

RELATO DE CASO: ACHADO HISTOLÓGICO SUGESTIVO DE LISTERIOSE EM PROCESSO DE ABORTAMENTO PRECOCE

DELIBERALLI, Ivânia¹; JANNKE, Heitor Alberto²; VARGAS-GARCIA, Camila Foletto³; SILVEIRA, Lígia Iara⁴; BLUM-MENEZES, Dulcinéa⁵

¹ Graduanda do Curso de Ciências Biológicas Licenciatura – UFPel, nani.deli@hotmail.com

² Departamento de Cirurgia Geral, Faculdade de Medicina – UFPel, jannke@terra.com.br

³ Graduanda do Curso de Medicina – UFPel, camilafvgarcia@gmail.com

⁴ Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do HUSFP – UCPel, aigyls@hotmail.com

⁵ Departamento de Microbiologia e Parasitologia/IB – UFPel, dulceblum@uol.com.br

BLUM-MENEZES, Dulcinéa
Universidade Federal de Pelotas - UFPel

1 INTRODUÇÃO

Listeria monocytogenes é um bacilo Gram positivo, não esporulado, anaeróbio facultativo, produtor de β -hemólise em ágar sangue de diversos animais, oxidase negativa, com crescimento entre 2,5 e 42°C, e apresenta motilidade entre 20 e 25°C (Hold *et al*, 1994).

Este gênero bacteriano é isolado a partir de alimentos, além de diferentes fontes ambientais, fezes humanas e de outros animais (Weis e Seeliger, 1975).

Quanto à aquisição deste microrganismo, foi descrito o contágio através da ingestão de alimentos tanto de origem animal quanto vegetal contaminados (Rocourt, 1996). Estudos realizados em Pelotas/RS, demonstraram a presença de *L. monocytogenes* em lingüiça fresca (Laer *et al*, 2009) e queijos úmidos (Mello *et al*, 2008; Silva *et al*, 2004).

Apesar de a listeriose ser uma doença alimentar de baixa incidência comparada a outras doenças de origem alimentar, de acordo com o *Center for Disease Control and Prevention* (CDC), de Atlanta, EUA, estima-se que 2500 pessoas (1/108.800 habitantes) são severamente acometidas por listeriose anualmente naquele país, e destas 500 evoluem para o óbito. De acordo com as pesquisas, 27% destes casos são de gestantes. (<http://www.cdc.gov/foodsafety/>, acessado em 09/04/08, Mead *et al*, 2006).

Listerioses feto-materna e neonatal resultam da invasão do feto via placenta, desenvolvendo o quadro de corioamnionite. As conseqüências são: abortamento ou infecção generalizada em recém nascidos, conhecida como granulomatose infanti-séptica, caracterizada por presença de microabscessos piogranulomatosos disseminados pelo corpo que acarretam em posterior óbito (Klatt *et al*, 1986).

As alterações histológicas na placenta com listeriose são microabscessos, vilosite focal, corioamnionite e funiculite (Schwab e Edelweiss, 2003; Benirschke, 1995; Fox, 1978).

O objetivo deste trabalho foi investigar a presença de *L. monocytogenes* em amostra clínica de paciente em processo de abortamento, atendida em hospital universitário de Pelotas/RS, através de culturas microbiológicas, além de investigar alterações histopatológicas de tecido placentário que sugerissem processo infeccioso por este agente.

2 METODOLOGIA

Paciente

Paciente T.L., 29 anos, atendida no Hospital Universitário São Francisco de Paula/UCPel/Pelotas/RS, em junho de 2009, em processo de aborto retido precoce, tempo gestacional 9 semanas, afebril (36° C), PA 110x80. Em ultrassonografia foi observada útero bicorno e saco gestacional sem embrião. A curetagem transcorreu sem complicações. A medicação antimicrobiana nas 24 horas pós-operatórias compreendeu ampicilina 1g (6x6 h), metronidazol 500g (8x8 h), gentamicina 240 g.

A paciente consentiu livremente em sua participação ao ser esclarecida do caráter investigativo das análises e a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFPel (OF. 023/08).

Questionário quanto aos hábitos alimentares

Na época da coleta foi realizado um questionário sobre os hábitos alimentares da paciente, referentes aos 15 dias anteriores ao episódio de abortamento. Os itens questionados foram consumo de: leite pasteurizado ou *in natura*, queijos frescos, derivados de leite, embutidos, produtos industrializados prontos para consumo, além de verduras cruas.

