

MARIANA GROCHOSKI

REVISÃO DA LITERATURA SOBRE OS PRINCIPAIS AVANÇOS
DESCRITOS NOS ÚLTIMOS SEIS ANOS, NO QUE TANGE À
SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA, AO DESENVOLVIMENTO DE
VACINAS E AO PAPEL DO ESTREPTOCOCO BETA-
HEMOLÍTICO DO GRUPO A NA PATOGÊNESE DA FEBRE
REUMÁTICA

Monografia apresentada à Banca
Examinadora da Universidade
Federal do Paraná, como requisito
parcial para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.
Prof^a orientadora: Eni Picchioni
Bompeixe.

CURITIBA

2005

Aos meus pais, irmãos e namorado, com amor e reconhecimento pelo apoio e incentivo incondicionais.

Às professoras Eni Picchioni Bompeixe e Nádía Gaiofatto Gonçalves pela orientação e sugestões de extrema valia que em muito contribuíram para a confecção deste trabalho.

À professora Thelma Veiga, pela disponibilidade, cooperação e constante incentivo.

“Ao final desta avaliação clínica não posso omitir o relativo desconhecimento atual sobre aspectos fundamentais da febre reumática. Hoje é menos freqüente nos países mais evoluídos e também entre nós, mas ainda ocorre, invalida e mata, apesar de suas expressivas diferenças de presença e de gravidade, em todo o território nacional. Sinto-me preocupado com a ignorância, desculpem-me a rudeza da palavra, em relação às medidas de prevenção da doença em seu estado inicial e recorrente. Esta prevenção é mantida de forma irregular ou mesmo abandonada, no desconhecido da responsabilidade das atitudes”.

Prof. Dr. Luiz Vénere Decourt

RESUMO

Neste trabalho, investigou-se a existência de dados da literatura atual que abordam os principais avanços descritos nos últimos seis anos, no que tange à susceptibilidade genética, ao desenvolvimento de vacinas e a etiopatogenia da febre reumática. Outros aspectos também foram considerados, entre eles, citam-se: (1) o papel do estreptococo beta-hemolítico do grupo A, na patogênese da febre reumática; (2) o papel do mimetismo molecular na patogênese da doença; (3) as vacinas propostas para a prevenção da infecção pelo estreptococo; (4) a associação genética com a febre reumática. Considerando-se os avanços dos estudos atrelados ao conhecimento biológico da aludida doença, pressupôs-se que: (1) a etiopatogenia da doença foi elucidada, de tal forma que se sabe, pormenorizadamente, o mecanismo responsável pelo desenvolvimento da doença; (2) a associação entre febre reumática e susceptibilidade genética foi esclarecida; (3) o gene responsável pela susceptibilidade genética foi determinado; (4) existem vacinas contra estreptococo beta-hemolítico; etc. A problemática levantada neste estudo envolveu a verificação de informações produzidas no intervalo de 2000 a 2005, quanto aos temas anteriormente citados, e, para tanto, foram analisados 68 artigos, dos quais quatro são referentes ao ano 2000, 17 ao ano 2001, 16 ao ano 2002, 15 ao ano 2003, 14 ao ano 2004 e 2 ao ano de 2005. Para a coleta de tais artigos utilizaram-se as seguintes fontes de busca: bases de dados eletrônicas on-line, como Portal da Capes; Biblioteca Virtual; Medline- Bireme, Medline- PubMed, Scielo, Lilacs, Google, Science Direct, entre outros (todos disponíveis no site da Universidade Federal do Paraná); busca manual em índices não-computadorizados; referências bibliográficas de outros artigos; etc. Como este trabalho se baseou na análise de artigos, obtidos

principalmente em bases de dados eletrônicas, muitas delas só passíveis de serem acessadas nos computadores da Universidade Federal do Paraná, houve uma significativa dificuldade de se executar a busca e a coleta destes documentos, principalmente, pela falta de computadores disponíveis na aludida entidade de ensino. A busca manual de artigos, efetuada somente nessa instituição e na Faculdade Evangélica do Paraná, também foi mitigada, principalmente pelo fato de que se trata de artigos muito recentes. A partir da análise dos trabalhos coletados, pôde-se verificar que muitas das pesquisas avaliadas enfocavam, especificamente, o desenvolvimento de vacinas e, um número reduzido de estudos explorou pormenorizadamente, a relação entre a susceptibilidade genética e a febre reumática. Além disso, pode-se constatar que nenhuma das questões levantadas neste trabalho foram completamente elucidadas: ainda não se conhece realmente os mecanismos envolvidos na patogênese da doença; não se determinou, embora existam algumas evidências dos genes envolvidos na susceptibilidade genética da doença em questão, e, ainda não foi formulada nenhuma vacina licenciada para uso humano. Assim, conclui-se que muitos estudos necessitam ser efetuados para que maiores avanços nestes aspectos possam ser atingidos.

PALAVRAS-CHAVE: febre reumática, patogénia, susceptibilidade genética, desenvolvimento de vacinas.

ABSTRACT

In this study, the existence of data of the current literature was investigated that they approach the main progresses described in the last six years, related to the genetic susceptibility, to the development of vaccines and the pathogenesis of the rheumatic fever. Other aspects were also considered, among them, they make an appointment: (1) the role of the group A beta-hemolytic streptococcal, in the pathogenesis of the rheumatic fever; (2) the role of the mimetism molecular in the pathogenesis of the disease; (3) the vaccines proposed for the prevention of the infection by the group A streptococcal; (4) the genetic association with the rheumatic fever. If we consider the progresses of the studies associated to the biological knowledge of the mentioned disease, it was presupposed that: (1) the etiopathogenesis of the disease was elucidated, in such a way that it is known, in detail, the responsible mechanism for the development of the disease; (2) the association between rheumatic fever and genetic susceptibility was discovery; (3) the responsible gene for the genetic susceptibility was determined; (4) vaccines exist against beta-hemolytic streptococcal; etc. The problem approached in this study involved the verification of information produced in the interval from 2000 to 2005, with relations to the themes previously mentioned, and, for so much, 68 articles were analyzed, of the which four are referring to the year 2000, 17 to the year 2001, 16 to the year 2002, 15 to the year 2003, 14 a year 2004 and 2 to the year of 2005. For the collect of such articles the following search sources were used: bases of data electronics on-line, as Capes' Portal; Virtual library; Medline - Bireme, Medline - PubMed, Scielo, Lilacs, Google, Science Direct, among other (all available ones in the site of the Federal University of Parana); it looks for manual in no-computerized

indexes; bibliographical references of another articles; etc. As this research was based on the analysis of articles, obtained mainly in bases of data electronics, many of them were accessed in the computers of the Federal University of Parana, there was a significant difficulty of executing the search and the collect of these documents, mainly, for the lack of available computers in mentioned teaching entity. The manual search of articles only made in that institution and in the Evangelical College of Parana, it was also reduced, mainly goes the fact that they plows very recent publications. Starting from the analysis of the collected data, it could be verified that many of the appraised researches focused, specifically, the development of vaccines and, a reduced number of studies explored in detail, the relations between the genetic susceptibility and the rheumatic fever. Besides, it can be consisted that none of the subjects lifted in this work was completely elucidated: they don't still know really the mechanisms involved in the pathogenesis of the disease; it was not determined, although there are some evidences of the genes involved in the genetic susceptibility of the disease, and, any licensed vaccine was not still formulated for human use. Thus, it is ended that many studies need to be made so that larger progresses in these aspects can be reached.

KEY-WORDS: rheumatic fever, pathogenesis, genetic susceptibility, development of vaccines.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 METODOLOGIA.....	25
3 DESENVOLVIMENTO.....	27
3.1 ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE OS ARTIGOS ANALISADOS.....	27
3.2 ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE ESTREPTOCOCOS.....	29
3.2.1 A PROTEÍNA M.....	42
3.3 ETIOPATOGENIA DA FEBRE REUMÁTICA.....	48
3.4 SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA E A FEBRE REUMÁTICA.....	61
3.5 DESENVOLVIMENTO DE VACINAS.....	72
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	91
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
6 ANEXOS.....	108

LISTA DE FIGURAS

ESQUEMA 01- Localização esquemática da proteína M, no estreptococo.....	43
FIGURA 01- Fatores envolvidos na patogênese da febre reumática.....	60
FIGURA 02- Coleta do material da orofaringe.....	108
FIGURA 03- Placa com semeadura.....	108
FIGURA 04- Antibiograma.....	108
FIGURA 05- Nódulo subcutâneo.....	109
FIGURA 06- Eritema marginado.....	109
FIGURA 07- Nódulo de Aschoff.....	109

FIGURA 08- Eletromicrografia (96,000X) do <i>S. pyogenes</i>.....	110
FIGURA 09- Eletromicrografia (20,000X) do <i>S. pyogenes</i>.....	110
GRÁFICO 01- Relação entre o número de artigos e o ano de publicação.....	27
GRÁFICO 02- A relação entre os temas comentados nos artigos publicados nos cinco anos considerados.....	28
GRÁFICO 03- A relação dos anos que possuem mais artigos contendo os três temas considerados neste trabalho.....	28

LISTA DE TABELAS

TABELA 01- Características de <i>S. pyogenes</i>.....	32
TABELA 02- Relação entre sorotipos de estreptococos do grupo A e doença mais frequentemente vinculados.....	44
TABELA 03- Antígenos HLA dominantes nas diferentes populações.....	66
TABELA 04- Características gerais dos FcγR presentes em humanos.....	71

1 INTRODUÇÃO

A relação entre a infecção de garganta e a febre reumática, foi apontada por Cheadle, em 1889 (OLIVIER, 2000), no entanto, apenas em 1930 evidenciou-se a íntima relação entre a faringite estreptocócica e o início da febre reumática (COLLIS, 1932; OLIVIER, 2000). No final do século XIX, vários autores apontaram o papel do estreptococo e a característica não-supurativa e proliferativa da doença (GROCHOSKI et al., 2004).

Estudos nas décadas de 30 e 40 sugeriam a associação entre uma infecção de orofaringe por estreptococo beta-hemolítico e a doença reumática aguda. Pesquisas efetuadas por Rebecca Lancefield permitiram a classificação do estreptococo como grupo A e a descrição de sua composição celular, sugerindo questões que tratavam das funções biológicas e das relações, da bactéria mencionada, com o homem. A ocorrência de um processo auto-imune na doença reumática foi admitida após a constatação de que os danos cardíacos estavam atrelados a anticorpos circulantes que reconheciam o tecido cardíaco. Kaplan (1991, apud GUILHERME & KALIL, 2002), ratificou, através da investigação de coelhos imunizados com extrato de parede celular do estreptococo, que anti-soros reagiam, como esperado, com o estreptococo, mas também, com o tecido cardíaco. Evidenciou, inclusive, a ocorrência de anticorpos reativos contra o coração no soro de pacientes sujeitos à plástica de valva, sugerindo que as lesões no tecido cardíaco poderiam ocorrer por mimetismo biológico (GUILHERME & KALIL, 2002).

A febre reumática é uma complicação sistêmica e auto-imune, da infecção por *Streptococcus pyogenes* (ver figuras 08 e 09, em ANEXOS) que acomete, preferencialmente, indivíduos de cinco a 15 anos, em idade escolar, sem predileção

sexual, durante os meses de outono e inverno (NETO & BALDY, 1989; MURRAY et al., 1992). As infecções por *S. pyogenes* são mais corriqueiras na infância e na adolescência, pois as infecções sucessivas (sintomáticas e inaparentes) pelos diferentes tipos antigênicos prevalentes na comunidade vão concedendo proteção específica duradoura contra esses agentes. Aproximadamente 15% dos indivíduos com faringite estreptocócica podem se tornar portadores assintomáticos dos estreptococos após tratamento (KONEMAN et al., 2001).

A doença ocorre, tipicamente, por surtos associados à reinfecções estreptocócicas (BIER, 1984). É caracterizada por alterações inflamatórias não supurativas, que comprometem o coração, articulações, vasos sanguíneos, tecido celular subcutâneo e o sistema nervoso central (SPAUN et al., 1961; Manual de Exames Fleury, 1999). Pode haver lesão crônica progressiva das válvulas cardíacas, embora sejam incógnitos os processos peculiares de lesão tecidual (MURRAY et al., 1992).

Apesar da incidência da febre reumática, em países desenvolvidos, ter minorado, a quantia de casos continua consideravelmente elevada nos países do Terceiro Mundo (TORRES, 1994; MICHIELIN et al., 1994; CARMO et al., 1994; GUS, ZASLAVSKY, SEGER, MACHADO, 1995; STOLLERMAN, 1997, apud SCHEIBEL et al., 2001; RACHID, 2002). Zamen e Rouf (1998, apud RACHID, 2002) averiguaram em Bangladesh, no período de 1990 a 1995, 630 pessoas com febre reumática, em uma faixa etária de três a 30 anos. Do total das pessoas doentes, 1% tinha idade inferior a cinco anos e 22% tinha idade superior a 15 anos. Desta maneira, concluiu-se que nessa região a febre reumática incide em indivíduos de cinco a 22 anos e não de cinco a 15 anos como em áreas de melhor economia (RACHID, 2002).

Ainda que se verifique, recentemente, uma redução do número de casos de febre reumática, desconhece-se as razões que acarretaram essa situação (GROCHOSKI et al., 2004). Inicialmente, considerou-se que o avanço social, nutricional, de higiene e a atenção médica facilitada poderiam ter contribuído para isso (RACHID, 2002). O emprego de antibióticos para tratamento da infecção de garganta também foi considerado como sendo um fator que permitiu abortar a estreptococcia (todavia, ressalta-se que já se verificava um declínio do número de casos da doença, mesmo na era pré-antibiótica). Posteriormente, confiou-se que alterações nas características bioquímicas e na virulência das cepas estreptocócicas mais prevalentes, e, por conseguinte, mudanças no potencial reumatogênico do estreptococo também exerceriam influência nessa questão (RACHID, 2002). Por fim, considerou-se que o isolamento significativo, entre 1970 e 1980, dos nomeados soropositivos M e a imunidade do hospedeiro à proteína M, também promoveriam um decréscimo considerável no número de casos de febre reumática (RACHID, 2002). Contudo, sabe-se atualmente que a maior ou menor ocorrência da febre reumática está relacionada a: (1) propriedades estruturais da proteína M, (2) encapsulação e (3) síntese de toxinas (RACHID, 2002).

Na ausência de exame laboratorial específico para reconhecer pacientes com febre reumática, o diagnóstico é feito através de parâmetros clínicos (BIER, 1984). O diagnóstico fundamenta-se na história clínica e na presença de dois dos cinco principais critérios de Jones (BIER et al., 1989):

- Eritema marginado (**ver figura 06, em ANEXOS**): caracteriza-se por lesões cutâneas de bordas ruborizadas, com centro claro, não pruriginosas, que não acometem a face. É considerado um sinal raro, transitório e migratório. Geralmente indica pior prognóstico (cardite) e pode ocorrer nas extremidades inferiores

(RUTSTEIN et al., 1955; YUNIS, 1983; SENITZER & DREIMER, 1984; DENNY, 1987; VELLOSO et al., 1991, apud OLIVEIRA, SILVA, VIJLE, 1997). O eritema inicia como máculo-pápulas discretamente avermelhadas, achatadas ou algo elevadas, que aumentam de forma progressiva (COTRAN et al., 1996).

- Coréia de Sydenham: é um distúrbio neurológico caracterizado por movimentos involuntários, abruptos, arrítmicos, rápidos e sem finalidade; fraqueza muscular e labilidade emocional (COTRAN et al., 1996; MARKOWITZ & GORDIS, 1972; BISNO, 1988, apud OLIVEIRA, SILVA, VIJLE, 1997; GUILHOTO et al., 1997). A coréia ocorre em crianças e adolescentes, mais freqüentemente entre as idades de cinco e 15 anos; somente 3% dos casos relatados ocorrem antes dos cinco anos (NAUSIEDA et al., 1980; NAUSIEDA, 1986, apud GUILHOTO et al., 1997). Há predomínio de casos no sexo feminino e nos pacientes da raça branca (SCHWARTZMAN, McDONALD, PERILLO, 1948, apud GUILHOTO et al., 1997). Os movimentos coréicos podem afetar qualquer parte do corpo, de forma unilateral ou bilateral (GUILHOTO et al., 1997). Ocorrem principalmente em repouso, desaparecendo durante o sono (ARON, FREEMAN, CARTER, 1965, apud GUILHOTO et al., 1997). Após as manifestações iniciais, há piora em um período de uma a quatro semanas, seguido por estabilização e depois melhora do quadro clínico, com recuperação após semanas ou meses. Recentemente, Marques et al. (2001, apud RACHID, 2002) averiguaram uma nova manifestação neurológica relacionada à febre reumática. Eles notaram sintomas obsessivo-compulsivos com maior constância em pessoas com coréia ou com febre reumática simples, sem outra aparente manifestação neurológica. Compararam um total de 62 crianças: 20 com febre reumática, 22 com coréia e 20 controles saudáveis e, constataram que aquelas acometidas pela coréia possuíam expressivos índices de desordens

depressivo-maior, tiques e desordens de hiperatividade com déficit de atenção (MERCADANTE, 2000; RACHID, 2002).

- Cardite: a complicação mais significativa desta doença está associada ao acometimento cardíaco. A cardite, notada em 50 a 75% das crianças e em 35% dos adultos; pode consistir em miocardite, endocardite ou pericardite (COTRAN et al., 1996; OLIVEIRA, SILVA, VIJLE, 1997). A endocardite caracteriza-se por uma vasculite verrucosa, com edema e deformidade do tecido valvular, espessamento fibroso e fusão das comissuras valvares, levando a graus variados de insuficiência (regurgitação) ou estenose (BISNO, 1988; DAJANI et al., 1990, apud OLIVEIRA, SILVA, VIJLE, 1997). As válvulas mais comprometidas são a mitral e a aorta, raramente a tricúspide, quase nunca a pulmonar. A pericardite reumática consiste de inflamação das camadas do pericárdio e derrame. A miocardite caracteriza-se por taquicardia acentuada precoce, sopros sistólico ou diastólico, cardiomegalia em radiografia de tórax, regurgitação mitral e/ou aórtica. A miocardite sem valvulite raramente constitui manifestação de febre reumática (MURPHY, 1963; SOARES, 1996, apud OLIVEIRA, SILVA, VIJLE, 1997). A pericardite caracteriza-se por dor torácica, bulhas abafadas, derrame (ao ecocardiograma), raramente existe tamponamento cardíaco (DAJANI et al., 1990, apud OLIVEIRA, SILVA, VIJLE, 1997). A cardite é a principal responsável pelos sintomas e os óbitos sucedidos na fase aguda da doença reumática. Pode acarretar danos permanentes e pode levar a morte em decorrência de embolia pulmonar maciça, insuficiência cardíaca refratária e arritmias incontroláveis (VERONESI, 1991).
- Nódulos subcutâneos (**ver figura 05, em ANEXOS**): são estruturas firmes, indolores, situadas preferencialmente acima dos tendões dos extensores das extremidades, nos cotovelos, joelhos, punhos, tornozelos e na região occipital

(KEEFER & WILKINS, 1976; COTRAN et al., 1996; MARKOWITZ & GORDIS, 1972; DENNY, 1987, apud OLIVEIRA, SILVA, VIJLE, 1997). Os nódulos subcutâneos, juntamente com o eritema marginado da pele, são lesões presentes em dez a 60% dos casos, mais comumente em crianças (COTRAN et al., 1996).

- Poliartrite migratória das grandes articulações: cerca de uma a cinco semanas após a infecção estreptocócica da orofaringe, surge a artrite em uma ou mais articulações, geralmente nos membros inferiores. A inflamação de uma articulação atinge o máximo de gravidade em 12 a 24 horas, permanecendo assim pelos próximos dois a seis dias. A artrite dessa articulação começa a melhorar enquanto surge artrite em outra articulação, seguindo o mesmo padrão de evolução, e, caracterizando a artrite migratória. Frequentemente, há superposição de artrite em outra articulação, enquanto a primeira ainda está ativa, caracterizando a artrite rapidamente aditiva. A artrite pode migrar ou ser rapidamente aditiva por um período de poucos dias ou de algumas semanas. Em dois terços dos casos, o surto só é severo na primeira semana, enquanto no restante, permanece assim por duas a três semanas. Posteriormente, pode seguir um curso mais leve por uma ou duas semanas. Raramente há casos em que os sintomas duram mais de quatro semanas, sem uso de antiinflamatórios (ZABRISKIE & LEWIS, 1985; DENNY, 1987; DAJANI et al., 1992, apud OLIVEIRA, SILVA, VIJLE, 1997).

Febre baixa e precoce ($< 39^{\circ}$), artralgia, leucocitose, provas de atividade inflamatória elevadas (VHS, proteína C reativa, mucoproteínas), antecedentes de febre reumática e intervalo PR aumentado no eletrocardiograma compreendem critérios de menor notabilidade. Tais sinais são bastante inespecíficos e devem ser interpretados com cautela, pois estão presentes na maioria das doenças inflamatórias, vâsculo-colagenoses, infecciosas e outras afecções constitucionais.

Dessa maneira, admite-se que o diagnóstico da febre reumática não deve estar fundamentado na presença de vários critérios menores isolados (OLIVEIRA, SILVA, VIJLE, 1997).

Os nódulos inflamatórios focais e patognomônicos, designados corpúsculos de Aschoff (**ver figura 07, em ANEXOS**), são mais comuns no coração (sobretudo no miocárdio), apesar de poder ocorrer danos semelhantes em outros locais (ROBBINS et al., 1992). Segundo Cotran et al. (1996), tal corpúsculo consiste de focos de necrose fibrinóide, circundados por macrófagos, linfócitos, células de Anitschkow, também conhecidas por células de Aschoff (as quais correspondem a histiócitos “ativados” tumefeitos).

A morte é incomum durante a febre reumática aguda, sendo comumente subsidiária à miocardite. Caracteristicamente, a miocardite e a artrite são efêmeras e, em grande parte, seguem para a cura; entretanto, o comprometimento valvular pode implicar em válvulas alteradas e fibróticas (ROBBINS et al., 1992).

A relação entre a psoríase e a infecção estreptocócica é avaliada por muitos, há algum tempo. Wardrop e Marais (1998, apud RACHID, 2002) admitem que orofaringites estreptocócicas causam ou, pelo menos, exacerbam uma psoríase já existente ou de manifestação mínima; no entanto, uma correlação pontual com a febre reumática não está aludida.

Depois da evolução de faringo-amigdalites estreptocócicas pode-se verificar complicações como sinusites, otites e mastoidites. Essas ocorrem em um a 3% dos doentes (TRABULSI & TOLEDO, 1991).

Outros aspectos da febre reumática aguda incluem artrite reumática que pode comprometer as artérias coronárias, renais, mesentéricas e cerebrais, bem como a aorta e a artéria pulmonar; e a pneumonite reumática, uma pneumonite

intersticial algumas vezes seguida de pleurite serofibrinosa inespecífica (ROBBINS et al., 1992).

A artrite reumatóide danifica o coração em 20 a 40 % dos casos crônicos graves. O achado típico consiste em pericardite caracterizada por mistura de fibrina e restos necróticos provenientes de granulomas reumatóides pericárdicos. O processo pode avançar para formar aderências densas, fibrosas e potencialmente restritivas. Com menor assiduidade, ocorrem nódulos reumatóides granulomatosos no miocárdio, endocárdio, raiz da aorta ou válvulas, onde são particularmente lesivos. A valvulite reumatóide gera modificações semelhantes às aquelas notadas na cardiopatia reumática, mas classicamente sem fusão comissural (ROBBINS et al., 1992).

Salienta-se que a aplicação do critério de Jones implica a confirmação da ocorrência de estreptococcia, que é constatada pela presença de estreptococo na garganta ou pela análise dos níveis de anticorpos (RACHID, 2002).

