas, universidades e órgãos internacionais (LUNA, 2002; PEDROSO; ROCHA, 2009).

A suspeita do retorno de FPB após 14 anos deixa iminente que é necessária a atualização e a vigilância constante por parte das autoridades de saúde, assim como a orientação para a população é indispensável para o acompanhamento de casos suspeitos. Deve-se reforçar os sinais e sintomas característicos da doença, a

importância da notificação e coleta correta dos exames específicos, para que assim seja possível diagnosticar e administrar o tratamento adequado para os casos suspeitos e comunicantes, contribuindo de forma efetiva para um monitoramento eficaz que minimize o subdiagnóstico e a subnotificação de doenças.

## REFERÊNCIAS

- BARBOSA, S. F. C. et al. Implications of *Haemophilus influenzae* Biogroup *aegyptius* Hemagglutinins in the Pathogenesis of Brazilian Purpuric Fever. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 188, n. 1, p. 74–80, 1 jul. 2003.
- BAROCCHI, M. A.; MASIGNANI, V.; RAPPUOLI, R. Cell entry machines: a common theme in nature? **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, n. 4, p. 349–358, 10 abr. 2005.
- BENGTSON, I. A. Seasonal Acute Conjunctivitis Occurring in the Southern States. **Public Health Reports (1896-1970)**, v. 48, n. 31, p. 917–926, 1933.
- BERKLEY, S.; HARRISON, L. *Haemophilus aegyptius* bacteraemia in Brazilian purpuric fever. Brazilian Purpuric Fever Study Group. **Lancet**, v. 2, n. 8562, p. 761–3, 1987.
- BEUTLER, B. TLR4 as the mammalian endotoxin sensor. **Current topics in microbiology and immunology**, v. 270, p. 109–20, 2002.
- BJERRE, A. et al. Plasma interferon- $\gamma$  and interleukin-10 concentrations in systemic meningococcal disease compared with severe systemic Gram-positive septic shock. **Critical Care Medicine**, v. 32, n. 2, p. 433–438, fev. 2004.
- BRANDILEONE, M. C. C. et al. Febre purpúrica brasileira. caracterização rápida das cepas invasoras de *Haemophilus aegyptius*. **Rev. Inst. Med. trop. São Paulo**, v. 31, n. 4, p. 221–227, 1989.
- BRENNER, D. J. et al. Biochemical, genetic, and epidemiologic characterization of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius* (*Haemophilus aegyptius*) strains associated with Brazilian purpuric fever. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 26, n. 8, p. 1524–1534, 1988.
- CARLONE, G. M. et al. **Potential Virulence-Associated Factors in Brazilian Purpuric Fever** **Journal of Clinical Microbiology**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC267382/pdf/jcm00064-0027.pdf>>. Acesso em: 26 out. 2018.
- CASIN, I.; GRIMONT, F.; GRIMONT, P. A. D. Deoxyribonucleic acid relatedness between *Haemophilus aegyptius* and *Haemophilus influenzae*. **Annales de Institut Pasteur / Microbiologie**, v. 137, n. 1, p. 155–163, jul. 1986.
- CIEVS MINAS. SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE. **Manual de Treinamento em Vigilância Sindrômica**. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/15787825-Manual-de-treinamento-em-vigilancia-sindromica.html>>. Acesso em: 3 jan. 2019.
- COELHO, S. R. C. C. K. ***Haemophilus influenzae* não tipável- estado da arte**. [s.l.] Tese de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Instituto Superior de Ciências da

Saúde Egas Moniz, 2015.

COMANDUCCI, M. et al. NadA, a novel vaccine candidate of *Neisseria meningitidis*. **The Journal of experimental medicine**, v. 195, n. 11, p. 1445–54, 3 jun. 2002.

CROSA, J. H. Genetics and molecular biology of siderophore-mediated iron transport in bacteria. **Microbiological reviews**, v. 53, n. 4, p. 517–30, dez. 1989.

CURY, G. C. G. et al. Inflammatory response of *Haemophilus influenzae* biotype *aegyptius* causing Brazilian Purpuric fever. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 1449–1454, 2014.

CVE. CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **CONJUNTIVITE CID10:H10**. Disponível em: <<http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/tracoma/conjuntivite.htm>>. Acesso em: 3 jan. 2019.

DAVIS, J. et al. Evolution of an autotransporter: domain shuffling and lateral transfer from pathogenic *Haemophilus* to *Neisseria*. **Journal of bacteriology**, v. 183, n. 15, p. 4626–35, ago. 2001.

