

Encefalite erpetica neonatale: diagnosi molecolare e sierologica

Herpetic encephalitis: sierological and molecular diagnosis

Summary

Herpesviruses cause various acute, subacute, and chronic disorders of the central (CNS) and peripheral (PNS) nervous systems in adults and children. Both immunocompetent and immunocompromised individuals may be affected. Neurological complications include encephalitis produced by type 1 Herpes Simplex virus (HSV-1). HSV accounts for approximately 2 to 19% of all cases of encephalitis and 20 to 75% of all cases of necrotizing encephalitis. Herpes Simplex encephalitis has a yearly incidence of one to four per million people and may be associated with significant morbidity and mortality without treatment. A clinical diagnosis of herpes simplex encephalitis is unreliable, as none of the presenting symptoms (fever, focal seizures, hemiparesis, and altered level of consciousness) is pathognomonic of Herpes Simplex encephalitis. Anyway early diagnosis of HSV encephalitis is important to start adequate treatment and to exclude other diseases that have a similar clinical presentation. Traditionally, HSV central nervous system infections have been diagnosed by inoculation of cell culture with brain biopsy material. Actually Polymerase chain reaction (PCR) detection of HSV in CSF has become the 'gold standard' for diagnosis of HSV encephalitis. In cases of neonate infections, serology is used as an adjunct to PCR.

Collini L, Bassetti D, Pedrotti C, et al. Herpetic encephalitis: sierological and molecular diagnosis. *Trends Med* 2011; 11(4):187-190.

©2011 Pharma Project Group srl. ISSN: 1594-2848

**Lucia Collini¹, Danila Bassetti¹,
Cristina Pedrotti¹, Annalisa
Cucco², Fabio Pederzini²,
Paolo Lanzafame¹**

¹U.O. Microbiologia

²U.O. Patologia Neonatale

Ospedale S. Chiara - Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari Provincia Autonoma di Trento

Key words:

**herpetic encephalitis
polymerase chain reaction
immune system
blood-cerebrospinal fluid
barrier**

 **Lucia Collini**

U.O. Microbiologia

Ospedale S. Chiara

Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari

Provincia Autonoma di Trento

L. go Medaglie d'Oro, 9

38123 Trento

Tel. +39.0461.903270

Fax +39.0461.903615

e-mail: lucia.collini@apss.tn.it

Introduzione

Herpes simplex virus tipo 1 (HSV-1) and tipo 2 (HSV-2), Varicella-zoster virus (VZV), Cytomegalovirus (CMV), e Epstein-Barr virus (EBV) possono essere causa di una variegata molteplicità di infezioni a carico del sistema nervoso centrale¹⁻⁶. Tra questi virus, si stima che HSV sia causa nel 2-19% di tutti i casi di encefalite, con una incidenza da 1 a 4 casi per milione di persone⁶ e dal 20 al 75% delle encefaliti necrotizzanti^{6,7}. Questa infezione spesso ha decorso sfavorevole e senza un trattamento mirato è associata ad un notevole tasso di morbilità e mortalità⁷. L'encefalite neonatale è generalmente conseguenza di una trasmissione perinatale di HSV-2⁸. Diventa fondamentale in questo caso una diagnosi tempestiva, con trattamento ade-

guato⁸⁻¹². Tuttavia, dal momento che nessuno dei sintomi evidenti (febbre, emiparesi, irritabilità, sequestro focale, alterato livello di coscienza) è patognomonic di encefalite erpetica, la diagnosi clinica è inaffidabile. Pertanto la diagnosi di laboratorio è di notevole ausilio, soprattutto se tempestiva. Attualmente le colture cellulari sono state abbandonate a favore della ricerca con tecniche di biologia molecolare del DNA del virus e la polymerase chain reaction (PCR) è diventata il 'gold standard' per la diagnosi di encefalite da HSV^{3,13-15}. Nei casi di encefalite erpetica neonatale la ricerca sierologica affianca la ricerca diretta. Alcuni autori^{16,17} sostengono che la dimostrazione di anticorpi anti HSV intratecali può essere significativa in caso di aumento rispetto agli anticorpi sierici, in vir-

tù del fatto che a livello di sistema nervoso centrale la stimolazione antigenica è prolungata in seguito all'infezione. Contrariamente la ricerca diretta degli antigeni virali su liquor, utilizzando metodi immunoenzimatici (ELISA), non è efficace, mostrando una sensibilità molto bassa rispetto alla ricerca indiretta degli anticorpi¹⁸.

Caso clinico

Dimessa senza problematiche cliniche dall'ospedale di nascita con allattamento materno esclusivo I.E. viene ricoverata, in ottava giornata di vita, presso il reparto di Patologia Neonatale per febbre (TC 38.1) senza localizzazioni di infezioni evidenti. La piccola si presenta irritabile, con pianto lamentoso e restante obiettività negativa.

