



Disenteria bacilar: uma ameaça à saúde pública global¹

Jeniffer Clorives Lopes Batista², Daniele Souza de Farias³, Rarissa de Oliveira e Silva⁴, Késsia Caroline Souza Alves⁵, Maria Edilene Martins de Almeida⁶, Juliane Correa Glória⁷, Diogo Pereira de Castro⁸, Luís André Morais Mariúba⁹

Resumo

Shigella é uma das principais causas de disenteria em todo o mundo, infectando milhões de pessoas a cada ano, principalmente crianças abaixo dos cinco anos de idade em populações de baixa renda. A elucidação do processo infeccioso deste patógeno tem sido investigada há anos, através de estudos *in vitro/vivo* que buscaram compreender os eventos relacionados a patogênese. Devido a surgimento de estirpes multirresistentes a antibióticos, estudiosos tem se empenhado na busca por uma alternativa profilática, segura, eficaz e de ampla cobertura. Neste trabalho, encontram-se características gerais do patógeno, o status epidemiológico atual, métodos utilizados para o diagnóstico e também para tratamento dos casos de infecção leve e grave, assim como novas alternativas de prevenção/control de infecções.

Palavras-Chave: shigelose; epidemiologia; prioridade; patógeno entérico; Gram-negativo;

Bacillary dysentery: a global public health problem. *Shigella* is one the leading causes of dysentery in the world, infecting millions of people each year, especially children under five in low-income populations. The elucidation of the infectious process of this pathogen has been investigated for years. Though *in vivo/vitro* studies that sought understand the events related to pathogenesis. Due to the emergence of multiresistant strains to antibiotics, scholars have been engaged in the search for a prophylactic, safe, effective and broad coverage alternative. In the work, we present general characteristics of the pathogen, current epidemiological status, methods used for diagnosis and also for treatment of cases of mild and severe infection, as well as new alternatives for prevention/control of infections.

Keywords: shigellosis; epidemiology; priority; enteric pathogen; Gram-negative;

¹ Parte da Revisão de Dissertação de Mestrado do primeiro autor em Biotecnologia - UFAM

² Mestranda em Biotecnologia – UFAM, Manaus, AM, Brasil, jeniffer.clorives@gmail.com

³ Bolsista do Instituto Leônidas e Maria Deane-LMD/Fiocruz Amazônia, dandan.farias@gmail.com

⁴ Mestranda em Imunologia Básica e Aplicada, UFAM, Manaus, AM, Brasil, bm.rarissa@gmail.com

⁵ Doutoranda na Pós-graduação em Biotecnologia, UFAM, Manaus, AM, kessiafenty@gmail.com

⁶ Doutoranda em Biologia Celular e Molecular, IOC- ILMD, edilene_martins19@hotmail.com

⁷ Doutoranda em Biotecnologia, UFAM, Manaus, AM, Brasil, juliane.correa.biotech@gmail.com

⁸ Dr. em Biotecnologia, ILMD/Fiocruz Amazônia, Manaus, AM, Brasil, diogocastrop@gmail.com

⁹ Biotecnologista, ILMD/Fiocruz Amazônia, Manaus, AM, Brasil, lamariuba@hotmail.com

1. Introdução

A doença diarreica é causada por diversos agentes etiológicos que englobam vírus, bactérias e parasitas. As doenças diarreicas são uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, sendo as responsáveis por grandes índices de óbitos durante a primeira infância, com uma estimativa de 1,3 milhões mortes por ano (MOKOMANE et al., 2017). Os principais agentes etiológicos dessa síndrome são os patógenos entéricos gram-negativos, estando *Shigella* dentre os que requerem controle emergencial (KOTLOFF et al., 2013; NUNES et al., 2012; W.H.O., 2004). Segundo a OMS, os principais causadores de diarreia em crianças jovens em ordem decrescente foram: *Shigella spp*, *Rotavírus/adenovírus 40/41*, *ETEC ST- positivo*, *Cryptosporidium spp.* e *Campylobacter spp.* (MOKOMANE et al., 2017). A shigelose atinge cerca de 165 milhões de pessoas por ano, havendo aproximadamente 1 milhão de óbitos. Apesar de acometer pessoas independentemente da idade, a maioria dos episódios ocorrem principalmente nos países em desenvolvimento, afetando de maneira acentuada crianças de idade inferior a cinco anos. (MUTHUIRULANDI et al., 2016; NUNES et al., 2012; PORE et al., 2011; RAM et al., 2008; W.H.O., 2004). De modo geral, a shigelose não só resulta em altos índices de mortalidades como também em sequelas que afetam a longo prazo o crescimento e desenvolvimento cognitivo das crianças sobreviventes à infecção.

Neste contexto, esta revisão descreve características gerais relacionados ao agente etiológico *Shigella*, sua patogenia, mecanismos celulares e moleculares, assim como os métodos atualmente empregados para o diagnóstico e tratamento.

2. Metodologia

Esta revisão da literatura levanta as principais informações sobre o patógeno *Shigella* e os principais desafios relacionados à problemática, contextualizando com estudos atuais. As consultas bibliográficas foram realizadas por meio de bancos de dados *Scopus*, *Pubmed*, *Science Direct* e Portal de periódicos CAPES. O período das publicações foi de 1994 a 2018, cujas palavras-chave foram: “shigelosis”, “bacillary dysentery” e “microbial resistance”.

3. *Shigella spp.*

O microrganismo *Shigella* foi descoberto em 1898 em um surto de disenteria no Japão, descrito por Kiyoshi Shiga, que inicialmente denominou o patógeno como *Bacillus dysenteriae* devido à relação com *Bacillus coli*, a atual *Escherichia coli*. Posteriormente, Simon Flexner, Mark Boyd e Carl Sonne descreveram patógenos similares no final do século XX e em homenagem ao descobridor nomearam o gênero com o termo *Shigella* (BAKER et al., 2014; NYOGI et al., 2005; SASAKAWA et al., 2010). As dimensões celulares são de 0,4 a 0,6 micrômetros de diâmetro e 1 a 3 micrômetros de comprimento, e caracteriza-se como uma célula bacteriana Gram-negativa e imóvel, apesar de não formar biofilme nem expressar adesina. Possui a forma de bastonete, é desprovido de esporo e cápsula, sendo um anaeróbio facultativo e enteroinvasivo (THE et al., 2016; ZAIDI; ESTRADA-GARCÍA, 2014).

