associazione microbiologi clinici italiani

Ente del Terzo Settore

Rif.2023-01

PERCORSO DIAGNOSTICO

INFEZIONI DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

Gruppo di Lavoro Organizzativo dei Percorsi Diagnostici (GLOPD)

Coordinatore: Cristina Giraldi
c.giraldi54@gmail.com
Proprietà intellettuale di AMCLI ETS.

Nel caso i contenuti siano utilizzati è necessario citare il Percorso Diagnostico nel seguente modo: AMCLI ETS. Percorso Diagnostico - Infezioni del sistema nervoso centrale - Rif. 2023-01.

Associazione Microbiologi Clinici Italiani ETS (AMCLI ETS)
Via C. Farini 81 - 20159 Milano - T. 02 66801190 - segreteriaamcli@amcli.it N. 26168 iscrizione RUNTS - sez. "G - altri enti del Terzo Settore" - Iscrizione REA MI - 1969948 C.F. 06653690153 - P.I. 12404560158

REFERENTE

Maria Vittoria Mauro, Microbiologia, Azienda Ospedaliera di Cosenza

ESTENSORI DEL DOCUMENTO:

Francesca Greco, Microbiologia, Azienda Ospedaliera di Cosenza,
Saveria Dodaro, Microbiologia, Azienda Ospedaliera di Cosenza,
Liliana Gabrielli, Microbiologia, IRCCS Azienda Ospedaliero Universitaria di Bologna
Isabella Banchini, Microbiologia, IRCCS Azienda Ospedaliero Universitaria di Bologna
Paolo Fazii, Microbiologia, Azienda Ospedaliera di Pescara
Renato Pascale, Malattie Infettive, IRCCS Azienda Ospedaliero Universitaria di Bologna
Alessandro Russo, Malattie Infettive e Tropicali, Università Magna Graecia di Catanzaro
Cristina Giraldi, Coordinatore GLOPD

REVISORI INTERNI

Maddalena Giannella, Malattie Infettive IRCCS Azienda Ospedaliero Universitaria di Bologna
Daniela Cirillo, Microbiologia, Milano, GLAMIC
Gianluigi Lombardi, Microbiologia, Ospedale Niguarda Ca' Granda di Milano, CoSM
Annibale Raglio, Coordinatore COSP
Concetta Castilletti, Virologia e Patogeni Emergenti, Dipartimento di Malattie Infettive Tropicali e Microbiologia, IRCCS Sacro Cuore Don Calabria, Negrar di Valpolicella, Verona

REVISORI ESTERNI

Maria Rosaria Capobianchi, Saint Camillus International University of Health Sciences, Roma; Dipartimento di Malattie Infettive Tropicali e Microbiologia, IRCCS Sacro Cuore Don Calabria, Negrar di Valpolicella, Verona
Simone Ambretti, Microbiologia, IRCCS Azienda Ospedaliero Universitaria di Bologna

Sommario

1. INTRODUZIONE 4
2. CLASSIFICAZIONE ED ASPETTI CLINICI PECULIARI 4
   2.1 MENINGITI INFETTIVE 4
   2.2 CLASSIFICAZIONI 4
   2.3 SINTOMATOLOGIA CLINICA 4
   2.4 MENINGO-ENCEFALITI 5
   2.5 PRINCIPI DI TERAPIA DELLE MENINGITI INFETTIVE 6
3. EZIOLOGIA ED EPIDEMIOLOGIA 7
   3.1 MENINGITI BATTERICHE 7
   3.2 MENINGITE TUBERCOLARE 10
   3.3 MENINGO-ENCEFALITI VIRALI 10
   3.4 MENINGITI MICOTICHE 12
   3.5 PARASSITOSI DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE 12
4. DIAGNOSI DI LABORATORIO 13
   4.1 FASE PREANALITICA: 13
   4.2 FASE ANALITICA 14
   4.3 MENINGITE BATTERICA E MICOTICA 17
   4.4 NEUROSIFILIDE 20
   4.5 NEUROBORRELIOSI 20
   4.6 MENINGITE TUBERCOLARE 22
   4.7 MENINGO-ENCEFALITE VIRALE 23
   4.8 PARASSITOSI DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE 25
5. MODALITÀ DI REFERTAZIONE LCR 25
6. BIBLIOGRAFIA 27
   Links ad altri Percorsi Collegati 30

associazione microbiologi clinici italiani
Ente del Terzo Settore

1. INTRODUZIONE

Le infezioni del sistema nervoso centrale sono eterogenee sia per l'ampio spettro di microrganismi (batteri, virus, miceti, elminti) che le causano, sia per l'aspetto clinico. Sulla base delle sindromi cliniche possono essere classificate in: meningiti, encefaliti, sindromi da lesione occupante spazio, mieliti, neuriti, radicoliti, nevrassiti (queste ultime in particolare sono spesso mediate da tossine batteriche).

2. CLASSIFICAZIONE ED ASPETTI CLINICI PECULIARI

2.1 MENINGITI INFETTIVE

Le meningiti rappresentano l'espressione clinica ed anatomopatologica di un processo infiammatorio a carico delle leptomeningi (costituite esternamente dall'aracnoide e internamente dalla pia madre), provocato da un agente patogeno. Risulta fondamentale conoscere lo stato clinico e le comorbidità del paziente (ad esempio stati di immunodepressione come l'infezione da HIV) che in associazione a specifici segni e sintomi clinici, alle caratteristiche del liquor e all'aspetto radiologico possono orientare verso una specifica diagnosi.

2.2 CLASSIFICAZIONI

Le meningiti possono essere classificate in modi differenti:

In base al momento di insorgenza dei sintomi sono distinte in **acute, subacute e croniche, a seconda che i sintomi compaiano** rispettivamente a **≤ 5 giorni, ≥ 5 giorni e ≥ 4 settimane.**

In base alle caratteristiche del liquido cerebrospinale, distinguendosi in meningiti a **liquor limpido** e meningiti a **liquor torbido**.

In base all'eziologia, classificandosi in meningiti **virali, batteriche, micotiche, protozoarie ed elmintiche**.

2.3 SINTOMATOLOGIA CLINICA

L'esordio di una sindrome meningea può essere acuto come nelle forme virali e in gran parte delle forme batteriche o, al contrario, lentamente progressivo (ad esempio nelle forme tubercolari). Generalmente, soprattutto nelle forme batteriche purulente, il paziente presenta caratteristiche cliniche peculiari come cefalea, sensorio obnubilato, allucinazioni, delirium; la febbre può avere andamento variabile, da una modesta alterazione della temperatura fino a picchi elevati di iperpiressia.

La sintomatologia può essere caratterizzata da:

1. Sintomi da **ipertensione endocranica** quali:
   - *Cefalea*: tipicamente gravativa e violenta, a localizzazione frequentemente frontale (ma anche diffusa).
   - *Vomito cerebrale*: improvviso, di solito non preceduto da nausea e/o dolori gastrointestinali e indipendente dall'assunzione di cibo. Può essere il primo sintomo ed è molto frequente nelle fasi iniziali di malattia.
   - *Tensione a livello della fontanella bregmatica*: segno tipico di infiammazione meningea nel lattante, quando ancora non è avvenuta la saldatura ossea.

2. Sintomi **ipertono-antalgici**, fondamentali da riconoscere e ricercare perché identificano in maniera più precisa l'interessamento leptomeningeo del processo infettivo; i principali sono:
   - *Rigidità nucale* (e talvolta dorsale).
   - *Posizione antalgica*: opistotono, estensione del dorso, decubito laterale con gli arti flessi sul tronco (posizione a canna di fucile).
   - *Segno di Lasègue:* impossibilità nel flettere la coscia sul bacino mantenendo la gamba estesa (segno piuttosto aspecifico essendo tipico anche delle infiammazioni del nervo sciatico).
   - *Segno di Brudzinski*: (dotato di alta sensibilità) piegando passivamente il capo si evoca una brusca flessione degli arti inferiori.

Tuttavia, l'assenza di sintomi di irritazione meningea non esclude la presenza di una meningite.

3. Sintomi **motori**: espressione di sofferenza corticale e di coinvolgimento encefalico, configurando quindi un sospetto di meningo-encefalite:
   - *Convulsioni.*
   - *Tremori.*
   - *Spasmi tonici di singoli gruppi muscolari.*
   - *Movimenti automatici involontari* come masticazione, digrignamento dei denti.
   - *Paresi dei nervi cranici:* il più frequentemente coinvolto è il VI paio (abducente) soprattutto nell'interessamento della base; possono essere interessati anche il VII, il III e il IV paio.
4. Sintomi **sensitivo-sensoriali**: sono la spia non solo di sofferenza corticale, ma anche di interessamento delle radici spinali e dei nervi periferici:
   - *Iperestesia superficiale (tattile o termica) e iperestesia profonda.*
   - *Iperacusia (insofferenza ai rumori).*
   - *Fotofobia.*
5. Sintomi **neuro-vegetativi** di cui il più frequente è il dermografismo rosso.
6. Sintomi **psichici** quali stato soporoso, irrequietezza, allucinazioni, delirium e coma.

Per quanto riguarda le meningiti batteriche acute (vedi sotto), queste sono precedute da un'infezione delle vie aeree superiori in circa il 40% dei casi e nel 10-15% risultano associate ad un quadro di otite media e/o dell'orecchio interno.

Nella maggior parte dei casi di meningite ad eziologia virale o batterica i sintomi insorgono rapidamente (in genere 24 ore), ma non è infrequente un'insorgenza più subdola.

Negli adulti con meningite batterica, la frequenza della classica triade sintomatologica (febbre, rigidità nucale, confusione mentale) è tendenzialmente bassa (intorno al 44%), ma quasi tutti i pazienti presentano almeno 2 dei 4 sintomi seguenti: cefalea, febbre, rigidità nucale, confusione mentale.

Nel **neonato** possiamo distinguere forme di meningite ad insorgenza **precoce** (prime 48 ore di vita) e forme ad insorgenza **tardiva** (da 7 giorni a 6 settimane). Nel primo caso la presentazione clinica è quella di una sepsi mentre nel secondo vi sono manifestazioni a carico del SNC (principalmente letargia ed irritabilità, la tensione/pulsazione delle fontanelle ed il meningismo sono solitamente più rari). Nel neonato sono presenti nel 50% dei casi anche alterazioni gastrointestinali e sintomi delle vie respiratorie in circa 1/3 dei casi. È importante sottolineare come la febbre sia presente in circa il 50% dei casi.

2.4 MENINGO-ENCEFALITI

Un eventuale coinvolgimento infiammatorio-infettivo dell'encefalo in corso di meningite è inquadrato come una meningo-encefalite. Oltre alla presenza dei già citati sintomi correlati al coinvolgimento meningeo, l'interessamento encefalico provoca classicamente anomalie del comportamento in associazione a confusione mentale, sintomi neurologici vari (come atassia, comparsa di emiparesi e deficit focali, afasia, movimenti involontari, deficit dei nervi cranici) fino a crisi tonico-cloniche localizzate o generalizzate. Il paziente può rapidamente peggiorare fino al coma. Il supporto radiologico (oltre alla sintomatologia e alle indagini microbiologiche) può orientare molto sul coinvolgimento encefalico ed anche su una ipotetica eziologia (Solomon, 2007).

Gli agenti eziologici più comuni sono rappresentati da virus (Enterovirus, Herpes simplex e HIV), batteri (principalmente meningococco e *Brucella spp*), criptococchi e *Toxoplasma gondii* (classicamente nel paziente HIV), e forme più rare rappresentate da amebe ed elminti (come *Trichinella spiralis*).

2.5 PRINCIPI DI TERAPIA DELLE MENINGITI INFETTIVE

I principi di terapia delle meningiti si basano sull'agente eziologico e, nel caso di un trattamento empirico, sull'insorgenza dei sintomi e dei segni clinici che posso guidare nella scelta della terapia più appropriata (Bearman, 2002). La strategia generale differisce fra le forme acute e le forme subacute o croniche. Nel primo caso il trattamento deve essere instaurato nel più breve tempo possibile, e inizia in genere con un approccio empirico, per essere poi eventualmente aggiustato una volta identificata l'eziologia. Nel secondo caso il trattamento viene adottato in base all'agente eziologico, quindi attende l'esito dei test diagnostici.

