

Mauro M.V., Greco F., Savino O., Tenuta R., Giraldi C.

U.O.C. di Microbiologia e Virologia Clinica e Molecolare, Azienda Ospedaliera di Cosenza

INTRODUZIONE

In questi ultimi anni sono emerse e diffuse, in paesi precedentemente indenni, nuove patologie virali trasmissibili attraverso vettori quali zecche o zanzare, un tempo circoscritte solo ad alcune aree geografiche. I virus emergenti di maggior riscontro, in Europa, sono i virus Toscana (TOSV) (fig. 1) e West Nile (WNV) (fig. 2). TOSV è un arbovirus, responsabile di una zoonosi, trasmessa da *Phlebotomus perniciosus*. In Italia, TOSV è stato isolato per la prima volta nel 1971, in un paziente affetto da meningite a liquor limpido, a decorso benigno. Da allora sono stati riportati numerosi casi ed è stato stimato che, nel periodo compreso tra maggio ed ottobre, TOSV rappresenta la terza causa di meningite asettica nell'Italia Centrale. WNV è invece una zoonosi trasmessa da *Culex pipiens*, responsabile di meningo-encefaliti negli uccelli, sia selvatici che domestici, equidi e uomo. L'infezione, per molto tempo, è stata circoscritta in alcune regioni dell'Africa, Asia e Medio Oriente e solo recentemente ha variato il suo assetto epidemiologico, presentandosi anche in Europa. Il primo focolaio italiano di WNV, clinicamente manifesto, compare in Toscana nel 1998, colpendo esclusivamente gli equidi. I primi casi umani vengono segnalati nel 2008 interessando tre regioni: Emilia Romagna, Lombardia e Veneto. WNV, nell'uomo, determina una sindrome simil-influenzale nel 20% circa dei soggetti infetti e in meno dell'1% evolve in neuropatia invasiva. TOSV e WNV, nella maggior parte dei casi, si manifestano in forma lieve o asintomatica, determinando numerose criticità nel monitoraggio della loro circolazione. Scopo del nostro studio è stato, pertanto, quello di valutare la sieroprevalenza di TOSV e WNV nella provincia di Cosenza.

Il liquido cefalorachidiano (LCR) è stato valutato per esami chimico-fisici, microbiologici di routine, per la ricerca di *Mycobacterium TB complex*, per indagini virali e, mediante Real time PCR, per herpes simplex 1-2, varicella-zoster, enterovirus e TOSV (Nanogen Advanced Diagnostic, Italy). Il paziente è stato, inoltre, sottoposto mediante due prelievi raccolti in date diverse, ad indagini siero-immunologiche verso coxsackie ed echo virus (test di Fissazione del Complemento Chorus Diesse), e TOSV (IgG e IgM) (Chorus Diesse, Senese).

RISULTATI E CONCLUSIONI

Attualmente, nella nostra provincia, la presenza di IgG specifiche anti TOSV e WNV, risulta rispettivamente del 17% e 6% nei campioni esaminati (fig.5). Ciò presuppone una circolazione, nella popolazione adulta calabrese, di entrambi i virus. In particolare, per TOSV, nel 2010 è stata posta diagnosi di meningite per la presenza di RNA TOSV nel LCR e sierologia positiva per IgM specifiche e conversione delle IgG (fig.4-5). Infine, la sieroprevalenza di TOSV, valutata nel 2002, pari al 9,8%, è risultata inferiore a quella riscontrata nel 2011 (fig.6). L'aumento in nove anni della siero prevalenza, la dimostrazione di un caso di meningite asettica da TOSV, presuppone un incremento della circolazione del virus. I nostri dati, suggeriscono l'importanza di una attenta valutazione clinica nei casi di patologie neuro-invasive e la necessità di alzare il livello di guardia, aumentando la sorveglianza e disponendo di test diagnostici appropriati per la loro individuazione e il conseguente contenimento.



