

LES CRISES APLASTIQUES DE LA DREPANOCYTOSE MAJEURE ET D'AUTRES AFFECTIONS HEMOLYTIQUES SONT DUES A L'AGENT DU MEGALERYTHEME EPIDEMIQUE, LE PARVOVIRUS SERIQUE HUMAIN (PARVOVIRUS B19)

par

G. VAN ROS

Laboratoire d'Hématologie, Institut de Médecine Tropicale,
Nationaalestraat 155, B-2000 Antwerpen, Belgique

La plupart des patients atteints de drépanocytose majeure présentent dans l'enfance une crise unique d'érythroblastopénie aiguë ou crise aplastique. Aucune cause précise n'avait pu être attribuée à ces crises pendant plus de 30 ans après leur première description en 1950 par Singer *et al.* (88), bien que dans une petite minorité des cas l'aplasie fut associée à une infection par un agent bactérien ou viral. L'incertitude à ce propos n'a été levée qu'en 1981 par Pattison *et al.* (74) du King's College Hospital de Londres qui montrèrent que dans une série de cas ces crises étaient associées à une infection par un virus de la famille des Parvoviridés, dénommé actuellement Parvovirus sérique humain ou Parvovirus B19. Il s'agissait d'un virus qui avait déjà été découvert fortuitement en 1975 par Cossart *et al.* (27) dans le sérum de donneurs de sang et de certains patients, mais auquel aucune pathologie précise n'avait pu être attribuée jusqu'à la découverte de Pattison. Celle-ci fut ensuite amplement confirmée par d'autres auteurs, puis étendue aux crises aplastiques qui peuvent compliquer le cours d'autres maladies hémolytiques que la drépanocytose, particulièrement la sphérocytose héréditaire. Depuis lors, une série d'autres syndromes ou affections ont été attribués au Parvovirus sérique humain : le mégalérythème épidémique (érythème infectieux, « cinquième maladie »), des polyarthralgies, des purpuras, des avortements avec œdème foetal, etc. La présente revue résume les connaissances actuelles concernant ce virus, les crises aplastiques et les autres phénomènes pathologiques qu'il provoque.

1. Le Parvovirus sérique humain (Parvovirus B19) — Son rôle en pathologie humaine

Ce virus appartient à la famille des *Parvoviridés* qui comprend des virus de petite taille à ADN monocaténaire dépourvu d'enveloppe, constitué de 5.500 nucléotides au maximum et dont la capsidie, formée de 2 ou 3 protéines, présente une symétrie icosaédrique (polyèdre limité par 20 triangles équilatéraux identiques). La famille compte trois genres : Parvovirus, Dépendovirus et Densovirus. Les deux premiers infectent de nombreuses espèces de Mammifères et d'Oiseaux; on les distingue par le fait que la réplication des Dépendovirus dans les noyaux des cellules infectées nécessi-

te l'aide d'un virus auxiliaire, Adénovirus ou Herpèsvirus, alors que la réplication des Parvovirus est autonome. Quant au genre Densovirus, il infecte uniquement des Insectes, Orthoptères ou Lépidoptères.

Il est connu depuis longtemps que certains *Parvovirus* sont pathogènes pour les Mammifères qu'ils infectent, tels le chat, le chien, le porc, le vison, le hamster, chez qui ils provoquent soit des anomalies congénitales et des avortements, soit des leucopénies ou des entérites souvent mortelles (86). Les tissus affectés sont nécessairement en régénération rapide, tels les tissus foetaux, les lignées sanguines ou l'épithélium intestinal, car la réplication du virus nécessite des fonctions ou facteurs qui ne sont présents dans les noyaux des cellules hôtes que pendant la phase S du cycle cellulaire, phase de réplication de l'ADN.

Le *Parvovirus B19* est jusqu'à présent la seule espèce de Parvovirus reconnue infectante pour l'Homme. Il a été trouvé dans le sérum de 9 sujets bien portants et de 2 patients par Cossart *et al.* (27) au cours de tests de dépistage de l'antigène HBsAg de l'hépatite B. Ces sérums (dont un avait été classé B19) donnaient des réactions apparemment positives en électroimmunodiffusion, mais négatives aux essais radioimmunologiques et à l'hémagglutination passive, plus spécifiques. L'examen en immunomicroscopie électronique de ces sérums y montra la présence de particules de 23 nm de diamètre moyen à morphologie de parvovirus, d'où la dénomination provisoire de SPLV (serum parvovirus-like virus). Les mêmes auteurs constatèrent que le SPLV donnait une réaction positive en électroimmunodiffusion avec les sérums de 30 % d'adultes pris au hasard. Aucune pathologie ne put alors être attribuée au nouveau virus, qui se révéla ubiquitaire et fut d'ailleurs décrit indépendamment en France sous le nom d'«antigène Aurillac» (29) et au Japon sous le nom d'«antigène Nakatani» (69). Il a été successivement dénommé SPLV, PVLA («parvovirus-like agent») et HPV («human parvovirus»), mais sa dénomination officielle actuelle est Parvovirus B19. De nombreuses recherches ont montré qu'il s'agit bien d'un Parvovirus: diamètre de 20 à 23 nm, densité moyenne de 1,43 à l'ultracentrifugation en chlorure de césium (21), ADN monocaténaire d'environ 5,5 Kb (91), capsidée constituée de deux protéines de poids moléculaire 58 et 84 Kd (72), absence de virus auxiliaire nécessaire à la réplication *in vivo* et *in vitro* (71, 100). Les caractéristiques moléculaires du virus, dont l'ADN a été cloné (28), indiquent qu'il s'agit bien d'un Parvovirus différent de ceux qui infectent des bovidés et des rongeurs, bien que son ADN présente des zones d'homologie avec celui de ces virus (84, 91). Des particules virales à morphologie de Parvoviridés, antigéniquement différentes du virus B19, ont été isolées à partir de tissus synoviaux de patients atteints d'arthrite rhumatoïde («virus Ra-1») (87). Il pourrait s'agir d'autres espèces de Parvoviridés capables d'infecter l'homme, non encore caractérisées.

Affections dues au parvovirus B19

Dans les années qui ont suivi sa découverte en 1975, on a constaté que l'infection des sujets sains par le virus B19 peut rester asymptomatique, mais qu'elle provoque souvent une *affection fébrile* avec myalgies, virémie et production subséquente d'anticorps antiparvovirus (85). L'importance de ce

virus en pathologie humaine n'est cependant devenue évidente qu'en 1981 avec la découverte du virus dans le sérum d'enfants drépanocytaires en crise d'érythroblastopénie aiguë par Pattison *et al.* à Londres (74) et par Serjeant *et al.* à Kingston, Jamaïque (83). De nombreux travaux cliniques, épidémiologiques et expérimentaux ont ensuite amplement confirmé que le parvovirus B19 est la cause déclenchante de la grande majorité des *crises aplastiques* que présentent la plupart des patients atteints de *drépanocytose majeure*, généralement une seule fois au cours de leur vie et le plus souvent avant l'âge de 12 ans (3, 15, 20, 29, 36, 37, 47, 49, 74, 78, 81). Ultérieurement, une série d'autres affections ou manifestations pathologiques ont été attribuées au même virus, principalement sur la base de la découverte de l'antigène viral dans le sérum ou les tissus des patients, de la démonstration de la présence d'IgM spécifique dans leur sérum ou encore de la mise en évidence d'une élévation significative du titre des IgG antiparvovirus humain en cours d'affection :

1° Le *mégalérythème épidémique* (érythème infectieux, « cinquième maladie » éruptive) est la manifestation la plus fréquente de l'infection (6, 9). Elle atteint surtout les enfants et est caractérisée par un épisode fébrile suivi d'un rash maculopapulaire débutant souvent au visage (« slapped cheeks disease »). Elle survient souvent en vagues épidémiques et est suivie d'une immunité durable.