Gli antibiotici sono il cardine del trattamento della meningite batterica acuta. Inoltre, in alcuni casi e per alcune eziologie è indicato un trattamento volto a ridurre l'infiammazione cerebrale e dei nervi cranici e l'aumento della pressione endocranica.

Caratteristica fondamentale nella scelta della terapia antibiotica è la capacità delle molecole di penetrare la barriera emato-encefalica. La norma generale prevede l'inizio del trattamento antibiotico subito dopo l'esecuzione della puntura lombare. Tuttavia, di fronte a pazienti in gravi condizioni con chiari segni di meningite, gli antibiotici ed eventualmente i corticosteroidi devono essere iniziati non appena siano stati effettuati i prelievi per le emocolture e, qualora la puntura lombare sia rimandata nell'attesa di eseguire le indagini neuroradiologiche, anche prima della rachicentesi.

La terapia antibiotica empirica dipende dall'età del paziente, dal suo stato immunitario e dalla potenziale via d'ingresso dell'infezione. In linea generale, devono essere utilizzati antibiotici efficaci nei confronti di *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* e *S. aureus*. Nelle donne in gravidanza, nei neonati, negli anziani e nei pazienti immunocompromessi è da considerare sempre, nella scelta del regime antibiotico, una possibile eziologia da *L. monocytogenes*. La terapia antibiotica dovrà poi essere modificata in relazione ai risultati degli esami colturali e dell'antibiogramma.

In linea generale la scelta antibiotica è composta da cefalosporine di 3ª generazione attive nei confronti di *S. pneumoniae* e *N. meningitidis*, ampicillina nel sospetto di *L. monocytogenes*, e vancomicina o linezolid per i ceppi di *S. pneumoniae* resistenti alla penicillina e per *S. aureus*, soprattutto resistente alla meticillina.

Il desametasone è utilizzato per ridurre l'infiammazione cerebrale, dei nervi cranici e l'edema cerebrale; deve essere somministrato, se indicato, contemporaneamente all'avvio

della terapia antibiotica. L'uso di desametasone è indicato per i pazienti con meningite pneumococcica.

La meningite virale di solito si risolve spontaneamente nell'arco di qualche settimana o raramente di mesi (ad esempio nel caso della meningite da virus West Nile). Il trattamento è quindi principalmente di supporto, comunque l'aciclovir è efficace nel trattamento della meningite da Herpes simplex e può essere utilizzato per il trattamento anche della meningite da Herpes varicella-zoster. Se vi è un sospetto in merito a queste eziologie e/o vi fosse anche un coinvolgimento encefalico, il trattamento empirico con aciclovir è indicato in attesa degli esami diagnostici di conferma. Per quanto riguarda la meningite da HIV il trattamento di scelta è l'utilizzo di farmaci antiretrovirali, se non sono sospettate o confermate altre eziologie.

Infine, il trattamento della meningite subacuta o cronica è diretto verso la causa della stessa (tubercolosi, sifilide o altre cause). Pertanto, la terapia si baserà sull'agente eziologico responsabile. È buona norma non iniziare un trattamento qualora non sia stata confermata una causa precisa della meningite subacuta o cronica.

3. EZIOLOGIA ED EPIDEMIOLOGIA

3.1 MENINGITI BATTERICHE

Rappresentano un evento morboso di elevata gravità. Il liquido cefalo rachidiano (LCR) si presenta da lattescente a francamente purulento, vi è iperproteinorrachia spesso marcata, importante ipoglicorrachia che regredisce velocemente con l'inizio della terapia (a differenza delle forme tubercolari) e pleiocitosi neutrofila.

L'eziologia delle meningiti batteriche dipende dall'età e dalla presenza di particolari fattori di rischio (Tabella 1). In età neonatale i patogeni più frequenti sono rappresentati da *S. agalactiae*, *E. coli, L. monocytogenes*, a cui si aggiungono, dopo il primo mese di vita, *H. influenzae* e *S. pneumoniae* (pneumococco). Nell'adulto, i principali agenti eziologici sono lo pneumococco e *N. meningitidis* (meningococco). Considerando i pazienti con particolari fattori di rischio (età >50 anni, immunocompromissione, etilismo), oltre ai microorganismi sopra citati, vanno considerati anche i bacilli Gram negativi. Un capitolo a parte è rappresentato dalle meningiti nosocomiali, soprattutto quelle correlate ad interventi/procedure neurochirurgiche o a traumi cranici penetranti. In questi casi, i principali patogeni sono *S. aureus*, Enterobacterales, *Acinetobacter spp* e *Pseudomonas spp* (Tunkel, 2017).

MENINGITI	AGENTI EZIOLOGICI			
BATTERICHE	Meningiti comunitarie	*N. meningitidis* *H. influenzae*	*S. pneumoniae* *L. monocytogenes*	*S. agalactiae*
	Meno frequenti	*S. aureus* *S. epidemidis (CoNS)* *E. coli* *K. pneumoniae* *P. aeruginosa* *Nocardia spp*	*Enterobacter* spp. *Proteus* spp. *Citrobacter* spp. *Flavobacterium* spp. *Moraxella* spp. *E. faecalis*	*Salmonella* spp *Streptococcus gr.A* *Serratia* spp. *Acinetobacter* spp. *P. multocida* *Streptococchi viridanti*
	altri	*B. burgdoferi, raramente altre specie di Borrelia* *T. pallidum*		
TUBERCOLARE	*Micobacterium tuberculosis complex*			
VIRALI	Più comuni	*Enterovirus (Coxsackie ed ECHO)* *Herpes simplex virus* *Varicella-zoster virus*		
	Meno frequenti	*Herpesvirus umano-6 (HHP-6)* *Parechovirus (PHeV)* *Citomegalovirus (CMV)* *Human immunodeficiency v. (HIV)* *Virus della parotite*	*Arbovirus vari: West Nile (WNV) virus,* *Tick-borne encephalitiis (TBE) virus,* *Toscana Virus (Tos), ecc* *Virus della rosolia* *Virusl del morbillo*	
MICOTICHE	*Cr neoformans,* *Cr. Immitis/posadasi*	*H. capsulatum,* *Candidat spp.*	*B. dermatitidis* *Cl.bantiana*	
PROTOZOARIE	*Taenia* spp. *Plasmodium* spp. *Toxoplasma gondii* *Echinococcus* spp.	*Entamoeba histolytica* *Amebe a vita libera* *Trypanosoma* spp. *Cryptosporidium* spp.	*Antiostrongylus cantonensis* *Gnatostoma spinigerum* *Strongyloides stercoralis* *Trichinella spiralis*	*Paragonimus* spp. *Spirometra* spp. *Toxocara cati* *Schistosoma* spp.

Tabella n. 1

associazione microbiologi clinici italiani

Le principali meningiti a liquor torbido sono:

- ***Meningite meningococcica***

Si manifesta sporadicamente o con epidemie generalmente verso la fine dell'inverno e l'inizio della primavera. Il patogeno è ubiquitario ma l'incidenza della malattia è maggiore nel continente Africano. Nel 2018, in 30 paesi europei, sono stati confermati n.3316 casi, con un andamento simile ai precedenti anni ma con un lieve incremento rispetto al 2015. La percentuale è risultata pari a 0,6 casi per 100.000 abitanti. L'incidenza è stata più alta nei bambini al di sotto di un anno di età con 8,3 casi notificati per 100.000 abitanti, e 2,4 in quelli tra 1 e 4 anni. Tra 15-24 anni sono stati notificati 0,9 casi per 100.000 abitanti. La maggior parte dei casi (51%) appartengono al sierogruppo B causa del 71% delle meningiti al di sotto dei 5 anni e solo del 25% dei casi sopra i 65 anni, seguono i sierotipi W (18%), C (15%) predominante nella fascia tra i 25-49 anni, e Y (12%) (ECDC, 2022 a).

- ***Meningite pneumococcica***

La meningite pneumococcica si può sviluppare come malattia primaria, ma più spesso origina per diffusione da focolai di otite, sinusite, mastoidite o dopo fratture craniche inapparenti (osso etmoide e osso temporale) anche molti anni dopo il trauma; più rara è la diffusione ematogena a partenza da altre localizzazioni (polmone, cuore). Nel 2018 sono stati riportati n.1627 casi di meningite, pari al 19% del totale delle malattie invasive pneumococciche, e n.56 casi (1%) di meningite sepsi-correlata. La maggior parte dei casi di meningite si è riscontrata nei bambini di età inferiore ad un anno e nella fascia di età 5-14 anni. L'introduzione delle vaccinazioni pneumococco specifiche, ha determinato, in generale, una diminuzione delle malattie invasive causate da *S. pneumoniae*. Attualmente i due vaccini polivalenti più utilizzati sono PCV13 e PCV23, il primo raccomandato nei bambini e negli adulti di età >65anni, il secondo nell'età compresa tra 2-64 anni con patologie ad alto rischio e negli over 65 (ECDC, 2020 a).

- ***Meningite da H. influenzae***

Colpisce la fascia di età fra i 2 mesi e i 18 anni con maggiore incidenza entro i due anni di vita. L'epidemiologia di questa forma di meningite è tuttavia molto cambiata negli ultimi anni grazie all'introduzione della vaccinazione anti-*Haemophilus* che ha determinato una

drastica riduzione dei casi. In Europa, nel 2018, sono stati notificati n.2477 casi di malattia invasiva da H. influenzae, di cui n.186 (8%) erano classificati come meningiti e meningiti/sepsi (ECDC, 2020 b).

- ***Meningite da L. monocytogenes***

L. monocytogenes può essere causa di meningite sia nel neonato che nell'adulto. In quest'ultimo caso la listeriosi viene generalmente contratta ingerendo cibi o bevande contaminate, con una maggiore incidenza nel periodo estivo, e può essere favorita da un deficit dell'immunità cellulo-mediata. La meningite si verifica spesso nell'ambito di un quadro molto grave di sepsi generalizzata (ECDC, 2022 b).

- ***Neurosifilide***

L'interessamento del SNC può comparire in qualsiasi stadio della sifilide ma, generalmente, si manifesta dopo mesi/anni dal contagio mentre risulta essere raro nell'infezione primaria. La forma meningea è benigna ma possono successivamente instaurarsi complicanze neuroluetiche tardive. Un esame neurologico completo è raccomandato in tutti i pazienti con un risultato sierologico positivo, mentre la valutazione del LCR è indicata nei pazienti con (i) evidenze cliniche di coinvolgimento neurologico, oculare e auricolare in qualunque stadio della malattia e in caso di (ii) sifilide terziaria (cardiovascolare, gommosa) (Jia Zhou, 2022).

- ***Neuroborreliosi***

L'agente eziologico della malattia di Lyme (ML) è una spirocheta appartenente al genere *Borrelia*, presente nell'emisfero boreale e trasmessa mediante la puntura di zecche infette appartenenti al genere *Ixodes*. In Italia ed in Europa il vettore è rappresentato da Ixodes ricinus e l'agente eziologico è *Borrelia burgdorferi* (Bb). Le specie in grado di causare ML nell'uomo sono 4: *B. burgdorferi sensu stricto* (predominante nel Nord America, ma presente anche in Europa), *B. afzelii* e *B. garinii* (predominanti in Eurasia) e, di recente identificazione, *B. valaisiana* (precedentemente identificata come "ceppo VS116"). Altre genospecie patogene per l'uomo e scoperte di recente sono *B. lusitaniae*, presente in Europa, nel Nord Africa ed in Asia; *B. bissettii* presente negli USA ed in Europa; *B. spielmanii* presente in Europa.

L'evoluzione naturale della malattia è caratterizzata da due fasi cliniche in cui sono temporalmente distinti tre momenti (Koedel, 2015):

- **Fase precoce localizzata** (I stadio) e **disseminata** (II stadio)
- **Fase tardiva** (III stadio)

Fase precoce localizzata (I stadio):

è caratterizzata dall'Eritema Cronico Migrante (ECM) che si manifesta in corrispondenza della puntura della zecca con successiva diffusione cutanea centrifuga della spirocheta. Negli USA, l'ECM è presente nell'80% dei casi e nel 18% si accompagna a sintomi non specifici. In Europa talora, in questo stadio, si può osservare il linfocitoma (orecchio, capezzolo, altre sedi) causato da *B. afzelii*. Nel primo stadio si possono osservare sintomi di irritazione meningea, in presenza di ECM. In questi casi, solitamente, non si osservano né pleiocitosi né segni di deficit neurologici.

