

MENINGITE POR *LISTERIA MONOCYTOGENES* EM SÃO PAULO, BRASIL *

Maria Regina N. Ramires ESPER **
Gil Vital Álvares PESSÓA **
Ernesto HOFER **
Ilka Maria Landgraf LEE **
Carmo Elias Andrade MELLES **
Elena Emiko SAKATA **
Chifume Takeuchi CALZADA **

RIALAG/454

ESPER, M.R.N.R.; PESSÓA, 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.

RESUMO: Foram relatados 12 casos de meningite por *Listeria monocytogenes* ocorridos de dezembro de 1975 a agosto de 1977. O material proveniente do Hospital Emílio Ribas, São Paulo, foi manipulado de acordo com a rotina da seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz. A bacterioscopia pôde ser realizada em 10 das 12 amostras; em apenas duas oportunidades foi evidenciada a presença de bacilos Gram positivos. O restante dos casos foi negativo pela coloração de Gram, modificado por Hucker. As cepas estudadas comportaram-se como de *L. monocytogenes* pelas provas de identificação, sendo que a sorotipagem feita pelo Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, revelou que 10 amostras pertenciam ao sorotipo L4b e as restantes, ao sorotipo L4a. Foi analisada a resistência destes microrganismos a agentes antimicrobianos.

DESCRITORES: meningite por *Listeria*; *Listeria monocytogenes*; meningite em São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

MURRAY *et alii*¹⁰, em 1926, relataram pela primeira vez *Listeria monocytogenes* numa epizootia em animais de laboratório. Desde então este microrganismo tem sido responsável por uma variedade de quadros clínicos no homem e animais^{3, 4, 12, 20}.

No Brasil, *Listeria monocytogenes* foi isolada pela primeira vez por MACHIAVELLO¹⁶, em 1942, quando pesquisava a prevalência do bacilo da peste em roedores do nordeste;

CARDOSO⁵, em 1955, em necropsia de prematuro de 18 dias, encontrou germes com morfologia de *Listeria* em focos de necropsia de fígado, supra-renais e pulmões.

HOFER¹⁸, em 1974, no Rio de Janeiro, fez uma completa revisão bibliográfica sobre Listeriose, relatando vários casos de isolamento deste microrganismo no homem. Estudou meios seletivos para isolamento da bactéria e ocorrência de portadores, em trabalhadores de frigoríficos e matadouros, pesquisando a presença de *Listeria* nas fezes destes indivíduos.

* Realizado na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, e no Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ.

No Brasil, o primeiro isolamento de *L. monocytogenes* como agente etiológico de meningite foi relatado por SUASSUNA *et alii*²⁴, em 1969, na Guanabara.

Em 1974, TAKEUCHI *et alii*²⁵ estudaram 1.008 amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR), isolando 4 amostras deste microrganismo após crioenriquecimento, a 4°C e 15°C.

O presente trabalho relata o isolamento de 12 cepas de *L. monocytogenes* isoladas na rotina da seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, provenientes do Hospital Emílio Ribas, com suspeita de meningite, em período abrangendo dezembro de 1975 a agosto de 1977.

MATERIAL E MÉTODOS

O material recebido correspondia a amostras de LCR que, na maioria das vezes, já haviam sido semeadas em meios próprios de cultura, como ágar-sangue base Mueller-Hinton, caldo Mueller-Hinton simples e hipertônico (10% de sacarose).

Nos espécimes que não vieram semeados, o LCR foi inoculado imediatamente nos meios supracitados, quando chegados ao laboratório. Dos 12 casos relatados, em 2 oportunidades recebemos somente o material semeado nos meios de cultura, impossibilitando, assim, a feitura do exame bacterioscópico para o qual foi utilizado o método de coloração de Gram, modificado por Hucker²¹.

O aspecto das amostras de LCR variou de ligeiramente turvo a purulento.

Os tubos contendo meio de cultura semeado com o LCR foram incubados a 35-37°C, em atmosfera de CO₂, e umidade (método da vela) por 24-48 horas.

Após o crescimento bacteriano, foi feita nova bacterioscopia. Evidenciados bacilos Gram positivos, procedeu-se à verificação de hemólise em placa de ágar-sangue de carneiro, à pesquisa de motilidade em microscopia de campo escuro e em meio de manitol motilidade¹⁴, tanto a 37°C como a 22°C, seguindo-se outras provas bioquímicas e patogenicidade experimental (prova de Anton)^{5, 12}.

