



RELATO DE CASO

Pancitopenia transitória induzida por parvovírus B19 em criança portadora de esferocitose hereditária

Transient pancytopenia induced by parvovirus B19 in a child with hereditary spherocytosis

Elvis T. Valera¹, Rosana Cicolotti², José E. Bernardes³, Rodolfo C. Pacagnella⁴,
Danielle M. Lima⁵, Luís G. Tone⁶, Benedito A.L. Fonseca⁷

Resumo

Objetivo: Relatar a ocorrência de pancitopenia transitória, decorrente de infecção pelo parvovírus B19, em um paciente portador de anemia hemolítica hereditária e comentar a importância do diagnóstico desta infecção.

Métodos: Relato de caso clínico acompanhado pelos autores, diagnosticado sorologicamente e pelo método da reação em cadeia da polimerase (PCR), e revisão da literatura.

Resultados: Menino de 12 anos, portador de esferocitose hereditária, apresentando quadro infeccioso inespecífico seguido de pancitopenia grave, transitória, com diagnóstico de infecção por parvovírus B19.

Conclusões: O diagnóstico da infecção por parvovírus B19 é de particular importância em hematologia, principalmente quando estão presentes algumas condições mórbidas, entre elas as anemias hemolíticas hereditárias, sendo o método de PCR útil por permitir rapidez e boa sensibilidade no diagnóstico específico desta patologia.

J. pediatr. (Rio J.). 2000; 76(4): 323-326: pancitopenia, crise aplástica, anemias hemolíticas, esferocitose hereditária, parvovírus B19.

Introdução

Os parvovírus são os menores DNA-vírus conhecidos capazes de infectar células de mamíferos. O parvovírus B19

Abstract

Objective: To describe the occurrence of transient pancytopenia induced by parvovirus B19 infection in a patient with hereditary hemolytic anemia and to discuss the importance of the diagnosis of this pathology.

Methods: Case report of a child whose diagnosis was made by polymerase chain reaction (PCR) and serology, and review of the literature.

Clinical report: A twelve year-old male patient with hereditary spherocytosis, presenting non-specific symptoms of an infectious syndrome followed by severe and transient pancytopenia, whose diagnosis was a parvovirus B19 infection.

Conclusion: The diagnosis of parvovirus infection has a particular importance in hematology, especially on some morbid conditions, among them the hereditary hemolytic anemias. PCR is useful because of its rapidness and sensitivity on the specific diagnosis of this disease.

J. pediatr. (Rio J.). 2000; 76(4): 323-326: pancytopenia, aplastic crisis, hemolytic anemias, hereditary spherocytosis, parvovirus B19

é um vírus encapsulado com um genoma DNA de fita simples que pertence à família Parvoviridae, tendo sido descoberto casualmente¹ durante o rastreamento de infecção pelo vírus da hepatite B em doadores de sangue. Existem parvovírus causadores de doença em outros animais, porém o parvovírus B19 é o único que, com certeza, causa doença em humanos.

O parvovírus B19 está associado a diversas síndromes clínicas, variando desde infecções assintomáticas até doença crônica, esta prevalente em pacientes imunocomprometidos. Nas crianças normais, o parvovírus B19 pode provocar doença exantemática de evolução benigna denominada "eritema infeccioso" ou "quinta moléstia". Nos adultos saudáveis provocam uma "síndrome poliartálgica" que também usualmente resolve-se sem sequelas². Há também raros relatos de encefalite³, abdome agudo não cirúrgico⁴ e

