

MORBILIDADE E MORTALIDADE PERINATAL RELACIONADAS COM A INFEÇÃO NA GESTAÇÃO

Identificação Histológica da Corioamnionite e sua Incidência na população estudada

PAULA BORRALHO, FERNANDO CUNHA, MARGARIDA PINTO,
A. TORRADO DA SILVA, MANUEL MEIRINHO

Serviços de Anatomia Patológica, Patologia Clínica, Pediatria, e de Obstetria.
Hospital Garcia de Orta. Almada

RESUMO

A infecção do embrião e feto é ainda um problema de saúde pública importante e tem sido amplamente aceite como causa de abortamento espontâneo, parto pré-termo, morbidade e mortalidade no recém nascido. A infecção neonatal é actualmente (directa ou indirectamente) a maior causa de morte perinatal nos países considerados desenvolvidos. Por outro lado, muitos estudos apontam para o papel da corioamnionite no desencadeamento do parto pré termo, tornando-se assim a mortalidade e morbidade associadas à prematuridade uma consequência da infecção. Tem-se encontrado uma incidência significativa de corioamnionites nas placentas examinadas no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Garcia de Orta, desconhecendo-se a sua verdadeira prevalência e consequências na população assistida e quais os microorganismos implicados. Assim, pretendeu-se sistematizar o estudo multidisciplinar da infecção na gravidez, partindo de uma colaboração eficaz entre as diferentes valências (clínica, bacteriológica e anatomopatológica). O nosso objectivo foi, numa primeira fase, reavaliar todas as placentas enviadas para exame histológico durante o ano de 1993, correlacionando os aspectos encontrados com a informação clínica disponível. Foram estudadas 280 placentas e destas, 107 casos (38%) apresentavam critérios histológicos de corioamnionite. Encontrou-se uma associação de corioamnionite histológica com feto morto em 33%. Apenas em 13% dos casos houve sinais clínicos de infecção. Os resultados obtidos apontam para a necessidade de um estudo microbiológico adequado para a identificação do agente e de desenvolver sistemas de detecção precoce de infecção intra-uterina, de forma a possibilitar uma terapêutica adequada.

SUMMARY

Perinatal morbidity and mortality related to gestational infection- Histological Identification of chorioamnionitis and its incidence in a studied population

Infection of the embryo and foetus remains a major public health problem. It has been widely accepted as a major cause of spontaneous abortion, premature birth and morbidity and mortality of the newborn. Furthermore, many studies stress the role of chorioamnionitis in the onset of premature labor. We have found a significant incidence of chorioamnionitis in placentas examined in our laboratory, but we do not know the real prevalence of intra amniotic infection and the magnitude of its consequences. Furthermore, there is no data concerning the micro-organisms that can act as pathogens in our patients. The aim of this study was to better define the role of infection in pregnancy in our hospital. As a first approach we studied all the placentas that were sent to the

Histopathology Department during 1993, trying to correlate histological findings with clinical data. We found that 38% of 280 placentas had histological criteria for chorioamnionitis, 33% of which were associated with fetal death. Only 13% of these cases had clinical signs of infection. These facts stress the need for a sensitive and selective method of identifying organisms that act as pathogens in intrauterine infection. It may be possible to prevent some of its complications if an earlier diagnosis and identification of the agent are done.

INTRODUÇÃO

Assiste-se actualmente ao reconhecimento da importância crescente do *síndrome da infecção amniótica* e à tomada de consciência de que se trata de um problema que não se limita apenas a países subdesenvolvidos ou em vias de desenvolvimento. A infecção do embrião e feto é ainda um problema de saúde pública importante, e tem sido amplamente aceite como causa de aborto espontâneo, parto pré-termo e morbidade e mortalidade no recém-nascido.

