



Vigilância laboratorial das infeções por *Neisseria gonorrhoeae* em Portugal, 2004-2013

João Carlos Rodrigues¹, Lúcia Reis¹, Dora Cordeiro¹, Inês João¹, Margarida Diniz¹, Alexandra Nunes¹, Carlos Florindo¹, Vítor Borges¹, Rita Ferreira¹, Miguel Pinto¹, Mínia Varela¹, João Paulo Gomes¹, Maria José Borrego¹, Rede para a Coleção Nacional de *Neisseria gonorrhoeae*

m.jose.borrego@insa.min-saude.pt

(1) Departamento Doenças Infecciosas, INSA.

Introdução

Neisseria gonorrhoeae, uma bactéria que infeta exclusivamente o Homem, transmite-se por contacto sexual e é responsável pela gonorreia, que se caracteriza por uretrite, cervicite, faringite ou proctite. A infeção gonocócica na mulher pode progredir até às trompas de Falópio e causar salpingite e infertilidade tubária. Em ambos os sexos a infeção pode disseminar-se pelo organismo causando artrite, meningite ou endocardite. *N. gonorrhoeae* pode igualmente ser transmitida ao recém-nascido no momento do parto causando infeção perinatal. Acrescente-se que a existência de infeções assintomáticas favorece a transmissão da infeção gonocócica (1).

Em 2008, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou em 106 milhões o número mundial de casos de gonorreia na população adulta (2) e o *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) determinou *N. gonorrhoeae* como sendo a segunda causa bacteriana mais notificada de infeção sexualmente transmissível (IST) na Europa, a seguir à infeção por *Chlamydia trachomatis*. Neste continente, o número de casos de *N. gonorrhoeae* aumentou 62% desde 2008. Em 2012 foram notificados 47.387 casos de gonorreia em 29 países da União Europeia e da EEA, com uma taxa de incidência global de 15.3/100.000 habitantes (3). Portugal tem uma das taxas mais baixas a nível europeu ($\leq 1.5/100.000$ habitantes), provavelmente devido às características intrínsecas da notificação passiva dos sistemas de vigilância que favorecem a subnotificação de casos (3).

Para além de constituir uma infeção frequente, *N. gonorrhoeae* evidencia uma extraordinária capacidade de desenvolver resistências a múltiplas classes de antibióticos (4), tornando essenciais a vigilância contínua e a monitorização laboratorial da resistência aos antimicrobianos. De facto, a emergência de estirpes de *N. gonorrhoeae* com suscetibilidade diminuída e com resistência às cefalosporinas (que constituem a última linha de tratamento), a elevada prevalência de estirpes resistentes à penicilina e à tetraciclina e, mais recentemente, também às quinolonas e aos macrólidos, constituem uma ameaça para a saúde pública, levando a OMS a considerar que a gonorreia pode tornar-se uma doença incurável, à luz das opções terapêuticas atuais (2).

Em 2004, o Laboratório Nacional de Referência das Infeções Sexualmente Transmissíveis (LNR_IST) do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) deu início a um processo de coleção de estirpes de *N. gonorrhoeae* assente nas estirpes isoladas pelo próprio INSA e também por um número limitado de laboratórios. Em 2010, o INSA formalizou a criação de uma Rede Nacional de Laboratórios com o intuito de alargar a coleção de estirpes de *N. gonorrhoeae* isoladas em Portugal, para: 1) monitorizar as resistências aos antibióticos e rapidamente identificar surtos de resistência; 2) determinar os tipos bacterianos circulantes; 3) reconhecer eventuais cadeias de transmissão; e, 4) reunir dados sobre as infeções por *N. gonorrhoeae* existentes no nosso país que contribuam para a rede europeia de vigilância laboratorial de *N. gonorrhoeae* promovida pelo ECDC.