A identificação sorológica foi feita de acordo com o processo descrito por DONKER-VOET⁹.

No teste de sensibilidade a antimicrobianos, foram utilizados discos impregnados com antimicrobianos (Difco), obedecendo à técnica descrita por BAUER *et alii*¹.

RESULTADOS

As 12 cepas de *L. monocytogenes* foram isoladas durante um período em que foram examinadas 6066 amostras de LCR, sendo que em 2.007 foram encontradas outras bactérias.

Foram consideradas *L. monocytogenes* aquelas que, pelo exame bacterioscópico, se apresentaram como bacilo Gram positivo com características culturais, bioquímicas compatíveis com *Listeria*, bem como com a prova de Anton positiva e aspecto típico em forma de *guarda chuva*, no manitol, motilidade a 22°C (tabelas 1 e 2).

A identificação sorológica revelou 2 sorotipos distintos, L4b e L4a, com a predominância do 1.º sorotipo (tabela 3).

O perfil de resistência a antimicrobianos mostrou os resultados apresentados na tabela 4.

TABELA 1

Caracteres morfológicos, culturais e patogenicidade experimental das 12 cepas de Listeria monocytogenes isoladas

Gram	Positiva
Flagelação (campo escuro)	peritriquia
Metabolismo respiratório	aeróbio, anaeróbio facultativo
Hemólise em ágar-sangue de carneiro	total (beta)
Motilidade a 37°C	negativa
Motilidade a 22°C	positiva
Prova de Anton	positiva

TABELA 2

Caracteres bioquímicos das 12 cepas de Listeria monocytogenes isoladas de líquido cefalorraquidiano

Catalase	positiva
Nitrato redutase	negativa
Oxidase	negativa
Urease	negativa
Arabinose	negativa após 30 dias
Dulcita	negativa após 30 dias
Glicose	positiva (sem gás)
Lactose	positiva após 2 dias
Maltose	positiva
Manitol	negativa após 30 dias
Ramnose	positiva
Sacarose	negativa ou positiva *
Salicina	positiva
Trealose	positiva
Xilose	negativa após 30 dias

* 6 cepas negativas; 5 cepas positivas após 10 dias e 1 cepa positiva após 8 dias.

ESPER, M.R.N.R.; PESSÓA, 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.

TABELA 3

Distribuição dos casos de meningite por *L. monocytogenes* de dezembro de 1975 a agosto de 1977 isoladas na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz

Número I.A.L.	Data	Idade	Sexo	Aspecto do L.C.R.	Bacterioscopia	Soro-tipagem
0321	16-12-75	13 anos	F	L.T.	Neg.	L4a
1739	21-04-76	17 anos	M	N.V.L.	—	L4b
1936	08-05-76	14 anos	F	T	Neg.	L4b
2708	18-07-76	18 dias	M	P	Neg.	L4b
2780	24-07-76	73 anos	M	T	Neg.	L4b
3101	19-08-76	28 anos	M	T	B.G.P.	L4b
3395	18-09-76	28 anos	M	N.V.L.	—	L4a
3396	19-09-76	4 anos	F	L.T.	Neg.	L4b
3725	20-10-76	23 anos	F	T	Neg.	L4b
4094	01-12-76	49 anos	M	L.T.	Neg.	L4b
5819	03-07-76	35 anos	M	L.T.	B.G.P.	L4b
6238	31-08-77	5 meses	F	T	Neg.	L4b

L.C.R. = líquido cefalorraquidiano

L.T. = ligeiramente turvo

F = feminino

N.V.L. = não veio líquido

T = turvo

M = masculino

B.G.P. = bacilo Gram positivo

P = purulento

TABELA 4

Sensibilidade aos antimicrobianos de 12 cepas de *Listeria monocytogenes* isoladas no líquido cefalorraquidiano

Caso N.º	Ampicilina 10 µg	Estreptomomicina 10 µg	Cloranfenicol 30 µg	Eritromicina 15 µg	Penicilina 10 U.I.	Colistina 10 µg	Tetraciclina 30 µg	Fosfomicina 50 µg	Cefaloridina 30 µg	Gentamicina 10 µg
321	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S
1739	R	S	S	S	R	R	S	R	S	S
1936	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
2708	R	S	S	S	R	R	S	R	S	S
2780	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
3101	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
3395	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
3396	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
3725	R	S	S	S	R	R	S	R	S	S
4094	R	S	R	S	R	R	S	R	S	S
5819	S	R	S	S	S	R	S	R	S	S
6238	S	R	S	S	R	R	S	R	S	S
Percentual de Resistência	41,6	25	8,3	0	50	100	0	100	0	0