Têm sido feitos numerosos avanços nas técnicas que permitem um diagnóstico de infecção intrauterina e neonatal. No entanto, sabe-se relativamente pouco sobre os efeitos da infecção na implantação e desenvolvimento do embrião e feto na gravidez precoce. Infecções virais potencialmente teratogénicas podem evoluir sem serem identificadas e um número significativo de corioamnionites não são diagnosticadas, uma vez que apenas numa pequena percentagem de casos há evidência clínica de infecção. A corioamnionite clínica é uma situação que habitualmente corresponde a um estadio avançado do processo. Cerca de 15% das corioamnionites decorre sem rotura de membranas^{23,24}. No entanto, apesar de na maioria dos casos de corioamnionite nem a mãe nem o feto aparentarem doença, a infecção neonatal é actualmente a maior causa de morte perinatal nos países considerados desenvolvidos. As situações de descolamento precoce da placenta, que muitos estudos mostram ter relação com infecção, são por si só responsáveis por cerca de 15% da mortalidade perinatal⁸. Por outro lado, muitos estudos apontam para o papel da corioamnionite no desencadeamento do parto pré-termo, tornando-se assim a mortalidade e morbidade associadas à prematuridade uma consequência da infecção.

Tem-se encontrado uma incidência significativa de infecção durante a gravidez na população assistida pelo Hospital Garcia de Orta. No entanto, desconhece-se qual a sua verdadeira prevalência, quais as suas consequências na população assistida e quais os microorganismos implicados.

Assim, pretendeu-se sistematizar o estudo multidisciplinar da infecção na gravidez, partindo de uma colaboração eficaz entre as diferentes valências (clínica, bacteriológica e anatomopatológica). Foi nosso objectivo numa primeira fase reavaliar todas as placentas enviadas para exame histológico durante o ano de 1993, correlacionando os aspectos encontrados com a informação clínica disponível.

MATERIAL E MÉTODOS

Examinaram-se todas as placentas enviadas para exame anátomo patológico durante o ano de 1993. Os critérios usados para selecção das placentas foram os seguin-

tes: parto pré termo, sinais clínicos de infecção, rotura prematura de membranas, descolamento placentar, patologia materna (hipertensão arterial, diabetes, etc.) e patologia fetal.

As placentas foram enviadas a fresco para o laboratório de Anatomia Patológica imediatamente após a dequitação ou, quando tal não foi possível, conservadas a cerca de 4° C. Foram fixadas em formol tamponado a 10% e, após a fixação, pesadas, medidas e registadas as alterações macroscópicas (enfartes, hematomas, etc.). Seleccionaram-se de cada placenta dois fragmentos do cordão, sendo um deles do topo fetal; um fragmento de membranas colhido em forma de *rolo* e que inclui o local de ruptura; quatro fragmentos de *parênquima* colhidos de forma a observar-se toda a espessura da placenta, incluindo de preferência o centro de um cotilédono. Os fragmentos colhidos foram processados pelas técnicas de rotina habituais e corados pela hematoxilina/eosina.

Os cortes histológicos foram examinados por dois observadores independentes.

O diagnóstico histológico de corioamnionite foi possível sempre que se identificaram polimorfonucleares nas membranas fetais e/ou fibrina subcoriônica (*Fig. 1*). Foi avaliado o grau de actividade do processo inflamatório (ligeiro, moderado ou grave) com base no número e extensão do infiltrado e na presença ou ausência de necrose. Não foi valorizada a presença de polimorfonucleares na decidua basalis.

Foi diagnosticada funisite sempre que se constatou a presença de polimorfonucleares no cordão (na espessura da geleia de Warton e perivasculares, permeando a parede dos vasos).

Foi ainda avaliado e registado o grau de *maturidade* da estrutura vilositária, a presença de edema das vilosidades e de vilite linfocitária, a necrose fibrinoide de vilosidades em número significativo, a presença de hiperplasia dos *nós* de trofoblasto, a existência de enfartes, a existência de lesões de vilite isquémica ou de endovascularite hemorrágica. Quando possível foi pesquisada a existência de vasculopatia materna (definida pela presença de segmentos de artérias espiraladas que não apresentam as alterações adaptativas secundárias à invasão trofoblástica).

