Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada
Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences

Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v. 26, n.3, p. 167-174, 2005
ISSN 1808-4532

Ocorrência de *Haemophilus influenzae* em crianças atendidas em creches

Marin, J.M.[1]*; Silva, M.E.N.B.[2]

[1] *Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil*
[2] *Departamento de Análises Clinicas, Bromatológicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil.*

Recebido 17/10/05/ Aceito 10/02/06

RESUMO

As doenças provocadas por cepas de *Haemophilus influenzae* tipo b (*Hi*b), como por exemplo, conjuntivite, otite média, meningite e pericardite têm apresentado uma sensível diminuição em resposta ao uso da vacina anti *Hi*b no esquema de vacinação nacional. No entanto, com a eliminação da colonização da nasofaringe por *Hi*b, abre-se a possibilidade da substituição de cepas colonizadoras que apresentam este sorotipo capsular por outros sorotipos ou pela colonização por *H. influenzae* não tipavel (NT*Hi*). Neste sentido, as creches representam um fator de risco para a transmissão das bactérias em função do prolongado e intenso contacto entre as crianças neste ambiente. O objetivo do presente estudo foi apresentar uma revisão atualizada sobre a colonização e transmissão de *H. influenzae* em crianças saudáveis que freqüentam creches. Concluiu-se que as crianças que freqüentam creches devem ser continuamente monitoradas, para se verificar a eliminação da colonização na nasofaringe por *Hi*b ou a sua substituição por cepas de outros sorotipos ou NT*Hi*.
Palavras-chave: Haemophilus influenzae, creche, transmissão, vacina anti *Hi*b.

INTRODUÇÃO

Os membros do gênero *Haemophilus* são seres procariotos pertencentes à família Pasteurellaceae, onde também estão incluídos os gêneros *Pasteurella* e *Actinobacillus*. Existem atualmente nove espécies de *Haemophilus* que são encontradas em humanos: *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *H. haemolyticus*, *H. parahaemolyticus*, *H. aphrophilus*, *H. paraphrophilus*, *H. paraphrophaemolyticus*, *H. segnis*, *H. ducreyi*. As espécies citadas de *Haemophilus* encontradas em humanos estão, na maioria, associadas ao trato respiratório superior, exceto *H. ducreyi*, que é um patógeno primário do trato genital (Koneman et al., 1997).

Haemophilus influenzae é uma bactéria Gram-negativa que coloniza de forma assintomática a nasofaringe de indivíduos saudáveis e ocasionalmente, provoca doenças sistêmicas e infecções das mucosas. Existem seis sorotipos capsulares distintos designados de **a** até **f** (Koneman et al., 1997). As cepas encapsuladas, especialmente as do sorotipo **b** (*Hi*b), são responsáveis por uma variedade de doenças invasivas, sendo a mais importante delas a meningite. As crianças até três anos de idade representam a maior porcentagem dos indivíduos infectados, sendo portanto, uma população altamente susceptível à colonização pelo *H. influenzae*. Nas populações onde foi introduzida a vacinação sistemática das crianças, ocorreu uma diminuição drástica das doenças provocadas pelo *Hi*b com uma conseqüente diminuição do índice de colonização (Peltola et al., 2000).

Importância para a saúde pública

Uma grande variedade de infecções causadas por espécies de *Haemophilus* pode ocorrer em humanos, variando desde doenças infecciosas que são facilmente curáveis como conjuntivite e otite média (Loos et al., 1989; Trotier et al., 1991), e as que são raras e potencialmente perigosas como meningite e pericardite (Koneman et al., 1997). A ocorrência de otites média durante os primeiros anos de idade pode afetar a habilidade intelectual, prejudicar o aprendizado escolar e afetar a linguagem (Teele et al., 1990). Algumas espécies de *Haemophilus* fazem parte da microbiota do aparelho respiratório superior dos seres humanos, sendo que o *H. influenzae* é a espécie mais comum. Presente em pequena quantidade constitui um dos microrganismos potencialmente patogênicos do biofilme que recobre as mucosas da boca e do trato respiratório, composto por centenas de espécies bacterianas (Koneman et al., 1997; Klein, 1997).

Em países em desenvolvimento a pneumonia causada por *Hi*b parece representar a maior parcela de patogenicidade atribuída a este microrganismo, sendo responsável por 15 a 25% do total de pneumonias (Peltola, 1997; Levine et al., 1998; Peltola, 2000).

Fatores de virulência

Algumas cepas de *H. influenzae* apresentam em sua estrutura, cápsula polissacarídica que é considerada o maior fator de virulência daquelas que causam infecção

**Autor correspondente:* José Moacir Marin - Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, USP - Avenida do Café, s/nº - Campus USP - 14040-904 - Ribeirão Preto - SP - Telefone: (16) 3602-4101 - Fax: (16) 3633-0999 - E-mail: jmmarin@forp.usp.br

sistêmica. Tais cepas podem ser sorotipadas com base no antígeno específico de suas cápsulas, com sorotipos denominados de **a** até **f**. O tipo **b** é o único dos seis tipos encapsulados que contém uma pentose, como componente da subunidade do carboidrato da cápsula, uma propriedade que pode estar relacionada à virulência. A substância capsular tipo **b** é um polímero linear composto de ribose, ribitol e fosfato, ou poliribosil-ribitol-fosfato (PRP) (Koneman et al., 1997).

