Le malattie infettive sessualmente trasmesse in gravidanza

M. Rassu

U.O di Microbiologia e Virologia, Ospedale "San Bortolo", Vicenza

Riassunto

Le malattie sessualmente trasmesse rappresentano oggi un gruppo di malattie infettive caratterizzato da una elevata morbosità e da costi assistenziali elevati. Le stime dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) indicano che nel 1995 si sono verificati oltre 330 milioni di nuovi casi di MST curabili (infezioni da *Chlamydia trachomatis*, da *Trichomonas. vaginalis*, gonorrea e sifilide).
I dati che descrivono la situazione italiana sono forniti dall'Istituto Superiore di Sanità attraverso la raccolta coordinata proveniente dai centri MST. In Italia tuttavia la diffusione dei centri sul territorio nazionale non è omogenea, raccoglie dati da una popolazione selezionata e molte donne in gravidanza non si rivolgono ai centri indicati ma alla ginecologia territoriale. Va anche considerato che spesso queste malattie infettive non vengono notificate.

Summary

Sexually transmitted disesases and pregnancy
Sexually transmitted disesases represent today a group of infectious diseases characterized by high morbidity and high welfare costs. OMS assessments point out that in 1995 more then 330 millions of new STDs cases have occurred (etiologic agent *C. Trachomatis, T. Vaginalis, Gonhorrea, Sifilis*).
The data that describe Italian situation are provided by the "Istituto Superiore della Sanità" through an organised collection from national STDs Centres. However STDs Centres in Italy are not homogeneously distributed, the data are collected by selected population and most pregnant women turn to territorial reference centres instead. Moreover, often, these infectious diseases are not notified.
Key-words: Sexually transmitted disesases, pregnancy, C. Trachomatis, T. Vaginalis, Gonhorrea, Sifilis.

Malattie sessualmente trasmesse in gravidanza

Le Malattie Sessualmente Trasmesse (MST) in gravidanza possono essere silenti, paucisintomatiche o sintomatiche. Gli agenti causali possono passare dalla madre al bambino prima, durante o anche dopo la nascita.

La spirocheta responsabile della sifilide può attraversare la placenta e infettare il feto già in utero. Altre infezioni (gonorrea, *chlamydia*, epatite B e herpes genitale, papilloma virus) possono essere trasmesse dalla madre al feto durante il passaggio attraverso il canale del parto al momento della nascita. HIV può attraversare la placenta già durante la gravidanza ma può infettare il nascituro anche dopo con l'allattamento materno.

Le MST acquisite in gravidanza possono determinare la rottura prematura delle membrane, oppure infezioni al momento del passaggio attraverso il canale del parto, o una infezione uterina dopo il parto. Gli effetti sul neonato possono determinare, nei casi più gravi la morte del prodotto del concepimento, il basso peso alla nascita, infezioni oculari fino alla sepsi neonatale, danni neurologici, epatiti o meningiti a seconda dell'agente infettivo responsabile e alla possibilità o meno di fare una diagnosi prenatale precoce con conseguen-

Ricevuto: 28-04-2010 Pubblicato on-line: 07-05-2010

Corrispondenza a: Dott. Mario Rassu, U.O. di Microbiologia e Virologia, Ospedale San Bortolo, Viale Rodolfi n.37, 36100 Vicenza. Tel. 0444-753707, e-mail: mario.rassu@ulssvicenza.it.

te trattamento tempestivo della madre e del bambino. Negli Stati Uniti il CDC (Center for Disease Control) riporta il numero di donne gravide per anno che sono risultate infette da MST[1] evidenziate in Tabella I.

Chlamydia trachomatis

Chlamydia trachomatis (CT) è un parassita endocellulare obbligato che va ricercato già alla prima visita prenatale. In particolare nelle donne con età inferiore ai 25 anni perché rappresenta la fascia d'età più a rischio per questo agente infettivo. Il test per la ricerca di CT va eseguito nel primo trimestre di gravidanza per prevenire le conseguenze di una eventuale infezione nella madre e nel neonato. Uno studio condotto su 801 donne positive per CT arruolate tra la 22ª settimana e la 30ª settimana di gestazione evidenzia che l'infezione causa un'elevata percentuale di parti pretermine e di bambini con basso peso alla nascita[2]. L'infezione nel neonato si verifica al momento del passaggio attraverso il canale cervicale infetto e rappresenta la causa più comune di oftalmia *neonatorum* che si sviluppa tra i 5-12 giorni dopo la nascita. *Chlamydia trachomatis* può, se non diagnosticata e curata preventivamente, raramente, causare una polmonite neonatale tra il primo e il terzo mese di vita. Per la diagnosi si possono utilizzare test sierologici ELISA che però presentano problemi di interpretazione legati alla presenza di antigeni comuni alle tre specie di Chlamydia (*trachomatis, psittaci e pneumoniae*).