Fase precoce disseminata (II stadio)

Dopo giorni o settimane, Bb diffonde e dissemina in diversi organi, quali cute (ECM multipli, linfocitoma), articolazioni (artrite), cuore, sistema nervoso centrale (meningite) e periferico (paralisi di Bell, o paresi del VII nervo cranico).

B. garinii è neurotropo e può provocare manifestazioni periferiche e centrali. *B. afzelii* invece tende a rimanere localizzato alla cute anche negli stadi tardivi. *B. burgdorferi* in circa il 15% dei casi, può determinare un quadro di meningo-encefalite spesso associato ad altri sintomi neurologici. La sintomatologia osservata è diversa a seconda delle aree geografiche, in relazione al diverso agente eziologico coinvolto. Negli USA, *B. sensu strictu* è causa di coinvolgimento del SNC che si manifesta con meningite linfocitica (con cefalea e dolore alla nuca) talora associata a neuropatia craniale (paralisi del VII, talora bilaterale), radiculonevrite motoria o sensoriale, atassia cerebellare (rara), encefalomielite (rara). In Europa si osserva un quadro di meningopolineurite sostenuta da *B. garinii* (*sindrome di Bannwarth*) caratterizzata da meningite linfocitica associata a radiculonevrite senza cefalea con coinvolgimento dei nervi cranici e con paresi delle estremità. *B afzelii* raramente è causa di menigoencefalite.

Fase tardiva (III stadio)

Sono presenti manifestazioni articolari (artrite cronica), cutanee (Acrodermatite Cronica Atrofica - ACA) e neurologiche.

3.2 MENINGITE TUBERCOLARE

La tubercolosi (TB) è una malattia infettiva causata da *Mycobacterium tuberculosis complex (MTC)*, a localizzazione prevalentemente polmonare. La meningite tubercolare (TBM) è una forma extrapolmonare caratterizzata da un'infiammazione subacuta o cronica delle meningi, in seguito ad un'infezione tubercolare o a causa della rottura di un vecchio focolaio parameningeo con disseminazione di micobatteri nello spazio subaracnoideo. Caratteristico della TBM è l'interessamento delle cisterne della base con coinvolgimento dei nervi cranici.

I dati relativi al 2018, indicano che nel mondo oltre 10 milioni di persone sono affette da TB con 1,5 milioni di morti per tale patologia. La TBM si manifesta nell'1-5% dei pazienti affetti da TB, è fatale nei casi non trattati, ma anche in quelli sottoposti a terapia raggiunge elevati tassi di mortalità e morbilità con neurodisabilità croniche. Le popolazioni a più alto rischio sono i bambini sotto i 5 anni di età e gli immunocompromessi di tutte le età, in particolare soggetti HIV positivi, nei quali la mortalità per TBM trattata raggiunge il 60% (Thwaites, 2005; Cecchini, 2009; Seddon, 2019).

3.3 MENINGO-ENCEFALITI VIRALI

Nelle meningo-encefaliti virali il LCR è quasi sempre limpido con pleiocitosi (80-100 cellule/microlitro) prevalentemente linfocitaria. È stato osservato che la pleiocitosi non è presente nel 40% dei casi di meningite da enterovirus nella popolazione pediatrica o quando la puntura lombare è effettuata in una fase precoce dell'infezione (Kohil, 2021). Nelle meningo-encefaliti virali può essere presente una modesta iperproteinorrachia (~30-150 mg/dL), mentre i livelli di glucosio sono nel range di normalità e il rapporto liquor/siero di glucosio è > 0.5 (Logan, 2008).

I principali responsabili delle infezioni virali del SNC sono gli Enterovirus, seguiti dagli Herpesvirus, in particolar modo Herpes Simplex Virus (HSV) e Varicella Zoster Virus (VZV) e gli Arbovirus (Walker, 2020) (Tabella 1).

- ***Meningo-encefalite da Enterovirus***

Gli Enterovirus sono la principale causa delle meningoencefaliti virali e ogni anno sono riportati negli Stati Uniti 75000 nuovi casi. Si stima che siano responsabili dell'85% dei casi di meningite pediatrica (Autore, 2021), soprattutto gli Enterovirus B, in particolar modo Echovirus 6 e 30 (Wright, 2019). Anche Enterovirus D68 è stato rilevato in recenti epidemie in Europa (Autore, 2021). La maggior incidenza si osserva nella stagione estivo-autunnale. I bambini possono presentare febbre, vomito, irritabilità, fotofobia e convulsioni e, più raramente, rash cutaneo e diarrea.

- ***Meningo-encefalite da Parechovirus***

Le infezioni da Parechovirus sono la seconda causa di meningite virale in età pediatrica, soprattutto nei bambini al di sotto dei 3 mesi di vita.

Le tecniche multiparametriche di biologia molecolare e una crescente consapevolezza del ruolo causale di Parechovirus nelle infezioni in età pediatrica, hanno contribuito ad aumentare i casi segnalati (Kadambari, 2019).

- ***Meningo-encefalite da Herpesvirus***

HSV-1 è principalmente responsabile di encefalite negli adulti immunocompetenti, mentre HSV-2 è associato a meningite, in particolar modo nelle giovani donne, il 50% delle quali presenta una storia di herpes genitale ed il 30% una storia di precedente meningite virale (Al-Qahtani, 2022; Jakobsen 2022). Tuttavia, in un ampio studio prospettico su 205 pazienti con meningite da HSV-2, solo l'8% presentava lesioni muco-cutanee genitali (Jakobsen, 2022). Anche VZV può causare meningite asettica in pazienti immunocompetenti, accompagnata o meno a manifestazioni cutanee (Kaewpoowat, 2016). Meningoencefaliti da Herpes Virus Umano 6 (HHV6) sono descritte nei pazienti pediatrici in concomitanza con la malattia esantematica (roseola infantum) e nell'adulto immunodepresso (ricevente trapianto di midollo e organo solido). Tuttavia il riscontro del genoma di HHV-6 nel liquor è spesso associato alla presenza di linfociti che ospitano il virus in forma latente o al fenomeno dell'integrazione, inherited chromosomally integrated (ici)-HHV-6 (Agut, 2015). Le meningoencefaliti da Citomegalovirus (CMV) sono descritte prevalentemente nei soggetti immunocompromessi, in particolar modo negli HIV-positivi (Handley, 2021).

- ***Meningo-encefalite da arbovirus***

Gli arbovirus (*arthropod-borne virus*) includono virus a RNA in grado di causare patologie neuroinvasive appartenenti alle seguenti famiglie principali: **Togaviridae** (virus dell'encefalomielite equina dell'est, dell'ovest e venezuelana), **Flaviviridae** (West Nile, Usutu, virus dell'encefalite da zecca, dell'encefalite giapponese, dell'encefalite di Saint Louis, dell'encefalite *Murray Valley*), **Bunyaviridae** (virus Toscana, virus della febbre di Rift Valley). La maggior parte degli arbovirus mantiene cicli di trasmissione zoonotica tra artropodi ed animali; la trasmissione all'uomo avviene mediante punture/morsi di artropodi (zanzare, zecche o flebotomi) nel periodo in cui si registra l'attività dell'artropode vettore. Sono stati documentati, inoltre, rari casi di trasmissione tramite trasfusione e donazione di organi. L'encefalite da zecche può essere trasmessa anche attraverso il consumo di latte non pastorizzato proveniente da animali infetti. La distribuzione geografica ed i vettori di trasmissione, così come le manifestazioni cliniche nell'uomo, sono spesso sovrapposte e rendono difficile la diagnosi differenziale. Nel caso dell'infezione da virus West Nile la

maggior parte delle infezioni umane è asintomatica o subclinica. Una sindrome simil-influenzale può verificarsi in circa il 20% dei casi, mentre la malattia neuroinvasiva è generalmente riportate in meno dell'1% delle infezioni, e riguardano specialmente pazienti con co-morbidità. In Italia, sono soggette a sorveglianza speciale le seguenti arbovirosi associate a meningoencefalite: West Nile (WNV), Usutu (USUV), Encefalite da zecca (TBEV) e Toscana (TOSV) (Barzon, 2018; Bellini, 2014; Circolare Ministeriale 2015). In Italia, nelle zone con copiosa presenza di corsi o depositi di acqua, nel periodo di attività della zanzara tigre (estate e autunno iniziale) si verificano casi umani di infezioni neuroinvasive da virus West Nile. Quindi il sospetto diagnostico in genere è basato sulla concomitanza di fattori climatici, metereologici e geografici. Per approfondimenti fare riferimento al Percorso Diagnostico AMCLI "**MENINGOENCEFALITI CAUSATE DA VIRUS EMERGENTI DEL BACINO MEDITTERANEO**"

3.4 MENINGITI MICOTICHE

La meningite micotica più comune, tipica del soggetto immunocompromesso affetto da AIDS (CD4+ <200/mmc), è causata da ***Cryptococcus neoformans.*** Spesso si manifesta in maniera subdola, senza i classici segni e sintomi meningei, presentandosi solo con cefalea.

Coccidioides immitis/posadasii, ***Histoplasma capsulatum*** e ***Blastomyces dermatitidis*** possono dare interessamento meningeo in seguito a diffusione ematogena di malattia a partenza tipicamente polmonare; l'interessamento leptomeningeo è generalmente tardivo. La disseminazione di *Coccidioides* è particolarmente frequente nei pazienti con AIDS o nei trapiantati.

Altro microrganismo responsabile di infezioni micotiche del SNC è ***Cladophialophora bantiana***, micete dematiaceo con elevato neurotropismo: causa perlopiù ascessi cerebrali, ma sono segnalati anche alcuni casi di meningite. Anche ***Aspergillus* spp**. può causare infezioni del Sistema Nervoso Centrale, soprattutto in pazienti leucemici e/o sottoposti a trapianto di cellule staminali. La meningite da *Candida spp.*, infine, è conseguenza della diffusione per via ematogena dell'agente eziologico e colpisce soprattutto i neonati prematuri ed i pazienti immunocompromessi.

3.5 PARASSITOSI DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

Le parassitosi che si localizzano a livello del Sistema Nervoso Centrale (SNC) possono essere causa di danno patologico oppure transitare in modo asintomatico (Garcia, 2019; Garcia, 2021; Carpio, 2016). Tutti i parassiti che colpiscono l'uomo potrebbero coinvolgere il SNC; tuttavia, l'infezione parassitaria più comune del SNC è la malaria cerebrale seguita dalla neurocisticercosi, il cui agente eziologico è *Taenia solium*. Altre infezioni relativamente frequenti sono la toxoplasmosi, l'echinococcosi e la schistosomiasi. Parassiti che invece più raramente, se non eccezionalmente, possono causare encefalite, meningoencefalite, e ascessi cerebrali multipli includono: *Entamoeba histolytica*, amebe a vita libera (*Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*), *Cryptosporidium* spp. (nella Criptosporidiosi disseminata), *Trypanosoma brucei gambiense/rhodesiense* (malattia del sonno o tripanosomiasi africana), *Angiostrongylus cantonensis* (meningite eosinofila), *Gnatostoma spinigerum* (gnatostomiasi), *Strongyloides stercoralis* (nella strongiloidiasi disseminata), *Trichinella spiralis* (trichinosi o trichinellosi) e *Paragonimus* spp. (paragonimiasi). Una malattia spinale può essere presente nella toxocariasi (*Toxocara canis* o *Toxocara cati*) e nella gnatostomiasi.

Lesioni focali non cistiche possono essere trovate nella malattia di Chagas o tripanosomiasi americana (*Trypanosoma cruzi*), nella toxocariasi, nella paragonimiasi, nella sparganosi (*Spirometra* spp.), mentre le lesioni cistiche si verificano nella cenuriasi (Taenia multiceps). L'ictus emorragico o ischemico può essere causato da *G. spinigerum, S. stercoralis e T. spiralis.*

4. DIAGNOSI DI LABORATORIO

La diagnosi di laboratorio prevede, in tutte le meningo-encefaliti di diversa eziologia una fase preanalitica ed analitica comuni.