Atualmente o gênero é constituído por quatro distintas espécies: *Shigella dysenteriae* (Grupo A:15 sorotipos), *Shigella flexneri* (Grupo B:14 sorotipos e subtipos), *Shigella Boydii* (Grupo C:20 sorotipos) e *Shigella sonnei* (Grupo D) (BELD; REUBSAET, 2012; LIVIO et al., 2014; PUZARI; SHARMA; CHETIA, 2017; LIU et al., 2012). A classificação por sorogrupos acima é uma maneira de diferenciar as espécies e suas variações correspondentes a partir dos componentes da cadeia lateral do antígeno O, um componente de polissacarídeo presente no LPS encontrado na membrana externa de todas as bactérias Gram-negativas (PHALIPON; SANSONETTI, 2007; SCHROEDER; HILBI, 2008). Dentre todas, *S. sonnei* é a única a apresentar reação positiva para β -D-galactosidase e ornitina descarboxilase, o que a difere das demais espécies do gênero (MARTEYN; GAZI; SANSONETTI, 2015).

4. Epidemiologia

Nos últimos 30 anos, a mortalidade associada a *Shigella* caiu consideravelmente, e isso se deve principalmente as contribuições da redução de desnutrição global. Apesar disso, a doença foi classificada pelo “Global Burden of Disease Consortium” no ano de 2015 como a segunda principal causa de mortes diarreicas no mundo (KOTLOFF et al., 2013 e 2017). Cerca de 98% dos óbitos anuais associados a *Shigella* correspondem aos países de média e baixa renda,

Ciências da Saúde

com cerca de 30% de mortes infantis em 2016. (KOTLOFF et al., 2017). Cerca de 5% dos episódios globais são causados por *Shigella dysenteriae*, 5% por *Shigella boydii*, 23% *S. sonnei* e 65% por *Shigella flexineri*, com uma taxa de mortalidade de 75%. (LAUNAY et al., 2017; MUTHUIRULANDI et al., 2016; PUZARI et al., 2017).

As infecções causadas pela espécie *S. flexineri*, geralmente predominam em países em desenvolvimento, principalmente em populações de baixa renda, enquanto casos associados a *Shigella sonnei* são comuns em populações de alta renda. Nos Estados Unidos, *Shigella sonnei* é a terceira causa de gastroenterite e recentemente causou um surto estendido de junho de 2015 a junho de 2016 em moradores de rua (HINES et al., 2017; MUTHUIRULANDI et al., 2016).

S. dysenteriae é a espécie mais virulenta que contribui de forma mínima para a shigelose endêmica, apesar de ter potencial para provocar epidemias e pandemias avassaladora, principalmente em populações que possuem saneamento básico e hábitos de higiene pessoal precários. No último século, quatro pandemias foram ocasionadas por *S. dysenteriae*, ocorridas na África Oriental e Ocidental, no sul da Ásia e na América Central. As estirpes tiveram amplo espectro de resistência a antibióticos, atingindo cerca de 30% da população em todas as faixas etárias (KOTLOFF et al., 2013 e 2017; LEVINE et al., 2012; LIU et al., 2012). Apesar disso, o sorogrupo *S. dysenteriae* em conjunto com *S. boydii* tem causado poucos casos da doença em países desenvolvidos e em desenvolvimento, respectivamente (LIMA et al., 2015).

No Brasil, infecções causadas por *S. sonnei* estão associadas a regiões socioeconomicamente desenvolvidas como o Sudeste, enquanto que infecções causadas pelo sorogrupo *S. flexineri* ocorreram com maior frequência em regiões em desenvolvimento socioeconômico como o Norte e Nordeste do país (SOUSA et al., 2010). Cerca de 90% das infecções foram causados por *S. sonnei* em Minas Gerais durante o outono e verão, e 80% das infecções foram causadas por *S. flexineri* no Piauí, frequentemente em crianças com idade inferior a 24 meses (NUNES et al., 2012). A região norte do país notifica poucos casos de infecção pelo patógeno, mas *S. flexineri* foi frequente nos isolados de fezes provenientes de crianças com diarreia, observados no Pará (*S.*

flexineri 2a), Porto Velho (3ª causa de diarreia infantil). Em Manaus, um estudo envolvendo 1339 crianças com diarreia, verificou que de 30 isolados de *Shigella* 60% corresponderam a *S. flexineri*, 22% a *S. sonnei* e 6% a *S. boydii* e *S. dysenteriae* em crianças de 0-10 anos de idade, residentes à periferia da cidade (BASTOS; LOUREIRO; HOFER, 2012; CRUZ et al., 2014; ORLANDI et al., 2006).

A cobertura de serviços de saneamento básico, como água potável e tratamento de esgoto, geralmente são ausentes em populações de baixa renda, tornando-as mais vulneráveis a doenças. Cerca de 90% da população das regiões norte e nordeste do país não possuíam esgoto coletado até o ano de 2011, o que expõe a população à diversos patógenos e colabora como ameaça à saúde coletiva. Manaus, possui atualmente um sistema de coleta e tratamento de esgoto sanitário em operação desde o ano de 2012, que abrange a parte central da cidade, conjuntos habitacionais e residenciais. E a estimativa média é de que em 30 anos a cidade tenha 60% do esgoto coletado e tratado, segundo a Manaus Ambiental (MANI; WIERZBA; WALKER, 2016; HOLT et al., 2012; SACK et al., 1994; WHO, 2004). Desta forma compreende-se que as infecções se incidem em ambas as populações, socioeconomicamente desenvolvidas e em desenvolvimento, mas diferem quanto a espécie infectante prevalente.