RESULTADOS

Foram enviadas ao serviço de Anatomia Patológica 331 placentas. Destas, foram excluídas 51 por se encontrarem mal preservadas ou ainda por informação clínica insuficiente, pelo que foi possível incluir no presente estudo um total de 280 casos.

Os resultados do exame histológico das placentas são resumidos no *Quadro 1*. Observou-se assim na população abrangida um número muito significativo de placen-

Quadro 1 – Exame histológico das placentas

DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO	Nº DE CASOS
"Hiperplasia" do trofoblasto	6 (2%)
Isquemia	52 (18,5%)
Edema das vilosidades	18 (6,4%)
Imaturidade	9 (3,2%)
Vilite inespecífica	9 (3,2%)
Corioamnionite	107 (38%)
Sem alterações	85 (30,3%)

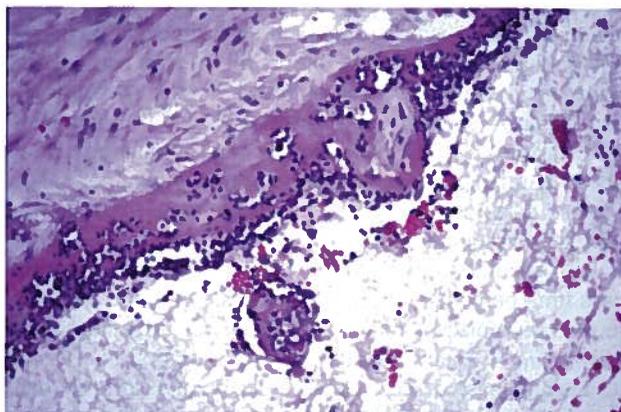


Fig. 1 – Corte da superfície fetal da placenta. Polimorfonucleares na fibrina sub-coriônica (H&E, x200).

tas com os critérios histológicos de corioamnionite, definidos anteriormente (num total de cento e sete casos, correspondendo a 38% dos casos estudados). Encontrou-se uma associação de corioamnionite histológica com feto morto em 33% dos casos e com bolsa de águas rota em 36%. Na figura 2 (gráfico 2) agrupam-se os casos de corioamnionite segundo o tipo de situação clínica encontrada. Apenas em 13% dos casos houve sinais clínicos de infecção (sendo o mais frequente a febre).

A maioria dos casos observados corresponde a gestações do segundo trimestre ou início do terceiro trimestre, anteriores às trinta e sete semanas (fig. 4). Seis casos de corioamnionite corresponderam a situações de parto pré-termo, sem rotura prévia de bolsa de águas e sem suspeita clínica de infecção.

Do ponto de vista histológico, foi possível encontrar uma associação entre corioamnionite e edema das vilosidades em oito casos, vilite linfocitária em três casos e isquemia (sendo interpretados como traduzindo isquemia os enfartes numa percentagem superior a dez por cento do volume placentar, as lesões de vilite isquêmica e de endovasculite hemorrágica) em três casos. Em sete casos identificou-se ainda quantidades significativas de polimorfonucleares infiltrando a geleia de Warton e os vasos do cordão, sempre associados a situações com critérios histológicos de corioamnionite grave.

DISCUSSÃO

A infecção do líquido amniótico continua uma causa major de mortalidade e morbidade neonatal. Cada vez

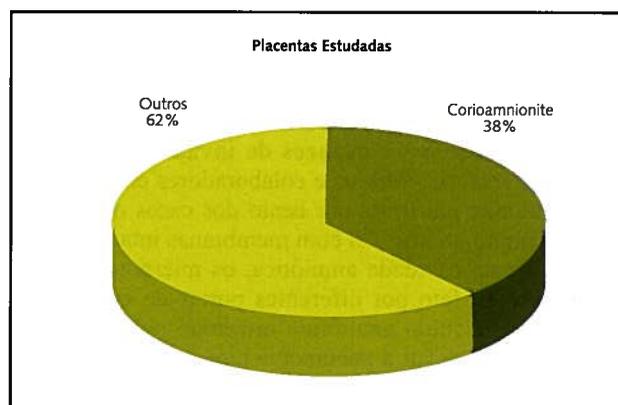


Fig. 2 – Gráfico 1 - Percentagem de casos de corioamnionite encontrados na população estudada.