All'ingresso gli indici di flogosi (proteina C reattiva, procalcitonina) non mostrano rialzi; l'emocoltura, l'urinocoltura e i tamponi superficiali sono negativi eccetto il tampone nasale risultato positivo per *Streptococcus agalactiae*. Viene impostata la terapia antibiotica con Ampicillina e Netilmicina.

In seconda giornata viene eseguita rachicentesi con esame chimico-fisico del liquor che evidenzia valori di proteine 41 mg/dl e glucosio 28 mg/dl; ed esame colturale negativo per batteri. La PCR su liquor per *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* e *Haemophilus influenzae* dà esito negativo.

La PCR su liquor per HSV-1 risulta positiva, per cui viene associato in terapia l'aciclovir con graduale risoluzione dell'irritabilità della bambina e miglioramento fino a completa scomparsa degli episodi di apnea segnalati dal giorno precedente. La terapia prosegue per 21 giorni,

come da protocollo e viene ben tollerata.

Inoltre vengono eseguiti i tamponi nasale e faringeo per *virus respiratorio sinciziale*, la ricerca su urine di DNA di *Cytomegalovirus* e la ricerca fecale per *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter* che risultano negativi; debolmente positiva la ricerca degli antigeni per *Adenovirus* e *Rotavirus* su feci.

La PCR su liquor per *Enterovirus* e la PCR su sangue per HSV risultano negative.

Per quanto riguarda la ricerca anticorpale nella bimba si riscontrano anticorpi anti-HSV-1 IgG presenti e IgM assenti (in due controlli successivi).

In seguito alla positività dei test molecolari su liquor per HSV-1 viene investigata la madre. Un tampone cervicale in biologia molecolare dà esito negativo per HSV-1 e 2, mentre l'esame sierologico rileva IgM debolmente positive e IgG presenti.

Conclusioni

La diagnosi precoce di encefalite erpetica risulta essere fondamentale per il buon esito della infezione. Tra i metodi di laboratorio, la ricerca del DNA di HSV su liquor tramite reazione di amplificazione genica rappresenta il metodo di riferimento ed è di notevole ausilio per il clinico nel trattamento del paziente¹⁹⁻²¹. La PCR nei neonati risulta il metodo di scelta^{7,13,14}, con ottimi risultati, non solo per i limiti che i metodi tradizionali di laboratorio presentano, ma anche per il fatto che la severità dell'infezione è legata a tre fattori principali: l'età del soggetto, il sito e l'immunocompetenza, in particolare relativamente all'immunità cellulo-mediata²²⁻²⁵.

Nei neonati la gravità dell'infezione da HSV è legata alla rela-

tiva immaturità del sistema immunitario; in questi pazienti infatti la risposta proliferativa dei linfociti T e la produzione di interferoni alfa e gamma sono ritardate, la moltiplicazione del virus non viene circoscritta come di norma al sito di penetrazione e si realizza una viremia prolungata. Ne consegue un'ampia estensione e disseminazione con il possibile coinvolgimento anche di più di un organo dove la lesione è fondamentalmente dovuta alla citolisi operata del virus. Nell'encefalite neonatale alla immaturità del sistema immunitario si associa l'immaturità delle barriere emato-encefalica ed emato-liquorale; ciò rende conto del facile passaggio del virus dal sangue, dove è peraltro presente ad alto titolo, al parenchima encefalico dove l'infezione assume in genere un aspetto diffuso (panencefalite).

Il sistema immunitario, a causa della sua immaturità, se da un lato non è in grado di contrastare la diffusione dell'infezione, dall'altro, non si rende responsabile dei danni immuno-mediate osservabili nell'adulto. Un altro fattore che sembra condizionare la severità della encefalite neonatale è il rapporto con il tipo di infezione materna, se primaria o ricorrente; la minore severità della malattia neonatale quando associata all'infezione ricorrente probabilmente riflette l'effetto positivo del trasferimento passivo di componenti immunitari materni.

Al contrario, nell'adulto non solo le barriere encefaliche sono funzionanti ma anche il sistema immunitario ha raggiunto la maturità. Nella infezione primaria la comparsa di IgM precede di poco o coincide con quella di IgG e IgA, è di breve durata ma può ripresentarsi anche in occasio-

ne di episodi ricorrenti; al contrario il livello di IgG, soprattutto, e di IgA tende a mantenersi per più tempo. Sebbene successive infezioni ricorrenti esercitano un progressivo effetto di richiamo sulla produzione anticorpale, ciascun episodio non modifica significativamente il livello di anticorpi circolanti la cui

presenza sia in termini quantitativi che qualitativi non sembra correlare con la frequenza e la gravità delle ricorrenze né sembra proteggere dalle reinfezioni. Mentre la risposta umorale iniziale verso HSV è relativamente tipo-specifica, col passar del tempo tende a presentare sempre più reazioni crociate di tipo;

questo fenomeno sembra legato alla progressiva inversione del rapporto quantitativo tra gli anticorpi diretti contro gli epitopi tipo-specifici e quelli tipo-comuni, entrambi presenti sulle glicoproteine virali; nelle risposte umorali iniziali prevarrebbero i primi, nelle risposte successive i secondi. **TiM**