Coletivamente, as cepas encapsuladas são citadas como cepas tipáveis e as acapsuladas como cepas não tipáveis. As cepas acapsuladas são amplamente distribuídas, sendo encontradas exclusivamente em humanos e raramente causam doenças sistêmicas. Entretanto, doenças infecciosas das mucosas são comuns, incluindo otite média, sinusite, bronquite, alveolite, nasofaringite, bronquite, conjuntivite e outras envolvendo o trato genital feminino (Foxwell et al., 1998).

Mais de 90% das cepas de *Hi*b também produzem uma bacteriocina chamada hemocina. A hemocina não é produzida pelas cepas encapsuladas de *H. influenzae* de outros sorotipos que não o tipo **b** ou pelas cepas acapsuladas, e, a maioria destes microrganismos é sensível a este efeito letal. A produção da hemocina pode contribuir para a habilidade do *Hi*b em competir efetivamente com as cepas não tipáveis na colonização nasofaringeana (Lipuma et al., 1990).

Tipagem

Geralmente, os métodos utilizados em taxonomia bacteriana não fornecem dados satisfatórios para a classificação microbiana. Essa caracterização é fundamental nas investigações epidemiológicas, tanto em comunidades abertas como fechadas, para avaliar se os microrganismos isolados pertencem a um único clone ou a diferentes clones bacterianos. O aprimoramento dos métodos de taxonomia, baseados em biologia molecular, permite a tipagem dos microrganismos de acordo com informações genotípicas, as quais são mais constantes que as fenotípicas (Tenover, 1991).

As infecções por *H. influenzae* podem tornar-se crônicas ou recorrentes, tais como bronquite crônica, otite recorrente e sinusite. Até recentemente, as técnicas de tipagem não eram suficientemente discriminatórias para analisar se esses pacientes eram infectados pela mesma cepa ou infectados por uma cepa diferente (van Alphen, 1992).

A biotipagem consiste na caracterização bacteriana pela observação dos produtos finais do metabolismo de determinados substratos previamente conhecidos e baseia-se na possibilidade de uma mesma espécie poder apresentar biotipos diferentes. Em um estudo taxonômico de *Haemophilus*, introduziu-se o uso de três testes bioquímicos para a identificação e caracterização do gênero: produção de indol, atividade da urease e da ornitina descarboxilase. Esses três testes permitiram a divisão do *H. influenzae* em quatro biotipos de I a IV os quais são independentes do sorotipo (Kilian et al., 1979). Mais tarde, quatro novos biotipos (V, VI, VII, VIII) foram introduzidos nesta classificação (Oberhofer & Back, 1979; Gratten, 1983; Sottnek & Albritton, 1984; Kilian & Biberstein, 1984).

A tipagem sorológica de uma bactéria baseia-se na presença ou ausência de determinantes antigênicos somáticos, flagelares e capsulares frente a um conjunto padronizado de anti-soros específicos. Segundo a classificação de Pittman (1931), o *H. influenzae* foi dividido em cepas capsuladas, as quais expressam um dos seis polissacarídeos capsulares que são designados sorotipos **a** a **f.** Assim as cepas acapsuladas seriam definidas como aquelas que não aglutinam com anti-soros contra as conhecidas estruturas capsulares, e são também conhecidas como não tipáveis.

Tradicionalmente, a tipagem de *H. influenzae* é realizada através de soroaglutinação com anti-soros específicos (**a-f**). La Claire et al. (2003) analisaram 141 casos de doença invasiva por *H. influenzae* ocorridos nos Estados Unidos, no período de 1998 a 2000 e verificaram a ocorrência de vários erros de identificação do sorotipo de *H. influenzae* quando a tipagem foi realizada nos departamentos de saúde estaduais e comparadas áquelas realizadas no Centers for Disease Control and Prevention (CDC) devido ao uso inadequado dos anti-soros específicos, e propuseram uma nova metodologia para a pesquisa do tipo capsular, com confirmação baseada em PCR.