DOBSON, S. R.; KROLL, J. S.; MOXON, E. R. Insertion sequence IS1016 and absence of *Haemophilus* capsulation genes in the Brazilian purpuric fever clone of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **Infection and immunity**, v. 60, n. 2, p. 618–22, 1 fev. 1992.

DONALISIO, M. R. et al. Critério diagnóstico da doença meningocócica na Região Metropolitana de Campinas , São Paulo , Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, n. 6, p. 1531–1537, 2004.

ERWIN, A. L.; MUNFORD, R. S. Comparison of lipopolysaccharides from Brazilian purpuric fever isolates and conjunctivitis isolates of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. Brazilian Purpuric Fever Study Group. **Journal of clinical microbiology**, v. 27, n. 4, p. 762–7, 1 abr. 1989.

FLEMING, D.; BERKLEY, S. Brazilian purpuric fever: epidemic purpura fulminans associated with antecedent purulent conjunctivitis. Brazilian Purpuric Fever Study Group. **Lancet**, v. 2, p. 757–61, 1987.

HARRISON, L. H. et al. Epidemiology and Clinical Spectrum of Brazilian Purpuric Fever. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 27, n. 4, p. 599–604, 1989.

HARRISON, L. H.; SIMONSEN, V.; WALDMAN, E. A. Emergence and disappearance of a virulent clone of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*, cause of Brazilian purpuric fever. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 4, p. 594–605, 2008.

HENDRIXSON, D. R.; ST GEME, J. W. The *Haemophilus influenzae* Hap serine

protease promotes adherence and microcolony formation, potentiated by a soluble host protein. **Molecular cell**, v. 2, n. 6, p. 841–50, dez. 1998.

HULTGREN, S. J. et al. Pilus and nonpilus bacterial adhesins: assembly and function in cell recognition. **Cell**, v. 73, n. 5, p. 887–901, 4 jun. 1993.

IRINO, K. et al. Febre purpúrica brasileira: resultados preliminares da investigação etiológica. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 29, n. 3, p. 174–177, jun. 1987.

KARLSSON, E.; MELHUS, Å. Nontypeable *Haemophilus influenzae* strains with the capsule-associated insertion element IS1016 may mimic encapsulated strains. **APMIS**, v. 114, n. 9, p. 633–640, 1 set. 2006.

KHULLER, G. K. et al. Lipid composition and virulence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. **The Australian journal of experimental biology and medical science**, v. 60 (Pt 5), p. 541–7, out. 1982.

KILIAN, M. et al. Molecular biology of *Haemophilus influenzae* IgA1 proteases. **Molecular Immunology**, v. 20, n. 9, p. 1051–1058, set. 1983.

KILIAN, M.; POULSEN, K.; LOMHOLT, H. Evolution of the paralogous hap and iga genes in *Haemophilus influenzae*: evidence for a conserved hap pseudogene associated with microcolony formation in the recently diverged *Haemophilus aegyptius* and *H. influenzae* biogroup *aegyptius*. **Molecular Microbiology**, v. 46, n. 5, p. 1367–1380, 9 dez. 2002.

KROLL, J. . et al. Characterization and genetic organization of a 24-MDa plasmid from the Brazilian Purpuric Fever clone of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **Plasmid**, v. 48, n. 1, p. 38–48, 1 jul. 2002.

KROLL, J. S. et al. Natural genetic exchange between *Haemophilus* and *Neisseria*: intergeneric transfer of chromosomal genes between major human pathogens. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 21, p. 12381–5, 13 out. 1998.

KROLL, J. S.; LOYNDS, B. M.; MOXON, E. R. The *Haemophilus influenzae* capsulation gene cluster: a compound transposon. **Molecular microbiology**, v. 5, n. 6, p. 1549–60, jun. 1991.

LI, M.-S. et al. Identification and characterization of genomic loci unique to the Brazilian purpuric fever clonal group of *H. influenzae* biogroup *aegyptius*: functionality explored using meningococcal homology. **Molecular Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 1101–1111, 5 fev. 2003.

LINKE, D. et al. Trimeric autotransporter adhesins: variable structure, common function. **Trends in Microbiology**, v. 14, n. 6, p. 264–270, 1 jun. 2006.

LOMHOLT, H.; KILIAN, M. Distinct antigenic and genetic properties of the Immunoglobulin A1 protease produced by *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius* associated with Brazilian purpuric fever in Brazil. **Infection and immunity**, v. 63, n. 11, p. 4389–94, nov. 1995.