2° Des *crises d'érythroblastopénie aiguë* analogues à celles de la drépanocytose majeure survenant au cours de diverses maladies hémolytiques chroniques. Elles ont surtout été rapportées dans la *sphérocytose héréditaire* (35, 36, 43, 50, 67) et même dans certains cas la sphérocytose sous-jacente, restée inaperçue, a été révélée par la crise d'aplasie provoquée par le virus (35, 50, 67). On les a signalées aussi dans les β -thalassémies (50, 78), la *thalassodrépanocytose* (80, 82), l'*hémoglobinoïse SC* (15, 26, 80) et au cours de cas de *déficit en pyruvate-kinase* (34) et d'*anémie hémolytique auto-immune* (19, 92).

3° Des *aplasies médullaires chroniques chez des immunodéprimés*, en l'absence d'hyperhémolyse. Il s'agissait dans un cas d'un syndrome de Nézélof (46) (incapacité de produire des anticorps spécifiques), dans un autre l'immunodépression résultait d'une chimiothérapie pour leucose aiguë (93). La chronicité de ces aplasies s'explique par la persistance de l'infection à parvovirus des précurseurs érythroïdes consécutive à l'immunodépression.

4° Des *polyarthropathies* symétriques, fréquentes, relativement bénignes, d'une durée de quelques jours à quelques semaines, frappant surtout les adultes de sexe féminin. Elles apparaissent après la période de virémie et ont de ce fait été attribuées à des dépôts de complexes immuns (24, 30, 79, 96).

Par ailleurs, les marqueurs sérologiques d'une infection récente par le parvovirus ont été constatés dans des cas d'*arthrite rhumatoïde* et d'*arthrite inflammatoire*; le facteur rhumatoïde était parfois présent (24). De plus, la proportion de sujets souffrant d'arthrite rhumatoïde séropositifs pour le parvovirus serait beaucoup plus élevée que dans la population générale; qu'une infection persistante par le parvovirus B19 joue un rôle étiologique dans l'arthrite rhumatoïde ne peut cependant être considéré comme démontré (99).

5° Divers autres phénomènes pathologiques ont été associés à l'infection par le Parvovirus sérique humain : des *purpuras vasculaires*, y compris le purpura de Hénoch-Schönlein (51, 52, 57, 64), des *neuropathies du plexus brachial* avec amyotrophie (31, 94) et des *lymphadénites aiguës* pouvant provoquer comme les infections à adéno- et entérovirus un syndrome pseudoappendiculaire (61).

6° L'infection à parvovirus de la femme enceinte provoque dans une minorité des cas des *avortements* spontanés au cours des deux premiers trimestres de la grossesse (1, 8, 14, 16, 18, 53). Le fœtus est oedématié et présente une anémie très prononcée de type aplastique (8, 16). L'infection de la mère pendant la grossesse peut provoquer aussi des naissances de *mort-nés* oedématiés ou macérés dans les tissus desquels on retrouve l'ADN viral (8, 13, 14, 16). La grande majorité des femmes infectées pendant leur grossesse donnent néanmoins naissance à des nouveau-nés normaux (53, 63, 102).

7° L'infection par le Parvovirus sérique humain semble pouvoir être *tératogène* : une terminaison volontaire de grossesse chez une femme infectée à la 6^e semaine a donné un embryon présentant une myosite généralisée avec myocardite, des anomalies rétinienne et une microphthalmie unilatérale (95). Cependant, aucun cas d'anomalie congénitale n'a été rapporté chez des nouveau-nés (53, 63, 76). De 170 femmes infectées durant leur grossesse, aucune n'a donné naissance à un enfant présentant des anomalies (44). On a supposé que le parvovirus est en réalité très tératogène, plus que le virus de la rubéole, et que lorsqu'il affecte un embryon, celui-ci est tué et éliminé très tôt au cours de la grossesse, d'où l'absence d'effets tératogènes constatée chez les nouveau-nés (38).

Diagnostic de l'infection à parvovirus B19

On n'a pas réussi jusqu'à présent à transmettre ce parvovirus à l'animal ni à le propager *in vitro*, sauf en suspensions de cellules de moelle osseuse humaine (71, 90). Les sérums des personnes infectées restent par conséquent la seule source d'antigène disponible pour les tests de diagnostic, ce qui limite le nombre des laboratoires à même de les réaliser.

Initialement, la recherche des anticorps antiparvovirus et celle de l'antigène viral ont été réalisées par *électroimmunodiffusion* (CIE : « counter-current immunoelectrophoresis ») (27, 43). Cette technique a depuis lors été largement surpassée en sensibilité par les méthodes plus récentes. Le virus a été recherché aussi dans le sérum, les liquides organiques et les tissus par *immunomicroscopie électronique* (IEM) (27, 40) mais cette technique manque aussi de sensibilité. Actuellement, le diagnostic d'une infection en cours ou récente se fait surtout par la recherche des anticorps spécifiques IgM et, moins souvent, par celle de l'ADN viral et celui d'une infection ancienne par celle des IgG antiparvovirus.

La détection et le dosage des IgM et des IgG anti-B19 sont souvent réalisés par *radioimmunocapture* (RIA) : capture de l'anticorps en phase solide, suivie d'essai radioimmunologique (4, 25). Le test se fait actuellement au moyen d'un anticorps monoclonal marqué antiparvovirus : l'IgM ou l'IgG à déceler et à doser sont capturés par un anticorps anti-chaînes μ humaines

contenu dans la phase solide. Si présentes, elles fixent l'antigène viral qu'on ajoute ensuite. Celui-ci est ensuite mesuré par liaison avec l'anticorps monoclonal marqué (25).

Ce test est très sensible. Il a été trouvé positif pour l'IgG chez 61 % de 310 donneurs de sang anglais, alors que l'électroimmunodiffusion ne décelait que 43 % de positifs parmi ces mêmes sujets (25). Il est positif pour l'IgM chez 80 à 90 % des patients atteints de mégalérythème épidémique ou en crise aplastique compliquant une hyperhémolyse chronique (4, 10).

On peut aussi déceler et titrer les IgG et IgM spécifiques par *immunocapture ELISA* (immunocapture indirecte suivie d'essai immunoenzymatique à la peroxydase) dont la sensibilité est comparable à celle du RIA (10).

L'apparition de l'IgM chez des volontaires sains infectés expérimentalement coïncide avec la virémie et avec l'apparition des premiers symptômes (6); son taux est à son maximum vers le 14^e jour après l'inoculation. Elle commence à baisser au cours du deuxième mois et disparaît le plus souvent au troisième, bien que dans certains cas des titres bas puissent persister plus longtemps, jusqu'au 6^e mois (4, 10, 25).

L'IgG antiparvovirus B19 apparaît en moyenne 7 jours après l'IgM, atteint son maximum au cours du premier mois et persiste de nombreuses années (5, 77).