Bokermann et al. (2003) analisaram 258 cepas de *H. influenzae* isoladas no Brasil de pacientes com doenças invasivas ou como cepas colonizadoras, e verificaram que o mesmo erro detectado nos Estados Unidos também era cometido no Brasil, devido à análise inicial envolver diretamente a pesquisa com o anti-soro tipo **b**, e propuseram uma metodologia muito parecida com aquela proposta pelo CDC (La Claire et al., 2003). Nestes dois casos os autores trabalharam com cepas de *H. influenzae* relacionadas à ocorrência de meningite, sendo portanto, cepas infectantes. Essas cepas expressam seu sorotipo especifico em grandes quantidades o que facilita a sua identificação através do anti-soro correspondente. Entretanto, nem sempre isto é possível, como por exemplo o que ocorre na identificação de cepas colonizadoras dos vários tecidos, neste caso as bactérias não estão expressando as proteínas da cápsula em uma quantidade apreciável, o que dificulta a sua identificação. Assim é comum a detecção de cepas que aglutinam com mais de um anti-soro, sendo consideradas poliaglutináveis e portanto, não classificadas de acordo com o padrão clássico. Nosso grupo (Bonifácio da Silva et al., 2005) realizou um estudo comparativo desses dois métodos denominados *Slide Agglutination Methods* (SAST 1 e SAST 2) para avaliar a aglutinação de cepas colonizadoras da nasofaringe. SAST 1 utiliza inicialmente apenas o anti-soro **b**, o que pode provocar uma aglutinação inespecífica, enquanto que no método SAST 2 inicialmente a amostra é submetida a aglutinação de forma simultânea e independente com todos os anti-soros **a-f** , o que permite uma identificação mais adequada. Verificou-se também a ocorrência de cepas apresentando poliaglutinação, efeito decorrente da baixa produção de cápsula nas cepas colonizadoras, o que comprova a necessidade da utilização simultânea de métodos moleculares para a eliminação das divergências de sorotipagem .

Falla et al. (1994) e Hassan-King et al. (1998) utilizaram a PCR como método de diagnóstico de *Hi*b e como metodologia alternativa para a classificação dos sorotipos de *Haemophilus*, levantando ainda a possibilidade de utilizar esta metodologia como instrumento de caracterização dos diversos clones encontrados durante uma epidemia.

Nosso laboratório (Marin, 2004) utilizou os *primers* e condições de PCR descritos por Falla et al. (1994) e as modificações sugeridas por La Claire et al. (2003) para a classificação do sorotipo de cepas colonizadoras da nasofaringe de crianças que freqüentavam creches no Brasil. O emprego desta técnica permitiu a eliminação das cepas classificadas como poliaglutinadas pela técnica tradicional utilizando anti-soros específicos, o que comprovou a necessidade da utilização do PCR como elemento discriminatório.

Transmissão

A transmissão do *H. influenzae* ocorre por intermédio de gotículas de saliva ou por contato direto da face ou dos olhos com toalhas, lenços ou outros objetos compartilhados entre pessoas. O período de incubação é desconhecido, provavelmente variando de dois a quatro dias. A transmissibilidade pode se estabelecer durante todo o tempo em que o microrganismo estiver presente (Kmetzsch et al., 2003). A proximidade pessoa-pessoa, principalmente em creches e nos lares é um importante elemento nessa transmissão (Borderon, 1995).

A colonização da nasofaringe é um fator indispensável para que ocorra a infecção e, as condições locais, acrescidas de promiscuidade, representam fatores importantes para o aumento do número de indivíduos colonizados (condições sócio econômicas desfavoráveis, permanência em creches, locais fechados, papel protetor do aleitamento materno), embora a relação entre colonização e manifestação de infecções não sejam diretamente proporcionais (St Geme III & Cutter, 1996; Takala & Clements, 1992).

Borderon (1995) descreveu que a infecção é precedida pela colonização da nasofaringe, entretanto diferentes fatores favorecem a passagem da colonização para a infecção. Assim, o conhecimento dos parâmetros da colonização e da infecção permitem determinar os fatores de risco. Entre os fatores, a idade é o mais característico, por exemplo, crianças com menos de cinco anos de idade, com pico de incidência de infecção ao redor dos dois anos (Aniansson et al., 1992). As altas taxas de doenças invasivas ocasionadas por *H. influenzae* são observadas principalmente em populações com contatos freqüentes ou que estejam em exposição prolongada ao microrganismo (Ginsburg et al., 1977; Redmond & Pichichero, 1984).

Vacinas

Moxon (1995) descreveu que antes da introdução de vacinas eficazes contra o sorotipo **b** (*Hi*b), esse microrganismo era responsável por aproximadamente 16.000 casos de doenças invasivas em crianças com até cinco anos de idade nos Estados Unidos. O principal fator para o desenvolvimento da infecção, nessa faixa etária, devia-se aos baixos níveis de anticorpos anti-PRP (Ambrosino et al., 1986). A imunidade em recém-nascidos é conferida pelos anticorpos provenientes da mãe e transmitidos pela placenta, sendo perdidos nos primeiros meses de vida (Nagao et al., 1999). Esses anticorpos geralmente são produzidos mais tarde, em conseqüência da exposição aos organismos tipo **b**, ou a outros antígenos microbianos que induzem a produção de anticorpos por reação cruzada (Myerowitz et al., 1987).

