

SURTO DE MENINGITE NEONATAL POR *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Ilka Maria LANDGRAF *
Alice Massumi Mori KOBATA *
Miyoko JAKABI **
Candida Rosa Alves KIRSCHBAUM ***
Cássia Rita MARCHI ****

RIALA 6/853

LANDGRAF, I.M.; KOBATA, A.M.M.; JAKABI, M.; KIRSCHBAUM, C.R.A & MARCHI, C.R. - Surto de meningite neonatal por *Listeria monocytogenes*. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 58 (1): 63-67, 1999.

RESUMO: *Listeria monocytogenes*, um bacilo Gram-positivo, asporogênico, tem sido isolada de mamíferos, aves, peixes, crustáceos e insetos, sendo seu habitat primário, o solo e vegetal em decomposição. Causa infecção no homem e animais domésticos. Em humanos ocorre em maior incidência em recém-nascidos e indivíduos acima de 60 anos, sendo a meningite uma manifestação comum de listeriose. De cinco crianças recém-nascidas no mesmo Centro Obstétrico de um hospital da Grande São Paulo, foi isolada *Listeria monocytogenes* do líquido cefalorraquidiano (LCR). Todas as cepas pertenceram ao mesmo sorotipo, L4b. Foi analisada a resistência destas cepas a antibacterianos. As mães de 6 crianças nascidas no período de 14.05 horas, das quais uma foi a óbito sem ter sido puncionado o LCR, tiveram colhidas fezes e urina. Destes materiais não foi isolado o microrganismo.

DESCRITORES: *Listeria monocytogenes*, meningite bacteriana, meningite neonatal.

INTRODUÇÃO

Listeria monocytogenes é agente bacteriano de infecções em humanos e animais, principalmente domésticos, como gado, carneiros, cabras e aves, e infreqüentemente de animais selvagens⁵.

Esta bactéria foi primeiramente descrita por Murray et alii que a denominaram *Bacterium monocytogenes* devido à característica monocitose observada em coelhos e cobaias infectados em laboratório⁵. Seu nome atual foi dado por Pirie, em 1940⁵.

L. monocytogenes é um bacilo Gram-positivo, asporogênico, anaeróbico facultativo, que cresce entre

-0,4 e 50° C. Possui flagelos peritríquios que lhe proporcionam uma motilidade que causa turvação em forma de guarda-chuva em meio de cultura semi-sólido e à temperatura de 20-25° C e que a 37° C podem ser perdidos. O microrganismo expressa também uma hemólise total ou β (beta) em ágar-sangue. A hemolisina atua sinergisticamente com a hemolisina total ou β (beta) de *Staphylococcus aureus* sobre eritrócitos de carneiro, a qual é mediada pelo fator CAMP⁵. *L. monocytogenes* está largamente presente nas plantas, solo, superfície de águas, detritos, esgoto, leite de vacas normais e com mastite e fezes de animais e humanos^{5,7}.

* Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Seção de Microbiologia Alimentar.

*** Divisão de Ações de Vigilância Epidemiológica e Sanitária da Prefeitura Municipal de S. Bernardo do Campo, SP.

**** Laboratório da P.M. de S. Bernardo do Campo, SP.

Taxonomicamente, está colocada junto com *Brochothrix*, ambos gêneros ocupando uma posição entre *Lactobacillus* e *Bacillus*⁵.

Infecções humanas por *L. monocytogenes* ocorrem em maior incidência em recém-nascidos, seguidos por indivíduos na faixa etária acima de 60 anos⁵.

Em vista da grande tendência da *L. monocytogenes* infectar as meninges, meningite é uma manifestação comum de listeriose dentre as manifestações infecciosas do sistema nervoso central, principalmente em recém-nascidos⁵.

Listeriose materna em gestantes pode estar associada a aborto no 3º trimestre, como também já foi observado no 1º e 2º trimestres, e geralmente a infecção se manifesta como nascimento prematuro⁵.

Filice et alii⁶, estudando a ocorrência de 7 casos de infecção por *L. monocytogenes* em recém-nascidos, dos quais 6 desenvolveram meningite e um septicemia, observaram que 6 das 7 mães apresentaram relatos de vaginite durante a gravidez.

No entanto, listeriose materna não conduz inevitavelmente à infecção do feto¹⁰.

