

HHV-6 encephalitis in pediatric patient: case report

Agata Calvario¹, Dante Galeone², Maria Luisa Scarasciulli¹, Delio Gagliardi², Mariangela Satalino¹, Annamaria Pellegrino², Giuseppe Miragliotta¹

¹ U.O.C. Microbiologia e Virologia - Laboratorio di Virologia Diretta - A.O.U. Policlinico Bari

² U.O. Neurologia - Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII - A.O.U. Policlinico Bari

Key words: HHV-6, pediatric encephalitis, PCR Real Time

Encefalite da HHV-6 in un paziente pediatrico: un caso clinico

SUMMARY

We report the case of a seventeen-month-old child, with a monocular amaurosis, hospitalized for inconsolable crying followed by a deep sleepiness. At neurological examination, and in the absence of clearly focal neurological signs, the child seemed drowsy and could wake only by moderately intense stimuli. A modest metabolic acidosis and an occasional delay of brain electrical activity at EEG, especially on posterior regions of the right hemisphere, were reported. Cranial CT scan, encephalic NMR and ECG were negative. Standard analysis and isofocusing of cerebro-spinal fluid (CSF) were normal, while the virological analysis by Real Time PCR, performed on CSF and whole blood, revealed the presence of HHV-6 DNA. Guthrie Card, tested in triplicate, was positive for HHV-6 and negative for CMV. An antiviral, antibiotic and glucocorticoid therapy was started. Following clinical improvement, the little patient was dismissed with a diagnosis of HHV-6 encephalitis. Neurological damages linked to HHV-6 are documented in pediatric patients. But while the infection is suspected of possible vertical viral transmission, HHV-6 remains a little known and misdiagnosed virus.

Herpes virus umano 6 (HHV-6), isolato per la prima volta nel 1986 da sangue periferico di pazienti affetti da disordini linfoproliferativi, appartiene alla sottofamiglia β -*Herpesviridae* ed è correlato a HHV-7 e a Citomegalovirus (2).

Condivide con gli altri membri della famiglia *Herpesviridae* le stesse caratteristiche morfologiche: core con DNA lineare a doppio filamento, capsidico icosaedrico ed involucro esterno. Esistono due varianti del virus distinte tra loro geneticamente, HHV-6A e HHV-6B.

In generale, ampio tropismo tissutale e ristretto spettro d'ospite sono patognomici per HHV-6 e strettamente legati alla presenza, sulla superficie virale, del recettore specifico per CD46; grazie a questo, HHV-6 è in grado di infettare molti tipi cellulari quali macrofagi, cellule dendritiche, fibroblasti, cellule epiteliali e progenitori midollari.

È ampiamente diffuso nella popolazione umana; infatti oltre il 90% degli adulti hanno anticorpi specifici contro il virus (6). Il virus *in vivo* si replica principalmente nei linfociti T CD4+ attivati, cellule chiave per l'innescamento di tutte le risposte immunitarie di tipo adattivo.

HHV-6 deprime la risposta immunitaria dell'ospite, attuando strategie di mimetismo molecolare tramite la produzione di chemochine funzionali e dei rispettivi recettori.

L'immunosoppressione è amplificata dalla deplezione dei T CD4+ per via diretta (infezione) e tramite inibizione dei progenitori intratimici.

La variante HHV-6A, il cui ruolo epidemiologico e significato clinico sono ancora da chiarire, è sempre più frequentemente associata a disordini neurologici come, ad esempio, la sclerosi multipla e le tromboencefaliti (7).

La variante HHV-6B endemica è responsabile dell'infezione primaria che colpisce in genere i bambini di età compresa tra i 6-24 mesi, nota come esantema *subitum* o roseola *infantum*, una malattia caratterizzata da febbre, rash maculo-papulare, sintomi respiratori e talvolta convulsioni febbrili e coinvolgimento del sistema nervoso centrale (SNC).

L'infezione acuta da HHV-6 negli adulti immunocompetenti è rara, tuttavia può manifestarsi con una sindrome simil-mononucleosica con febbre e linfadenopatia periferica che, in alcuni casi, può evolvere verso quadri di epatite ed encefalite. Essa prevede la replicazione del virus a livello delle ghiandole salivari e la sua successiva secrezione mediante saliva (HHV-6B). In questa fase il virus può restare latente nei linfociti, monociti e a livello di vari distretti tissutali nei

quali permane con un basso livello di replicazione.

Negli individui immunocompromessi sono frequenti gli episodi di riattivazione del virus.

La trasmissione avviene quindi principalmente per via orizzontale attraverso la saliva e le secrezioni respiratorie sia di soggetti malati che di portatori. Tuttavia studi condotti su donne in gravidanza hanno evidenziato nel 20% dei casi la presenza di HHV-6 DNA proveniente da secrezioni cervicali; inoltre l'analisi di campioni di sangue cordonale di neonati apparentemente sani ha mostrato positività nello 0.3-1.6% dei casi, evidenze, quest'ultime, a supporto di una trasmissione verticale di tipo asintomatico (5).