4.1 FASE PREANALITICA:

Raccolta e trasporto del LCR e altri campioni biologici

LCR

il LCR viene prelevato mediante puntura lombare (PL) o rachicentesi nello spazio tra la 4^ e la 5^ vertebra lombare e raccolto in provette sterili. La suddivisione sequenziale in tre aliquote consente di ridurre progressivamente la contaminazione con sangue proveniente dai tessuti perforati durante l'esecuzione della PL.

Il campione deve essere inviato al laboratorio nel più breve tempo possibile e comunque non oltre un tempo massimo di due ore. *N. meningitidis, S. pneumoniae, H. influenzae* sono organismi esigenti che non sopravvivono a tempi lunghi di trasporto o a variazioni di temperatura. Inoltre la lisi spontanea delle cellule ed i ritardi possono determinare un conteggio cellulare che non rispecchia la condizione clinica del paziente. Pertanto il laboratorio deve procedere immediatamente al trattamento del campione (esame microscopico, semina, ecc.). Il campione deve essere conservato a 4°C per non oltre le 72 ore. Al completamento di tutti gli esami microbiologici, è buona norma congelare il LCR restante a -80°C, per eventuali altri approfondimenti diagnostici.

Campioni di supporto

Da richiedere

- ***sangue/siero***

per indagini molecolari e sierologiche nei casi di sospetta encefalite da HSV1-2, HIV, Arbovirus o neurolue e neuroborelliosi.

tamponi faringeo, vescicolare, salivare, nasale

nella diagnosi di meningo-encefaliti da Enterovirus, HSV1-2, VZV. Per la ricerca di virus sono disponibili terreni con inattivanti, il cui utilizzo pregiudica la coltivabilità degli agenti contenuti nel campione.

- ***feci***

nei casi di sospetta meningo-encefalite da Enterovirus. In casi selezionati le feci in toto possono essere sostituite da un tampone rettale.

- ***urine***

nei casi di sospetta meningo-encefalite da Arbovirus, morbillo e rosolia

- ***emocolture***

da eseguirsi contemporaneamente al prelievo di LCR, prima dell'inizio della terapia antibiotica, in caso di sospetto clinico di meningo-encefalite batterica o micotica.

4.2 FASE ANALITICA

Comprende valutazione macroscopica, esame chimico-fisico, conta cellulare, valutazione microscopica e indagini molecolari (UK SMI, 2011; UK SMI, 2012; UK SMI, 2014).

Valutazione macroscopica del LCR

Considerare i seguenti parametri: volume, aspetto e colore (limpido, torbido, presenza di sangue, opaco, giallo, rosso, ecc.). Il volume complessivo di liquor dovrebbe essere di circa 8 mL nell'adulto (con un volume minimo di 1 mL) e la quantità totale raccolta deve essere distribuita in tre provette. La prima aliquota, di circa 2 mL, è utilizzata per le determinazioni chimiche, la seconda per l'esame colturale e, successivamente, per l'amplificazione genica dei microrganismi sospetti, la terza per l'esame microscopico e la ricerca diretta degli antigeni microbici. Si deve sempre registrare la quantità di LCR ricevuta e, nei casi di volume insufficiente o di raccolta non appropriata, segnalare immediatamente il dato. La valutazione macroscopica del LCR prevede la descrizione del grado di torbidità, l'eventuale presenza di sangue o di coagulo e la valutazione del colore al momento dell'arrivo e del sopranatante dopo la sua centrifugazione. La presenza di globuli rossi (GR) nel LCR può essere conseguente ad una emorragia intra-cerebrale o sub-aracnoidea o ad una PL traumatica con contaminazione di sangue periferico. La presenza uniforme dei globuli rossi in tutti i campioni sequenziali, suggerisce una precedente emorragia nello spazio subaracnoideo, mentre la riduzione dei conteggi sequenziali è indice di un sanguinamento correlato alla procedura. La xantocromia, colorazione giallognola nel sopranatante del centrifugato, è presente nell'emorragia subaracnoidea mentre nel caso di PL traumatica recente, il sopranatante del LCR è di solito di aspetto trasparente e privo di colorazione.

Esame chimico-fisico

Nel sopranatante del centrifugato si esegue la determinazione delle concentrazioni di proteine, albumina, glucosio, e lattati. In **tabella 2** sono elencate le caratteristiche chimico-fisiche del LCR in condizioni di normalità (Leen, 2012; Watson, 1995).

Conta cellulare

Si esegue la conta totale e differenziale dei leucociti e la valutazione della presenza di globuli rossi sul campione non centrifugato, preferibilmente sull'ultima aliquota prelevata, utilizzando un contaglobuli automatizzato o una camera di conteggio. I conteggi non devono essere eseguiti su campioni con coagulo.

Metodo di conteggio automatizzato

Eseguire il conteggio secondo i sistemi utilizzati presso il laboratorio.

Metodo di conteggio in camera (Burker o Thoma)

Colorare il LCR non centrifugato con soluzione colorante quale toluidina, blu di metilene o blu Nilo. Se nel LCR è presente sangue, diluire il campione con acido acetico ed attendere 5 minuti prima di trasferirlo nella camera di conteggio. Ciò consente la lisi dei GR e la colorazione del nucleo dei leucociti per la loro differenziazione. Contare e registrare il numero riscontrato di ciascun tipo di leucocita. Per elevati conteggi diluire il LCR. Tenere conto del fattore di diluizione ed esprimere il risultato come numero di cellule per microlitro.

Metodo di colorazione differenziale dei leucociti, raccomandato per elevati conteggi cellulari.

Preparare un vetrino dal sedimento di LCR centrifugato per 10 minuti a 1500-2500 rpm, lasciare asciugare all'aria, fissare in alcool e colorare utilizzando un colorante idoneo per definire la morfologia dei leucociti. Contare e registrare il numero di ciascun tipo di leucocita. Il deposito da citocentrifugazione permette una più accurata differenziazione delle cellule.

Nel LCR la valutazione del rapporto polimorfonucleati/linfociti non è sufficiente ad indicare l'eziologia della meningite. La meningite virale e quella tubercolare, associate generalmente a linfocitosi del LCR, presentano nelle fasi precoci dell'infezione una predominanza liquorale neutrofila. I pazienti neutropenici non sono in grado di produrre efficienti polimorfonucleati od una risposta di tipo neutrofilo liquorale.

aspetto	**Limpido, incolore, trasparente**
leucociti	**Neonato: 0 – 30 cellule /µL** **Età 1 - 4 anni: 0 - 20 cellule /µL** **Età 5 anni – pubertà: 0 - 10 cellule /µL** **Adulti: 0 - 5 cellule /µL**
eritrociti	**Neonato: 0 - 675 cellule /µL** **Adulti: 0 - 10 cellule /µL**
proteine	**Neonato ≤ 6 giorni:15-110 mg/dL** **Altri: 15 - 40 mg/dL (< 1% della concentrazione proteica del siero)**
albumina	**10 - 25 mg/dL**
globuline	**2.5 – 7.5 mg/dL**
glucosio	**≥60% della concentrazione plasmatica determinata contemporaneamente (rapporto LCR/siero ≥ 60%)**
lattati	**Adulti: 25-31 mg/dL** **Bambini: 10-25 mg/dL**

Tabella n. 2 **- Caratteristiche del LCR in paziente sano**

Esame microscopico

Sul LCR si può eseguire la colorazione di Gram e/o altre colorazioni.

La ricerca microscopica eseguita sul pellet ottenuto dopo centrifugazione del liquor si basa sulle seguenti colorazioni: Gram e arancio di acridina per la ricerca dei batteri e miceti; Ziehl-Neelsen e auramina-rodamina per i micobatteri (vetrini fissati alla fiamma); preparato a fresco per la ricerca di amebe e con aggiunta di inchiostro di china (India ink) per evidenziare la capsula di *Cryptococcus neoformans*.

Nelle meningiti batteriche la sensibilità della colorazione di Gram nei pazienti a cui non è stata ancora somministrata una terapia antibiotica è 50% per *H. influenzae*, 30-90% per *N. meningitidis* e 70-90% per *S. pneumoniae*, mentre risulta notevolmente ridotta in quelli già trattati con antibiotici prima del prelievo di LCR. La specificità per *N. meningitidis*, *H. influenzae* e *S. pneumoniae* varia tra 97 e 98.5%. È importante porre attenzione alla fase di decolorazione che, per alcuni microrganismi, risulta delicata e può portare a false interpretazioni morfologiche per la perdita del primo colorante. Per aumentare, invece, la

colorazione di contrasto, in particolare per *H. influenzae* è utile l'impiego, nella seconda fase, di fucsina basica. Nel caso di infezione da *L. monocytogenes* il numero di batteri nel liquor è solitamente basso con una sensibilità della colorazione compresa tra 25 e 35% (Van de Beek, 2016; Van Ettekoven, 2017).

L'arancio di acridina è un fluorocromo che si intercala nella struttura dell'acido nucleico: con questa colorazione i batteri e i lieviti appaiono rosso vivo e i leucociti appaiono invece color verde mela pallido. Questo metodo rileva batteri in bassa concentrazione, ma non distingue tra Gram positivi e negativi. Lo stesso preparato può essere sottoposto a colorazione di Gram senza procedere alla decolorazione dello stesso.

La colorazione con Auramina-Rodamina è più sensibile del metodo di Ziehl-Neelsen per la messa in evidenza di bacilli alcool-acido resistenti (BAAR).

Per la ricerca delle amebe e del *C. neoformans* sono talvolta opportune prolungate osservazioni, rispettivamente, di un preparato a goccia o di uno con inchiostro di china. Quest'ultimo è essenziale in caso di sospetto di infezione criptococcica nel paziente immunodepresso.

Indagini molecolari

L'introduzione delle tecniche molecolari nella gestione delle meningoencefaliti ha permesso un notevole miglioramento nell'efficacia della diagnostica, incrementando la sensibilità e diminuendo il Turn Around Time (TAT). La quantità di LCR necessaria per l'esecuzione del test è compresa tra 100-300 µl ed il TAT è notevolmente ridotto.

Questi test possono presentare un notevole impatto sulla diagnosi nel caso di meningite "decapitata" (paziente che ha precedentemente assunto terapia antibiotica) o in presenza di germi "fastidious" (Favaro, 2013), favorendo anche una più tempestiva ed appropriata profilassi dei contatti in particolare in caso di positività per meningococco.

Diversi sono i test molecolari che possono essere inseriti nel flusso di lavoro:

- Saggi monoplex: ricerca quali/quantitativa di un singolo agente eziologico, utilizzati prevalentemente quando le indagini clinico-strumentali depongono per un particolare agente virale (ad es. HSV1/HSV2).
- Saggi multiplex: ricerca contemporanea dei principali agenti eziologici causa di meningoencefaliti. I pannelli multiparametrici a disposizione possono essere ristretti ad un determinato gruppo di microrganismi, ad esempio batteri (*N. meningitidis, H. influenzae, S. pneumoniae, L. monocytogenes, S. agalactiae, E. coli K1*) o virus (CMV, EV, HSV-1, HSV-2, HHV-6, HPeV, VZV), oppure possono essere più estesi e ricercare contemporaneamente tutti i principali agenti eziologici responsabili di meningo-encefaliti, compresi i miceti (*C. neoformans/gattii*). Quest'ultima tipologia di test rientra nella definizione dei cosiddetti pannelli sindromici.

La diagnostica molecolare multiparametrica rapida dovrebbe essere principalmente eseguita nei casi di urgenza clinica per meningo-encefalite acquisita in comunità, nelle meningo-encefaliti neonatali e nei pazienti immunodepressi, applicando criteri di inclusione oggettivi basati essenzialmente sull'alterazione dei parametri citochimici del LCR al fine di garantire una maggiore appropriatezza diagnostica. Le indagini molecolari multiparametriche non sarebbero indicate in assenza di urgenza clinica e/o con LCR non patologico. Inoltre, va ricordato che alcuni studi riportano risultati discordanti (sia falsi positivi che falsi negativi) in comparazione con le metodiche convenzionali, sottolineando che tutti i parametri biologici e clinici dovrebbero essere presi in considerazione nell'interpretazione dei risultati. Le indagini molecolari multiparametriche non sempre

possono sostituire le metodiche convenzionali (colture e antibiogramma), al contrario devono essere opportunamente integrate nel flusso di lavoro.