LUNA, E. J. . A emergência das doenças emergentes e as doenças infecciosas emergentes e reemergentes no Brasil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 5, n. 3, p. 229–243, 2002.

MAUGHAN, H.; REDFIELD, R. J. Extensive variation in natural competence in *Haemophilus influenzae*. **Evolution**, v. 63, n. 7, p. 1852–1866, 1 jul. 2009.

MCGILLIVARY, G. et al. Cloning and sequencing of a genomic island found in the Brazilian purpuric fever clone of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **Infection and immunity**, v. 73, n. 4, p. 1927–38, 1 abr. 2005.

MCINTYRE, P. et al. Brazilian Purpuric Fever in Central Australia. **The Lancet**, v. 330, n. 8550, p. 112, jul. 1987.

MORENO M, C.; GONZÁLEZ E, R.; BELTRÁN, C. Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. **Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello**, v. 69, n. 2, p. 185–192, ago. 2009.

MUSSER, J. M.; SELANDER, R. K. Brazilian purpuric fever: evolutionary genetic relationships of the case clone of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius* to Encapsulated Strains of *Haemophilus influenzae*. **Journal of Infectious Diseases**, v. 161, n. 1, p. 130–133, 1 jan. 1990.

OTTO, B. R.; VERWEIJ-VAN VUGHT, A. M. J. J.; MACLAREN, D. M. Transferrins and Heme-Compounds as Iron Sources for Pathogenic Bacteria. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 217–233, 25 jan. 1992.

PAYNE, W. J. et al. The Eye Gnat *Hippelates Pusio* as a Vector of Bacterial Conjunctivitis Using Rabbits as an Animal Models. **Journal of Medical Entomology**, v. 13, n. 4–5, p. 599–603, 31 jan. 1977.

PEDROSO, E. R. P.; ROCHA, M. O. DA C. Infecções emergentes e reemergentes. **Rev Med Minas Gerais**, v. 19, n. 2, p. 140–150, 2009.

PEREIRA, R. F. C. **Estudo do genoma e virulência de linhagens de *Haemophilus influenzae* biotipo *aegyptius* causadoras de Febre Purpúrica Brasileira.** [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2015.

PERKINS, B. A. et al. Comparative efficacy of oral rifampin and topical chloramphenicol in eradicating conjunctival carriage of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 11, n. 9, p. 717–721, set. 1992.

PERKINS, B. A.; BROOME, C. V. Brazilian Purpuric Fever Identified in a New Region of Brazil. **Journal of Infectious Diseases**, v. 165, n. Supplement 1, p. S16–S19, 1 jun. 1992.

PORATH, A. et al. Case Report: Endocarditis Caused by *Haemophilus aegyptius*. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 292, n. 2, p. 110–111, ago. 1986.

PREVENTION, C. C. FOR D. C. AND. **International Notes Brazilian Purpuric Fever -- Mato Grosso, Brazil**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001860.htm>>. Acesso em: 17 nov. 2018.

REDFIELD, R. J. et al. Evolution of competence and DNA uptake specificity in the Pasteurellaceae. **BMC evolutionary biology**, v. 6, p. 82, 12 out. 2006.

REILLY, L. A. et al. Preliminary evidence that synanthropic flies contribute to the transmission of trachoma-causing *Chlamydia trachomatis* in Latin America. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 7, p. 1682–1688, jul. 2007.

RUBIN, L. G. Phase-variable expression of the 145-kDa surface protein of Brazilian purpuric fever case-clone strains of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **The Journal of infectious diseases**, v. 171, n. 3, p. 713–7, mar. 1995.

RUBIN, L. G.; GLOSTER, E. S.; CARLONE, G. M. An infant rat model of bacteremia with Brazilian Purpuric Fever isolates of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **Journal of Infectious Diseases**, v. 160, n. 3, p. 476–482, 1 set. 1989.

RUBIN, L. G.; ST GEME, J. W. Role of lipooligosaccharide in virulence of the Brazilian purpuric fever clone of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius* for infant rats. **Infection and immunity**, v. 61, n. 2, p. 650–5, 1 fev. 1993.

SANTANA-PORTO, E. A. et al. Suspected Brazilian purpuric fever, Brazilian Amazon region. **Emerging infectious diseases**, v. 15, n. 4, p. 675–6, abr. 2009.