A ocorrência de listeriose em mulheres gestantes e imunocomprometidas levou a sugestões de que listeriose pode ser uma importante doença não reconhecida em mulheres gestantes com imunidade deficiente⁵.

A fonte do microrganismo é incerta, embora a infecção possa ser adquirida do trato genital da mãe durante o nascimento ou do ambiente após o nascimento^{5,6}.

Neste trabalho são relatados 5 casos de meningite por *L. monocytogenes* em recém-nascidos, ocorridos em um hospital da Grande São Paulo em um período de 14,05 horas, e que levou duas destas crianças a óbito. Os sintomas que estas crianças apresentaram foram: gemência (100 %), hipoatividade (100 %), febre $\leq 38,5$ (100 %), dificuldade de deglutição (100 %), vômitos (60 %), diarreia (40 %), convulsão (40 %). Outra criança, nascida no mesmo período, não teve seu caso investigado e confirmado pois foi a óbito no berçário após 48 horas do nascimento, sem notificação, e sem ter tido o LCR colhido, porém apresentou alguns dos sintomas das outras crianças.

MATERIAL E MÉTODOS

O crescimento bacteriano de culturas de 5 amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes recém-nascidos, com meningite, e isoladas no laboratório da Prefeitura Municipal de S. Bernardo do Campo, SP, foram recebidas no laboratório da Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, SP, para sua identificação. De uma das crianças, a 6ª delas, não foi

puncionado LCR por ter já ocorrido seu óbito. Esfregaços destas culturas corados pelo método de Gram, modificado por Hucker, revelaram bacilos Gram-positivos. Foi processada a semeadura em placa de ágar-sangue de carneiro e em meio de manitol-motilidade a 20-25° C. A seguir foram realizadas as provas de catalase e oxidase e provas bioquímicas de nitrato redutase, urease e fermentação de glicose, sacarose, xilose, maltose, salicina, arabinose, dulcitol, lactose, manitol, trealose, raminose, e o CAMP-teste^{4,5}. Embora as cepas estivessem puras, foram semeadas também em ágar PALCAM (11,13) e incubadas a 30° C em microaerofilia (lata com vela acesa), com observação do crescimento característico em 48 hs. Foi realizada a prova de patogenicidade experimental com inoculação da cepa em conjuntiva de cobaia (Prova de Anton)⁵.

Das 5 cepas isoladas foi realizado o teste de sensibilidade a antibacterianos através do método da difusão de discos impregnados com os antibacterianos (CECON), segundo metodologia descrita¹.

Fezes e urina de 6 mães das crianças afetadas foram colhidas e examinadas através de semeadura direta em meio de ágar PALCAM, (35° C / 24-48 hs) e em caldo de enriquecimento para *Listeria*, LEB⁸, durante 48 hs e até 7 dias, o qual foi então semeado também em ágar PALCAM.

A identificação dos sorotipos foi realizada por Dr. Ernesto Hofer, no Laboratório de Zoonoses Bacterianas/Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz, Rio, RJ.

RESULTADOS

Das culturas de LCR de 5 crianças recém-nascidas foi identificada *L. monocytogenes* através do exame bacterioscópico que evidenciou bacilo Gram-positivo, das características culturais e bioquímicas compatíveis com esta bactéria, pela prova de Anton positiva e ocorrência de turvação típica em forma de guarda-chuva em meio manitol-motilidade a 20-25° C, após 72 hs de incubação (Tabela 1). No meio de cultura PALCAM as colônias crescidas após 48 hs apresentaram aspecto característico de *L. monocytogenes*, ou seja, colônias cinza-esverdeadas com centro rebaixado preto e circundadas por um halo preto, coloração devida à presença de esculina (hidrólise), ferro, manitol e vermelho de fenol no meio de cultura. O CAMP-teste foi positivo para todas as 5 cepas testadas, como pode ser observado em 4 dos resultados que foram fotografados (Fig. 1).

O antibiograma demonstrou que as cepas apresentaram o mesmo perfil de sensibilidade ou resistência a 16 dos 17 antibacterianos testados (Tabela 2).

A identificação dos sorotipos revelou o mesmo sorotipo L4b para as 5 amostras da bactéria.

Das amostras de fezes e urina das mães das crianças nascidas no mesmo local, não houve crescimento característico de *L. monocytogenes* no meio de cultura ágar PALCAM, mesmo após enriquecimento em LEB (48 hs e até 7 dias) e nova semeadura em ágar PALCAM.