Il tampone vaginale cervicale non è raccomandato in gravidanza per i rischi di stimolazione del collo uterino. Attualmente i test più validi utilizzano l'amplificazione degli acidi Nucleici(NAATs). Tra questi ricordiamo la PCR e l'SDA (*strand displacement amplification*). L'elevata, sensibilità (> 90%) e specificità(> 98%) rendono questi test i migliori per la diagnosi rapida[3] anche se non ancora estesamente utilizzati nei laboratori italiani per problemi organizzativi e di costo. Nelle donne gravide questi test possono essere utilizzati direttamente su urine (1° mitto).

Tabella I. Infezioni sessualmente trasmesse nelle gravide per anno negli stati uniti riportate dal CDC.

MST MST	N° di donne gravide infette per anno gr
Vaginosi batterica	1.080.000
Herpes simplex 2	880.000
Chlamydia trachomatis	100.000
Trichomoniasi	124.000
Gonorrea	13.200
Epatite B	16.000
HIV	6.400
Sifilide	<1.000

Neisseria gonorrhoeae

La ricerca del gonococco in gravidanza è raccomandata, mediante il tampone vaginale e semina in terreno selettivo. Attualmente si possono utilizzare anche test molecolari che presentano maggiore sensibilità e specificità. Si raccomanda la ricerca per il rischio di infezioni congiuntivali neonatali causate da tale microrganismo.

Epatite B

Tutte le gravide vanno testate per HBs Ag, meglio se alla prima visita, anche se sono state vaccinate precedentemente. I bambini nati da madre positiva per HBS Ag devono essere immunizzati in modo attivo o passivo entro le prime 12 ore dalla nascita. Si segnala l'importanza di questo intervento per ridurre la trasmissione verticale dal 95% a meno del 5%. Le madri che presentano viremia elevata maggiore di 50 milioni di IU /mL dovrebbero essere trattate con farmaci antivirali inibitori della polimerasi di HBV.

Se l'immunizzazione attiva o passiva viene fatta non vi è la necessità di eseguire il taglio cesareo[4].

HIV

L'HIV è un retrovirus, virus a RNA che utilizzando un enzima trascrittasi inversa, inserisce il suo genoma, in forma di DNA (pro virus) nel DNA della cellula ospite. Sono stati identificati due tipi di HIV (HIV-1 e HIV-2). HIV-1 è responsabile della grande maggioranza dei casi di infezione.

La trasmissione di HIV avviene essenzialmente: per contatto sessuale, per via ematica (esposizione a sangue infetto di mucose), con lo scambio di siringhe e per via verticale (dalla madre al figlio durante la gravidanza, al momento del parto o durante l'allattamento).

Le raccomandazioni del CDC sottolineano[5] l'importanza che venga eseguito il test per HIV il più presto possibile in gravidanza come parte di un pannello routinario di test. Qualora la donna rifiuti, avendo un test negativo in precedenza, va sottolineata l'importanza di eseguire comunque un nuovo test durante la gravidanza. Questo perché in caso di positività le opzioni (trattamento antivirale) possono ridurre il rischio di trasmissione perinatale per le donne. E' importante ripetere il test HIV nel terzo trimestre di gravidanza, se possibile prima della 36ª settimana nelle donne a rischio elevato di infezione: donne che utilizzano droghe, che hanno rapporti durante il periodo di gravidanza con patrners multipli o che hanno il partner HIV positivo. Le donne gravide che vengono individuate positive per HIV devono essere informate sul rischio di infezione perinatale. I dati statunitensi segnalano che in assenza di trattamento antivirale il 15 - 25% dei bambini nati da madre HIV+ acquisiranno l'infezione e la percentuale aumenta ulteriormente di un addizionale 12 - 14% se i neonati sono allattati al seno entro il 2° anno di vita. Il rischio di infezione perinatale si riduce a

meno del 2% con l'impiego dei farmaci antivirali, con il parto cesareo, ed evitando l'allattamento al seno.

La diagnosi sierologica prevede un test di screening iniziale, con metodo immunoenzimatico (EIA) in grado di evidenziare contemporaneamente gli anticorpi anti HIV-1 e HIV-2. Esistono anche test di quarta generazione in grado di dosare insieme anticorpi e antigene p24 del virus HIV.