No Brasil, três vacinas foram liberadas para aplicação em crianças a partir de dois meses de idade: a Act-HIB da Pasteur Mérieux e a HibTITER (HbOC) da Lederle-Praxis, indicadas em três aplicações aos dois, quatro e seis meses de idade e um reforço aos 15 meses, e a PedvaxHIB (PRP-OMP) da Merck Sharp Dohme, indicada em duas aplicações aos dois e quatro meses de idade e um reforço, que pode ser aplicado a partir de 12 meses. As três vacinas disponíveis são vacinas conjugadas e consistem da combinação do polissacarídeo capsular (PRP) com a toxina diftérica-toxóide (PRP-D) ou o polissacarídeo capsular conjugado ao toxóide tetânico, o que aumenta o poder de antigenicidade da vacina. Crianças que iniciam a vacinação no segundo semestre de vida devem receber somente duas doses de qualquer vacina, seguida de reforço após seis a 12 meses (Booy et al., 1997). As que não receberam nenhuma dose da vacina antes dos 12 meses deverão receber somente uma dose. O esquema adotado pelo Ministério da Saúde utiliza três doses (dois, quatro e seis meses de idade) da vacina PRP-T da Pasteur-Merieux (Ribeiro et al., 2003). No Brasil o programa de imunização foi introduzido no segundo semestre de 1999 e apresentou o mesmo resultado verificado nos demais paises em que a vacinação foi introduzida, com uma acentuada queda no número de meningites principalmente em crianças menores de cinco anos (Kmetzsch et al., 2003; Ribeiro et al., 2003).

O amplo uso da vacina conjugada anti *Hi*b em vários paises, contribuiu para a quase completa eliminação de doenças invasivas provocadas por *Hi*b naqueles que incluíram a vacina no seu programa de imunização (Peltola, 2000; Hviid & Melbye, 2004).

Estudos realizados demonstraram que as vacinas conjugadas não apenas previnem as doenças pela indução de imunidade ativa, mas podem reduzir o número de indivíduos portadores de *Hi*b (Takala et al., 1991). Segundo Adegbola et al. (1998) a vacinação contra *Hi*b pode fornecer uma proteção adicional para as crianças não vacinadas, por reduzir seu risco de exposição ao *Hi*b em virtude de seus contatos com crianças mais velhas já vacinadas, um efeito denominado *herd immunity*.

O reaparecimento de cepas *Hi*b entre crianças vacinadas com anti *Hi*b na região do Alasca representou um motivo de preocupação. A taxa de colonização por *Hi*b para as crianças nativas do Alasca era de 5 a 7% na era pré-vacina e de 9,3% em 1997 na época do reaparecimento de

cepas *Hi*b. Segundo os autores a vacina conjugada que estava sendo utilizada, apresentava uma baixa capacidade de indução do sistema imune entre os nativos sendo sugerida a sua substituição por outra. Além disso, as cepas encontradas como infectantes também foram recuperadas como colonizadoras em 74% da população (Lucher et al., 2002).

Creches

A popularização das creches na década de 70, inicialmente nos Estados Unidos e posteriormente na Europa, revolucionou o contato entre um grande número de crianças de zero a cinco anos de idade, criando um ambiente favorável a transmissão de microrganismos, principalmente os relacionados às doenças das vias respiratórias, dos quais o *Hi*b é um importante exemplo. Diferentes autores classificaram as creches como um local de alto risco para disseminação de *Haemophilus* (Redmond & Pichichero, 1984; Istre et al., 1985).

Apesar desta evidência, existe uma discordância entre pesquisadores sobre o risco de contato. Osterholm et al. (1987) conduziram um estudo envolvendo 195 creches do estado de Minesota que atendiam 4102 crianças. Durante 60 dias, as crianças foram acompanhadas para avaliar a disseminação do agente. Segundo os autores, durante esse período, 2612 delas entraram em contato direto com 185 crianças que apresentaram casos de doenças invasivas provocadas por *Hi*b. Após 60 dias não foi verificado um único caso de doenças por *Hi*b. Para os autores isso comprovava que o risco de disseminação era muito menor do que imaginavam.

A colonização da nasofaringe humana é considerada o primeiro passo na série de eventos que resultam na infecção por *H. influenzae* em uma doença invasiva. Estudos anteriores, incluindo aqueles realizados por nosso grupo, descreveram amplas variações nas taxas de colonização por *H. influenzae*, dependendo da população estudada. Assim, variações entre 11,0 e 88,0% já foram descritas (Aniansson et al., 1992; Bonifácio da Silva & Marin, 2001; Peerbooms et al., 2002; Marin, 2004), e esta variação está relacionada às diferenças nas práticas de higiene das crianças, no comportamento e no uso de antimicrobianos.

As crianças que freqüentam creches carregam organismos patogênicos como o *H. influenzae* em maior quantidade e estão mais sujeitas a infecções do trato respiratório (Forleo-Neto et al., 1999). Este nível superior de colonização encontrado entre estas crianças pode ser devido a um contato mais intenso entre um maior número de crianças. Este efeito foi parcialmente comprovado pelo fato de crianças com irmãos apresentarem também uma freqüência maior de colonização da nasofaringe, quando comparadas com crianças que não possuem irmãos (Li et al., 1986).

