

ENCEFALITE NEO-NATAL PELO VÍRUS DO HERPES SIMPLEX DIAGNÓSTICO IMUNO-HISTOQUÍMICO DE UM CASO

ISABEL LAMEGO*, CARLOS BRINCKMANN*, ALDO CIANCIO**, RENAN MINOTTO **,
ARLETE HILBIG ***, JANE MARIA ULBRICH-KULCZYNSKI ****,
MARIA HELENA FONTANA *****, LÍGIA MARIA BARBOSA-COUTINHO *****

RESUMO — Os autores relatam o caso de recém-nascido do sexo feminino com crises convulsivas e lesões vesiculosas no nariz e lábio inferior, desde o quinto dia de vida. O exame do LCR mostrou alterações compatíveis a encefalite. Houve deterioração do quadro neurológico e respiratório, com morte da paciente. A autópsia parcial do crânio revelou cérebro edemaciado com área necro-hemorrágica envolvendo ambos os lobos temporais. O exame histopatológico revelou encefalite necro-hemorrágica, sem a presença de inclusões intranucleares. O exame imuno-histoquímico, realizado pela técnica da avidina-biotina-peroxidase utilizando anticorpos policlonais contra vírus Herpes simplex tipo 1 e tipo 2, mostrou-se positivo em numerosas células neuronais, astrocíticas e, principalmente, oligodendrogliais para o anticorpo contra o vírus Herpes simplex tipo 2.

PALAVRAS-CHAVE: encefalite, Herpes simplex virus, imuno-histoquímica.

Neonatal encephalitis by Herpes simplex: immunohistochemical diagnosis of a case.

SUMMARY — The authors report the case of a female newborn infant, who had seizures and vesicles at the nose and inferior lip since the fifth day of life. CSF changes suggested an encephalitis. Signs of neurologic and respiratory deterioration were followed by death. Partial cranial autopsy showed a necrohemorrhagic temporal encephalitis without intranuclear inclusions. Immunohistochemical examination by the avidin-biotin-peroxidase technique with polyclonal antibodies against Herpes simplex type 1 and type 2 was positive to type 2 Herpes simplex virus.

KEY WORDS: encephalitis, Herpes simplex virus, immunohistochemistry.

A encefalite pelo vírus do Herpes simplex (HSV) é difícil de ser diagnosticada clinicamente e os achados de eletroencefalografia⁵ e de tomografia computadorizada^{6,7} podem ser normais nos estágios precoces da doença. Mesmo as anormalidades observadas nesses exames não são específicas da encefalite pelo HSV. Assim, Whitley e col.¹⁹, ao estudarem através de biópsia cerebral 432 casos de pacientes com suspeita clínica de HSV, observaram que 55% não correspondiam às lesões de encefalite pelo HSV. Desses casos, 16% apresentavam outras lesões que eram tratáveis. Consequentemente, se a terapêutica específica para a HSV for instituída, baseada no diagnóstico clínico, deve-se continuar a investi-

Estudo realizado no Departamento de Patologia da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA) com auxílio do CNPq (Processo 403129/90-7); * Bolsista de Iniciação Científica do CNPq (Processo 806094/89-3); ** Bolsista da FAPERGS (Processo 90.1970.0); *** Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Medicina (Clínica Médica) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); **** Patologista do Hospital da Criança Santo Antonio (HCSA); ***** Neuropediatra do HCSA; ***** Professora Titular de Anatomia Patológica da FFFCMPA, Neuropatologista, Pesquisadora do CNPq. Aceite: 24-novembro-1992.

Dra. Lígia M. Barbosa Coutinho — Rua Carvalho Monteiro 414 - 90470-100 Porto Alegre RS Brasil.

gação no sentido de evidenciar outra doença também tratável, embora com drogas diferentes, e, assim, evitar a continuação de terapêutica desnecessária ⁶.

O presente estudo tem a finalidade de analisar um dos diversos meios disponíveis para confirmar o diagnóstico de HSV, a imuno-histoquímica.

RELATO DO CASO

TGM, paciente do sexo feminino, com 15 dias de vida, internada no Hospital da Criança Santo Antonio (HCSA) da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre com crises convulsivas focais no membro superior esquerdo (E), febre, anorexia e lesões vesiculosas no nariz e lábio inferior, desde o quinto dia de vida. Exame físico: paciente torporosa, com fontanelas normotensas, sem sinais de irritação meníngea, fígado palpável a 2cm da reborda costal, temperatura axilar 36,8°C, frequência respiratória 88rpm e frequência cardíaca 184bpm. Exame do líquido cefalorraquidiano (LCR): 108 células/mm³, com predomínio de linfócitos; proteínas de 127 mg/dl; glicose de 70 mg/dl; cloro 101 mEq/l. Evolução: transferida para a UTI, por piora do quadro respiratório e neurológico, com sinais sugestivos de edema cerebral e crises convulsivas tipo grande mal; após o terceiro dia na UTI, ocorreu parada cardíaca, que foi revertida; a paciente permaneceu com arritmia cardíaca e faleceu duas horas após. Terapêutica: foi medicada com tionembatal, oxacilina, gentamicina, aminofilina, hidantal, gádenal, manitol, vidarabina (no 11º dia de vida) e dopamina; oxigênio-terapia.

