

## Caracterização fenotípica de isolados de *Shigella* spp. entre 2015 e 2017

### Phenotypic characterization of isolates of *Shigella* spp. between 2015 and 2017

Leonor Silveira, Ângela Pista, Jorge Machado

leonor.silveira@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência de Infeções Gastrointestinais. Departamento de Doenças Infeciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

#### \_Resumo

Em Portugal, a shigelose é uma gastroenterite pouco frequente. Com este estudo pretendeu-se descrever os serotipos de *Shigella* spp. identificados no Laboratório Nacional de Referência de Infeções Gastrointestinais do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre 2015 e 2017. Foram analisadas estirpes isoladas de 53 doentes, que foram enviadas a nível nacional ao INSA para serotipagem. A suscetibilidade aos antimicrobianos foi realizada segundo as recomendações do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST). Os serotipos mais frequentemente encontrados foram *Sh. sonnei* (n=37; 69,8%), *Sh. flexneri* 2 (n=7; 13,2%), *Sh. flexneri* 3 (n=3; 5,7%). Foi observada uma elevada percentagem de resistência à tetraciclina (47/53; 88,7%). Em 2017, todas as estirpes apresentaram resistência à ampicilina e a percentagem de estirpes com resistência à ciprofloxacina aumentou consideravelmente, de 5,0% em 2015 para 62,5% em 2017. Cerca de 50% das estirpes apresentaram resistência à azitromicina durante o período em análise. Foram detetados 4 casos de *Shigella* spp. multirresistentes em homens que fazem sexo com homens (HSH). O aumento de resistências aos antibióticos observados nestes dois anos alerta para a importância de uma vigilância ativa das mesmas e impõe uma articulação efetiva entre os diversos serviços de saúde envolvidos.

#### \_Abstract

*Shigella* is a rare cause of gastrointestinal disease in Portugal. This study describes *Shigella* serotypes identified in National Reference Laboratory for Gastrointestinal Diseases of National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge (INSA) from 2015 to 2017. We analysed the strains isolated from fifty three patients. Antimicrobial susceptibility testing was performed according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). The most frequent serotypes were *Sh. sonnei* (n=37; 69.8%), *Sh. flexneri* 2 (n=7; 13.2%), *Sh. flexneri* 3 (n=3; 5.7%). We observed a high frequency of resistance to tetracycline (47/53; 88.7%). In 2017, all strains presented resistance to ampicillin and the percentage of strains resistant to ciprofloxacin increased from 5.0% in 2015 to 62.5% in 2017. About 50% of the strains were resistant to azithromycin. We detected four cases of multiresistant *Shigella* spp. in men who have sex with men (MSM). The increase of resistant strains observed in these two years alerts to the importance of an active vigilance and to the need of an effective articulation of the several health services involved.

#### \_Introdução e objetivo

*Shigella* spp. é uma enterobactéria altamente infecciosa transmitida pela via fecal-oral, diretamente de pessoa-a-pessoa ou indiretamente através de alimentos ou água contaminados (1). As infeções por *Shigella* spp. são um importante problema de saúde pública, em particular nos países em desenvolvimento, sendo a maior parte das infeções notificadas em cidadãos da União Europeia e adquiridas durante viagens a países endémicos, nomeadamente nos continentes asiático, africano e sul-americano (1). Em Portugal, a shigelose é uma gastroenterite pouco frequente.

Existem quatro espécies de *Shigella* spp. que causam doença no Homem: *S. sonnei*, *S. flexneri*, *S. boydii* e *S. dysenteriae*. A *Sh. sonnei* é mais frequente na Europa e Estados Unidos da América e a espécie *flexneri* na Ásia e África (1).

O aparecimento de estirpes multirresistentes, especialmente em homens que fazem sexo com homens (HSH), tem sido referido mundialmente, destacando-se o aparecimento de estirpes resistentes à ciprofloxacina, antibiótico de 1ª linha atualmente recomendado para o tratamento de infeções por *Shigella*, e à azitromicina, utilizada como tratamento de primeira linha de diversas infeções sexualmente transmissíveis (2-4).

Com este estudo pretendeu-se descrever os serotipos de *Shigella* identificados no Laboratório Nacional de Referência de Infeções Gastrointestinais do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre 2015 e 2017.