A análise da diferença no nível de colonização por *H. influenzae* nas creches ficou melhor evidenciado no trabalho de Peerbooms et al. (2002) que analisaram 535 crianças holandesas com idade variando de três a 36 meses de idade, sendo 276 pertencentes a um grupo controle que não freqüentava creches e 259 crianças de um grupo de pesquisa que freqüentava creches regularmente. Todas elas receberam o ciclo completo de vacinação anti *Hi*b. Segundo os autores 37% das crianças que freqüentavam creches apresentavam *H. influenzae* colonizando a nasofaringe, enquanto que apenas 11% do grupo controle apresentava o mesmo organismo.

No entanto, apenas o contato maior entre as crianças nas creches não representa a única explicação para a freqüência de colonização da nasofaringe por *H. influenzae*. Provavelmente, diferenças genéticas entre populações também representam um aspecto importante da questão. Marchisio et al. (2001) analisaram crianças italianas que freqüentavam creches e encontraram taxas de colonização por *H. influenzae* extremamente baixas, variando entre 13 e 18%, dependendo da época do ano em que a análise foi realizada. Esta freqüência é muito diferente das outras acima mencionadas, o que reforça a hipótese segundo a qual populações distintas podem apresentar comportamentos diferentes em relação à colonização.

Diferentes autores demonstraram a elevada troca de cepas colonizadoras da nasofaringe que ocorre em crianças saudáveis que freqüentam creches, indicando que em média, podem ocorrer três trocas das cepas colonizadoras por ano, até uma determinada idade, quando são estabelecidas as cepas predominantes (Raymond et al., 2001; Dabernat et al., 2002; Peerbooms et al., 2002).

Com o declínio das doenças provocadas pelo *Hi*b, e com a diminuição da colonização da nasofaringe por cepas *Hi*b, outros sorotipos de *H. influenzae* especialmente o **a, e** e **f**, e as cepas não tipavéis (NT*Hi*) passaram a representar uma importante fonte de doenças invasivas, sendo o sorotipo **f** considerado o substituto mais importante do **b** (Urwin et al., 1996).

Nos estudos envolvendo crianças que freqüentam creches, foram verificadas duas situações distintas; alguns autores pesquisando crianças vacinadas com anti *Hi*b não conseguiram recuperar cepas capsuladas (Raymond et al., 2001; Stratchounski et al., 2001; Massuda et al., 2002; Castillo-Febres et al., 2005), enquanto outros autores demonstraram uma pequena freqüência de colonização da nasofaringe por diferentes sorotipos conforme mostra a Tabela 1. Talon et al. (2000) trabalhando com crianças que freqüentavam creches na França descreveram a recuperação de cepas dos sorotipos **e** e **f**. Na Holanda foram recuperadas cepas do sorotipo **b** (Peerbooms et al., 2002), enquanto que Dabernat et al. (2002) analisando 1683 crianças saudáveis, encontraram uma taxa de 0,6% de cepas de sorotipo **e**, e 0,4% de cepas de sorotipo **f**. Farjo et al. (2004) analisaram 198 crianças em creches dos Estados Unidos e encontraram uma única cepa **f**. No Brasil, descrevemos a recuperação de três cepas de sorotipo **f**, 1 de sorotipo **b**, 1 de sorotipo **d** , 1 de sorotipo **e** entre crianças com até três anos que receberam o ciclo completo de vacinação (três doses) e freqüentavam creches na cidade de Ribeirão Preto, SP (Marin, 2004).

Tabela 1 - Freqüência de colonização da orofaringe de crianças de diferentes paises que freqüentam creches, por cepas de *Haemophilus influenzae* e sorotipos capsulares recuperados após a introdução da vacinação anti *Hi*b.

País	Freqüência de colonização %	Sorotipos capsulares recuperados	Referência
França	25,5	**e**, **f**	Talon et al., 2000
França	45,0	-	Raymond et al., 2001
Rússia	44,0	-	Stratchounski et al., 2001
Holanda	37,0	**b**	Peerbooms et al., 2002
Japão	53,2	-	Massuda et al., 2002
França	40,9	**b**, **f**	Dabernat et al., 2002
Estados Unidos	64,0	**b**	Farjo et al., 2004
Brasil	72,0	**b**, **d**, **e**, **f**	Marin, 2004
Venezuela	22,8	-	Castillo-Febres et al.,2005

Em alguns trabalhos realizados (Peerbooms et al., 2002; Marin, 2004) ainda foram recuperadas cepas *Hi*b em crianças vacinadas, o que indica que a circulação de cepas de sorotipo **b** nas populações representa um evento que deve se manter por um determinado período, até que o nível adequado de imunidade das populações seja atingido. Isto reforça a necessidade de constante monitoramento das crianças que convivem diariamente em creches, pois a persistência de cepas *Hi*b nas populações representa um risco real, como relatado por McVernon et al (2003), que descreveram o ressurgimento de meningites provocadas por cepas *Hi*b na Inglaterra, o que levou o governo local a desencadear uma campanha de vacinação entre crianças com menos de cinco anos, com a introdução de uma quarta dose de vacina anti *Hi*b, como dose de reforço.