5. Shigelose

A shigelose é uma doença gastrointestinal inflamatória aguda causada pela enterobactéria *Shigella*, que afeta adultos, eventualmente, crianças de zero até dez anos de idade, afetando principalmente crianças com idade inferior a cinco anos, de maneira acentuada em países em desenvolvimento socioeconômico (MANI; WIERZBA; WALKER, 2016; SANGEETHA et al., 2014). A infecção pode ocorrer através de indivíduos infectados, moscas, água e alimentos contaminados, com uma baixa dose infecciosa de 10 a 200 células bacterianas por via fecal-oral. Diante disto, a prevenção primária desta doença deve se basear no fornecimento de água potável e métodos de saneamento básico, em conjunto com o desenvolvimento de melhoria em higiene pessoal e alimentar (GERMANI; SANSONETTI, 2006; MANI et al., 2016; OJHA et al., 2013).

O período de incubação do patógeno no organismo hospedeiro varia de um a quatro dias,

Ciências da Saúde

mas a diarreia aquosa manifesta-se geralmente cerca de 48 horas após a infecção, com cerca de vinte evacuações por dia, tendo a doença uma duração de até oito dias. A doença manifesta-se inicialmente como uma diarreia aquosa e leve, podendo evoluir rapidamente para uma disenteria aguda também conhecida como disenteria bacilar, caracterizada pela presença de muco e sangue nas fezes do indivíduo infectado. A sintomatologia da doença é variável e depende tanto da imunocompetência do organismo hospedeiro quanto da espécie infectante, manifestando-se através de cólicas intestinais e fezes sanguinolentas. (BASTOS e LOUREIRO, 2010; CUNHA et al., 2017; KOTLOFF et al., 1999; SANGEETHA et al., 2014; RAM et al., 2008). A shigelose pode ser causada por qualquer uma das quatro espécies descritas, por isso o monitoramento epidemiológico global é importante para o direcionamento de estudos que buscam o desenvolvimento de alternativas profiláticas e terapêuticas.

6. Mecanismo de patogênese

O modelo de mecanismo celular da patogênese de *Shigella*, atualmente bem estabelecido, deriva de diversos estudos *in vitro/vivo* envolvendo diferentes tipos celulares como células epiteliais, macrófagos, monócitos e fibroblastos; assim também como modelos de infecção animal utilizando murinos e leporídeos, que colaboraram bastante para avaliação das respostas imunes do hospedeiro e compreensão ação do patógeno (PARSOT et al., 2005).

Para estabelecer com sucesso a infecção no intestino, o patógeno deve evadir as barreiras do hospedeiro, que são as secreções gástricas e o ácido clorídrico do estômago e a bile no intestino. O ácido clorídrico, juntamente com as secreções gástricas, reduz o pH do estômago para 3 e destroem a maioria das bactérias que ali chegam, mas alguns entéricos Gram-negativos como *Shigella*, desenvolveram mecanismos que permitem sua sobrevivência no local (MERRITT et al., 2009; SISTRUNK et al., 2016). A bile é um componente essencial da digestão e absorção de nutrientes no intestino, sendo composta por vários elementos como proteínas, sais minerais, lipídios, vitaminas e carboidratos. Dentre eles, os sais biliares são importantes para solubilizar, digerir e absorver lipídios e vitaminas lipossolúveis. Esses sais possuem atividade bactericida, mas patógenos

entéricos como bactérias Gram-negativas resistem a essa atividade e os utilizam como sinal de localização para regular a expressão gênica de seus fatores de virulência. (NICKERSON et al., 2017; POPE et al., 1995).

Apesar dos grandes avanços na compreensão dos mecanismos celulares que *Shigella* utiliza para sua sobrevivência, pouco se conhece de fato sobre como a bactéria atinge com sucesso o epitélio intestinal, embora o mecanismo de invasão e as respostas imunes do hospedeiro tenham sido bastante explorados. *Shigella*, ao chegar ao cólon utiliza as células M como porta de entrada para o epitélio intestinal, se transloca para o tecido linfoide e entra em contato com as células dendríticas e os macrófagos residentes, o que resulta em piroptose destas células e liberação de grandes quantidades de IL-1 β e IL-18, citocinas inflamatórias (ARIZMENDI et al., 2016). As citocinas (IL-1 β e IL-18) ativam o processo inflamatório recrutando células polimorfonucleadas (PMN) para o local, o que ocasiona a destruição da integridade do tecido intestinal. Em concordância com os tais fatos, estudos *in vivo* utilizando murinos infectados com *Shigella* e a proteína efetora ipaH7.8 por via intranasal mostraram que a piroptose mediada por esse efetor é essencial para o escape do macrófago, e a morte de macrófagos um dos registros para rastreamento da infecção (ARIZMENDI et al., 2016; ASHIDA et al. 2015; SASAKAWA et al., 2015).

Ao ser fagocitada pelo macrófago, *Shigella* destrói o fagossomo intracelular, ativa o SST3, se adere à célula epitelial, e libera proteínas efetoras (IpaA-IpaD) que atuam no citoesqueleto da célula polimerizando actina. A bactéria então é englobada e se replica no interior do citoplasma da célula hospedeira. O patógeno dissemina-se para as células adjacentes usando uma calda de actina, sendo essa motilidade dependente da localização da proteína de virulência autotransportadora IcsA, na superfície bacteriana. A cardiopilina, um fosfolípido que reside nas membranas de *S. flexneri*, é essencial na membrana interna para apropriada divisão celular e favorecer a apresentação adequada de IcsA na superfície da membrana externa (ROSSI et al., 2017; ARIZMENDI et al. 2016; SISTRUNK et al., 2016; BROTCHE et al., 2014).

