

PROGETTO IST: UNITÀ OPERATIVA DI NAPOLI

Mario Delfino, Maria Guarino

Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Sezione di Dermatologia e Venereologia, Università di Napoli Federico II

Le Infezioni Sessualmente Trasmesse (IST) costituiscono un gruppo di malattie infettive molto diffuso con un forte impatto sulla salute sessuale e riproduttiva a livello globale.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) stima che ogni anno si verifichino nel mondo circa 376 milioni di nuovi casi di quattro IST curabili (infezione da trichomonas, infezione da clamidia, gonorrea e sifilide). Circa i due terzi di queste si verificano al di sotto dei 25 anni di età (1).

Le conseguenze delle IST sulla salute umana sono serie e molteplici, tra queste una delle principali conseguenze è l'infertilità sia nella donna che nell'uomo, secondaria ad infezioni pelviche da infezioni urogenitali, che purtroppo alcune volte sono completamente asintomatiche.

Attualmente per ragioni sociologiche e psicologiche complesse, le IST richiedono interventi diagnostici diversi rispetto al passato, e spesso c'è la necessità di mettere a punto nuovi metodi di diagnosi, fra cui hanno assunto un ruolo di primaria importanza le tecniche di diagnostica molecolare. Tali tecniche offrono anche nella pratica clinica, la possibilità di una diagnosi rapida e affidabile senza dover accantonare le metodiche tradizionali di tipo colturale e/o sierologico (dirette e indirette), che in alcuni casi possono ancora rappresentare il gold standard nella diagnosi di alcune IST. Le metodiche molecolari nascono dalla necessità di diagnosticare le IST asintomatiche o paucisintomatiche, soprattutto nelle popolazioni più giovani. Sono non invasive, hanno un'elevata sensibilità, un'elevata specificità, facile esecuzione e attualmente anche costi contenuti.

Il contrasto alla diffusione delle IST è prioritariamente basato sulla diagnosi precoce, una terapia rapida ed efficace, l'interruzione della catena del contagio, la prevenzione e l'educazione sanitaria.

L'OMS ha sviluppato e proposto una strategia globale per la prevenzione e il controllo delle IST basata su un'articolata serie di azioni diverse tra cui:

- 1) migliorare la sorveglianza epidemiologica delle IST a livello nazionale, regionale e globale;
- 2) promuovere comportamenti sessuali più sicuri attraverso attività di informazione ed educazione sanitaria, evitare comportamenti a rischio (ridurre il numero partner sessuali, evitare l'alcool e le droghe, usare correttamente i metodi barriera);
- 3) mettere a punto dei servizi per migliorare la consapevolezza e la capacità dei giovani di prevenire le IST come: attività di informazione ed educazione sanitaria, attivazione di servizi specifici e adatti all'età, in particolare per gli adolescenti;
- 4) sensibilizzare le persone affette da IST e i loro partner al ricorso tempestivo al sistema sanitario;
- 5) incrementare la consapevolezza pubblica del ruolo delle IST nella trasmissione/acquisizione dell'infezione da HIV (*Human Immunodeficiency Virus*), che è più frequente nei soggetti con altre IST.

Laboratorio di prossimità

Una rete capillare sul territorio per le IST deve poter utilizzare un laboratorio di "prossimità" o "clinico" che sia a disposizione e/o la gestione rapida dello specialista che prenda in cura un

paziente e che disponga di pochi e semplici strumenti di bassa tecnologia e/o di semplice gestione, quali:

- test di diagnosi rapida (inclusi i test di autodiagnosi)
- ricerca immediata a fresco del microrganismo
- colorazione secondo Gram
- colorazione secondo May-Grumwald-Giemsa
- esame colturale con terreno di Sabouraud
- esame colturale con terreno di Tayer-Martin

Laboratorio di alta tecnologia

Per una conferma diagnostica in laboratori di eccellenza, oggi sono disponibili diversi test per la diagnosi molecolare delle IST progettati per amplificare e rilevare sequenze di acido nucleico specifiche per ciascun microrganismo da identificare: i test di amplificazione dell'acido nucleico (*Nucleic Acid Amplification Tests*, NAAT).