1. Médico Residente - Hemato-Oncologia Pediátrica - Depto. de Puericultura e Pediatria do HCFMRP-USP.
2. Pós-graduanda (doutorado) - Hemato-Oncologia Pediátrica- Depto. de Puericultura e Pediatria do HCFMRP-USP.
3. Médico Assistente - Serviço de Hemato-Oncologia Pediátrica- Depto. de Puericultura e Pediatria do HCFMRP-USP.
4. Acadêmico da Faculdade de Medicina - Bolsista COSEAS-USP - Laboratório de Virologia Molecular - FMRP-USP - Ribeirão Preto.
5. Biomédica - Bolsista de apoio técnico - Laboratório de Virologia Molecular - Depto. de Clínica Médica do HCFMRP-USP.
6. Professor Assistente Doutor - Depto. de Puericultura e Pediatria do HCFMRP-USP.
7. Professor Doutor - Laboratório de Virologia Molecular - Depto. de Clínica Médica do HCFMRP-USP.
Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - HCFMRP-USP.

síndrome hematófagocítica⁵. Deve-se prestar particular atenção nas infecções intrauterinas por parvovírus B19, pois estas podem levar à hidropsia e morte fetal, sendo responsáveis por cerca de 16 % dos casos de hidropsia fetal não imune⁶. Em pacientes portadores de hemoglobinopatias, como doença falciforme e talassemias, ou defeitos da membrana eritrocitária, como na esferocitose hereditária, a parvovirose aguda pode desencadear crises aplásticas^{2,7-11}. A associação entre infecções por parvovírus B19 e HIV-1, produzindo aplasia pura de glóbulos vermelhos, também já foi descrita¹². Anemia crônica pode se desenvolver em crianças que sobrevivem a quadros de hidropsia fetal causada pelo parvovírus B19, embora, na maior parte dos casos, a recuperação aconteça sem seqüelas.

Os autores relatam um caso de uma criança portadora de esferocitose hereditária com crise hemolítica precedendo crise aplástica, resultado da infecção aguda pelo parvovírus B19. A importância dos métodos diagnósticos para esta infecção nos pacientes com anemia hemolítica é discutida, salientando a necessidade de implementação de métodos rápidos para este diagnóstico, visando, além da instituição precoce da terapêutica, o diagnóstico específico da infecção pelo parvovírus B19. Em pacientes imunocompetentes, a terapêutica das crises aplásticas transitórias pode ser feita adequadamente com transfusões sanguíneas e medidas de suporte. Entretanto, em casos de infecções persistentes, o uso de imunoglobulina hiperimune pode ser benéfico.

Métodos e Resultados

Trata-se de um paciente do sexo masculino, de 12 anos, que é acompanhado no Ambulatório de Hematologia Pediátrica do HCFMRP-USP desde os 4 anos por esferocitose hereditária. Este deu entrada na Unidade de Emergência do HCFMRP-USP com icterícia, febre, palidez, dor abdominal e vômitos havia 2 dias, apresentando fígado e baço a 4 cm dos rebordos costais como única alteração do exame físico. À admissão os exames laboratoriais eram: Hemoglobina: 7,9 g/dl; Hematócrito: 23%; Glóbulos brancos: 10.500/ml (segmentados 40%; linfócitos 54%; monócitos 6%); Plaquetas: 100.000/ml; Reticulócitos: 12%; Bilirrubinas totais: 5,2 mg/dl, com 0,5 mg/dl de bilirrubina direta. Permaneceu em observação, com hipótese diagnóstica de crise hemolítica secundária a quadro infeccioso inespecífico.

Evoluiu em dois dias com piora da palidez e sinais de descompensação cardíocirculatória, sem aumento das dimensões do baço. Os exames laboratoriais eram: Hemoglobina: 3,3 g/dl; Hematócrito: 9%; Glóbulos brancos: 3.000/ml (bastonetes 2%; segmentados 50%, linfócitos 47%; monócitos 1%); Plaquetas: 96000/ml; Reticulócitos: 0,9%. Neste dia já era evidente a crise aplástica manifesta pela anemia grave e a baixa contagem de reticulócitos, bem como a queda no número de leucócitos e plaquetas. A criança foi então transfundida com concentrado de glóbulos

vermelhos, e evoluiu com melhora clínica e recuperação hematológica em 11 dias. Na alta, no décimo sexto dia de internação hospitalar, apresentava Hemoglobina: 8,2 g/dl; Hematócrito: 24%; Glóbulos brancos: 6.700/dl; Plaquetas: 186.000/dl e Reticulócitos de 15%.