4.3 MENINGITE BATTERICA E MICOTICA

Il LCR nella meningite batterica è frequentemente caratterizzato da:

- concentrazione della glicorrachia inferiore al 60% del valore della glicemia (rapporto LCR/siero <= 0.6)
- aumento della proteinorrachia
- aumento dei globuli bianchi con prevalenza di polimorfonucleati
- pressione intracranica elevata

Le caratteristiche del LCR predittive di meningite batterica con una probabilità superiore al 99% (Spanos, 1989) sono: glicorrachia < 34 mg/dl, rapporto glucosio LCR/siero < 0.23, leucociti > 2000/µL e PMN > 1180/µL, proteine > 220 mg/dl, lattati che indicano una risposta infiammatoria nello spazio sub aracnoideo causata dalla replicazione batterica (Van de Beek, 2016). Nel caso di meningite da *L. monocytogenes* spesso il liquor può apparire solo modestamente torbido con una glicorrachia normale accompagnata da una pleiocitosi mononucleata. La conta cellulare non è dirimente in molti neonati con meningite da *S. agalactiae* (Brouwer, 2010; Nigrovic, 2007).

Fase analitica

Nelle meningoencefaliti batteriche la fase analitica prevede su LCR: ricerca diretta di antigeni batterici e fungini, coltura e antibiogramma, test molecolari, e altre indagini su campioni vari.

Ricerca diretta di antigeni batterici e fungini

I batteri che comunemente causano meningite presentano sulla loro superficie antigeni di natura polisaccaridica che possono essere rilevati da test di agglutinazione al lattice (PAL). La loro affidabilità è scarsa e l'applicazione di questi metodi risulta fortemente sconsigliata, con la sola eccezione della determinazione diretta nel LCR dell'antigene capsulare dello pneumococco, mediante metodi immunocromatografici o immunoenzimatici (Van Ettekoven, 2017; Moisi, 2009). L'antigene criptococcico può anch'esso essere rilevato su siero e LCR con PAL, con metodi immunocromatografici ed immunoenzimatici. Per quanto riguarda la diagnosi di aspergillosi può essere utile la ricerca di galattomannano su siero o liquor mediante tecniche immunoenzimatiche o in chemiluminescenza, tenendo presente che su LCR è da considerare off label in quanto, ad oggi, nessun test commerciale risulta ufficialmente validato.

Coltura e antibiogramma

Il gold standard per la diagnosi di meningite batterica è l'esame colturale, che è positivo nel 50-90% dei pazienti a seconda dell'agente eziologico, la % di positività diminuisce se il LCR viene prelevato dopo l'inizio della terapia antibiotica (Van de Beek, 2016).

Centrifugare il LCR ed inoculare le piastre con il sedimento ottenuto, lasciare asciugare l'inoculo prima di diffonderlo con un'ansa sterile. Nei campioni coagulati seminare i frammenti del coagulo in ciascuna piastra di agar; se il campione contiene solamente un piccolo coagulo, questo deve essere incluso nella coltura di una piastra di agar cioccolato. La parte di campione non coagulata deve essere seminata in modo normale come precedentemente descritto. I terreni usati routinariamente per la ricerca dei microrganismi esigenti nel liquor sono: agar sangue di montone al 5%, agar cioccolato arricchito e un brodo

di arricchimento (es. TSB o un flacone per emocolture da processare in automazione). Le piastre devono essere incubate per almeno 72 h a 37 °C in una atmosfera contenente il 5% di CO2. Piastre di agar Sabouraud, Mac Conkey e Shäedler (in anaerobiosi), possono essere utilizzate rispettivamente per l'isolamento di miceti, enterobatteri e anaerobi. In caso di sospetta meningite da *C. immitis/posadasii, H. capsulatum* o *B. dermatitidis* si devono inoculare 2 set di piastre (Sabouraud, Brain Heart Infusion Agar con 5% di sangue) da incubare a temperature differenti (25° C e 37° C per almeno 3-4 settimane), dato che si tratta di miceti dimorfi a lenta crescita.

Nelle tabelle 3a e 3b sono riassunte le indagini dirette nelle meningiti batteriche e da miceti su LCR.

Microscopia	**Gram**
Microscopia a fluorescenza	**Arancio di acridina**
Coltura	**Agar sangue** **Agar cioccolato** **Trypticase Soy Broth** *almeno 72 ore a 37 °C in atmosfera con 5% di CO_2* **Agar Mac Conkey** per Enterobatteri **Agar Shäedler** *in anaerobiosi* per Anaerobi
Associazione emocoltura	**molto indicata**
Antigeni solubili	**solo per Antigene pneumococcico**

Tabella n. 3a - **Meningite batterica**

Microscopia	**Inchiostro di china**
Coltura	**Agar Sabouraud** **Brain Heart Infusion Agar con 5% sangue** **2 set di piastre: Agar Sabouraud, Brain Heart Infusion Agar con 5% di sangue** *da incubare a temperature differenti 25°C e 37°C per almeno 3-4 settimane* per *C.immitis/posadasii, H.capsulatum* o *B.dermatitidis*
Associazione emocoltura per miceti	**Molto indicata**
Antigeni solubili	**Antigene criptococcico**

Tabella n. 3b - **Meningite da miceti**

I risultati delle indagini preliminari permettono al clinico di intraprendere una "terapia empirica ragionata" la cui ottimizzazione (terapia mirata) richiede la determinazione della sensibilità in vitro. Pertanto le colture positive vengono processate per identificare i microrganismi e testarne la sensibilità agli antibiotici.

Prove di Sensibilità agli Antibiotici

La scelta del metodo da utilizzare per l'esecuzione dell'antibiogramma deve tener conto del germe isolato e delle indicazioni relative ad ogni associazione farmaco/microrganismo, definite da EUCAST.

L'antibiogramma deve comprendere un ampio range di antimicrobici che raggiungano alte concentrazioni nel sito d'infezione. In particolare dovrebbero essere testati almeno i seguenti antibiotici, scelti in base alle indicazioni EUCAST per il microrganismo isolato: Penicillina, Ampicillina, Amoxicillina, Cefotaxime, Ceftriaxone, Meropenem, Ciprofloxacina, Cloramfenicolo, Moxifloxacina, Linezolid, Trimethoprim/Sulfametossazolo.

Per ogni farmaco è indicato refertare i valori di MIC e l'interpretazione SIR secondo le linee guida EUCAST, che per alcune combinazioni antibiotico/microrganismo prevedono breakpoint specifici in caso di isolamento da LCR (es.: penicillina, ampicillina e cefotaxime, per pneumococco).

Per le prove di sensibilità ai farmaci antimicotici si devono utilizzare i criteri interpretativi appropriati EUCAST o CLSI a seconda della metodica utilizzata: si consiglia di fare riferimento al documento emesso dal Comitato di Micologia e disponibile sul sito AMCLI.

Test molecolari

I test molecolari hanno elevata sensibilità (70-100%) e specificità (95-100%), per cui sono un valore aggiunto all'esame microscopico e colturale, soprattutto nei pazienti che hanno iniziato la terapia antibiotica prima del prelievo del LCR (Van de Beek, 2016). Inoltre sono particolarmente utili in caso di microscopia positiva per diplococchi Gram negativi ed in caso di microscopia negativa con LCR torbido e forte sospetto clinico. Lo svantaggio dei metodi molecolari rispetto alla coltura è la mancanza di un isolato su cui poter eseguire antibiogramma ed eventuali sierotipizzazioni.

Indagini di supporto: emocolture e campioni biologici

L'agente eziologico responsabile di meningite batterica, nel 50-80% dei casi, può essere isolato anche dal sangue, pertanto viene raccomandata l'esecuzione di n.3 prelievi per emocoltura in tutti i casi di sospetta meningite (Van de Beek, 2016).

Può risultare utile l'esecuzione del tampone faringeo per ricerca di *N. meningitidis, H. influenzae, S. pneumoniae*, per valutare lo stato di colonizzazione del paziente, soprattutto nei casi con emocoltura o coltura del LCR negative per precedente terapia antibiotica.

Proteina C-reattiva (PCR)

La PCR è rilasciata nel sangue, a poche ore di distanza dall'inizio di un'infezione, a seguito di un'infiammazione o di un danno ai tessuti, in concentrazioni crescenti che spesso precedono la comparsa di febbre e/o altri disturbi. La sua concentrazione aumenta nei pazienti con meningite batterica ed è utile come indicatore generale della gravità di un'infiammazione e per monitorare nel tempo l'efficacia di una cura. Un aumento della sua concentrazione nel sangue può verificarsi nelle infezioni estese (sepsi) ed in altre patologie non infettive (Dubos, 2008; Sherkatolabbasieh, 2013).

Procalcitonina (PCT)

La PCT è un precursore della Calcitonina, è prodotta e rilasciata dalla maggior parte delle cellule dell'organismo in risposta a stimoli infiammatori derivanti dalla degradazione batterica. In particolare la produzione di PCT è provocata da endotossine batteriche e da citochine pro-infiammatorie. Nel corso delle infezioni batteriche nell'adulto, la PCT sierica comincia ad aumentare 4 ore dopo l'inizio dell'infezione sistemica e raggiunge il picco tra 8 e 24 ore (Dubos, 2008; Sherkatolabbasieh, 2013).

4.4 NEUROSIFILIDE

Nei casi di sospetta meningite luetica, l'esame del LCR, oltre a quanto previsto e descritto nella fase preanalitica, deve essere sottoposto a due test, uno treponemico, (TPHA/TPPA), ed uno non treponemico, preferibilmente VDRL. In tabella 4 sono riportati i criteri di interpretazione in basi ai risultati ottenuti con entrambi i test.

Un test VDRL-positivo nel LCR si osserva solo in circa 1/3 dei casi di neurosifilide e può, in assenza di documentata contaminazione ematica, essere considerato come indicativo di meningite luetica.

La real time PCR per T. pallidum su LCR, è attualmente considerata di valore limitato, poiché ha dimostrato sensibilità e specificità subottimali nella diagnosi di meningite luetica.

Per approfondimenti sulla diagnosi di neurosifilide fare riferimento al Percorso Diagnostico AMCLI "SIFILIDE".

TPHA/TPPA	VDRL	NEUROLUE
NEG	NEG	ALTAMENTE IMPROBABILE
POS	NEG	NON CONFERMATA
POS/NEG	POS	CONFERMATA

Tabella n. 4 - Neurolue

4.5 NEUROBORRELIOSI

La diagnosi di ML è essenzialmente clinica, i test possono aiutare a confermare una diagnosi clinica altamente sospetta. La sieropositività infatti non è sinonimo di malattia e la sieronegatività non esclude la diagnosi di ML. Le indagini di laboratorio si basano sulla ricerca degli anticorpi IgM ed IgG anti Bb mediante test ELISA (oppure IFA, anche se meno utilizzato) e Western Blot. Entrambi sono considerati i *gold standard*, *FDA Approved* per la diagnosi di ML.

Test ELISA

Test di I° livello, utilizzato nello screening. Gli antigeni utilizzati sono: whole cell sonicate (WCS) da colture di Bb (numero significativo di falsi positivi per fenomeni di cross-reaction); antigene VlsE lipoprotein (poco espresso da Bb in coltura ma forte immunoreattività in vivo, durante l'infezione); C6 peptide (derivato dalla regione 6 del VlsE, stessa sensibilità di WCS ma, dotato di maggiore specificità); Osp C.

Western Blot (WB)

Test di II° livello, eseguito come conferma di positività ai test di I° livello. La positività del test si evidenzia per la presenza di un numero congruo e ben definito di bande reattive. Sulla significatività delle bande reattive vi è discrepanza fra le varie società scientifiche/agenzie sanitarie statunitensi ed europee.

- Ricerca IgM: utile solo nelle prime fasi, presenta una bassissima percentuale di positività. Sono frequenti cross-reatività con Parvovirus B19, EBV, anaplasmosi, patologie autoimmuni (false positività)
- Ricerca IgG: in Europa spesso sono utilizzate almeno 3 strip, ciascuna per le 3 genospecie più importanti; il test è ottimo anche nelle fasi tardive essendo qualitativo (non si osserva la decadenza del titolo anticorpale soprattutto dopo terapia come per ELISA).