R = resistente

S = sensível

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O isolamento e identificação de *L. monocytogenes* de LCR apresenta grandes dificuldades, principalmente no que diz respeito ao exame bacterioscópico. Morfologicamente esta bactéria pode ser identificada como difteróide e desprezada como contaminante, outras vezes é confundida com pneumococos atípicos ou estreptococos. Outrossim, é facilmente descolorada e, havendo um pequeno excesso de descolorante durante a coloração de Gram, pode-se comportar como bactéria Gram negativa^{5, 22}.

NICHOL *et alii*³⁰ relataram 13 casos de meningite por *L. monocytogenes* dentre os quais em somente 5 oportunidades foram evidenciados bacilos Gram positivos pelo exame bacterioscópico.

Nos 12 casos relatados no presente trabalho, o exame bacterioscópico pôde ser realizado em 10 amostras do material e somente em 2 ocasiões foram evidenciados bacilos Gram positivos; nestes 2 casos, o LCR se apresen-

tava em um, com aspecto ligeiramente turvo, e noutro, turvo.

É interessante assinalar que 10 amostras, correspondendo a 83,3% dos casos, foram isoladas de pacientes pertencentes à faixa etária acima de 10 anos em que raramente é assinalada a presença de *L. monocytogenes* como causa de meningite^{5, 29} (tabela 3).

Também é digno de nota a falta de concordância entre os sorotipos isolados após o crioenriquecimento, onde 3 amostras pertenciam ao sorotipo L1/2a e 1 ao L4/b (TAKEUCHI *et alii*²⁸).

Em relação à distribuição de casos durante as estações do ano, não houve diferença significativa.

No comportamento das cepas em relação aos antimicrobianos testados, verifica-se que apresentam uma resistência total a 2 deles, e percentual relativamente alto de resistência à ampicilina, antibiótico de largo uso atualmente em nosso meio, particularmente na fase inicial das meningites quando ainda não se comprovou o diagnóstico etiológico.

RIALA6/454

ESPER, M.R.N.R.; PESSÓA, G.V.A.; HOFER, E.; LEE, I.M.L.; MELLES, C.E.A.; SAKATA, E.E. & CALZADA, C.T. — Meningitis by *Listeria monocytogenes* in the city of São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38(1):37-41, 1978.

SUMMARY: Twelve cases of meningitis by *Listeria monocytogenes* occurring between December, 1975 and August, 1977 are reported for patients admitted to the infectious diseases hospital "Emílio Ribas", of São Paulo, Brazil. Spinal fluid sediment revealed Gram positive bacilli in 2 out of 10 specimens. Twelve strains of *L. monocytogenes* were isolated and identified and the serotyping (carried out at the Oswaldo Cruz Institute, Rio de Janeiro) showed that 10 strains belonged to serotype L4b and 2 strains to serotype L4a. The resistance to antimicrobial agents was tested.

DESCRIPTORS: meningitis, *Listeria*; *Listeria monocytogenes*; meningitis, São Paulo, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAUER, A.W.; KYRBY, W.M.M.; SHERIS, J.C. & TURCK, M. — Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. clin. Path.*, 45: 493-6, 1966.
2. BINDER, M.A.; DIEHL, C.; WISS, J. & RAY, H. — *Listeria meningitis*. *Ann. intern. Med.*, 38: 1315-9, 1953.
3. BOJSEN-MØLLER, J. — Human listeriosis: diagnostic, epidemiological and clinic studies. *Acta pat. microb. scand.*, Sect. B (suppl.), 229: 1-157, 1972.
4. BUSCH, L.A. — Human listeriosis in the United States, 1967-1969. *J. infect. Dis.*, 123: 328-32, 1971.
5. BUCHNER, L.H. & SCHNEIRSON, S.S. — Clinical and laboratory aspects of *Listeria monocytogenes* infection, with a report of ten cases. *Am. J. Med.*, 45: 904-21, 1968.
6. CARDOSO, R.A.A. — A listeriose como doença humana. *Bol. Inst. Pueric. Univ. Brasil*, 12: 151-65, 1955.
7. CARPENTER, R.R. & PETERSDORF, R.G. — The clinical spectrum of bacterial meningitis. *Am. J. Med.*, 33: 262-75, 1962.