Durante a investigação da etiologia do quadro infeccioso, foi solicitada a pesquisa de parvovírus B19 por sorologia, cujo resultado foi claramente positivo para IgM e negativo para IgG. O método sorológico utilizado no diagnóstico deste caso foi o ELISA (ensaio imunoenzimático comercializado pela Biotrin Internacional, Dublin, Irlanda). Este kit faz a detecção de anticorpos IgM por teste de captura em que os anticorpos IgM presentes no soro são capturados por um anticorpo anti-IgM preparado em coelhos. O resultado final da detecção de anticorpos para o parvovírus B19 é revelado pela adição do substrato TMB e leitura da densidade ótica dos soros testados e controles positivos e negativos, que são usados no cálculo do cut-off. Quando a relação densidade ótica do soro pelo cut-off for maior do que 1, o soro testado é positivo. A pesquisa de anticorpos IgG é realizada de maneira semelhante, porém sem a fase de captura de anticorpos.

Este resultado foi confirmado por PCR em células de aspirado de medula óssea, exames estes realizados no Laboratório de Virologia Molecular da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP. A PCR foi realizada de acordo com o método padronizado por Patou et al.¹³, onde as amostras foram processadas para extração de DNA usando-se o kit QIAamp Blood Kit (QIAGEN, Santa Monica, CA) e, após amplificação, as bandas de DNA foram separadas em gel de agarose e coradas com brometo de etídeo. A amplificação do material deste paciente resultou na amplificação de uma banda de 1112 pares de base (pb), que aparece muito fraca nos géis de agarose (Figura 1A), e que foi confirmada por um nested PCR onde se amplificou uma banda de 104 pb (Figura 1B; 13).

Discussão

O parvovírus B19 apresenta tropismo pelas células progenitoras eritróides, incluindo as unidades formadoras de colônias, iniciando a infecção através da ligação do capsídeo com os antígenos P das células da linhagem vermelha. O vírus depende dessas células em divisão ativa para sua replicação, atingindo preferencialmente os proeritroblastos, com efeito citotóxico¹¹.

Nos hospedeiros imunocompetentes sem patologia hematológica, a infecção é fugaz. Nas crianças ela pode apresentar-se como uma síndrome exantemática caracterizada por um pródrômo que consiste de febre baixa, mal estar, dor de garganta e mialgias, que se resolve espontaneamente. Alguns dias depois, quando estes sintomas iniciais estão em resolução, surge eritema facial intenso, circunscrito, assumindo a aparência de face esbofetada que, após alguns dias, dissemina-se para tronco e membros.

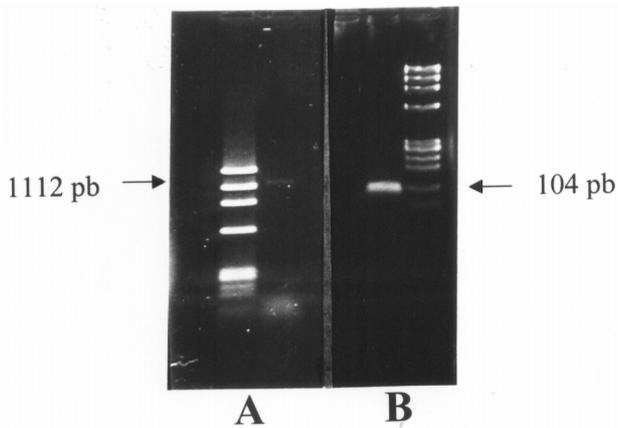


Figura 1- A. Eletroforese em gel de agarose a 1% mostrando a banda de DNA de 1.112 pares de base (pb) resultado da primeira fase de amplificação do material do paciente descrito. O marcador de peso molecular apresentado nesta figura é o ϕ X174 DNA/Hae III marker onde as duas primeiras bandas, que ladeiam a banda de DNA do parvovírus B19, possuem os seguintes pesos moleculares: 1.353 e 1.078 pb.
B. Eletroforese em gel de agarose mostrando a amplificação da banda característica da "nested PCR" para parvovírus B19. O marcador de peso molecular é o 100bp DNA ladder onde a banda de DNA próxima do "amplicon" tem 100 pb