Achados da autópsia parcial de crânio (A 275/84): cérebro aumentado de volume (peso 600g), com hérnia temporal total à E; áreas de aspecto necro-hemorrágico nos lobos temporais bilateralmente (Fig. 1). O exame histopatológico mostrou processo inflamatório, com focos de necrose, hemorragia e numerosos histiócitos. Não se observou presença de inclusões intranucleares características da encefalite pelo HSV. Exame imuno-histoquímico: realizado pela técnica da avidina biotina peroxidase, utilizando anticorpos policlonais contra Herpes simplex tipo 1 e tipo 2 (Dako Co., na concentração de 1:100), demonstrou positividade evidente nos núcleos das células nervosas e oligodendrócitos ao anticorpo contra o HSV tipo 2 (Fig. 2), e reação positiva para o tipo 1 em apenas algumas células oligodendrogliais.

COMENTARIOS

A encefalite herpética pode comprometer adultos imunodeprimidos ^{11,17} e recém-nascidos, nestes sendo doença rapidamente progressiva ¹⁴. Geralmente o agente causador, em neo-natos, é o HSV tipo 2 ⁴. Aproximadamente 50% das infecções neonatais pelo HSV apresentam envolvimento encefálico. A contaminação do feto ocorre com maior frequência durante a passagem pelo canal do parto, em mães com herpes genital. Outras formas de contaminação menos comuns são a intra-útero e a pós-natal. Existem três formas de infecção por HSV em neo-natos: infecção da pele, olhos e boca; encefalite; e infecção disseminada. Aproximadamente 50% das infecções pelo HSV apresentam envolvimento encefálico ²⁰.

O exame histopatológico do tecido nervoso de pacientes com encefalite pelo HSV demonstra as características seguintes: (1) as lesões não são uniformes em gravidade e distribuição, e o grau de necrose é variável de caso a caso; (2) pode-se encontrar presença de inclusões intranucleares do tipo A de Cowdry em neurônios, astrócitos e oligodendrócitos; (3) distribuição assimétrica das lesões, embora haja comprometimento difuso ⁶, com predileção pelos lobos temporais ², pela porção orbitária do lobo frontal e pelas estruturas pertencentes ao sistema límbico. Entretanto, em neo-natos, a localização temporal é incomum, sendo a necrose cerebral mais disseminada ^{2,6}. A extensa destruição do parênquima cerebral pode resultar em encefalomalácia e calcificação.

No paciente estudado, observou-se extensa necrose em ambos os lobos temporais, com o característico aspecto hemorrágico. O estudo histopatológico não demonstrou a presença dos corpúsculos de inclusão intranuclear típicos nas células nervosas e na glia. Esses corpúsculos foram demonstrados pela primeira vez no cérebro de neonatos com encefalite e sua etiologia viral foi comprovada posteriormente ¹³.

Os sintomas aparecem na primeira semana de vida ⁹, podem estar presentes ao nascimento ou, ainda, surgir mais tardiamente. As lesões de pele são

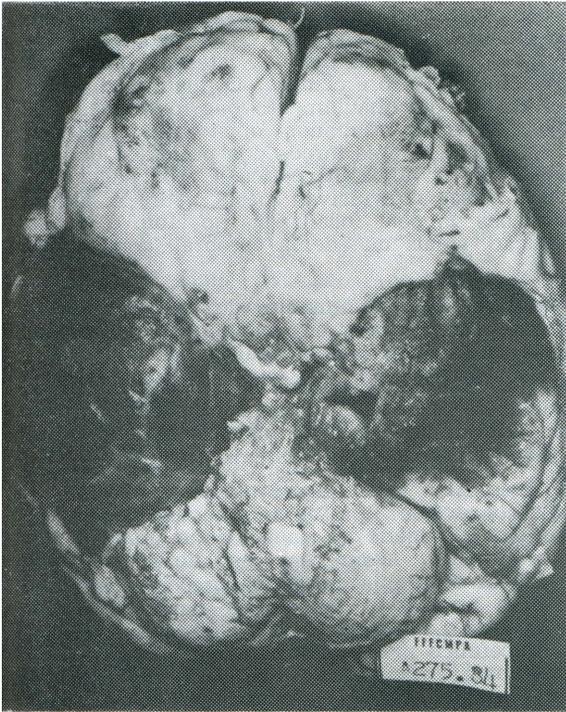


Fig. 1. Caso TGM. Encéfalo edemaciado, com áreas necro-hemorragicas comprometendo ambos os polos temporais.