7. Mecanismos de Virulência



Ciências da Saúde

O genoma de *Shigella* foi sequenciado e usado para descobrir a persistência, epidemiologia global e regional das espécies, o qual revelou que *S. flexneri* é composta por várias linhagens filogeneticamente distintas e que mantém níveis de diversidade semelhantes à *S. sonnei*, no entanto é muito mais antiga e diversa que essa (CONNOR et al., 2015; CHATTAWAY et al., 2017; THE et al., 2016).

Os mecanismos que o patógeno utiliza para se adaptar ao cólon intestinal e burlar o sistema de defesa do hospedeiro provém de mecanismos de regulação e expressão gênica, um fator que favorece a patogênese de *Shigella* a torna um patógeno altamente adaptado ao organismo humano. O genoma de *Shigella flexneri*, modelo da maioria dos estudos, é constituído de um cromossomo circular único (200 pseudogenes e centenas de elementos transponíveis) e um plasmídeo de virulência de 220 kb, o qual possui uma região que concentra genes fundamentais para a invasão celular (FRIS et al. 2016; PEDRON et al., 2003). O cromossomo contém ilhas de patogenicidade como a ilha SHI-1, a qual contém genes de virulência que induzem o acúmulo de fluidos intestinais e degradação do muco intestinal. Além desses genes, também se encontram no cromossomo genes que detectam mudanças de temperatura e pH no organismo hospedeiro e que regulam positiva e negativamente genes plasmidiais, VirF, VirB e IcsA. (SCHROEDER et al., 2008). No cromossomo e plasmídeo há duas ORF's reguladas por ferro que codificam duas enterotoxinas fundamentais para patogênese de *Shigella*, a enterotoxina Shet-1 que está relacionada com a diarreia aquosa, e Shet-2 que desempenha função de enterotoxina e também de reguladora de secreção da citocina inflamatória IL-8 em células infectadas (SCHROEDER et al., 2008).

O plasmídeo dispõe também de ilhas genômicas adquiridas evolutivamente por transferência horizontal de genes através de bacteriófagos. Uma dessas ilhas concentra a maioria dos genes importantes para *Shigella*, e ela é descrita como ilha de patogenicidade (PAI). Esta ilha contém genes de ativação e regulação transcricionais (*VirF* e *VirB*), genes associados a montagem do Sistema de Secreção Tipo III (SST3), genes de invasão (*Ipa*), genes de

chaperonas (*Ipg*) e genes de disseminação (*Ics*) (HU et al., 2015; POPE; et al., 1995).

Os genes *VirF*, *VirB*, *IcsA/VirG* destacam-se sobre os demais por estarem envolvidos nas etapas essenciais à cascata de eventos regulatórios inerentes a patogênese de *Shigella*. *VirF* é o gene de um regulador de transcrição primário, enquanto *VirB* é gene de um regulador de transcrição secundário, e *IcsA/VirG* relacionam-se com a adesão e propagação celular da bactéria. (GIANGROSSI et al., 2017; PARSOT, 2005; PEDRON et a., 2003). O locus *mxi-spa* localizado na ilha de patogenicidade, contém genes que codificam proteínas estruturais do Sistema de Secreção Tipo III (SST3), um sistema que secreta proteínas Ipas essenciais para invasão de células epiteliais e início do ciclo infeccioso (BURKINSHAW et al., 2014; HU et al., 2015; POPE et al., 1995).

Tal sistema secretor, composto por mais de 50 proteínas estruturais, é indispensável para a patogênese, motilidade e simbiose bacteriana, pois é empregado por várias bactérias Gram-negativas na transferência de proteínas efetoras para o citoplasma de células eucarióticas. Apesar de montado e exposto na membrana da bactéria, ele só é ativado após o contato com a célula epitelial, liberando mais de 30 efetores para iniciar a patogénia (CORNELIS, 2006; CHATTERJEE et a.,2013; HU et al., 2015; IZORÉ et al.,2011; KAUR, PORTALIOU et al., 2016). Esse sistema libera através de seu canal secretório cerca de 30 proteínas, como as translocadoras IpaB-IpaD, as efetoras IpaA e IcsB e ativadoras de transcrição *VirB* e *MxiE*, codificadas na ilha de patogenicidade (PARSOT, 2005). Nos últimos anos houve um progresso considerável na compreensão da estrutura do SST3 com importantes contribuições da Cristalografia de raios X, Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Microscopia Eletrônica (ME) (WORRALL et al., 2011). Hu e colaboradores (2015) conseguiram apresentar a estrutura intacta do SST3 e seu complexo citoplasmático a partir de um modelo construído de minicélulas de *S. flexneri*, explorada por um detector de elétrons desenvolvido recentemente e uma tomografia crioelétrica de auto rendimento (crio-ET) para visualização das minicélulas hidratadas e congeladas.

Os *Ipa* genes codificam as proteínas invasivas IpaA, IpaB, IpaC e IpaD para favorecer a entrada

Ciências da Saúde

de *Shigella* à célula epitelial. A invasiva IpaA, a partir de um complexo formado com a proteína citoesquelética vinculina, controla a montagem de filamentos de actina no citoesqueleto (PHALIPSON et al., 2007). A invasiva IpaB, além de ser requerida na penetração da bicamada lipídica da célula hospedeira, constrói canal iônico na membrana interna para promover influxo de potássio e induzir a piroptose em macrófago (SANSONETTI et al., 2001), e está associada ao desaparecimento do Aparelho de Golgi, interferindo na fisiologia da célula hospedeira. A invasiva IpaC, complexada a IpaB é transportada pela agulha e inserida na membrana formando o poro para passagem de outros efetores, interagindo com proteínas associadas a filamentos de actina do citoesqueleto da célula hospedeira para e indução de polimerização de actina. A invasiva IpaD está associada com a secreção e recrutamento de IpaB e IpaC (translocadores) para a ponta da agulha do SST3 (MACMICKING et al., 2017; YANG e HU et al., 2015).