I NAAT hanno una vasta applicabilità in particolare in particolari condizioni:

- microrganismi con isolamento problematico (*Chlamydia trachomatis* e *Mycoplasma genitalium*);
- microrganismi presenti in quantità non rilevabile con metodiche convenzionali;
- microrganismi difficilmente o non coltivabili (*Human Papilloma Virus*, HPV);
- microrganismi non più biologicamente attivi (campione mal conservato);
- in tutti i casi in cui sia necessaria una identificazione rapida e altamente affidabile.

Esaminiamo le principali condizioni cliniche di interesse genito-urinario causate da agenti sessualmente trasmissibili.

Infezioni da *Chlamydia trachomatis*

Per la diagnosi di cerviciti e uretriti da *Chlamydia trachomatis* si ricorre ai NAAT che permettono di determinare direttamente il DNA su campioni uretrali, cervicali, vaginali, anali, rettali e urine primo mitto.

Infezioni da *Neisseria gonorrhoeae*

La gonorrea, e le manifestazioni cliniche ad essa correlate, sono causate dall'infezione da parte di un batterio Gram-negativo noto come *Neisseria gonorrhoeae* (Ng).

La trasmissione interumana avviene per contatto con la secrezione infetta da una mucosa genitale all'altra.

La gonorrea è una IST di solito localizzata nelle mucose genitali, ma talvolta può colpire altri siti come il retto, la faringe e la congiuntiva. La diagnosi di gonorrea, dopo un periodo incubazione di 2-6 giorni, viene eseguita con esame microscopico con colorazione di Gram (solo in uomini sintomatici) o con esami microbiologici (coltura in Thayer-Martin) o con NAAT.

In caso di strisci ed esami colturali negativi o dubbi, si ricorre al laboratorio di alta tecnologia per una diagnosi molecolare (NAAT) per infezioni da Ng, che permette la determinazione diretta del DNA di Ng anche sulle urine.

Sifilide

La diagnosi clinica di sifilide si formula sulla base dei principali sintomi: ulcera, rash (roseola), papule (sifiloderma papuloso) su cute, mucose, annessi; linfadenopatia generalizzata, sintomatologia simil-influenzale, interessamento sistemico, malessere e febbre.

Ordinariamente per la diagnosi di sifilide si utilizzano test sierologici di tipo non treponemico (*Venereal Disease Research Laboratory*, VDRL; e *Rapid Plasma Reagin*, RPR) o test sierologici di tipo treponemico (2):

- ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) IgG e IgM;
- TPHA (*Treponema Pallidum Hemagglutination Assay*);
- TPPA (*Treponema Pallidum Particles Agglutination*);
- FTA-ABS (*Fluorescent Treponemal Antibody Absorption*).

Molto importanti sono le valutazioni quantitative. I test quantitativi, sia i non treponemici (VDRL e RPR) sia i treponemici (TPHA, TPPA), sono utili per lo screening e principalmente per il monitoraggio della terapia.

È importante considerare la possibilità di abusi sessuali quando si tratta di minori, infatti è noto che le IST sono frequenti nei casi di pazienti sessualmente abusati (pedofilia, prostituzione minorile, ecc.) (3, 4). All'osservazione clinica sono presenti segni di abuso (ematomi, escoriazioni, ecc.).

In caso di IST in età pediatrica vanno fatte le seguenti osservazioni riguardanti eventuale sospetto di abuso:

- Il bambino è ansioso, impaurito oppure ha atteggiamenti remissivi.
- Il bambino lamenta dolori all'esame clinico specialmente nella regione genitale.
- Il bambino lamenta problemi nel socializzare.
- Il bambino ha problemi ad interagire con gli altri bambini a scuola.
- Il bambino rifiuta di farsi visitare.
- Il bambino è solito avere disturbi del sonno e incubi notturni.
- Il bambino mostra comportamento disadattato, asociale o aggressivo.

Infezioni da *Trichomonas*

La diagnosi clinica si basa sulla valutazione di una cervicovaginite con secrezione "schiumosa", con sgradevole "odore di pesce" a volte anche con uretrite asintomatica o paucisintomatica.