Figura 1: Circolazione di TOSV in Europa

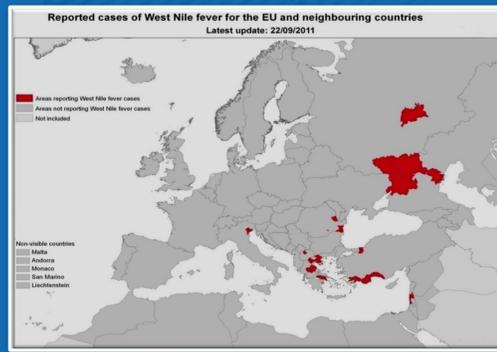


Figura 2: Casi riportati di febbre da WNV in Europa e nei Paesi confinanti (ultimo aggiornamento 22/09/2011)

| indagini | Risultati: 10.07.2010 |
|----------|----------------------------------------------|
| Aspetto | leggermente torbido |
| Elementi | 95 elementi/mm ³ Linfociti 80% |
| IgG | 15 mg/dl |
| Albumina | 139 mg/dl |
| Glucosio | 43 mg/dl |

| Sierologia | |
|--------------------|-----------------|
| Coxsackie virus | Negativa |
| Echovirus virus | Negativa |
| LCR (P.C.R.) | |
| HSV-1 DNA | Negativa |
| HSV-2 DNA | Negativa |
| VZV DNA | Negativa |
| ENTEROVIRUS RNA | Negativa |
| TOSV RNA | Positivo |
| LCR (Culture) | |
| Germi non esigenti | Negativa |
| Mycobacterium TB | Negativa |

Figura 3: Esame del LCR di un paziente con meningite da TOSV

| Sierologia | Risultati del 12.07 | Risultati del 16.07 |
|-----------------|---------------------|---------------------|
| IgM anti-TOSV | positiva | positiva |
| IgG anti-TOSV | indeterminata | positiva |
| Coxsackie virus | - | negativa |
| Echovirus virus | - | negativa |

LCR
Ricerca RNA TOSV: **positiva**
RT PCR nested (regione: TOSV N protein)

Figura 4: Esami di laboratorio a conferma della diagnosi di meningite da TOSV

MATERIALI E METODI

Nel 2011 n.102 campioni provenienti da soggetti residenti nella provincia di Cosenza, di età compresa tra 15-50 anni, asintomatici, giunti alla nostra osservazione per esami di routine, sono stati sottoposti a indagini sierologiche mediante test immunoenzimatici al fine di valutare la presenza di anticorpi specifici, IgG anti TOSV (Chorus Diesse, Senese) ed IgG anti WNV (Focus Diagnostics, Alifax). La stessa valutazione sieropidemiologica è stata eseguita, esclusivamente per TOSV, nel 2002, su n.88 (EIA-Diesse, Senese), campioni provenienti da soggetti calabresi, sani, di età compresa tra 20-50 anni. Si descrive, infine, un caso di meningite virale in un soggetto immunocompetente di 32 anni, maschio, e sottoposto a puntura lombare il 10.07.2010.



Figura 5: Indagini di sieroprevalenza TOSV e WNV

BIBLIOGRAFIA

- Autorino GL, Battisti A, Deubel V, Ferrari G., Forletta R., Giovannini A., Lelli R., Murri S., Scicluna MT. *West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy.* Emerg Infect. Dis. 2002 Dec; 8(12): 1372-8
- Cusi MG, Savellini GG, Zanelli G. *Toscana virus epidemiology: from Italy beyond.* Open Virol J. 2010 Apr 22;4:22-8.
- Gobbi F, Napoletano G., Piovesan C., Russo F., Angheben A., Rossanese A., Cattelan AM., Gallo L., Valsecchi M., Piazza A., Venturi G., Bisoffi Z. *Where is West Nile fever? Lessons learnt from recent human cases in northern Italy.* Euro Surveill. 2009 Mar 12;14(10)
- Charrel RN, Gallian P, Navarro-Mari JM, Nicoletti L, Papa A, Sánchez-Seco MP, Tenorio A, de Lamballerie X. (2005). *Emergence of Toscana virus in Europe.* Emerg Infect Dis 11; 1657-63