Se il test di screening risulta negativo, in caso di sospetta infezione primaria il test dovrebbe essere ripetuto dopo una settimana.

Se il risultato è dubbio o positivo va sempre ripetuto il test di screening e un test di conferma (Western – Blot o immunoblot WB/IB) essenzialmente per ridurre il rischio di un eventuale scambio di provette.

Per ritenere positivo un risultato, in riferimento alle indicazioni OMS, devono essere presenti almeno due bande specifiche per i prodotti del gene env (gp120/160 o gp41 con o senza bande specifiche per i prodotti del gene gag (p55 o p24 o p17) e del gene pol (p68o p53 op32).

Risultati che presentano una sola banda reattiva, vanno considerati indeterminati. Il test per la diagnosi di infezione da HIV è gratuito e può essere eseguito in anonimato. I centri che eseguono il test devono essere in grado di eseguire il test di screening e di conferma contemporaneamente e devono fornire informazioni (*counselling*) al momento della consegna del referto e indirizzare le pazienti al consulente infettivologo quando disponibile. La combinazione dei test immunoenzimatici e WB/IB garantisce una sensibilità e specificità di risultato estremamente elevata, con un valore predittivo positivo prossimo al 100%.

Tuttavia, nell'interpretazione dei risultati, è sempre opportuno ricordare che nessun test diagnostico fornisce risultati certi al 100% e quindi possono essere ottenuti risultati falsi positivi o falsi negativi, anche se rari. Nei casi di positività confermata, per la diagnosi definitiva molte linee guida suggeriscono di ripetere il test sierologico su un secondo campione, al fine di escludere un errore di identificazione del paziente.

La diagnosi sul neonato da madre infetta non si basa sui metodi sierologici, in quanto gli anticorpi rilevati potrebbero essere dovuti a trasmissione passiva dalla madre. Gli anticorpi materni possono persistere anche oltre i 18 mesi, per cui la diagnosi nei neonati fino a 18 mesi è possibile solo con la determinazione di HIV DNA provirale e con l'isolamento virale nei linfomonociti del sangue periferico (PBMC) del neonato, o con la ricerca dell'antigene p24 nel siero del neonato con test non combinato. In ogni caso la diagnosi è difficoltosa, e va eseguita presso centri specializzati, perché alcuni dei test summenzionati (HIV DNA ed isolamento virale) non sono ancora sufficientemente standardizzati[6].

Sifilide

Un test sierologico per sifilide (lue) andrebbe eseguito in tutte le donne gravide alla prima visita prenatale. In alcune aree geografiche statunitensi viene richiesto lo screening per lue anche al momento del parto. I neonati non dovrebbero essere dimessi dall'ospedale senza aver eseguito i controlli sierologici per sifilide. La sifilide è una malattia sistemica, dovuta alla spirocheta *Treponema pallidum* acquisita per via sessuale che evolve in vari stadi e può determinare, anche se raramente, danni cronici nello stadio finale (terziario). L'incubazione è di circa 3 settimane (10-90 gg), cui segue un'ulcera superficiale, dura e indolore (sifiloma) anche se non sempre evidente, che appare nel sito di inoculo (sifilide primaria), della durata di 4-6 settimane. La localizzazione al pene, vulva, ano o cavo orale è normalmente accompagnata da linfadenite loco-regionale palpabile, mentre la localizzazione cervico-vaginale o rettale non è facilmente apprezzabile e non si associa a linfadenite inguinale. La sifilide se acquisita in gravidanza e non trattata può determinare infezione transplacentare con aborto, o gravi danni al neonato. Il neonato può presentare una malattia sistemica alla nascita (sifilide connatale precoce) o dopo alcuni anni (sifilide connatale tardiva).

Negli ultimi anni si segnala un aumento del numero di casi nei paesi dell'Est europeo.

La diagnosi di gran lunga più frequente è comunque quella indiretta, sierologica, basata sulla dimostrazione di anticorpi contro il *Treponema pallidum*. La diagnosi sierologica di infezione luetica (in atto o pregressa) si esegue con due tipi di test:

- Test treponemici (Anticorpi diretti contro antigeni specifici di *Treponema pallidum*) (Tab. II).
- Test non treponemici (anticorpi diretti contro antige-

Tabella II. Test treponemici più utilizzati in laboratorio.