Também se utiliza o título de anti-estreptolisina O (ASO), considerado anormal acima de 200 U, tanto pelo método de Todd, como pela nefelometria. Rachid (2002), no entanto, adverte a expressiva ocorrência de falsos positivos a partir deste método e, alerta sobre os riscos de se utilizar apenas uma técnica (no caso do Brasil, há uma tendência de se efetuar diagnóstico apenas pela ocorrência de uma ASO elevada). A existência de títulos elevados de ASO deve ser avaliada de forma criteriosa, pois denota somente uma infecção estreptocócica prévia, fato assíduo em crianças na fase escolar e, portanto, inespecífica para o diagnóstico na ausência de critérios maiores. Além disso, nem todo paciente com febre reumática apresenta títulos elevados de ASO na vigência do surto reumático. Vinte e cinco por cento dos pacientes até dois meses de evolução e 40% com coréia isolada podem

apresentar ASO negativa. O exame deve ser repetido semanalmente na suspeita clínica da doença. Muitas crianças podem ter outras doenças (virais e bacterianas) com ASO elevada (DECOURT, 1972; ZABRISKIE & LEWIS, 1985; DAJANI, 1991, apud OLIVEIRA, SILVA, VIJLE, 1997).

Decisiva para o diagnóstico é a documentação da doença recente por estreptococos do grupo A. As evidências de suporte são dadas pelo acréscimo dos anticorpos ASO, pela cultura de material de orofaringe com estreptococos do grupo A ou por escarlatina recente. Outras provas laboratoriais, como a velocidade de hemossedimentação (VHS), proteína C reativa (PCR), dentre outras, também avaliam o grau de atividade reumática (OLIVEIRA, SILVA, VIJLE, 1997).

Atra e Pollak (1987, apud RACHID, 2002) acompanharam 126 crianças (com faixa etária variando de dois a 16 anos), em um hospital de São Paulo, e verificaram que das 122 crianças encaminhadas inicialmente com diagnóstico de febre reumática, somente 18 mantiveram o diagnóstico inicial. Desta maneira, adverte-se a alta taxa de erros de diagnóstico, que demonstra a necessidade, ainda atual, de profissionais competentes para determinar o diagnóstico diferencial da febre reumática (RACHID, 2002).

A febre reumática tem uma tendência acentuada a ter reativação por infecções estreptocócicas recidivantes. Em geral, a primeira crise gera apenas discreto dano cardíaco que, no entanto, vai piorando a cada recidiva. Logo, é fundamental evitar infecções repetidas por estreptococos hemolíticos do grupo A através da administração profilática de penicilina (JAWETZ et al., 1991).

A prevenção da doença reumática está associada à profilaxia da faringite e da amigdalite causadas por estreptococos do grupo A. A profilaxia do primeiro surto de febre reumática (prevenção primária) depende do diagnóstico preciso de

faringoamigdalite estreptocócica e da indicação precoce de tratamento específico apropriado. As pessoas com precedente de doença reumática possuem risco elevado de recorrência da doença, como complicação não supurativa da faringoamigdalite estreptocócica; por isso, admitindo-se a morbidade da doença reumática (comprometimento cardíaco, coréia, etc.), há recomendação de antibiótico-profilaxia. O procedimento mais válido corresponde à administração intramuscular de penicilina G benzatina (benzilpenicilina), na dose de 1.200.000 U para adultos e crianças com massa igual ou superior a 25 kg, e de 600.000 U para crianças com menos de 25 kg, em intervalos de 21 ou 28 dias. Quanto às crianças essa conduta deve ser sustentada, no mínimo, até alcançarem a idade de 18 a 21 anos. Nos adultos, deve se prorrogar por um período de cinco a sete anos depois do surto da doença reumática. Aos alérgicos à penicilina prescreve-se a eritromicina ou a sulfadiazina por via oral (MURRAY et al., 1992).

A penicilina benzatina suprime as manifestações clínicas e, conseqüentemente, extingue a possibilidade de complicações supurativas e promove uma erradicação breve das bactérias, com o intento de evitar que sejam liberados os produtos responsáveis pelas complicações tardias não supurativas, notadamente, a moléstia reumática. Esses objetivos são atingidos ao se manter os níveis séricos eficazes desse antibiótico por pelo menos dez dias (MURRAY et al., 1992).

Terreri et al. (2002, apud GROCHOSKI et al., 2004) analisaram um grupo de 290 pacientes com febre reumática, no período de 1986 e 1999, e constataram que mesmo efetuando a profilaxia com penicilina benzatina, as crianças com febre reumática possuíam um risco mais elevado de recorrência de coréia. Silva et al. (1999, apud TERRERI et al., 2002), ao acompanhar 786 crianças diagnosticadas de

acordo com os critérios de Jones também constatou que, apesar da profilaxia secundária recomendada, 147 (18,6%) crianças apresentaram, pelo menos, uma recorrência.

Estudos desenvolvidos por Havel et al. (2000, apud RACHID, 2002) indicam que a carbamazepina seja o medicamento mais bem recomendado para o tratamento da Coréia de Sydenham. Voss et al. (2001, apud RACHID, 2002), ao manipular essa substância em 55 pacientes, dos quais 39 possuía cardite e/ou poliartrite migratória verificou, depois de 12 meses, resultados importantes, sugerindo uma alteração positiva do curso da doença. Desta forma, admite-se que a administração de imunoglobulinas IV pode minorar a extensão e a severidade da febre reumática (RACHID, 2002).

A etiopatogenia e a susceptibilidade genética são questões, ainda pouco esclarecidas. Evidências indicam que os processos que provocam os danos teciduais têm uma natureza auto-imune (BENOIST & MATHIS, 2001). Mesmo que a patogênese das complicações tardias não supurativas das infecções causadas por estreptococos do grupo A não esteja inteiramente explicada, há indícios de que o carboidrato C, a membrana celular e, especialmente, a proteína M, estejam comprometidos nos fenômenos imunológicos que geram a doença reumática. A esta finalidade, já se comprovou a existência de reações cruzadas entre antígenos do estreptococo e o sarcolema das fibras miocárdicas (NETO & BALDY, 1989).

Segundo Bessen et al. (1995, apud SCHEIBEL et al., 2001), a febre reumática só se manifesta em indivíduos geneticamente susceptíveis, em ambiente propício, com precedente de infecção por estreptococo beta-hemolítico do grupo A. Admite-se que, a necessidade de se definir o marcador da febre reumática está relacionada à possibilidade de se estabelecer a população de risco que teria

prioridade em receber uma vacina para a profilaxia da estreptococcia no futuro (TERRERI & HILÁRIO, 1996).

Segundo Guilherme e Kalil (2002), considera-se a possibilidade de desenvolver uma vacina segura e eficaz contra o estreptococo beta-hemolítico a partir da compreensão da doença e da discriminação dos epítomos da proteína M de reação cruzada, bem como a identificação de epítomos protetores. Diversos estudos foram e estão sendo efetuados, empregando-se regiões das porções amino e carboxila-terminal, da proteína M (SCOTT et al., 1985; BESSEN & FISCHETTI, 1988, 1990; FISCHETTI et al., 1993; PRUKSAKORN et al., 1994; MEDAGLINI et al., 1995; BRANDT et al., 1997; FISCHETTI et al., 1998; FLUCKIGER, 1998; BRANDT et al., 2000; OSHIRO, 2000, apud GUILHERME & KALIL, 2002; DUNN et al., 2002).

Neste sentido, no presente trabalho investigou-se a existência de dados da literatura atual que aborda os principais avanços descritos nos últimos seis anos, no que tange a susceptibilidade genética, ao desenvolvimento de vacinas e a etiopatogenia da febre reumática. Outros aspectos também foram considerados, dentre eles, citam-se: (1) o papel do estreptococo beta-hemolítico do grupo A, na patogênese da febre reumática; (2) o papel do mimetismo molecular na patogênese da doença; (3) as vacinas propostas para a profilaxia; (4) a associação genética com a febre reumática.

Admite-se que o avanço dos estudos atrelados ao conhecimento da biologia da aludida doença, tem permitido uma maior compreensão e esclarecimento sobre alguns processos associados à formulação de vacinas, patogenia e envolvimento genético.

A partir disso, pressupôs-se que: (1) a etiopatogenia da doença foi elucidada, de tal forma que se sabe, pormenorizadamente, o mecanismo

responsável pelo desenvolvimento da doença; (2) a associação entre febre reumática e susceptibilidade genética foi esclarecida; (3) o gene responsável pela susceptibilidade genética foi determinado; (4) existem vacinas contra estreptococo beta-hemolítico; etc.

Desta maneira, essa pesquisa visou contribuir com subsídios para a discussão das recentes descobertas relacionadas aos quesitos anteriormente expostos, bem como auxiliar decisões para políticas de saúde.

2 METODOLOGIA

Esta pesquisa caracterizou-se pela revisão da literatura (essencialmente, de artigos) dos últimos seis anos, portanto, publicados no intervalo de 2000 a 2005, que tratam da susceptibilidade genética, do desenvolvimento de vacinas e do papel do estreptococo beta-hemolítico do grupo A na patogênese da febre reumática. Todos os documentos obtidos foram organizados de acordo com o ano de publicação.

Dentre as fontes de busca utilizadas, citam-se:

- Bases de dados eletrônicas on-line: Portal da Capes; Biblioteca Virtual; Medline- Bireme, Medline- PubMed, Scielo, Lilacs, Science Direct, entre outros (todos disponíveis no site da Universidade Federal do Paraná, a saber: <http://www.portal.ufpr.br>);
- Busca manual em índices não-computadorizados;
- Referências bibliográficas de outros artigos; etc.

Somente foram coletados e analisados artigos em português, espanhol, mas, principalmente, em inglês.

Somente foram pesquisados artigos em revistas, jornais, dentre outros recursos, disponíveis na Universidade Federal do Paraná e na Faculdade Evangélica do Paraná. Porém, a busca manual de artigos, também foi mitigada, sobretudo pelo fato de que se trata de artigos muito recentes.

Como este trabalho se baseou na análise de artigos, obtidos especialmente em bases de dados eletrônicas, muitas delas só passíveis de serem acessadas nos computadores da Universidade Federal do Paraná, houve uma expressiva dificuldade de se executar a busca e a coleta desses documentos, por alguns motivos, a saber: (1) por diversas vezes, não foi possível acessar a internet pelos

computadores da biblioteca e da sala disponível aos alunos da biologia, designada por “sala abacate”; (2) a ausência de computadores na sala da professora orientadora e no laboratório onde se desenvolvem as atividades do estágio referente ao estudo e à prevenção da febre reumática em escolares da rede municipal da cidade de Campo Largo; (3) o elevado custo para solicitar, via biblioteca, os artigos presentes em outras entidades de ensino, os quais, só poderiam ser requeridos se fossem apenas produção brasileira (assim, não foi possível instar artigos, documentos, etc., de outros países); etc.

Nenhum artigo obtido após busca em bases de dados, foi encontrado nas revistas presentes na biblioteca da Universidade Federal do Paraná. Alguns deles poderiam ser obtidos em outras entidades de ensino superior presentes no estado do Paraná, mas, principalmente, nas faculdades e universidades localizadas no estado de São Paulo.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE OS ARTIGOS ANALISADOS

Neste trabalho foram coletados 68 artigos, apontados no item 5 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**, datados do período de 2000 a 2005, referentes à etiopatogenia, susceptibilidade genética e desenvolvimento de vacinas.

A relação entre o número de artigos encontrados e o ano de publicação, está expressa no gráfico 01, a seguir.



GRÁFICO 01- Relação entre o número de artigos e o ano de publicação.

Muitas das pesquisas analisadas neste trabalho enfocaram, especificamente, o desenvolvimento de vacinas e, um número reduzido de estudos explorou, pormenorizadamente, a relação entre a susceptibilidade genética e a febre reumática. A relação entre os temas comentados nos artigos publicados, nos cinco anos considerados, segue exposto no gráfico 02, e, a relação dos anos que

possuem mais artigos contendo os três temas considerados neste trabalho, é mostrada no gráfico 03, a seguir.

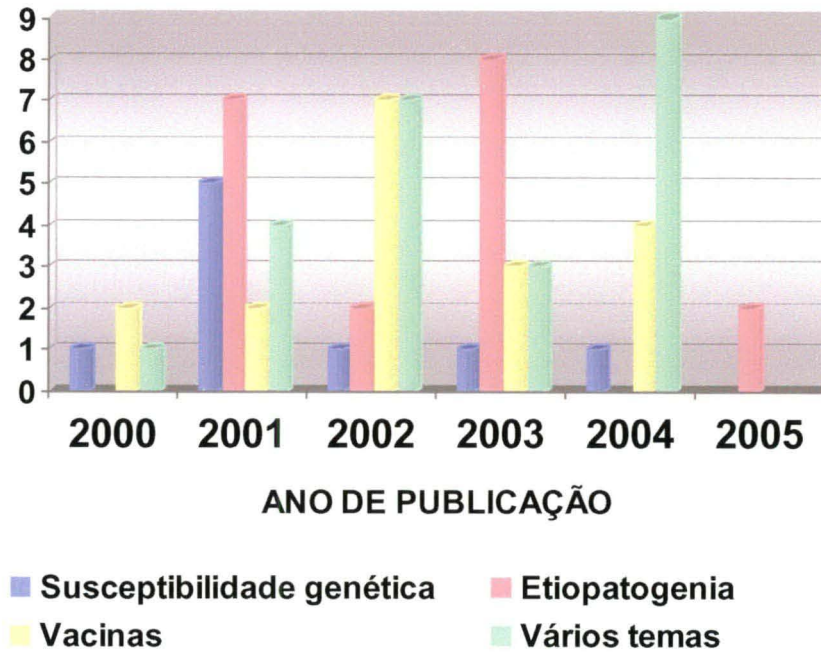


GRÁFICO 02- Relação entre os temas comentados nos artigos publicados nos cinco anos (2000-2004) considerados.

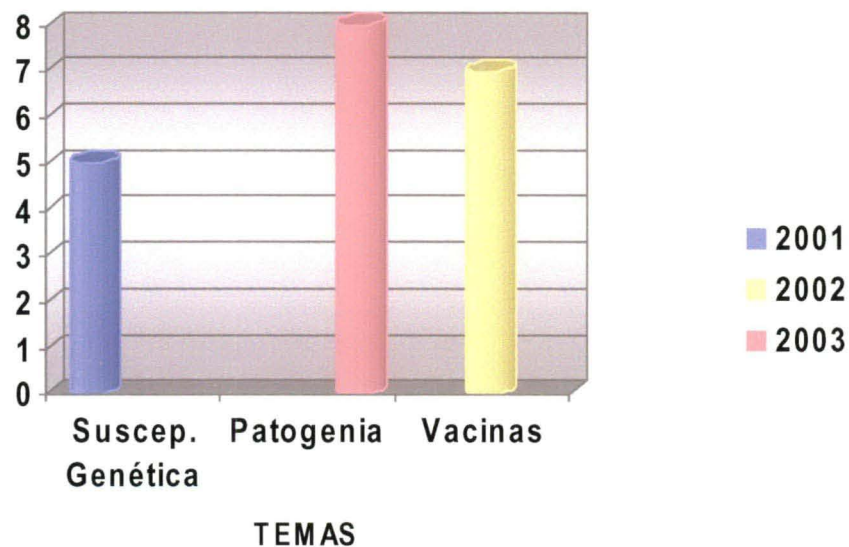


GRÁFICO 03- Relação dos anos que possuem mais artigos contendo os três temas considerados neste trabalho.

3.2 ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE OS ESTREPTOCOCOS

Os estreptococos são bactérias compostas por células (que possuem entre 0,6 a 1,0 μm de diâmetro) ovóides ou esféricas, por vezes alongadas, de maneira a simular bacilos difteróides ou lactobacilos (BIER, 1984; NETO & BALDY, 1989).

A dimensão das cadeias é variável: há estreptococos que formam apenas cadeias de dois elementos ou muito longas, sendo o tamanho condicionado por fatores ambientais (BIER, 1984; JAWETZ et al., 1991).

Os estreptococos patogênicos são mais exigentes, quanto aos meios de cultura, que os estafilococos. Não se desenvolvem ou crescem mal no ágar ou caldo simples; demandam a adição de proteínas termo-coaguláveis, como o soro ou o sangue total (BIER, 1984).

As amostras que supostamente possuem estreptococos devem ser cultivadas em placas de um meio apropriado, contendo sangue e uma base peptonada, rica o suficiente para possibilitar o crescimento de microrganismos exigentes. O ágar basal deve conter infusão de peptonas e ser isento de carboidratos. Mesmo que, de modo geral, as colônias possam ser maiores em meios com glicose após 24 horas, o ácido gerado pela utilização do carboidrato inativa a estreptolisina S dos estreptococos do grupo A e pode afetar a determinação das características hemolíticas do microrganismo. Ao meio basal é adicionado 5% de sangue de carneiro como indicador de hemólise. Menores concentrações de sangue produzem reações hemolíticas difíceis de serem diferenciadas e maiores concentrações podem encobrir completamente a hemólise (KONEMAN et al., 2001).

Como os estreptococos possuem exigentes necessidades para seu crescimento, devem-se adicionar antibióticos (por exemplo, trimetoprim-

sulfametoxazol) às placas de ágar sangue, para suprimir a flora bacteriana oral (NETO & BALDY, 1989; JAWETZ et al., 1991; MURRAY et al., 1992).

Os meios de ágar seletivos também podem aumentar o isolamento de estreptococos do grupo A partindo do material da garganta (KONEMAN et al., 2001).

A família Streptococcaceae apresenta as seguintes características (FADDIN, 2003): (1) não formam esporos; (2) são imóveis; (3) são capsulados (cepas virulentas); (4) catalase negativa e (5) redução do nitrato negativa.

Os estreptococos são oxidase-negativos e, esta propriedade junto com a reatividade à coloração de Gram, diferencia-os das espécies de *Neisseria* (KONEMAN et al., 2001). Os estreptococos são anaeróbios facultativos, embora algumas cepas cresçam melhor em condições de anaerobiose. Muitos isolados também são estimulados pelo aumento de CO₂. Os estreptococos de importância médica são homofermentadores, significando que o único produto da fermentação da glicose é o ácido láctico (KONEMAN et al., 2001).

Considerando-se o tipo de hemólise observada em ágar sangue, os estreptococos são classificados, segundo Schottmüller (1903, apud MURRAY et al., 1992), em:

- alfa-hemolíticos: capazes de determinar halo de hemólise parcial em torno da colônia, com o aparecimento de coloração de tonalidade esverdeada;
- beta-hemolíticos: que determinam lise total das hemácias, em torno das colônias;
- gama-hemolíticos: incapazes de induzir hemólise em placas de ágar sangue.

A descoberta de Lancefield, em 1933 (MURRAY et al., 1992), de que grande número de estreptococos possuía em sua parede celular um componente antigênico característico (carboidrato C), possibilitou classificá-los em diversos grupos sorológicos (A, B, C, D, E, F, G, H, K, pneumococo e *Streptococcus viridans*).

Algumas bactérias, como os estreptococos alfa e não-hemolíticos, são capazes de produzir substâncias semelhantes a antibióticos, denominadas bacteriocinas, que suprimem o crescimento dos estreptococos do grupo A. Em geral, a doença estreptocócica do grupo A é causada por cepas recentemente adquiridas, capazes de estabelecer uma infecção de faringe ou de pele antes da produção de anticorpos específicos, ou que organismos competitivos sejam capazes de proliferar (MURRAY et al., 1992).

As diversas espécies de estreptococos fazem parte, com frequência e localização variáveis, da flora endógena do homem. Os estreptococos microaerófilos (*Streptococcus anginosus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus salivarius*) são componentes da flora normal da boca e da orofaringe (MURRAY et al., 1992).

Quanto à transmissão, a maioria dos estreptococos que fazem parte da flora normal da garganta, da pele e do intestino, causa doenças quando alcançam os tecidos ou o sangue. O *S. pyogenes* é encontrado na superfície da pele e na orofaringe em baixas quantidades (LEVINSON & JAWETZ, 1998, apud GROCHOSKI et al., 2004). Para que um indivíduo com faringite ou faringoamidalite transmita *Streptococcus pyogenes* para uma pessoa suscetível é indispensável contato muito íntimo, na fase aguda da doença: minúsculas gotículas nasofaringenas eliminadas com espirro ou com a tosse; partículas de poeira contaminadas e os fômites têm participação significativa na transmissão dessa bactéria. Alimentos contaminados, particularmente leite e ovos, podem servir de veículo e fonte de infecção para estreptococos do grupo A (NETO & BALDY, 1989).

O *S. pyogenes*, também denominado estreptococos do grupo A de Lancefield (designação baseada nas características antigênicas do carboidrato C,

localizado na parede da célula) ou beta-hemolítico (conforme a divisão em categorias hemolíticas), é o responsável por mais de 90% das faringo-amigdalites bacterianas (TRABULSI & TOLEDO, 1991).

Outras características também importantes para a classificação da espécie de *S. pyogenes* seguem na tabela 01, a seguir (FADDIN, 2003, apud GROCHOSKI et al., 2004).

MEIO DE PROVA	<i>S. Pyogenes</i>
Hemólise, ágar sangue 5%	β
Crescimento a pH 9.6	Negativo
Caldo de NaCl 6,5 %	Negativo
Solubilidade em bile	Insolúvel
Bili 40%	Negativo
Incubação:	
10°C	Negativo
45°C	Negativo

TABELA 01- Características de *S. pyogenes*

FONTE: FADDIN (2003, apud GROCHOSKI et al., 2004).

Tais características auxiliam na identificação do gênero e espécie por meio de provas bioquímicas como, por exemplo (FADDIN, 2003):

- **Prova de solubilidade em bile:** utilizado para controlar a capacidade das células bacterianas em produzir lise na presença de sais biliares, em um tempo e uma temperatura específica.

- **Prova de catalase:** comprova a presença da enzima catalase, utilizada originalmente para diferenciar os gêneros *Streptococcus* de *Micrococcus* e/ou *Staphylococcus*.
- **Prova de motilidade:** determina se um organismo é móvel ou imóvel. As bactérias têm motilidade por meio de seus flagelos, que se encontram principalmente entre os bacilos; entretanto, algumas formas de coco são móveis. As bactérias móveis podem conter um só flagelo ou muitos, além disso, sua localização varia com a espécie bacteriana e com as condições de cultivo. Às vezes, as bactérias com motilidade produzem variantes não móveis que parecem ser estáveis e raramente se transformam em formas móveis. Os organismos não móveis carecem de flagelos.

BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

- **Prova da oxidase:** determina a presença de enzimas oxidases.
- **Prova de redução de nitrato:** determina a capacidade de um organismo de reduzir o nitrato em nitrito ou em nitrogênio livre.

Além da fibrila, que possibilita a fixação da bactéria à mucosa faringo-amigdalina, e da toxina eritrogênica, responsável pelo eritema da escarlatina, o *S. pyogenes* possui estruturas e elabora produtos que participam, em maior ou menor grau, de sua patogenicidade, como os que seguem (MURRAY et al., 1992; KONEMAN et al., 2001; RACHID, 2003; FADDIN, 2003):

- **Cápsula:** formada por ácido hialurônico, componente idêntico ao encontrado no tecido conjuntivo, torna a cápsula não imunogênica e confere resistência à fagocitose.
- **Proteína M:** também interfere na fagocitose. Pormenores relacionados a esse elemento, estão expostos no item 3.2.1 A Proteína M.

- **Ácido lipoteicóico:** corresponde à estrutura antigênica menos importante nos estreptococos do grupo A. Está associado às fímbrias e é exposto na superfície celular. A capacidade dos estreptococos do grupo A de aderência à célula epitelial da orofaringe é mediada por este elemento (GUILHERME & KALIL, 2002). Juntamente com a proteína M, é fundamental no estabelecimento da infecção.
- **Peptideoglicano:** a estrutura básica da parede celular é a camada de peptideoglicano (que corresponde ao estrato interno da parede), que é tóxico para células animais. Os mucopeptídeos presentes nessa camada determinam a forma do estreptococo (RACHID, 2003). Na parede celular estão os antígenos grupo e tipo-específicos dos estreptococos do grupo A (MURRAY, 1992; TERRERI e HILÁRIO, 1996; KONEMAN et al., 2001).
- **Estreptolisina S:** é uma hemolisina ligada à célula não-imunogênica, oxigênio-estável, capaz de lisar hemácias, assim como leucócitos e plaquetas, após contato celular direto. É a hemolisina responsável pelo halo de hemólise, em torno das colônias de *S. pyogenes*, tanto na presença como na ausência de oxigênio. A estreptolisina S também pode estimular a liberação dos conteúdos lisossômicos após fagocitose, com subsequente morte das células fagocitárias.
- **Estreptolisina O:** também é uma hemolisina, mas só é ativa na ausência de oxigênio. Esse elemento parece contribuir para a virulência do *S. pyogenes*, pois, além de lisar hemácias, pode lesar outras células. A estreptolisina O é reversivelmente inativada pelo oxigênio e irreversivelmente pelo colesterol. Ao contrário da estreptolisina S, os anticorpos são imediatamente formados contra a estreptolisina O, e são úteis para documentarem uma infecção recente (teste ASO). Essa hemolisina reage de forma cruzada com toxinas oxigênio-lábeis. A

estreptolisina O é capaz de matar leucócitos através da lise de seus grânulos citoplasmáticos, com liberação de enzimas hidrolíticas (RACHID, 2003).