No Brasil, a análise de cepas de *H. influenzae* recuperadas de pacientes com meningite, permitiu a verificação da ocorrência de substituição de sorotipo invasivo **b** por sorotipo **a** (Ribeiro et al., 2003), portanto o monitoramento de crianças que freqüentam creches representa um aspecto epidemiológico bastante importante, com o objetivo de permitir o estudo de cepas circulantes na população infantil saudável.

CONCLUSÕES

Considerando que o *Hi*b representa uma importante causa de doenças invasivas, especialmente meningites em crianças com menos de cinco anos de idade, e que o ambiente das creches representa um risco adicional à disseminação de cepas bacterianas colonizadoras do trato aéreo superior, é de fundamental importância o contínuo monitoramento destas crianças para se verificar a eliminação da colonização da nasofaringe por cepas *Hi*b ou a sua substituição por cepas de outros sorotipos ou por NT*Hi*.

AGRADECIMENTOS

A fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro 01/07595-2.

ABSTRACT

Occurrence of ***Haemophilus influenzae*** *in children attending day-care centers*

Invasive diseases caused by strains of *Haemophilus influenzae* type b (*Hi*b), such as conjunctivitis, otitis media, meningitis and pericarditis, have been decreasing since the introduction of anti-*Hi*b vaccine into the national vaccination campaign. However, the elimination of colonies of *Hi*b from the nasopharynx opens the possibility of this serotype being replaced by other serotypes or even by non-typeable *H. influenzae* (NT*Hi*). In this respect, children's day-care centers may be seen as a risk factor for the dissemination of the bacteria, due to the prolonged close contact between children in this environment. The objective of the present study was to prepare an up-to-date review of the colonization and transmission of *H. influenzae* among healthy children attending day-care centers. It was concluded that the colonization of the nasopharynx by *Hi*b should be continually assessed in children at day-care centers, to monitor its elimination or replacement by other serotypes or by NT*Hi*.

Keywords: *Haemophilus influenzae*, day-care center, transmission, anti-*Hi*b vaccine.

REFERÊNCIAS

Adegbola AA, Mulhoand EK, Secka O, Jaffar S, Greenwood, BM. Vaccination with a *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine reduces oropharyngeal carriage of *H.influenzae* type b among Gambian children. *J Infect Dis* 1998;177:1758-61.

Ambrosino DM, Landesman SH, Gorham CC, Siber GR. Passive immunization against disease due to *Haemophilus influenzae* type b: concentrations of antibody to capsular polysaccharide in high-risk children. *J Infec Dis* 1986;153:1-7.

Aniansson G, Alm B, Anderson B, Larsson P, Nylén O,

Peterson H, Rigner P, Svanborg M, Svanborg C. Nasopharyngeal colonization during the first year of life. *J Infect Dis* 1992;165(suppl 1):38-42.

Bokermann S, Zanela R, Lemos APS, Andrade ALSS, Brandileone MCC. Evaluation of methodology for serotyping invasive and nasopharyngeal isolates of *Haemophilus influenzae* in the ongoing surveillance in Brasil. *J Clin Microbiol* 2003;41:5546-50.

Bonifácio da Silva ME, Marin JM. An epidemiological study of *Haemophilus influenzae* in a Brazilian day care center. *Braz J Infect Dis* 2001;5:260-8.

Bonifacio da Silva MEN, Silva P, Medeiros M, Neme SN, Macedo C, Marin JM. Comparison of two slide agglutination serotyping methods and PCR-based capsule typing for the characterization of *Haemophilus influenzae* serotypes. *Braz J Microbiol* 2005(Whole issue).

Booy R, Heath PT, Slack MPE, Begg N, Moxon ER. Vaccine failures after primary immunization with *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine without booster. *Lancet* 1997;349:1197-201.

Borderon JC. *Haemophilus influenzae*: colonization et infection. *Arch Pediatr* 1995;2:249-54.

Castillo-Febres O, Lopez G, Ortegal F, Estopian M, Casanova-Escalona L, Sanchez-Nevada M, Decker M, Edwards KM. Oropharyngeal carriers in Venezuelan children in two child care settings, vaccinated or not with *Haemophilus influenzae* type b tetanus toxoid conjugate vaccine (PRP-T). *Invest Clin* 2005;46:15-24.

Dabernat H, Plisson-Saune MA, Delmas C, Seguy M, Faucon G, Pelissier R, Bennamani S, Pasquier C. *Haemophilus influenzae* carriage in children attending French day care centers: a molecular epidemiological study. *J Clin Microbiol* 2002;41(4):1664-72.

Falla TJ, Crook DWM, Brophy LN, Maskell D, Kroll JS, Moxon ER. PCR for capsular typing of *Haemophilus influenzae*. *J Clin Microbiol* 1994;32:2382-6.

Farjo RS, Foxman B, Patel MJ, Zhang L, Pettigrew MM, McCoy SI, Marrs CF, Gilsdorf JR. Diversity and sharing of *Haemophilus influenzae* strains colonizing healthy children attending day care centers. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:41-6.