Test treponemici più utilizzati	Settimana di positivizzazione dopo l'infezione	Sensibilità	Specificità
TPHA/TPPA	2-4	60-99%	>99%
EIA (antigeni ricombinanti)	3	98%	97%
CLIA (test in chemioluminescenza)	3	98%	97%
FTA-ABS (immunofluorescenza-poco usato)		84-100%	96%
Western blot (IgG,IgM)		90-95%	>99%

Tabella III. Test non treponemici utilizzati in laboratorio.

Test non treponemici	*Settimana di positivizzazione dopo l'infezione*
RRP *(rapid plasma reagin)* VDRL (test di flocculazione)	4

ni lipoidei tessutali liberati per l'infezione dal treponema) (Tab. III).

I titoli anticorpali ottenuti con i due test non treponemici, trattandosi di metodi diversi, non sono comparabili tra di loro. Per non avere dati discordanti è raccomandabile eseguire questi test presso lo stesso laboratorio. Per entrambi i test è da segnalare la possibilità dell'effetto prozona (che si presenta in circa il 2% degli individui con infezione) dovuto dell'eccesso di anticorpi anticardiolipina, in particolar modo nello stadio secondario. Si consiglia pertanto di effettuare diluizioni più alte del siero (>1/8), in particolar modo quando si è davanti ad un caso clinico di sifilide florida associata valori di TPHA >1/2560. Sia per i test treponemici sia per quelli non treponemici non deve essere esclusa la possibilità di risultati falsamente positivi dovuti a reazione aspecifiche e crociate: RPR-VDRL, infezioni acute e croniche, malattie autoimmuni (lupus eritematoso, sindrome antifosfolipidica), gravidanza, vaccinazioni, neoplasie, età avanzata. Va segnalato che per il test RRP i falsi positivi possono arrivare al 30% dei casi in zone endemiche per malaria[2].

In gravidanza lo screening dovrebbe essere eseguito nel primo trimestre e nelle donne con fattori di rischio ripetutamente prima del parto (Fig. 1).

I test immunometrici (EIA o CLIA) sono i test di prima scelta, molti laboratori utilizzano ancora VDRL/RRP) e TPHA/TPPA.

Non è accettabile l'utilizzo della sola VDRL/RRP dal momento che non è in grado di rilevare tutti i casi di infezione. E' fondamentale che a tutti i pazienti positivi per sifilide venga proposto ed eseguito il test HIV e la vaccinazione per epatite B, se non vaccinati in precedenza. La positività per sifilide indica comportamenti sessuali a rischio e come per altre MST può favorire l'infezione da HIV per la presenza di ulcere o soluzioni di continuo delle mucose genitali[7].

La vaginosi batterica

La vaginosi batterica (VB) è una condizione a livello vaginale che sostanzialmente è determinata dalla sostituzione dei lattobacilli produttori di H_2O_2 con una elevate concentrazione di batteri anaerobi (*Prevotella, Mobiluncus, Gardnerella vaginalis e Mycoplasma hominis)*. La VB è la causa più frequente di perdite vaginali maleodoranti anche se il 50% delle donne possono essere asintomatiche in presenza di VB. Le cause che determinano l'alterato equilibrio del microbiota vaginale non sono ancora completamente chiarite e le donne che non hanno rapporti sessuali raramente presentano questa condizione. La diagnosi viene formulata attraverso il quadro clinico e il tampone vaginale utilizzando la colorazione di Gram che dimostra assenza di lattobacilli, la presenza di coccobacilli gram variabili, di solito *Gardnerella vaginalis*, ed utilizzando i criteri di Amsel:

- la presenza di cellule particolari *"Clue Cells"* che rappresentano almeno il 20% delle cellule vaginali,
- la presenza di perdite con aspetto omogeneo,
- l'aggiunta di una goccia di KOH al 10% alle cellule vaginali poste su un vetrino sviluppa il caratteristico odore di pesce a causa delle amine presenti (*fishy odor test*),
- il valore del pH è sempre > 4,5.