Amostras

Foram coletadas aproximadamente 4 mL de sangue, além de material de *swab* retal e *swab* vaginal. Para análise dos restos placentários, foram coletadas 10 g de amostra, sendo 5 g acondicionadas em frascos estéreis e mantidos sob refrigeração até serem conduzidos ao Laboratório Genética de Microrganismos da UFPel e 5 g da amostra acondicionadas em formol e enviadas para o Laboratório de Patologia e Citopatologia (Lapacit) de Pelotas, para análises histopatológicas.

Análises microbiológicas

Para enriquecimento primário, foi utilizada a técnica de isolamento descrita por Kaur *et al*, (2007), com modificações. Aproximadamente 4 mL de sangue e 5 g de restos placentários foram inoculados em 40 mL e 225 mL de caldo de pré-enriquecimento (PEB, Tryptic Soy Broth acrescido de 0,6% de extrato de levedura), respectivamente. As amostras foram homogeneizadas e incubadas a 30°C por 24h. Os *swabs* retal e vaginal foram assepticamente inoculados em 10 mL de PEB, homogeneizados manualmente e incubados a 30°C por 24h.

Para o enriquecimento primário, 5 mL de PEB foram transferidos para 45 mL LEBB (Listeria Enrichment Broth Base, Oxoid) suplementado com UVMI (Listeria Primary Selective Enrichment Supplement - SR0142E, Oxoid), e incubados a 30°C por 48h.

Para o enriquecimento secundário, alíquotas de 0,1 mL dos caldos de enriquecimento primários (LEBB - UVMI) foram transferidas para caldo LEBB - UVMII (Listeria Secondary Selective Enrichment Supplement - SR0143E, Oxoid) e novamente incubadas a 30°C por 72h.

Após o período de incubação, os inóculos foram semeados em ágar Oxford suplementado com Listeria Selective Supplement (SR0140E, Oxoid), e incubados a 30°C por 48h.

Análise histopatológica

A análise histopatológica dos restos placentários foi realizada através do método de rotina hematoxilina e eosina (HE).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Quanto aos hábitos alimentares, a paciente relatou que consumiu queijos frescos, derivados de leite, embutidos, produtos industrializados pré-prontos para consumo, além de verduras cruas, pelo menos nos 15 dias que antecederam ao episódio de abortamento, hábitos estes que podem favorecer a aquisição de listeriose.

Através do método microbiológico proposto, não foram isoladas cepas de *L. monocytogenes* nas amostras investigadas, porém foi encontrada evidência histopatológica sugestiva de processo infeccioso por este agente. Os exames microbiológicos de rotina não isolaram outros agentes microbianos.

O fato de não ter sido isoladas cepas de *L. monocytogenes* na amostra de placenta, talvez seja devido ao fato de que, para esta amostra, foram coletadas 5 g de material, o que equivale a 20% da massa sugerida de 25g por Kaur *et al* (2007) para realização das análises microbiológicas de listeriose em placenta.

Esta quantidade menor de material coletado é decorrente de que a paciente estava com 9 semanas de gestação, o que limita o volume obtido de amostra.

Em estudo realizado em Israel e descrito por Siegman-Igra *et al* (2002), todos os casos perinatais de listerioses (69) estavam relacionados a período gestacional ≥ 9 semanas. O mesmo estudo apresenta uma revisão multicêntrica de casos de listeriose descritos nos países Inglaterra, Estados Unidos, Austrália e Espanha. Os 1400 casos relacionados de listeriose perinatal, deste estudo, ocorreram em tempo gestacional de 9 a 29 semanas (Siegman-Igra *et al*, 2002).

Há escasso material na literatura que relate a massa placentária em diferentes períodos gestacionais. Estima-se que o volume de placenta até o período gestacional de 12 semanas seja entorno de $52,07 \pm 17,25 \text{ mm}^3$ (Hafner *et al*, 2001), portanto a estimativa da massa placentária seria de $41,66 \pm 13,80\text{g}$, considerando o cálculo que determina a massa placentária através da utilização de modelo matemático volumétrico considerando o coeficiente $r_s=0,80$ (Azpurua *et al*, 2010), o que poderia limitar as quantidades de amostras obtidas abaixo deste período gestacional.

Considerando o achado histopatológico que sugere um processo infeccioso por *L. monocytogenes* em amostra de placenta, esta apresentou vilosidade placentária ocupada por grande número de leucócitos (vilosite), com distorção da arquitetura celular, que condiz com achados descritos da literatura para esta infecção (Schwab e Edelweiss, 2003; Benirschke, 1995; Fox, 1978). Segundo Schwab e Edelweiss (2003), as características histológicas de listeriose na placenta, embora não-patognomônicas, permitem ao patologista um diagnóstico presuntivo.