Il risultato dei suddetti test dipende da diversi fattori: momento della raccolta (stadio), antigene target, test utilizzato. È importante anche la valutazione della zona di residenza (ovvero della zona dove vi sia stato verosimilmente il contatto con la zecca) in base alla presenza (endemia) o meno di zecche infette. I test non sono raccomandati nelle zone a bassa probabilità di presenza di ML (per false positività).

La ricerca di IgM ed IgG con test ELISA si può applicare anche nel LCR, utilizzando possibilmente antigeni derivati da *B. garinii*. Al contrario, non è consigliata l'esecuzione di Western Blot su LCR. Bb si trova a livello assonale con infiltrati perivascolari di linfociti e di plasmacellule attorno ai vasi epineurali. Nel LCR si osserva la presenza anche di 100 linfociti mL con protidorrachia aumentata e glicorrachia normale o lievemente diminuita.

Indagini colturali e di amplificazione genica

La ricerca di Bb nel LCR si può realizzare mediante indagini colturali e di amplificazione genica. La sensibilità per entrambe è molto bassa per cui se ne sconsiglia l'uso (PCR positiva dal 10 al 30%).

Diagnostica Sierologica Consigliata (Tabella 5)

Fase precoce localizzata (I stadio) - presenza di ECM

Eseguire ELISA IgM ed IgG. Nelle prime settimane, la sierologia può essere negativa, inoltre, una precoce e giustificata terapia antibiotica può determinare una decapitazione sierologica della malattia.

Se la sintomatologia (ECM) è ≤30 giorni, eseguire ELISA: se positivo o dubbio, eseguire WB IgM ed IgG per conferma.

Se i sintomi sono iniziati >30 giorni, con ELISA positivo per IgG, eseguire WB IgG di conferma

In questa fase la sierologia risulta positiva in circa il 50% dei soggetti infetti.

Fase precoce disseminata (II stadio)

Solitamente i segni e i sintomi si evidenziano entro le 4 settimane dall'infezione. Si possono evidenziare anticorpi specifici anti-Bb in oltre il 90% dei casi. Eseguire ELISA (IgM ed IgG), se positivo o dubbio utilizzare WB IgG di conferma.

Fase tardiva (III stadio)

Nei pazienti in fase tardiva (stadio III), si utilizzano esclusivamente test ELISA IgG e WB IgG.

Test di I° livello ELISA o IFA	Segni o sintomi	Segni o sintomi	Test di II° livello WB Bb

	≤ 30 gg	≤ 30 gg	IgM	IgG
POSITIVO ***oppure*** **EQUIVOCO**	**SI**	**NO**	eseguire per conferma	eseguire per conferma
	NO	**SI**	non è indicata	eseguire per conferma
NEGATIVO*	**Considerare diagnosi alternativa oppure se il paziente ha segni/sintomi correlati a ML ≤30gg, considerare di ripetere i test in convalescenza*			

Tabella n. 5 – Diagnosi di Malattica di Lyme (ML) con l'utilizzo in due step di ELISA o IFA e WB – *CDC Recommendation for Serologic Diagnosis of Lyme Disease, 2019*

4.6 MENINGITE TUBERCOLARE

Il quadro clinico della meningite tubercolare è quasi sempre subdolo e spesso atipico; nella maggioranza dei casi la sintomatologia conclamata si manifesta quando l'essudato ha raggiunto quantità cospicue ed è in via di organizzazione. Inoltre, la diagnosi risulta complessa ed è quindi necessario affiancare alle metodologie "classiche" le metodiche molecolari (PCR) (Tabella 6).

Microscopia	**Ziehel-Neelsen/Auramina**
Coltura	**Micobacteria Growth Indicator Tubes**
Amplificazione genica	**Molto indicata**
Associazione emocoltura per micobatteri	**Molto indicata**
Associazione con coltura da materiale respiratorio	**Molto indicata**

Tabella n. 6 – Meningite da micobatteri

Fase analitica

Nelle meningoencefaliti tubercolari la fase analitica prevede che vengano eseguiti contestualmente indagini molecolari, colturali ed esame microscopico (solo se il campione è sufficiente).

Il volume minimo di liquor necessario per eseguire una ricerca completa è di 2 mL. Nel caso in cui tale volume non fosse disponibile bisogna procedere privilegiando i metodi più sensibili, quindi

1. test di amplificazione molecolare (PCR)
2. esame colturale su terreno liquido
3. esame microscopico.

Nel caso si disponga di una quantità di LCR sufficiente (> 2 ml) è consigliabile centrifugare 3000 g per 15'-20' al fine di concentrare il campione ed aumentare la sensibilità degli esami sopra indicati.

Indagini molecolari: test di amplificazione (PCR)

In caso di fondato sospetto clinico, eseguire il saggio molecolare utilizzando test commerciali, sebbene alcuni non siano validati su campioni extrapolmonari, la loro elevata specificità consente di assegnare un considerevole valore diagnostico ad un risultato positivo. La sensibilità dei test molecolari è pari a quella del metodo colturale ma consente l'identificazione in tempi molto rapidi (circa 2 ore). È inoltre possibile, mediante tali test, rilevare eventuali geni di resistenza ai farmaci di I linea.

Un risultato negativo, tuttavia, non esclude una TBM (Seddon, 2019; Bahr, 2015; Thwaites, 2005).

Esame colturale

Il liquor non va sottoposto alla procedura di decontaminazione, usualmente prevista nei campioni per la ricerca dei micobatteri. È preferibile associare due terreni liquidi (0,5 mL x 2), caratterizzati da una rapidità di positivizzazione delle colture. Data la bassa carica di micobatteri presenti nel liquor e la scarsa sensibilità dei terreni solidi, l'uso dei terreni solidi è pressoché inutile.

Sebbene l'esame colturale presenti una maggiore sensibilità (50-70%) rispetto a quello microscopico, i tempi di crescita dei micobatteri sono molto lunghi (alcune settimane) e non consentono un intervento terapeutico immediato.

Esame microscopico

I campioni devono essere così trattati: centrifugare 0,3 – 0,4 mL il liquor ad almeno 3000 g x 15-20 minuti; prelevare il sedimento; porre una goccia dello stesso su un vetrino preferibilmente dotato di pozzetto centrale (vetrini per immunofluorescenza), asciugare, aggiungere sulla stessa un'altra goccia di sedimento e asciugare (preparare almeno tre o quattro vetrini); colorare con le colorazioni classiche Ziehl-Nelsen, Kinyoun, o Auramina. L'esame microscopico è una metodica rapida ed ampiamente utilizzata ma presenta una scarsa sensibilità (10-20%).

4.7 MENINGO-ENCEFALITE VIRALE

Il LCR nella meningoencefalite virale è frequentemente caratterizzato da:

- aumento dei globuli bianchi con prevalenza di linfociti, ma < 1000 cellule/microlitro
- lieve aumento delle proteine (~30-150 mg/dL)
- livelli normali di glucosio (in caso di infezione da HSV, CMV ed Enterovirus potrebbe essere evidenziato un valore più basso).

In tabella 7 viene indicato l'approccio diagnostico raccomandato nei casi di probabile meningo-encefalite di natura virale.

Eziologia	Test di riferimento	Test di supporto
Enterovirus	**PCR su LCR**	PCR su sangue, tampone faringeo o feci
HSV 1-2	**PCR su LCR**	PCR e anticorpi su sangue, PCR su tampone vescicolare
VZV	**PCR su LCR**	PCR su sangue e tampone vescicolare
HHV-6	**PCR su LCR**	PCR su sangue, eventualmente bulbo pilifero

CMV *in soggetti immunodepressi*	**PCR su LCR**	PCR su sangue
TOSV *in periodo di attività dei vettori*	**RT-PCR su LCR e sangue** **IgG e IgM su LCR e siero**	/
WBV, USUV, TBEV *in periodo di attività dei vettori*	**RT-PCR su LCR, sangue E urine** **IgG e IgM su LCR e siero**	/
HIV	**Test combinato (Ab anti HIV e Ag p24) su sangue**	PCR su sangue e LCR

Tabella n. 7 - Meningo-encefalite virale

Fase analitica

Nelle meningoencefaliti virali la fase analitica prevede l'esecuzione di test molecolari su LCR ed eventualmente test molecolari o sierologici su sangue e test molecolari su campioni vari. Gli agenti eziologici da ricercare sono in relazione allo stato immunitario del paziente, alla clinica e alla stagionalità (Steiner, 2005).

Paziente immunocompetente

Nel paziente immunocompetente è indicata la ricerca nel LCR del genoma di: Enterovirus, HSV-1, HSV-2, VZV e, se il paziente ha meno di 3 anni, HHV-6. In caso di pazienti pediatrici, in particolar modo nei bambini al di sotto dei 3 mesi di vita, valutare la ricerca di Parechovirus.

Nel sospetto clinico di un'infezione da Enterovirus può essere utile la ricerca del virus nel sangue ed eventualmente nel tampone faringeo e nelle feci. La sola positività nel tampone faringeo e nelle feci deve però essere interpretata con cautela perché non stabilisce un nesso causale con la meningoencefalite (Kupila, 2005).

In corso di encefalite da HSV, in una bassa percentuale di casi (0.4%) nei primi 3 giorni dalla comparsa dei sintomi neurologici si possono ottenere nel LCR, risultati falsi negativi. Quindi, se la clinica o la risonanza magnetica sono fortemente suggestivi per encefalite da HSV, ma il LCR è risultato negativo alla ricerca del genoma virale, la rachicentesi andrebbe ripetuta dopo 3-7 giorni (Stahl, 2019).

In presenza di vescicole cutanee o mucosali effettuare la ricerca del genoma di HSV e VZV su tampone cutaneo/mucoso. Un risultato positivo non indica necessariamente che il patogeno rilevato nella lesione cutanea sia l'agente eziologico della meningoencefalite, così come un risultato negativo non lo esclude. È inoltre suggerito, in particolar modo in caso di meningoencefalite da HSV-2, eseguire su sangue la ricerca degli anticorpi anti HSV-2 e, in caso di negatività, ripeterla a distanza di due settimane per verificare la sieroconversione.

La positività per HHV-6 su liquor non denota necessariamente un'infezione del SNC poiché potrebbe essere in relazione alla presenza di linfociti che ospitano il virus in forma latente o al fenomeno dell'integrazione (ici-HHV-6). In questi casi è indicato effettuare approfondimenti su sangue intero (non vanno utilizzati i campioni di siero o plasma) ed eventualmente nel bulbo pilifero. Un elevato carico virale su sangue in toto (> 10^6 copie/ml) fornisce un elevato sospetto di integrazione (Gabrielli, 2023). Nei casi dubbi la conferma deve essere effettuata ricercando il genoma virale sul bulbo pilifero: il genoma virale è rilevabile solo negli individui con ici-HHV-6 nel bulbo pilifero. Negli individui con

integrazione per escludere un'infezione attiva può essere eseguita la ricerca dei trascritti virali (Agut, 2015; Ward, 2007).

La sieroconversione da HIV è accompagnata nel 17% dei casi da sintomi neurologici (Newton, 2002). È consigliabile effettuare il test su sangue per HIV. È possibile fare riferimento al Percorso Diagnostico AMCLI **"INFEZIONE DA HIV".** In presenza di clinica suggestiva per parotite, morbillo e rosolia effettuare su sangue le ricerche anticorpali. Test di ausilio sono la ricerca del genoma virale su sangue, urina e fluidi orali (tampone oro-faringeo o saliva in caso di rosolia e morbillo; tampone mucosa orale in corrispondenza dello sbocco del dotto ghiandolare in caso di parotite); solo in casi particolari effettuare le indagini di biologia molecolare su LCR.

Paziente immunocompromesso

Nel paziente immunocompromesso, in aggiunta alle indagini descritte per gli immunocompetenti, effettuare la ricerca nel LCR del genoma di: CMV, Epstein-Barr Virus (EBV), JC virus e, anche se il paziente è adulto, HHV-6.