A infecção por parvovírus B19 adquire importância quando acomete portadores de patologias hematológicas hereditárias, como doença falciforme, talassemias e esferocitose hereditária, pelo risco de desencadear crise aplástica² e nos pacientes portadores do HIV, por possibilitar a ocorrência de aplasia eritrocitária pura crônica¹². Naqueles que, apesar de imunocompetentes, são portadores de patologia hereditária de glóbulos vermelhos, a evolução pode ser para anemia aplástica severa, porém reversível. Embora a aplasia transitória é, geralmente, auto-limitada, os pacientes podem apresentar-se extremamente debilitados e evoluir para o óbito.

Nos hospedeiros imunocomprometidos, como nos portadores do HIV e naqueles recebendo quimioterapia, a infecção é persistente, resultando em anemia crônica. Ocasionalmente, todas as séries hematopoiéticas podem ser acretadas, e os pacientes podem apresentar diferentes graus de neutropenia e plaquetopenia. Ainda que não completamente esclarecida, a causa da neutropenia e trombocitopenia parece ser a hemofagocitose¹⁴.

O paciente descrito neste relato de caso corresponde bem ao quadro clássico de crises transitórias de anemia aplástica causadas pelo parvovírus B19. Após um quadro de mal estar inespecífico e febre alta, a criança apresentou anemia severa, plaquetopenia e granulocitopenia. A conta-

gem de reticulócitos foi baixa, o que corrobora a hipótese de pancitopenia por falência medular. É importante ressaltar a presença de sinais de descompensação cardíaca nesta criança, evidenciando a gravidade da crise aplástica. No tratamento deste paciente foi necessária a transfusão de concentrado de glóbulos vermelhos, tal a intensidade da crise aplástica apresentada pelo paciente. A recuperação hematológica deu-se ao redor de dezesseis dias, com aumento de reticulócitos e normalização das séries sanguíneas. O tratamento foi instituído prontamente já, que em casos semelhantes a este e sem etiologia, o tratamento é feito através de transfusões de concentrado de hemácias. Entretanto, a maioria das crises aplásticas adquiridas na comunidade são devidas ao parvovírus B19 e, em casos mais graves e com a etiologia determinada, a imunoglobulina hiperimune poderia ser associada ao tratamento. Outra importância em definir a etiologia desta patologia baseia-se no fato de que a crise aplástica transitória causada pelo parvovírus B19 é um evento único na vida do paciente, pois a imunidade adquirida é duradoura.

O método diagnóstico disponível mais sensível e precoce é a identificação do DNA viral em células de aspirado de medula óssea ou sangue por técnicas de PCR ou hibridização, embora anticorpos IgM sejam detectados após o terceiro dia, atingindo o seu pico em torno da segunda semana após a infecção. O aparecimento dos anticorpos IgG é posterior ao IgM, permanecendo por toda a vida do indivíduo.

Neste paciente, a sorologia foi realizada no décimo dia da doença, e o resultado foi claramente positivo, confirmando a suspeita clínica. Ao mesmo tempo, o exame de PCR foi positivo em aspirado de medula óssea, porém este diagnóstico pode também ser realizado em amostras de sangue colhidas na fase aguda da doença. A amplificação do parvovírus B19 em amostras de soro é mais difícil devido à curta duração, em torno de 2 a 3 dias, da viremia.

O paciente evoluiu com recuperação completa do quadro de pancitopenia, conforme esperado nos casos de infecção por parvovírus B19 em indivíduo portador de anemia hemolítica, porém sem comprometimento da função imune. Em casos de aplasia severa prolongada, ou nos pacientes com imunodeficiência e anemia persistente, como discutido acima, recomenda-se a infusão de imunoglobulina intravenosa durante 5 a 10 dias, podendo ser necessário mais de um curso.