Além desses, o plasmídeo contém genes que codificam as proteínas secretórias VirA, IpaH4.5, IpaH7.8, IpaH9.8 e outras. A proteína efetora VirA tem como função o rompimento da rede de microtúbulos da célula hospedeira, enquanto a proteína IpaH9.8 marca enzimas intracelulares (Gbps) com ubiquitina afim de fugir da destruição que essas enzimas realizam. Por isso alguns estudos recomendam a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) do gene *IpaH* como ferramenta de diagnóstico de gastroenterite aguda em crianças na Índia (AGGARWAL et al., 2016). A caracterização dos mecanismos de virulência torna compreensível o perfil da patogênese de *Shigella*, desde a infecção até o processo inflamatório característico.

A identificação precisa do patógeno é crucial para fins de vigilância, compreensão de quais organismos são mais prevalentes e em quais áreas, planejamento de medidas de prevenção específicas, estratégias de vacinação e o estabelecimento de tratamentos empíricos.

8. Vacina, Diagnóstico e Tratamento

Cerca de 90% dos isolados globais correspondentes a *S. flexneri* (sorotipos 2a, 3a e 6) e *S. sonnei*, logo o ideal seria uma vacina multivalente de máxima cobertura que incorpore todos os sorogrupos de *Shigella*, ou seja as quatro espécies, que em conjunto corresponderem a mais

de cinquenta sorotipos diferentes (MANI; et al., 2016; ZHAO et al., 2017). Há uma vacina bivalente de *S. flexneri* e *S. sonnei* que é utilizada em Pequim, onde a resistência antimicrobiana é encontrada em cerca de 90% dos isolados de *Shigella*. No entanto, atualmente não há uma vacina licenciada e comercialmente disponível que seja eficaz, segura e multivalente que seja recomendada pela OMS, tampouco alguma alternativa terapêutica não antibiótica, (PUZARI et al., 2017; ZHAO et al., 2017). O que há atualmente, são 15 candidatos vacinais em diferentes fases de testes clínicos oriundos de diversas partes do globo, como Índia, Washington, Espanha, França, Coreia e Áustria possuem estudos com testes clínicos de fase 1. Itália e Suíça possuem estudos com testes clínicos de fase 2, enquanto os Estados Unidos é o único país a ter estudos com testes clínicos de fase 1, fase 2 e fase 3 em andamento, sendo os mais adiantados no desenvolvimento de uma vacina alternativa. A natureza dessas candidatas é baseada desde proteínas de membrana, antígenos fusionados, vesículas de membrana, proteínas do SST3, oligossacarídeos sintéticos a célula inteira de *Shigella* atenuada ou geneticamente modificada. Estima-se que 150 mil mortes possam ser evitadas globalmente até o ano de 2030 com o desenvolvimento de uma vacina multivalente contra *Shigella* (MANI et al., 2016; WALKER et al., 2017), sendo uma das prioridades em saúde pública mundial.

A identificação imediata do patógenos é necessária em contextos de possíveis surtos para a implementação de medidas eficazes de controle, sendo útil para o manejo de pacientes, particularmente aqueles com doença grave, persistente ou imunocomprometidos. Um dos principais desafios para o diagnóstico laboratorial de infecções diarreicas é que existem mais de 40 patógenos causadores de diarreia, as técnicas convencionais de detecção microbiológica exigem múltiplas etapas, sem contar com a necessária infraestrutura adequada e equipe devidamente capacitada (MOKOMANE et al., 2017). O diagnóstico convencional definitivo da shigelose é realizado diretamente através das fezes, a partir do isolamento do microrganismo em cultura, mas pesquisadores já descobriram, através de uma avaliação de ensaio de reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR), que este método identificou quase o dobro de casos atribuíveis a



Ciências da Saúde

Shigella, comparado ao método convencional (WALKER et al., 2016; PUZARI et al., 2017). O Instituto Pasteur também desenvolveu testes imunocromatográficos para diagnóstico rápido (TDRs) de *Shigella* direcionados para os sorogrupos *S. flexner 2a*, *S. sonnei* e *S. dysenteriae*, com especificidades na faixa de 91-100%. Esses TDRs, já foram avaliados em diferentes amostras como cepas isoladas, esfregaços retais e fezes, em diferentes países como Vietnã e Chile e estavam em fase de industrialização, segundo Haddar e colaboradores (2017).

O método terapêutico direcionado para os casos de diarreia leve é a reposição de eletrólitos, como correção da desidratação. A terapia empregada, recomendada pela OMS, para os casos de disenteria é um tratamento empírico a partir da administração de antibióticos como ciprofloxacina (fluoroquinolonas), azitromicina e cefalosporina de terceira geração como método primário por promover baixa taxa de resistência antibiótica, e posteriormente, ampicilina e cotrimoxazol, como alternativa secundária. A antibioticoterapia reduz o risco de possíveis complicações e duração dos sintomas no organismo, estando atualmente, sob forte ameaça com os crescentes relatos descrevendo casos com bactérias multirresistentes em diversas regiões do globo como África, China, Chile e Índia (KOTLOFF et al., 2017; GONZALEZ-TORRALBA et al., 2018).

Pernica e colaboradores (2016), desenvolveram um estudo buscando rastrear 15 patógenos diferentes por meio da Reação em cadeia da polimerase (PCR) para correlacionar a desfechos clínicos utilizando amostras clínicas fecais. O tratamento padrão atualmente empregado em muitos países é tratar com antibióticos crianças que apresentem diarreia sanguinolenta e abster crianças que não apresentem esse quadro. O estudo constatou que a infecção por *Shigella* foi estatisticamente mais comum em crianças que apresentaram sangue nas fezes, não sendo semelhante para nenhum outro patógeno bacteriano. No estudo verificou-se que cerca de 219 crianças de um total de 586, não apresentaram fezes sanguinolentas, mas estavam infectadas e crianças com fezes com sangue não apresentaram aumento de mortalidade. Isto sugere que a metodologia recomendada pela OMS pode não ser completamente eficaz para o controle das

infecções, visto que não houve associação estatisticamente significativa entre diarreia sanguinolenta e morte, mas acentuadamente entre desnutrição e morte. Isso tem sido discutido entre os estudiosos, pois essa exclusão pode colocar as crianças infectadas em risco maior, visto que inúmeras apresentam diarreia leve e a associação entre mortalidade é mais forte para diarreia relacionada a *Shigella* do que com somente disenteria, principalmente em crianças malnutridas (KOTLOFF et al., 2017; TICKELL et al., 2017).