Un'eventuale positività di EBV su liquor non denota necessariamente un'infezione del SNC poiché potrebbe essere in relazione alla presenza nel LCR di cellule mononucleate che ospitano il virus latente. In corso di encefalite acuta da EBV o di linfoma primitivo del SNC il carico virale nel LCR è elevato (Wang, 2022; Meyding-Lamadé, 2012).

Stagionalità

Alcune infezioni del sistema nervoso centrale sono causate da arbovirus trasmessi da artropodi vettori, nei periodi e nelle zone in cui l'attività del vettore è elevata. Nel sospetto di meningoencefalite da arbovirus (Reusken, 2014), i test di laboratorio si basano su:

- ricerca di IgM/IgG virus-specifiche su siero e LCR e, in caso di positività, conferma mediante test di neutralizzazione per la presenza di crossrerattività tra virus della stessa famiglia. La presenza delle IgM virus-specifiche intratecali conferma la diagnosi.
- ricerca dell'RNA virale mediante RT-PCR su LCR e altri campioni biologici quali sangue, plasma e, nel caso dei flavivirus, anche nelle urine. Per approfondimenti fare riferimento al Percorso Diagnostico AMCLI **MENINGOENCEFALITI CAUSATE DA VIRUS EMERGENTI DEL BACINO MEDITTERANEO.**

4.8 PARASSITOSI DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

Per la diagnosi di infezione da *E. histolytica* e da *Cryptosporidium* spp., nella Schistosomiasi, nella Strogiloidiasi è possibile fare riferimento al Percorso Diagnostico AMCLI **"Parassitosi Intestinali"**.

Per la diagnosi di Malaria, di infezione da *Trypanosoma brucei gambiense/rhoderiense* e *Trypanosoma cruzi* è opportuno riferirsi al al Percorso Diagnostico AMCLI "**Parassitosi Ematiche**".

Per le modalità diagnostiche, strumentali e di laboratorio, per neurocisticercosi, echinococcosi, paragonimiasi (*Paragonimus* spp.), cenurosi (*T. multiceps*), sparganosi (*Spirometra* spp.), amebe a vita libera (*Acanthamoeba* spp., *B. mandrillaris*, *N. fowleri*), neurotrichinellosi e toxoplasmosi è opportuno riferirsi al Percorso Diagnostico AMCLI **"PARASSITI (PROTOZOI ED ELMINTI) CON LOCALIZZAZIONE A LIVELLO DEL SNC".**

5. MODALITÀ DI REFERTAZIONE LCR

Aspetto macroscopico
refertare l'aspetto e/o l'eventuale presenza di coaguli

Microscopia per conteggio cellulare (se eseguita in Microbiologia)
- Refertare il numero di GR /µL
- Repertare il numero di GB/µL
- Refertare il numero di PMN e linfociti e/o percentuale del conteggio totale dei GB/µL

Microscopia-Colorazioni
Descrivere
- morfologia dei microrganismi osservati
- miceti osservati dotati o non dotati di capsula
- presenza BAAR
- presenza di parassiti

Ricerca antigeni (Ag)
- assenza/presenza di Ag capsulare di pneumococco
- assenza/presenza di Ag criptococcico (siero/LCR)
- assenza/presenza di galattomannano (siero/LCR)

Test molecolari
- … DNA o …RNA non rilevato
- … DNA o …RNA rilevato ed eventuale risultato quantitativo

Colture
- assenza di crescita
- microrganismi isolati: batteri, micobatteri e miceti

Tempi di refertazione
Tutti i risultati delle varie diagnostiche devono essere trasmessi tempestivamente, anche con referti parziali o preliminari, in attesa del referto definitivo.

Il referto definitivo per la ricerca di virus, batteri e Candida spp., ove compatibile con il microrganismo coinvolto, deve essere disponibile entro le 48/72 ore.

In alcune meningiti ad eziologia micotica, i tempi di refertazione sono più lunghi: 72-96 ore per *C. neoformans*, 14 giorni per *Cl. bantiana* ed almeno 3-4 settimane per i miceti dimorfi (*C. immitis/posadasii, H. capsulatum e B. dermatitidis*).

Nelle meningiti da Micobatteri i tempi di refertazione variano da 3 a 6 settimane.

AMCLI associazione microbiologi clinici italiani Ente del Terzo Settore

6. BIBLIOGRAFIA

- Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. Clin Microbiol Rev. **2015** Apr;28(2):313-35.
- Al-Qahtani SM, Shati AA, Alqahtani YA, Ali AS. Etiology, Clinical Phenotypes, Epidemiological Correlates, Laboratory Biomarkers and Diagnostic Challenges of Pediatric Viral Meningitis: Descriptive Review. Front Pediatr. **2022** Jun 16;10:923125.
- Autore G, Bernardi L, Perrone S, Esposito S. Update on Viral Infections Involving the Central Nervous System in Pediatric Patients. Children (Basel). **2021** Sep 6;8(9):782.
- Bahr NC, Tugume L, Rajasingham R, Kiggundu R, Williams DA, Morawski B, Alland D, Meya DB, Rhein J, Boulware DR. Improved diagnostic sensitivity for tuberculous meningitis with Xpert(®) MTB/RIF of centrifuged CSF. Int J Tuberc Lung Dis. **2015** Oct;19(10):1209-15.
- Barzon L. Ongoing and emerging arbovirus threats in Europe. J Clin Virol. **2018** Oct;107:38-47.
- Beaman MH, Wesselingh SL, Acute community-acquired meningitis and encephalitis MJA Practice Essentials Infectious Diseases, **2002**; 176:389-96.
- Bellini R, Calzolari M, Mattivi A, et al. The experience of West Nile virus integrated surveillance system in the Emilia-Romagna region: five years of implementation, Italy, 2009 to 2013. Euro Surveill. **2014**;19(44). pii: 20953.
- Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. Clin Microbiol Rev. **2010** Jul;23(3):467-92.
- Carpio A, Romo ML, Parkhouse RM, Short B, Dua T. Parasitic diseases of the central nervous system: lessons for clinicians and policy makers. Expert Rev Neurother. **2016**;16(4):401-14.
- Cecchini D, Ambrosioni J, Brezzo C, Corti M, Rybko A, Perez M, Poggi S, Ambroggi M. Tuberculous meningitis in HIV-infected and non-infected patients: comparison of cerebrospinal fluid findings. Int J Tuberc Lung Dis. **2009** Feb;13(2):269-71.
- Circolare Ministeriale per la Sorveglianza dei casi umani di Chikungunya, Dengue, West Nile Disease ed altre arbovirosi e valutazione del rischio di trasmissione in Italia, **2015**.
- Dubos F, Korczowski B, Aygun DA, Martinot A, Prat C, Galetto-Lacour A, Casado-Flores J, Taskin E, Leclerc F, Rodrigo C, Gervaix A, Leroy S, Gendrel D, Bréart G, Chalumeau M. Serum procalcitonin level and other biological markers to distinguish between bacterial and aseptic meningitis in children: a European multicenter case cohort study. Arch Pediatr Adolesc Med. **2008** Dec;162(12):1157-63.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Invasive pneumococcal disease. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2018. Stockholm: ECDC; **2020** a.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Haemophilus influenzae. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2018. Stockholm: ECDC; **2020** b.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Invasive meningococcal disease. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2018. Stockholm: ECDC; **2022** a.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Listeriosis. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2021. Stockholm: ECDC; **2022** b.

- Favaro M, Savini V, Favalli C, Fontana. A multi-target real-time PCR assay for rapid identification of meningitis-associated microorganisms, C Mol Biotechnol. **2013** Jan;53(1):74-9.
- Gabrielli, L.; Balboni, A.; Borgatti, E.C.; Virgili, G.; Petrisli, E.; Cantiani, A.; Pavoni, M.; Baiesi Pillastrini, F.; Venturoli, S.; Piccirilli, G.; Lazzarotto, T. Inherited Chromosomally Integrated Human Herpesvirus 6: Laboratory and Clinical Features. Microorganisms **2023**, 11, 548.
- Garcia HH, Nath A, Del Brutto OH. Parasitic Infections of the Nervous System. Semin Neurol. **2019** Jun;39(3):358-368.
- Garcia HH. Parasitic Infections of the Nervous System. Continuum (Minneap Minn). **2021** Aug 1;27(4):943-962.
- Handley G, Pankow S, Bard JD, Yee R, Nigo M, Hasbun R. Distinguishing cytomegalovirus meningoencephalitis from other viral central nervous system infections. J Clin Virol. **2021** Sep;142:104936.
- Jakobsen A, Skov MT, Larsen L, Trier Petersen P, Brandt C, Wiese L, Hansen BR, Lüttichau HR, Tetens MM, Helweg-Larsen J, Storgaard M, Nielsen H, Bodilsen J. Herpes Simplex Virus 2 Meningitis in Adults: A Prospective, Nationwide, Population-Based Cohort Study. Clin Infect Dis. **2022** Sep 14;75(5):753-760.
- Jia Zhou, Hanlin Zhang, Keyun Tang, Runzhu Liu, Jun Li. An Updated Review of Recent Advances in Neurosyphilis. Frontiers in Medicine, vol. 9, **2022**.
- Kadambari S, Harvala H, Simmonds P, Pollard AJ, Sadarangani M. Strategies to improve detection and management of human parechovirus infection in young infants. Lancet Infect Dis. **2019** Feb;19(2):e51-e58.
- Kaewpoowat Q, Salazar L, Aguilera E, Wootton SH, Hasbun R. Herpes simplex and varicella zoster CNS infections: clinical presentations, treatments and outcomes. Infection. **2016** Jun;44(3):337-45.
- Koedel U, Fingerle V, Pfister HW. Lyme neuroborreliosis-epidemiology, diagnosis and management. Nat Rev Neurol. **2015** Aug;11(8):446-56.
- Kohil A, Jemmieh S, Smatti MK, Yassine HM. Viral meningitis: an overview. Arch Virol. **2021** Feb;166(2):335-345.
- Kupila L, Vuorinen T, Vainionpää R, Marttila RJ, Kotilainen P. Diagnosis of enteroviral meningitis by use of polymerase chain reaction of cerebrospinal fluid, stool, and serum specimens. Clin Infect Dis. 2005 Apr 1;40(7):982-7.
- Leen WG, Willemsen MA, Wevers RA, et al. Cerebrospinal fluid glucose and lactate: age-specific reference values and implications for clinical practice. PLoS One **2012**;7:e42745.
- Logan SAE and MacMahon E, Viral meningitis BMJ **2008;** 336:36-40
- Meyding-Lamadé U, Strank C. Herpesvirus infections of the central nervous system in immunocompromised patients. Ther Adv Neurol Disord. **2012**; 5(5):279-96.
- Moisi JC et al. Enhanced diagnosis of pneumococcal meningitis with use of the Binax NOW immunochromatographic test of Streptococcus pneumoniae antigen: a multisite study. Clin Infect Dis. **2009**; 48-2:S49-S56.