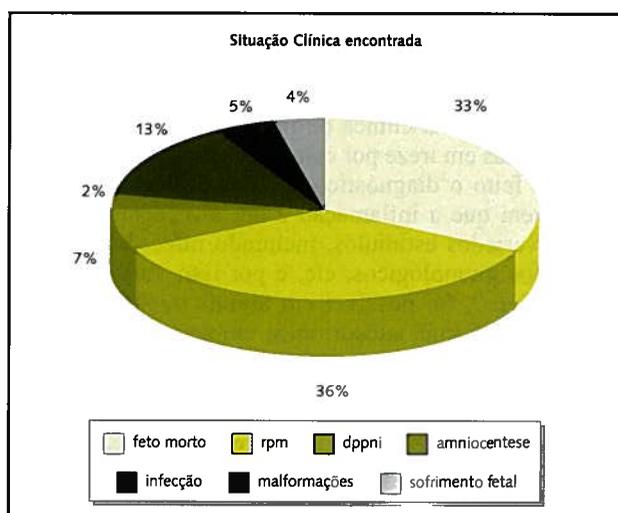


Fig. 3 – Gráfico 2 - Distribuição dos casos de corioamnionite segundo o tipo de situação clínica encontrada.

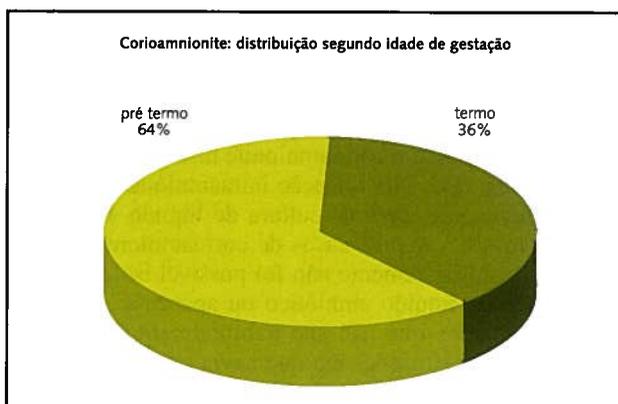


Fig. 4 – Gráfico 3 - Percentagem de casos de corioamnionite em gestações anteriores a 37 semanas.

mais estudos apontam para a importância da corioamnionite no desencadear do parto pré-termo. A associação frequente entre rotura prematura de membranas e corioamnionite levou-nos ao conceito de que os microorganismos, particularmente bactérias, têm capacidade de inva-

direm o líquido amniótico e causarem corioamnionite e sépsis perinatal.

A rotura das membranas não é, no entanto, um pré-requisito para a infecção intra-amniótica. Com efeito, as bactérias parecem ser capazes de invadir membranas totalmente intactas. Perkins e colaboradores encontraram corioamnionite em trinta por cento dos casos de mulheres que entram no hospital com membranas intactas²⁰.

Uma vez na cavidade amniótica, os microorganismos têm acesso ao feto por diferentes portas de entrada. A aspiração de líquido amniótico infectado pelo feto, por exemplo, pode levar a pneumonia e/ou bacteriemia fetal e sepsis.

Até ao momento, não foi ainda descoberto nenhum método que possibilite a prevenção da infecção intra-uterina. No entanto, podem prevenir-se algumas das suas complicações, sendo possível tratar com eficácia uma infecção precocemente diagnosticada^{15,30}. No entanto, continuamos a identificar um número elevado de placentas com critérios histológicos de corioamnionite, em que não existe suspeita clínica de infecção. No presente trabalho, apenas em treze por cento dos casos de corioamnionite foi feito o diagnóstico. Apesar de alguns autores acreditarem que a inflamação é um mecanismo de resposta a variados estímulos, incluindo infecção, trauma, fenómenos imunológicos, etc, e por isso, relativamente inespecífico³⁰, foi possível em alguns trabalhos isolar bactérias da fibrina subcoriônica em setenta e dois por cento das placentas com corioamnionite histológica².