Considerações Finais

A problemática relacionada a síndrome diarreica, especialmente causada por bactérias do gênero *Shigella*, tem impulsionado vários estudiosos a buscar desenvolver uma vacina eficaz e segura, como método de prevenção da doença, que apesar dos esforços ainda não está disponível. Considerando isto, e também o aumento do número de casos com bactérias resistentes aos antibióticos utilizados para o tratamento da doença, a busca por novas alternativas terapêuticas também se faz necessária em paralelo. Métodos de proteção contra patógenos através de imunidade passiva são pouco empregados e atualmente a Tecnologia IgY tem sido utilizada com sucesso contra diferentes patógenos, mas não há nada direcionado a *Shigella*. Estudos recentes, têm mostrado o efeito promissor de IgY contra patógenos bacterianos como diferentes estirpes de *Salmonella*, *Acinetobacter baumani*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Helicobacter pylori*, que tiveram crescimento celular afetado devido a ação neutralizante de IgY. Isto pode ser bastante promissor contra as doenças diarreicas de modo geral, pois os anticorpos de gema de ovo apresentam diversas vantagens, como método de obtenção menos invasivo, mais econômico e de alto rendimento.

Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

Referências



Ciências da Saúde

- AGGARWAL, P. et al. True Prevalence of Shigellosis in Indian Children with Acute Gastroenteritis: Have We Been Missing the Diagnosis?. **Journal of research in health sciences**, v. 16, n. 1, p. 11–6, 2016. Acesso em: 01. Fev.2018.
- ARIZMENDI, O.; PICKING, W. D.; PICKING, W. L. Macrophage Apoptosis Triggered by IpaD from *Shigella flexneri*. **Infection and immunity**, v. 84, n. 6, p. 1857–65, 1 jun. Acesso em: 15.Mar.2018.
- ASHIDA, H.; MIMURO, H.; SASAKAWA, C. *Shigella* Manipulates Host Immune Responses by Delivering Effector Proteins with Specific Roles. **Frontiers in Immunology**, v. 6, p. 219, 7 maio 2015. 2015.00219. Acesso em:15. Mar.2018.
- BAKER, K. S. et al. The extant World War 1 dysentery bacillus NCTC1: a genomic analysis. **The Lancet**, v. 384, n. 9955, p. 1691–1697, nov. 2014.
- BASTOS, FC; LOUREIRO, ECB. Caracterização da resistência antimicrobiana de amostras de *Shigella* spp isoladas em Belém, estado do Pará, Brasil (1990-2000). **Rev Pan-Amazônica de Saúde**. v.1, n.4, p.71-74. 2010.
- BELD, M.J.C.V.D.; REUBSAET, F.A.G. Differentiation between *Shigella*, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 31, n. 6, p. 899-904, 2012.
- BROTCKE, Z. A. et al. IcsA is a *Shigella flexneri* Adhesin Regulated by the Type III Secretion System and Required for Pathogenesis. **Cell Host & Microbe**, 2014. Acesso em: 11.Mar.2018.
- BURKINSHAW, B. J.; STRYNADKA, N. C. J. Assembly and structure of the T3SS. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1843, n. 8, p. 1649–1663, 1 ago. 2014. DOI: 10.1016/J.BBAMCR.2014.01.035. Acesso em: 11.Mar.2018.
- CARLANDER, D.; STÅLBERG, J.; LARSSON, A. Chicken Antibodies. **Upsala Journal of Medical Sciences**, v. 104, n. 3, p. 179–189, 18 jan. 1999. Acesso em: 26.Mar.2018.
- CHATTAWAY, M. A. et al. Identification of *Escherichia coli* and Sequences. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, n. 2, p. 616–623, 2017. Acesso em: 01.Mar.2018.
- CHATTERJEE, S. et al. Structure and Biophysics of Type III Secretion in Bacteria. **Biochemistry**, v. 52, n. 15, p. 2508–2517, 16 abr. 2013.
- CONNOR, T. R. et al. Species-wide whole genome sequencing reveals historical global spread and recent local persistence in *Shigella flexneri*. **eLife**, v. 4, n. AUGUST2015, p. e07335, 4 ago. 2015. Acesso em: 13.Mar.2018.
- CONROY, P. J. et al. Antibodies: From novel repertoires to defining and refining the structure of biologically important targets. **Methods**, 2017. Acesso em: 02.Jan.2018.
- CORNELIS, G. R. The type III secretion injectisome. **Nature Reviews Microbiology**, v. 4, n. 11, p. 811–825, nov. 2006. Acesso em: 20.Fev.2018.
- CUNHA, F. DA et al. *Shigella* sp: UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA. **Higiene Alimentar**, v. 31 nº264-2, p. 52–57, 2017. Acesso em: 30.Jan.2018.
- CRUZ, C. B. N. et al. Virulence factors associated with pediatric shigellosis in Brazilian Amazon. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.
- DA ROCHA, D. G. et al. Development of IgY antibodies against anti-snake toxins endowed with highly lethal neutralizing activity. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 106, n. October 2016, p. 404–412, 2017. Acesso em: 01.Fev.2018.
- DELAHAUT, P. Immunisation – Choice of host, adjuvants and boosting schedules with emphasis on polyclonal antibody production. **Methods**, v. 116, p. 4–11, 2017. Acesso em:15.Jan.2018.
- DÍAZ, P. et al. IgY pharmacokinetics in rabbits: Implications for IgY use as antivenoms. **Toxicon**, v. 90, p. 124–133, 2014. Acesso em: 15.Mar.2018.
- DUAN, H. L. et al. Anti-Trimeresurus albolabris venom IgY antibodies: Preparation, purification and neutralization efficacy. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 22, n. 1, p. 4–9, 2016. Acesso em 01.Mar.2018.
- FIGUEIREDO, A. et al. Electrical detection of dengue biomarker using egg yolk immunoglobulin as the biological recognition element. **Scientific Reports**, 2015.
- FINK, A. L. et al. Dengue virus specific IgY provides protection following lethal dengue virus challenge and is neutralizing in the absence of



Ciências da Saúde

inducing antibody dependent enhancement. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 2017.