- Newton PJ, Newsholme W, Brink NS, Manji H, Williams IG, Miller RF. Acute meningoencephalitis and meningitis due to primary HIV infection. BMJ. **2002** Nov 23;325(7374):1225-7.
- Nigrovic L.E. et al. Clinical prediction rule for identifying Children with cerebrospinal fluid pleocytosis at very low risk of bacterial meningitis. JAMA, January 3, **2007**; 297.
- Sherkatolabbasieh, Zare, Kansestani,Shafiezadeh, Mahruei Serum Procalcitonin level and other biological markers in children with bacterial or non-bacterial meningitis Journal of Paramedical Sciences, **2013.**
- Reusken CB, Ieven M, Sigfrid L, Eckerle I, Koopmans M.Laboratory preparedness and response with a focus on arboviruses in Europe Clin Microbiol Infect. **2018** Mar;24(3):221-228.
- Seddon JA, Tugume L, Solomons R, Prasad K, Bahr NC; Tuberculous Meningitis International Research Consortium. The current global situation for tuberculous meningitis: epidemiology, diagnostics, treatment and outcomes. Wellcome Open Res. **2019** Nov 5;4:167.
- Solomon T, Hart IJ, Beeching NJ. Viral encephalitis: a clinician's guide. Pract Neurol. **2007**;7(5):288-305.
- Spanos A, Harrell FE Jr, Durack DT. Differential diagnosis of acute meningitis. An analysis of the predictive value of initial observations. JAMA. **1989** Nov 17;262(19):2700-7.
- Stahl J.P., Meningiti acute EMC – Neurologia, **2013**; 13:2.
- Stahl JP, Mailles A. Herpes simplex virus encephalitis update. Curr Opin Infect Dis. **2019** Jun;32(3):239-243.
- Steiner I et al. Viral encephalitis: a review of diagnostic methods and guidelines for management European Journal of Neurology **2005**, 12: 331–343.
- Thwaites GE, Lan NT, Dung NH, Quy HT, Oanh DT, Thoa NT, Hien NQ, Thuc NT, Hai NN, Bang ND, Lan NN, Duc NH, Tuan VN, Hiep CH, Chau TT, Mai PP, Dung NT, Stepniewska K, White NJ, Hien TT, Farrar JJ. Effect of antituberculosis drug resistance on response to treatment and outcome in adults with tuberculous meningitis. J Infect Dis. **2005** Jul 1;192(1):79-88.
- Tunkel AR, Hasbun R, Bhimraj A, Byers K, Kaplan SL, Scheld WM, van de Beek D, Bleck TP, Garton HJL, Zunt JR. 2017. Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis Clin Infect Dis. **2017** Mar 15;64(6):e34-e65.
- UK Standards for Microbiology Investigations, Investigation of viral encephalitis and meningitis, Clinical Guidance; **2011.**
- UK Standards for Microbiology Investigations, Investigation of Cerebrospinal Fluid Bacteriology, 10.07.**2012** B 27, Issue no: 5.1.
- UK Standards for Microbiology Investigations, Meningoencephalitis, 08.05.**2014**, S 5, Issue no:1.
- Van de Beek D, Cabellos C, Dzupova O, Esposito S, Klein M, Kloek AT, Leib SL, Mourvillier B, Ostergaard C, Pagliano P, Pfister HW, Read RC, Sipahi OR, Brouwer MC; ESCMID Study Group for Infections of the Brain (ESGIB). ESCMID guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. Clin Microbiol Infect. **2016** May;22 Suppl 3:S37-62.

- Van Ettekoven CN, van de Beek D, Brouwer MC. Update on community-acquired bacterial meningitis: guidance and challenges. Clin Microbiol Infect. **2017** Sep;23(9):601-606.
- Walker, Amy & Gaieski, David & Johnson, Nicholas. How do I manage central nervous system infections (meningitis/encephalitis)? Elsevier, **2020**, Pages 313-318.
- Wang LP, Yuan Y, Liu YL, Lu QB, Shi LS, Ren X, Zhou SX, Zhang HY, Zhang XA, Wang X, Wang YF, Lin SH, Zhang CH, Geng MJ, Li J, Zhao SW, Yi ZG, Chen X, Yang ZS, Meng L, Wang XH, Cui AL, Lai SJ, Liu MY, Zhu YL, Xu WB, Chen Y, Yuan ZH, Li MF, Huang LY, Jing HQ, Li ZJ, Liu W, Fang LQ, Wu JG, Hay SI, Yang WZ, Gao GF; Chinese Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Etiology of Acute Meningitis and Encephalitis Surveillance Study Team. Etiological and epidemiological features of acute meningitis or encephalitis in China: a nationwide active surveillance study. Lancet Reg Health West Pac. **2022** Jan 3;20:100361.
- Ward KN, Leong HN, Thiruchelvam AD, Atkinson CE, Clark DA. Human herpesvirus 6 DNA levels in cerebrospinal fluid due to primary infection differ from those due to chromosomal viral integration and have implications for diagnosis of encephalitis. J Clin Microbiol. **2007**;45(4):1298-304.
- Watson MA, Scott MG. Clinical utility of biochemical analysis of cerebrospinal fluid. Clin Chem **1995**;41:343- 60.
- Wright WF, Pinto CN, Palisoc K, Baghli S. Viral (aseptic) meningitis: A review. J Neurol Sci. **2019** Mar 15;398:176-183.

AMCLI associazione microbiologi clinici italiani

Links ad altri Percorsi Collegati

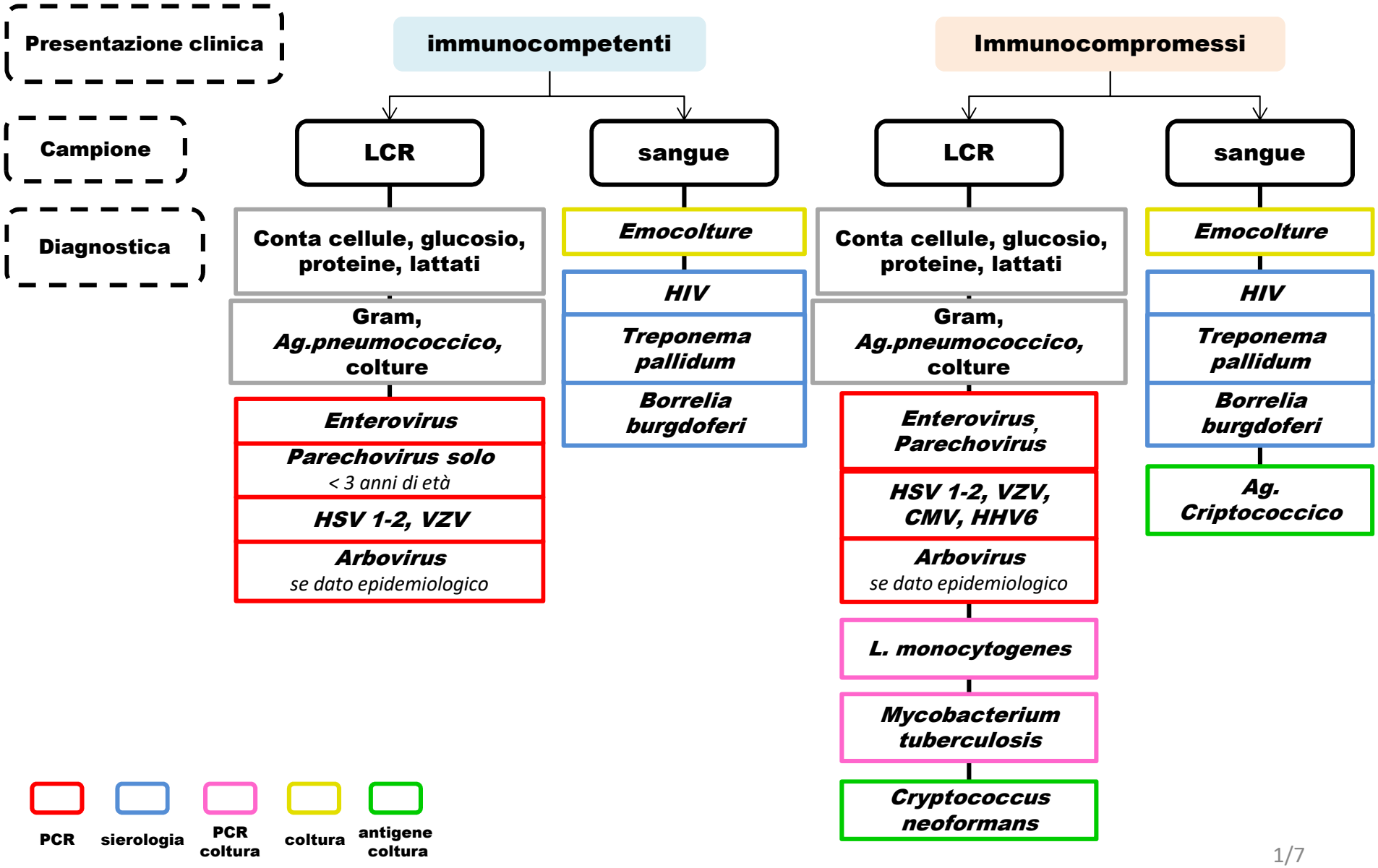
Percorso Diagnostico AMCLI **PARASSITI (PROTOZOI ED ELMINTI) CON LOCALIZZAZIONE A LIVELLO DEL SNC (RIF. 2023-04)**

Percorso Diagnostico AMCLI **MENINGOENCEFALITI CAUSATE DA VIRUSL EMERGENTI DEL BACINO MEDITTERANEO (RIF. 2023-12)**

Percorso Diagnostico AMCLI **INFEZIONE DA HIV (RIF. 2023-03)**

Percorso Diagnostico AMCLI **SIFILIDE (RIF. 2023-02)**

MENINGO-ENCEFALITI
flow chart diagnostica secondo i principi della stewardship



URGENZA CLINICA

per

MENINGO-ENCEFALITE ACQUISITA IN COMUNITÀ, MENINGO-ENCEFALITI NEONATALI o NELL'IMMUNODEPRESSO

PANNELLI SINDROMICI		
Batteri	**Virus**	**Miceti**
E. coli K1	CMV	*C.neoformans/gattii*
H. influenzae	Enterovirus	
L. monocitogenes	HSV1	
N. meningitidis	HSV2	
S. agalactiae	HHV6	
S. pneumoniae	HPeV	
	VZV	

Caratteristiche del LCR in paziente sano

aspetto	**Limpido, incolore, trasparente**
leucociti	**Neonato: 0 – 30 cellule /µL** **Età 1 - 4 anni: 0 - 20 cellule /µL** **Età 5 anni – pubertà: 0 - 10 cellule /µL** **Adulti: 0 - 5 cellule /µL**
eritrociti	**Neonato: 0 - 675 cellule /µL** **Adulti: 0 - 10 cellule /µL**
proteine	**Neonato ≤ 6 giorni:15-110 mg/dL** **Altri: 15 - 40 mg/dL (< 1% della concentrazione proteica del siero)**
albumina	**10 - 25 mg/dL**
globuline	**2.5 – 7.5 mg/dL**
glucosio	**≥60% della concentrazione plasmatica determinata contemporaneamente (rapporto LCR/siero ≥ 60%)**
lattati	**Adulti: 25-31 mg/dL** **Bambini: 10-25 mg/dL**

Meningite batterica

Microscopia	**Gram**
Microscopia a fluorescenza	**Arancio di acridina**
Coltura	**Agar sangue** **Agar cioccolato** **Trypticase Soy Broth** *almeno 72 ore a 37 °C in atmosfera con 5% di CO_2* **Agar Mac Conkey** per Enterobatteri **Agar Shäedler** *in anaerobiosi* per Anaerobi
Associazione emocoltura	**molto indicata**
Antigeni solubili	**solo per Antigene pneumococcico**

Meningite da miceti

Microscopia	**Inchiostro di china**
Coltura	**Agar Sabouraud** **Brain Heart Infusion Agar con 5% sangue** **2 set di piastre: Agar Sabouraud, Brain Heart Infusion Agar con 5% di sangue** *da incubare a temperature differenti 25°C e 37°C per almeno 3-4 settimane* per *C.immitis/posadasii, H.capsulatum* o *B.dermatitidis*
Associazione emocoltura per miceti	**Molto indicata**
Antigeni Solubili	**Antigene criptococcico**

Meningite da micobatteri

Microscopia	**Ziehel-Neelsen/Auramina**
Coltura	**Micobacteria Growth Indicator Tubes**
Amplificazione genica	**Molto indicata**
Associazione emocoltura per micobatteri	**Molto indicata**
Associazione con coltura da materiale respiratorio	**Molto indicata**

Meningo-encefalite virale

Eziologia	Test di riferimento	Test di supporto
Enterovirus	**PCR su LCR**	PCR su sangue, tampone faringeo o feci
HSV 1-2	**PCR su LCR**	PCR e anticorpi su sangue, PCR tampone vescicolare
VZV	**PCR su LCR**	PCR su sangue e tampone vescicolare
HHV-6	**PCR su LCR**	PCR su sangue, eventualmente bulbo pilifero
CMV *in soggetti immunodepressi*	**PCR su LCR**	PCR su sangue
TOSV *in periodo di attività dei vettori*	**RT-PCR su LCR e sangue IgG e IgM su LCR e siero**	/
WBV, USUV, TBEV *in periodo di attività dei vettori*	**RT-PCR su LCR, sangue e urine IgG e IgM su LCR e siero**	/
HIV	**Test combinato (Ab anti HIV e Ag p24) su sangue**	PCR su sangue e LCR