- **Estreptoquinase:** é uma enzima produzida pela maioria das amostras de *S. pyogenes*. Foram descritas no mínimo duas formas de estreptoquinases, A e B. Essas são capazes de lisar coágulos sanguíneos, e podem ser responsáveis pela rápida disseminação dos estreptococos do grupo A, nos tecidos infectados.
- **Desoxirribonuclease:** foram identificadas quatro desoxirribonucleases (A, B, C e D), imunologicamente distintas. Essas enzimas não são citolíticas, mas são capazes de despolimerizar o DNA livre, presente no pus. Isto reduz a viscosidade do material do abscesso e facilita a disseminação dos organismos.

Outras enzimas foram descritas, incluindo a hialuronidase (fator de disseminação) e difosfopiridina nucleotidase (DPNase), mas o papel dessas na patogenia é desconhecido (FADDIN, 2003).

Duas etapas caracterizam o estabelecimento da infecção por estreptococos. Na primeira, a bactéria se fixa e coloniza a superfície da mucosa e, na segunda, invade, despertando reação inflamatória que pode ser intensa. A fixação da bactéria é mediada por uma fibrila de cuja composição fazem parte a proteína M e o ácido lipoteicóico. A fixação decorre de interações entre a fibrila e moléculas de fibronectina, presentes na superfície da mucosa. Disseminando-se dos focos primários, particularmente das faringo-amigdalites, a bactéria pode determinar bacteremia e infectar diferentes órgãos e tecidos do organismo, além é claro de febre reumática e glomerulonefrite (TRABULSI & TOLEDO, 1991; OLIVIER, 2000).

Variadas pesquisas têm indicado que pacientes com febre reumática aguda, quando confrontados a um grupo controle saudável, possuem maior quantidade de anticorpos para a maior parte dos antígenos estreptocócicos (extracelulares e

antígenos de membrana celular). Indivíduos com cardite apresentam altos níveis de anticorpos para, principalmente, o carboidrato do grupo A (situado na camada média da parede celular) da bactéria. No entanto, não foi verificada hiperimunidade a antígenos estreptocócicos em pessoas acometidas pela febre reumática e, acredita-se que essa hipersensibilidade não exista (TERRERI & HILÁRIO, 1996).

Ayoub et al. (2003, apud GROCHOSKI et al., 2004) analisaram os níveis de anticorpos contra antígenos dos estreptococos pertencentes ao grupo A, em indivíduos acometidos e não por febre reumática, em duas regiões: uma (Grenada) com alta e outra (Flórida central) com baixa incidência desta doença. Verificaram que os níveis de anticorpos eram maiores na região de Grenada; porém, paradoxalmente, constataram que os indivíduos acometidos ou não pela febre reumática, possuíam níveis semelhantes de anticorpos. A provável explicação para esse achado é que as crianças de Grenada estão sujeitadas a uma frequência alta de infecções por estreptococos do grupo A, na forma de faringite ou impetigo.

Os estreptococos podem ser identificados por esfregaços diretos corados com Gram. Os esfregaços de amostras biológicas, preparados a partir de cultivos de estreptococos, de modo geral, mostram cocos Gram-positivos ou Gram variáveis, dispostos aos pares ou em cadeias. As cadeias de células, observadas tanto em preparações de amostras biológicas quanto de cultivos em meios líquidos, tendem a apresentar disposição em pares de células (KONEMAN et al., 2001).

Na maioria dos laboratórios, a incubação dos meios para recuperação de estreptococos do grupo A é realizada durante 48 horas em ambiente de CO₂, considerando que em anaerobiose ocorre crescimento apenas a partir de amostras de pacientes com pequena quantidade de microrganismos ou de portadores de estreptococos do grupo A. A incubação das placas com CO₂ a 10% acelera a

hemólise. A inoculação em cortes nas placas de ágar sangue tem um efeito semelhante, porque o oxigênio não se difunde facilmente através do meio até os microrganismos entranhados profundamente, e é o oxigênio que inativa a estreptolisina O (NETO & BALDY, 1989; JAWETZ et al., 1991; MURRAY et al., 1992; KONEMAN et al., 2001).

A hemólise é mais bem observada por exame de colônias desenvolvidas em condições de anaerobiose ou sob a superfície do ágar em *Pour Plate* ou do ágar semeado por estriapunção, pois, nos estreptococos do grupo A, a atividade máxima das hemolisinas lábeis ao oxigênio (SLO) e estáveis ao oxigênio (SLS) é observada somente em condições de anaerobiose (KONEMAN et al., 2001).

A prova de sensibilidade à bacitracina (**ver figura 04, em ANEXOS**) é utilizada para identificação presuntiva de estreptococos beta-hemolíticos do grupo A. É realizada, após coleta de material de orofaringe (**ver figura 02, em ANEXOS**), em placa de ágar sangue, semeada com estreptococos do grupo A (**ver figura 03, em ANEXOS**), contendo um disco saturado de bacitracina contendo 0,04 a unidade e, após incubação, uma zona de crescimento inibido é considerada positiva para estreptococos do grupo A. Algumas cepas alfa-hemolíticas também são inibidas pela bacitracina. A bacitracina inibe o crescimento de mais de 95% dos estreptococos do grupo A, mas, raramente, o faz naqueles que pertencem a outros grupos. Embora essa prova seja sensível, barata e bastante precisa para identificação de estreptococos do grupo A, não é altamente específica (NETO & BALDY, 1989; JAWETZ et al., 1991; MURRAY et al., 1992; KONEMAN et al., 2001).

Alguns pesquisadores recomendam o uso de discos de bacitracina diretamente em ágar sangue não-seletivo de isolamento primário, para detecção rápida e identificação de estreptococos do grupo A em cultivos de material de

garganta. Entretanto, esse método permite a identificação apenas de 50% a 60% dos isolados (KONEMAN et al., 2001).

O mecanismo de ação dos antibióticos pode ser por inibição: (1) da síntese da parede celular; (2) das funções da membrana citoplasmática e (3) da síntese de ácidos nucléicos e proteínas (MURRAY et al., 1992).

Os estreptococos do grupo A também podem ser rapidamente identificados por uma reação de anticorpo fluorescente. O grupamento sorológico da tipagem, através de testes de precipitina ou co-aglutinação, deve ser realizado, quando necessário, para uma classificação definitiva e por motivos epidemiológicos (NETO & BALDY, 1989; JAWETZ et al., 1991; MURRAY et al., 1992).

A prova SXT (sensibilidade ao sulfametoxazol-trimetoprima) diferencia os estreptococos dos grupos A e B de outros estreptococos beta-hemolíticos. Quando utilizada junto com a prova de bacitracina, auxilia na diferenciação entre estreptococos A e B (KONEMAN et al., 2001).

Podem ser encontradas no comércio placas tripartidas para identificação presuntiva de estreptococos beta-hemolíticos dos grupos A e B (KONEMAN et al., 2001).

A identificação definitiva dos estreptococos do grupo A é feita pela demonstração de carboidratos grupo-específicos, através da detecção direta do antígeno. A identificação específica de tais microorganismos pode ser feita diretamente pela detecção do antígeno grupo-específico. Para isso podem ser usadas colônias isoladas ou a amostra clínica direta. O antígeno grupo-específico é extraído com ácido nitroso ou por método enzimático e o extrato é misturado a anticorpos específicos ligados a partículas de látex, por exemplo. A aglutinação das

partículas do látex ou desenvolvimento de um indicador positivo no procedimento ELISA representa um teste positivo (MURRAY et al., 1992).

Além disso, também podem ser detectados anticorpos, uma vez que, os pacientes infectados por estreptococos do grupo A produzem anticorpos contra várias enzimas específicas. A identificação sorológica de estreptococos beta-hemolíticos é feita através de exames como ASO (anti-estreptolisina O), PCR (proteína C reativa), dentre outros (NETO & BALDY, 1989; JAWETZ et al., 1991; MURRAY et al., 1992; PELCZAR et al., 1996).

ANTICORPOS ANTI-ESTREPTOLISINA O (ASO): Anticorpos anti-estreptolisina O podem ser detectados por diversas técnicas. A dosagem desses anticorpos é muito útil para documentar recente faringite estreptocócica em um paciente com febre reumática. Títulos persistentemente elevados ou ascensão de título entre duas amostras seqüenciais indicam infecção aguda por estreptococo beta-hemolítico do grupo A, ou seqüela pós-estreptocócica. Títulos elevados são observados em 80 a 85% dos pacientes com febre reumática. Os títulos se elevam uma semana após a infecção aguda, alcançam pico em duas a quatro semanas e normalizam após seis a 12 meses. Quando os títulos são menores que 200 UI e existe forte suspeita de febre reumática, é recomendável nova determinação em amostra colhida quatro semanas após a primeira. O paciente não precisa estar em jejum, a amostra utilizada é o soro e o método empregado pode ser imunonefelométrico (PELCZAR et al., 1996).

O princípio metodológico do exame ASO se baseia em partículas de poliestireno recobertas com estreptolisina O que se aglutinam quando misturadas com anti-estreptolisina O. A intensidade da luz dispersa no nefelômetro depende do teor da amostra, de forma que este pode ser medido por comparação com diluições

de um padrão de concentração de anti-estreptolisina O conhecida. A determinação imunológica de anticorpos específicos contra produtos metabólicos de estreptococos fornece valiosas informações sobre uma infecção estreptocócica precedente (SPAUN et al., 1961).

PROTEÍNA C REATIVA (PCR): A proteína C reativa é uma das primeiras proteínas de fase aguda. Sua concentração pode aumentar precocemente de 10 a 100 vezes nas primeiras 12 horas, em processos infecciosos, inflamatórios, infarto do miocárdio, neoplasias, etc. É útil também no seguimento terapêutico das doenças reumáticas, principalmente, em que seu reaparecimento pode sugerir reagudização do processo; e, nas vasculites sistêmicas, como parâmetro para acompanhamento do tratamento (PELCZAR et al., 1996).

Em algumas circunstâncias, a dosagem de PCR pode ser usada para discriminar processo infeccioso bacteriano, quando está elevada, do processo infeccioso viral, quando permanecer em níveis baixos. O paciente não precisa estar em jejum, a amostra utilizada é soro e o método pode ser imunonefelometria (PELCZAR et al., 1996).

Da mesma forma que o ASO, no exame de PCR, as partículas de poliestireno, revestidas de um anticorpo monoclonal contra a proteína C reativa, nas misturas com amostras que contém proteína C reativa ficam aglutinadas. A intensidade da luz difusa no nefelômetro depende da concentração da proteína C reativa da amostra, de forma que, por comparação com diluições de um padrão de concentrações conhecidas, é possível determinar a concentração de proteína C reativa da amostra (WHICHER et al., 1994).

LÁTEX PARA FATOR REUMATÓIDE (FR): O fator reumatóide é um auto-anticorpo, em geral da classe IgM, dirigido contra o fragmento Fc da IgG. A sua

pesquisa e dosagem são úteis para o diagnóstico da artrite reumatóide (AR). Está presente em aproximadamente 80% dos pacientes adultos portadores dessa doença; na artrite reumatóide juvenil é encontrado em apenas 20% dos pacientes. São considerados significativos, para fins diagnósticos, títulos maiores que 80 UI/mL. Este fator não é específico da artrite reumatóide, sendo detectado em títulos menores em outras doenças reumáticas auto-imunes como: LES, escleroderma, síndrome de Sjögren, dermatomiosites e síndromes de superposição; em algumas doenças infecciosas (mononucleose infecciosa, sífilis, tuberculose, hepatite viral, endocardite bacteriana) e em entidades caracterizadas por gamopatias (hanseníase, leishmaniose, sarcoidose, malária e macroglobulinemia de Waldenström, etc.). Reações falso positivas são encontradas em 5% dos indivíduos normais, principalmente nos idosos (PELCZAR et al., 1996).

O exame do fator reumatóide tem o mesmo princípio que os demais já expostos. Partículas de poliestireno recobertas com um imunocomplexo de gama-globulina humana e anti-gama-globulina humana de ovino, aglutinam-se quando misturadas com uma amostra que contenha fator reumatóide. A intensidade da luz dispersa no nefelômetro depende do teor de fator reumatóide da amostra, de forma que, este pode ser medido por comparação com diluições de um padrão com concentração conhecida. Esse exame, diferencial para artrite reumatóide crônica, deve estar negativo na febre reumática (HUSKMAN, 1981).

Em geral, pacientes com artrite reumatóide e com altos títulos de fator reumatóide evoluem com doença mais grave e envolvimento sistêmico mais intenso. Títulos do aludido fator, não são considerados úteis para definir a atividade de doença. Admite-se que a velocidade de hemossedimentação é mais apropriada para indicar o início de atividade (PELCZAR et al., 1996).

3.2.1 A PROTEÍNA M

Essa proteína é o principal antígeno associado aos estreptococos virulentos. Na ausência dessa, as cepas não são infectantes. Ela se localiza no final das fímbrias que são fixadas na parede celular e se estendem através da cápsula. Portanto, a proteína M é exposta em cepas encapsuladas. Tal componente, correspondente ao principal componente anti-fagocitário (GUILHERME & KALIL, 2002; HORVATH et al., 2004), evita a interação com o complemento. Anticorpos contra esta proteína têm ação neutralizante e opsonizante (GUILHERME & KALIL, 2002).

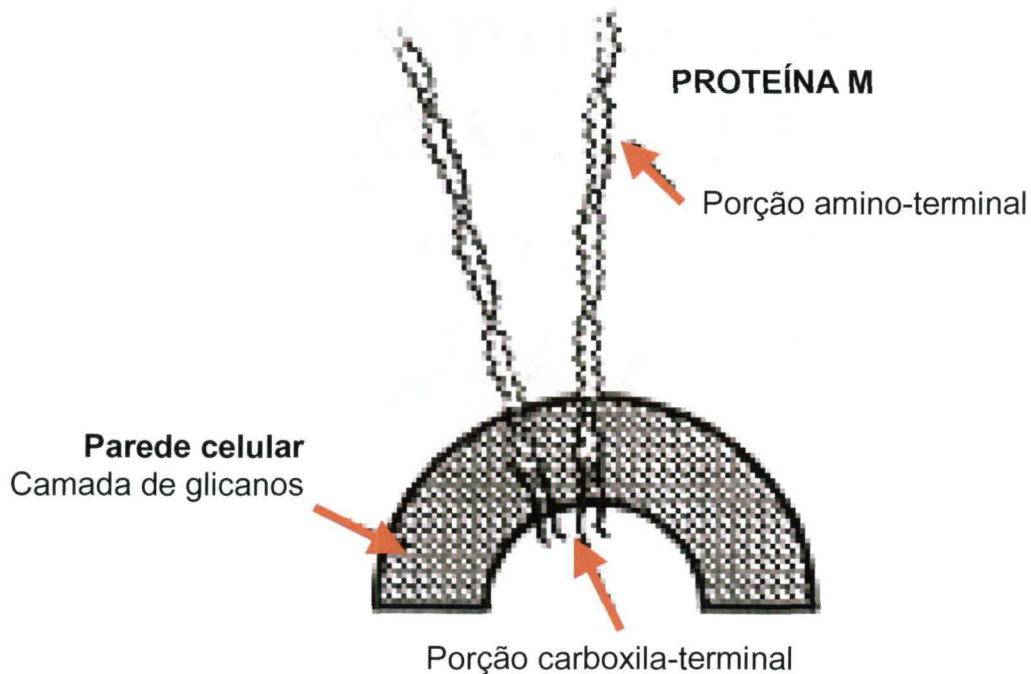
Duas outras proteínas tipo-específicas, também situadas na camada mais externa da parede celular, são os antígenos T e R. As proteínas M, T e R determinam a elevada antigenicidade e promovem a formação de anticorpos (RACHID, 2003).

A proteína M se apresenta, estruturalmente, em módulos de sete aminoácidos, em forma de alfa-hélice, o que lhe confere o caráter fibrilar (BRANDT et al., 2000; GUILHERME & KALIL, 2002). Ela possui hiper-variabilidade nos 11 primeiros resíduos de aminoácidos da porção amino-terminal (constituída por aproximadamente 200 resíduos).

As variações na seqüência de aminoácidos na extremidade em questão determinam os diferentes sorotipos, ou seja, os tipos distintos de estreptococos. Olivier (2000), Fischetti (1991, apud GUILHERME & KALIL, 2002) e Rachid (2003) indicam a existência de mais de 80 sorotipos específicos. Brandt et al. (2000), Hovarth et al. (2002) e Dunn et al. (2002) sugerem a ocorrência de pelo menos 100

sorotipos. A Organização Mundial da Saúde (2004) indica a existência de mais de 130 sorotipos.

A extremidade carboxila-terminal dessa proteína tem epítomos bastante conservados entre os diferentes sorotipos (BRANDT et al., 2001; FISCHETTI, 1991, apud HOVARTH et al., 2002; DUNN et al., 2002; GUILHERME & KALIL, 2002).



ESQUEMA 01- Localização esquemática da proteína M, no estreptococo.

FONTE GUILHERME & KALIL (s.d). Disponível no site:

><http://www.hnet.usp.br/otorino/arq/reuma.htm#1><. Acesso em: 20/04/2005.

Os diferentes sorotipos podem causar infecções de pele, glomerulonefrites, febre reumática, dentre outras doenças. Alguns estudos demonstraram a existência de sorotipos comuns em casos de faringites simples, infecções sistêmicas e febre reumática; todavia, não se elucidou todos os sorotipos e as doenças as quais estão vinculados. Estudos de epidemiologia sugerem que alguns sorotipos estão mais frequentemente associados a determinadas moléstias, como a tabela 02, a seguir, expõe (BRANDT et al., 2001; OLIVIER, 2000).

		DOENÇA	
		FEBRE REUMÁTICA AGUDA	GLOMERULONEFRITE AGUDA
SOROTIPOS	M tipo 1		M tipo 2 *
	M tipo 3		M tipo 4 *
	M tipo 5		M tipo 12 *
	M tipo 6		M tipo 49 **
	M tipo 14		M tipo 55 **
	M tipo 18 ***		M tipo 57 **
	M tipo 19		M tipo 59 **
	M tipo 24		M tipo 60
	M tipo 29		M tipo 61

* Tipos mais freqüentes após infecções de garganta (OLIVIER, 2000).

** Tipos mais freqüentes após infecções de pele (OLIVIER, 2000).

*** Sorotipo associado por décadas à eclosão de febre reumática nos Estados Unidos (SMOOT et al., 2002).

TABELA 02- Relação entre sorotipos de estreptococos do grupo A e doença mais frequentemente vinculados.

FONTE: KAPLAN et al. (1989, apud OLIVIER, 2000); BISNO (1991, apud BRANDT et al., 2001); SMOOT et al. (2002); ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (2004).

Nem todos os sorotipos são igualmente nefritogênicos ou reumatogênicos e, se verifica uma variação geográfica e temporal dos sorotipos, de tal forma que: (1) certos sorotipos são mais freqüentes em alguns países e menos em outros, como ocorre com o sorotipo M 18, o qual é raro na Grã-Bretanha, mas não nos Estados Unidos e (2) alguns surgem e depois de pouco tempo, desaparecem (COLMAN et al., 1993; GAWORZEWSKA & COLMAN, 1988, apud OLIVIER, 2000; BRANDT et al., 2001; SMOOT et al., 2002; BELOV, 2003). A fase de virulência de uma dada

linhagem de estreptococo do grupo A pode ser o determinante inicial da reumatogenicidade (GIBOFSKY & ZABRISKIE, 1993; VEASY & HILL, 1997, apud OLIVIER, 2000).

A pesquisa desenvolvida por Dinkla et al. (2003) mostrou que os sorotipos M 3 e M 18, obtidos de isolados de *S. pyogenes* em um período de grande ocorrência de febre reumática, são os únicos capazes de se ligar a agregados de colágeno tipo IV da membrana basal humana. Constatou-se que o sorotipo M 3, se conecta ao colágeno pela própria proteína M 3, por esse motivo, tal proteína é conhecida como fator de ligação ao colágeno; enquanto o sorotipo M 18 se acopla ao colágeno pela cápsula, constituída por ácido hialurônico. Admite-se que a ligação ao colágeno representa um novo mecanismo de colonização do microorganismo. Além disso, constatou-se que a imunização de camundongos com um recombinante de M 3 purificado gerou anticorpos anti-colágeno tipo IV. Verificou-se, inclusive, que pacientes acometidos por febre reumática possuem um aumento nos níveis desses anticorpos, quando comparados com controles saudáveis. Isso pode sugerir um vínculo entre o potencial das linhagens reumatogênicas para se ligar ao colágeno e a presença de anticorpos colágeno-reativos no soro de pacientes com febre reumática. Acredita-se que tais imunoglobulinas podem ser a base das doenças cardíacas pós-estreptocócicas (DINKLA et al., 2003).

Reid et al. (2002), analisando o genoma dos sorotipos M 1, M 3, e M 18, obtidos do soro de 80 pacientes com infecções invasivas e não invasivas, faringite e febre reumática, identificaram quatro genes codificadores de proteínas extracelulares contendo um aminoácido, denominado de LPXTG, que une covalentemente muitos fatores de virulência produzidos por bactérias gram-positivas. Estudos desenvolvidos sugerem que anticorpos específicos para uma das

proteínas (Spy0843) podem contribuir para a resposta imune protetora do hospedeiro contra a infecção causada pelo sorotipo M 1.

Os estreptococos são freqüentemente classificados em classe I ou II, baseados na presença ou ausência do fator de opacidade e pela reatividade da proteína M com o anticorpo monoclonal, designado por 10B6, que atua em epítomos na região carboxila da molécula (ou sorotipo) M 6. A maioria das linhagens pertencentes à classe I são “proteína M-reativas” e não apresentam o fator de opacidade (o qual é uma apolipoproteinase). Os microorganismos pertencentes à classe II produzem o fator em questão e não são “proteína M-reativas” (HALLAS & WIDDOWSON, 1983; WIDDOWSON et al., 1971, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

As bactérias desses grupos podem ser identificadas e distinguidas a partir da análise da variação molecular encontrada na extremidade carboxila da região terminal da proteína M. Microorganismos incluídos na classe I são de fundamental importância no contexto da febre reumática, uma vez que, são mais frequentemente encontrados após infecções faríngeas (OLIVIER, 2000; BESSEN et al., 1989, 1995; BESSEN & FISCHETTI, 1990, apud BRANDT et al., 2001).

A análise dos níveis de IgG sérico de indivíduos acometidos pela febre reumática, comparado com indivíduos saudáveis e pacientes com faringite simples, demonstrou um considerável aumento do reconhecimento do epítomo classe I-específico (BESSEN et al., 1989; NORTON et al., 1996, apud BRANDT et al., 2001). Dagnelie et al. (1998, apud REHIM et al., 2001), Bahr et al. (1991, apud REHIM et al., 2001) e El-Khateeb (1988, 1989, apud REHIM et al., 2001) também constataram um acréscimo nas concentrações de anticorpos contra os antígenos do estreptococo do grupo A (como estreptolisina O, hialuronidase, estreptoquinase, toxina A

eritrogênica, dentre outros) em crianças com febre reumática aguda ou glomerulonefrite aguda. Embora esse dado induza à idéia da existência de altos níveis de anticorpo para esse epítopo na febre reumática, demonstrou-se que, em populações altamente endêmicas, não se verificam diferenças significativas nos níveis de imunoglobulinas de indivíduos controles saudáveis e pacientes afetados pela doença, sugerindo que os níveis de anticorpo refletem a intensidade de exposição ao estreptococo, e não a doença (BRANDT et al., 1997, apud BRANDT et al., 2001).