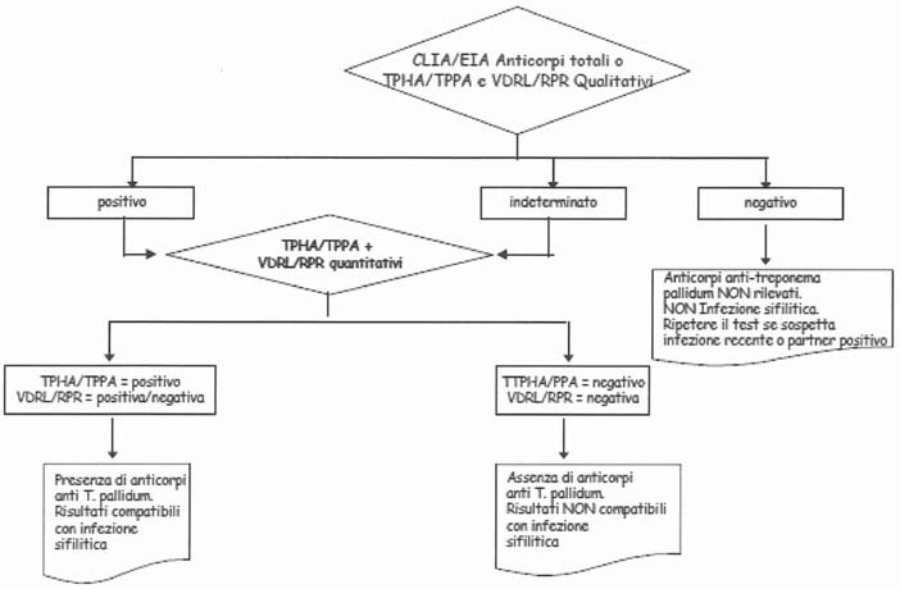

Figura 1. Sierodiagnosi di LUE: screening nell'adulto asintomatico.

La presenza di tre dei quattro criteri definisce una condizione di VB.

La VB presente in gravidanza è associata a rottura prematura delle membrane, a parto pretermine, a infezioni intramniotiche e ad endometrite *postpartum*[5]. I dati più recenti indicano che le donne che presentano un rischio di parto pretermine e la contemporanea presenza di BV nel secondo trimestre di gravidanza se trattate per una settimana o più con metronidazolo *per os* presentano una significativa riduzione del rischio di parto pretermine[8].

L'infezione da papilloma virus

I Papillomavirus (HPV) sono dei virus a DNA appartenenti alla famiglia *Papovaviridae*, relativamente piccoli con un capside icosaedrico composto da 72 capsomeri che contengono due proteine capsidiche L1 e L2.

Ad oggi sono stati identificati più di 100 diversi genotipi di HPV, 40 dei quali infettano la mucosa genitale[9].

Questi ultimi vengono definiti "ad alto rischio" o "a basso rischio" a seconda della loro oncogenicità[10].

Tra i genotipi ad alto rischio (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82), HPV-16 è associato a circa il 60% dei casi di cervico-carcinoma, HPV-18 al 10%, HPV-45 e HPV-31 al 4%, i genotipi 33, 52 e 58 contribuiscono complessivamente ad un altro 2% dei casi. I genotipi a basso rischio (HPV-6 e 11) sono responsabili di circa il 90% delle verruche e dei condilomi ano-genitali. Queste lesioni non subiscono trasformazione neoplastica e spesso possono regredire spontaneamente.

Epidemiologia

L'infezione da HPV rappresenta una delle infezioni sessualmente trasmesse più diffusa nel mondo. Negli Stati Uniti circa 20 milioni di persone in età compresa tra i 15 e i 49 anni presentano un'infezione da HPV con una prevalenza particolarmente elevata tra i giovani adulti (15-24 anni). In Italia non disponiamo di dati attendibili ed uniformi sulla diffusione di questa infezione.

Il rischio di infezione da HPV aumenta in rapporto ad alcuni fattori (Tab. IV). L'impiego del *condom* protegge dall'infezione se impiegato fin dall'inizio del rapporto sessuale, ma solo parzialmente se utilizzato dopo l'inizio del rapporto stesso; se vi sono aree infette scrotali o vulvari queste possono rappresentare un possibile sito di trasmissione.

Tabella IV. Principali fattori di rischio associati all'infezione da HPV nella donna.

età inferiore ai 30 anni
numero di partners elevato
precocità del primo rapporto sessuale (<16 anni)
partner con elevata promiscuità sessuale

Gli studi epidemiologici hanno dimostrato che il *Papillomavirus* è la causa necessaria per lo sviluppo delle lesioni pre-cancerose e del carcinoma della cervice uterina.

La progressione neoplastica avviene generalmente in donne di età superiore ai 35 anni suggerendo che l'infezione si verifica in giovane età ma che la progressione verso la neoplasia è lenta. Molte infezioni genitali da HPV sono transitorie e decorrono in modo asintomatico: circa il 70% delle donne HPV positive si negativizza entro un anno ed il 90% entro due. Molte donne con infezione transitoria possono sviluppare atipie cellulari di incerto significato (ASCUS) o lesioni epiteliali di basso grado (LSIL) evidenziabili col *Pap test*. Queste atipie rappresentano l'effetto citopatico causato dall'infezione virale e possono regredire spontaneamente. Solo il 10% delle donne con infezione da HPV sviluppa un'infezione persistente, che è molto più comune con i genotipi ad alto rischio.

