

جستجوی هرپس ویروس های انسانی نوع ششم و هفتم به روش PCR در مایع نخاع کودکان بستری در بخش کودکان بیمارستان رسول اکرم (ص) تهران

دکتر فریده ابراهیمی تاج*، دکتر ثمینه نوربخش**، دکتر حمیدرضا منوری***، آذر دخت طباطبائی****

دریافت: ۸۹/۵/۲۰، پذیرش: ۸۹/۱۰/۱۵

چکیده:

مقدمه و هدف: اطلاعات کمی از فراوانی و نقش عفونت های هرپس ویروسی ۶ و ۷ در بیماریهای دستگاه عصبی کودکان در دست می باشد. هدف از این مطالعه جستجوی دی ان ای هرپس ویروس ۶ و ۷ در مایع نخاع کودکان مبتلا به مننگوآنسفالیت بود. **روش کار:** یک بررسی مقطعی-تحلیلی در بخش کودکان و PICU بیمارستان حضرت رسول (۱۳۸۷-۱۳۸۹) انجام شد. مایع نخاع به دست آمده از ۱۵۰ کودک بررسی شد. کشت مایع نخاع در محیط کشت معمولی، BACTEC Ped Plus medium، تست لاتکس سریع (LPA) بروی مایع نخاع و در تعداد کمی از بیماران پی سی آر باکتریال انجام شد. باروش PCR کمی Real Time PCR دی ان ای هرپس ویروس ۶ و ۷ جستجو گردید.

نتایج: ۹۱ نفر (۶۰/۷٪) از بیماران مذکر و ۵۹ نفر (۳۹/۳٪) مونث بودند. سن آنان در محدوده ۱-۱۸۰ ماه بود. تب بالاتر از ۳۸/۵ درجه سانتیگراد در ۷۰٪، بیقراری در ۷۰٪ و تشنج در ۵۳٪ موارد دیده شد. تمامی هرپس ویروسها (به جز ویروس ایشتاین بار) از ۱۸ بیمار (۱۲٪)، هرپس ۶ از ۶ بیمار، هرپس ۷ از ۲ بیمار جدا شد که باسن و جنس و نوع علائم عصبی بیماران ارتباطی نداشت.

نتیجه نهایی: هرپس ویروسهای ۶ و ۷ حدوداً در ۶٪ از کل کودکان مبتلا به مننگوآنسفالیت دیده شد که چندان غیر شایع نبود. هرپس ۶ از نوع ۷ شایعتر و فراوانی آن از آمار منابع دیگر مختصری کمتر بود. علت اصلی اختلاف می تواند ناشی از تفاوتی اپیدمیولوژیک و علاوه بر آن تفاوت در گروه های سنی مورد مطالعه، روشهای جداسازی و نگهداری طولانی مدت مایع نخاع باشد.

کلید واژه ها: التهاب پرده مغز آسپتیک / التهاب مغز و پرده های آن / واکنش زنجیره ای پلیمرز / هرپس ویروس ها

مقدمه:

شایعترین عوامل آنسفالیت کشنده اسپورادیک است بطوری که در ۱۰/۵٪ موارد مطالعه شده مثبت گزارش شده است (۸-۱). HHV6 یکی از چند عامل مننژیت آسپتیک عود کننده (mollaret meningitits) است که با متد PCR در مایع نخاع قابل تشخیص است (۴-۱۰). بنا به گزارش CDC شیوع آنسفالیت هرپس سیمپلکس (HSE) یک در ۲۰۰۰۰۰ جمعیت است که در صورت عدم درمان تا ۷۰٪ مرگ و میر داشته و یا عوارض فراوانی در بیمار بجای

هرپس ویروسها از عوامل نسبتاً شایع عفونت در کودکان بوده و بیماریهای سیستمیک ایجاد می کنند اما گرفتاری سیستم عصبی مهمترین تظاهر آن است. در افراد مبتلا به نقص ایمنی این عفونت میتواند کشنده باشد (۶-۱). علاوه بر عفونت اولیه با این ویروس، فعال شدن عفونت قبلی هم میتواند علائم بیماری را بوجود آورد (۴-۱). HHV6 یکی از عوامل غیرشایع مننژیت آسپتیک اما از مهمترین و

* استادیار گروه عفونی کودکان مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی کودکان دانشگاه علوم پزشکی تهران

** دانشیار گروه عفونی کودکان مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی کودکان دانشگاه علوم پزشکی تهران (samileh_noorbakhsh@yahoo.com)

*** استادیار گروه ویروس شناسی مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی کودکان دانشگاه علوم پزشکی تهران

**** کارشناس مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی کودکان دانشگاه علوم پزشکی تهران

HSE وجود ندارد. درمان تجربی بیمارانی که شک به HSE در آنها وجود دارد تا موقعی که تشخیص به اثبات برسد، توصیه می‌گردد چون اسیکلوویر داروی انتخابی نسبتاً غیرتوکسیک بوده و پیش آگهی HSE درمان نشده بد می‌باشد (۱۶-۱۱).