FRIS, M. E.; MURPHY, E. R. Riboregulators: Fine-Tuning Virulence in Shigella. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, n. January, p. 1–6, 2016. Acesso em: 01.Mar.2018.

GERMANI, Y.; SANSONETTI, P.J. The genus Shigella. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH and Stackebrandt E (eds). **The Prokaryotes: A handbook of the biology of bacteria**. New York: Springer Science + Business Media Inc. p. 99-116. 2006.

GIANGROSSI, M. et al. VirF Relieves the Transcriptional Attenuation of the Virulence Gene icsA of Shigella flexneri Affecting the icsA mRNA-RnaG Complex Formation. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 650, 18 abr. 2017. Acesso em: 01.Mar.2018.

GONZÁLEZ-TORRALBA, A.; GARCÍA-ESTEBAN, C.; ALÓS, J. I. Enteropatógenos y antibióticos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 36, n. 1, p. 47–54, 2018.

HADDAR, C. et al. Tests de diagnostic rapide des shigelloses. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique**, v. 110, n. 1, p. 1–8, 2017.

HINES, J. Z. et al. Heavy precipitation as a risk factor for shigellosis among homeless persons during an outbreak - Oregon, 2015-2016. **Journal of Infection**, p. 1–6, 2017.

HOLT, K.E. et al. Shigella sonnei genome sequencing and phylogenetic analysis indicate recent global dissemination from Europe. **Nature Genetics**, v. 44, p. 1056- 1061, 2012.

HU, B. et al. Visualization of the type III secretion sorting platform of Shigella flexneri. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 4, p. 1047–52, 27 jan. 2015.

IZORÉ, T.; JOB, V.; DESSEN, A. **Biogenesis, regulation, and targeting of the type III secretion system** Structure Cell Press, , 11 maio 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969212611001390>>. Acesso em: 11 mar. 2018

KAUR, K.; CHATTERJEE, S.; DE GUZMAN, R. N. Characterization of the Shigella and Salmonella Type III Secretion System Tip-Translocon Protein-Protein Interaction by Paramagnetic Relaxation

Enhancement. **ChemBioChem**, v. 17, n. 8, p. 745–752, 15 abr. 2016.

KOTLOFF, K. L. et al. Shigellosis. **The Lancet**, v. 6736, n. 17, 2017.

KOTLOFF, K. L. et al. Global burden of Shigella infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 77, n. 8, p. 651-666, 2013.

LAUNAY, O. et al. Safety Profile and Immunologic Responses of a Novel Vaccine Against Shigella sonnei Administered Intramuscularly, Intradermally and Intranasally: Results From Two Parallel Randomized Phase 1 Clinical Studies in Healthy Adult Volunteers in Europe. **EBioMedicine**, v. 22, p. 164–172, 1 ago. 2017.

LEVINE, M. M. et al. **The Global Enteric Multicenter Study (GEMS): Impetus, Rationale, and Genesis**. v. 55, n. Suppl 4, p. 215–224, 2012.

LIVIO, S. et al. Shigella Isolates From the Global Enteric Multicenter Study Inform Vaccine Development. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 59, 2014.

LIU, L. et al. Global , regional , and national causes of child mortality : an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. **The Lancet**, v. 379, n. 9832, p. 2151–2161, 2012.

MACMICKING, J. D. Bacteria disarm host-defence proteins. **Nature**, v. 551, n. 7680, p. 303–305, 2017.

MANAUS AMBIENTAL. Sistema de Coleta e Tratamento de Esgoto Sanitário. <http://www.manausambiental.com.br/esgotament-o-sanitario>. Acesso em 05.02.2018.

MANI, S.; WIERZBA, T.; WALKER, R. I. Status of vaccine research and development for Shigella. **Vaccine**, v. 34, n. 26, p. 2887–2894, 3 jun. 2016.

MARTEYN, B.; GAZI, A.; SANSONETTI, P.J. *Shigella*: a model of virulence regulation in vivo. **Gut microbes**, v. 3, n. 2, p. 104-120, 2015.

MERRITT, M. E.; DONALDSON, J. R. Effect of bile salts on the DNA and membrane integrity of enteric bacteria. **Journal of Medical Microbiology**, v. 58, n. 12, p. 1533–1541, 1 dez. 2009.