No presente estudo identificou-se, por critérios histológicos, um número de corioamnionites que consideramos muito elevado e que pode de certa forma refletir o baixo nível socio-económico da população assistida no Hospital Garcia de Orta. No entanto, é possível encontrar noutros trabalhos percentagens sobreponíveis, mesmo quando se reportam a países considerados *desenvolvidos*³⁸.

Vários estudos foram projectados com o objectivo de determinar qual o papel dos microorganismos na corioamnionite^{2,11,19} e correlacionar os achados microbiológicos com os dados de histologia. Foram testadas várias técnicas de colheita de líquido amniótico numa tentativa de desenvolver métodos que possibilitem confirmação microbiológica para a corioamnionite histológica^{5,7}. Com efeito, o diagnóstico da infecção intra-amniótica depende, fundamentalmente, de uma cultura de líquido amniótico positiva, mas em muitos casos de corioamnionites comprovadas histologicamente não foi possível isolar microorganismos do líquido amniótico ou apenas se isolaram microorganismos que não são habitualmente patogénicos, mesmo em situações em que havia evidência clínica de infecção. Este objectivo tem sido condicionado pelas limitações e dificuldades de obtenção de técnicas de exame microbiológico adequadas. Os exames microbiológicos de rotina têm-se revelado inúteis para identificar microorganismos em cerca de metade dos casos em que a corioamnionite é diagnosticada por critérios clínicos ou histologicamente^{11,19}. Este insucesso pode ser o resultado de técnicas de colheita e cultura inadequadas para recuperar muitos dos microorganismos que são responsáveis pela infecção intra-uterina (por ex., bactérias anaeróbias,

chlamydia, ureaplasma e mycoplasma). Além disso, o uso de técnicas apropriadas tem sido limitado pelo seu custo elevado.

As técnicas de rotina utilizadas actualmente para detectar os microorganismos que podem ser responsáveis por infecções intrauterinas são, em muitos casos, insuficientes. Assim, na maioria dos centros, são feitos exames microbiológicos de exsudados vaginais ou de líquido amniótico colhido durante o parto, com resultados não significativos numa grande percentagem de casos (por culturas negativas ou contaminação). Não é ainda possível no nosso hospital, por exemplo, identificar bactérias anaeróbias. O mesmo problema de insuficiência de métodos punha-se até há pouco tempo em relação com o *ureaplasma urealyticum* e *mycoplasma*. Todos estes microorganismos podem ser responsáveis por infecções intra-amnióticas. O *mycoplasma* tem capacidade para produzir infecções que se traduzem histologicamente por corioamnionites ou vilites, e o *ureaplasma urealyticum* tem sido associado a recém nascidos com baixo peso. Martin e colaboradores publicaram dados que apontam para uma percentagem de trinta e três por cento de fetos mortos ou mortes neonatais nas mulheres infectadas com *chlamydia*²². Este facto aponta para a relativa ineficácia destas técnicas e necessidade de desenvolver um método simples, sensível e eficaz que possibilite um diagnóstico precoce de infecção intrauterina.

Os resultados obtidos neste trabalho apontam para a necessidade de ser feito um estudo microbiológico adequado, utilizando técnicas que permitam isolar bactérias anaeróbias e micoplasmas, com colheita de tecidos placentares, incidindo particularmente no exame da fibrina sub-coriônica². Com efeito, em todos os casos de corioamnionite diagnosticados por critérios clínicos foi possível identificar um processo inflamatório significativo neste local, enquanto que nem sempre se observaram alterações nas membranas fetais, o que poderá ser o resultado de o infiltrado ter aqui um carácter irregular, não uniforme. Por outro lado, não existe o risco de contaminação, ao contrário do que acontece quando são estudados os exsudados vaginais, líquido amniótico ou membranas fetais no local de rotura.