La *recherche du virus dans le sérum* peut se faire par *capture radioimmunologique* (RIA) en utilisant un anticorps monoclonal (10, 25). Dans un procédé on fixe un anticorps anti-B19 sur des perles en polystyrène; l'antigène viral éventuellement présent dans l'échantillon se fixe sur les perles; il est décelé par l'anticorps monoclonal anti-B19 auquel on lie une immunoglobine antisouris marquée au radioiode ¹²⁵I. La radioactivité ainsi liée à l'antigène est mesurée dans un compteur γ (25).

Très sensible, cette technique est pourtant surpassée nettement par l'hybridation moléculaire, ce qui s'explique notamment par le fait que cette technique décèle le virus inclus dans les complexes immuns, ce qui n'est pas le cas du RIA à cause du blocage de sites antigéniques du virus par les anticorps inclus dans ces complexes (7).

La *technique immunoenzymatique ELISA* avec immunocapture indirecte est de sensibilité équivalente (10, 22, 25); dans un procédé on utilise des plaques à microtitration à la surface desquelles un anticorps IgM antiparvovirus B19 a été fixé; ce dernier lie l'antigène viral éventuellement présent dans l'échantillon à analyser; cet antigène est ensuite révélé en y fixant une IgM monoclonale anti-B19 à laquelle on lie une IgM antisouris conjuguée à une peroxydase. Celle-ci est mesurée par son activité sur le substrat o-phénylène diamine (10).

Actuellement, on tend à remplacer ces techniques par l'*hybridation moléculaire* qui est encore plus sensible et est beaucoup plus rapide. Elle consiste à hybrider sur des bandes de nitrocellulose par le procédé du dot-blot l'ADN du virus éventuellement présent dans l'échantillon avec de l'ADN viral B19 cloné marqué au radiophosphore. Les zones des bandes qui contiennent la sonde radio-active sont ensuite révélées par impression d'un film photographique (7, 22). La sensibilité de cette méthode est environ 300 fois plus grande que celle du RIA (7); sa réalisation est très rapide: elle permet le criblage de très nombreux échantillons en un jour; elle décèle

l'ADN viral dans le sérum, les urines, les sécrétions respiratoires et les tissus (7, 22, 80). Au cours des crises aplastiques dues au parvovirus, elle a permis de déceler celui-ci dans le sérum des patients jusqu'à 11 jours après le début des symptômes (7).

Ces différentes techniques ne permettent que rarement de déceler le parvovirus au cours du mégalérythème épidémique parce que la virémie y précède l'éruption (5); on le trouve par contre dans environ 75 % des cas dans le sérum des patients en crise aplastique compliquant une hyperhémolyse chronique. La combinaison de l'hybridation moléculaire et de la recherche de l'IgM antiparvovirus a permis de conclure à une infection par le Parvovirus sérique humain dans pratiquement tous les cas de ces crises aplastiques (6).

Transmission et prévalence de l'infection

Les voies principales d'excrétion du parvovirus sont les muqueuses respiratoires et les urines (20); chez 3 volontaires infectés expérimentalement par voie intranasale, l'ADN viral a été décelé dans les sécrétions respiratoires entre les 7^e et 11^e jours après l'inoculation, période pendant laquelle le virus était simultanément présent dans le sang (5). Par contre, on n'a pu jusqu'à présent mettre le virus en évidence dans les selles. La contamination se fait habituellement par les voies respiratoires (5) et probablement aussi par voie orale (20). La transmission de la mère au fœtus est fréquente, mais semble rester souvent sans conséquence (14, 63). La contamination par voie sanguine a été démontrée chez des hémophiles qui avaient reçu des concentrés des facteurs VIII et IX (11, 66) et on a rapporté deux cas d'infections contractées en cours de tatouage (85).

L'infection est très répandue : une enquête réalisée en Grande-Bretagne au moyen du RIA (23) a montré que 50 à 60 % des sujets âgés de 16 à 40 ans avaient des IgG antiparvovirus et que chez les personnes âgées de 61 à 70 ans le taux de prévalence atteignait 73 %. De très nombreux sujets font leur séroconversion dans l'enfance, particulièrement durant les premières années scolaires : alors que 15 % des enfants entre 1 et 5 ans étaient séropositifs, le taux de positivité atteignait 36 % entre 6 et 10 ans. D'autres enquêtes faites en Grande-Bretagne (25), en France (29), aux Etats-Unis (10, 43), en Australie (43) et au Japon (68) ont donné des taux de prévalence du même ordre.

2. Les crises d'érythroblastopénie aiguë des affections hémolytiques chroniques. Rôle du parvovirus B19

Les « crises » qui se produisent fréquemment au cours de la drépanocytose majeure sont de deux types très différents : les épisodes d'occlusion des petits vaisseaux périphériques ou crises vasoocclusives d'une part, les aggravations brusques de l'anémie, associées ou non à de la neutropénie et de la thrombocytopénie, ou crises hématologiques d'autre part. Parmi celles-ci, on distingue (59) les crises d'hyperséquestration splénique, les plus

graves, mais qui frappent quasi exclusivement le nourrisson et le jeune enfant, les crises mégalo-blastiques par épuisement des réserves de folate, les crises d'hyperhémolyse, qui semblent très rarement dues à la seule drépanocytose (89) et dont l'existence a même été contestée (32), et enfin les crises d'érythroblastopénie aiguë ou crises aplastiques. Ces dernières ont été distinguées des crises hémolytiques par Owren dès 1948 (70), puis décrites en détail en 1950 par Singer *et al.* (88). Elles se caractérisent principalement par une baisse rapide et marquée du taux d'hémoglobine à partir du taux habituel (taux de l'état stationnaire, « steady state ») et par la disparition des érythroblastes et des réticulocytes du sang périphérique; une érythroblastopénie extrême est constatée à l'examen de la moelle osseuse. Ces caractéristiques distinguent aisément ce type de crise des autres, mais elles ne sont évidentes qu'à la phase d'état, avant la reprise spontanée de l'érythropoïèse, qui est quasi de règle.

Les crises aplastiques affectent principalement les enfants drépanocytaires âgés de moins de 10 ans, déjà même entre 6 mois et 1 an dans 5 % des cas (37, 83). Elles deviennent proportionnellement beaucoup plus rares à partir de l'adolescence, bien que de nombreux cas chez les adultes aient été rapportés (78). Contrairement aux autres crises qui peuvent récidiver, les crises aplastiques n'atteignent dans la règle les drépanocytaires qu'une seule fois au cours de leur vie; les exceptions semblent être très rares: la littérature ne rapporte en effet qu'un seul cas d'un patient ayant fait une crise à deux reprises (56).

Ces crises se manifestent cliniquement par un accroissement de la pâleur et par une apathie inhabituelle souvent associées à de la fièvre, des céphalées et des symptômes d'infection des voies respiratoires supérieures et parfois à des troubles gastro-intestinaux. La baisse du taux d'hémoglobine à partir du taux de l'état stationnaire est variable, en général entre 3 et 6 g/dl: dans une série elle fut en moyenne de 4,4 g/dl (59), dans une autre de 5,2 g/dl (49). L'anémie et la réticulocytopenie s'accompagnent fréquemment d'une neutropénie et d'une thrombocytopenie transitoires (12, 33, 37, 46, 49, 64).