Il cervico-carcinoma è la seconda neoplasia maligna per incidenza e mortalità nelle donne in tutto il mondo (WHO) e la prima nei Paesi in via di sviluppo, dove si verifica oltre l'80% dei casi e di morti ad esso correlate.

Aspetti clinici e patogenesi

- *Condilomi o verruche genitali*

Le verruche genitali (chiamate anche codilomi genitali o verruche veneree) sono le lesioni causate a livello esterno da vari genotipi di HPV. Le verruche genitali sono soffici, di colorito roseo, e appaiono nelle aree genitali qualche settimana o mese dopo l'infezione con HPV, talvolta sono numerose, a grappolo con aspetto a cavolfiore, a forma verrucosa oppure piatte. Le verruche genitali generalmente sono localizzate sulla vulva oppure attorno alla vagina o all'ano. Di solito sono causate da HPV a basso rischio, particolarmente frequenti sono le verruche o condilomi causati da HPV 6 e 11.

Le verruche genitali sono molto contagiose. Si possono acquisire durante i rapporti sessuali orali, vaginali o anali con *partner* infetti. Si possono seppure raramente acquisire anche per contatti cutanei durante rapporti sessuali non completi con *partner* infetti.

La diagnosi di queste lesioni è essenzialmente morfologica. La presenza di tali lesioni dovrebbe sempre far sospettare una possibile localizzazione a livello cervicale di HPV che andrebbe indagata con una visita ginecologica od un eventuale *Pap test*. Raramente la presenza di verruche genitali in gravidanza può determinare durante il passaggio attraverso il canale del parto l'infezione del neonato con la presenza di papillomatosi del tratto respiratorio.

- *Cervico carcinoma*

Le lesioni intraepiteliali di grado lieve e moderato,

nella maggior parte dei casi, regrediscono spontaneamente. Il rischio di progressione della neoplasia da moderata a severa, risulta essere del 16% in due anni e del 25% in 5 anni. Tuttavia risulta chiaro che il trattamento escissionale dell'HPV nelle lesioni precancerose impedisce lo sviluppo del carcinoma.

Diagnosi

La diagnosi di condilomatosi si effettua con l'ispezione a livello del tratto genitale sia maschile che femminile da parte del ginecologo o del dermatologo che può approfondire la diagnosi eventualmente con l'esecuzione di una biopsia e con l'esame istologico del preparato.

- *Citologia convenzionale e in strato sottile*

Il metodo classico per la dimostrazione di lesioni causate da HPV è il *Pap test*. Recentemente è stato sviluppato un nuovo metodo di raccolta e di analisi dei campioni prelevati per il *Pap test* che permette di ridurre il numero di falsi negativi. Il metodo (*Thin prep*- citologia su strato sottile), approvato dall'FDA, consiste nel raccogliere le cellule in una soluzione preservante contenente etanolo da cui un preparatore automatizzato allestisce un vetrino su strato sottile che ottimizza la diagnosi e consente inoltre sullo stesso prelievo l'esecuzione del test molecolare per la ricerca del DNA virale. Se la citologia vaginale è negativa, non si ritiene necessario eseguire la ricerca di HPV con altri metodi.

- *Tecniche di biologia molecolare*

La vera innovazione nella diagnosi microbiologica si è ottenuta con le tecniche di amplificazione degli acidi nucleici.

La maggior parte di questi metodi utilizza dei *primers* che amplificano una regione molto conservata del gene L1 che codifica le proteine del capside virale.

L'identificazione dei genotipi ad alto rischio si può poi effettuare anche mediante sequenziamento o ibridazione con sonde specifiche. Nessuno test di genotipizzazione è però attualmente approvato dall'FDA.

- *Ibridazione in fase liquida*

La tecnica è stata sviluppata dalla Digene (attualmente è l'unico test approvato dalla FDA) e, soprattutto nella sua seconda versione, *Hybrid capture II* è largamente utilizzato. Il DNA virale viene denaturato e analizzato mediante ibridazione in fase liquida su micropiastra utilizzando due sonde ad RNA che consentono di distinguere gli HPV in genotipi ad alto rischio o a basso rischio.