#### \_Material e métodos

Entre 2015 e 2017 foram recebidas no Laboratório Nacional de Referência de Infeções Gastrointestinais do Departamento de Doenças Infeciosas do INSA, estirpes de *Shigella* isoladas

artigos breves\_ n. 5

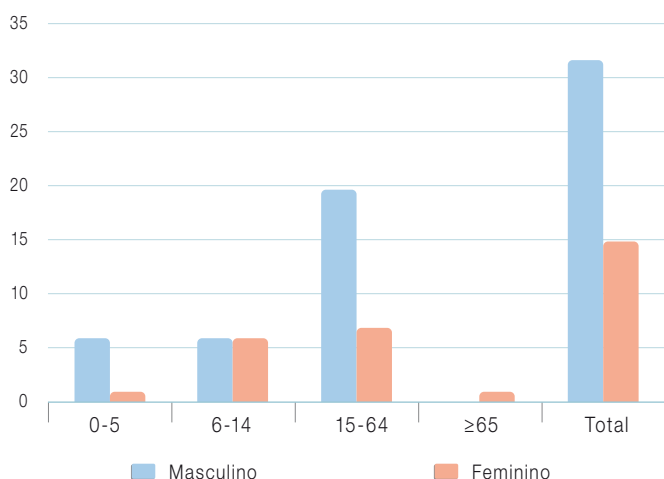
de 53 doentes portugueses e provenientes de várias regiões do país. A serotipagem das estirpes foi efetuada através de testes de aglutinação com antisoros específicos. A suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA) foi realizada pelo método de difusão em disco, segundo as recomendações do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)* (5). Foi testada a resistência aos seguintes antibióticos: Ácido Nalidíxico (Na); Azitromicina (Az); Ampicilina (A); Cefoxitina (Cf); Ceftriaxone (Ct); Ceftazidima (Cz); Cefotaxima (Cx); Cefepima (Cp); Ciprofloxacina (Cip); Cloranfenicol (C); Eritromicina (E); Gentamicina (G); Pefloxacina (P); Meropenemo (M); Sulfametoxazole (Smx); Tetraciclina (Te); Tigeciclina (Tgc); Trimetoprim (T).

**Resultados e discussão**

Durante o período entre 2015 e 2017 foram recebidas estirpes de *Shigella* spp de 53 doentes, 20 em 2015, 17 em 2016 e 16 em 2017. Desconhece-se, na maioria dos casos, datas de isolamento das respetivas estirpes, assim como o local ou distrito de onde a infeção foi adquirida. O grupo etário mais frequente dos doentes foi entre os 15 e os 64 anos de idade e o sexo masculino foi o mais afetado (gráfico 1).

Entre dezembro de 2015 e janeiro de 2016 decorreu um surto de *Sh. sonnei* num infantário na região norte de Portugal, com 24 casos confirmados e 4 internamentos hospitalares.

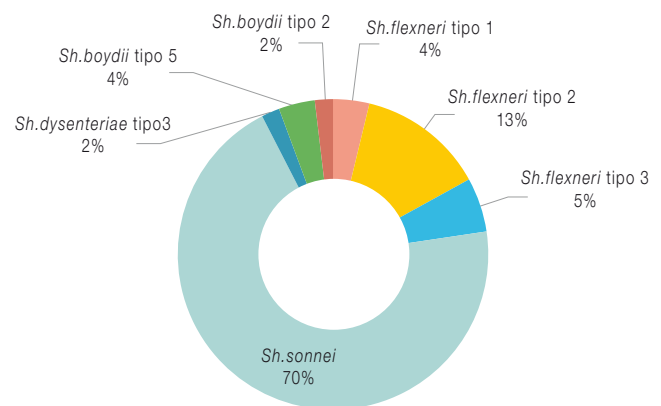
**Gráfico 1:** Número de casos de shigelose identificados no Instituto Nacional de Saúde, por grupo etário e por sexo, 2015-2017.



Foram recebidas no INSA 10 estirpes relacionadas com o surto, 6 casos em 2015 e 4 casos em 2016, para confirmação do serotipo e realização de TSAs.

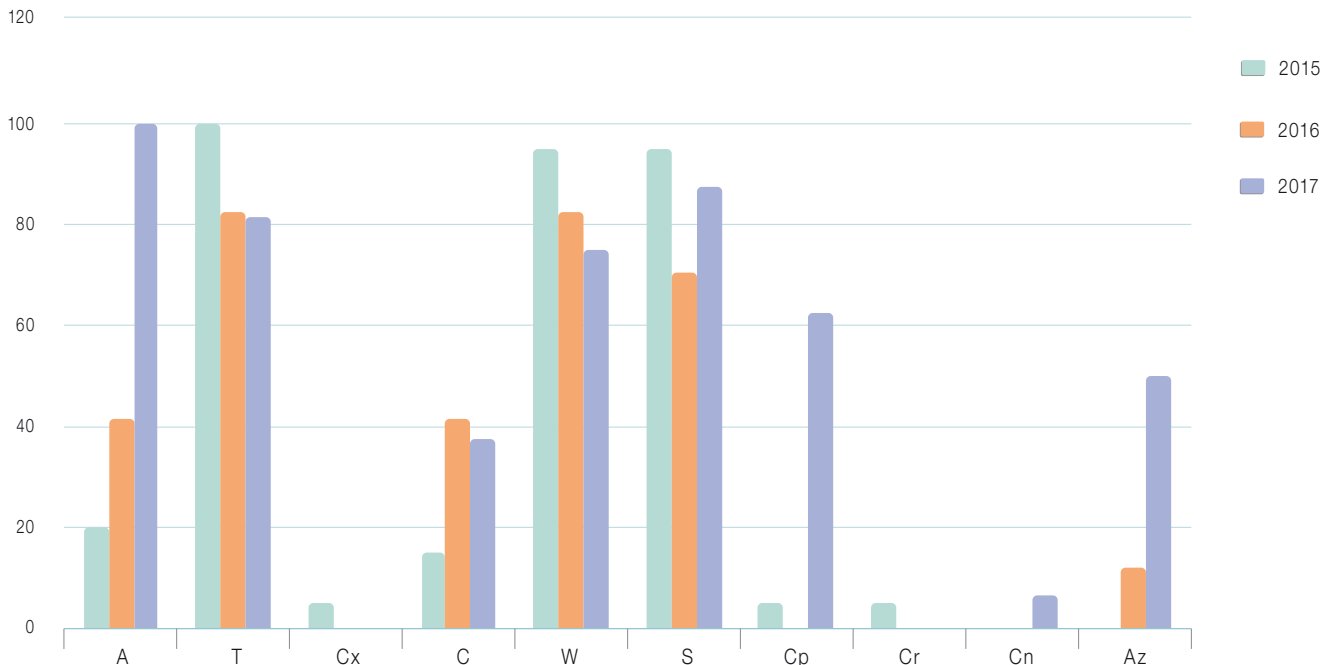
O serotipo mais frequente foi *Sh. sonnei* (69,8%), apesar de ter ocorrido um surto, seguido dos serotipos *Sh. flexneri* 2 (13,2%) e *Sh. flexneri* 3 (5,7%) (gráfico 2).

