

OSTEOMIELITE POR SERRATIA E DOENÇA GRANULOMATOSA CRÓNICA

Manuela CAMPOS, Graça ROCHA, Ana CORDEIRO, Sónia LEMOS,
Artur PAIVA, Isabel SILVA, Emília FARIA

RESUMO

Introdução: A Doença Granulomatosa Crónica (DGC) é caracterizada por infeções purulentas recorrentes da pele, pulmões e sistema reticulo-endotelial, primariamente devidas a estafilococos, enterobactérias, fungos e ocasionalmente por micobactérias. Mais de dois terços dos casos têm transmissão ligada ao X e resultam de um defeito no gene CYBB que codifica a sub-unidade gp91phox da NADPH oxidase.

Caso clínico: Os autores apresentam um caso de um lactente com três meses internado por osteomielite por *Serratia marcescens* num metacárpico. O estudo revelou alteração da capacidade oxidativa dos neutrófilos e ausência de expressão da gp91-phox no doente e num irmão (com infeção prévia por *Nocardia*). Ambos com hemizigotia para uma mutação patogénica detectada no exão 3 do gene CYBB (c.252 G>A, p.Ala84Ala), variante que altera o splicing. Aos dois anos de idade mantém profilaxia com cotrimoxazol e itraconazol, sem complicações relevantes.

Conclusão: A DGC é rara mas deve ser evocada em casos de infeções pouco comuns ou atípicas.

SUMMARY

SERRATIA OSTEOMYELITIS AND CHRONIC GRANULOMATOUS DISEASE

Chronic Granulomatous Disease (CGD) is a primary immunodeficiency disorder characterized by recurrent purulent infections of the skin, lungs, and reticuloendothelial organs, primarily due to staphylococci, enteric bacteria, fungi, and occasionally mycobacteria. More than two thirds of all cases are X-linked and result from defects in the CYBB gene that encodes the gp91-phox subunit of NADPH oxidase.

The authors present a case of a three month old child admitted with a metacarpic osteomyelitis by *Serratia marcescens*. Studies confirmed an abnormal respiratory burst in activated neutrophils and absence of gp91-phox expression on patient and a brother (with previous *Nocardia* infection). Both hemizygous for a pathogenic mutation detected in exon 3 of CYBB gene (c.252 G>A, p.Ala84Ala), a variant that affects the splicing.

At two years of age he is still on prophylaxis with cotrimoxazol and itraconazol, without relevant complications.

CGD is rare but must be evocated in cases of uncommon or atypical infections.

M.C., G.R., A.C.: Consulta de Doenças Infecciosas. Hospital Pediátrico de Coimbra. Coimbra

S.L., E.F.: Consulta de Imunodeficiências Primárias. Hospital Pediátrico de Coimbra. Coimbra
A.P., I.S.: Laboratório de Citometria de Fluxo, Centro de Histocompatibilidade do Centro. Hospitais da Universidade de Coimbra. Coimbra

E.F.: Serviço de Imunoalergologia. Hospitais da Universidade de Coimbra. Coimbra

© 2011 CELOM

INTRODUÇÃO

A Doença Granulomatosa Crónica (DGC) é uma imunodeficiência primária (IDP) causada por mutação num dos quatro genes que codificam as sub-unidades da NADPH oxidase fagocitária¹. Mais de dois terços dos casos têm transmissão recessiva ligada ao X e as restantes formas são autossómicas recessivas¹. Os leucócitos contêm um sistema NADPH-oxidase defeituoso, o que causa um défice na produção de superóxido de oxigénio, e consequentemente do peróxido de hidrogénio e outros oxidantes, pelo que têm infecções frequentes e severas por *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus spp*, *Salmonella spp*, *Cândida spp* e *Serratia spp*². É habitualmente diagnosticada na infância e tem uma incidência entre 1:200.000 e 1:250.000 nados-vivos³.

No presente caso evocou-se o diagnóstico de imunodeficiência primária (IDP) pela conjugação de vários factores: agente etiológico envolvido, localização da infecção, evolução da mesma e presença de adenopatia axilar à esquerda.

CASO CLÍNICO

Lactente de três meses de vida, sexo masculino, previamente saudável, internado por sinais inflamatórios no quarto dedo da mão direita.

Fruto de IV Gesta/IV Para. A gravidez decorreu sem intercorrências. Parto ocorrido às 39 semanas na Maternidade Bissaya Barreto, com registo de índice de Apgar de 5/8/10 (com necessidade de O2 suplementar) e somatometria adequada à idade gestacional. Período neonatal sem problemas. Boa evolução ponderal e adequado desenvolvimento psicomotor até aos três meses (data do internamento).