TABELA 1

Resultado das provas laboratoriais que caracterizaram as 5 cepas de *L. monocytogenes* isoladas de líquido cefalorraquidiano (LCR) dos recém-nascidos.

Hemólise	Total ou β (beta)
Catalase	Positiva
Oxidase	Negativa
Nitrato redutase	Negativa
CAMP-teste	Positivo
Glicose	Positiva (sem gás)
Sacarose	Negativa ou positiva
Xilose	Negativa
Maltose	Positiva
Salicina	Positiva
Arabinose	Negativa
Dulcita	Negativa
Lactose	Positiva após 7 dias
Manitol	Negativa
Trealose	Positiva
Ramnose	Positiva
Prova de Anton	Positiva
Sorotipo	L4b

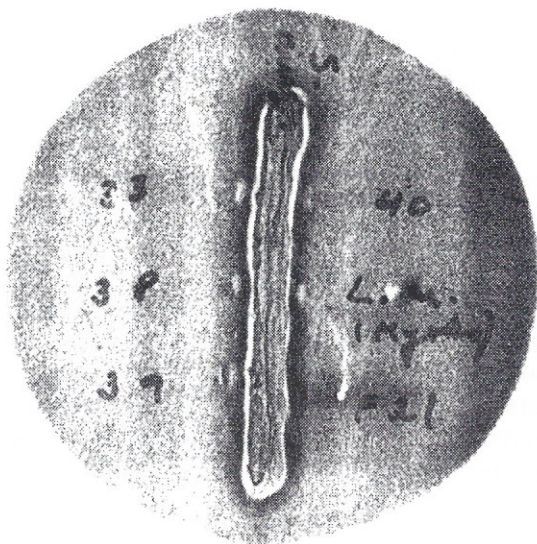


FIGURA I — CAMP-teste em cepas de *Listeria monocytogenes* isoladas de recém-nascidos: numeros 33, 38, 39, 40; cepa padrão — controle positivo (*L. m.* — Miyoko) e cepa F21 — controle negativo.

TABELA 2

Perfil de sensibilidade ou resistência a antibacterianos de 5 cepas de *Listeria monocytogenes* isoladas de líquido cefalorraquidiano dos recém-nascidos.

Antibacterianos	Resultado do teste	Percentual de Resistência
Amicacina (30 mcg)	Resistente	60
Ampicilina (10 mcg)	Resistente	100
Amoxicilina (30 mcg)	Resistente	100
Cefalotina (30 mcg)	Sensível	0
Cefodizima (30 mcg)	Resistente	100
Cefoperazona (75 mcg)	Resistente	100
Cefotaxima (30 mcg)	Resistente	100
Ceftazidima (30 mcg)	Resistente	100
Ceftriaxona (30 mcg)	Resistente	100
Clindamicina (2 mcg)	Resistente	100
Eritromicina (15 mcg)	Sensível	0
Gentamicina (10 mcg)	Sensível	0
Oxacilina (1 mcg)	Resistente	100
Penicilina (10 U.I.)	Resistente	100
Sulfazotrim (25 mcg)	Sensível	0
Tetraciclina (30 mcg)	Sensível	0
Vancomicina (30 mcg)	Sensível	0

DISCUSSÃO

L. monocytogenes, a única espécie do gênero que causa infecção no homem¹¹, tem sido isolada de 42 espécies de mamíferos, 22 espécies de pássaros, peixes, crustáceos e insetos. No entanto, o habitat primário tem sido considerado ser o solo e matéria vegetal em decomposição, no qual ela sobrevive e cresce saprofiticamente.

Quando introduzida em um hospedeiro animal ou humano, ela evolui para produzir fatores de virulência.

O isolamento da bactéria de humanos foi confirmado por Nyfeldt³, em 1929. Casos esporádicos de listeriose tem sido reportados, frequentemente em trabalhadores em contato com animais doentes². Contudo, a associação de *L. monocytogenes* com muitos surtos de origem alimentar sugere que alimentos contaminados possam ser a fonte primária do microrganismo⁵.

Dentre as infecções de maior incidência em recém-nascidos e adultos em faixa etária acima de 60 anos, a meningite por *L. monocytogenes* está relacionada com uma alta mortalidade. Em um estudo desenvolvido por Farber & Peterkin⁵, em 1989, casos de meningite apresentaram 43,8% de letalidade, enquanto outros autores¹² citam um nível de fatalidade de 22%.