Rehim et al. (2001), investigando e comparando anticorpos (de quatro grupos de pacientes egípcios com distintas doenças pós-estreptocócicas e de controles saudáveis) contra antígenos e superantígenos do estreptococo pertencente ao grupo A, verificou que o total de IgG para antígenos extracelulares foram expressivamente elevados em pacientes com febre reumática aguda ou com glomerulonefrite, comparado com os controles; mas, não foram encontradas diferenças nos níveis de IgG para as proteínas célula-associadas entre os grupos analisados. Antígenos extracelular e célula-associados, de vários pesos moleculares, foram reconhecidos nos soros de todos os pacientes (REHIM et al., 2001). Nenhuma evidência foi obtida para supostos antígenos dominantes associados com qualquer grupo de doença, embora proteínas célula-associadas de baixo peso molecular foram claramente reconhecidos em dois terços dos sujeitos, independente do estado de doença (REHIM et al., 2001).

Segundo estudos desenvolvidos por Bessen et al. (1989, apud BRANDT et al., 2001), anticorpos específicos para epítomos classe II têm sido encontrados em indivíduos que possuem altos níveis de anticorpos para os epítomos classe I.

3.3 ETIOPATOGENIA DA FEBRE REUMÁTICA

A associação epidemiológica entre o estreptococo do grupo A, beta-hemolítico, e o subsequente desenvolvimento da febre reumática aguda foi bem estabelecida, segundo a Organização Mundial da Saúde (2004) e Olivier (2000).

Diversos estudos propuseram que a febre reumática decorre de um distúrbio da imunidade humoral e celular do indivíduo na vigência de uma infecção estreptocócica (TERRERI & HILÁRIO, 1996).

Apesar de já estar estabelecida a responsabilidade do estreptococo beta-hemolítico do grupo A na etiopatogenia da febre reumática, ainda há dúvidas a respeito de que esse seja um causador isolado ou, que atue como um co-fator (RACHID, 2003). Além da possibilidade da identificação prévia da tonsilite, outros fatores sugerem a responsabilidade do estreptococo na doença em questão, a saber: (1) surtos esporádicos atuais de febre reumática estão intensamente associados a epidemias de faringite estreptocócica ou de febre escarlatina; (2) o tratamento apropriado da faringite impede o advento da febre reumática; (3) estudos anti-estreptocócicos, se acurados em sua totalidade (anti-estreptolisina O, antihialuronidase, antiestreptoquinase e antidesoxirribonuclease D), mostrar-se-ão positivos e em títulos significativamente altos na fase aguda (DECOURT, 1972, apud RACHID, 2003).

Sabe-se que, tratamentos efetivos das tonsilo-faringites causadas por estreptococo beta-hemolítico do grupo A, reduzem, em aproximadamente 90% dos casos, o risco do desenvolvimento da doença, entretanto, muitos estudos clínicos têm demonstrado a permanência do microorganismo na garganta após tratamento adequado, em 10% dos casos (OLIVIER, 2000). Admite-se que as tonsilas e a

região faringiana são ricas em tecido linfóide, o qual é necessário para iniciar a resposta imune (OLIVIER, 2000).

Admite-se, inclusive, a possibilidade das lesões valvulares não resultarem apenas da ação dos estreptococos, uma vez que, algumas delas aparecem sem nenhuma evidência de estreptococcia e porque se tem conhecimento de que algumas infecções virais podem também provocá-las. Sabe-se, por exemplo, que viroses causadas pelo *Coxsackie B* podem acarretar doenças como a pericardite, miocardite e endocardite. Ressalta-se, no entanto, a carência de documentação a respeito de uma possível relação entre essa virose e a febre reumática (RACHID, 2002). Em uma investigação realizada por Zaher, Kassam e Hugues (1993, apud RACHID, 2002), constatou-se que, em apenas cinco indivíduos, observou-se essa concomitância, parecendo que a virose surgiu antes da infecção por estreptococos.

Há alguns indícios de que a doença se desenvolva como conseqüência de uma interação antígeno-anticorpo. Duas hipóteses principais foram aventadas (BIER, 1984):

BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

- Imunocomplexos circulantes de estreptolisina-anti-estreptolisina liberariam vagarosamente a toxina, que se localizaria ao nível das articulações e do músculo cardíaco, provocando lesões (ação cardiopática da estreptolisina O). Uma afinidade seletiva pelas membranas sinoviais e pelo tecido miocárdico poderia explicar a localização. Nesse caso, admite-se que a estreptolisina O, seja o fator tóxico mais importante (RACHID, 2003);
- A febre reumática seria uma doença auto-imune conseqüente à interação de antígenos “alvo” localizados nas estruturas comprometidas das articulações e do coração com um anticorpo formado: (a) em resposta ao próprio estreptococo, portador de antígenos de reação cruzada (proteína M e antígeno miocárdico, ácido

hialurônico e cartilagem sinovial) ou (b) em resposta a antígenos “alvo” modificados por toxinas e enzimas estreptocócicas ou pela própria interação (a), responsável pelo acionamento (*triggering*) inicial. Não se pode afirmar, entretanto, que auto-anticorpos anti-proteínas cardíacas sejam a causa da febre reumática, pois também se encontram em outras condições de lesão do miocárdio, como em casos de infarto ou após cardiectomias por lesões congênitas (BIER, 1984).

A hipótese de a lesão tecidual proceder da ação de toxinas (uma vez que, as estreptolisinas O e S e a estreptocina são tóxicas a células cardíacas de mamíferos) não elucida a não ocorrência de cardite ou artrite em pessoas com infecção ratificada por estreptococos do grupo A que não desenvolvem a febre reumática (THOMPSON, HALBERT, SMITH, 1970; GINSBURG, 1972; TAGG, MACGIVEN, 1972, apud TERRERI e HILÁRIO, 1996).

A outra hipótese sobre a etiopatogenia da aludida doença, que admite a ocorrência do processo inflamatório devido à invasão direta dos tecidos pelos estreptococos, também não esclarece alguns detalhes. Estudos recentes sugerem uma ação indireta, uma vez que, a bactéria em questão não é encontrada nas lesões teciduais (TERRERI e HILÁRIO, 1996). Segundo Rachid (2003), os estreptococos em tecidos afetados estão representados, em geral, por estruturas infra-microscópicas, identificáveis por microscopia eletrônica.

Alguns estudiosos admitem que a febre reumática resulta de uma resposta imune inadequada do hospedeiro com o estreptococo beta-hemolítico do grupo A e outras evidências sugerem que os mecanismos desencadeantes das lesões sejam de natureza auto-imune (SMILEY & HOFFMAN, 1991, apud OLIVIER, 2000; BRANDT et al., 2000, 2001; CURRIE & CARAPETIS, 2001; DINKLA et al., 2003).

Embora a patogênese das complicações tardias não supurativas das infecções causadas por estreptococos do grupo A não esteja completamente elucidada, há provas de que o carboidrato C, a membrana celular e, particularmente, a proteína M, estejam envolvidos nos fenômenos imunológicos que originam a doença reumática. Olivier (2000) e Brandt et al. (2001) citam os anticorpos e os linfócitos T como fatores importantes no desenvolvimento da moléstia, pois esses elementos reconhecem o tecido do hospedeiro (que alberga o patógeno) e atuam nas moléculas presentes na superfície do estreptococo. Bick et al. (2003) também admitem a participação de anticorpos na patogênese da febre reumática, uma vez que, níveis elevados de anticorpos anti-miosina cardíaca são verificados em pacientes acometidos pela moléstia.

Alguns estudos identificaram outros epítomos ao longo da proteína M que também poderiam induzir no hospedeiro a reação cruzada (BRONZE & DALE, 1993, apud BRANDT et al., 2001); porém, existem limitadas evidências da ligação desses com a doença (CUNNINGHAM et al., 1988; CUNNINGHAM et al., 1989; BRONZE & DALE, 1993, apud BRANDT et al., 2001).

Assim, muitos trabalhos indicam que febre reumática é secundária a anticorpos anti-estreptocócicos do hospedeiro que apresentam reação cruzada com antígenos cardíacos, embora não se exclua a possibilidade de reatividade auto-imune iniciada por microorganismos (ROBBINS et al., 1992). Deste modo, admite-se que a patogênese é determinada pelo mimetismo antigênico entre os epítomos da proteína M do estreptococo com o tecido humano (OLIVER, 2000; DELIMA et al., 1994; THATAI & TURI, 1999; TERRERI & HILÁRIO, 1996, SILVA & PEREIRA, 1997, apud SCHEIBEL et al., 2001; KIRVAN et al., 2003).

Segundo Olivier (2000) e Water et al. (2001), a proteína M de sorotipos estreptocócicos relacionados à febre reumática, compartilha um epítipo com o tecido cardíaco humano (incluindo a miosina cardíaca e as proteínas de membrana do sarcolema). Desta maneira, considera-se que os microrganismos contêm proteínas que são semelhantes às proteínas do hospedeiro, podendo estimular a resposta das células B e das células T contra as próprias proteínas do organismo (CUNNINGHAM, 2003).

Neste caso, considera-se o mimetismo molecular e a perda da regulação imune, durante as respostas contra os antígenos do microorganismo, como o possível mecanismo que acarretaria o desenvolvimento das respostas patogênicas causadas pela ação dos linfócitos B e T, em doenças de natureza auto-imune associadas a infecções (OLIVIER, 2000; WATER et al., 2001; CUNNINGHAM, 2003; GUILHERME & KALIL, 2004). A esse propósito, já se demonstrou a ocorrência de reações cruzadas entre antígenos do estreptococo e o sarcolema e o sarcoplasma das fibras miocárdicas (NETO & BALDY, 1989). Em alguns estudos, observou-se a existência de auto-anticorpos, com reatividade cruzada contra o antígeno N-acetilglucosamina do estreptococo (CUNNINGHAM, 2003). A proteína M compartilha homologia estrutural não apenas com a miosina cardíaca, mas também com outras moléculas, como a tropomiosina, queratina, entre outras (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Em estudo desenvolvido por Fae et al. (2005), demonstrou-se que o peptídeo estreptocócico imunodominante (M 5) é capaz de se ligar na molécula HLA-DR53. Tal peptídeo foi reconhecido por células T de pacientes que continha as moléculas HLA-DR15, HLA-DR7 e HLA-DR53, o que sugere que tal molécula é apresentada ao linfócito T, no contexto da molécula HLA-DR53. Constatou-se,

inclusive, que a reação cruzada que envolve a proteína M 5 e as proteínas derivadas de tecido cardíaco produzem, em especial, citocinas.

A proteína M, como já explanado anteriormente, possui uma região amino terminal hipervariável e uma região carboxila-terminal conservada, a qual contém as regiões repetidas A, B e C, na base da periodicidade de seqüências peptídicas (HALLAS & WIDDOWSON, 1983; PROFT et al., 1999; STEVENS & KAPLAN, 2000, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004). Dentre tais epítomos, aqueles que reagem cruzadamente com o miocárdio, sinóvia e cérebro estão situados entre as regiões B e C repetidas.

O estudo das respostas dos linfócitos contra os antígenos do estreptococo do grupo A, a N-acetil-glucosamina, a proteína M e o auto-antígeno da miosina cardíaca permitiu um melhor entendimento do papel do mimetismo molecular no desenvolvimento da doença (CUNNINGHAM, 2003).

Segundo Cunha-Neto et al. (1995, apud GUILHERME & KALIL, 2002), demonstrou-se a existência do mimetismo molecular entre proteínas M e proteínas do tecido cardíaco, a partir do entendimento da função dos antígenos HLA de apresentar os peptídeos para o receptor da célula T. Recentemente, desenvolveu-se um modelo animal em ratos Lewis, após imunização com proteína M (GUILHERME et al., 2000, apud GUILHERME & KALIL, 2002) e peptídeos sintéticos da cadeia pesada da miosina humana (QUINN et al., 2001, apud GUILHERME & KALIL, 2002) com desenvolvimento de miocardite, valvulite e presença de nódulos de Aschoff. Da mesma forma como na doença em humanos, há predomínio de linfócitos TCD₄⁺ no local das lesões (GUILHERME & KALIL, 2002).

A reação cruzada foi primeiramente identificada em extratos de parede celular e dois estudos, um empregando sarcolema cardíaco humano e outro com músculo humano, demonstraram tal efeito (OLIVIER, 2000).

Kaplan et al. (1964, apud OLIVIER, 2000) e Kaplan e Meyeserian (1962, apud OLIVIER, 2000) mostraram que ao injetar extrato da parede celular do estreptococo em coelhos, estes passavam a produzir anticorpos que se ligavam ao tecido miocárdico de pacientes que haviam falecido por cardite reumática aguda. Zabriske e Freimer (1966, apud OLIVIER, 2000), utilizando estudos com imunofluorescência indireta, mostraram a existência de reação cruzada entre a parede celular bacteriana e o músculo humano. O mesmo tipo de reação foi demonstrado em pacientes com coréia de Sydenham (OLIVIER, 2000).

Quinn et al. (1998, apud BRANDT et al., 2001; REHIM et al., 2001), demonstraram a existência de anticorpos para os epítomos classe I e para a miosina cardíaca, no soro de pacientes com febre reumática aguda. Além disso, mostraram que tais elementos são imunologicamente “cruzadamente reativos”, sugerindo que tal epítomo pode contribuir diretamente na patogênese da doença em hospedeiros susceptíveis (QUINN et al., 1998, apud BRANDT et al., 2001). Robinson e Kehoe (1992, apud REHIM, 2001) também admitem que antígenos célula-associados, como a proteína M, estão relacionados à reação cruzada. O epítomo classe I tem homologia conformacional e estrutural com a miosina (ambos possuem uma estrutura quaternária similar na região sobreposta de homologia).

Admite-se que, se seqüências da proteína M estão envolvidas na patogênese da febre reumática aguda, é mais provável que isso ocorra por um mecanismo mediado por célula. Como a miosina e outras proteínas cardíacas são citoplasmáticas, elas não estariam disponíveis à neutralização pelos anticorpos.

Entretanto, as células T reconhecem as proteínas presentes no interior das células quando estas são apresentadas pelas moléculas de MHC (BRANDT et al., 2001). Tem sido registrado um alto número de células TCD_4^+ e TCD_8^+ em lesões cardíacas (RAIZADA et al., 1983, apud BRANDT et al., 2001). Embora os miócitos cardíacos normais expressem moléculas MHC-classe II (HUFNAGEL et al., 1993, apud BRANDT et al., 2001), tal expressão poderia ser regulada por alguma infecção coincidente ou por um dano cardíaco (HUFNAGEL et al., 1993, apud BRANDT et al., 2001), provendo uma base racional que implica uma patologia célula-associada na patogênese da febre reumática aguda.

Emergiram evidências clínicas apoiando o papel das células T que reconhecem certos epítomos de proteína M na patogênese da doença (GUILHERME et al., 1995; FIGUEROA et al., 1995, apud BRANDT et al., 2001). Epítomos de célula T dentro de regiões A, B e C repetidas da proteína M têm sido identificados e alguns desses epítomos incluem a seqüência classe I (KOTB et al., 1989; PRUKSAKORN et al., 1992; ROBINSON et al., 1993; PRUKSAKORN et al., 1994; SIMUNSDOTTIR et al., 1997; CUNNINGHAM et al., 1997; BRANDT et al., 1997, apud BRANDT et al., 2001). Outros estudos são necessários para determinar se a região C-repetida, incluída como epítomo de classe da proteína M representa algum papel na patogênese da doença (BRANDT et al., 2001).

Segundo Guilherme e Kalil (2002), na doença reumática cardíaca há síntese de anticorpos de reação cruzada e ocorrem células mononucleares (em geral, linfócitos TCD_4^+) infiltrantes no coração que, aparentemente migram da periferia para o tecido cardíaco após o início da febre reumática.

As células TCD_4^+ infiltrantes, são capazes de reconhecer peptídeos da proteína M e proteínas de tecidos cardíacos. Guilherme et al. (2001), analisando o

peptídeo M 5, a resposta cardíaca específica, o perfil de citocinas e o receptor de célula T, denominado de TCR, constataram que: (1) pacientes com febre reumática apresentam elevada frequência de clones de células T (infiltrantes na válvula mitral), reativos contra a proteína M 5 e contra várias proteínas derivadas da válvula; (2) pacientes com febre reumática produziam quantias expressivas de interferon- gama (IFN-gama) e fator de necrose tumoral alfa (TNFalfa) em resposta ao peptídeo M 5.

Os métodos utilizados para demonstrar a presença de auto-anticorpos têm sido a reação de fixação de complemento, a prova de consumo de antiglobulina, a hemaglutinação passiva com hemácias taninizadas, contendo antígenos cardíacos aderidos a sua superfície, e a imunofluorescência. Além disso, no soro dos pacientes existem anticorpos que reagem com fragmentos de coração normal, depositando-se nas mesmas estruturas em que foram encontrados no coração de indivíduos enfermos. Esses anticorpos produzem ainda, reações cruzadas com um antígeno de natureza protéica encontrado na parede capsular de estreptococos hemolíticos do grupo A (BIER et al., 1989).

Assim, o material utilizado no teste é o soro, o paciente não necessita estar em jejum e o método empregado pode ser a nefelometria (PELCZAR et al., 1996). Soros fortemente lipêmicos, às vezes, podem impedir a realização do teste. A dosagem ainda pode ser pesquisada em líquido sinovial e os títulos podem ser idênticos ou levemente mais baixos aos do soro. Em raros casos, ele pode ser positivo no líquido sinovial e negativo no soro ou vice-versa. A pesquisa no líquido sinovial tem um interesse mais acadêmico e a sua realização não contribui para o diagnóstico e prognóstico da doença (PELCZAR et al., 1996).

Como uma alternativa à hipótese que admite a reação cruzada, supôs-se que anticorpos “hipersusceptíveis” estariam envolvidos nos mecanismos

patogênicos resultante de uma infecção estreptocócica (BAHR et al., 1991, apud REHIM, 2001). Por exemplo, os níveis de anticorpos IgG para a toxina A eritrogênica estreptocócica, a qual é produzida por várias linhagens de *S. pyogenes*, são mais elevados na febre reumática aguda do que na glomerulonefrite aguda ou faringite estreptocócica (EL-KHATEEB, 1988, apud REHIM, 2001).

Smoot et al. (2002) identificaram dois genes de bacteriófagos, designados *speL* e *speM*, que codificam novos superantígenos inferidos na seqüência do genoma do sorotipo M 18. Tais genes se localizam no mesmo local em 33 sorotipos M 18 isolados (SMOOT et al., 2002) e, em nenhuma das 33 linhagens analisadas, se observou, a diversidade de seqüências. Além do mais, constatou-se que tais genes não ocorriam em 13 linhagens, diferentes do sorotipo M 18, testadas (SMOOT et al., 2002). Esses dados indicam um acontecimento recente de aquisição do gene por um clone distinto de sorotipo M 18 (SMOOT et al., 2002). Verificou-se que picogramas de purificados de *speL* e *speM* mostraram-se pirogênicos para as células do baço de coelhos e para as células mononucleares de humanos, presentes no sangue periférico (SMOOT et al., 2002). O *speL*, preferencialmente, expandiu a expressão de células T humanas, tendo especificidade aos receptores Vbeta 1, Vbeta 5.1, e Vbeta 23, e o gene *speM* teve especificidade para Vbeta1 e os subconjuntos Vbeta 23, indicando que ambos tiveram atividade de superantígeno (SMOOT et al., 2002). O *speL* apresentou-se letal em dois modelos animais que tiveram choque tóxico estreptocócico, e o *speM* mostrou-se letal em apenas um modelo (SMOOT et al., 2002). Estudos sorológicos indicam que pacientes com febre reumática aguda foram expostos ao sorotipo M 18, *speL* e *speM*. Tais dados demonstram que *speL* e *speM* são superantígenos com toxina pirogênica e sugerem

que eles podem participar nas interações entre o patógeno e o hospedeiro, em alguns pacientes com febre reumática (SMOOT et al., 2002).

As exotoxinas pirogênicas estreptocócicas, designadas por *spe*, produzidas pelo *S. pyogenes*, pertencem à família dos superantígenos bacterianos, um grupo de proteínas altamente mitogênicas. Estudos desenvolvidos por Proft et al. (2004), objetivando encontrar genomas estreptocócicos para novos superantígenos, a fim de: (1) gerar proteínas recombinantes de seqüência de leitura aberta (*open reading frames*- ORFs) e (2) analisar a atividade dos superantígenos, detectaram-se os genes ortólogos, *speL* e *speM*, em um número restrito de *S. pyogenes* isolados e constataram uma conexão do *speL* com o sorotipo M 89 (o qual está vinculado à febre reumática aguda na Nova Zelândia). Os recombinantes de *speL* e de *speM* mostraram-se altamente mitogênicos para linfócitos circulantes no sangue periférico humano. Observou-se, também, que tais elementos se ligam na cadeia beta do MHC de classe II e não na cadeia alfa. Em geral, tais toxinas se associam ao receptor Vbeta 1, expresso nas células T, em humanos. Os ORFs encontrados codificavam proteínas que apresentam típicas características de superantígenos.

Uma pesquisa anteriormente desenvolvida por Proft et al. (2003), envolvendo isolados de *S. pyogenes* e *S. equi*, sugerem que tais genes estão localizados em um elemento móvel que capacita a transferência dos genes entre, por exemplo, estreptococos pertencentes a diferentes grupos de Lancefield.

Os superantígenos correspondem ao único grupo de glicoproteínas sintetizadas pelas bactérias e vírus que podem atravessar as moléculas do complexo de histocompatibilidade classe II para cadeias Vbeta dos receptores de células T, simulando a ligação do antígeno. As células T que carregam a cadeia Vbeta são ativados (para lançar citocinas ou se tornar citotóxico), apesar de sua

especificidade antigênica. Algumas células T ativadas dessa maneira podem ter especificidades auto-reativas. No caso dos estreptococos, muitos estudos enfatizaram o papel da atividade superantigênica dos fragmentos da proteína M, como também da exotoxina pirogênica, na patogênese da febre reumática (KOBT et al., 1993; NARULA et al., 1999; STEVENS & KAPLAN, 2000; ROBERTS et al., 2001, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

A ativação superantigênica não está limitada apenas à célula T. A toxina eritrogênica estreptocócica pode se comportar como um superantígeno para a célula B, conduzindo à produção de anticorpos auto-reativos; porém, muitas das evidências relacionadas a esse processo são ainda indiretas (SWANSON, HSU, GOTSCHLICH, 1969; WIDDWSON et al., 1971; TARANTA & MARKOWITZ, 1989, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Carrion et al. (2003) expõem que alguns estudos demonstram que várias proteínas de estreptococos são superantígenos, aumentando a possibilidade de que a expansão ou deleção de regiões Vbeta expressas em células T desempenhem um papel na patogênese da febre reumática e da doença reumática cardíaca.

Denny (1994, apud OLIVIER, 2000) relacionou os fatores envolvidos na patogênese da febre reumática em uma ilustração esquemática, exposta na figura 01, a seguir.

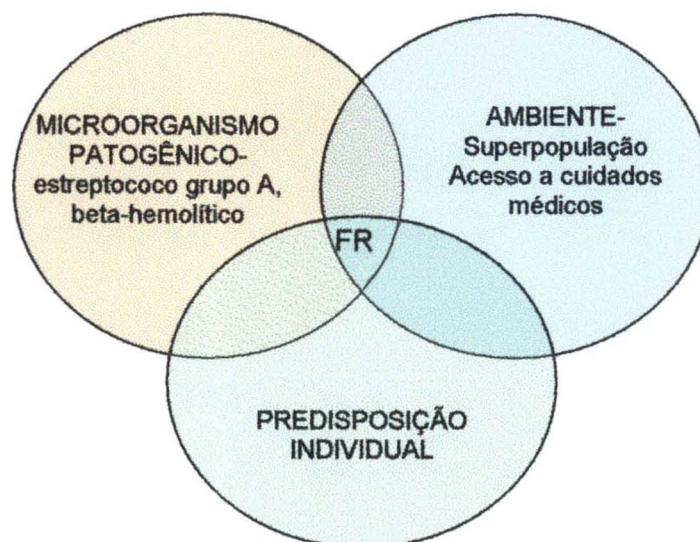


FIGURA 01- Fatores envolvidos na patogênese da febre reumática.