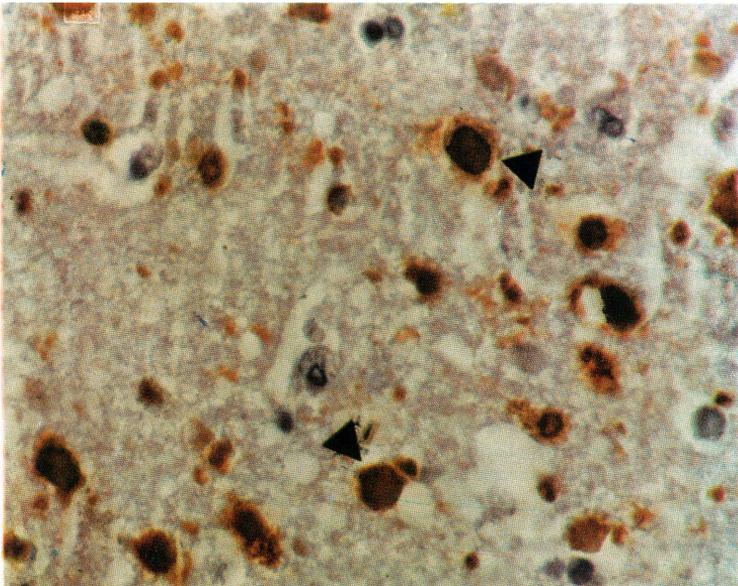


Fig. 2. Caso TGM. Positividade à técnica imuno-histoquímica para o HSV tipo 2 nos núcleos de oligodendróctos (setas) e, menos marcadamente, também no citoplasma (Objetiva 40X).

encontradas em 80 a 90% dos recém-nascidos², podendo surgir no início ou no decurso da doença. Outras manifestações clínicas podem estar associadas, como letargia, febre ou hipotermia, vômitos e recusa alimentar, icterícia, «rash» purpúrico, crises de apnéia, desconforto respiratório e cianose. O quadro neurológico inclui aumento da pressão intracraniana com abaulamento das fontanelas, crises focais ou generalizadas, paralisias de nervos cranianos: opistótono e paralisias flácidas e espásticas. Convulsões ocorrem em dois terços dos pacientes que apresentam encefalite comprovadamente de etiologia herpética²⁰. Na paciente em estudo, a doença manifestou-se por crises convulsivas focais, febre e anorexia, tendo aparecido precocemente as lesões da pele, localizadas no lábio e no nariz. Esta paciente apresentou, na evolução, sinais de edema cerebral, com aumento da pressão intracraniana.

O exame do LCR desses pacientes mostra aumento da concentração protéica e pleocitose, sendo esta última mais elevada em pacientes com encefalite pelo HSV do que naquelas doenças que mimetizam encefalite herpética²⁰.

O tratamento da encefalite pelo HSV com adenina-arabinosídeo ou vidarabina^{11,18} e a cicloguanosina ou aciclovir¹⁶ tem se mostrado eficiente. O paciente aqui apresentado foi tratado com vidarabina, cuja administração só foi iniciada no 11º dia de vida, com grave comprometimento do sistema nervoso.

A mortalidade na encefalite pelo HSV é de aproximadamente 70%⁶, e, na maioria das vezes, os pacientes que sobrevivem apresentam sequelas neurológicas graves⁶. O prognóstico está relacionado à idade do paciente, ao quadro clínico neurológico e à precocidade do tratamento. Assim, em caso de dificuldade na confirmação diagnóstica, convém iniciar a terapia específica precocemente, a fim de evitar sequelas graves no sistema nervoso e, mesmo, a morte. Entretanto, poder-se-á, além de iniciar a terapêutica, realizar biópsia cerebral dirigida às áreas de maior comprometimento encefálico para a realização da imuno-histoquímica para o HSV. Pela biópsia cerebral¹⁷ não só se pode confirmar o diagnóstico de encefalite pelo HSV como, também, pode-se surpreender outros agentes etiológicos. A indicação da biópsia cerebral, nos casos de encefalite pelo HSV, tem sido objeto de discussão, pois em 3% dos casos podem ocorrer complicações^{5,17,20}.