Ces crises sont particulièrement dangereuses chez l'enfant très jeune, chez qui les symptômes peuvent passer inaperçus. Cependant à condition de transfuser le patient si le taux d'hémoglobine et l'hématocrite ont atteint des niveaux dangereusement bas, l'évolution est dans la règle vers la guérison spontanée; elle est annoncée par une forte crise réticulocytaire et par une augmentation de l'hématocrite. Au niveau de la moelle osseuse, on constate d'abord une prolifération des pronormoblastes, dont certains sont anormalement grands (3, 46), pouvant même atteindre 80 μ m de diamètre, soit plus de 4 fois le diamètre moyen normal (78). Elle est suivie un peu plus tard d'une prolifération massive des érythroblastes basophiles, polychromatophiles et acidophiles. Cette reprise de l'activité érythropoïétique se produit le plus souvent 8 à 10 jours après le début de la crise (1, 56). Elle est suivie vers le quatrième jour suivant la réapparition des érythroblastes dans la moelle d'une forte hyperréticulocytose périphérique et d'une remontée rapide du taux d'hémoglobine au niveau que le patient présentait à l'état stationnaire.

On a rapporté à deux reprises des cas de drépanocytose dans lesquels les crises d'érythroblastopénie aiguë étaient associées non à une aplasie

limitée à la lignée rouge, mais à des nécroses étendues de la moelle hématopoïétique (26, 73). Ce phénomène est vraisemblablement la conséquence d'occlusions de petits vaisseaux médullaires dues à la formation de fibres de désoxyhémoglobine S dans les hématies parcourant ces vaisseaux. Dans ce cas, ces nécroses seraient propres aux syndromes falciformes au cours desquels ils pourraient ne pas être exceptionnels.

Bien que leur incidence soit difficile à déterminer, il est certain que les crises d'érythroblastopénie sont les plus fréquentes des crises hématologiques de la drépanocytose majeure (97). Les résultats d'enquêtes portant sur des cohortes d'enfants drépanocytaires laissent supposer que la grande majorité des patients qui atteignent l'adolescence ont fait une telle crise : ainsi d'un groupe de 20 enfants suivis par Charney et Miller durant 5,2 ans en moyenne, 9 ont fait une crise durant cette période (19) et sur 280 enfants suivis par Serjeant *et al.* à la Jamaïque, 29 soit 10,4% ont été atteints pendant une période d'observation de 2 ans (83).

Les crises d'érythroblastopénie ne sont pas propres à la seule drépanocytose : elles peuvent compliquer le cours d'autres maladies hémolytiques. Elles sont surtout fréquentes dans la sphérocytose héréditaire (35, 36, 43, 49, 50, 67), mais ont été rapportées également dans des cas de thalassémie majeure (33, 40), intermédiaire (15, 78) ou mineure (50, 51), de thalassodrépanocytose (73, 80, 82), d'hémoglobinoïde SC (15, 26, 80), dans des anémies hémolytiques autoimmunes (19, 92) et dans un déficit en pyruvate-kinase (34).

Causes des crises aplastiques des hémolyses chroniques

On s'est longtemps interrogé sur les causes de ces crises. Comme la plupart s'accompagnaient de fièvre, de céphalées et de troubles respiratoires ou digestifs, l'opinion commune était qu'elles étaient le plus souvent déclenchées par une infection et effectivement on identifiait dans certains cas un agent bactérien ou viral : bactériémies à *Salmonellas* (60), septicémies à streptocoques (19) ou à *Escherichia coli* (15), infections respiratoires à pneumocoques (19, 83), à influenza virus (83), à *Mycoplasma pneumoniae* (59), infections à virus d'Epstein-Barr (83); dans la grande majorité des cas cependant aucun agent pathogène connu n'était mis en évidence et l'hypothèse du rôle étiologique d'un virus non identifié fut avancée; elle était appuyée par le fait que les crises ne se produisent qu'une seule fois chez le même patient et qu'elles peuvent survenir simultanément ou successivement parmi les membres d'une même famille atteints de drépanocytose ou de sphérocytose héréditaire (41, 54, 56, 70). La découverte par Pattison *et al.* en 1981 du parvovirus B19 dans le sérum de drépanocytaires en crise confirma l'hypothèse virale (74). Les cas d'association du virus avec les crises aplastiques s'avèrent ensuite si nombreux qu'il fut même suggéré en 1983 que le parvovirus est la cause unique des crises aplastiques (62). Une transmission du virus B19 dans une salle d'hôpital entre deux patientes atteintes d'hémolyse chronique ayant entraîné une crise d'érythroblastopénie chez la patiente contaminée a même été décrite (36). De véritables épidémies de crises aplastiques avec infection par le parvovirus survenues chez des drépanocytaires ont été constatées à plusieurs reprises à la Jamaïque (37, 83). Aux États-Unis 26 cas de cette association ont été relevés au cours d'une

épidémie de mégalérythème épidémique survenue dans la partie nord-ouest de l'Etat d'Ohio (80). On admet actuellement qu'environ 90 % des crises sont déclenchées par une infection à parvovirus, les autres étant associées à une autre infection ou restant sans cause déclenchante décelable. Ainsi dans une série de 24 patients en crise aplastique sur fond d'hyperhémolyse chronique étudiée par Lefrère *et al.* (49), 21 présentaient une virémie à parvovirus ou des anticorps spécifiques IgM, mais aucun marqueur de cette infection n'a été retrouvé chez les 3 autres patients. Par contre, on a aussi rapporté des cas doubles dans lesquels les patients présentaient à la fois une infection à parvovirus et une autre infection, par exemple une salmonellose (37).

Mécanisme par lequel le parvovirus provoque les crises aplastiques

Ce mécanisme a été élucidé ces dernières années, principalement grâce à des expériences d'infection *in vitro* de cultures de cellules médullaires et à des infections expérimentales réalisées chez des volontaires sains. On a ainsi montré que le virus se multiplie électivement dans les éléments précurseurs les plus primitifs de la lignée rouge (90, 100); des sérums de sujets naturellement infectés contenant des particules virales B19 inhibent spécifiquement la formation en culture des colonies dérivées de ces précurseurs (34, 77, 80). L'effet est plus prononcé sur les précurseurs CFU-E («colony-forming units-erythroid») que sur les précurseurs plus primitifs BFU-E («burst-forming units-erythroid») (65, 100). Le virus est visible en microscopie électronique dans le noyau de ces précurseurs 24 heures après l'infection des cultures de moelle osseuse et est à son maximum d'abondance après 48 heures (100). Après ce délai le nombre de copies du génome viral par cellule est d'environ 25.000 à 30.000 (71). La réplication intense du virus dans les noyaux des éléments érythroïdes médullaires arrête leurs mitoses: l'effet est purement cytotatique sans qu'il y ait intégration de l'ADN viral dans le génome des cellules infectées (82). Le fait qu'en l'absence d'infection à parvovirus, le nombre des mitoses de ces précurseurs soit fortement augmenté au cours des hémolyses chroniques facilite la réplication du virus et explique la concentration élevée de celui-ci dans le sérum des patients pendant les crises (20). En fait même les sujets sains qui s'infectent font une aplasie transitoire de la lignée rouge, mais celle-ci reste asymptomatique. Ce fut par exemple le cas de volontaires sains infectés par voie intranasale au cours de deux expérimentations faites chez 7 sujets au total (5, 77): on constata chez tous une baisse du taux de l'hémoglobine de 2 à 3 g/dl au cours de la deuxième semaine qui suivit l'inoculation. Leurs échantillons de moelle osseuse présentèrent une absence presque totale de précurseurs au 10^e jour, sans que les taux les plus bas d'hémoglobine atteints dépassent les taux limites inférieurs admis comme normaux. Chez les sujets sains une aplasie transitoire, même totale, n'entraîne pas d'anémie parce que la durée de l'arrêt de la production des érythrocytes dû au parvovirus, 6 à 10 jours, est faible par rapport à la durée moyenne de survie de leurs globules rouges qui est d'environ 110 jours (2, 19). L'aplasie a ainsi toutes les chances de passer inaperçue. Au cours des affections hémolytiques chroniques, par contre, la moelle osseuse fonctionne à la limite supérieure de sa capacité: la production des érythrocytes y est multipliée jusqu'à 5 à 8 fois, ce qui permet de maintenir entre les crises un taux