Forleo-Neto E, Oliveira CF, Maluf EMCP, Bataglin C, Araujo JMR, Kunz LFJR, Pustai AK, Vieira VSD, Zanella RC, Brandileone MCC, et al. Decreased point prevalence of *Haemophilus influenzae* type b (Hib) oropharyngeal colonization by mass immunization of Brazilian children less than 5 years old with Hib polyribosylribitol phosphate polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine in combination with diphtheria-tetanus toxoids-pertusis vaccine. *J Infect Dis* 1999;180:1153-8.

Foxwell AR, Kyg JM, Cripps AW. Nontypable *Haemophilus influenzae* pathogenesis and prevention. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:294-308.

Ginsburg CM, McCracken GH, Rae S, Parke JC. *Haemophilus influenzae* type b disease: incidence in a day care center. *JAMA* 1977;238:604-7.

Gratten M. *Haemophilus influenzae* biotype VII. *J Clin Microbiol* 1983;13:1015-6.

Hassan-King M, Adegbola R, Balder I, Mulholland K, Osmosigho C, Oparaugo A, Usen S, Palmer A, Schneider G, Secka O, et al. A polymerase chain reaction for the diagnosis of *Haemophilus influenzae* type b disease in children and its evaluation during a vaccine trial. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:309-12.

Hviid A, Melbye M. Impact of routine vaccination with a conjugate *Haemophilus influenzae* type b vaccine. *Vaccine* 2004;22:378-82.

Istre GR, Conner JS, Broome CV, Hightower A, Hopkins RS. Risk factors for primary invasive *Haemophilus influenzae* disease: increased risk from day care attendance and school-aged household members. *J Pediatr* 1985;106:190-5.

Kilian M, Biberstein EL. Genus II. *Haemophilus*. In Krieg NR, Holt JG. (eds). *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology*, 8th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984;1:558-9.

Kilian M, Sorensen I, Frederiksen W. Biochemical characteristics of 130 recent clinical isolates from *Haemophilus influenzae* meningitis. *J Clin Microbiol* 1979;9:409-12.

Klein JO. Role of nontypeable *Haemophilus influenzae* in pediatric respiratory tract infections. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16(2):5-8.

Kmetzsch CI, Schermann MT, Santana JCB, Estima CL, Faraco FJ, Silva CM, Conceição R. Meningites por *Haemophilus influenzae* b após a implantação da vacina específica. *J Pediatr* 2003;79(6):530-6.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Haemophilus.* In: *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 5th ed. Philadelphia: Lippincott; 1997: p.363-93.

La Claire LL, Tondela MLC, Beal DS, Noble CA, Raghunathan PL, Rosenstein NE, Popovic T. Identification of *Haemophilus influenzae* serotypes by standard slide agglutination serotyping and PCR-based capsule typing. *J Clin Microbiol* 2003;41:393-6.

Levine OS, Schwartz B, Pierce N, Kane M. Development, evaluation and implementation of *Haemophilus influenzae* type b vaccines for young children in developing countries: current status and priority actions. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:95-113.

Li KI, Dsahevsky B, Wal ER. *Haemophilus influenzae* type b colonization in household contacts of infected and

colonized children enrolled in day care. *Pediatrics* 1986;78:15-20.

Lipuma JJ, Richman H, Stull TL. Haemocin, a bacteriocin produced by *Haemophilus influenzae* type b species distribution and role in colonization. *Infect Immun*1990;58:1600-5.

Loos BG, Bernstein JM, Dryja DM, Murphy TF, Dickinson DM. Determination of epidemiology and transmission of nontypable *Haemophilus influenzae* in children with otites media by comparison of total genomic DNA Restriction Fingerprints. *Infect Immun* 1989;57:2751-7.

Lucher LA, Reeves M, Hennessy T, Levine OS, Popovic T, Rosesnstein N, Parkinson AJ. Reemergence in South Western Alaska, of invasive *Haemophilus influenzae* type b disease due to strains indistinguishable from those isolated from vaccinated children. *J Infect Dis* 2002;186:958-65.

Marchisio P, Gironi S, Esposito S, Schito GC, Manneli S, Principi N, Ascanius Project Colaborative Group. Seasonal variations in nasopharyngeal carriage of respiratory pathogens in healthy Italian children attending day-care centers or schools. *J Med Microbiol* 2001;50:1095-9.

Marin JM. *Análise de cepas colonizadoras de Haemophilus influenzae em crianças de creches ligadas a Secretaria de Educação de Ribeirão Preto*. [Tese] Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP; 2004.

Massuda K, Massuda R, Nishi JI, Tokuda K, Yoshinaga M, Myata K. Incidences of nasopharyngeal colonization of respiratory bacterial pathogens in Japanese children attending day-care centers. *Pediatr Internat* 2002;44:376-80.

McVernon J, Johnson PDR, Polard AJ, Slack MPE, Moxon ER. Immunologic memory in *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine failure. *Arch Dis Child* 2003;88:379-83.

Moxon ER. *Haemophilus influenzae*. In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R.(eds): Mandel, Douglas, and Bennett×s, *Principles and Practice of Infectious Disease*. 4th ed. New York: Churchill-Livingstone; 1995. p.2039-45.