- MOKOMANE, M. et al. The global problem of childhood diarrhoeal diseases: emerging strategies in prevention and management. **Therapeutic Advances in Infectious Disease**, v.5, p. 29-43. Therapeutic Advances in Infectious Disease. Vol 5, Issue 1, pp. 29-43, dez. 2017. DOI: <https://doi.org/101177/2049936117744429>.
- MUTHURULANDI SETHUVEL, D. P. et al. Update on: Shigella new serogroups/serotypes and their antimicrobial resistance. **Letters in Applied Microbiology**, v. 64, n. 1, p. 8–18, 2016.
- NICKERSON, K. P. et al. Analysis of Shigella flexneri Resistance, Biofilm Formation, and Transcriptional Profile in Response to Bile Salts. **Infection and immunity**, v. 85, n. 6, p. e01067-16, 1 jun. 2017.
- NIYOGI, S. K. Shigellosis. **Journal of microbiology** (Seoul, Korea), v. 43, n. 2, p. 133-143, 2005.
- NUNES, M. R. et al. Diarrhea associated with Shigella in children and susceptibility to antimicrobials. **Jornal de pediatria**, v. 88, n. 2, p. 125-128, 2012.
- OJHA, S. C. et al. A pentaplex PCR assay for the detection and differentiation of Shigella species. **BioMed research international**, v. 2013, p. 412370, jan. 2013.
- ORLANDI, P. P. et al. Etiology of diarrheal infections in children of Porto Velho (Rondonia, Western Amazon region, Brazil). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, n. 4, p. 507–517, 2006.
- PARSOT, C. Shigella spp. and enteroinvasive Escherichia coli pathogenicity factors. **FEMS Microbiology Letters**, v. 252, n. 1, p. 11–18, 1 nov. 2005.
- PEDRON, T.; THIBAUT, C.; SANSONETTI, P. J. The Invasive Phenotype of *Shigella flexneri* Directs a Distinct Gene Expression Pattern in the Human Intestinal Epithelial Cell Line Caco-2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 36, p. 33878–33886, 5 set. 2003.
- PHALIPON, A.; SANSONETTI, P. J. Shigella's ways of manipulating the host intestinal innate and adaptive immune system: a tool box for survival. **Immunology and cell biology**, v. 85, n. 2, p. 119-129, 2007.
- POPE, L. M.; REED, K. E.; PAYNE, S. M. Increased protein secretion and adherence to HeLa cells by Shigella spp. following growth in the presence of bile salts. **Infection and immunity**, v. 63, n. 9, p. 3642–8, 1 set. 1995.
- PORTALIOU, A. G. et al. Type III Secretion: Building and Operating a Remarkable Nanomachine. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 41, n. 2, p. 175–189, 1 fev. 2016.
- PORE, D. et al. Outer membrane protein A (OmpA) of Shigella flexneri 2a, induces protective immune response in a mouse model. *PloS one*, v. 6, n. 7, p. e22663, 2011.
- PUZARI, M.; SHARMA, M.; CHETIA, P. Emergence of antibiotic resistant Shigella species: A matter of concern. **Journal of Infection and Public Health**, 2017.
- RAM, P. K. et al. Part II. Analysis of data gaps pertaining to Shigella infections in low and medium human development index countries, 1984–2005. **Epidemiology and infection**, v. 136, n. 05, p. 577-603, 2008.
- ROSSI, R. et al. Cardiolipin Synthesis and Outer Membrane Localization Are Required for Shigella flexneri Virulence. **American Society for microbiology**, v.8, August. 2017.
- SACK, D.A et al. Is protection against shigellosis induced by natural infection with Plesiomonas shigelloides. **The Lancet.**, v.343, p.1413-1415, 1994.
- SAEED, A. F. U. H. et al. Antibody engineering for pursuing a healthier future. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. MAR, p. 1–28, 2017.
- SANGEETHA, A. V. et al. Clinical and microbiological profiles of shigellosis in children. **Journal of health, population, and nutrition**, v. 32, n. 4, p. 580–6, 2014.
- SANSONETTI, P. J. III. Shigellosis: from symptoms to molecular pathogenesis. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 280, n. 3, p. G319-G323, 2001.
- SASAKAWA, C. A. New paradigm of bacteria-gut interplay brought through the study of Shigella. **Proceedings of the Japan Academy, Series B**, v. 86, n. 3, p. 229-243, 2010.
- SCHROEDER, G. N.; HILBI, H. Molecular Pathogenesis of Shigella spp.: Controlling Host Cell Signaling, Invasion, and Death by Type III Secretion. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 1, p. 134–156, 1 jan. 2008.



Ciências da Saúde

SISTRUNK, J. R. et al. Survival of the Fittest: How Bacterial Pathogens Utilize Bile To Enhance Infection. **Clinical microbiology reviews**, v. 29, n. 4, p. 819–36, 1 out. 2016.

SOUSA, M.A.B. et al. Bacteriocin production by *Shigella sonnei* isolated from faeces of children with acute diarrhoea. **Apmis**, v. 118, n. 2, p. 125–135, 2010.

TAI, A. Y. C. et al. A review of the public health management of shigellosis in Australia in the era of culture-independent diagnostic testing. **Australian and New Zealand Journal of Public Health**, v. 40, n. 6, p. 588–591, 2016.

THE, H. C. et al. The genomic signatures of *Shigella* evolution, adaptation and geographical spread. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 4, p. 235–250, 2016.

TICKELL, K. D. et al. Identification and management of *Shigella* infection in children with diarrhoea: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet. Global health**, v. 5, n. 12, p. e1235–e1248, 1 dez. 2017.

WALKER, R.; DULL, P. Combination vaccine strategies to prevent enteric infections. **Vaccine**, v. 35, n. 49, p. 6790–6792, 2017.

WALKER, R. I. et al. Vaccines against *Shigella* and enterotoxigenic *Escherichia coli*: A summary of the 2016 VASE Conference. **Vaccine**, v. 35, n. 49, p. 6775–6782, 2017.

WORRALL, L. J.; LAMEIGNERE, E.; STRYNADKA, N. C. Structural overview of the bacterial injectisome. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, n. 1, p. 3–8, 1 fev. 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **State of the art of new vaccines: research and development: Initiative for Vaccine**. Geneva, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics**. 2017 Disponível em: http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-T_NM_WHO.pdf. Acessado em: 25 de Julho de 2017.

YANG, S. C. et al. The roles of the virulence factor IpaB in *Shigella* spp. in the escape from immune cells and invasion of epithelial cells. **Microbiological Research**, v. 181, p. 43–51, 2015.

ZAIDI, M. B.; ESTRADA-GARCÍA, T. *Shigella*: A Highly Virulent and Elusive Pathogen. **Current tropical medicine reports**, v. 1, n. 2, p. 81–87, 2014.

ZHAO, L. et al. An 11-year study of shigellosis and *Shigella* species in Taiyuan, China: Active surveillance, epidemic characteristics, and molecular serotyping. **Journal of Infection and Public Health**, v. 10, n. 6, p. 794–798, 2017.