- *HPV mRNA*

Si tratta di un test in grado di studiare l'espressione dell'RNA messaggero piuttosto che la presenza del DNA virale, ciò consente di ottenere informazioni sull'attiva replicazione del virus che correla con la capacità evolutiva delle lesioni.

- *Innolipa*

Il metodo prevede due fasi: nella prima si ha l'amplificazione del DNA virale presente nel campione biologico e nella seconda l'ibridizzazione su un supporto di nitrocellulosa a cui sono fissate le sonde per i vari genotipi contro cui si fa reagire il DNA virale amplificato, ciò consente di identificare i vari genotipi virali.

In Italia, attualmente la raccomandazione è di eseguire un test molecolare (HPV-DNA) solo nelle lesioni ASCUS.

In caso di esame citologico positivo o suggestivo per infezione da HPV, è opportuno eseguire un test molecolare per confermare la presenza del virus ed individuare il genotipo per meglio programmare il monitoraggio della paziente[11].

HPV e gravidanza

Le verruche genitali esterne per la maggior parte dovute ad HPV 6/11 possono proliferare in gravidanza. Tuttavia in tale situazione non sono utilizzabili i farmaci di uso comune *Imiquimod*, o podofillina. Entrambi i genotipi possono, seppure raramente, determinare papillomatosi respiratoria nel neonato attraverso un passaggio transplacentare, al momento del parto o postnatale. In uno studio condotto in Danimarca su 1.200.000 neonati sono stati segnalati 57 papillomatosi respiratorie pari a 3,5 casi per 1.000.000 di nati vivi i dati suggeriscono che la presenza di verruche genitali non rappresenti, ovviamente dopo la valutazione da parte del ginecologo, una indicazione assoluta al taglio cesareo[12].

Nel caso in cui la donna presenti una lesione di grado elevato al collo dell'utero vari studi segnalano che i trattamenti escissionali di queste lesioni (conizzazione, conizzazione con impiego del laser o di ansa diatermica (LEEP) comportano un rischio elevato di parto pretermine[13]. Nelle lesioni di basso grado non è indicata alcuna ablazione chirurgica ed eventualmente l'intervento viene eseguito a distanza nel *post partum*. Qualora sia necessario eliminare lesioni di alto grado viene raccomandato di rimuoverle con modalità più conservativa possibile per ridurre al minimo il rischio di parto pretermine.

Le donne che presentano lesioni da HPV dovrebbero sospendere l'uso del fumo di sigaretta che sembra avere un ruolo nell'accelerare la progressione delle lesioni da HPV[14].

Le infezioni genitali da Herpesvirus

I virus dell'*herpes simplex* tipo 1 e 2 appartengono alla famiglia delle *Herpesviridae* e insieme ad altri virus erpetici alla sub famiglia delle *Alfaviridae*.

Dopo l'infezione primaria della cute o delle mucose il DNA virale è rapidamente trasportato attraverso l'assone in senso retrogrado fino ai gangli corrispettivi dell'innervazione sensoriale dove il genoma virale diventa circolare e stabilisce uno stato di latenza nei neu-

roni sensoriali. La riattivazione può essere determinata da vari stimoli.

Il virus, quando vi è la riattivazione, ripercorre gli assoni in senso questa volta centrifugo determinando le caratteristiche lesioni cutanee o mucose e/o la diffusione asintomatica del virus (*shedding* asintomatico). Studi in modelli animali hanno dimostrato che gli anticorpi neutralizzanti non sono in grado di prevenire la diffusione assonale del virus, dal momento che HSV (1 e 2) ha sviluppato vari meccanismi di immunoevasione. Una volta che l'ospite è infettato gli herpes virus persistono per tutta la vita nelle cellule nervose dei gangli.

Primo (iniziale) episodio di herpes genitale

Si definisce iniziale episodio di infezione da Herpes il primo episodio di infezione genitale causato sia da HSV-1 sia da HSV-2, mentre per infezione primaria genitale si intende il primo episodio in un soggetto che non presenta preesistenti anticorpi diretti contro HSV1 e 2. L'incubazione è in genere di 4 giorni (range variabile da 2 a 12 gg) i sintomi locali e sistemici da HSV 1 e 2 sono sovrapponibili. Nella sua presentazione più classica l'infezione si presenta con macule e papule seguite da vescicole e in seguito da pustole e ulcere. Tuttavia spesso molti pazienti non manifestano questa classica sintomatologia. Nell'uomo il primo episodio presenta sintomi localizzati come dolore nelle lesioni e linfadenopatia. Talvolta uretrite o cervicite nella donna possono essere la conseguenza dell'infezione genitale. Sintomi come malessere generale, febbre, mialgie, mal di testa sono presenti in due terzi delle donne e in circa il 40 % degli uomini.