ESPER, M.R.N.R.; PESSÓA, 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.

8. DEDRICK, J.W. — *Listeria meningitis*, a report of eight cases. *Am. J. med. Sci.*, 233: 617-21, 1957.
9. DONKER-VOET, J. — A serological study of some strains of *Listeria monocytogenes* isolated in Michigan. *Am. J. vet. Res.*, 20: 176-9, 1959.
10. GRABER, C.D.; HIGGINS, L.S. & DAVIS, J.S. — Seldom-encountered agents of bacterial meningitis. *J. am. med. Ass.*, 192: 956-60, 1955.
11. GRADWOHL, R.B.H. — *Clinical laboratory methods and diagnosis: a textbook on laboratory procedures and their interpretation*. 7th ed. Edited by Sam Frankel, Stanley Reitman and Alex C. Sonnemwirth. St. Louis, Mosby, 1970.
12. GRAY, M.L. — Epidemiological aspects of Listeriosis. *Am. J. publ. Hlth*, 53: 554-63, 1963.
13. 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]
14. LE MINOR, L. — *Le diagnostique de laboratoire des bacilles a Gram-négatif. I — Les enterobactéries*. 4ème ed. St. Mandé, Seine, La Tourelle, 1972.
15. LENNETTE, E.H., ed. — *Manual of clinical microbiology*. 2nd ed. Washington, D.C., Amer. Soc. Microb., 1974.
16. MACHIAVELLO, A. — Estudio de una cepa de *Listeria monocytogenes* aislada de rata. *Arq. Hig.*, B. Aires 12(3): 99-103, 1942.
17. MACNAIOR, D.R.; WHITE, J.E. & GRAHAM, J.M. — Ampicillin in the treatment of *L. monocytogenes* meningitis. *Lancet*, 1: 16-7, 1968.
18. MAGUIRE, B.J. & RILEY, JR., H.D. — Infections due to *Listeria monocytogenes* in infants and children. *Am. J. med. Sci.*, 254: 421-8, 1967.
19. MURRAY, E.G.F.; WEBB, R.A. & SWANN, M.B.R. — A disease of rabbits characterized by large mononuclear leucocytosis caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes* (n. sp.). *J. Path. Bact.*, 29: 407, 1926.
20. NICHOL, JR., S.W. & WOOLLEY, JR., P.Y. — *Listeria monocytogenes meningitis*. *J. Pediatrics*, 61: 337-50, 1962.
21. PACHECO, C. — Faringite listeriosa. *Hospital (Rio de J.)*, 64: 625-8, 1963.
22. RAY, C.C. & WEDGWOOD, R.J. — Neonatal listeriosis: six cases reports and review of literature. *Pediatrics* (N.Y.), 34: 378-92, 1964.
23. SHELINGER, B. & BECKER, F.P. — *Listeria meningitis*: report of a case. *Pediatrics* (N.Y.), 16: 500-3, 1955.
24. SUASSUNA, I.; SANTOS, L.C.; SUASSUNA, I.R. & PINHEIRO, J. — Listeriose do sistema nervoso no Estado da Guanabara. *Anais Microbiol.*, 16: 161, 1969.
25. TAKEUCHI, C.; PESSOA, G.V.A.; HOFER, E.; MELLES, C.E.A. & RASKIN, M. — Isolamento de *Listeria monocytogenes* de líquido cefalorraquidiano. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 101-7, 1974.
26. WELSHIMER, H.J. & WINGLEWISH, N.G. — Listeriosis — Summary of seven cases of *Listeria meningitidis*. *J. am. med. Ass.*, 171: 1319-23, 1959.
27. WILLIAMS, R. & HORNUNG, J.E. — *Listeria monocytogenes* in human infections. *Am. J. clin. Path.*, 24: 962-4, 1954.
28. WHITTY, C.W.M. & MACAVLAY, J.D. — *Listeria monocytogenes* meningoencephalitis in an adult. *Br. med. J.*, 1: 634, 1965.

Recebido para publicação em 15 de setembro de 1977.