Objetivo

Com a finalidade de evidenciar as vantagens da existência de uma rede de laboratórios para constituir uma coleção nacional de estirpes de *N. gonorrhoeae*, este artigo tem como objetivo apresentar os resultados da determinação do fenótipo de resistência à ceftriaxona, cefixima, espectinomicina e ciprofloxacina e da identificação dos principais tipos moleculares das estirpes colecionadas em Portugal de 2004 a 2013.

_Material e métodos

O LNR_IST do INSA recebe as estirpes de *N. gonorrhoeae*, atualmente isoladas em 45 laboratórios públicos ou privados, que voluntariamente participam na Rede Nacional de Laboratórios para a coleção de estirpes de *N. gonorrhoeae* distribuídos por Portugal Continental. As estirpes de *N. gonorrhoeae* enviadas para o INSA são acompanhadas de um código de identificação e de informação sobre o local anatómico de infeção, o género, a idade e o concelho de residência da pessoa infetada.

O Laboratório de Microbiologia da Unidade Laboratorial Integrada do Departamento de Doenças Infeciosas do INSA determina a produção de beta-lactamases e, pelo método E-teste, estuda a suscetibilidade das estirpes de *N. gonorrhoeae* a vários antibióticos, entre os quais a ceftriaxona, a cefixima, a espectinomicina e a ciprofloxacina. Os resultados do perfil de resistência para estes quatro antibióticos são comunicados aos respetivos laboratórios de origem.

O LNR_IST do INSA determina o tipo NG-MAST (5) de todas as estirpes de *N. gonorrhoeae* para conhecimento dos tipos bacterianos circulantes e subsequente reconhecimento de eventuais cadeias de transmissão. O método tem elevado poder discriminatório pois baseia-se em dois dos genes mais variáveis de *N. gonorrhoeae*, *por* e *tbpB*; dada a rapidez com que a bactéria é capaz de variar a sequência destes dois genes, o método NG-MAST possibilita identificar grupos de indivíduos infetados por um mesmo tipo bacteriano, relacionados entre si num curto espaço de tempo. No NG-MAST, as sequências *por* e *tbpB* obtidas para cada estirpe são comparadas com os alelos existentes na aplicação NG-MAST; cada tipo bacteriano (ST) corresponde a uma combinação única dum alelo *por* com um alelo *tbpB*.

_Resultados

Entre 2004 e 2013 foram recebidas no INSA 707 estirpes de *N. gonorrhoeae* (271, de 2004 a 2009; 436 de 2010 a 2013). Cinquenta e seis (7,9%) do total de estirpes revelaram ser produtoras de beta-lactamases e 290 (41,0%) revelaram resistência à ciprofloxacina. Durante o período em análise, não foram registados quaisquer casos de resistência à espectinomicina, cefixima ou ceftriaxona (antibiótico atualmente recomendado para o tratamento da gonorreia) (6). No conjunto das 707 estirpes, sete e dez estirpes revelaram suscetibilidade diminuída às cefixima e ceftriaxona, respetivamente.

Foram identificados mais de 250 tipos NG-MAST, sendo os mais frequentes os tipos bacterianos ST1407 (63 estirpes), ST2 (33 estirpes), ST225 (30 estirpes) e ST2992 (27 estirpes); 79% dos ST (197/250) foram detetados apenas uma ou duas vezes. Todas as 30 estirpes ST225 e 90,5% (57/63) das estirpes ST1407 foram resistentes à ciprofloxacina.

_Discussão

A implementação da Rede Nacional de Laboratórios para a coleção de estirpes de *N. gonorrhoeae* tem permitido aumentar o número de laboratórios participantes, bem como a diversidade geográfica ao longo do país. É de realçar que ao longo dos anos aumentou o número de estirpes enviadas ao INSA: 17 em 2004 // 72 em 2010 // 146 em 2013; por outro lado, e, se até 2009, 91% (246/271) das estirpes eram isoladas de pessoas residentes em Lisboa, a partir de 2010 esta situação apenas se verificou em 37% (162/436) dos casos, sendo os restantes 63% (274/436) diagnosticados noutras regiões do país. Contudo, esta variação não permite qualquer extrapolação sobre a distribuição geográfica de estirpes de *N. gonorrhoeae* a nível nacional, provavelmente refletindo apenas o impacto da localização dos laboratórios participantes na mesma.