SATOLA, S. W.; NAPIER, B.; FARLEY, M. M. Association of IS1016 with the hia adhesin gene and biotypes V and I in invasive nontypeable *Haemophilus influenzae*. **Infection and immunity**, v. 76, n. 11, p. 5221–7, 1 nov. 2008.

SEGADA, L. M.; LESSE, A. J. Creation of an isogenic P1-deficient mutant of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **Gene**, v. 204, n. 1–2, p. 185–194, 19 dez. 1997.

SERRUTO, D. et al. HadA is an atypical new multifunctional trimeric coiled-coil adhesin of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*, which promotes entry into host cells. **Cellular Microbiology**, v. 11, n. 7, p. 1044–1063, jul. 2009.

SILVA, G. A. DA. **Febre Purpúrica Brasileira uma contribuição aos**

**conhecimentos clínicos e epidemiológicos de uma doença recém identificada.** [s.l.] Tese de doutoramento em Saúde Pública, Universidade de São Paulo, 1996.

SINHA, S.; MELL, J. C.; REDFIELD, R. J. Seventeen Sxy-dependent cyclic AMP receptor protein site-regulated genes are needed for natural transformation in *Haemophilus influenzae*. **Journal of bacteriology**, v. 194, n. 19, p. 5245–54, 1 out. 2012.

SKERMAN, V. B. D. et al. **Approved lists of bacterial names.** [s.l.] American Society for Microbiology, 1989.

SMOOT, L. M. et al. Molecular and genetic analysis of iron uptake proteins in the Brazilian purpuric fever clone of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **Front Biosci**, p. D989-96, 1998.

SMOOT, L. M. et al. Fur and iron transport proteins in the Brazilian purpuric fever clone of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 48, n. 7, p. 629–636, 1 jul. 1999.

SMOOT, L. M. et al. Genomic analysis of the F3031 Brazilian Purpuric Fever clone of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius* by PCR-Based Subtractive Hybridization †. **INFECTION AND IMMUNITY**, v. 70, n. 5, p. 2694–2699, 2002.

ST GEME, J. W.; FALKOW, S.; FALKOW, S. Isolation, expression, and nucleotide sequencing of the pilin structural gene of the Brazilian purpuric fever clone of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **Infection and immunity**, v. 61, n. 5, p. 2233–7, maio 1993.

ST GEME, J. W.; GILSDORF, J. R.; FALKOW, S. Surface structures and adherence properties of diverse strains of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **Infection and immunity**, v. 59, n. 10, p. 3366–71, 1 out. 1991.

STROUTS, F. R. et al. Lineage-specific virulence determinants of *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius*. **Emerging infectious diseases**, v. 18, n. 3, p. 449–57, mar. 2012.

SWAMINATHAN, B. et al. Microbiology of Brazilian Purpuric Fever and Diagnostic Tests. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 27, n. 4, p. 605–608, 1989.

TAMM, A. et al. Hydrophobic domains affect the collagen-binding specificity and surface polymerization as well as the virulence potential of the YadA protein of *Yersinia enterocolitica*. **Molecular microbiology**, v. 10, n. 5, p. 995–1011, dez. 1993.

TONDELLA, M. L. C. et al. Isolamento de *Haemophilus aegyptius* associado à Febre púrpura brasileira, de cloropídeos (Diptera) dos gêneros *Hippelates* e *Liohippelates*. **Rev. Inst. Med. trop.**, v. 36, n. 2, p. 105–109, 1994.

TONDELLA, M. L.; QUINN, F. D.; PERKINS, B. A. Brazilian purpuric fever caused by *Haemophilus influenzae* biogroup *aegyptius* strains lacking the 3031 plasmid. **The Journal of infectious diseases**, v. 171, n. 1, p. 209–12, jan. 1995.

VIRATA, M. et al. Suspected Brazilian purpuric fever in a toddler with overwhelming Epstein-Barr virus infection. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 27, n. 5, p. 1238–40, nov. 1998.

WEEKS, J. E. The Bacillus of Acute Conjunctival Catarrh, or "Pink Eye". **Archives of Ophthalmology**, v. 114, n. 12, p. 1510, 1 dez. 1996.

WILD, B. E. et al. Brazilian purpuric fever in Western Australia. **The Medical journal of Australia**, v. 150, n. 6, p. 344, 346, 20 mar. 1989.

WINN, W. C. et al. **Koneman diagnóstico microbiológico : texto y atlas en color**. 6 ed ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2008.