حساس‌ترین روش غیر تهاجمی جهت تشخیص انسفالیت هرپس اثبات وجود DNA ویروس در مایع مغزی نخاعی (CSF) با استفاده از روش PCR است. تیتراژ Ab بر علیه ویروس HSV6 در سرم و مایع مغزی نخاعی (CSF) غالب بیماران مبتلا به HSE افزایش پیدا می‌کند ولی این افزایش حدود ۱۰ روز از آغاز بیماری است بنابراین تعیین تیتراژ آنتی بادی در مطالعات گذشته نگر با ارزش می‌باشد ولی در تشخیص کلینیکی اولیه انسفالیت هرپس مفید و کمک کننده نیست (۲۰).

روش کار:

این مطالعه مقطعی - تحلیلی بر روی مایع نخاع به دست آمده از ۱۵۰ کودک بین ۱ ماه تا ۱۸۰ ماه بستری در بخش کودکان و PICU بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص) تهران انجام شد. کودکان مبتلا به تب همراه با اختلالات CNS با روش نمونه گیری مستمر- آسان انتخاب شدند. بیمارانی که بعد از معاینات اولیه و یا تغییرات تصویر برداری و یا وجود تغییرات به نفع مننژیت باکتریال تشخیص نهایی با علل غیر ویروسی مطرح شده بودند از ابتدا حذف شدند. از سایر موارد درگیری سیستم عصبی فقط بیمارانی وارد مطالعه شدند که با نظر پزشک نیاز به انجام پونکسیون مایع نخاع داشتند. پس از انجام آزمایشات تکمیلی مانند کشت در محیط باکتک، تست های سریع آنتی ژنی، در صورت لزوم پی سی آر و... (در صورتی که با تست های موجود به تشخیص نرسیده بودند) پرسشنامه تکمیل گردید.

معیارهای ورود بیماران: تب توام با یکی از علائم (تهوع استفراغ، سردرد، تشنج، خواب آلودگی) وجود علائم گرفتاری سیستم عصبی مرکزی در هنگام ورود شامل علائم مننژ مثبت (سفتی گردن، کرنینگ و برودزنسکی) افزایش فشار داخل جمجمه، یافته های عصبی غیرطبیعی و... بود. معیارهای خروج بیماران شامل مثبت بودن کشت باکتریایی (از خون، مایع نخاع یا سایر نواحی استریل بدن) تغییرات مایع نخاع به نفع مننژیت باکتریال، وجود سایر بیماریها به جز مننگو انسفالیت آسپتیک مانند

می گذارد (۱۰-۸، ۳-۱). با استفاده از داروی مناسب ضد ویروسی (اسیکلوویر) مرگ و میر به ۲۰٪ کاهش می‌یابد (۸-۱). سرولوژی HSV6 ارزش زیادی ندارد (۱۳-۱۱، ۳-۱) HHV6 تمایل به درگیر کردن CNS دارد و نوروتروپیک می‌باشد. عفونت اولیه با HHV6 مسئول یک سوم موارد تشنجات تب دار در کودکان می‌باشد و غالباً این کودکان دچار راش نمی‌شوند. HHV6 در موارد نادری باعث مننگوانسفالیت و انسفالیت می‌شود که در مرحله تب بروز می‌کند. در مطالعات اخیر DNA ویروس HHV6 را از مایع مغزی نخاعی (CSF) ۶٪ کودکان مبتلا به انسفالیت کانونی با علت نامعلوم جدا کرده‌اند و نقش مهمی برای HHV6 در ایجاد تشنج ناشی از تب قائل شده‌اند (۱۴).

عفونت اولیه با هرپس ویروس انسانی نوع ۶ و ۷ مسئول اکثریت موارد بیماری روزنولا می‌باشد. بیش از ۹۹٪ موارد بوسيله نوع B ویروس ایجاد می‌شود. علامت مشخصه کلینیکی انسفالیت هرپسی شروع ناگهانی تب، علائم نورولوژیک کانونی بویژه با درگیری لوب تمپورال است (۱۷-۱۴).