**Gráfico 2:** Percentagem dos serotipos de *Shigella* spp. identificados no Instituto Nacional de Saúde, 2015-2017.



Relativamente aos perfis de resistência das 53 estirpes de *Shigella* spp identificadas no período em estudo, verificou-se que todas foram resistentes a pelo menos um antibiótico, sendo observada uma elevada percentagem de resistência à tetraciclina (88,7%) (gráfico 3). Em 2017, todas as estirpes apresentaram resistência à ampicilina, e a percentagem de estirpes com resistência à ciprofloxacina (62,5%) e à azitromicina (50,0%) aumentou consideravelmente, relativamente aos anos anteriores (gráfico 3). Durante o período em análise, o perfil de resistência mais frequente foi tetraciclina-trimetoprim-sulfametoxazole (62,2%). Foram detetados 4 casos de *Sh. flexneri* tipo 1 (n=1) e *Sh. sonnei* (n=3) multirresistentes em HSH. Todas estas estirpes foram resistentes à ciprofloxacina e duas (*Sh. sonnei*) à azitromicina.

Gráfico 3: ↓ Percentagem de estirpes de *Shigella* spp identificados no Instituto Nacional de Saúde resistentes a antibióticos, 2015-2017.



## \_Conclusão

O serotipo mais frequente no período entre janeiro 2015 e dezembro 2017 foi *Sh. sonnei*, o que está de acordo com a tendência europeia. Houve um aumento considerável da percentagem de resistência à ciprofloxacina, fluoroquinolona recomendada para tratamento de shigelose. Surgiram também mais casos de resistência à azitromicina, tratamento alternativo em casos graves de shigelose. A emergência do aumento de resistências a fluoroquinolonas, cefalosporinas e macrólidos é evidente, em particular no caso dos HSH. O aumento de resistências aos antibióticos observados nestes dois anos alerta para a importância de uma vigilância ativa das mesmas e impõe uma articulação efetiva entre os diversos serviços de saúde envolvidos.

## Agradecimentos:

Agradece-se a colaboração dos Serviços de Patologia Clínica que enviaram ao INSA estirpes de *Shigella* spp. Agradece-se à Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

## Referências bibliográficas:

- (1) European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of seven priority food- and waterborne diseases in the EU/EEA 2010-2012. Stockholm: ECDC, 2015. <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-seven-priority-food-and-waterborne-diseases-eueea-2010-2012>
- (2) Chung The H, Rabaa MA, Pham Thanh D, et al. South Asia as a Reservoir for the Global Spread of Ciprofloxacin-Resistant *Shigella sonnei*: a Cross-Sectional study. PLoS Med. 2016;13(8):e1002055. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4970813/>
- (3) Gaudreau C, Barkati S, Leduc JM, et al. *Shigella* spp. with reduced azithromycin susceptibility, Quebec, Canada, 2012-2013. Emerg Infect Dis. 2014;20(5):854-6. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2005.130966>
- (4) Baker KS, Dallman TJ, Ashton PM, et al. Intercontinental dissemination of azithromycin-resistant shigellosis through sexual transmission: a cross-sectional study. Lancet Infect Dis. 2015;15(8):913-21.
- (5) EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing - Version 3.0 (April 2013). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2013. [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Disk\\_test\\_documents/Manual\\_v\\_3.0\\_EUCAST\\_Disk\\_Test.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Manual_v_3.0_EUCAST_Disk_Test.pdf)