O doente foi observado às 24 horas de doença por edema e rubor a nível do quarto dedo da mão direita, sem febre associada. O estudo analítico revelou: hemoglobina 10,8 g/dl; hematócrito 32,9%; VGM 78,5 fl; HCM 25,8 pg/cél; CHCM 32,8 g/dl; RDW 18,6%; leucócitos 21.300 céls/μl (46% neutrófilos; 54% linfócitos); plaquetas 647.000/μl; VS 50 mm/h; Proteína C reactiva 8 mg/l. A radiografia revelou uma imagem osteolítica do quarto metacárpico, compatível com um processo infeccioso. Inicialmente foi tratado com flucloxacilina com boa resposta. Em D17 de doença houve re-agravamento dos sinais inflamatórios locais, desta vez com febre associada. Foi submetido a uma drenagem cirúrgica e foi associada gentamicina à administração de flucloxacilina. Do material purulento colhido foi isolada uma *Serratia marcescens*, pelo que

foi instituída terapêutica com imipenem. No decurso do internamento detectou-se também uma adenopatia axilar à esquerda com cerca de 2,5 cm de diâmetro, de consistência duro-elástica, móvel e não aderente aos planos profundos. Tendo em conta o agente etiológico envolvido, a localização da infecção, a evolução da mesma e a presença desta adenopatia foi colocada a hipótese de imunodeficiência primária. Entretanto houve boa evolução da intercorrência infecciosa com os tratamentos, médico e cirúrgico, combinados, tendo tido alta em D40 de doença (D39 de tratamento/D16 de imipenem). O doseamento de imunoglobulinas, sub-populações linfocitárias T, B e NK e testes de proliferação linfocitária foram normais. Confirmou-se uma alteração da capacidade oxidativa dos neutrófilos no doente pelo teste de dihidrorodamina (DHR): FMLP (N-formil-metionil-leucil-fenilalanina) – 9% (controlo 4%); PMA (Miristato-acetato de forbol) – 16% (controlo 84%); *E. coli* – 35% (controlo 82%).

Numa primeira abordagem não foram referidos antecedentes familiares significativos. Referência a pais saudáveis e não consanguíneos. Tem dois irmãos e uma irmã (actualmente com cinco, oito e 11 anos respectivamente). Ao refazer a história verificaram-se alguns pontos-chave, que vieram reforçar a hipótese diagnóstica colocada. O irmão mais velho tem antecedentes de pneumonia a *Nocardia* aos quatro anos, com resolução após ciclo longo de cotrimoxazol e apresenta infecções recorrentes cutâneas, sendo seguido em Consulta de Dermatologia nos Hospitais da Universidade de Coimbra (HUC). Todos os três tios maternos (em primeiro grau) faleceram. O primeiro deles faleceu aos 17 meses (causa indeterminada), o segundo aos cinco anos (cardiopatia) e terceiro aos 11 anos (vítima de acidente). Este último sofria de infecções frequentes com necessidade de múltiplos internamentos. Entretanto conseguimos apurar que também um primo materno com 34 anos, a viver no estrangeiro, tem DGC.

O estudo no irmão com antecedentes de infecção por *Nocardia* também revelou deficiência da função oxidativa dos neutrófilos e foram detectadas duas sub-populações de neutrófilos na mãe e na irmã. Os estudos de expressão celular no doente e neste irmão revelaram uma ausência de expressão da *gp91-phox* nos neutrófilos e monócitos e o estudo molecular do gene *CYBB* identificou em ambos hemizigotia para uma mutação no exão 3: c.252G>A, p.Ala84Ala (mutação patogénica que altera o splicing).

Foi instituída terapêutica profiláctica com cotrimoxazol e itraconazol no doente e no irmão (desde os cinco meses e sete anos de idade, respectivamente), não havendo intercorrências significativas a registar. Apenas de referir exsudação da adenite axilar no doente durante cerca de

seis meses cuja resolução coincidiu com a aplicação de mupirocina tópica. O irmão teve apenas algumas infecções cutâneas. Actualmente com dois e oito anos respectivamente, mantêm seguimento em Consulta de IDP e profilaxia com cotrimoxazol e itraconazol. Para estudo de eventual transplante de medula óssea iniciou-se estudo HLA na família. As duas crianças têm HLA idêntico, mas diferente do irmão saudável. Neste momento continua em estudo a compatibilidade HLA com outros familiares.