Para uma maior acurácia na identificação de listeriose em casos de aborto prematuro, sugerimos a necessidade de implantação de técnicas moleculares de análise microbiológicas.

4 CONCLUSÕES

As massas placentárias obtidas para investigação de *L. monocytogenes* em placenta, em casos de abortamento precoce, são abaixo da preconizada na literatura, o que pode comprometer o diagnóstico desta infecção neste período gestacional.

5 ÓRGÃO DE FOMENTO

FAPERGS/PPSUS Processo 09/0091-3

6 REFERÊNCIAS

- AZPURUA, H., FUNAI, E. F., CORALUZZI, L. M., DOHERTY, L. F., SASSON, I. E., KLIMAN, M., KLIMAN H. J. Determination of Placental Weight Using Two-dimensional Sonography and Volumetric Mathematic Modeling. **American Journal of Perinatology**, v. 27, n. 2, p.151 - 155, 2010.
- BENIRSCHKE, K. & KAUFMANN, P. Pathology of the human placenta. **New York: Springer-Verlag**, v. 3, p. 560 - 64, 1995.
- FOX, H. *Pathology of the placenta*. **Saunders**, p. 286 - 325, 1978.
- HAFNER, E., METZENBAUE, M., DILLINGER-PALLER, B., HOEFINGER, D., SCHUCHTER, K., SOMMER-WAGNER, H., PHILIPP, K.. Correlation of First Trimester Placental Volume and Second Trimester Uterine Artery Doppler Flow. **Placenta**, v. 22, p. 729 - 734, 2001.
- HOLT, J. G., KRIEG, N. R., SNEATH, P. H. A., STALEY, J. T., WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**, Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.
- KAUR, S., MALIK, S. V. S., VAIDYA, V. M., BARBUDDHE, S. B. *Listeria monocytogenes* in spontaneous abortions in humans and its detection by multiplex PCR. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 1889 - 1896, 2007.
- KLATT, E. C., PAVLOVA, Z., TEBERG, A. J., YONEKURA, M. L. Epidemic neonatal listeriosis at autopsy. **Hum Pathol**, v. 17, p. 1278 - 1281, 1986.
- LAER, A. E. V., LIMA, A. S., TRINDADE, P.S., ANDRIGUETTO, C., DESTRO, M. T., SILVA, W. P. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from a fresh mixed sausage processing line in Pelotas-RS by PFGE. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 574 - 582, 2009.
- MEAD, P. S., DUNNE, E. F., GRAVES, L., EDMANN, M., PATRIK, M. S. HUNTER, et al. Nationwide outbreak of listeriosis due to contaminated meat. **Epidemiol Infect**, v. 134, p. 744 - 751, 2006.
- MELLO, J. F., EINSFELDT, K., FRAZZON, A. P. G., COSTA, M., FRAZZON, J. Molecular analysis of the *iap* gene of *Listeria monocytogenes* isolated from cheeses in Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 169 - 172, 2008.
- ROCOURT, J. Risk factors for listeriosis. **Food Control**, v. 7, p. 195 - 202, 1996.
- SCHWAB, J. P., EDELWEISS, M. I. A. Identificação de *Listeria monocytogenes* em placentas humanas e espécimes de aborto pela técnica de imunohistoquímica, **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 2, p. 111 - 114, 2003.
- SIEGMAN-IGRA, Y., LEVIN, R., WEINBERGER, M., GOLAN, Y., SCHWARTZ, D., SAMRA, Z., KONIGSBERGER, H., YINNON, A., RAHAV, G., KELLER, N., BISHARAT, N., KARPUGH, J., FINKELSTEIN, R., ALKAN, M., LANDAU, Z., NOVIKOV, J., HASSIN, D., RUDNICKI, C., KITZES, R., OVADIA, S., SHIMONI, Z., LANG, R., SHOHAT, T. *Listeria monocytogenes* infection in Israel and review of cases worldwide. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n. 3, p. 305 - 10, 2002.
- SILVA, W. P., LIMA, A. S., GANDRA, E. Á., ARAÚJO, M. R., MACEDO, M. R. P., DUVAL, E. H. *Listeria* spp. no processamento de lingüiça frescal em frigoríficos de Pelotas, RS, **Brasil Ciencia Rural**, v. 34, n. 3, p. 911 - 916, 2004.
- WEIS, J., SEELIGER, H. P. R., Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature. **Applied Microbiology**, v. 30, p. 29 - 32, 1975.