Bibliografia

- Boivin G.** Diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. *Herpes* 2003; Suppl 2:48A-56A.
- Cinque P, Cleator GM, Weber T, et al.** The role of laboratory investigation in the diagnosis and management of patients with suspected herpes simplex encephalitis: a consensus; 1996: 270 N.
- DeBiasi RL, Kleinschmidt-DeMasters, Weinberg A, et al.** Use of PCR for the diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. *J Clin Vir* 2002; 25 (Suppl 1): S5-S11.
- Mitchell PS, Espy MJ, Smith TF, et al.** Laboratory diagnosis of central nervous system infections with herpes simplex virus by PCR performed with cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2873-2877.
- Casas I, et al.** Detection of both herpes simplex and varicella-zoster viruses in cerebrospinal fluid from patients with encephalitis. *J Med Virol* 1996; 50:82-92.
- Whitley RJ, Lakeman F.** Herpes simplex virus infections of the central nervous system: therapeutic and diagnostic considerations. *Clin Infect Dis* 1995; 20:414-420.
- Guffond T, Dewilde A, Lobert PE, et al.** Significance and clinical relevance of the detection of herpes simplex virus DNA by the polymerase chain reaction in cerebrospinal fluid from patients with presumed encephalitis. *Clin Infect Dis* 1994; 18:744-749.
- De Tiège X, Héron B, Lebon P, et al.** Limits of Early Diagnosis of Herpes Simplex Encephalitis in Children: A Retrospective Study of 38 Cases. *Clin Infect Dis* 2003; 36:1335-1339.
- Volpi A, Tommasi C.** Encefalite erpetica. *Neurol Sci* 2006; 27: XXXVII Congresso SIN
- Griffin DE.** Viral encephalomyelitis. *PLoS Pathogens* 2001; 7:1-4.
- Markoulatos P, Georgopoulou A, Sifakas N, et al.** Laboratory Diagnosis of Common Herpesvirus Infections of the Central Nervous System by a Multiplex PCR Assay. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 4426-4432.
- Watzinger F, Suda M, Preuner S, et al.** Real-time quantitative PCR assays for detection and monitoring of pathogenic human viruses in immunosuppressed pediatric patients. *J Clin Microbiol* 2004; 42:5189-5198.
- Rozenberg F, Lebon P.** Amplification and characterization of herpesvirus DNA in cerebrospinal fluid from patients with acute encephalitis. *J Clin Microbiol* 1991; 35:2869-2872.
- Mitchell PS, Espy MJ, Smith TF, et al.** Laboratory diagnosis of central nervous system infections with herpes simplex virus by PCR performed with cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2873-2877.
- Weidmann M, Meyer-König U, Hufert FT.** Rapid detection of herpes simplex virus and varicella-zoster virus infections by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2003; 41:1565-1568.
- Markoulatos P, Labropoulou V, Kordossi A, et al.** A combined indirect Elisa and immunoblotting for the detection of intrathecal herpes simplex virus IgG antibody synthesis in patients with herpes simplex virus encephalitis. *J Clin Lab Anal* 1995; 9:325-333.
- Roberg M, Forsberg P, Tegnell A, et al.** Intrathecal production of specific IgA antibodies in central nervous system infections. *J Neurol* 1995; 242: 390-397.
- Forsgren M, Sköldenberg B, Jeansson S, et al.** Serodiagnosis of herpes encephalitis by indirect enzyme-linked immunosorbent assay: experience from Swedish antiviral trial. *Ser Immun Infect Dis* 1989; 3:259-271.
- Vrioni G, Kalogeropoulos C, Gartzonika C, et al.** Usefulness of Herpes Consensus PCR methodology to routine diagnostic testing for herpesviruses in infections in clinical specimens. *Virology Journal*, Short report 2007; 4:59.
- Steiner I, Budka H, Chaudhuri A, et al.** Viral encephalitis: a review of diagnostic methods and guidelines for management. *Eur J Neurol* 2005; 12:331-343.
- Kleinschmidt-DeMasters BK.** Expanding Spectrum of Herpesvirus Infections Brain Pathology 2001; 11:440-451.
- Dorries R.** The role of T-cell-mediated mechanism in virus infections of the nervous system. *Curr Top Microbiol Immunol*

2001; 253:219-245.

23. Lyman MG, Enquist LW. Herpesvirus interactions with the host cytoskeleton. *J Virol* 2009; 83: 2058-2066.

24. Kopp SJ, Banisadr G, Glajch K,

et al. Infection of neurons and encephalitis after intracranial inoculation of herpes simplex virus requires the entry receptor nectin-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106:17916-17920.

25. Conrady CD, Drevets DA, Carr DJ. Herpes simplex type I (HSV-1) infection of the nervous system: is an immune response a good thing? *J. Neuroimmunol* 2010; 220:1-9.