d'hémoglobine bas mais qui varie peu, même quand la survie globulaire n'est que de 12 à 24 jours, ce qui est souvent le cas : ainsi dans la drépanocytose majeure, la moyenne de la survie globulaire varie entre 12 et 17 jours d'après les séries étudiées (58, 90, 97). Cet équilibre entre production et destruction des érythrocytes est néanmoins fort instable, de sorte que toute interruption et même toute réduction importante de la production provoquent rapidement une anémie profonde, sans qu'il soit nécessaire d'invoquer une crise d'hyperhémolyse pour l'expliquer. Ces patients sont donc très dépendants d'une érythropoïèse intense : ainsi un enfant drépanocytaire qui présente un taux d'hémoglobine de 7 g/dl à l'état stationnaire peut n'avoir plus que 3 g/dl 2 à 8 jours après le début d'une crise d'érythroblastopénie due au parvovirus. Si le patient est immunocompétent, la réplication du virus est inhibée après quelques jours par les anticorps produits par ses immunocytes et l'aplasie est transitoire. Chez les immunodéficients, par contre, l'infection médullaire peut persister et entraîner une hypoplasie chronique (46, 93).

L'anémie du fœtus avec œdème et avortement consécutive à une infection transplacentaire à parvovirus s'explique par le même mécanisme : l'érythropoïèse du fœtus normal est beaucoup plus intense que celle de l'enfant et la survie moyenne de ses érythrocytes est nettement plus courte : 45 à 70 jours. L'aplasie provoquée par le virus entraîne de ce fait une anémie grave, d'où anoxie; celle-ci est responsable pour une grande part des nécroses tissulaires et de l'œdème (39).

Le mécanisme de la neutropénie que l'on constate au cours de la plupart des crises aplastiques n'est pas élucidé. Le virus est présent dans les granulocytes circulants et s'y multiplie (45); il n'inhibe cependant pas la multiplication dans les cultures des précurseurs des granulocytes (CFU-GM : «granulocyte-monocyte colony-forming units») comme il le fait pour celle des précurseurs de la lignée érythroïde (65).

Traitement des crises aplastiques

Comme ces crises évoluent normalement vers la reprise spontanée de l'érythropoïèse, leur traitement est essentiellement préventif et palliatif.

La *prévention* vise d'abord à limiter les risques de contagion encourus par les patients atteints d'hémolyse chronique en leur évitant autant que possible les contacts avec des personnes susceptibles de leur transmettre le parvovirus : membres de la famille ou compagnons de classe d'enfants présentant un mégalérythème épidémique, personnes en crise d'érythroblastopénie sur terrain d'hyperhémolyse; ces dernières sont contagieuses dès le début de leurs symptômes et le restent durant environ une semaine, tandis que les personnes atteintes de mégalérythème ne le sont généralement plus après le début du rash. Il a été proposé d'injecter de l'antiglobuline humaine à haut titre en anticorps antiparvovirus aux patients atteints d'hyperhémolyse chronique qui ont été en contact avec des personnes susceptibles d'être infectées (36), mais l'efficacité de ce mode de prévention n'a pas été contrôlée. Les enfants à risque doivent en tout cas être surveillés : leurs parents devraient être informés du danger des crises et de leurs symptômes afin d'être à même de demander à temps l'assistance médicale nécessaire, par exemple en cas d'apathie inhabituelle ou de

tendance léthargique. Il a été estimé qu'en cas d'infection à parvovirus d'un membre de sa famille habitant avec lui, le drépanocytaire non immun a environ 50% de chances de faire une crise d'érythroblastopénie (20). Les sécrétions respiratoires et les urines étant les sources principales de contagion, l'hygiène personnelle, notamment les lavages de mains fréquents, contribue à limiter les risques de contagion.

Un vaccin antiparvovirus serait en principe très utiles aux patients souffrant d'hyperhémolyse chronique, puisque l'infection confère une immunité durable; le développement d'un tel vaccin a été malheureusement freiné par le fait que le parvovirus humain n'a pu jusqu'ici être transmis à l'animal ni multiplié *in vitro*, sauf en culture de moelle osseuse humaine.

Comme on ne connaît pas actuellement de substance active sur le parvovirus, le *traitement* des sujets en crise aplastique survenant sur un terrain d'hyperhémolyse reste purement symptomatique. Cette complication menace fréquemment la vie du patient, aussi les transfusions de concentrés globulaires sont-elles souvent indiquées en attendant la reprise de l'érythropoïèse; elles sont même dans certains cas d'une urgence extrême. Le débit des transfusions doit être adapté à l'instabilité cardiovasculaire marquée que présentent ces sujets, qui les rend très sensibles à toute surcharge circulatoire; l'administration simultanée d'oxygène est généralement indiquée. Avant de transfuser un patient en crise d'érythroblastopénie, il est cependant indispensable de vérifier s'il n'est pas déjà en phase de reprise de l'érythropoïèse: si c'est le cas, il faut éviter autant que possible les transfusions, qui retardent la guérison. Une reprise lente ou incomplète peut aussi résulter d'un déficit associé de fer ou de folate (37): le cas échéant un tel déficit doit être recherché et, éventuellement, être corrigé.

Conclusion

La découverte d'une espèce de Parvovirus pathogène pour l'homme a permis d'élucider la cause d'une série de syndromes ou affections, les uns bénins, comme le mégalérythème épidémique, d'autre graves, comme les avortements avec œdème fœtal ou les crises d'aplasie aiguë de la lignée rouge qui affectent les sujets atteints de maladie hémolytique chronique, principalement la drépanocytose majeure et la sphérocytose héréditaire. Elle a permis d'élucider le mécanisme de ces dernières, resté hypothétique pendant des dizaines d'années: elles sont essentiellement dues à la combinaison de l'arrêt temporaire de la production des érythrocytes qu'entraîne l'infection des précurseurs érythroïdes par le virus avec une anomalie intrinsèque des globules rouges qui raccourcit considérablement leur survie moyenne dans la circulation, d'où crise aiguë de déglobulisation. Cette découverte n'a eu malheureusement que peu d'impact jusqu'à présent sur la prévention et le traitement des crises. Ce dernier continue à reposer principalement sur les transfusions sanguines, avec les difficultés et les risques que comporte ce traitement, surtout en milieu tropical. Quant à la prévention, elle consiste essentiellement dans l'information des parents des enfants à risque et l'hygiène personnelle et à réduire autant que possible les contacts des sujets atteints d'hyperhémolyse chronique avec les personnes susceptibles de leur transmettre l'infection à parvovirus. La découverte

du virus causal devrait cependant avoir pour conséquence la mise au point d'un vaccin antiparvovirus qui pourrait être très efficace puisque l'infection naturelle est suivie d'une immunité de longue durée, mais cette mise au point a échoué jusqu'ici devant l'échec des tentatives de cultiver le virus et de l'entretenir chez l'animal. La mise au point d'un tel vaccin sera néanmoins vraisemblablement réalisable par génie génétique dans un proche avenir et pourrait être facilitée par le fait que des zones d'homologie existent entre l'ADN du parvovirus sérique humain et celui de certains parvovirus de mammifères.