Si riporta il caso di un bimbo di 17 mesi (Tabella 1), amaurotico in OS, ospedalizzato per pianto inconsolabile seguito da sonnolenza profonda e, successivamente, stato di sopore continuo.

In anamnesi, a 15 giorni di vita, è riferito un episodio di cianosi e difficoltà respiratoria; a 2 mesi presenza fenomeni ripetuti di perdita di coscienza successivi a pianto prolungato, ipertransaminasemia e addensamento parenchimale in sede paracardiaca all'RX torace; a 1 anno congiuntivite, rush cutaneo sul volto e dorso, riduzione di cellule TCD8+.

Nella stessa epoca veniva diagnosticato distacco essudativo della retina all'OS, presumibilmente di natura flogistica, correlata a malattia di Coats.

All'osservazione neurologica il piccolo appariva soporoso, risvegliabile con stimoli moderatamente intensi, in assenza di evidenti segni neurologici focali.

Gli esami d'urgenza evidenziavano modesta acidosi metabolica e saltuari rallentamenti dell'attività elettrica cerebrale, specie sulle regioni posteriori dell'emisfero destro all'EEG. TAC cranio, ECG e RMN encefalo risultavano negativi. L'analisi standard del liquor cerebro-spinale e l'isofocusing apparivano nella norma.

La ricerca virologica con tecnica PCR Real Time evidenziava 4.4 x 10² copie/ml di DNA HHV-6 nel liquor e 1.3 x 10⁷ copie/ml nel sangue intero. Anche la Guthrie Card della nascita, estratta con metodo DBS-test (Barbi et al.) era positiva in triplo per HHV-6, negativa per CMV.

Negativa la ricerca per CMV, VZV, EBV, HSV-1, HSV-2, HHV-7, Enterovirus sia su liquor che su sangue intero. Negativa la ricerca per batteri e miceti.

L'estrazione di acidi nucleici virali da liquido cerebro-spinale (acellulare) e da sangue *in toto* (cellulare) è stata eseguita

Corresponding author: Agata Calvario

Laboratorio di Virologia Diretta Cellulare e Molecolare

UOC Microbiologia e Virologia Policlinico Bari - Piazza G. Cesare 11, 70124 Bari - Tel.: 080 5593640 / 5448574

E-mail: agata_calvario@libero.it

con sistema automatico "X-tractor Gene™", Corbett Robotics, (Diatech) utilizzando il kit "Helix DNA plus" (Nanogen Advanced Diagnostics srl) secondo il protocollo commerciale. Come controllo interno era aggiunto ai campioni acellulari il gene della β-globina umana e fago, CPE-DNA® e CPE-RNA® rispettivamente (Nanogen Advanced Diagnostic srl).

L'amplificazione genomica è stata eseguita con sistema 7300 ABI PRISM (Applied Biosystems) utilizzando primers della regione genomica ORF 13R (Q-HHV-6 PCR Alert Kit - Nanogen Advanced Diagnostics Srl), con una sensibilità di 10 copie virali /ml di campione.

Alla luce dei risultati di laboratorio si iniziava terapia con aciclovir (5 mg / Kg, 3 volte/die), ceftriaxone (500 mg al di), desametasone (2 mg, 2 volte/die).

Nei giorni successivi si apprezzava miglioramento e in 15^ giornata il piccolo veniva dimesso con diagnosi di encefalite virale da HHV-6, esame neurologico negativo, buone condizioni generali ed EEG nella norma, tranne un'incostante presenza di treni theta posteriori all'apertura degli occhi.

Danni neurologici da infezione da HHV-6 in pazienti pediatriche in corso di sesta malattia sono documentati, così come la possibile trasmissione verticale. Di contro, HHV-6 è un agente virale poco conosciuto e poco ricercato anche in presenza di quadri patognomoni.

Storicamente l'infezione primaria da HHV-6 è stata collegata a disordini neurologici o complicazioni del SNC sia nei bambini che negli adulti, dal momento che i linfociti o monociti infetti lo possono raggiungere attraverso il circolo sanguigno (4). Le conseguenze cliniche di infezione da HHV-6 vanno da forme asintomatiche a convulsioni febbrili, meningoencefalite ed altre descritte sia per il tipo A che B.

Una delle principali difficoltà nel determinare il potenziale patogenetico di HHV-6 è la capacità di discriminare tra infezione latente e produttiva (1).

Le tecniche qualitative di amplificazione genomica non consentono di differenziare tra infezione latente e infezione attiva, anche se un risultato positivo ottenuto su plasma è suggestivo di rilascio di virioni dovuto ad eventi replicativi, a differenza di una positività su cellule di sangue periferico che non esclude un'infezione latente.

L'impiego di metodiche quantitative (Real Time-PCR) - in

grado di evidenziare, come nel nostro caso, cariche maggiori di 106 copie/ml di DNA-HHV-6 nel sangue intero associate a positività nel liquor, - indiscutibilmente attestano una fase di attiva replicazione virale confermata dal quadro clinico e dal follow-up terapeutico.