FONTE: DENNY (1994, apud OLIVIER, 2000).

Para Denny (1994, apud OLIVIER, 2000), os fatores sócio-econômicos, o ambiente desfavorável (promiscuidade, superpopulação, pobreza, acesso restrito aos cuidados com a saúde e a desnutrição) precisam ser reavaliados em muitos países. Um programa implementado na Índia Ocidental Francesa mostrou um declínio na incidência da febre reumática em um período de 10 anos (BACH et al., 1996, apud OLIVIER, 2000), embora as condições sócio-econômicas tenham permanecido desfavoráveis (baixa renda; 15% da população sem água corrente, eletricidade, etc.).

Para se determinar o papel da molécula sICAM-1 (Moléculas de Adesão Intercelular Solúveis- 1), na patogênese e no curso de febre reumática aguda, Yaman, Dagdemir e Baysal (2003), mensuraram os níveis de sICAM-1 em três grupos: no grupo 1 foram incluídos 30 pacientes com início de febre reumática, no grupo 2 constavam 20 pacientes que já tiveram febre reumática e, no grupo 3, encontravam-se 20 crianças saudáveis. Constatou-se que os níveis de sICAM-1 do soro estava aumentado no grupo 1, e, no grupo 2 eram semelhantes ao níveis

encontrados nos controles saudáveis. Considera-se que a molécula sICAM-1 também pode representar um papel na patogênese da doença.

Balat et al. (2005), após analisar e comparar os níveis de adrenomedulina (AM) e de nitrato total, em crianças acometidas pela febre reumática e em controles normais, verificaram que, independente da fase da doença (aguda ou convalescente) os níveis dessas substâncias foram consideravelmente mais elevados nos infantes com febre reumática aguda, sugerindo que tais compostos podem representar um papel no processo imunoinflamatório da doença.

Figueiroa et al. (1988, apud RACHID, 2002) desenvolveram estudos que permitiram verificar que anticorpos antifosfolipídicos, como as anticardiolipinas, podem afetar a patogênese de algumas manifestações clínicas da febre reumática aguda.

Detalhes precisos sobre a patogênese da doença ainda não estão totalmente compreendidos, considerando-se os progressos na compreensão da biologia molecular do microorganismo e as inter-relações da resposta auto-imune entre ele e seu hospedeiro.

3.4 SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA E A FEBRE REUMÁTICA

A Organização Mundial da Saúde (1988, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004), Kaplan (1980, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004) e Taranta e Markowitz (1989, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004) consideram a febre reumática como sendo uma resposta auto-imune tardia à faringite estreptocócica. Além disso, admite-se que a manifestação clínica dessa resposta, bem como a sua severidade em um indivíduo é determinada pela

susceptibilidade genética do hospedeiro, pela virulência do organismo infectante, pelo ambiente conducente, pelos níveis de exposição à bactéria em questão e pelo uso de antibióticos para tratamento de infecções causadas pelo estreptococo (CARAPETIS, CURRIE, GOOD, 1996, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Para Bessen et al. (1995, apud SCHEIBEL et al., 2001), a febre reumática só se manifesta em indivíduos geneticamente susceptíveis, em ambiente propício, com precedente de infecção por estreptococo beta-hemolítico do grupo A.

Carapetis, Currie e Mathews (2000) admitem que evidências epidemiológicas sugerem que menos de cinco a 6% da população pode desenvolver a febre reumática aguda após significativa exposição ao estreptococo. Além disso, essa proporção não parece variar substancialmente entre as populações.

Rachid (2003) também concorda com a hipótese de que a pessoa acometida por febre reumática deve possuir certa susceptibilidade determinada geneticamente. Para ele, isso elucidaria o motivo pelo qual apenas uma parcela mínima (um a 3%) dos portadores da faringite estreptocócica desenvolve a febre reumática. Porém, ainda há pesquisas sendo desenvolvidas, as quais envolvem, por exemplo, determinantes geneticamente programados de hospedeiros susceptíveis à febre reumática, que visam encontrar a explicação para essa situação. Acredita-se que esse fato está relacionado a fatores intrínsecos do hospedeiro ou à ocorrência de um co-fator agindo juntamente com a bactéria.

Segundo Carapetis, Currie e Mathews (2000), um pequeno número de infecções causadas pelo estreptococo do grupo A levam à febre reumática, pois, por exemplo, nem todas as linhagens dessa bactéria são reumatogênicas (WANNAMAKER, 1970; STOLLERMAN, 1997, apud CARAPETIS, CURRIE &

MATHEWS, 2000). Entretanto, considera-se que outros fatores, envolvendo o hospedeiro, podem também representar um papel importante nesse caso.

A susceptibilidade genética para a febre reumática aguda, foi sugerida pela sua agregação familiar e pela maior freqüência dessa doença em gêmeos monozigóticos, do que em dizigóticos (WILSON et al., 1943; TARANTA et al., 1959, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000). Mais recentemente, têm sido analisados marcadores para a susceptibilidade genética (KHANNA et al., 1989, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000).

Estudos de genealogia sugerem que a resposta imune é geneticamente controlada, principalmente pelo antígeno da parede celular estreptocócica que é expresso por um único gene recessivo, e, com menor influência por um único gene dominante. Outros dados indicam que o gene que regula a resposta de baixo nível para o antígeno estreptocócico está ligado ao antígeno HLA de classe II (SASAZUKI et al., 1980, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Como já citado anteriormente, a febre reumática ocorre em altas taxas em alguns países, mas em outros, é uma doença rara (QUINN, 1989, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000). Embora o declínio dessa enfermidade em países desenvolvidos durante o século XX se deva, principalmente, à redução dos níveis de infecção por estreptococos do grupo A e à melhora dos cuidados médicos (KASS, 1971; GORDIS, 1973; QUINN, 1989, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000), é possível que a susceptibilidade dos hospedeiros possa também influir nessa questão (a susceptibilidade dos hospedeiros, por exemplo, pode ser mais freqüente em algumas populações e menos em outras).

Estudos de epidemiologia revelam que a população de aborígenes, no norte da Austrália, está altamente exposta aos estreptococos e, conseqüentemente, um

elevado número de casos de febre reumática, é relatado (BRANDT et al., 2000). Essa população ainda vive em circunstâncias de superpovoamento e de pouca higiene e, se verificam altas taxas de infecção estreptocócica de pele (NIMMO et al., 1992; VAN BUYNDER et al., 1992; CARAPETIS et al., 1997; apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000), de bacteremia, causada por estreptococos do grupo A (CARAPETIS et al., 1999, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000), de glomerulonefrite pós-estreptocócica (JOHNSTON et al., 1999, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000) e, de febre reumática. Com tamanha taxa de aquisição estreptocócica é possível que a maioria das pessoas suscetíveis desenvolva, eventualmente, a febre reumática (CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000). Isso implicaria que a incidência cumulativa observada nessa população, de 27 a 57%, corresponde à proporção da população que é susceptível à febre reumática (CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000).

A prevalência máxima da doença reumática em outras populações que estão submetidas à alta exposição ao estreptococo equivale a 1-2%, embora existam registros isolados de prevalência superior a 5% em sub-populações de crianças em idade escolar, no Brasil e no Vietnã (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1988; KAPLAN, 1993, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000). Para Carapetis, Currie e Mathews (2000), se a exposição intensa ao estreptococo do grupo A leva à febre reumática em todas as pessoas susceptíveis, e, se 50 a 75% dos pacientes com febre reumática aguda desenvolvem a doença reumática cardíaca, então, 2-4% dessas populações poderia ser julgada como susceptíveis (esses valores são aproximados à incidência cumulativa estimada para a população aborígine).

As taxas de incidência da febre reumática aguda e as taxas de prevalência de doença reumática cardíaca no início deste século, em países industrializados,

foram similares às taxas correspondentes em países desenvolvidos nos anos mais recentes (QUINN, 1989, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000). Dos pacientes com faringite estreptocócica, nos campos militares de USA, na década de 1950, 2-3% desenvolveram a febre reumática (RAMMELKAMP et al., 1952, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000). Então, a proporção de indivíduos susceptíveis à febre reumática aguda e à doença reumática cardíaca podem não diferir substancialmente de uma população para a outra.

Patarroyo et al., em 1979 (apud TERRERI & HILÁRIO, 1996; RACHID, 2003), isolaram um aloantígeno denominado de 883, o qual ocorre em 75% dos indivíduos acometidos pela moléstia e, em apenas 15% da população normal (embora, posteriormente, outros pesquisadores não puderam validar sua importância). Posteriormente, sintetizou-se um anticorpo monoclonal designado D8/17, o qual reagiu com os linfócitos de 90 a 100% das pessoas enfermas (KHANNA et al., 1991, apud TERRERI & HILÁRIO, 1996). Essas moléculas D8/17 estão relacionadas ao HLA-DR (RACHID, 2003).

Segundo Kaplan (1985, apud OLIVIER, 2000), por mais de um século já se suspeita que fatores individuais do hospedeiro são importantes na febre reumática. Os primeiros autores a descrever a doença notaram a existência de uma predisposição familiar, porém, nunca se tornou possível demonstrar um específico perfil genético ou a transmissão mendeliana da doença. A descoberta de antígenos HLA-específicos relacionados a várias doenças auto-imunes, conduziu a uma busca intensa por tais antígenos na febre reumática.

Ayoub et al. (1986, apud OLIVIER, 2000) foram os primeiros a demonstrar um aumento na freqüência de HLA-DR4, em indivíduos brancos e de HLA-DR2, em negros (das populações de Utah e Turkey). Em indivíduos acometidos pela febre

reumática de outras regiões, encontraram-se outros tipos de HLA relacionados, listados na tabela 03, exposta abaixo.

TIPOS DE HLA	REGIÕES
HLA-DR1	Sul da África
HLA-DR6	Sul da África
HLA-DR2	África e América
HLA-DR3	Índia
HLA-DR4	Caucásia
HLA-DR7 e DR53	Brasil
HLA-DQ2	Asia
HLA-B17, B21 e Cw4	Rússia

TABELA 03- Antígenos HLA dominantes nas diferentes populações.

FONTE: AYOUB et al. (1986, apud OLIVIER e ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004); ROBERTS et al. (2001, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Alguns antígenos HLA parecem estar relacionados com o acréscimo de risco para se desenvolver a febre reumática. Foram descritas associações com HLA DR1, DR3, DR4, DR7, DR53 ou DQ2, entretanto, os resultados das investigações com distintas populações não são convergentes e se alteram de acordo com a região estudada (AYOUB et al., 1986; ANDERSON et al., 1986; BACH et al., 1986; HAMMOND et al., 1987; GOLDBERG et al., 1994; TEMIN, 1994, apud TERRERI & HILÁRIO, 1996). A quantidade significativa de associações pode sugerir que os elementos responsáveis pela susceptibilidade para a febre reumática não sejam esses marcadores, mas outro gene que ocorre no complexo HLA, que poderia apresentar, em variadas populações, diversos padrões de desequilíbrio de ligação

com alelos HLA-DR ou DQ. Estudos envolvendo pessoas acometidas pela febre reumática e seus parentes revelaram que o gene que define a susceptibilidade à doença faz parte ou está muito próximo do complexo HLA (TEMIN et al., 1994, apud TERRERI & HILÁRIO, 1996).

Visentamer (2000, apud RACHID, 2003) ao estudar, no estado do Paraná, 13 antígenos HLA-DR e três antígenos HLA-DQ, verificaram uma associação positiva com HLA-DR7, mas não com HLA-DR53, sugerindo que nessa região brasileira há uma maior predisposição à febre reumática. Outros estudos, como o de Kemeny et al. (1989, apud RACHID, 2003) e Anastasiou et al. (1986, apud RACHID, 2003), indicaram que DR4 foi mais freqüente na cardiopatia reumática do que em controles e que, DR6 foi mais comum nos controles que nos indivíduos com cardiopatia reumática.

Para Olivier (2000) a notável variabilidade dos antígenos HLA dominantes nas diferentes populações torna sua associação com a doença improvável.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2004), estudos envolvendo diferentes *locus* do sistema HLA-DR e distintas etnias sugerem que a ligação entre susceptibilidade para a febre reumática e o HLA de classe II, foi altamente diversa e não se mostrou vinculada a um alelo particular, mas a um gene de susceptibilidade presente ou próximo do *locus* HLA-DR.

Constatou-se também, que pacientes com febre reumática aguda e os membros de suas famílias, localizados nos Estados Unidos e no Caribe, expressam um aloantígeno, designado por D8/17, em elevadas porcentagens de células B, enquanto que, em apenas 15 a 20% de controles saudáveis, esse aloantígeno foi encontrado em altos níveis (KHANNA et al., 1989, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000). No entanto, o D8/17 não foi reproduzido em população indiana

com febre reumática aguda e doença reumática cardíaca, onde um marcador aloantígeno diferente foi encontrado, designado de PGI/MNII (KAUR et al., 1998, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000). Outros trabalhos identificaram três aloantígenos, a saber: PG-12A, PG-13A e PG-20A, em elevados níveis em 80 a 82% dos pacientes com febre reumática aguda, ou doença reumática cardíaca e, em quatro a 12% dos controles saudáveis (KUMAR et al., 1998, apud CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000). Ainda permanece incógnito se tais supostos marcadores são genéticos ou são induzidos pela infecção estreptocócica como parte da patogênese da febre reumática aguda (CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000).

O D8/17 é um aloantígeno encontrado em linfócitos B e, há registros de que esse elemento se encontra em altos níveis, nos pacientes susceptíveis à febre reumática, além de uma possível associação com desordens neuropsiquiátricas auto-imunes pediátricas associadas com *Streptococcus*, designadas por PANDAS (MURPHY et al., 2001; HAREL et al., 2002; HERDY et al., 1992, apud WEISY et al., 2004). Porém, em estudos desenvolvidos por Inoff-Germain et al. (2003), não se demonstrou uma relação entre a positividade para o antígeno D8/17 e os *tícs* ou à desordem obsessivo-compulsiva. Dessa forma, não provê suporte à possibilidade do emprego dessa molécula como um marcador de susceptibilidade para tais desordens neuropsiquiátricas. Sokol et al. (2002) comenta sobre a necessidade de se efetuar mais estudos para maiores esclarecimentos vinculados a esse tema.

Esses antígenos D8/17, reconhecidos por anticorpos monoclonais, e, uma outra molécula, designada por 70-kD, podem ser marcadores geneticamente inatos de uma resposta imune alterada para antígenos estreptocócicos não identificados,

presentes em indivíduos susceptíveis (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Por meio de anticorpo monoclonal de murinos, obtidos após imunização com linfócitos B, isolados de pacientes com febre reumática ou doença reumática cardíaca (ZABRISKIE et al., 1985; CHAPMAN et al., 1998, apud WEISY et al., 2004), registrou-se que tais antígenos encontram-se expressos em porcentagens elevadas de células B (situação verificada em mais de 90% de pacientes com febre reumática). Nesse estudo, e em outros, como cita Harel et al. (2002), se constatou o aloantígeno em 90 a 100% dos pacientes com febre reumática. Isso conduziu à hipótese que o D8/17 pode ser um marcador de suscetibilidade para o desenvolvimento de febre reumática.

Altos níveis de células B contendo tal antígeno foram registrados em várias doenças auto-imunes, e essa condição parece estar relacionada ao *locus* de característica genética quantitativa (HALL et al., 2002; LANCHBURY et al., 2002, apud WEISY et al., 2004).

Segundo Kaplan (1985, apud OLIVIER, 2000), aloantígenos trazidos na superfície dos linfócitos e reconhecidos por anticorpos monoclonais, parecem ser marcadores de susceptibilidade do hospedeiro, especialmente quando há envolvimento cardíaco (encontrado em 75 a 90% dos casos). Isso parece ser expresso somente após estimulação de um antígeno GABHS (estreptococo beta-hemolítico do grupo A).

Admite-se que, a necessidade de se definir o marcador da febre reumática está relacionada à possibilidade de se estabelecer a população de risco que teria prioridade em receber uma vacina para a profilaxia da estreptococcia no futuro (TERRERI & HILÁRIO, 1996).

Berdeli, Celik, Özyürek e Aydin (2004) analisaram, através da técnica do PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), os genótipos FcγRIIA-R/H-131 e FcγRIIIB-NA1/NA2, de 66 indivíduos com febre reumática e de 117 controles saudáveis. Nessa pesquisa, constataram que o genótipo RR 131 esteve significativamente presente em todos os casos de febre reumática e que, os pacientes acometidos por tal doença foram mais freqüentemente heterozigotos HR 131. Isso sugere que indivíduos com febre reumática têm maior probabilidade de possuir tais genótipos (RR 131 e HR 131). Evidências indicam que o genótipo RR 131 está associado com o maior risco para febre reumática e o HR 131, com um risco intermediário. Assim, acredita-se que o FcγRIIA-R/H-131 possa ser um marcador importante de predisposição para a febre reumática. Para a distribuição do genótipo FcγRIIIB-NA1/NA2, não foi constatado nenhum aumento significativo em pacientes com febre reumática.

Os FcγR são receptores da região Fc, da imunoglobulina G, que possuem uma grande diversidade de funções biológicas, incluindo fagocitose, endocitose, citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC), liberação de mediadores inflamatórios e de imunocomplexos, inibição e ativação de respostas imunes (HÖHLER et al., 1997, apud ANDRADE, 1998). São divididos em três classes, as quais compreendem doze isoformas contendo diferentes: (1) pesos moleculares, (2) afinidade e especificidade aos isotipos IgG, (3) padrão de divisão celular e (4) capacidade de ativar sinais intracelulares. Ressalta-se que apenas os genes FcγRII e FcγRIII são polimórficos. Sabe-se que uma mutação pontual (G → A), no domínio do FcγRIIA, de ligação à imunoglobulina, resulta em uma arginina (R 131) ou histidina (H 131). Admite-se a ocorrência de uma menor afinidade de ligação de R 131 à IgG 2, em relação à H 131. Três variantes alélicas são conhecidos para

FcγRIIB: NA-1, NA- 2 e SH. Algumas características gerais dos FcγR presentes em humanos, seguem expostos na tabela 04, a seguir.

	TIPOS DE FcγR		
	FcγRI (ou CD 64)	FcγRII (ou CD 32)	FcγRIII (ou CD 16)
Peso molecular	72 kDa	40 kDa	50-80 kDa
Genes	IA, IB, IC	IIA, IIB, IIC	IIIA, IIIB
Isoformas	Ia, Ib1, Ib2, Ic	Ila1, Ila2, I Ib1, I Ib2, I Ib3, I Ic	IIla, II Ib
Afinidade por IgG	Alta	Baixa	Média (IIla), baixa (II Ib)
Distribuição constitutiva	Monócitos, macrófagos, células dendríticas, precursor mielóide CD 34.	Monócitos, macrófagos, células B, basófilos, neutrófilos, células de Langerhans, eosinófilos, algumas células endoteliais, algumas células T e células dendríticas.	IIla: macrófagos, alguns monócitos e algumas células T. II Ib: neutrófilos.
Distribuição induzida	Neutrófilos (IFN- γ , G-CSF).		IIla: monócitos (TGF β).
Afinidade ao isótopo	IgG 3 > 1 > 4	Agregado de Ig ligados à IgG2	IgG 1 e 3

TABELA 04- Características gerais dos FcγR presentes em humanos.

FONTE: ANDRADE (1998).

Carapetis, Currie e Mathews (2000), admitem que as maiores diferenças na incidência da febre reumática e de prevalência da doença reumática cardíaca entre as populações devem-se, provavelmente, às diferenças na exposição ao estreptococo (refletindo as condições sócio-econômicas), no acesso e na qualidade dos cuidados primários com a saúde.

3.5 DESENVOLVIMENTO DE VACINAS

Segundo Wilson e Swifth (1931, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004), Wasson e Brown (1943, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004), Hantz et al. (1949, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004) e Gill (1960, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004) experiências para a prevenção da infecção causada pelo estreptococo do grupo A, através da imunização, já são desenvolvidas desde o início do século 20. Todavia, demonstrou-se que tais vacinas não preveniam ataques primários ou recorrentes de febre reumática, apesar, por exemplo, da injeção conter grandes quantias de toxinas estreptocócicas.

Admite-se que o conhecimento da proteína M, constituinte da parede celular, como o principal fator de virulência do estreptococo e de que anticorpos opsonicos para tal molécula, correspondem à base da imunidade tipo-específica adquirida, permitiu avanços no desenvolvimento de vacinas (WANNAMAKER et al., 1953; LANCEFIELD, 1959, 1962, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Horvath et al. (2002) admitem que as estratégias atuais para a confecção de vacinas visam prevenir a infecção pelo estreptococo do grupo A e, conseqüentemente, as doenças associadas a tal patógeno. Guilherme e Kalil (2002) consideram a possibilidade de se desenvolver uma vacina segura e eficaz contra o estreptococo beta-hemolítico, a partir da compreensão da doença e da discriminação dos epítomos da proteína M de reação cruzada, bem como da identificação de epítomos protetores.

Segundo Bruner et al. (2003), ainda não está disponível nenhuma vacina licenciada, contra o estreptococo do grupo A. Esses admitem a existência de

estratégias, em vários estágios de desenvolvimento e avaliação, que buscam o desenvolvimento de uma vacina efetiva (BESSEN & FISCHETTI, 1990; KAPUR et al., 1994; DALE et al., 1994; SALVADORI et al., 1995; MEDAGLINI et al., 1995; WASHBURN et al., 1996; SIMMONS et al., 1996; CARLSON et al., 1997; BRANDT et al., 2000; STROOP et al., 2002, apud BRUNER et al., 2003). Ressaltam ainda que vários desses estudos estão focalizados na região sorotipo-específica, presente na superfície da proteína M (BRUNER et al., 2003; McMILLAN et al., 2004).

Diversas pesquisas foram e estão sendo efetuadas, empregando-se regiões das porções amino e carboxila-terminal da proteína M (SCOTT et al., 1985; BESSEN & FISCHETTI, 1988, 1990; FISCHETTI et al., 1993; PRUKSAKORN et al., 1994; MEDAGLINI et al., 1995; BRANDT et al., 1997; FLUCKIGER, 1998; FISCHETTI et al., 1998; BRANDT et al., 2000; OSHIRO, 2000, apud GUILHERME & KALIL, 2002; DUNN et al., 2002).

Algumas investigações mostraram que o uso de fragmentos presentes na região amino-terminal da proteína M, provavelmente, geram menos anticorpos que reagem cruzadamente com o tecido humano, que as áreas mais internas da proteína M (QUINN et al., 1998, apud BRUNER et al., 2003). No estudo desenvolvido por Bruner et al. (2003), constatou-se que tais peptídeos não se apresentavam reativos aos tecidos humanos, podendo ser empregados como componentes de vacinas contra estreptococos. Em outras pesquisas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004), observou-se que anticorpos produzidos contra peptídeos da região amino-terminal dos sorotipos M 5, M 6 e M 24 são opsônicos, porém, não reagem cruzadamente com tecidos humanos.

As regiões variáveis da proteína M induzem à produção de anticorpos opsonizantes (LANCEFIELD, 1959, 1962, apud BRUNER et al., 2003), os quais

protegem o hospedeiro contra a invasão do estreptococo (LANCEFIED, 1959, apud BRUNER et al., 2003).

Embora as estratégias para o desenvolvimento de vacinas empregando componentes da proteína sorotipo M-específicos sejam promissoras, há algumas dificuldades associadas. Dentre os principais obstáculos, citam-se: (1) a existência de um grande número de tipos sorológicos M (superior a, pelo menos, 80 tipos) e (2) a presença de epítomos presentes na proteína M que reagem cruzadamente com tecidos humanos (BRUNER et al., 2003; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Estudos prévios com modelos animais acometidos pela infecção por estreptococo do grupo A, têm demonstrado a potencial proteção de diversos candidatos a vacinas contra estreptococos do grupo A baseados na proteína M, tanto em nível sistêmico quanto em mucosa (BESSEN & FISCHETTI, 1988, 1990; BRONZE et al., 1992; DALE et al., 1993; BRANDT et al., 2000, apud HORVATH et al., 2002). Isso se deve ao fato de que imunidade para o estreptococo é mediada por anticorpos opsônicos sorotipo M-específicos. Vários estudos sugerem que a indução de anticorpos opsônicos contra a proteína M, permite a proteção contra a febre reumática (OLIVE, CLAIR, YARWOOD, 2002; DALE et al., 1994; MEDAGLINI et al., 1995; WASHBURN et al., 1996; SIMMONS et al., 1996; BRANDT et al., 2000; STROOP et al., 2002, apud BRUNER et al., 2003).