علیرغم پیشرفت در زمینه درمان ضد ویروسی که در دو دهه اخیر اتفاق افتاده است، HSE هنوز هم یک بیماری جدی است که خطرات و مورتالیتی و موربیدیتی قابل توجهی دارد. مورتالیتی این بیماری در افراد درمان نشده ۷۰٪ می‌باشد و در بیماران درمان شده ۱۹٪ است و بیش از ۵۰٪ از بازماندگان، نقایص نورولوژیک متوسط تا شدید دارند.

یک مطالعه در خصوص هرپس ویروسها بروی بالغین انجام شده است (۱۸) در کودکان تهران هم مطالعه مشابهی انجام شد که حدود ۷٪ آنسفالیت ها را نوع ۱ هرپس تشکیل میداد (۱۹). از میزان فراوانی نقش عفونتهای هرپسی به جز نوع ۱ در آنسفالیت های ایجاد شده در گروه کودکان اطلاعی در دست نیست.

با توجه به مورتالیتی بالای مننگوآنسفالیت های هرپس ویروسی HSE در بیماران و قابل درمان بودن این بیماری و قابل دسترس بودن روش تشخیص DNA-PCR در آزمایشگاه تحقیقاتی رسول اکرم (ص) برآن شدیم تا میزان ابتلا به این ویروس را در بیماران مبتلا به مننگوآنسفالیت مشخص نموده و در مقایسه با یافته های مطالعات دیگر جهت تشخیص و درمان سریع بیماران راه حل ارائه نماییم، چون هیچ یافته کلینیکی پاتوگنوموئیک در رابطه با

فوق به تیوبهای ۰/۲ استریل، در دور 13000 g به مدت چند ثانیه Quick Spin می شوند. همچنین جهت کنترل مثبت و منفی از وبالهای کنترل مثبت و منفی موجود در کیت استفاده میشود. سپس میکروتیوبهای آماده شده جهت انجام تست، به دستگاه منتقل می شوند. در این مطالعه از Rotor Gene 6000 (Corbett Research, Australia, and USA) استفاده شده است و پروتکل دمایی مطابق با جدول زیر بود.

Hold	95°	10 min
5 cycles	95°	30 sec
	55°	45 sec
	72°	45 sec
	95°	30 sec
40 cycles	60°*	40 sec
	72°	45 sec
	95°	30 sec

*fluorescence detection

در دمای 60° فلورسنت تیوبها توسط دستگاه در سه کانال شناسایی میشود. کانال سبز مربوط به HHV6، کانال زرد مربوط به HHV7 و کانال قرمز مربوط به کنترل داخلی تست می باشد. طبق بروشور کیت مورد نظر ویژگی و اختصاصیت پرایمر و پروبهای مورد استفاده در این کیت ۱۰۰٪ بوده و این کیت هیچ واکنش متقاطع با دیگر ارگانیسمها ندارد. این کیت قادر است حداقل ۲۰۰ کپی از ژنوم ویروس را در نمونه تشخیص دهد.

نتایج:

در ۱۰ نفر از بیماران به علت کافی نبودن مقدار مایع نخاع برای تمامی تستهای تشخیصی، تشخیص نهایی داده نشد. در ۶ نفر هم به علت تغییرات سلول ویا پروتئین در مایع نخاع وسایر اقدامات تشخیصی تشخیص ادم، گیلن باره، لوسمی، لوپوس و تومور مغزی داده شد. در ۴۰ نفر از بیماران مننژیت باکتریال تشخیص داده شد (براساس کشت مایع نخاع و یا کشت خون و یا اسمیرو یا تست سریع لاتکس)، در نهایت ۱۵۰ بیمار وارد مطالعه شدند که ۹۱ نفر (۶۰/۷٪) مذکر و ۵۹ نفر (۳۹/۳٪) مونث بودند. محدوده سنی بیماران بین ۱ ماه تا ۱۸۰ ماه و میانگین آن ۲۶/۷ ماه با انحراف معیار ۳۱/۲ ماه بود.

خونریزی مغزی، تومور یا بیماریهای متابولیک و... بود. بعد از پر کردن پرسشنامه توسط پزشک مسئول، نتایج معاینات بالینی بویژه مربوط به سیستم عصبی ذکر شد، باقیمانده مایع نخاع بدست آمده در لوله استریل به آزمایشگاه تحقیقاتی بیمارستان رسول اکرم منتقل و تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد سپس بررسی اختصاصی HHV6,HHV7-PCR بر روی آن انجام گرفت.