Não foi ainda possível no nosso hospital sistematizar o exame microbiológico das placentas, dada a reduzida capacidade do departamento de bacteriologia. No entanto, foi já esboçado um protocolo nesse sentido e considera-se fundamental a sua aplicação prática. Com efeito, dos resultados do presente estudo pode concluir-se que a corioamnionite é uma causa muito frequente de mortalidade intra-uterina (trinta e três por cento de casos associados a morte fetal) e de morbidade, particularmente no caso de partos pré-termo. Foi possível estudar de forma mais detalhada vinte e sete casos de parto pré-termo e verificou-se que catorze (cinquenta e um por cento) cursaram com critérios histológicos de corioamnionite.

Pensamos ter conseguido, sensibilizar os profissionais de saúde do nosso hospital para a importância real da infecção intra-uterina na população assistida, revelando qual a prevalência real dos casos de corioamnionite. É ainda nosso objectivo identificar os microorganismos

implicados e alertar para a possibilidade de infecções subclínicas de forma a permitir uma actuação precoce com instituição de terapêutica eficaz, orientada de acordo com o agente e gravidade da infecção.

Todos estes factos apontam para a necessidade de desenvolver sistemas de detecção precoce de infecção intrauterina, com identificação do agente de forma a possibilitar uma terapêutica adequada. Devem ser investidos esforços no desenvolvimento de testes que possibilitem a identificação do microorganismo responsável com resultados rápidos, níveis de sensibilidade e especificidade aceitáveis e custos reduzidos. As técnicas de imunologia e biologia molecular, correlacionadas com a microbiologia e histologia, podem vir a revelar-se um dos caminhos para atingir este objectivo.

BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON JD, THOMAS E E, CIMOLAI N: Infections and the conceptus; in: *Developmental Pathology of the Embryo and Fetus*. James Dimmick, Dagmar Kalousek, 1992, Lippincott Company, Philadelphia
- AQUINO T I et al: Subchorionic fibrin cultures for bacteriologic study of placenta. *Am J Clin Pathol* 1984; 81: 482 - 486
- ARIAS F, RODRIGUEZ L, RAYNE S C, KRAUS F T: Maternal placental vasculopathy and infection: Two distinct subgroups among patients with preterm labor and preterm ruptured membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 585 - 591
- BLANCO J D et al: The association between the absence of amniotic fluid bacterial inhibitory activity and intra-amniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 1982. 143 :749 - 755
- BOBITT J R et al: Amniotic Fluid Analysis. Its Role in Maternal and Neonatal Infection. *Obstetrics and Gynecology* 1978; 51: 56 - 62
- BRADLEY J S, YEGER A S, DYSON D C et al : Neutralization of Herpes Simplex virus by antibody amniotic fluid. *Obstet Gynecol* 1982; 60:318
- BROEKHUIZEN F, GUILMAN M, HAMMILTON P: Amniocentesis for Gram stain and culture in preterm premature rupture of the membranes. *Obstet Gynecol* 1985; 66: 316 - 321
- DARBY M J, et al: Placental abruption in the preterm gestation: an association with chorioamnionitis. *Obstet Gynecol* 1989; 74: 88 - 92
- GERSELL D J et al: Diseases of the placenta, in : Kurman R J, eds. *Blaustein's Pathology of the female genital Tract*. New York: Springer Verlag, 1987; 769-834
- GIBB D, NEWELL M L: HIV infection in children. *Archives of Disease in Childhood* 1992; 67: 138-141
- GIBBS R S, BLANCO J D, ST. CLAIR P, CASTANEDA Y S: Quantitative Bacteriology of Amniotic Fluid from Women with Clinical Intraamniotic Infection at Term. *The Journal of Infectious Diseases* 1982; 7 :1
- HILLIER S L et al: The Relationship of Amniotic Fluid Cytokines and Preterm Delivery, Amniotic Fluid Infection, Histologic Chorioamnionitis and Chorioamnion Infection. *Obstet Gynecol* 1993; 81: 941 - 948
- ILAGAN N B et al: Perinatal and neonatal significance of bacteremia related placental villous edema. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1990; 69: 287 - 290
- LISTWA H M et al: The Predictability of Intrauterine Infection by Analysis of Amniotic Fluid. *Obstetrics and Gynecology* 1976; 48: 31 - 34
- LOCKWOOD C J: Recent advances in elucidating the pathogenesis of preterm delivery, the detection of patients at risk and preventive therapies. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 1994; 6: 7-18
- FOX H: Current Topic: trophoblastic pathology - Villitis. *Placenta* 1991; 12: 479 - 486
- KEELING J W: *Fetal and Neonatal Pathology*. Berlin: Springer-Verlag 1987
- O'SHEA P A: Congenital and Acquired systemic infectious diseases. in : *Pediatric Pathology*, vol I, Thomas Stocker, Louis P. Dehner, 1992, Lippincott Company, Philadelphia
- PANKUCH G A et al: Placental microbiology and histology and the pathogenesis of chorioamnionitis. *Obstet Gynecol* 1984; 64: 802 - 806
- PERKINS et al: Histologic chorioamnionitis in pregnancies of various gestational ages: implications in preterm rupture of membranes. *Obstet Gynecol* 1987, 70: 856 - 860
- POTTER E L : *Pathology of the Fetus and the Infant*. Chicago: Year Book Medical Publishers Inc 1961
- MARTIN D H et al :Prematurity and perinatal mortality in pregnancies complicated by maternal chlamydia trachomatis infections. *JAMA* 1982, 247:1585
- MILLER J M et al: Bacterial colonization of amniotic fluid in the presence of ruptured membranes. *Obstet Gynecol* 1980; 37: 451 - 458
- MILLER J M et al: Bacterial colonization of amniotic fluid from intact fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 136: 796 - 804
- MINKOFF E : Prematurity: Infection as an Etiologic Factor. *Obstet Gynecol* 1983; 62: 137 - 144
- MOLLER M et al: Diagnosis of intrauterine infection by demonstration of antibody-coated bacteria in the amniotic fluid. *British Journal of Obstetrics and Gynecology* 1986; 93: 240 - 244
- NAYE R L: Disorders of the Placenta and Decidua, in : *Disorders of the Placenta, Fetus and Neonates - Diagnostic and Clinical Significance*. Mosby Year Book 1992
- ROBERTSON N J et al: Fetal and placental pathology in two cases of maternal varicella infection. *Pediatric Pathology* 1992; 12: 545-550
- ROMERO R et al: The value and limitations of the Gram stain examination in the diagnosis of intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159: 114-119
- ROMERO R et al: Infectious in the Pathogenesis of Preterm Labor. *Seminars in Perinatology*, 1988; 2: 262 - 279
- SALAFIA C M, VINTZELOS A M: Why all placentas should be examined by a pathologist in 1990. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 70: 175-182
- SINGER D B: Infections of fetus and neonates, in : *Textbook of Fetal and Perinatal Pathology*, vol I. Jonathan S Wigglesworth, Don B Singer. Blackwell Scientific Publications 1991
- SHEN SCHWARZ S, RUCHELLI E, BROWN D: Villous Oedema of the Placenta : A Clinical Pathological Study. *Placenta* 1989; 10: 297-307
- SVENSSON L, INGEMARSSON I, MARDH P: Chorioamnionitis and the Isolation of Microorganisms from the Placenta. *Obstetrics and Gynecology* 1986; 67: 403-409
- THADEPALLI H et al: Antimicrobial Effect of Amniotic Fluid. *Obstetrics Gynecol* 1978; 52: 198 - 204
- VAN ENK R A, THOMPSON K D: Microbiologic Analysis of Amniotic Fluid. *Clinical Microbiology Newsletter* 1990; 12: 22
- YUE DONG et al: A microbiologic study and clinical study of placental inflammation at term. *Obstet Gynecol* 1987; 70: 175-182
- ZHANG J, KRAUS F T, AQUINO T I: Chorioamnionitis: A Comparative Histologic, Bacteriologic and Clinical Study. *International Journal of Gynecological Pathology* 1985; 4: 1-10