Se si sospetta come agente eziologico il *Trichomonas vaginalis* (Tv) la diagnosi clinica può essere confermata direttamente in tempo reale con microscopia a fresco, oppure mediante esame microscopico dopo colorazione standard Giemsa o anche esame colturale (5).

Di fronte ad una diagnosi clinica di uretrite, vaginite, cervicite, proctite, balanopostite con sospetto di tricomoniasi, oltre alla microscopia ottica con prima valutazione a fresco delle secrezioni e/o dell'essudato, e/o dopo colorazione classica di Giemsa, si può ricorrere alla diagnosi molecolare di infezione da Tv.

Nonostante sia una IST facilmente diagnosticabile e curabile, la tricomoniasi non è una malattia facilmente diagnosticabile a causa dell'elevata asintomaticità.

Oggi, accanto ai metodi microscopici e colturali, i test di amplificazione dell'acido nucleico offrono la massima sensibilità per il rilevamento di infezioni da Tv, e in molti laboratori ormai rappresentano il gold standard per la diagnosi di Tricomoniasi, con una sensibilità del 88%-97% e una specificità del 98%-99%, a seconda del campione e dello standard di riferimento.

I NAAT con metodica in Real-time PCR per la rilevazione diretta e qualitativa di Tv sono in grado di rilevare il DNA del patogeno in tamponi vaginali o endocervicali e in campioni di urina sia in donne che in uomini.

Infezioni da Micoplasmi e Ureaplasmi

I NAAT hanno largamente sostituito gli altri metodi, specialmente nelle infezioni da micoplasma e ureaplasma. Attualmente, circa il 15-25% delle uretriti non gonococciche è causato da *Mycoplasma genitalium*.

Il *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum*, sono tra le specie batteriche a vita libera più piccole, sono sprovvisti di parete cellulare, sono microrganismi associati ad un ampio range di patologie del tratto urogenitale spesso associate ad infertilità, ad IST e infezioni croniche nel paziente immunocompromesso e talvolta, sono associati ad infezioni respiratorie e meningiti per contaminazione alla nascita.

Attualmente sono disponibili diversi NAAT che consentono l'identificazione simultanea del DNA di *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* dall'essudato cervicale, uretrale, faringeo, rettale o sulle urine; tali test utilizzano diversi geni target specifici:

- *Mycoplasma hominis*: gap (gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi),
- *Mycoplasma genitalium*: gyrA (subunità A della DNA girasi) e il *repetitive sequence element* mgp-r2,
- *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum*: gene per l'ureasi.

Si tratta di sistemi con tecnologia Multiplex Real time PCR qualitativa, che utilizzano diversi controlli interni (gene per l'RNAsi) e controlli positivi (DNA genomico).

Sono test molto rapidi con *performance* molto elevate.

Diversi studi hanno dimostrato l'elevata sensibilità di questi metodi se confrontati alle tecniche colturali convenzionali, che si traduce in un aumento di diagnosi fino al 40% soprattutto nelle complicanze ostetriche e nelle infezioni neonatali.

Infezioni da Papillomavirus umano

Tra le IST oggi maggiormente diffuse, l'infezione da Papillomavirus umano (HPV) è tra le più rilevanti.

Sebbene nella maggior parte dei casi si tratti di un'infezione transitoria e priva di sintomi evidenti, talvolta si manifesta attraverso escrescenze verrucose, papillomatose (condilomi acuminati, verruche genitali esterne) o lesioni benigne della cute e delle mucose.

Nei casi in cui il sistema immunitario non riesce a debellare rapidamente il virus, l'HPV può determinare l'insorgenza di forme maligne tumorali quali il carcinoma della cervice uterina o favorire altri tumori in sede genitale (vulva, vagina, ano, pene) ed extragenitale (cavità orale, faringe, laringe) (6).

Vari tipi di HPV sono implicati nelle neoformazioni benigne (tipi 6 e 11 nel 90% dei casi), mentre HPV ad alto rischio oncogenico (tipi 16, 18, 31,33, 35, 45, 58, 73) sono implicati nella carcinogenesi dei carcinomi epiteliali, cutanei o mucosi.

La clinica, in genere sufficiente alla diagnosi, può avvalersi in alcuni casi di un esame strumentale come la dermatoscopia per la diagnosi differenziale (ad esempio i grani di Fordyce hanno pattern vascolare a "ghirlanda", mentre gli angiocheratomi hanno un pattern lacunare con lacune nero-bluastre).