تشخیص عفونتهای باکتریال با استفاده از کشت خون و مایع نخاع بود که علاوه بر کشت معمولی در محیط باکتک نیز کشت داده شد (Becton Dickenson Company) تست لاتکس سریع بروی مایع نخاع با استفاده از BD Directigen و تست کومبو مننژیت (Becton Dickinson, Maryland, USA) نیز صورت گرفت (۲۰).

در تعداد کمی از بیماران برای تشخیص قطعی از روش پی سی آر باکتریال استفاده شد. کلیه این بیماران بعلت بدی حال عمومی و نظر پزشک مسئول جهت اقدامات تشخیصی ودرمانی نیاز به LP داشتند و نیاز به اقدام جداگانه ای نبود اگرچه از تمامی بیماران به طور روتین طبق قوانین کشوری و بین المللی رضایتنامه گرفته می شد. انجام PCR HHV7&HHV6 نیز در این بیماران کمک کننده درمان بود بنابراین منع اخلاقی وجود نداشت.

مواد و روش انجام تست پی سی آر: ابتدا با استفاده از کیت High pure template PCR kit (Rosche, Germany) و با توجه به دستورالعمل موجود در آن، ژنوم ویروس از ۲۰۰ میکرولیتر مایع مغزی- نخاعی استخراج شد و در ۱۰۰ میکرولیتر از بافر Elution قرار گرفت. DNA استخراج شده نهایتاً تا زمان انجام آزمایشات در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. آزمایش Real Time PCR با استفاده از کیت HHV6 and HHV7 Real -TM Quant (Sacace Biotechnologies, Italy) و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. در این روش بصورت همزمان دو ویروس HHV6, HHV7 مورد شناسایی قرار می گیرند، جهت ویروس HHV6 قسمتی از ژن پلیمرز و جهت ویروس HHV7 قسمتی از ناحیه ژنی U42 مورد استفاده قرار می گیرد. مخلوط واکنش شامل ۱۵ میکرولیتر از Master Mix و ۱۰ میکرولیتر از DNA استخراج شده می باشد. پس از اضافه کردن موارد

هرپس ویروس (simplex 1 and 2 (HSV-1, HSV-2), Epstein-Barr virus (EBV), human cytomegalovirus varicella-zoster virus (VZV), herpesvirus-6 (HHV-6), بررسی کردند، از تعداد ۱۵۵ نمونه مبتلا به مننگوآنسفالیت ۵۲ مورد برای هرپس ویروسها مثبت بودند. هرپس ۶ شایع تر از ۷ است، ۲ نفر HHV7 مثبت و ۶ نفر از بیماران مورد بررسی در این مطالعه HHV6 مثبت داشتند که از مطالعه کاسرتا و همکاران (۱۵) بیشتر است. در مطالعه یاد شده هرپس نوع ۶ از ۳/۳٪ کودکان مبتلا به مننژیت جدا شد ولی از هیچ بیمار مبتلا به آنسفالیت ویا تب و تشنج ویا اختلالات صرعی نوع ۶ و یا ۷ هرپس جدا نگردید.

مطالعه حاضر تشابه زیادی به مطالعه یوشیکاوا و همکاران (۱۷) دارد به طوریکه در ۷٪ بیماران با تابلوی مننگو آنسفالیت (۹ نفر از مجموع ۱۳۸ بیمار) هرپس نوع ۶ مثبت بود. در گزارش شاه و همکاران به نقل از مطالعه کاسرتا (۱۵) که با هدف تست مایع نخاع نوزادان و شیرخواران کوچکی که مدت طولانی در بیمارستان اقامت داشته اند و از نظر HSV6 با روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند، در ۲۸۲ شیرخوار متوسط زمان تست ۲۲ ساعت بود، مدت اقامت ۲ روز و متوسط هزینه بیمارستان ۱۱۶۶ دلار. CSF HSV6 PCR با ۲۸٪ افزایش مدت اقامت بیمارستانی برای شیرخواران کمتر از ۲۸ روز و ۳۹٪ افزایش برای ۲۹ تا ۵۶ روز بود. مدت زمان اقامت بیمارستانی تا ۲۲٪ برای هر ۱۲ ساعت افزایش در مدت تست دیده شد و ۴۱ دلار افزایش هزینه بیمارستان. نتیجه گیری شد که CSF HSV6 PCR با افزایش زمان بیمارستان و هزینه بیماران همراه است.