DISCUSSÃO

A osteomielite é pouco comum em crianças. A maioria dos casos de osteomielite na infância ocorre nos ossos longos, com apenas 1-4% com envolvimento das mãos ou dos pés⁴. No caso apresentado a identificação de uma *Serratia marcescens*, a localização da infecção, a evolução da mesma e a presença da adenite axilar à esquerda fizeram evocar o diagnóstico de IDP. A investigação veio confirmar o diagnóstico de DGC, encontrando-se uma mutação no exão 3: c.252G>A, p.Ala84A1a (mutação patogénica que altera o splicing).

A DGC é uma imunodeficiência primária que resulta de um defeito genético na capacidade oxidativa dos fagócitos, dando origem a infecções bacterianas (catalase-positivas) e fúngicas severas e granulomas de evolução lenta⁵. Com efeito, é a formação de granulomas que constitui a base para o nome da doença. Os granulomas podem-se formar sem uma aparente causa infecciosa e podem resultar em obstrução do tracto intestinal ou urinário.

O aumento da susceptibilidade a infecções é limitado a um leque de microorganismos concreto, que deve contribuir para a suspeita deste diagnóstico, como neste caso.

Na DGC os locais frequentes de doença (infecção/granulomas) incluem pulmão, pele, gânglios linfáticos, trato gastrointestinal e fígado⁶. As osteomielites são mais frequentemente devidas a *Aspergillus spp* e *Serratia spp*. A maioria da bibliografia disponível refere que as localizações ósseas afectam frequentemente os ossos das mãos e dos pés⁷. No entanto, uma casuística recente europeia envolvendo 429 doentes com DGC refere apenas 4 episódios de osteomielite em ossos da mão dos 84 registados (56 doentes). As localizações mais frequentemente encontradas foram: costelas, vértebras, fémur, astrágalo e tibia⁸.

Neste caso não havia atraso do crescimento, o que acontece em cerca de 75% dos casos⁹.

A técnica *standard* de diagnóstico é o teste de dihidrorodamina (DHR), o qual foi realizado no nosso caso. Os fagócitos produtores de peróxido de hidrogénio

reduzem a DHR em rodamina, composto altamente fluorescente, sendo a fluorescência medida através da citometria de fluxo. As vantagens deste teste sobre o teste NBT (nitroblue tetrazolium test) são a sua objectividade, necessidade de amostra mínima, superioridade na detecção de portador em formas ligadas ao X, e portanto a possibilidade de indicar o provável defeito molecular subjacente¹⁰.

Os estudos de expressão celular no doente e irmão revelaram uma ausência de expressão da gp91-*phox* nos neutrófilos e monócitos. Tal como neste caso, mais de dois terços de todos os casos de DGC têm transmissão recessiva ligada ao X e resultam de defeitos no gene CYBB que codifica a sub-unidade gp91-*phox*. As restantes são autossómicas recessivas e causadas por defeitos nos genes CYBA, NCF-1 e NCF-2 que codificam a p22-*phox*, a p47-*phox* e a p67-*phox* respectivamente. As quatro formas da doença são denominadas como DGC X91, A22, A47, e A67². Só quando se refez a história é que se verificou haver antecedentes familiares sugestivos de IDP: infecção por *Nocardia* e infecções cutâneas recorrentes num irmão, mortes precoces dos tios maternos e um caso de DGC confirmada num primo. Nunca é demais referir, a importância de uma história clínica, que deverá ser o mais completa possível.

O estudo molecular do gene CYBB identificou em ambos os casos hemizigotia para uma mutação no exão 3: c.252G>A, p.Ala84A1a (mutação patogénica que altera o splicing). O estudo genético familiar permite uma confirmação do diagnóstico, o estudo de portadores (nestas formas de transmissão ligada ao X), e aconselhamento genético no contexto de diagnóstico pré-natal.

Manifestações de autoimunidade ou autoinflamatórias foram consideradas ser mais prevalentes em doentes com DGC em relação à população em geral. Mães de rapazes com DGC ligada ao X, portadoras, são mais predispostas a lúpus ou lesões cutâneas lúpus-like, como o lúpus discóide¹¹.

Dada a baixa prevalência da DGC e a variabilidade na gravidade das manifestações clínicas, o diagnóstico é por vezes estabelecido tardiamente, um facto que pode levar a sequelas irreversíveis e mesmo à morte¹⁰. Doentes com transmissão ligada ao X apresentam manifestações mais precoces, no primeiro ano de vida. As infecções tendem a ser mais graves e o número de hospitalizações maior em relação aos pacientes com herança autossómica recessiva¹². A idade média de diagnóstico na DGC AR foi de 8,8 anos e na ligada ao X de 4,9 anos numa casuística europeia recente⁸. O diagnóstico neste caso foi bastante precoce em relação à média. Apesar do mau prognóstico

associado, estes dois irmãos não têm tido intercorrências significativas.