Negli ultimi anni oggetto di crescente interesse scientifico è l'ipotesi che HHV-6 possa determinare una infezione di tipo congenito (3, 4).

Nell'ambito di questa problematica appare inevitabile il confronto con CMV data l'elevata omologia genetica; tuttavia esistono delle differenze sostanziali tra i due virus soprattutto riguardo alle sequele da infezione congenita, frequenti per CMV ma poco note per HHV-6.

Infatti, come riporta Hall et al, circa il 5-10% dei neonati con CMV congenito è sintomatico alla nascita mentre nessuno dei neonati affetti da HHV-6 congenito mostra segni evidenti alla nascita (4). Tuttavia in letteratura è riportato il caso di un neonato, con liquor positivo per HHV-6B, affetto da anomalie neurologiche e crisi epilettiche (5). A tale proposito interessante il ritrovamento di DNA-HHV6 su Guthrie Card della nascita del piccolo paziente associata al riscontro di positività nella madre a livello faringeo ed ematico.

Benché l'infezione congenita da HHV-6 appare come un evento raro, tuttavia, HHV-6 è un virus neurotropo e neuroinvasivo e, come tale, responsabile di sequele anche ritardate a carico del SNC, come riportato in un ampio studio effettuato su Guthrie Card della nascita di bambini che avevano sviluppato nel tempo paralisi cerebrali (3).

Nel nostro caso si potrebbe ipotizzare un'infezione congenita asintomatica da HHV-6 seguita da episodi di riattivazione misconosciuti, responsabili di infezione del SNC e forse anche di sequele a carico dell'apparato oculare.

BIBLIOGRAFIA

- Caserta MT, Medermott MP, Dewhurst S, Schnabel K, Carnahan JA, Gilbert L, et al. Human Herpesvirus 6 (HHV6) DNA persistence and reactivation in healthy children. *J Pediatr.* 2004; 145: 478-84.
- Dockrell DH. Human herpesvirus 6: molecular biology and clinical features. *Med Microbiol.* 2003; 52: 5-18.
- Gibson CS, MacLennan AH, Goldwater PN, Haan EA, Priest K, Dekker GA, et al. Neurotropic viruses and cerebral palsy: population based case-control study. *BMJ.* 2006; (14) 332: 76-80.
- Hall CB, Long CE, Schnabel KC, et al. Human herpesvirus-6 infection in children: a prospective study of complications and reactivation. *N Engl J Med.* 1994; 331: 432-8.
- Lanari M, Papa I, Venturi V, Lazzarotto T, Faldella G, Gabrielli L, et al. Congenital Infection with Human Herpesvirus 6 Variant B associated with Neonatal Seizures and Poor Neurological Outcome. *J Med Virol.* 2003; 70: 628-32.
- Yamanishi K, Mori Y, Pellett PE. Human herpesviruses 6 and 7. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields virology.* 5th ed Philadelphia: Lippincott William & Wilkins. 2007; 2819-45.
- Yao KMS, Honarmand S, Espinosa A, Akhyani N, Glaser C, Jacobson S. Detection of Human Herpesvirus-6 in Cerebrospinal Fluid of Patients with Encephalitis. *Annals of Neurology.* 2009; 3 March; 65: 257-67.

Tabella I

ANAMNESI			RICOVERO		DIMISSIONE
15 giorni	2 mesi	12 mesi	15 mesi		dopo 15 giorni
cianosi	perdita di coscienza	congiuntivite	stato di sopore continuo		condizioni generali buone
difficoltà respiratoria	pianto prolungato	rash cutaneo volto/dorso	pianto inconsolabile		EEG nella norma
	ipertransaminasemia	< TCD8+	ESAMI STRUMENTALI		incostante presenza di treni theta posteriori all'apertura occhi
	addensamento parenchimale in sede paracardiaca	distacco essudativo retina	TAC cranio	Neg	
		diagnosi di malattia di Coats	ECG	Neg	
			RMN encefalo	Neg	
			ESAMI DI LABORATORIO		
			Es.chim-fisico liquor	Neg	
			Isofocusing liquor	Neg	
			PCR REAL TIME (RT) HHV6-DNA		
			Liquor	4.4 x 10 ⁷ copie/ml	
			Sangue intero	1.3 x 10 ⁷ copie/ml	
			Guthrie Card	3/3 positiva	
			PCR RT su liquor/siero per:		
			CMV-DNA	Neg	
			HSV1-DNA	Neg	
			HSV2-DNA	Neg	
			EBV-DNA	Neg	
			VZV-DNA	Neg	
			ENTERO-RNA	Neg	
			nPCR HHV-7	Neg	
			TERAPIA		
			Aciclovir	5 mg/Kg 3 vv/die	
			Ceftriaxone 500 mg/die	Desametasone 2 mg 2 vv/die	