کمتر بودن نسبی عفونت هرپس نوع ۷ در مطالعه فعلی با سایر مطالعات که در گروه کودکان انجام شده هماهنگی دارد در بیشتر موارد ویروس HHV-6 عامل مننژیت و مننگوآنسفالیت در کودکان شناخته می شود. آلودگی کودکان با HHV-7 نسبت به HHV-6 دیرتر است و با افزایش سن بیماران احتمال نوع ۷ افزایش می یابد. در مراجع ذکر شده است که HHV-7 در ۷۵٪ بالغین سالم دیده می شود که احتمالاً از طریق بزاق منتقل می گردد. جدا نمودن هرپس ۷ در مایع نخاع ویا منونوکلترهای خون محیطی و عدم وجود ویروس در سرم وپلازما نشان دهنده فعالیت ویا فعالیت مجدد ویروس است.

۱۴٪ از بیماران در فصل بهار، ۵/۹٪ در تابستان، ۶۱/۸٪ در پاییز و ۱۸/۴٪ در زمستان به بیمارستان مراجعه کرده بودند. علایم بالینی بیماران مبتلا به مننگوآنسفالیت آسپتیک در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: علایم بالینی بیماران مبتلا به مننگوآنسفالیت

آسپتیک	
علائم و نشانه های کلینیکی	مننگوآنسفالیت آسپتیک (%)
تب	۷۴
بیقراری	۷۰
سفتی گردن	۱۰
تشنج	۵۳
کاهش سطح هوشیاری	۷/۶
استفراغ	۲۳/۵
سردرد	۱۳/۵
علائم فوکال نورولوژیک	۳/۵
راش و پتشی	۱۳
مننژیت آسپتیک	۳۰

نتایج پی سی آر اختصاصی HHV7 و HHV6: ۶ نفر (۴٪) HHV6 و ۲ نفر (۱/۴٪) HHV7 مثبت در مایع نخاع داشتند. در ۱ بیمار هم موردی مشکوک از هرپس ۶ گزارش گردید. بین مثبت شدن HHV6 و سن بیماران، تشنج، مننژیت و کاهش سطح هوشیاری رابطه معناداری مشاهده نشد.

بحث:

در مطالعه حاضر تب و تحریک پذیری با فراوانی ۷۴٪ و ۷۰٪ و تغییر سطح هوشیاری در ۷/۶٪ موارد مطابق با مطالعات دیگر است (۱-۳) و به مطالعات قبلی هرپس ویروس ها در تهران با ۱۲٪ فراوانی در بالغین و ۷٪ در کودکان نزدیک است (۱۹).

در مطالعه فعلی مجموعه هرپس ویروسها (به جز ویروس اپشتاین بار وهرپس تپ ۲) در ۱۸ نفر به اثبات رسید. هرپس ویروسهای ۶ و ۷ در حدوداً ۶٪ بیماران مبتلا به مننگوآنسفالیت دیده شد، هرپس ۶ از نوع ۷ شایعتر بوده است، متأسفانه ویروس اپشتاین بار به علت هزینه بالا قابل انجام نبود. علاوه بر ۶ مورد مثبت هرپس نوع ۶ و ۲ مورد مثبت برای هرپس نوع ۷ از ۲ نفر سایتومگالو ویروس، ۶ نفر آبله مرغان، ۲ نفر هرپس تپ ۱ جدا شد. مطالعه حاضر با در نظر گرفتن عدم انجام ویروس اپشتاین بار به مطالعه وارد و همکاران (۶) بسیار نزدیک است، آنها نیز در نمونه مایع نخاع عفونتهای هرپسی را با روش real-time PCR برای هرپس سیمپلکس ۱ و