Dos 6 casos de recém-nascidos que ocorreram no Centro Obstétrico do mesmo hospital da Grande São Paulo, os intervalos de nascimento chegaram a ser de apenas 10 minutos entre dois deles, e todos eles aconteceram em um período de 14,05 hs, ou seja, das 8,40 hs da manhã às 03,45 hs da madrugada do dia seguinte. Três destas crianças foram a óbito, das quais uma não teve LCR colhido por já ter ocorrido o óbito quando ainda no berçário e sua morte não ter sido investigada e notificada, porém apresentava sintomas semelhantes aos das outras crianças. Foi observado que o óbito ocorreu nas primeiras crianças que apresentaram a sintomatologia característica. Este fato pode ter sido determinado pelo comportamento das cepas frente aos 17 antibacterianos testados, pois todas elas apresentaram resistência a 10 deles (58,8 %), dentre os quais Ampicilina e Ceftriaxona, antibióticos de largo uso atualmente em nosso meio, particularmente na fase inicial das meningites, quando ainda não foi esclarecido o agente etiológico. Convém lembrar que estes dois antibióticos devem ser indicados com cuidado para menores de 30 dias (recém-nascidos) em meningites de etiologia a esclarecer, pois nessa faixa etária a *Listeria* é um dos agentes prováveis. O estudo do perfil de resistência destas cepas demonstrou que elas se apresentaram resistentes a um número bem maior de antibacterianos do que cepas de *L. monocytogenes* isoladas em períodos anteriores⁴. Com o conhecimento dos resultados dos testes de sensibilidade aos antibacterianos das cepas isoladas dos primeiros casos, foi possível um direcionamento adequado no tratamento dos casos que se sucederam, com a seleção dos antibióticos aos quais a bactéria apresentou sensibilidade, e conseqüente não ocorrência de óbitos nestas crianças.

Nas 5 crianças que tiveram LCR puncionado e *L. monocytogenes* identificada, os sintomas compatíveis de meningite surgiram 4 a 10 dias após o nascimento.

Filice e col.⁶, estudando a ocorrência de 7 casos de listeriose, dos quais 6 com meningite e um com septicemia, observaram que os sintomas se iniciaram em um período próximo ao das crianças por nós estudadas, ou seja, entre uma a 4 semanas após o nascimento. Estes autores relatam também que das mães destas crianças foram realizadas culturas de material obtido de faringe, vagina e fezes, com resultados negativos para *L. monocytogenes*.

Farber & Peterkin⁵ citam um estudo desenvolvido para a observação da duração da excreção fecal de *L. monocytogenes* em 12 pessoas, durante um período de 16 meses, das quais 11 excretaram o microrganismo em períodos de um a 6 meses. Também Hofer⁷ estudou a ocorrência de portadores em trabalhadores de frigoríficos e matadouros, através do exame de fezes.

No nosso estudo, examinando-se fezes e urina das 6 mães dos bebês, não foi obtido isolamento da bactéria destas fontes.

Os sorotipos das cepas isoladas do LCR de todas as 5 crianças pertenceram ao mesmo sorotipo, L4b, sorotipo este que em 12 cepas de *L. monocytogenes* isoladas de LCR, no laboratório de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, corresponderam a 83,3% das cepas, cujos pacientes tiveram idades que variaram de 18 dias a 49 anos⁴.

Do estudo desenvolvido, pôde-se observar que, corroborando a citação de outros autores^{5,6} de que a fonte e a via de infecção por *L. monocytogenes* são geralmente desconhecidas, a fonte e via de infecção dos 5 recém-nascidos que desenvolveram uma infecção que evoluiu para meningite não foi esclarecida.

Na conclusão deste estudo, consideramos importante lembrar que bacilos Gram-positivos, principalmente os isolados de sangue e LCR, devem ser corretamente identificados antes de serem desprezados como um possível contaminante inserido no material biológico. Nestes casos o agente etiológico pode ser de múltiplas procedências, e em se tratando de *L. monocytogenes*, como já dito anteriormente, o índice de mortalidade é dos mais elevados dentre as meningites bacterianas. Consideramos que seja possível que a raridade da listeriose em nosso meio se deva mais a problemas de busca do agente etiológico através de técnicas laboratoriais adequadas.