REFERENCES

1. Anand A, Gray ES, Brown CBT, Clewley JP, Cohen BJ: Human parvovirus infection in pregnancy and hydrops fetalis. *N. Engl. J. Med.*, 1987, **316**, 183-186.
2. Anderson LJ: The emerging story of a human parvovirus-like agent. *J. Hyg.*, 1982, **89**, 1-8.
3. Anderson MJ, Davis LR, Hodgson J, Jones SE, Murtaza L, Pattison JR, Stroud CE, White JM: Occurrence of infection with a parvovirus-like agent in children with sickle cell anaemia during a two-year period. *J. Clin. Pathol.*, 1983, **35**, 744-749.
4. Anderson MJ, Davis LR, Jones SE, Pattison JR, Serjeant GR: The development and use of an antibody capture radioimmunoassay for specific IgM to a human parvovirus-like agent. *J. Hyg.*, 1982, **88**, 309-324.
5. Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, Willman JS, Jones SE, Kidd IM, Pattison JR, Tyrell DAJ: Experimental parvoviral infection in humans. *J. Infect. Dis.*, 1985, **152**, 257-265.
6. Anderson, MJ, Jones SE, Fischer-Hoch SP, Lewis E, Hall SM, Bartlett CLR, Cohen BJ, Mortimer PP, Pereira MS: Human parvovirus, the cause of erythema infectiosum (fifth disease)? *Lancet*, 1983, **1**, 1378.
7. Anderson MJ, Jones SE, Minson AC: Diagnosis of human parvovirus infection by dot-blot hybridization using cloned viral DNA. *J. Med. Virol.*, 1985, **15**, 163-172.
8. Anderson MJ, Khoussam MN, Mawxell DJ, Gould SJ, Happerfield LC, Smith WJ: Human parvovirus B19 and hydrops fetalis. *Lancet*, 1988, **1**, 535.
9. Anderson MJ, Lewis E, Kidd IM, Hall SM, Cohen BJ: An outbreak of erythema infectiosum associated with human parvovirus infection. *J. Hyg.*, 1984, **93**, 85-93.
10. Anderson MJ, Tsou C, Parker RA, Chorba TL, Wulff H, Tattersall P, Mortimer PP: Detection of antibodies and antigens of human parvovirus B19 by enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, 1986, **24**, 522-526.
11. Bartolomi-Corsi O, Azzi A, Moffini M, Fanci R, Rossi-Ferrini P: Human parvovirus infection in haemophiliacs first infused with treated clotting factor concentrates. *J. Med. Virol.*, 1988, **25**, 165-176.
12. Bertrand Y, Lefrere JJ, Leverger G, Courouce AM, Feo C, Clark M, Schaison G, Soulier JP: Autoimmune haemolytic anaemia revealed by human parvovirus-linked erythroblastopenia. *Lancet*, 1985, **2**, 382-383.
13. Bond PR, Caul EO, Usher J, Cohen BJ, Clewley JP, Field AM: Intrauterine infection with human parvovirus. *Lancet*, 1986, **1**, 448-449.
14. Brown T, Anand A, Ritchie LD, Clewley JP, Reid TMS: Intrauterine parvovirus infection associated with hydrops fetalis. *Lancet*, 1984, **2**, 1033-1034.
15. Brownell AI, McSwiggan D, Cubitt WD, Anderson MJ: Aplastic and hypoplastic episodes in sickle cell disease and thalassaemia intermedia. *J. Clin. Pathol.*, 1986, **39**, 121-124.
16. Burton PA: Intracellular inclusions in marrow of a hydropic fetus due to parvovirus infection. *Lancet* 1986, **2**, 1155.
17. Burton PA, Caul EO: Fetal cell tropism of human parvovirus B19. *Lancet*, 1988, **1**, 767.
18. Caul EO, Usher MJ, Burton PA: Intrauterine infection with human parvovirus B19: a light and electron microscopy study. *J. Med. Virol.*, 1988, **24**, 55-66.
19. Charney E, Miller G: Reticulocytopenia in sickle cell disease: aplastic episodes in the course of sickle cell disease in children. *Am. J. Dis. Child.*, 1964, **107**, 450-455.
20. Chorba T, Coccia R, Holman RC, Tattersall P, Anderson LJ, Sudman J, Young NS, Kurczynski E, Saarinen UM, Moir R, Lawrence DN, Jason JM, Evatt B: The role of parvovirus B19 in aplastic crisis and erythema infectiosum (fifth disease). *J. Infect. Dis.*, 1986, **154**, 383-393.
21. Clewley JP: Biochemical characterization of a human parvovirus. *J. Gen. Virol.*, 1984, **64**, 241-245.
22. Clewley JP: Detection of human parvovirus using a molecularly cloned probe, *J. Med. Virol.*, 1985, **15**, 173-181.