A taxa de mortalidade global foi estimada em 2-5 mortes/100 casos por ano⁸. As causas de morte mais frequentes são: pneumonia e abscesso pulmonar, septicemia e abscesso cerebral¹³. O *Aspergillus* figura no topo da lista dos agentes etiológicos nessas situações, seguido de bactérias como a *Burkholderia* e a *Salmonella*⁸.

O acompanhamento destes doentes deve abordar a profilaxia, a detecção precoce dos sinais de infecção e o seu tratamento agressivo. É apenas curável através de transplante de medula. O uso de interferão-gama sub-cutâneo é actualmente adoptado como uma modalidade de terapia em alguns casos seleccionados, reduzindo a frequência e gravidade das infecções, através do aumento de vias não oxidativas, não sendo consensual a sua eficácia clínica¹⁴.

Estes dois irmãos aguardam resultados de estudos de histocompatibilidade para futuro transplante.

CONCLUSÃO

Os autores apresentam este caso porque documenta a importância de evocar uma imunodeficiência primária numa criança com uma infecção com localização e agente pouco comuns, especialmente quando existe uma história familiar de infecções recorrentes e/ou de imunodeficiência. É de realçar a importância da realização de uma história clínica (o mais detalhada possível) não esquecendo os antecedentes familiares, que podem ser muito importantes para o diagnóstico.

Conflito de interesses:

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesses relativamente ao presente artigo.

Fontes de financiamento:

Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

BIBLIOGRAFIA

1. ASSARI T: Chronic Granulomatous Disease; fundamental stages in our understanding of CGD. *Med Immunol* 2006;5:1-8
2. HEYWORTH PG, CROSS AR, CURNUTTE JT: Chronic granulomatous disease. *Curr Opin Immunol* 2003;15(5):578-584
3. SEGAL BH, LETO TL, GALLIN JI, MALECH HL, HOLLAND SM: Genetic, biochemical, and clinical features of chronic granulomatous disease. *Medicine (Baltimore)* 2000;79:170-200
4. VOZZELLI KM, GUTMAN L: Osteomyelitis and suppurative arthritis. In: *Krugman's Infectious Diseases of Children*, 11th ed. St. Louis. Mosby Inc 2004;403-414
5. LEKSTROM-HIMES JA, GALLIN JI: Immunodeficiency diseases caused by defects in phagocytes. *NEJM* 2000;343:1703-14
6. ROOS D, CURNUTTE J: Chronic granulomatous disease. In: Ochs HD, Smith CI, Puck JM, eds. *Primary Immunodeficiency Diseases: A molecular and Genetic Approach*. New York: Oxford University Press Inc 1999;353-374
7. HEYWORTH PG, CURNUTTE JT, RAE J et al: Hematologically important mutations: X-linked chronic granulomatous disease - second update. *Blood Cells Mol Dis* 2001;27:16-26
8. VAN DEN BERG JM, VAN KOPPEN E, AHLIN A et al: Chronic Granulomatous Disease: The European Experience. *PLoS ONE* 4(4): e5234. doi:10.1371/journal.pone.0005234 2009
9. JONES LB; MCGROGAN P; FLOOD TJ et al: Special article: chronic granulomatous disease in the United Kingdom and Ireland: a comprehensive national patient-based registry. *Clin Exp Immunol* 2008;152:211-8
10. SOLER-PALACIN P, MARGARETO C, LLOBET P et al: Chronic granulomatous disease in pediatric patients: 25 years of experience. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2007;35: 83-89. RUPEC RA
11. PETROPOULOU T, BELOHRADSKY BH et al: Lupus erythematosus tumidus and chronic discoid lupus erythematosus in carriers of X-linked chronic granulomatous disease. *Eur J Dermatol* 2000;10:184-9
12. WINKELSTEIN JA, MARINO MC, JOHNSTON RB JR. et al: Chronic granulomatous disease. Report on a national registry of 368 patients. *Medicine (Baltimore)* 2000;79(3):155-169
13. LIESE J, KLOOS S, JENDROSSEK V et al: Long-term follow-up and outcome of 39 patients with chronic granulomatous disease. *J Pediatr* 2000;137:687-693
14. SEGAL BH, HOLLAND SM: Primary Phagocytic Disorders of Childhood. *The Pediatr Clin North Am* 2000;47(6):1311-38