Myerowitz RL, Norden CW, Demchak TA. Significance of noncapsular antigens in protection against experimental *Haemophilus influenzae* type b disease cross-reativity. *Infect Immun* 1987;21:619-26.

Nagao AT, Costa-Carvalho BT, Arslanian C, Solé D, Naspitz C, Carneiro-Sampaio, MMS. Placental transfer of IgG natibodies against *Haemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide in Brazilian term and preterm newborns**.** *J Trop Pediatr* 1999;45:171-3.

Oberhofer FR, Back AE. Biotypes of *Haemophilus influenzae* encountered in clinical laboratories. *J Clin Microbiol* 1979;10:168-74.

Osterholm MT, Pierson LM, White KE, Libb TA, Kuritsky JN, McCullough JG. The risk of subsequent transmission of *Haemophilus influenzae* type *b* disease among children in day care. *New Engl J Med* 1987;316:1-5.

Peerbooms PGM, Engelen MN, Stokman DAJ, van Benthem BHB, van Weert ML, Bruisten SM, van Belkum A, Coutinho RA. Nasopharyngeal carriage of potencial bacterial pathogens related to day care attendance, with special reference to the molecular epidemiology of *Haemophilus influenzae. J Clin Microbiol* 2002;40:2832-6.

Peltola H. *Haemophilus influenzae* type b disease and vaccination in Latin America and The Caribbean. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:780-7.

Peltola H. Worldwide *Haemophilus influenzae* influence type b disease at the beginning of the 21 st century: Global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:302-17.

Pittman M. Variation and type specificity in the bacterial species *Haemophilus influenzae*. *J Exp Med* 1931;53:471-95.

Raymond J, Lefevre LA, Moulin F, Dabernat H, Commeau A, Gendrel D, Berche P. Nasopharyngeal colonization by *Haemophilus influenzae* in children living in an orphanage. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:779-84**.**

Redmond SR, Pichichero ME. *Haemophilus influenzae* type b disease an epidemiological study with special reference to day-care centers. *JAMA* 1984;252:2581-4.

Ribeiro GS, Reis JN, Cordeiro SM, Lima JBT, Goveia EL, Petersen M. Prevention of *Haemophilus influenzae* type b (Hib) meningitis and emergence of serotyping replacement with type a strains after introduction of Hib immunization in Brazil. *J Infect Dis* 2003;187:109-16

St Geme III JW, Cutter D. Influence of pili, fibrils, and capsule on in vitro adherence by *Haemophilus influenzae* type b. *Mol Microbiol* 1996;21:21-31.

Sottnek FO, Albritton WL. *Haemophilus influenzae* biotype VIII. *J Clin Microbiol* 1984;20:815-6.

Stratchounski LS, Kretchikova OI, Reshedko GK, Stetsiouk OU, Kandalov MM, Egorova OA, Boyko LM, Ryabkova EL, Tarasova GD, Blokhin BM. Antimicrobial susceptibility of nasopharyngeal isolates of *Haemophilus influenzae* from healthy children in day-care centers: results of multicentre study in Russia. *Int J Antimicrob Agents* 2001;18:347-51.

Takala AK, Clements DA. Socioeconomic risk factors for invasive *Haemophilus influenzae* type b disease. *J Infect Dis* 1992;165:11-5.

Takala AK, Eskola J, Leinonen M, Nissinen A, Pekkanen E. Reduction of oropharyngeal carriage of *Haemophilus influenzae* type b (Hib) in children immunized with an Hib conjugate vaccine. *J Infect Dis* 1991;164:982-6.

Talon D, Leroy J, Dupont MJ, Bertrand X, Mermet F, Thouverez M, Estavoyer JM. Antibiotic susceptibility and

genotypic characterization of *Haemophilus influenzae* strains isolated from nasopharyngeal specimens from children in day-care centers in eastern France. *Clin Microbiol Infect* 2000;6:519-24.

Teele DW. Otitis media in infancy and intellectual ability, school achievement, speech, and language at age 7 years. *J Infect Dis* 1990;162:685-94.

Tenover FC. Molecular methods for the clinical microbiology laboratory. In: Balows A, editor. *Manual of clinical microbiology.* 5th ed. Washington (DC): ASM; 1991. p. 119-27.

Trotier S, Stenberg K, von Rose A, Svanborg C. *Haemophilus influenzae* causing conjunctivitis in day-care children. *Pediatr Infect Dis J* 1991;10:578-84

Urwin G, Krohn JA, Deaver-Robinson K, Wenger JD, Farley MM. Invasive disease due to *Haemophilus influenzae* serotype f: clinical and epidemiologic characteristics in the *H. influenzae* serotype b vaccine era. The *Haemophilus influenzae* study group. *Clin Infect Dis* 1996;22:1069-76.

van Alphen L. Epidemiology and prevention of respiratory tract infections due to nonencapsulated *Haemophilus influenzae*. *J Infect Dis* 1992;165:S177-80.