Outras investigações (DALE et al., 1996; DALE, 1999, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004) utilizando ratos mostraram que fragmentos peptídicos da proteína M 107, incorporadas em vacinas multivalentes como proteínas híbridas ou como peptídeos individuais ligados em *tandem* a proteínas carregadoras, induzem à produção de anticorpos opsônicos e protetores contra múltiplos sorotipos.

Brandt et al. (1996) e Pruksakorn et al. (1994) identificaram uma possível vacina peptídica e opsônica, utilizando uma região conservada da extremidade carboxila-terminal da proteína M, denominada p145. Tal epítipo é reconhecido pelos anticorpos de muitos adultos que vivem em áreas com alta exposição ao estreptococo (PRUKSAKORN et al., 1994; BRANDT et al., 1996, 1997, apud HAYMAN et al., 2002).

Em outros estudos, verificou-se que essa região da proteína M se sobrepõe ao epítipo classe I por 14 aminoácidos, os quais também estão presentes na miosina (PRUKSAKORN et al., 1994; BRANDT et al., 1996, apud BRANDT et al., 2001). Embora não tenha sido demonstrada a associação entre a patogênese da doença e a resposta imune p145-específica, pode ainda haver uma significativa importância no uso dessa região conservada em vacinas anti-estreptococos do grupo A de amplo espectro. Desta maneira, acredita-se ser fundamental a identificação dos resíduos dentro da seqüência dos epítipos classe I para a elaboração de vacinas (BRANDT et al., 2001).

Segundo Pruksakorn et al. (1992, 1994, apud HAYMAN et al., 2002), os anticorpos humanos p145-específicos purificados e os anticorpos induzidos em macacos, imunizados com p145, são capazes de opsonizar múltiplos sorotipos de estreptococos do grupo A, sugerindo que esse peptídeo pode ser um candidato ideal à vacina.

Os peptídeos com núcleo lipídico (*Lipid Core Peptide*, LCP), derivados de uma região conservada e tipo-específica, determinante do estreptococo do grupo A, foram avaliados como seqüências potencialmente candidatas para a elaboração de uma vacina que permite prevenir doenças associadas aos estreptococos do grupo A (HORVATH et al., 2002).

Os LCP consistem de um centro de polilisina oligomérica, com múltiplas cópias de um peptídeo, conjugado para uma série de lipoaminoácidos, os quais facilitam a ancoragem do antígeno na membrana celular (GIBBONS et al., 1990; TOTH et al., 1994, apud HAYMAN et al., 2002). Os lipoaminoácidos são aminoácidos com longas cadeias laterais de hidrocarbonetos. Tais elementos e seus oligômeros, os lipopeptídeos, representam uma classe de componentes que combinam as estruturas características dos lipídeos e dos aminoácidos (GIBBONS et al., 1990, apud HAYMAN et al., 2002). Admite-se que, para atingir uma resposta de anticorpos mais elevada, os antígenos podem ser sintetizados associados a tais moléculas (HAYMAN et al., 2002).

Estudos sugerem que os LCP aumentam significativamente a imunogenicidade dos epítomos peptídicos do estreptococo do grupo A, quando comparado com epítomos peptídicos monoméricos (TOUGNE et al., 1990; ZAVALA & CHAI, 1990; TAM et al., 1990, apud HAYMAN et al., 2002; HORVATH et al., 2002).

Dados imunológicos revelaram que peptídeos sintéticos derivados de domínios variáveis da proteína presente na membrana externa da *Chlamydia trachomatis* induziram títulos muito superiores de anticorpos quando incorporados com o sistema LCP, do que quando utilizado com o adjuvante completo de Freund-CFA (TOTH et al., 1993, apud HORVATH et al., 2002). Os peptídeos incorporados ao sistema LCP geram anticorpos epítomo-específicos (HORVATH et al., 2002).

Segundo Hayman et al. (2002), o atraso no desenvolvimento de uma vacina eficaz se deve, em parte, à carência de meios adequados para induzir altos títulos de respostas anti-proteína M, quando ocorre a imunização por peptídeos sintéticos. No caso do peptídeo p145, somente em ratos atingiram-se títulos modestos de

anticorpos anti-p145, frequentemente após longas imunizações envolvendo CFA. Admite-se que a adição de um sistema de adjuvante efetivo possa aumentar a potência e prolongar a resposta (HAYMAN et al., 2002). Esses dados indicam que uma nova vacina (associada ao adjuvante LCP e, contendo um peptídeo imunogênico da extremidade carboxila, da proteína M) é capaz de induzir respostas imunes amplas, podendo, tal sistema, ser empregado no desenvolvimento de vacinas contra linhagens de estreptococos (OLIVE et al., 2004).

A vacina contendo o epítipo p145, anteriormente comentada, quando administrada em ratos, apresentou baixa imunogenicidade. Para tentar superar este óbice, a tecnologia dos LCP foi empregada. A polimerização de peptídeos pela incorporação em um centro de polilisina, forma o que se denomina de peptídeo antigênico múltiplo- MAP (TAM, 1988, apud HAYMAN et al., 2002; HORVATH et al., 2004).

BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

As estratégias MAP e LCP, estão sendo investigadas para aumentar a antigenicidade de pequenos peptídeos utilizados em vacinas. Outro recurso também utilizado para tal finalidade é a polimerização, que resulta em co-polímeros de diferentes epítipos (JACKSON et al., 1997; BRANDT et al., 2000, apud HORVATH et al., 2004). Porém, ressalta-se que no último método citado, verifica-se uma dificuldade em se purificar e caracterizar o produto final (HORVATH et al., 2004). No caso do MAP e do LCP, a quantidade de epítipos peptídicos que podem ser incorporados é limitado e, segundo Horvath (2004), isso também pode ser um problema para a elaboração de vacinas com um amplo espectro de ação.

Hayman et al. (2002) sintetizaram sete diferentes LCP, baseados na seqüência peptídica p145 e observaram que o número de lipoaminoácidos e o espaço entre as cadeias laterais de alquilas afeta a imunogenicidade. Constataram

que o aumento do número de unidades de lipoaminoácidos na cadeia principal acarreta diminuição da imunogenicidade; porém, o aumento do número: (1) de seqüências peptídicas de p145 dentro do sistema LCP, (2) das unidades colocadas entre os lipoaminoácidos e (3) do comprimento das cadeias laterais de alquilas, elevam a imunogenicidade dos LCP sintetizados. A especificidade da resposta de anticorpo induzida, diferiu para cada LCP sintetizado, mas, o LCP4, induziu respostas com anticorpos de especificidade idêntica àquela encontrada no soro humano (HAYMAN et al., 2002). A atividade opsônica do LCP4 foi duas vezes maior, do que quando se utilizou apenas o p145. Alguns LCPs apresentaram maior imunogenicidade até mesmo quando administrados sem o uso de um adjuvante convencional, quando comparado com monômeros de p145 co-administrados com adjuvante (HAYMAN et al., 2002).

Em 2003, Olive et al. formularam uma vacina, na qual associaram dois epítomos peptídicos (um específico da região amino-terminal, da proteína M, designado por 8830, e outro não reativo com os tecidos do hospedeiro, presente na extremidade carboxila, denominado por J8) ao LCP. Os dados obtidos revelam que o peptídeo sintético LCP 8830-J8 demonstrou imunogenicidade, na presença ou na ausência do adjuvante convencional. Mais tarde, em 2004, eles sintetizaram um LCP J8, incorporando múltiplas cópias do epítomo peptídico protetor, J8. Após imunização em camundongos, com tal vacina, com e sem o CFA, constatou-se que, em ambos os casos, a imunização induzia: (1) altos níveis de IgG específicos ao peptídeo J8 e (2) anticorpos opsônicos heterólogos que não reagem cruzadamente com proteínas do tecido cardíaco humano (OLIVE et al., 2004).

McMillan et al. (2004) separaram antígenos, presentes na superfície de estreptococos, em nove grupos de tamanhos fracionados, selecionados com base

na antigenicidade ou localização, com o objetivo de identificar novas proteínas e peptídeos, os quais poderiam ser empregados nas vacinas sintetizadas. Os grupos de antígenos obtidos foram injetados em camundongos e, posteriormente, mensurou-se os níveis de anticorpos, a habilidade opsônica e a capacidade protetora. Nesse caso, constatou-se que um grupo de proteínas induziu anticorpos opsônicos e potencialmente protetores. O principal antígeno desse grupo foi identificado como superóxido dismutase.

Segundo Dunn et al. (2002), dentre as estratégias adotadas para o desenvolvimento de vacinas, inclui-se as vacinas multivalentes contendo seqüências tipo-específicas da proteína M, associados com uma doença particular (como a febre reumática), ou região geográfica e, as vacinas baseadas na região conservada da proteína M (BRANDT et al., 2000; BESSEN & FISCHETTI, 1988; DALE et al., 1993; SIMMONS et al., 1996; BRANDT et al., 2000, apud DUNN et al., 2002).

Outros aspectos, como: (1) custo; (2) via de administração; (3) número e freqüência de doses exigidas; (3) prováveis efeitos colaterais; (4) durabilidade de imunidade; etc., influenciam a utilidade de qualquer vacina. É provável que as vacinas multivalentes devam atender a epidemiologia das linhagens estreptocócicas locais associadas à febre reumática (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2004), a aplicação racional de uma possível vacina segura e efetiva vai requerer conhecimento das características clínicas, epidemiológicas e microbiológicas da doença em várias regiões do mundo. Assim, admite-se a necessidade de se priorizar a pesquisa contínua e permanente nesses aspectos.

Algumas das estratégias para o desenvolvimento de vacinas envolvem o uso de um fragmento hipervariável encontrada na região amino-terminal da proteína M

(QUINN et al., 1998, apud BRUNER et al., 2003). Alguns pesquisadores, como Dale et al. (1996, apud BRUNER et al., 2003), implementaram tal estratégia utilizando recombinantes. No trabalho mais recente de Hu et al. (2002, apud BRUNER et al., 2003), elaborou-se uma vacina multivalente (contendo fragmentos da região amino-terminal de 26 sorotipos distintos) que consistia de quatro proteínas recombinantes diferentes que foram formuladas com *alum* (sais de alumínio). Nesse caso, as respostas de anticorpos obtidas para tais proteínas foram imunogênicas e altamente opsônicas contra os sorotipos de estreptococos investigados e, não se verificou a reação cruzada com tecidos humanos. Assim, esses resultados indicam que epítomos da proteína M, tipo-específicos, podem ser incorporados em vacinas multivalentes projetadas para induzir anticorpos opsônicos amplamente protetores, que não reagem cruzadamente com tecidos humanos (HU et al., 2002).

Bruner et al. (2003) empregaram a estratégia do peptídeo sintético para demonstrar, dentre outras coisas, que os anticorpos produzidos *in vivo* reduzem significativamente a colonização nasofaringeana pelo estreptococo. Esse dado provém evidências de que a formulação de uma vacina multi-peptídica baseada no sorotipo prevalente poderia efetivamente mitigar ou suprimir a doença causada pelo estreptococo do grupo A. O uso de tal estratégia poderia resultar em vacinas baratas, com versatilidade para formulações modificadas, aplicáveis em países desenvolvidos e pouco desenvolvidos.

No ano de 2003, Bruner et al. avaliaram, em camundongos, a imunogenicidade e a capacidade protetora do peptídeo sintético sorotipo M-específico, derivado da região amino-terminal de três sorotipos predominantes de estreptococos (sendo três peptídeos por sorotipo, logo, um total de nove peptídeos) e observaram que, ao menos um peptídeo, representando cada um dos três

sorotipos testados, era imunogênico. Cinco dos nove peptídeos sintéticos testados provocaram uma resposta imune em camundongos. Os resultados obtidos por eles mostram a utilidade do peptídeo sintético sorotipo M-específico como antígeno em uma vacina multivalente contra estreptococos (BRUNER et al., 2003). Constataram, inclusive, que peptídeos simples sem adjuvantes podem gerar uma resposta de anticorpos funcional e, que os anticorpos opsonicos podem não somente ter uma atividade funcional homóloga, mas também, podem opsonizar sorotipos heterólogos (BRUNER et al., 2003).

Segundo Bruner et al. (2003), para uma proposta de vacina multi-peptídica, a estratégia de opsonização-cruzada é vantajosa, porque poderia minorar o número de peptídeos requeridos na formulação para uma máxima proteção. Alguns estudos têm sido desenvolvidos para se examinar pormenorizadamente e para se definir o alcance entre os sorotipos de tal estratégia (BRUNER et al., 2003).

Um multi-epítopo, denominado de heteropolímero, relacionado especificamente com a população australiana aborígine, contém sete seqüências peptídicas específicas encontradas na região amino-terminal da proteína M, derivadas de linhagens de estreptococos do grupo A comuns em regiões endêmicas e um peptídeo (J14) encontrado na região carboxila-terminal (RELF et al., 1996; HAYMAN et al., 1997, apud DUNN et al., 2002). Dunn et al. (2002) investigaram a imunogenicidade do heteropolímero administrado vias intranasal e oral, em camundongos, no que tange à indução e especificidade da resposta imunológica sistêmica e ao nível de mucosa. Eles demonstraram que a vacina sintetizada, baseada no multi-epítopo, é altamente imunogênica quando administrada via intranasal, salientando a eficácia dessa via no desenvolvimento de vacinas contra o estreptococo. Além disso, tem sido mostrado que sendo o heteropolímero

administrado via parenteral, os camundongos apresentam-se protegidos contra diferentes linhagens de estreptococos do grupo A (BRANDT et al., 2000, apud DUNN et al., 2002). Admite-se que a administração do heteropolímero via intranasal, possa induzir proteção imunológica contra a colonização e a infecção por tais microorganismos (DUNN et al., 2002).

Como a rota primária de infecção do estreptococo é a via respiratória superior, Olive, Clair, Yarwood e Good (2002) consideram ser viável o desenvolvimento de uma vacina dirigida à mucosa. Para desenvolver uma vacina utilizaram os peptídeos J8 e J14, presentes na extremidade carboxila, da proteína M e alguns adjuvantes, a saber: subunidade B, da toxina da cólera (CTB), o toxóide diftérico (dT), dentre outros. Observou-se que a colonização da garganta pelos estreptococos foi significativamente reduzida em ratos imunizados com a vacina J8 conjugado a adjuvantes. Os dados obtidos indicam que a imunidade contra a infecção, determinada pelo estreptococo, pode ser evocada através da imunização intranasal com uma vacina peptídica contendo elementos da região carboxila relacionados à epítomos da célula B.

Segundo Hall et al. (2004), alguns estudos mostram que uma vacina hexavalente (constituída por: lipossomos, com ou sem lipídios A monofosforilados-MPL; proteossomos da membrana externa de *Neisseria meningitidis*, complexadas com lipopolissacarídeos de *Shigella flexneri*; subunidade da toxina B, da cólera, contendo ou não holotoxina), baseada na proteína M, contendo adjuvantes e administrada via intranasal, induz a produção de anticorpos após injeções intramusculares, que protegem (em níveis significativos de 80 a 100% de proteção) os camundongos de infecções intra-nasais causadas por 24 linhagens de estreptococos. Os resultados obtidos indicam que a administração via intranasal

dessas vacinas induz respostas de anticorpos protetores e pode ser uma alternativa às vacinas injetadas via parenteral (HALL et al., 2004).

Considerando-se que um número limitado de sorotipos estreptocócicos acarreta doenças, admite-se que uma vacina octavalente sorotipo-específica preveniria 77% de infecções que levariam à febre reumática, 52% das infecções que causariam complicações graves e 40% de infecções simples (DALE, 2000, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Para desenvolver uma vacina, Brandt et al. (2000) identificaram um peptídeo helicoidal, o qual não reagia cruzadamente com o tecido do hospedeiro, da extremidade carboxila-terminal (designado por J 14) e o acoplaram a uma seqüência peptídica não presente na proteína M, para a manutenção da antigenicidade (RELF et al., 1996; BRANDT et al., 1997, apud BRANDT et al., 2000). Posteriormente, conectaram sete peptídeos sorotípicos (correspondentes às seqüências presentes na região amino-terminal da proteína M) com o J14, capacitando a apresentação, pelo imunógeno, de todos os peptídeos individuais pendentos de uma cadeia de alcanos. Nesse trabalho, optou-se em utilizar seqüências da extremidade amino, pois estudos têm mostrado que tais epítomos são mais efetivos na indução de respostas protetoras (BRANDT et al., 2000). Análises do soro de alguns pacientes demonstraram que a resposta de anticorpos para a maioria destes peptídeos aumenta com a idade, em paralelo com a aquisição da imunidade contra o estreptococo (BRANDT et al., 2000). Os resultados obtidos nesse experimento evidenciam que a vacina sintetizada possui excelente imunogenicidade e proteção em camundongos (BRANDT et al., 2000).

Segundo Olive et al. (2004), o desenvolvimento de vacinas, incluindo multi-epítomos ou fragmentos da região carboxila-terminal da proteína M, que atuem em

várias linhagens de estreptococos, está associado ao uso de adjuvantes, os quais são tóxicos aos humanos. Admite-se que o desenvolvimento de adjuvantes seguros e efetivos para o homem seja a "questão chave" na confecção de vacinas efetivas (OLIVE et al., 2004).

Brandt et al. (2000, apud HORVATH et al., 2002) demonstraram a completa proteção fornecida pela imunização com uma vacina multi-epítipo baseada na proteína M, em macacos com infecção sistêmica por estreptococos do grupo A. Porém, a eficácia dessa vacina requer a administração juntamente com CFA, o qual é tóxico para os humanos.

Alguns estudos sugeriam que uma imunoglobulina intravenosa (IVIG), poderia mitigar os danos cardíacos de doenças auto-imunes, como a febre reumática. Para avaliar essa hipótese, Voss et al. (2001) investigaram se tal molécula modificava o curso natural da febre reumática, reduzindo a duração e a severidade de cardites. Porém, nenhuma alteração na história natural da doença foi detectada durante 12 meses subseqüentes.

Segundo Shet et al. (2003) e Cleary et al. (1992, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004), a peptidase C5a do estreptococo, pertencente ao grupo A (SCPA) é uma enzima que cliva o fator quimiotático humano -C5a-, interferindo na afluência de neutrófilos polimorfonucleares ao local da infecção, facilitando o estabelecimento do microorganismo. Após mensurar a resposta imune humana contra o SCPA, através do método ELISA e da análise dos soros de crianças acometidas por faringite associada ao estreptococo do grupo A, constatou-se que a forte resposta imune contra o SCPA não dependia do sorotipo M, causador da infecção, nem da idade do paciente. Conhecimentos prévios do papel do SCPA, sua natureza altamente conservada e os resultados de estudos demonstrando a

resposta protetora em camundongos sugerem que tal proteína seja uma candidata ideal a constituir vacinas para a prevenção das doenças vinculadas aos estreptococos (SHET et al., 2003). Nos estudos (JI et al., 1997, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004) em que se efetuou a imunização via intranasal em ratos com uma forma de peptidase C5a, verificou-se a redução da colonização de vários sorotipos.

Outra proposta de vacina emprega a exotoxina B pirogênica estreptocócica (speB), a qual consiste de uma cisteína protease que ocorre em todos os estreptococos pertencentes ao grupo A. Nos estudos em que se efetuou a imunização ativa e passiva de ratos com tal substância constatou-se que os animais imunizados tiveram um maior tempo de vida após uma infecção pelo estreptococo que os não-imunizados (KAPUR et al., 1994, apud ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Vários adjuvantes experimentais foram desenvolvidos, mas, para uso humano, estão disponíveis apenas os sais de alumínio (*alum*). Dentre os problemas relacionados ao uso desses elementos, citam-se: (1) nem todas as proteínas e peptídeos são igualmente adsorvidos (SEEBER et al., 1991, apud HAYMAN et al., 2002); (2) existem condições estritas para o armazenamento de vacinas adsorvidas pelo *alum*, e (3) têm sido registradas algumas patologias associadas ao alumínio (GUPTA & RELYVELD, 1991, apud HAYMAN et al., 2002).

Horvath et al. (2004) sintetizaram uma vacina que continha três diferentes epítopos peptídicos da proteína M. Dois dos epítopos representam sorotipos da região amino-terminal e um, possui o sorotipo da extremidade carboxila-terminal. Eles também sintetizaram um LCP contendo esses mesmos peptídeos. Neste estudo, verificou-se que: (1) quando não se utilizava o sistema LCP, só se

observava a resposta de anticorpos para os três peptídeos com o uso de adjuvantes; (2) os epítomos peptídicos incorporados com o sistema LCP geravam respostas de anticorpos específicos aos epítomos, até mesmo na ausência de adjuvante convencional (HORVATH et al., 2002; OLIVE et al., 2002 e 2003, apud HORVATH, 2004).

Em estudos realizados com ratos, por Bessen e Fischetti (1990, apud BRUNER et al., 2003), peptídeos derivados da região carboxila-terminal, associados à subunidade B da toxina da cólera foram usados para imunizar camundongos e, nesse caso, verificou-se a indução da imunidade da mucosa contra múltiplos sorotipos, tão bem como a proteção contra a colonização pelo estreptococo. Brandt et al. (2000, apud BRUNER et al., 2003) imunizaram camundongos com CFA associado a peptídeos, derivados da região amino-terminal da proteína M, conjugados com toxóide tetânico e, constataram que tais peptídeos induziam anticorpos opsonizantes.

Segundo estudos desenvolvidos por Bruner et al. (2003), com peptídeos derivados da região amino-terminal da proteína M, associados com o adjuvante hidróxido de alumínio, constatou-se a indução de anticorpos funcionais e a redução da colonização por estreptococos. Esse dado indica que a imunização com um único peptídeo pequeno poderia efetivamente proteger contra o estreptococo. Esses resultados corroboram outros estudos, os quais têm demonstrado que as formulações de vacinas baseadas em fragmentos da região amino-terminal da proteína M são efetivas como imunógenos e podem proteger contra estreptococos (DALE et al., 1996, apud BRUNER et al., 2003).

Por alguns anos, um sistema de subtipos baseados nos genes da proteína M, designado por subtipo *emm*, tem sido utilizado. Tal sistema prediz a porção tipo-

específica da proteína M com elevada eficiência (BEALL et al., 1996; HOENES et al., 1997, apud BRUNER et al., 2003). Ele permite identificar o sorotipo predominante de doenças invasivas causadas por estreptococos em áreas de endemismo (BEALL et al., 2002, apud BRUNER et al., 2003). Algumas pesquisas identificaram vários dos epítomos tecido-reativos, da proteína M, permitindo o planejamento de vacinas que evitem essas áreas reativas e mitigando as preocupações relacionadas à reatividade cruzada (BRUNER et al., 2003).

O desenvolvimento recente da metodologia baseada na seqüência do gene *emm* (genes da proteína M) permitiu que dados relacionados à prevalência do sorotipo-M pudessem ser determinados (BRUNER et al., 2003). Tal técnica, segundo Hong et al. (2004), não requerer muitos anti-soros tipo M, e pode caracterizar a proteína M com rapidez e precisão, através do seqüenciamento dos produtos de PCR *emm*-específicos. Essa informação tem sido utilizada para identificar os componentes de uma vacina peptídica multivalente, a qual, teoricamente, pode prevenir a maioria das doenças vinculadas aos estreptococos do grupo A, nos EUA (BRUNER et al., 2003). A estratégia de se confeccionar uma vacina com múltiplos epítomos peptídicos é também citada no estudo desenvolvido por McMillan et al. (2004).

Hong et al. (2004) objetivando, entre outras coisas, analisar a distribuição das linhagens de estreptococos do grupo A, na China, e a associação correspondente ao tipo *emm*, sequenciaram os genes de 104 amostras de *S. pyogenes*, obtidos de crianças em idade escolar. E, observaram que o tipo *emm* 1, foi mais predominante, seguido dos tipos: *emm* 18, *emm* 12 e *emm* 69. Essa investigação provê uma diretriz útil para o desenvolvimento de vacinas tipo M-específicas para a febre reumática, em uma área específica de endemidade.