23. Cohen BJ, Buckley MM: The prevalence of antibody to human parvovirus B19 in England and Wales. *J. Med. Microbiol.*, 1988, **25**, 151-153.
24. Cohen BJ, Buckley MM, Clewley JP, Jones VE, Puttick AH, Jacoby RK: Human parvovirus infection in early rheumatoid and inflammatory arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 1986, **45**, 832-838.
25. Cohen BJ, Mortimer PP, Pereira MS: Diagnostic assays with monoclonal antibodies for the human serum parvovirus-like virus (SPLV). *J. Hyg.*, 1983, **91**, 113-130.
26. Conrad ME, Studdard H, Anderson LJ: Case report: aplastic crisis in sickle cell disorders: bone marrow necrosis and human parvovirus infection. *Am. J. Med. Sci.*, 1988, **295**, 212-215.
27. Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdows D: Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet*, 1975, **1**, 72-73.
28. Cotmore SF, Tattersall P: Characterization and molecular cloning of a human parvovirus genome. *Science*, 1984, **226**, 1161-1165.
29. Courouce AM, Ferchal F, Morinet F, Muller A, Drouet J, Soulier JP, Perol Y: Human parvovirus infections in France. *Lancet*, 1984, **1**, 160.
30. De Caluwe JP, Morinet F, Perol Y, Burtonboy G: Erythroblastopénies aiguës et polyarthralgies associées à l'infection par le parvovirus sérique humain (PSH-B19). *Acta Clin. Belg.*, 1987, **42**, 437-444.
31. Denning DW, Amos A, Rudge P, Cohen BJ: Neuralgic amyotrophy due to parvovirus infection. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 1987, **50**, 641-642.
32. Diggs LW: Sickle cell crises. *Amer. J. Clin. Path.*, 1965, **44**, 1-8.
33. Doran JM, Teall AJ: Neutropenia accompanying erythroid aplasia in human parvovirus infections. *Brit. J. Haematol.*, 1988, **69**, 287-288.
34. Duncan JR, Cappellini MD, Potter CG, Anderson MJ, Kurtz JB, Weatherall DJ: Aplastic crisis due to parvovirus infection in pyruvate kinase deficiency. *Lancet*, 1983, **2**, 14-16.
35. Eriksson BM, Strömberg A, Krøger A: Human parvovirus B19 infection with severe anemia affecting mother and son, *Scand. J. Infect. Dis.*, 1988, **20**, 335-337.
36. Evans JPM, Rossiter MA, Kumaran TO, Marsch GW, Mortimer PP: Human parvovirus aplasia: a case due to cross infection in a ward. *Br. Med. J.*, 1984, **288**, 681.
37. Goldstein AR, Anderson MJ, Serjeant GR: Parvovirus associated aplastic crisis in homozygous sickle cell disease. *Arch. Dis. Child.*, 1987, **62**, 585-588.
38. Gray ES, Anand A, Brown T: Parvovirus infection in pregnancy. *Lancet*, 1986, **1**, 208.
39. Gray ES, Davidson RJL, Anand A: Human parvovirus and fetal anaemia. *Lancet*, 1987, **1**, 1144.
40. Hammond GW, Hazelton PR, Chuang I, Klisko B: Improved detection of viruses by electron microscopy after direct ultracentrifuge preparation of specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 1981, **14**, 210-221.
41. Hilkovitz G: Sickle cell disease. The «aplastic crisis» and erythroid maturation defect occurring simultaneously in three members of a family. *Arch. Intern. Med.*, 1960, **105**, 76-82.
42. Kelleher JF Jr, Luban NLC, Cohen BJ, Mortimer PP: Human serum parvovirus as the cause of aplastic crisis in sickle cell disease. *Am. J. Dis. Child.*, 1984, **138**, 401-403.
43. Kelleher JR Jr, Luban NLC, Mortimer PP, Kamimura T: Human serum «parvovirus»: a specific cause of aplastic crisis in children with hereditary spherocytosis. *J. Pediatr.*, 1983, **102**, 720-722.
44. Kinney JS, Anderson LJ, Farrar J, Strikas RA, Kumar ML, Kliegman RM, Seyer JL, Hurwitz ES, Sikes RK: Risk of adverse outcomes of pregnancy after human parvovirus B19 infection. *J. Infect. Dis.*, 1988, **157**, 663-667.
45. Kurtzman GJ, Gascon P, Caras M, Cohen B, Youg NS: B19 parvovirus replicates in circulating cells of acutely infected patients. *Blood*, 1988, **71**, 1448-1454.
46. Kurtzman GJ, Ozawa K, Cohen B, Hanson G, Oseas R, Young NS: Chronic bone marrow failure due to persistent B19 parvovirus infection. *N. Engl. J. Med.*, 1987, **317**, 287-294.
47. Lefrère JJ, Courouce AM: Aplastic crisis and erythema infectiosum due to human parvovirus infection. *Br. Med. J.*, 1985, **290**, 1112.
48. Lefrère JJ, Courouce AM, Bertrand Y: Aplastic crisis in haemolytic anaemias not associated with human parvovirus infection, *J. Clin. Pathol.*, 1987, **40**, 700.
49. Lefrère JJ, Courouce AM, Bertrand Y, Girot R, Soulier JP: Human parvovirus and aplastic crisis in chronic hemolytic anemia: a study of 24 observations. *Am. J. Hematol.*, 1986, **23**, 271-275.
50. Lefrère JJ, Courouce AM, Girot R, Bertrand Y, Soulier JP: Six cases of hereditary spherocytosis revealed by human parvovirus infection. *Br. J. Haematol.* 1986, **62**, 653-658.
51. Lefrère JJ, Courouce AM, Muller JY, Clark M, Soulier JP: Human parvovirus and purpura. *Lancet*, 1985, **2**, 730.

52. Lefrere JJ, Courouce AM, Soulier JP, Cordier MP, Guesne-Girault MC, Polonovski C, Bensman A: Henoch-Schönlein purpura and human parvovirus infection. *Pediatrics*, 1986, **78**, 183-184.
53. Lefrere JJ, Dumez Y, Courouce AM, Deschene G: Intrauterine infection with human parvovirus. *Lancet*, 1986, **1**, 449.
54. Lefrere JJ, Girot R, Courouce AM, Maier-Redelsperger M, Cornu P: Familial human parvovirus infection associated with anemia in siblings with heterozygous β -thalassemia. *J. Infect. Dis.*, 1986, **153**, 977-979.
55. Lefrere JJ, Olivier C, Courouce AM: Erythroblastopénie et syndrome méningé fébrile dus au parvovirus chez un enfant drépanocytaire homozygote. *Presse Méd.*, 1985, **14**, 228-229.
56. Leikin SL: The aplastic crisis of sickle-cell disease. Occurrence in several members of families within a short period of time. *Am. J. Dis. Child.*, 1957, **93**, 128-139.
57. Li-Loong TC, Coyle PV, Anderson MJ, Allen GE, Connolly JH: Human parvovirus-associated vasculitis. *Postgr. Med. J.*, 1986, **62**, 493-494.
58. McCurdy PR, Sherman AS: Irreversibly sickled cells and red cell survival in sickle cell anemia: a study with both $DF^{32}P$ and ^{51}Cr . *Am. J. Med.*, 1978, **64**, 253-258.
59. Mann JR, Cotter KP, Walker RA, Bird GWG, Stuart J: Anaemic crisis in sickle cell disease. *J. Clin. Pathol.*, 1975, **28**, 341-344.
60. Megas H, Papadiki E, Constantinides B: Salmonella septicaemia and aplastic crisis in patients with sickle cell anaemia. *Acta Paediatr.* 1961, **50**, 517-521.
- 61a Morinet F, Monsuez JJ, Roger P, Perol Y: Parvovirus B19 associated with pseudoappendicitis. *Lancet*, 1987, **2**, 1466.
- 61b Morinet F, Tratschin JD, Perol Y, Siegl G: Comparison of 17 isolates of the human parvovirus B19 by restriction enzyme analysis. *Arch. Virol.*, 1986, **90**, 165-172.
62. Mortimer PP: Hypothesis: the aplastic crisis of hereditary spherocytosis is due to a single transmissible agent. *J. Clin. Pathol.*, 1983, **36**, 445-448.
63. Mortimer PP, Cohen BJ, Buckley MM, Cradock-Watson JE, Ridehalgh MKS, Burkhardt F, Schilt U: Human parvovirus and the fetus. *Lancet*, 1985, **2**, 1012.
64. Mortimer PP, Cohen BJ, Rossiter MA, Fairhead SM, Rahman AFMS: Human parvovirus and purpura. *Lancet*, 1985, **2**, 730-731.
65. Mortimer PP, Humphries RK, Moore JG, Purcell RH, Young NS: A human parvovirus-like virus inhibits haematopoietic colony formation *in vitro*. *Nature*, 1983, **302**, 426-429.
66. Mortimer PP, Luban NLC, Kelleher JF, Cohen BJ: Transmission of serum parvovirus-like virus by clotting factor concentrates. *Lancet*, 1983, **2**, 482-484.
67. Ng, JP, Cumming RLC, Horn EH, Hogg RB: Hereditary spherocytosis revealed by human parvovirus infection. *Br. J. Haematol.*, 1987, **65**, 379-380.
68. Nunoue T, Okochin K, Mortimer PP, Cohen BJ: Human parvovirus (B19) and erythema infectiosum. *J. Pediatr.*, 1985, **107**, 38-40.
69. Okochi K, Mori R, Miyazaki M, Cohen BJ, Mortimer PP: Nakatani antigen and human parvovirus (B19). *Lancet*, 1984, **1**, 160-161.
70. Owren PA: Congenital hemolytic jaundice: the pathogenesis of the « hemolytic crisis ». *Blood*, 1948, **3**, 231-248.
71. Ozawa K, Kurtzman G, Young N: Replication of the B19 parvovirus in human bone marrow cell cultures. *Science*, 1986, **233**, 883-886.
- 72a Ozawa K, Young N: B19 parvovirus capsid and non-capsid proteins detected in human erythroid bone marrow cultures. *J. Virol.*, 1987, **61**, 2627-2630.
- 72b Pekrun A, Eiffert H, Eber SW, Schroter W: Aplastische Krisen bei hereditärer Sphärozytose. *Monatsschr. Kinderheilk.*, 1988, **136**, 173-175.
73. Pardoll DM, Rodeheffer RJ, Smith PRL, Charache S: Aplastic crisis due to extensive bone marrow necrosis in sickle cell disease. *Arch. Int. Med.*, 1982, **142**, 2223-2225.
74. Pattison JR, Jones SE, Hodgson J, Davis LR, White JM, Stroud CE, Murtaza L: Parvovirus infections and hypoplastic crisis in sickle-cell anaemia. *Lancet*, 1981, **1**, 664-665.
75. Paver WK, Clarke SKR: Comparison of human fecal and serum parvo-like viruses. *J. Clin. Microbiol.*, 1976, **4**, 67-70.
76. Porter HJ, Khong TY, Evans MF, Chan VT-W, Fleming KA: Parvovirus as a cause of hydrops fetalis: detection by *in situ* DNA hybridisation. *J. Clin. Pathol.*, 1988, **41**, 381-383.
77. Potter CG, Potter AC, Hatton CSR, Chapel HM, Anderson AM, Pattison JR, Tyrell DAJ, Higgins PG, Willman JS, Parry HF, Cotes PM: Variation of erythroid and myeloid precursors in the marrow and peripheral blood of volunteer subjects with human parvovirus (B19). *J. Clin. Invest.*, 1987, **79**, 1486-1492.
78. Rao KRP, Patel AR, Anderson MJ, Hodgson J, Jones SE, Pattison JR: Infection with parvovirus-like virus and aplastic crisis in chronic hemolytic anemia. *Ann. Intern. Med.*, 1983, **98**, 930-932.
79. Reid DM, Brown T, Reid TMJ, Rennie JAN, Eastmond CJ: Human parvovirus associated arthritis: a clinical and laboratory description. *Lancet*, 1985, **1**, 422-425.