Várias técnicas, como a detecção do genoma viral pela ampliação do DNA extraído do LCR pela reação da cadeia polimerase (polymerase chain reaction, PCR)^{1,3,8,10,12} ou a imunofluorescência¹⁵ podem ser utilizadas para o diagnóstico de encefalite pelo HSV.

A técnica imuno-histoquímica utiliza anticorpos policlonais para o vírus do Herpes simplex tipo 1 e tipo 2. A positividade em maior número de células para o HSV tipo 2 confirma os dados da literatura que esse é o tipo mais frequentemente encontrado em recém-nascidos. Observou-se no caso estudado também reação cruzada para o HSV-tipo 1, explicada por haver 50% de homologia genômica entre ambos os tipos de vírus²⁰.

Concluimos que a técnica imuno-histoquímica é a forma mais simples e confiável de comprovação diagnóstica nos casos de encefalite pelo vírus Herpes simplex, devendo ser utilizada sempre que for realizada biópsia cerebral para esclarecer a etiologia de casos de encefalite.

REFERENCIAS

1. Editorial. Acute diagnosis of Herpes simplex encephalitis. *Lancet* 1991, 337:205-206.
2. Anderson JR. Viral encephalitis and its pathology. In Adams JH, Anderson JR, Scholz CL, Weller RO (eds): *Neuropathology*. Berlin: Springer, 1988, p 24-57.
3. Aurelius E, Johansson B, Skvidenberg B, Staland A, Forsgren M. Rapid diagnosis of Herpes simplex encephalitis by nested polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid. *Lancet* 1991, 337:189-182.
4. Bell WE, McCormick WF. Herpes virus infection of the nervous system. In Bell WE, McCormick WF (eds): *Neurologic infection in children*. Ed 2. Philadelphia: Saunders, 1981, p 359-386.
5. Brick JF, Brick JE, Morgan JJ, Gutierrez AR. EEG and pathologic finding in patients undergoing brain biopsy for suspected encephalitis. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1990, 76:86-89.

6. Deo EA, Sardesai SR. Herpes simplex encephalitis. *AFP* 1988, 37:184-188.
7. Greenberg SB, Taber L, Steptimus E. Computerized tomography in brain biopsy proven Herpes simplex encephalitis. *Arch Neurol* 1981, 38:58-59.
8. Klapeer PE, Cleator GM, Dennett C, Lewis AG. Diagnosis of encephalitis via southern blotting of cerebrospinal fluid DNA amplified by polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1990, 32:261-264.
9. Khol S. Herpes simplex encephalitis in children. *Ped Clin N Am* 1988, 35:465-483.
10. Puchhammer-Stockl E, Popow-Kraupp T, Heinz FX, Mandl CW, Kunz C. Establishment of PCR for early diagnosis of Herpes simplex encephalitis. *J Med Virol* 1990, 32:77-82.
11. Rothman A, Cheeseman SH, Lehrman SN, Cederbaum A, Glew RH. Herpes simplex encephalitis in a patient with lymphoma. *JAMA* 1988, 259:1056-1057.
12. Rowley AH, Whitley RJ, Lakeman FD, Wolinsky SM. Rapid detection of Herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid of patients with Herpes simplex encephalitis. *Lancet* 1990, 335:440-441.
13. Smith MG, Lennette EH, Reames HR. Isolation of the virus of Herpes simplex and the demonstration of intranuclear inclusions in a case of acute encephalitis. *Am J Pathol* 1941, 17:55-68.
14. Staudt F. Perinatale Herpes simplex Infektion. *Klin Paediatr* 1988, 200:477-481.
15. Soares M, Labbe V, Phillips OM. Tipificación de la infección herpética por anticuerpos monoclonales y hemaglutinación indirecta. *Rev Latinoam Microbiol* 1988, 30:105-109.
16. Van Landingham KE, Marsteller HB, Ross GW, Hayden FG. Relapse of Herpes simplex encephalitis after convencional acyclovir therapy. *JAMA* 1988, 259:1051-1053.
17. Wasiewski WW, Fischmann MA. Herpes simplex encephalitis: the brain biopsy controversy. *J Pediatr* 1988, 113:575-578.
18. Whitley RJ. Herpes simplex virus infection of the central nervous system. *Am J Med* 1989, 85(Suppl 2A):61-67.
19. Whitley RJ, Cobbs CG, Alford CA. Diseases that mimic Herpes simplex encephalitis. *JAMA* 1989, 262:234-239.
20. Whitley RJ, Schlitt M. Encephalitis caused by Herpes viruses, including B virus. In Scheld WM, Whitley RJ, Durak DT (eds): *Infections of the central nervous system*. New York: Raven Press, 1991, p 41-86.