Miner et al. (2004) analisaram isolados de estreptococos, utilizando, entre outros procedimentos, a metodologia do gene *emm*. E, constataram que nos períodos em que se observavam expressivos casos de febre reumática, múltiplos tipos *emm*, incluindo os tipos *emm* 18.1 e *emm* 3, estavam circulando na comunidade. Porém, nos anos de atividade diminuída de febre reumática, os genótipos *emm* 3 e *emm* 18.1 estavam ausentes. Admite-se que os clones específicos de ambos os tipos sejam importantes no ressurgimento da febre reumática, nos anos em que se observa um grande número de casos da doença. Também se considera que outros dois outros genótipos, a saber: *emm* 12 e *emm* L 28, estejam associados com a persistência dessa enfermidade em Salt Lake City, Utah.

Sagar et al. (2004), para monitorar a heterogeneidade molecular entre os isolados de estreptococos, obtidos de pacientes com faringite, febre reumática e doença reumática cardíaca, empregaram a técnica do *emm* e do método designado por *Vir typing*. Nesse estudo, diferenciaram-se os isolados de estreptococos em 16 tipos *Vir*, os quais foram discriminados em 23 tipos *emm*. A maioria de tipos *emm* era *Vir*-específico, excluindo alguns poucos (7.5%) que revelaram tipos *Vir* diferentes, dentro de mesmo tipo *emm*. Após análise dos dados, observou-se 40% de heterogeneidade referente aos tipos *Vir* e 57,5% referente aos tipos *emm*. A partir desses dados, conclui-se que o estudo molecular demonstra diferentes tipos *emm* prevalentes e circulantes no norte de Índia e acredita-se que tais dados possam auxiliar na seleção de “tipos” para desenvolvimento de vacinas.

O procedimento *Vir typing* envolve o RFLP (Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição) de uma região ampliada por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) que representa o *locus mga regulon* do estreptococo. Esse *locus*

codifica: (1) a proteína M e as proteínas M-relacionadas; (2) seu regulador positivo e (3) a C5a peptidase (CAPARON & SCOTT, 1987; CLEARY et al., 1991, apud HARTAS, HIBBLE, SRIPRAKASH, 1998). Esse método é aplicável a todos os isolados de origens geográficas diversas. O *Vir typing* é altamente discriminatório e muito útil em estudos epidemiológicos, podendo apresentar resultados em até oito horas (GARDINER & SRIPRAKASH, 1996, apud HARTAS, HIBBLE, SRIPRAKASH, 1998).

O tamanho do produto da PCR está no alcance de quatro a 7 kb. Para se obter os produtos de PCR que correspondem ao *mga regulon*, modelos de DNA são preparados rotineiramente, em blocos de gel (GARDINER et al., 1995, apud HARTAS, HIBBLE, SRIPRAKASH, 1998).

Após obter o modelo de DNA, uma única colônia de uma placa, a qual contém: (1) caldo de Todd-Hewitt; (2) 0.2% extrato de levedura em ágar e (3) ágar de sangue de cavalo (HBA), ou, de uma placa com: (1) HBA; (2) sulfato de colistina e (3) ácido nalidixico (uma placa primária usada para isolamento de *Streptococcus* e *Staphylococcus*), é repicada e suspensa em 100 µl de 50 mM de hidróxido de sódio. A suspensão é incubada a 95 °C, por um minuto; resfriada a 4 °C, e então neutralizada com 16 µl de Tris-HCl (1M, pH 8.0). Após centrifugação em uma microcentrífuga, por dois minutos, em alta velocidade, o modelo deve ser submetido à reação de amplificação. A reação inclui um ciclo a 95°C, por um minuto e 30 ciclos a 95°C para 15 segundos, 60°C para dois minutos, e 68°C para seis minutos. Ao produto da reação é adicionado *Hae* III, a 37°C, por uma hora. Após a eletroforese, a visualização é feita por fluorescência com brometo de etídio, em gel de agarose. O DNA extraído pode ser armazenado em baixas temperaturas durante, pelo menos, dois meses, sem risco de deterioração. Para Hartas, Hibble e Sriprakash (1998), o

número limitado de reagentes e a facilidade de interpretação dos padrões de RFLP, torna esse procedimento uma boa opção para, por exemplo, estudos de vigilância epidemiológica.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Do total de artigos coletados, constatou-se que todos citam ou admitem a existência de várias evidências que apontam a conexão entre a infecção pelos estreptococos beta-hemolítico do grupo A e a patogênese da febre reumática.

Embora muitos estudos sugiram a relação entre tal moléstia com uma provável natureza auto-imune, o mecanismo patogênico preciso dessa enfermidade ainda é considerado como não esclarecido.

Algumas pesquisas expõem que a infecção pelo estreptococo se inicia com a ligação da superfície da bactéria, em receptores específicos presentes nas células do hospedeiro. Em seguida, processos específicos de aderência, colonização e invasão, se estabelecem. A adesão é um mecanismo essencial na colonização e é mediada pelas fibronectinas, pelo ácido lipoteicóico e pela proteína M. As respostas do hospedeiro contra o organismo invasor envolvem a produção de anticorpos, a opsonização e a fagocitose.

Tem sido postulado que alguns sorotipos M, geralmente colônias encapsuladas e mucóides, ricos em proteína M, são potencialmente reumatogênicos. Tais características aumentam a capacidade (1) de adesão do microorganismo no tecido e (2) de resistência à fagocitose no hospedeiro humano. Ressalta-se, no entanto, que a encapsulação não é uma característica exclusiva dessas linhagens (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Análises envolvendo os antígenos principais de histocompatibilidade, os antígenos tecido-específicos e o desenvolvimento de anticorpos durante e imediatamente após uma infecção por estreptococo têm apontado tais componentes

como os potenciais fatores de risco na patogênese da febre reumática (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Acredita-se que o grau de ocorrência da febre reumática seja afetado pelas condições sócio-econômicas, como o superpovoamento, o acesso a cuidados médicos, entre outros. Locais onde se verifica um aglomerado intenso de pessoas, que propicia um íntimo contato entre os indivíduos, contribui para a rápida expansão e para a persistência das linhagens estreptocócicas virulentas.

Quanto à susceptibilidade genética, muitos estudiosos admitem a hipótese de que a pessoa acometida por febre reumática deve possuir certa susceptibilidade determinada geneticamente; uma vez que, por exemplo, uma porcentagem insignificante de indivíduos com faringite estreptocócica desenvolve a febre reumática.

Acreditou-se que alguns antígenos HLA-específicos pudessem estar vinculados com o aumento no risco para se desenvolver a aludida moléstia; entretanto, considera-se que a variabilidade destes antígenos nas diferentes populações torna sua associação com a doença improvável.

Assim, admite-se que a ligação entre susceptibilidade para a febre reumática possa estar vinculada não apenas a um alelo particular, mas a um gene de susceptibilidade presente ou próximo do *locus* HLA-DR.

Constatou-se também, que pacientes com febre reumática aguda e os membros de suas famílias, expressam um aloantígeno, designado por D8/17, em elevadas porcentagens de células B. Assim, muitas pesquisas sugerem que o D8/17 pode ser um marcador de suscetibilidade para o desenvolvimento da febre reumática.

Ainda permanece a dúvida se tal suposto marcador é genético ou é induzido pela infecção estreptocócica como parte da patogênese da febre reumática aguda (CARAPETIS, CURRIE & MATHEWS, 2000).

Certos pesquisadores sugerem que o genótipo FcγRIIA-R/H-131 possa ser um marcador importante de predisposição para a febre reumática.

Determinados trabalhos, empregando animais que apresentam a infecção estreptocócica, têm ratificado a potencial proteção obtida por algumas vacinas sintetizadas, baseados nas regiões amino-terminal e carboxila-terminal, da proteína M. Esse sucesso pode ser explicado pelo fato de que a imunidade para o estreptococo é mediada por anticorpos opsonicos tipo M-específicos.

Algumas das vacinas sintetizadas possuem a proteína p145, presente na extremidade carboxila-terminal da proteína M. Admite-se que esse epítipo é distinguido pelos anticorpos de indivíduos que habitam locais com elevada exposição ao estreptococo.

Certos estudos demonstraram que os anticorpos humanos p145-específicos purificados e os anticorpos induzidos em macacos, imunizados com p145, são capazes de opsonizar múltiplos sorotipos de estreptococos do grupo A, sugerindo que esse peptídeo pode ser um candidato ideal à vacina (PRUKSAKORN, CURRIE & BRANDT et al., 1994, apud HAYMAN et al., 2002; PRUKSAKORN, GALBRAITH et al., 1992, apud HAYMAN et al., 2002).

Em outras investigações, constatou-se que essa região da proteína M se apõe ao epítipo classe I por 14 aminoácidos, os quais também ocorrem na miosina cardíaca. Apesar da patogênese da doença e a resposta imune p145-específica não ter sido comprovada, acredita-se que tal região pode ser muito útil em vacinas anti-estreptococos do grupo A, de largo espectro de ação. Assim, torna-se notória a

necessidade de se identificar os resíduos dentro da seqüência dos epítomos classe I para a elaboração de vacinas (BRANDT et al., 2001).

Algumas estratégias estão sendo investigadas para se tentar ampliar a antigenicidade de pequenos peptídeos empregados em vacinas. Dentre elas, citam-se a tecnologia dos LCP (Lipídio com Núcleo Lipídico) e do MAP (Peptídeo Antigênico Múltiplo).

Os LCP consistem de um centro de polilisina oligomérica, com múltiplas cópias de um peptídeo, conjugado para uma série de lipoaminoácidos, os quais facilitam a ancoragem do antígeno na membrana celular (GIBBONS et al., 1990; TOTH et al., 1994, apud HAYMAN et al., 2002).

O MAP consiste da polimerização de peptídeos incorporados em um centro de polilisina (TAM, 1988, apud HAYMAN et al., 2002; HORVATH et al., 2004).

Outro procedimento também empregado para tal finalidade é a polimerização, que resulta em co-polímeros de diferentes epítomos (JACKSON et al., 1997; BRANDT et al., 2000, apud HORVATH et al., 2004).

Dentre as estratégias usadas para o desenvolvimento de vacinas, inclui-se: (1) as vacinas multivalentes contendo seqüências tipo-específicas da proteína M, associados com uma doença particular (como a febre reumática), ou região geográfica; (2) as vacinas com um multi-epítopo, denominado de heteropolímero (que possui sete seqüências peptídicas específicas correspondentes à região amino-terminal da proteína M e o peptídeo J14, localizado na região carboxila-terminal); (3) as vacinas contendo a peptidase C5a do estreptococo; (4) as vacinas contendo a exotoxina B pirogênica estreptocócica; entre outras.

Admite-se que as vacinas mais promissoras estejam relacionadas àquelas baseadas na proteína M, incluindo as vacinas multivalentes tipo-específicas, e vacinas não tipo-específicas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2004).

Sendo a rota primária de infecção do estreptococo a via respiratória superior, alguns estudiosos admitem ser viável o desenvolvimento de uma vacina dirigida à mucosa (OLIVE, CLAIR, YARWOOD, GOOD, 2002). No caso da vacina com o heteropolímero, admite-se que sua administração via intranasal, possa induzir proteção imunológica contra a colonização e a infecção por estreptococos (DUNN et al., 2002).

Dentre os adjuvantes empregados em vacinas contra o estreptococo, citam-se: o adjuvante completo de Freund (CFA); lipossomos, com ou sem lipídios A monofosforilados (MPL); proteossomos da membrana externa de *Neisseria meningitidis*, complexadas com lipopolissacarídeos de *Shigella flexneri*; subunidade B da toxina da cólera (CTB), contendo ou não holotoxina; (CTB), toxóide diftérico (dT), etc.

Outros adjuvantes experimentais que poderiam compor as vacinas contra o estreptococo, foram desenvolvidos, mas, grande parte deles é tóxico ao ser humano, estando disponível para uso apenas os sais de alumínio (*alum*).

Certas técnicas que permitem identificar o sorotipo predominante de doenças invasivas causadas por estreptococos em áreas de vigilância, como o sistema de subtipos baseados nos genes da proteína M, designado por subtipo *emm*, e o procedimento *Vir typing*, são capazes de predizer a porção tipo-específica da proteína M com uma elevada eficiência (BEALL et al., 1996; HOENES et al., 1997, apud BRUNER et al., 2003). Dessa maneira, é possível saber com precisão as regiões da proteína M que reagem cruzadamente com os tecidos humanos,

possibilitado o planejamento de vacinas que evitam essas áreas reativas e, assim, mitigando as preocupações relacionadas à reatividade cruzada (BRUNER et al., 2003).

Acredita-se que maiores avanços relacionados ao desenvolvimento de vacinas seguras, efetivas, acessíveis à população, possam ser alcançados nos próximos anos. Enquanto não houver à disposição da população uma vacina para se evitar a infecção pelo estreptococo, recomenda-se o tratamento de toda infecção de garganta com antibiótico adequado, indicado por um profissional da área da saúde. Quanto aos indivíduos que já tiveram febre reumática e que, portanto, devem ser considerados como extremamente suscetíveis à sua recorrência quando infectados novamente pelo estreptococo do grupo A, deve-se efetuar a prevenção secundária que tem por objetivo evitar as recidivas da infecção estreptocócica de orofaringe. Para a profilaxia secundária é necessária a adesão ao tratamento a longo prazo em que se recomenda a penicilina benzatina, em doses indicadas pelo profissional da área da saúde.

Também há perspectiva de que maiores estudos nos anos seguintes possam elucidar a etiopatogenia da doença, de tal forma que se possa esclarecer, pormenorizadamente, o mecanismo responsável pelo desenvolvimento da doença; o papel do estreptococo beta-hemolítico do grupo A, do mimetismo molecular, etc. Da mesma forma, admite-se que os progressos quanto à associação entre febre reumática e susceptibilidade genética possam advir em um futuro próximo, sendo que, brevemente, espera-se que tal relação, a definição dos genes responsáveis pela susceptibilidade genética, etc., possam estar determinados.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, L. E. C. Time for a little molecular introspection. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 53-58, mar/abr. 1998.

ARESCHOUG, T.; CARLSSON, F.; CARLEMALM, M. S.; LINDAHL, G. Host-pathogen interactions in *Streptococcus pyogenes* infections, with special reference to puerperal fever and a comment on vaccine development. **Vaccine**, Oxon, v. 22, suppl 1, p. 9-14, dez. 2004.

AYOUB, E. M.; NELSON, B.; SHULMAN, S. T.; BARRETT, D. J.; CAMPBELL, J. D.; ARMSTRONG, G.; LOVEJOY, J.; ANGOFF, G. H.; ROCKENMACHER, S. Group A streptococcal antibodies in subjects with or without rheumatic fever in areas with high or low incidences of rheumatic fever. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Washington, v. 10, n. 5, p. 886-890, set. 2003.

BALAT, A.; KILINC, M.; CEKMEN, M. B.; GULER, E.; YUREKLI, M.; SAHINOZ, S.; COSKUN, Y. Adrenomedullin and total nitrite levels in children with acute rheumatic fever. **Clinical Biochemistry**, New York, v. 38, n 6, p. 526-530, jun. 2005.

BANKS, D. J.; BERES, S. B.; MUSSER, J. M. The fundamental contribution of phages to GAS evolution, genome diversification and strain emergence. **Trends in Microbiology**, Limerick, v. 10, n. 11, p. 515-521, nov. 2002.

BELOV, B. S. Acute rheumatic fever: Problems and outlooks. **Vestnik-Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk**, n. 7, p. 39-41, 2003.

BENOIST, C.; MATHIS, D. Autoimmunity provoked by infection: How good is the case for T cell epitope mimicry? **Nature Immunology**, New York, v. 2, n. 9, p. 797-801, set. 2001.

BERDELI, A.; CELIK, H. A. K.; ÖZYÜREK, R.; AYDIN, H. H. Involvement of immunoglobulin FcγRIIA and FcγRIIIB gene polymorphisms in susceptibility to rheumatic fever. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, Philadelphia, v. 34, n. 2, p. 553-558, out. 2004.

BICK, R. J.; POINDEXTER, B. J.; TONG, S.; KALIS, N. N.; MERWE, P. V. D.; GATCHEL, J.; YOUNG, D. C. Effects of IgM from rheumatic fever patients on intracellular calcium levels of neonatal rat cardiac myocytes. **Life Sciences**, New York, v. 73, n. 16, p. 2101-2111, set. 2003.

BIER, O. **Microbiologia e Imunologia**. 23. ed, São Paulo: Editora Melhoramentos, 1984.

BIER, O.; SILVA, W. D.; ALBUQUERQUE, I. M. **Imunologia Básica e Aplicada**. 4. ed, Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1989.

BINOTTO, M. A.; GUILHERME, L.; TANAKA, A. C. **Rheumatic Fever**. Heart Institute (InCor), University of Sao Paulo Medical School, Sao Paulo, Brazil. Images in Paediatric Cardiology. 2002; 11:12-25. Disponível no site:> <http://www.health.gov.mt/impaedcard/issue/issue11/1231/1231.htm><. Acesso em: 8.dez.2004.

BRANDT, E. R.; HAYMAN, W. A.; CURRIE, B.; PRUKSAKORN, S.; GOOD, M. F. Human antibodies to the conserved region of the M protein: opsonization of heterologous strains of group A streptococci. **Vaccine**, Oxon, v. 15, n. 16, p. 1805-1812, nov. 1997.

BRANDT, E. R.; SRIPRAKSAH, K. S.; HOBBS, R. I.; HAYMAN, W. A.; ZENG, W.; BATZLOFF, M. R.; JACKSON, D. C.; GOOD, M. F. New multi-determinant strategy for a group A streptococcal vaccine designed for the Australian Aboriginal population. **Nature Medicine**, New York, v. 6, n. 4, p. 455-459, abr. 2000.

BRANDT, E. R.; YARWOOD, P. J.; McMILLAN, D. J.; VOHRA, H.; CURRIE, B.; MAMMO, L.; PRUKSAKORN, S.; SAOUR, J.; GOOD, M. F. Antibody levels to the class I and II epitopes of the M protein and myosin are related to group A streptococcal exposure in endemic populations. **International Immunology**, Oxford, v. 13, n. 10, p. 1335-1343, out. 2001.

BRUNER, M.; JAMES, A.; BEALL, B.; CARLONE, G. M.; ADES, E.; JOHNSON, S.; GUARNER, J.; SAMPSON, J. Evaluation of synthetic, M type-specific peptides as antigens in a multivalent group A streptococcal vaccine. **Vaccine**, Oxon, v. 21, 21-22. ed., n. 20, p. 2698-2703, jun. 2003.

CARAPETIS, J. R.; CURRIE, B. J.; MATHEWS, J. D. Cumulative incidence of rheumatic fever in an endemic region: a guide to the susceptibility of the population. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 124, n. 2, p. 239-244, abr. 2000.

CARAPETIS, J. R.; CURRIE, B. J. Rheumatic fever in a high incidence population: the importance of monoarthritis and low grade fever. **Archives of Disease Childhood**, London, v. 85, p. 223-227, set. 2001.

CARRION, F.; FERNANDEZ, M.; IRURETAGOYENA, M.; ANDRADE, L. E. C. HILARIO, M. O.; FIGUEROA, F. Selective depletion of Vbeta2+CD8+ T cells in peripheral blood from rheumatic heart disease patients. **Journal of Autoimmunity**, London, v. 20, n. 2, p. 183-190, mar. 2003.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L.; SCHOEN, F. J. **Patologia estrutural e funcional**. 5. ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1996.

CUNNINGHAM, M. Autoimmunity and molecular mimicry in the pathogenesis of post-streptococcal heart disease. **Frontiers in Bioscience**, Tampa, v. 1, n. 8, p. 533-543, maio 2003.

DALE, J. B. Multivalent group A streptococcal vaccine designed to optimize the immunogenicity of six tandem M protein fragments. **Vaccine**, Oxon, v. 17, n. 2, p. 193-200, jan. 1999.

DALE, J. B.; SIMMONS, M.; CHIANG, E. C.; CHIANG, E. Y. Recombinant, octavalent group A streptococcal M protein vaccine. **Vaccine**, Oxon, v. 14, n. 10, p. 944-948, jul. 1996.

DINKLA, K.; ROHDE, M.; JANSEN, W. T.; KAPLAN, E. L.; CHHATWAL, G. S.; TALAY, S. R. Rheumatic fever-associated *Streptococcus pyogenes* isolates aggregate collagen. **Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, v. 111, n. 12, p. 1905-1912, jun. 2003.

DUNN, L. A.; MCMILLAN, D. J.; BATZLOFF, M.; ZENG, W.; JACKSON, D. C.; UPCROFT, J. A.; UPCROFT, P.; OLIVE, C. Parenteral and mucosal delivery of a novel multi-epitope M protein-based group A streptococcal vaccine construct: investigation of immunogenicity in mice. **Vaccine**, Oxon, v. 20, n. 21, p. 2635-2640, jun. 2002.

EISEN, J. L.; LEONARD, H. L.; SWEDO, S. E.; PRICE, L. H.; ZABRISKIE, J. B.; CHIANG, S. Y.; KARITANI, M.; RASMUSSEN, S. A. The use of antibody D8/17 to identify B cells in adults with obsessive-compulsive disorder. **Psychiatry Research**, Amsterdam, v. 104, n. 3, p. 221-225, nov. 2001.

FADDIN, J. F. **Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica**. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2003.

FAÉ, K. C.; OSHIRO, S. E.; TOUBERT, A.; CHARRON, D.; KALIL, J.; GUILHERME, L. How an autoimmune reaction triggered by molecular mimicry between streptococcal M protein and cardiac tissue proteins leads to heart lesions in

rheumatic heart disease. **Journal of Autoimmunity**, London, v. 24, n. 2, p. 101-109, mar. 2005.

FERRETTI, J. J.; MCSHAN, W. M.; AJDIC, D.; SAVIC, D. J.; SAVIC, G.; LYON, K.; PRIMEAUX, C.; SEZATE, S.; SUVOROV, A. N.; KENTON, S.; LAI, H. S.; LIN, S. P.; QIAN, Y.; JIA, H. G.; NAJAR, F. Z.; REN, Q.; ZHU, H.; SONG, L.; WHITE, J.; YUAN, X.; CLIFTON, S. W.; ROE, B. A.; MCLAUGHLIN, R. Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, n. 8, p. 4658-4663, abr. 2001.

FIORAVANTI, A.; MONTEMERANI, M.; SCOLA, C.; MINARI, C.; BELLISAI, F.; PIPITONE, N.; CICERO, M. R.; MARCOLONGO, R. Fever of unknown origin in rheumatic diseases. **Recenti Progress in Medicina**, Rome, v. 89, n. 1, p. 30-36, 1998.

FISCHETTI, V. A. **Vaccine and Antibiotics**. The Laboratory of Bacterial Pathogenesis and Immunology, The Rockefeller University, New York, New York, 1995. Disponível no site: ><http://www.rockefeller.edu/vaf/><. Acesso em: 8.dez.2004.

GARDINER, D.; HARTAS, J.; CURRIE, B.; MATHEWS, J. D.; KEMP, D. J.; SRIPRAKASH, K. S. *Vir typing*: a long-PCR typing method for group A streptococci. **PCR Methods and Applications**, New York, v. 4, n. 5, p. 288-293, abr. 1995.

GOOD, M. F.; XU, H.; BATZLOFF, M. Adapting immunity with subunit vaccines: Case studies with group A *Streptococcus* and malaria. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 32, n. 5, p. 575-580, maio 2002.

GROCHOSKI, M.; KÖB, E. L.; BENTHIEN, V.; ANDRADE, C.; KRÜEGER, G. C.; BOMPEIXE, E. P.; HIGUTI, I. H. **Estudo e prevenção da febre reumática em escolares da rede municipal de ensino em Campo Largo-PR**. Relatório de Projeto de Extensão- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

GUILHERME, L.; CUNHA-NETO, E.; TANAKA, A. C.; DULPHY, N.; TOUBERT, A.; KALIL, J. Heart-directed autoimmunity: The case of rheumatic fever. **Journal of Autoimmunity**, London, v. 16, n. 3, p. 363-367, maio 2001.