80. Saarinen, UM, Chorba TL, Tattersall P, Young NS, Anderson LJ, Palmer E, Coccia PF: Human parvovirus B19-induced epidemic acute red cell aplasia in patients with hereditary hemolytic anemia. *Blood*, 1986, **67**, 1411-1417.
81. Saunders PWG, Reid MM, Cohen BJ: Human parvovirus induced cytopenias: a report of five cases. *Br. J. Haematol.*, 1986, **63**, 407-410.
82. Schwarz TF, Roggendorf M, Janka-Schaub G: Aplastic crisis caused by parvovirus B19 infection. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1988, **7**, 87-88.
83. Serjeant GR, Mason K, Topley JM, Serjeant BE, Pattison JR, Jones SE, Mohamed R: Outbreak of aplastic crises in sickle cell anaemia associated with parvovirus-like agent. *Lancet*, 1981, **2**, 595-597.
84. Shade RO, Blundell MC, Cotmore SF, Tattersall P, Astell CR: Nucleotide sequence and genome organization of human parvovirus B19 isolated from the serum of a child during aplastic crisis. *J. Virol.*, 1986, **58**, 921-936.
85. Shneerson JM, Mortimer PP, Vandervelde EM: Febrile illness due to a parvovirus. *Br. Med. J.*, 1980, **280**, 1580.
86. Siegl G: *The parvoviruses*, Vienna, Springer-Verlag, 1976, 1-109.
87. Simpson RW, McGinty L, Simon L, Smith CA, Godzesskiw, Boyd JR: Association of parvovirus with rheumatoid arthritis in humans. *Science*, 1984, **223**, 1425-1428.
88. Singer K, Motulsky AG, Wile SA: Aplastic crisis in sickle cell anemia. A study of its mechanism and its relationship to other types of hemolytic crises. *J. Lab. Clin. Med.*, 1950, **35**, 721-736.
89. Smits HL, Oski FA, Brody JI: The hemolytic crisis of sickle cell disease. The role of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *J. Pediatrics*, 1969, **74**, 544-551.
90. Srivastava A, Lu L: Replication of B19 parvovirus in highly enriched hematopoietic progenitor cells from normal human bone marrow. *J. Virol.*, 1988, **62**, 3059-3063.
91. Summers J, Jones SE, Anderson MJ: Biochemical characterization of the genome of the agent of erythrocyte aplasia permits its classification as a human parvovirus. *J. Gen. Virol.*, 1983, **64**, 2527-2532.
92. Tomiyama J, Adachi Y, Hanada T, Matsunaga Y: Human parvovirus B19 induced aplastic crisis in autoimmune haemolytic anaemia. *Brit. J. Haematol.*, 1988, **69**, 288-289.
93. Van Horn DK, Mortimer PP, Young N, Hanson GR: Human parvovirus associated red cell aplasia in the absence of underlying hemolytic anemia. *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 1986, **8**, 235.
94. Walsh KJ, Armstrong RD, Turner AM: Brachial plexus neuropathy associated with human parvovirus infection. *Br. Med. J.*, 1988, **296**, 896.
95. Weiland HT, Vermey-Keers C, Salimans MM, Fleuren GJ, Verwey RA, Anderson MJ: Parvovirus B19 associated with fetal abnormality. *Lancet*, 1987, **1**, 682-683.
96. White DG, Woolf AD, Mortimer PP, Cohen BJ, Blake DP, Bacon PA: Human parvovirus arthropathy. *Lancet*, 1985, **1**, 419-421.
97. Wintrobe MM: *Clinical Hematology*, 8th ed., Philadelphia, Lea & Febiger, 1981, 842.
98. Woernle CH, Anderson LJ, Tattersall P, Davidson JM: Human parvovirus B19 infection during pregnancy. *J. Infect. Dis.*, 1987, **156**, 17-20.
99. Young N: Hematologic and hematopoietic consequences of B19 parvovirus infection. *Semin. Hematol.*, 1988, **25**, 159-172.
100. Young N, Harrison M, Moore J, Mortimer P, Humphries RK: Direct demonstration of the human parvovirus in erythroid progenitor cells infected *in vitro*. *J. Clin. Invest.*, 1984, **74**, 2024-2032.
101. Young NS, Mortimer PP, Moore JG, Humphries RK: Characterization of a virus that causes transient aplastic crisis. *J. Clin. Invest.*, 1984, **73**, 224-230.