LANDGRAF, I.M.; KOBATA, A.M.M.; JAKABI, M; KIRSCHBAUM, C.R.A. & MARCHI, C.R. — An outbreak of *Listeria monocytogenes* meningitis in neonates. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 58(1): 63-67, 1999.

ABSTRACT : *Listeria monocytogenes*, a Gram-positive, nonsporeforming rod has been isolated from mammals, birds, fish, crustaceans, and insects, being the primary habitats, the soil and decaying vegetable matter. It causes infection in humans and domestic animals. In humans it occurs with the highest incidence in neonates and in individuals older than 60, being meningitis a common manifestation of listeriosis. From five neonates borne at the same Obstetric Center of an hospital in Great São Paulo, *L. monocytogenes* was isolated from cerebrospinal fluid (CSF). All strains belonged to the same serovar, L4b. The resistance to antibacterial agents was tested. The mothers of 6 neonates, one of which died before having the CSF obtained, had stool and urine collected. From these materials the microorganism was not isolated.

DESCRIPTORS : *Listeria monocytogenes*, bacterial meningitis, neonate meningitis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C. & TURCK, M. - Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. clin. Path.*, **45**: 493-496, 1966.
2. CAIN, D.B. & McCANN, V.L. - An unusual case of cutaneous listeriosis. *J. clin. Microbiol.*, **23**:976-977, 1986
3. CARTER, G.R. - *Listeria and Erysipelothrix*. In: Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology, 5th ed., CARTER, G.R. & COLE, Jr, J.R. eds., Califórnia, USA, 1990, p. 254-259.
4. ESPER, M.R.N.R.; PESSÔA, G.V.A.; HOFER, E.; LEE, I.M.L.; MELLES, C.E.A.; SAKATA, E.E. & CALZADA, C.T. - Meningite por *Listeria monocytogenes* em São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **38** (1):37-41, 1978.
5. FARBER, J.M. & PETERKIN, P.I. - *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.*, **55** (3):476-511, 1991.
6. FILICE, G.A.; CANTRELL, H.F.; SMITH, A.B.; HAYES, P.S.; FEELEY, J.C. & FRASER, D.W. - *Listeria monocytogenes* infections in neonates : investigation of an epidemic. *J. Infect. Dis.*, **138**:17-23, 1978.
7. HOFER, E. - Contribuição ao estudo epidemiológico da ocorrência de portadores de *Listeria monocytogenes* entre operários de matadouro e indivíduos com distúrbios entéricos. Rio de Janeiro, 1974. [Tese livre-doc. - Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro]
8. LOVETT, J.; FRANCIS, D.W. & HUNT, J.M. - *Listeria monocytogenes* in raw milk: Detection, incidence, and pathogenicity. *J. Food Prot.*, **50**:188-192, 1987.
9. PARK, S.F. & KROLL, R.G. - Expression of listeriolysin and phosphatidylinositol-specific phospholipase C is repressed by the plant derived molecule cellobiose in *Listeria monocytogenes*. *Mol. Microbiol.*, **8**:653-661, 1993.
10. SMITH, A.R.; LIEBERMAN, B.A.; ALLEN, L. & BARSON, A.J. - Listeriosis and pregnancy. *Lancet* **ii**:1364, 1983.
11. SWAMINATHAN, B., ROCOURT, J. & BILLE, J. - *Listeria*. In: Murray, P.R.; Baron, E.J.; Pfaller, M.A.; Tenover, F.C. & Tenover, R.H. (eds) - *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1995, p. 341-348.
12. WENGER, J.D.; HIGHTOWER, A.W.; FACKLAM, R.R.; GAVENTA, S.G.; BROOME, C.V. & THE BACTERIAL MENINGITIS STUDY GROUP - Bacterial meningitis in the United States, 1986 : report of a multi-state surveillance study. *J. Infect. Dis.*, **162**:1316-1323, 1990.
13. VAN NETTEN, P.; PERALES, I.; MOOSDIJK, A.V.D.; CURTIS, G.D.W. & MOSEL, D.A.A. - Liquid and solid differential media for the detection and enumeration of *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. *Int. J. Food Microbiol.* **8** (4): 299-316, 1989.

Recebido para publicação em 17/06/98