La diagnostica molecolare delle infezioni da HPV è riservata alle neoformazioni a rischio, o già tumorali.

Nel caso del carcinoma della cervice uterina, il test HPV-DNA viene effettuato prelevando una piccola quantità di cellule dal collo dell'utero e dal canale cervicale mediante un cito-brush.

Le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici virali in PCR consentono di ricercare e tipizzare il DNA virale, in particolare dei genotipi ad alto rischio (tipi 16, 18, 31 e 45), e valutare conseguentemente il loro potere oncogeno.

Il test HPV-DNA ha una sensibilità molto elevata >95% e i falsi negativi sono molto rari. La sensibilità è significativamente maggiore rispetto alla citologia nei casi di lesioni premaligne e maligne.

In donne di giovane età (<30 anni), il test HPV-DNA è meno specifico della citologia nell'identificare le displasie cervicali. Pertanto, come test di screening sarebbe da riservare alle donne di età superiore ai 30 anni.

Herpes genitalis

Trattasi di patologia che ha come agente eziologico i seguenti virus: *Herpes Simplex Virus* tipo 1 (HSV-1) e *Herpes Simplex Virus* tipo 2 (HSV-2).

La sintomatologia è tipica, con una fase prodromica caratterizzata da parestesie-bruciore, e successiva comparsa di piccoli elementi lesioni eritemato-vescicolose a grappolo, accompagnati da eritema e, a volte, da edema delle aree genitali colpite e delle regioni limitrofe (7). È possibile linfadenopatia satellite. L'infezione può essere ricorrente, con periodicità molto variabile. Nelle forme genitali HSV-2 è più frequentemente implicato rispetto a HSV-1. La diagnosi è prevalentemente clinica.

L'istopatologia non è quasi mai necessaria; nell'epidermide si osservano acantolisi, degenerazione balloniforme, cellule multinucleate.

Mollusco contagioso

È un'infezione virale comune nei bambini in sedi esposte, e che più raramente colpisce gli adulti in sede genitale (8).

La clinica coadiuvata con la dermatoscopia consente di osservare papule emisferiche lievemente rosate, con tipica ombelicatura, asintomatiche.

Il pattern dermoscopico mostra vasi periferici con morfologia a corona e disposizione radiale; centralmente la struttura si presenta amorfa poliglobulare di colore bianco-giallastro.

Pediculosi del pube

La pediculosi del pube, patologia clinicamente evidente, si giova dell'ausilio della dermatoscopia per meglio evidenziare gli ftiri e le lendini fissate al fusto del pelo.

Le lendini contenenti ninfe si evidenziano come strutture ovoidali marroni, le lendini vuote sono invece strutture ovoidali marroni traslucide, le pseudo-lendini sono strutture amorfe e biancastre dovute a piccoli frammenti di forfora.

Bibliografia

1. World Health Organization. *Report on global sexually transmitted infection surveillance, 2018*. Geneva: WHO; 2018.

2. Ho EL, Lukehart SA. Syphilis: using modern approaches to understand an old disease. *J Clinical Invest* 2011;121:4584-92.
3. A Thomas, G Forster, A Robinson, K Rogstad. National guideline for the management of suspected sexually transmitted infections in children and young people. *Arch Dis Child* 2003;88:303-11.
4. Hornor G. Ano-genital warts in children: sexual abuse or not? *J Pediatr Health Care* 2004;18:165-70.
5. Radonjic IV, Dzamic AM, Mitrovic SM, Arsic Arsenijevic VS, Popadic DM, Kranjic Zec IF. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection: The sensitivities and specificities of microscopy, culture and PCR assay. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006;126(1):116-20.
6. Muñoz N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. *J Clin Virol* 2000;19(1-2):1-5.
7. Gnann JW Jr, Whitley RJ. Clinical practice. Genital Herpes. *N Engl J Med* 2016;375(7):666-74.
8. Chen X, Anstey AV, Buerkert JJ. Molluscum contagiosum virus infection. *Lancet Infect Dis* 2013;13:877-88.