2004 Nov ; 134(47-48):700-4.

9. Hall CB, Caserta MT, Schnabel KC, McDermott MP, Lofthus GK, Carnahan JA, et al. Characteristics and acquisition of human herpesvirus (HHV) 7 infections in relation to infection with HHV-6. *J Infect Dis* 2006 ; 193(8): 1063-9.
10. Harrison NA, MacDonald BK, Scott G, Kapoor R. Atypical herpes type 2 encephalitis associated with normal MRI imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2003 Jul; 74(7):974-6.
11. De Tiege X, Heron B, Lebon P, Ponsot G, Rozenberg F. Limits of early diagnosis of herpes simplex encephalitis in children: a retrospective study of 38 cases. *Clin Infect Dis* 2003 May; 36(10):1335-9.
12. Bernard NF. *Virology*. 4th ed. New York: Lippincott-Williams & Wilkins, 2007:2819-2820.
13. Todd P, Robin RH, Fransisco T. Herpes simplex encephalitis. *Medicine* 2002: 1-11
14. Yao K, Honarmand S, Espinoza A, Akhyani N, Glaser C, Jacobson S. Detection of human herpesvirus-6 in cerebrospinal fluid of patients with encephalitis. *Ann Neurol* 2009 Mar; 65(3): 257-267.
15. Caserta MT, Hall CB, Schnabel K, McIntyre K, Long C, Costanzo M, et al. Neuroinvasion and persistence of human herpesvirus 6 in children. *J Infect Dis*. 1994;170:1586-9.
16. Pohl-Koppe A, Blay M, Jager G, Weiss M. Human herpes virus type 7 DNA in the cerebrospinal fluid of children with central nervous system diseases. *Eur J Pediatr* 2001; 160:351-8.
17. Yoshikawa T, Ihira M, Suzuki K, Suga S, Matsubara T, Furukawa S, et al. Invasion by human herpesvirus 6 and human herpesvirus 7 of the central nervous system in patients with neurological signs and symptoms. *Arch Dis Child*. 2000; 83:170-1.
18. Tabatabaei AD, Asghaei F. [Herpes simplex frequency in CSF of encephalitic patients by PCR]. *Iranian Infect Trop Dis J* 1999;14(10): 19-26. (Persian)
19. Noorbakhsh S, Tonekaboni H, Rimaz S, Aghahosseini F. [Detection the frequency of herpes virus infection in aseptic meningitis in children admitted in Rasool Akram & Mofid hospital]. *J Iran Univ Med Sci* 2004; 8(27): 641-8. (Persian)
20. Philip A, Spencer L. Expert working group on HHV-6 and 7 laboratory diagnosis and testing. *Canada Communicable Disease Report (CCDR)*, Vol: 26S4 , 2000 Sep.

نتیجه نهایی:

مطالعه حاضر نشان داد هرپس ویروسها در کودکان مبتلا به مننگوآنسفالیت چندان غیرشایع نیستند. هرپس ویروسهای ۶ و ۷ حدوداً در ۶٪ تمام بیماران مبتلا به مننگوآنسفالیت دیده می شوند. هرپس ۶ از نوع ۷ شایعتر است که این یافته در مطالعه ما اندکی از منابع دیگر کمتر است. از علل اصلی به جز اختلاف در روش های جداسازی، نگهداری طولانی مدت مایع نخاع، تفاوت های اپیدمیولوژیک را میتوان در نظر گرفت. برای تعیین دقیق تر نقش ۲ ویروس HHV-6 و HHV-7 نیاز به مطالعات وسیعتر به خصوص در بیماران مبتلا به نقص ایمنی توام با علائم عصبی می باشد.

منابع:

1. Shameem S, Vinod Kumar CS, Neelagund YF. Bacterial meningitis: rapid diagnosis and microbial profile: a multicentered study. *J Commun Dis* 2008 Jun; 40(2):111-20.
2. Negrini B, Kelleher KJ, Wald ER. Cerebrospinal fluid findings in aseptic versus bacterial meningitis. *Pediatrics* 2000 Feb; 105(2):316-9.
3. Kohl S. Herpes simplex virus. In: Behrman, Klingman, Jenson(eds) *Text book of pediatrics*. 17th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2004: 968-72.
4. Osman H. Human herpesvirus 6 and febrile convulsions. *Herpes* 2000; 7:33-7.
5. Leach CT. Roseolla (Human herpes virus type 6 and 7). In: Behrman, Klingman, Jenson(eds) *Textbook of pediatrics*. 16th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000: 985-6
6. Ward KN, Andrews NJ, Verity CM, Miller E, Ross EM. Human herpesviruses-6 and -7 each cause significant neurological morbidity in Britain and Ireland. *Arch Dis Child* 2005;90(6): 619-23.
7. Tyler KL. Herpes. Herpes simplex virus infections of the central nervous system: encephalitis and meningitis, including Mollaret's. *Herpes* 2004 Jun;11 (Suppl 2):57A-64A
8. Schultze D, Weder B, Cassinotti P, Vitek L, Krausse K, Fierz W. Diagnostic significance of intrathecally produced herpes simplex and varizella-zoster virus-specific antibodies in central nervous system infections. *Swiss Med Wkly*.