Contrariamente ao observado noutros países (7), e por motivos ainda desconhecidos, a coleção portuguesa de estirpes de *N. gonorrhoeae* não inclui estirpes resistentes à ceftriaxona e são escassas as estirpes com suscetibilidade diminuída.

A capacidade de transformação genética de *N. gonorrhoeae*, que tem facilitado a aquisição de variados mecanismos de resistência (4) justifica, igualmente, a elevada variabilidade genética entre estirpes da bactéria. A utilidade do sistema NG-MAST em termos de reconhecimento de cadeias de transmissão, apesar de demonstrada, é discutível dado que nem todas as infeções são confirmadas laboratorialmente e dadas as limitações da aplicação informática NG-MAST, que atribui números sucessivos às novas sequências genéticas de dois genes muito variáveis, *por* e *tbpB*, (5) sem uma análise cuidada da similaridade relativamente a sequências já existentes no sistema. No entanto, o sistema NG-MAST tem revelado que algumas estirpes são mais frequentes que outras, como é o caso da ST1407, referida como a mais frequente em vários estudos europeus (7,8,9,10) sempre associada a resistências a um ou mais antibióticos.

Conclusão

Este artigo evidencia a importância das redes laboratoriais na vigilância epidemiológica de várias infeções, nomeadamente da infeção por *N. gonorrhoeae*, contribuindo assim, para um melhor conhecimento sobre a epidemiologia molecular da infeção e sobre os fenótipos de resistência aos antibióticos circulantes em Portugal.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo e à Rede para a Coleção Nacional de *Neisseria gonorrhoeae* pelo seu contributo para o desenvolvimento e implementação da rede, e pelas estirpes e dados enviados; Dra. Filipa Alegria (Aqualab); Dra. Noélia Piteira (BioLabor); Dra. Eulália Carvalho (Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro, EPE); Dr. Agostinho Lira (Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho); Dr. José Manuel Amorim, Dra. Sofia Botelho Moniz e Dr. Rui Campinha (Botelho Moniz Análises Clínicas); Dra. Inês Stilwell (Cintramédica); Dra. Ana Cristina Gonçalves (Edarfa); Dra. Marília Faisca (Gnóstica); Dra. Graça Ribeiro (Hospitais da Universidade de Coimbra); Dra. Florbela Pereira e Dra. Idalina Rocha (Hospital da Cruz Vermelha Portuguesa); Dra. Margarida Feijó Pinto e Dra. Teresa Pina (Centro Hospitalar de Lisboa Central, EPE); Dra. Maria Alberta Faustino (Hospital de Braga); Dra. Maria Dolores Pinheiro e Dra. Manuela Ribeiro (Hospital de São João, EPE); Dra. Jesuína Duarte (Centro Hospitalar de Setúbal - Hospital de São Bernardo, EPE); Dra. Joana Selada (Hospital de Cascais Dr. José de Almeida); Dr. Rodrigo Gusmão (Hospital do Espírito Santo, EPE); Dra. Filomena Martins, Dra. Mariana Pessanha e Professora Teresa Marques (Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, EPE); Dra. Luísa Sancho e Dra. Teresa Sardenha (Hospital Professor Doutor Fernando Fonseca, EPE); Dr. José Diogo (Hospital Garcia de Orta, EPE); Dra. Ana Paula Castro e Dra. Helena Ramos (Centro Hospitalar do Porto, EPE); Dra. Ana Paula Mota (Centro Hospitalar do Alto Ave – Hospital Senhora da Oliveira, SA); Dra. Teresa Paramês e Dra. Conceição Brito Palma (Imunolab - Centro de Diagnóstico Imunológico, SA); Dra. Luísa Cavaleiro, Helena Rocha e Dra. Anabela Santos Silva (Centro de Saúde Pública Doutor Gonçalves Ferreira, INSA IP); Dra. Maria Menezes (Labdiagnóstica-Patologistas Clínicos Associados, Lda.); Dra. Ana Jacinta Piedade (Beatriz Godinho Análises Clínicas); Dra. Raquel Poças (LabMED Center); Dra. Alexandra Pereira (Bernardina Sancho Laboratório de Análises Clínicas); Dra. Joana Santos Pinto (David Santos Pinto Laboratório de Análises Clínicas); Dra. Anabela Ramalheiro, Dra. Gizela Santos e Dra. Ana Catarina Guerreiro (Laboratório Dr. J. Leitão Santos Análises Clínicas); Dra. Filomena Lencastre (Laboratório Virgílio M. Roldão, Lda.); Dra. Mónica Cardoso (Noémia Igreja, Lda. Análises Clínicas); Dra. Susana Sá e Dra. Alexandra Gomes (Unilabs); Dr. José Luís Viana (Laboratório de Análises Clínicas NOVA-ERA LUZ, Lda.); Dra. Alda Campos e Dra. Elvira Malta (Laboratórios Aeminium); Dr. Nuno Coelho