GUILHERME, L.; KALIL, J. Febre Reumática – da definição do agente etiológico no início do século 20 à compreensão da patogênese da doença e possibilidade de imunoterapia. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 42, n. 4, p. IX-XX, jul/ago. 2002.

GUILHERME, L.; KALIL, J. Rheumatic fever: From sore throat to autoimmune heart lesions. **International Archives of Allergy and Immunology**, Basel, v. 134, n. 1, p. 56-64, maio 2004.

GUILHERME, L.; KALIL, J. **Doença reumática cardíaca: como uma infecção de garganta pode desencadear lesão no coração.** Disponível no site: ><http://www.hnet.usp.br/otorino/arq/reuma.htm#1><. Acesso em: 20.abr.2005.

GUILHOTO, L. M. F. F.; PEREIRA, R. M. R.; SCHAINBERG, C. G.; YOSHINARI, N. H. Sydenham's chorea: literature review. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 37, p. 267-270, n. 5, set/out. 1997.

HALL, M. A.; STROOP, S. D.; HU, M. C.; WALLS, M. A.; REDDISH, M. A.; BURT, D. S.; LOWELL, G. H.; DALE, J. B. Intranasal immunization with multivalent group A streptococcal vaccines protects mice against intranasal challenge infections. **Infection and Immunity**, Washington, v. 72, n. 5, p. 2507-2512, maio 2004.

HAREL, L.; ZEHARIA, A.; KODMAN, Y.; STRAUSSBERG, R.; ZABRISKIE, J. B.; AMIR, J. Presence of the D8/17 B-cell marker in children with rheumatic fever in Israel. **Clinical Genetics**, Copenhagen, v. 61, n. 4, p. 293-298, abr. 2002.

HARTAS, J.; HIBBLE, M.; SRIPRAKASH, K. S. Simplification of a Locus-Specific DNA Typing Method (Vir Typing) for *Streptococcus pyogenes*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 36, n. 5, p. 1428-1429, maio 1998.

HAYMAN, W. A.; BRANDT, E. R.; RELF, W. A.; COOPER, J.; SAUL, A.; GOOD, M. F. Mapping the minimal murine T cell and B cell epitopes within a peptide vaccine candidate from the conserved region of the M protein of group A *Streptococcus*. **International Immunology**, Oxford, v. 19, n. 11, p. 1723-1733, nov. 1997.

HAYMAN, W. A.; TOTH, I.; FLINN, N.; SCANLON, M.; GOOD, M. F. Enhancing the immunogenicity and modulating the fine epitope recognition of antisera to a helical group A streptococcal peptide vaccine candidate from the M protein using lipid-core peptide technology. **Immunology and Cell Biology**, Adelaide, v. 80, n. 2, p. 178-187, abr. 2002.

HOEKSTRA, P. J.; BIJZET, J.; LIMBURG, P. C.; STEENHUIS, M. P.; TROOST, P. W.; OOSTERHOFF, M. D.; KORF, J.; KALLENBERG, C. G.; MINDERAA, R. B. Elevated D8/17 expression on B lymphocytes, a marker of rheumatic fever, measured with flow cytometry in tic disorder patients. **American Journal of Psychiatry**, Washington, v. 158, n. 4, p. 605-610, abr. 2001.

HONG, C. Z. et al. Typing of 104 *Streptococci pyogenes* isolates from China based on *emm* gene sequence. **Chinese Journal of Microbiology and Immunology**, Taipei, v. 24, n. 6, p. 489-491, 2004.

HORVATH, A.; OLIVE, C.; WONG, A.; CLAIR, T.; YARWOOD, P.; GOOD, M.; TOTH, I. Lipoamino acid-based adjuvant carrier system: enhanced immunogenicity of group A streptococcal peptide epitopes. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 45, n. 6, p. 1387-1390, mar. 2002.

HORVATH, A.; OLIVE, C.; SUN, H. K.; GOOD, M. F.; TOTH, I. Towards the development of a synthetic group A streptococcal vaccine of high purity and broad protective coverage. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 47, p. 4100-4104, jul. 2004.

HU, M. C.; WALLS, M. A.; STROOP, S. D.; REDDISH, M. A.; BEALL, B.; DALE, J. B. Immunogenicity of a 26-valent group A streptococcal vaccine. **Infection and Immunity**, Washington, v. 70, n. 4, p. 2171-2177, abr. 2002.

INOFF-GERMAIN, G.; RODRIGUEZ, R. S.; ALCANTARA, S. T.; JIMENEZ, M. J. D.; SWEDO, S. E.; RAPOPORT, J. L. An immunological marker (D8/17) associated with rheumatic fever as a predictor of childhood psychiatric disorders in a community sample. **Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines**, Cambridge, v. 44, n. 5, p. 782-790, jul. 2003.

JAWETZ, E.; MELNICK, J. L.; ADELBERG, E. A.; BROOKS, G. F.; BUTEL, J. S.; ORNSTON, L. N. **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1991.

KAPUR, V.; MAFFEI, J. T.; GREER, R. S.; LI, L. L.; ADAMS, G. J.; MUSSER, J. M. Vaccination with streptococcal extracellular cysteine protease (interleukin-1 convertase) protects mice against challenge with heterologous group A streptococcal. **Microbial Pathogenesis**, London, v. 16, n. 6, p. 443-450, jun. 1994.

KEEFER, C. S.; WILKINS, R. W. **Medicina- Compêndio de práticas clínicas**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1976.

KIRVAN, C. A.; SWEDO, S. E.; HEUSER, J. S.; CUNNINGHAM, M. W. Mimicry and autoantibody-mediated neuronal cell signaling in Sydenham chorea. **Nature Medicine**, New York, v. 9, n. 7, p. 914-920, jul. 2003.

KISS, M. H. **Reumatologia para Graduação- Febre Reumática**. Disponível no site: ><http://www.fm.usp.br/departamento/clinmed/reumatologia/indice.php><. Acesso em: 15.ago.2004.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; HERECKENBERGER, P. C.; WINN, W.C. J. **Diagnóstico Microbiológico**. 5. ed, Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001.

KUAN, A. P.; CHAMBERLAIN, W.; MALKIEL, S.; LIEU, H. D.; FACTOR, S. M.; DIAMOND, B.; KOTZIN, B. L. Genetic control of autoimmune myocarditis by myosin-specific antibodies. **Immunogenetics**, Berlin, v. 49, n. 2, p. 79-85, fev.1999.

KUMAR, D.; KAUL, P.; GROVER, A.; GANGULY, N. K. Distribution of cells bearing B-cell alloantigen(s) in North Indian rheumatic fever/rheumatic heart disease patients. **Molecular and Cellular Biochemistry**, Dordrecht, v. 218, n. 1-2, p 21-26, fev. 2001.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 4. ed., Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1998.

Manual de Exames Fleury. São Paulo, 1999.

McLELLAN, D. G. J.; CHIANG, E. Y.; COURTNEY, H. S.; HASTY, D. L.; WEI, S. C.; HU, M. C.; WALLS, M. A.; BLOOM, J. J.; DALE, J. B. Spa contributes to the virulence of type 18 group A streptococci. **Infection and Immunity**, Washington, v. 69, n. 5, p. 2943-2949, maio 2001.

McMILLAN, D. J.; DAVIES, M. R.; BROWNING, C. L.; GOOD, M. F.; SRIPRAKASH, K. S. Prospecting for new group A streptococcal vaccine candidates. **Indian Journal of Medical Research**, New Delhi, v. 119, p. 121-125, maio 2004.

MERCADANTE, M. T.; BUSATTO, G. F.; LOMBROSO, P. J.; PRADO, L.; CAMPOS, M. C. R.; DO VALLE, R.; DIAS, M. J. M.; KISS, M. H.; LECKMAN, J. F.; MIGUEL, E. C. The psychiatric symptoms of rheumatic fever. **American Journal of Psychiatry**, Washington, v. 157, p. 2036-2038, dez. 2000.

MINER, L. J.; PETHERAM, S. J.; DALY, J. A.; KORGENSKI, E. K.; SELIN, K. S.; FIRTH, S. D.; VEASY, L. G.; HILL, H. R.; BALE, J. F. J.; THE POST-STREPTOCOCCAL SYNDROME STUDY TEAM. Molecular characterization of *Streptococcus pyogenes* isolates collected during periods of increased acute rheumatic fever activity in Utah. **Pediatric Infectious Disease Journal**, Hangerstown, v. 23, n. 1, p. 56-61, jan. 2004.

MURPHY, T. K.; BENSON, N.; ZAYTOUN, A.; YANG, M.; BRAYLAN, R.; AYOUB, E.; GOODMAN, W. K. Progress toward analysis of D8/17 binding to B cells in children with obsessive compulsive disorder and/or chronic tic disorder. **Journal of Neuroimmunology**, Amsterdam, v. 120, n. 1-2, p. 146-151, nov. 2001.

MURRAY, P. R.; DREW, W. L.; KOBAYASHI, G. S.; THOMPSON, J. H. J. **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1992.

NETO, V. M.; BALDY, J. L. S. **Doenças Transmissíveis**. 3. ed., São Paulo: Sarvier, 1989.

NEUNER, J. M.; HAMEL, M. B.; PHILLIPS, R. S.; BONA, K.; ARONSON, M. D. Diagnosis and management of adults with pharyngitis. A cost-effectiveness analysis. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 139, n. 2, p. 113-122, jul. 2003.

OLIVE, C.; CLAIR, T.; YARWOOD, P.; GOOD, M. F. Protection of mice from group A streptococcal infection by intranasal immunisation with a peptide vaccine that contains a conserved M protein B cell epitope and lacks a T cell autoepitope. **Vaccine**, Oxon, v. 20, n. 21-22, p. 2816-2825, jun. 2002.

OLIVE, C.; BATZLOFF, M.; HORVATH, A.; CLAIR, T.; YARWOOD, P.; TOTH, I.; GOOD, M. F. Group A streptococcal vaccine delivery by immunization with a self-adjuvanting M protein-based lipid core peptide construct. **Indian Journal of Medical Research**, New Delhi, v. 119, p. 88-94, maio 2004.

OLIVE, C.; BATZLOFF, M.; HORVATH, A.; CLAIR, T.; YARWOOD, P.; TOTH, I.; GOOD, M. F. Potential of lipid core peptide technology as a novel self- adjuvanting vaccine delivery system for multiple different synthetic peptide immunogens. **Infection and Immunity**, Washington, v. 71, n. 5, p. 2373-2383, 2003.

OLIVEIRA, J. J.; SILVA, S. R. A. S.; VIJLE, J. D. Doença Reumática. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 69, n. 1, p.69-77, jul. 1997.

OLIVIER, C. Rheumatic fever- is it still a problem? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford, v. 45, topic T1, p. 13-21, fev. 2000.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Rheumatic fever and rheumatic heart disease**. Report of a WHO Expert Consultation Geneva, 29 October–1 November 2001, Geneva, 2004.

PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia conceitos e aplicações**. 2. ed., v. 2, São Paulo: Makron Books, 1996.

PROFT, T.; WEBB, P. D.; HANDLEY, V.; FRASER, J. D. Identification and characterization of the two novel streptococcal pyrogenic exotoxins speL & speM. **Indian Journal of Medical-Research**, New Delhi, v. 119, suppl. S, p. 37-43, 2004.

PROFT, T.; WEBB, P. D.; HANDLEY, V.; FRASER, J. D. Two novel superantigens found in both group A and C group *Streptococcus*. **Infection and Immunity**, Washington, v. 71, n. 3, p. 1361-1369, 2003.

QUINN, A.; KOSANKE, S.; FISCHETTI, V. A.; FACTOR, S. M.; CUNNINGHAM, M. W. Induction of autoimmunity valvular heart disease by recombinant streptococcal M protein. **Infection and Immunity**, Washington, v. 69, n. 6, p. 4072-4078, jun. 2001.

RACHID, A. Novidades e aspectos clínicos controversos da febre reumática. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 42, n. 3, p. 176-181, maio/jun. 2002.

RACHID, A. Etiopathogenesis of the rheumatic fever. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 232-237, jul/ago. 2003.

REHIM, M. A.; DEGNAN, B.; EL GHOBARY, A.; HART, A.; EL SAYED, H.; EL SHEIKH, N.; GOODACRE, J. Serum antibodies to group A streptococcal extracellular and cell-associated antigens in Egyptians with post-streptococcal diseases. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 31, n.1, p. 21-27, jul.2001.

REID, S. D.; GREEN, N. M.; SYLVA, G. L.; VOYICH, J. M.; STENSETH, E. T.; DELEO, F. R.; PALZKILL, T.; LOW, D. E.; HILL, H. R.; MUSSER, J. M. Postgenomic analysis of four novel antigens of group A *Streptococcus*: growth phase-dependent gene transcription and human serologic response. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 184, n. 22, p. 6316-6324, nov. 2002.

ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S.; KUMAR, V. **Fundamentos de Patologia Estrutural e Funcional**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1992.

ROBINSON, J. H.; KEHOE, M. A. Group A streptococcal M proteins: virulence factor and protective antigens. **Immunology Today**, Limerick, v. 13, n. 9, p. 362-367, set. 1992.

SAGAR, V.; BAKSHI, D. K.; NANDI, S.; GANGULY, N. K.; KUMAR, R.; CHAKRABORTI, A. Molecular heterogeneity among north Indian isolates of group A *Streptococcus*. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 39, n. 1, p. 84-88, jul. 2004.

SCHEIBEL, I. M.; BRENOL, J. C. T.; XAVIER, R. M. Avaliação da adesão à profilaxia secundária da febre reumática. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 41, n. 4, p. 220-225, jul/ago. 2001.

SHET, A.; KAPLAN, E. L.; JOHNSON, D. R.; CLEARY, P. P. Immune response to group A streptococcal C5a peptidase in children: implications for vaccine development. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 188, n. 6, p. 809-817, set. 2003.

SMOOT, J. C.; BARBIAN, K. D.; VAN GOMPEL, J. J.; SMOOT, L. M.; CHAUSSEE, M. S.; SYLVA, G. L.; STURDEVANT, D. E.; RICKLEFS, S. M.; PORCELLA, S. F.; PARKINS, L. D.; BERES, S. B.; CAMPBELL, D. S.; SMITH, T. M.; ZHANG, Q.; KAPUR, V.; DALY, J. A.; VEASY, L. G.; MUSSER, J. M. Genome sequence and comparative microarray analysis of serotype M 18 group A *Streptococcus* strains associated with acute rheumatic fever outbreaks. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 99, n. 7, p. 4668-4673, abr. 2002.

SMOOT, L. M.; MCCORMICK, J. K.; SMOOT, J. C.; HOE, N. P.; STRICKLAND, I.; COLE, R. L.; BARBIAN, K. D.; EARHART, C. A.; OHLENDORF, D. H.; VEASY, L. G.; HILL, H. R.; LEUNG, D. Y.; SCHLIEVERT, P. M.; MUSSER, J. M. Characterization of two novel pyrogenic toxin superantigens made by an acute rheumatic fever clone of *Streptococcus pyogenes* associated with multiple disease outbreaks. **Infection and Immunity**, Washington, v. 70, n. 12, p. 7095-7104, dez. 2002.

SOKOL, M. S.; WARD, P. E.; TAMIYA, H.; KONDO, D. G.; HOUSTON, D.; ZABRISKIE, J. B. D8/17 expression on B lymphocytes in anorexia nervosa. **American Journal of Psychiatry**, Washington, v. 159, n. 8, p. 1430-1432, ago. 2002.

SPAUN, J.; BENTZON, M. W.; OLESEN, L. S.; HEWITT, L. F. International standard for antistreptolysin O. **Bull WHO**, Geneva, v. 24, p. 271-279, 1961.

STOLLERMAN, G. H. Rheumatic fever in the 21st century. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 33, n. 6, p. 806-814, set. 2001.

TERRERI, M. T. R. A; HILÁRIO, M. O. E. Aspectos imunogenéticos da febre reumática. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 36, n. 6, p. 391-394, nov/dez. 1996.

TERRERI, M. T. R. A; ROJA, S. C.; LEN, C. A.; FAUSTINO, P. C.; ROBERTO, A. M.; HILÁRIO, M. O. E. Sydenham's chorea: clinical and evolutive characteristics. **Sao Paulo Medical Journal**, São Paulo, v.120, n.1, p.16-19, jan. 2002.

TERRERI, M. T.; LEN, C.; HILÁRIO, M. O. E.; GOLDENBERG, J.; FERRAZ, M. B. Resource utilization and cost entailed to patients with rheumatic fever. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 42, n. 4, p. 211-218, jul/ago. 2002.

TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. **Microbiologia**. 1. ed., São Paulo: Atheneu, 1991.

VERONESI, R. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 8. ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1991.

VOSS, L. M.; WILSON, N. J.; NEUTZE, J. M.; WHITLOCK, R. M.; AMERATUNGA, R. V.; CAIRNS, L. M.; LENNON, D. R. Intravenous immunoglobulin in acute rheumatic fever: A randomized controlled trial. **Circulation**, Hagerstown, v. 103, n. 3, p. 401-406, jan. 2001.

YAMAN, I. H.; DAGDEMIR, A.; BAYSAL, K. Serum intercellular adhesion molecule-1 levels in acute rheumatic fever. **Annals of Tropical Paediatrics**, Oxon, v. 23, n. 3, p. 167-171, set. 2003.

WATER, J. D.; ISHIBASHI, H.; COPPEL, R. L.; GERSHWIN, M. E. Molecular mimicry and primary biliary cirrhosis: premises not promises. **Hepatology**, Philadelphia, v. 33, n. 4, p. 771-775, abr. 2001.

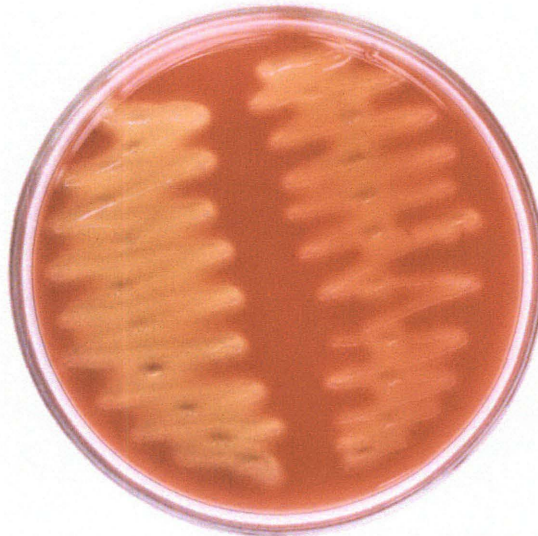
WEISZ, J. L.; MCMAHON, W. M.; MOORE, J. C.; AUGUSTINE, N. H.; BOHNSACK, J. F.; BALE, J. F.; JOHNSON, M. B.; MORGAN, J. F.; JENSEN, J.; TANI, L. Y.; VEASY, L. G.; HILL, H. R. D8/17 and CD9 expression on lymphocytes of patients with acute rheumatic fever and Tourette's disorder. **Clinical and diagnostic Laboratory Immunology**, Washington, v. 11, n. 2, p. 330-336, mar. 2004.

WHICHER, J. T.; RITCHIE, R. F.; JOHNSON, A. M.; BAUDNER, S.; BIENVENU, J.; BLIRUP-JENSEN, S.; CARLSTROM, A.; DATI, F.; WARD, A. M.; SVENDSEN, P.J. New international reference preparation for proteins in human serum (RPPHS). **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 40, n. 6, p. 934-938, jun. 1994.

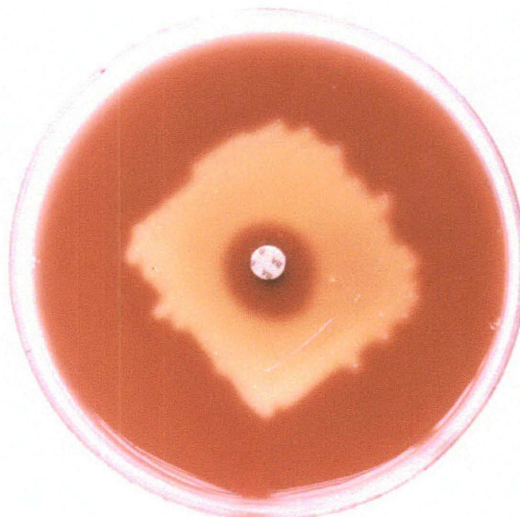
6 ANEXOS



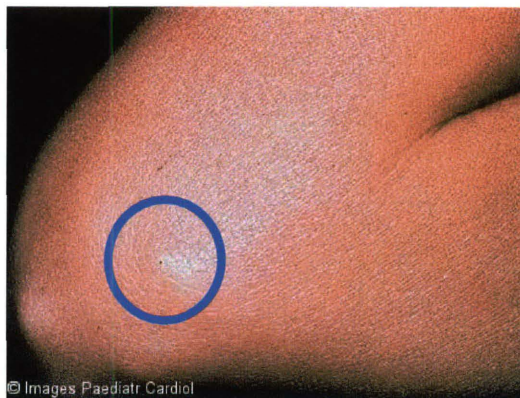
**FIGURA 02- Coleta do material da orofaringe.
FONTE: GROCHOSKI et al. (2004).**



**FIGURA 03- Placa com semeadura.
FONTE: GROCHOSKI et al. (2004).**



**FIGURA 04- Antibiograma.
FONTE: GROCHOSKI et al. (2004).**



© Images Paediatr Cardiol

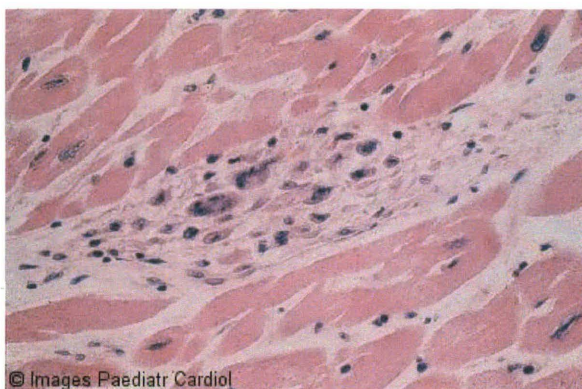
FIGURA 05- Nódulo subcutâneo.
FONTE: BINOTTO, GUILHERME, TANAKA (2002).



© Images Paediatr Cardiol

© Images Paediatr Cardiol

FIGURA 06- Eritema marginado.
FONTE: FONTE: BINOTTO, GUILHERME, TANAKA (2002).



© Images Paediatr Cardiol

FIGURA 07- Nódulo de Aschoff.
FONTE: FONTE: BINOTTO, GUILHERME, TANAKA (2002).

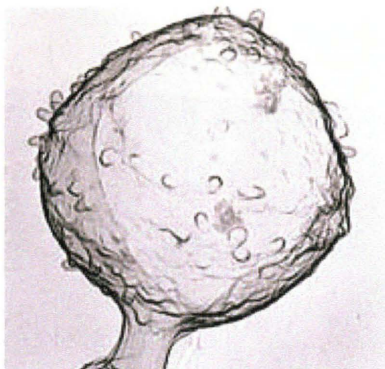


FIGURA 08- Eletromicrografia (96,000X) do *S. pyogenes*.
FONTE: FISCHETTI (1995).

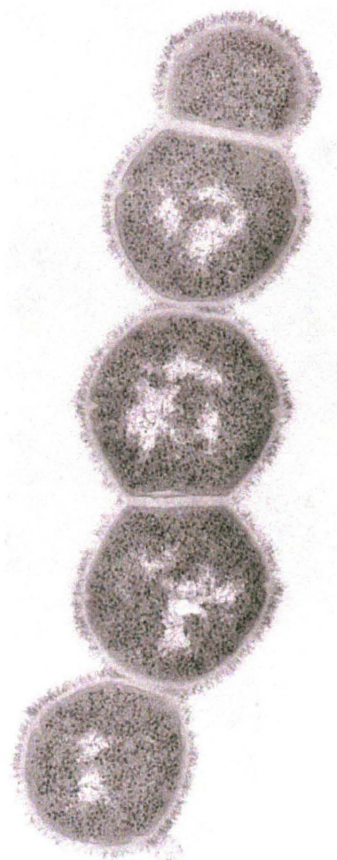


FIGURA 09- Eletromicrografia (20,000X) do *S. pyogenes*.
FONTE: FISCHETTI (1995).