A infecção por parvovírus B19, que ocorre de forma assintomática em mais de 50% dos adultos e crianças normais, associa-se, entre outras condições, ao desencadear de crises aplásticas de morbidade variável entre os portadores de hemopatias crônicas. O diagnóstico precoce através de método sensível permite a previsão das complicações e o emprego da terapêutica adequada. Além disso, exclui este diagnóstico em outras crises aplásticas apresentadas por um paciente que já teve diagnóstico de infecção pelo parvovírus B19. O uso da biologia molecular nas infecções por parvovírus B19 tem auxiliado no diagnós-

tico precoce destas infecções, bem como aberto caminho para o desenvolvimento de uma vacina específica, altamente desejável para estes pacientes de risco.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto pelo suporte financeiro à pesquisa inicial que deu origem à padronização da técnica de PCR (Guichê N.º. 384/97; Processo N.º. 1484/97), à FAPESP pela bolsa de aperfeiçoamento técnico concedida a Danielle Malta Lima (Processo N.º. 98/12013-8), e ao Coseas-USP pela Bolsa-Trabalho concedida a Rodolfo C. Pacagnella (Processo N.º. 0223/98).

Referências bibliográficas

1. Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdows D. Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet* 1975; 1:72-3.
2. Young N. Hematologic and hematopoietic consequences of B19 Parvovirus infection. *Semin Hematol* 1988; 25:159-72.
3. Watanabe T, Satoh M, Oda Y. Human Parvovirus B19 encephalopathy [letter]. *Arch Dis Child* 1994;70:71.
4. Morinet F, Monsuez J, Roger P, Perol Y. Parvovirus B19 associated with pseudobappendicitis. *Lancet* 1987; 2:1466.
5. Ware R. Human Parvovirus infection. *J Pediatr* 1989; 114:343-51.
6. Essary LR, Vnencak-Jones CL, Manning SS, Olson SJ, Johnson JE. Frequency of Parvovirus B19 infection in nonimmune hydrops fetalis and utility of three diagnostic methods. *Hum Pathol* 1998; 29: 696-701.
7. Serjeant GR, Topley JM, Mason K, Serjeant BE, Pattison JR, Jones SE, et al. Outbreak of aplastic crises in sickle cell anaemia associated with parvovirus-like agent. *Lancet* 1981; 19:595-97.
8. Uike N, Miyamura T, Obama K., Takahira H., Sato H, Kozuro M. Parvovirus B19-associated hemophagocytosis in Evans syndrome: aplastic crisis accompanied by severe thrombocytopenia. *Br J Haematol* 1993; 84:530-2.
9. Anderson MJ. Role of parvovirus in human disease. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6:711-18.
10. Lowenthal EA, Wells A, Emanuel PD, Player R, Prchal JT. *Am J Hematology* 1996; 51:207-13.
11. Brown KE, Young NS. Parvovirus B19 in human disease. *Annu Rev Med* 1997; 48:59-67.
12. Frickhofen N, Abkowitz JL, Safford M, Berry M, Mayolo JÁ, Astrow A et al. Persistent B19 Parvovirus infection in patients infected with Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1): a treatable cause of anemia in AIDS. *Ann Int Med* 1990; 113: 926-33.
13. Patou G, Pillay D, Myint S, and Pattison J. Characterization of a nested polymerase chain reaction assay for detection of parvovirus B19. *J Clin Microbiol* 1993; 31:540-6.
14. Muir K, Todd WTA, Watson WH. Viral-associated hemophagocytosis with parvovirus-B19-related pancytopenia. *Lancet* 1992; 339:1139.

Endereço para correspondência:

Dr. Benedito A.L. Fonseca
Departamento de Clínica Médica
Av. dos Bandeirantes, 3900
14049-900 - Ribeirão Preto - SP