(Laboratórios de Análises Clínicas Dra. Luísa Frazão); Dra. Manuela Azevedo, Dr. Eugénio Corrêa, Dra. Vitória Rodrigues, Dra. Patrícia Pereira, Dr. Paulo Paixão e Dra. Cátia Piedade (Labco); Dra. Graça Trigueiro (Grupo Joaquim Chaves) e Dra. Mariana Garcez e Dra. Maritza Pereira (Euromedic).

Referências bibliográficas:

- (1) Mayor MT, Roett MA, Uduhiri KA. Diagnosis and Management of Gonococcal Infections. *Am Fam Physician*. 2012;86(10):931-8. [LINK](#)
- (2) World Health Organization. Department of Reproductive Health and Research. Global Action Plan to Control the Spread and Impact of Antimicrobial Resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. Geneva: WHO, 2012. [LINK](#)
- (3) European Centre for Disease Prevention and Control. Sexually Transmitted Infections in Europe 2012. Stockholm: ECDC, 2014. (Surveillance Report). [LINK](#)
- (4) Unemo M, Nicholas RA. Emergence of multidrug-resistant, extensively drug-resistant and untreatable gonorrhoea. *Future Microbiol*. 2012;7(12):1401-22. [LINK](#)
- (5) Imperial College London. Department of Infectious Disease Epidemiology. The NG-MAST databases and website [Em linha]. [consult. 27/9/2014] [LINK](#)
- (6) Unemo M ; European STI Guidelines Editorial Board. The '2012 European guideline on the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults' recommends dual antimicrobial therapy. *Euro Surveill*. 2012;17(47). pii: 20323. [LINK](#)
- (7) Chisholm SA, Unemo M, Quaye N, et al. Molecular epidemiological typing within the European Gonococcal Antimicrobial Resistance Surveillance Programme reveals predominance of a multidrug-resistant clone. *Euro Surveill*. 2013;18(3). pii: 20358. [LINK](#)
- (8) Carannante A, Renna G, Dal Conte I, et al. Changing Antimicrobial Resistance Profiles among *Neisseria gonorrhoeae* Isolates in Italy, 2003 to 2012. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(10):5871-6.
- (9) Horn NN, Kresken M, Körber-Irrgang B, et al ; Working Party Antimicrobial Resistance of the Paul Ehrlich Society for Chemotherapy. Antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* in Germany. *Int J Med Microbiol*. 2014;304(5-6):586-91.
- (10) Jeverica S, Golparian D, Matičič M, et al. Phenotypic and molecular characterization of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Slovenia, 2006-12: rise and fall of the multidrug-resistant NG-MAST genogroup 1407 clone? *J Antimicrob Chemother*. 2014 ;69(6):1517-25.