Un episodio non primario è l'infezione che si manifesta in un soggetto che già presenta anticorpi diretti contro HSV1 o 2. Clinicamente si presenta con ulcerazioni dolorose, disuria, secrezioni vaginali o uretrali, talora con sintomi sistemici, malessere febbre. Tuttavia il paziente può essere asintomatico e la malattia rimane non riconosciuta.

Qualche volta l'unica evidenza può essere data dai sintomi generalizzati (Herpes genitale atipico).

Negli stati Uniti solo il 20% dei pazienti che si rivolgono al medico ricevono una corretta diagnosi di herpes genitale, nel 60% dei casi le manifestazioni cliniche dell'infezione da HSV non vengono riconosciute, né diagnosticate

Herpes genitale ricorrente

Di regola un gruppo di vescicole o di ulcere si sviluppano in un singolo sito anatomico e guariscono in 10 giorni. Nei primi due, tre anni, le recidive possono manifestarsi con le caratteristiche vescicole, fino a 5 volte per anno e di solito le ricorrenze o recidive si riducono negli anni successivi. L'herpes genitale causato da HSV-1 generalmente presenta meno recidive rispetto a quelle provocate da HSV - 2.

Gli stimoli che possono favorire le recidive sono molteplici: le pregresse terapie antibiotiche, la stanchezza legata a lunghi viaggi (*jet lag*), l'esposizione solare intensa naturale o artificiale, lo stress, la presenza del ciclo mestruale nella donna.

Infezione erpetica asintomatica

Molti soggetti con infezione erpetica presentano scarsi sintomi o manifestazioni tali da determinare una infezione sub clinica che non viene riconosciuta. Questi soggetti possono eliminare il virus in modo intermittente dal tratto genitale e trasmettere così l'infezione al partner senza alcuna consapevolezza di questa modalità di trasmissione. Questa eliminazione subclinica del virus (s*hedding*) accade spesso nel primo anno di infezione nei pazienti infettati da HSV-2 nei soggetti con frequenti recidive sintomatiche. La durata dello *shedding* è più breve rispetto all'infezione primaria mediamente 4gg rispetto a11 gg della prima infezione.

Molte infezioni genitali erpetiche sono trasmesse da soggetti che sono inconsapevoli di essere infetti o che non presentano sintomi al momento della trasmissione del virus.

Interazioni tra HSV-2 e HIV

Sia HSV che HIV in taluni paesi in via di sviluppo hanno raggiunto livelli epidemici. L'herpes genitale aumenta il rischio di trasmissione di HIV dal momento che la presenza di vescicole o ulcere aumenta il rischio di ingresso e di infezione da parte di HIV. Le lesioni erpetiche contengono un numero elevato di linfociti CD4 che rappresentano le cellule bersaglio per HIV.

Diagnosi di HSV

La diagnosi clinica è abbastanza semplice quando le lesioni sono evidenti, tuttavia spesso una conferma da parte del laboratorio è essenziale e può influenzare la terapia, la prognosi ed il *counselling* del paziente.

- Esami virologici

Si procede mediante tampone per eseguire il prelievo dalle vescicole muco cutanee.

I campioni devono essere processati il più presto possibile, come tempo limite, i campioni devono arrivare in laboratorio entro 24 ore.

Quando si verifica un ritardo i campioni devono essere refrigerati a 4°C. Per conservazione a lungo termine congelare i campioni a -70°C.

Nel caso di richiesta di un risultato urgente, l'immunofluorescenza (IF) o la ricerca dell'antigene con prodotti commerciali può essere utilizzata per fornire una risposta rapida ma questi risultati devono sempre essere confermati con l'esame colturale. Molte delle linee cellulari di routine utilizzate per l'isolamento dei virus sono sensibili all'infezione con HSV (cell MRC5 o Cellule VERO), le colture cellulari devono essere esaminate giornalmente al microscopio per verificare la comparsa dei caratteristici effetti citopatici prodotti dal virus[15].

La sensibilità della coltura dipende dallo stadio delle vescicole. Se si esegue il prelievo dalla vescicola nel 95% dei casi si coltiva il virus in colture cellulari, solo nel 70% delle lesioni ulcerative e nel 30% delle lesioni crostose.

- Ricerca anticorpale

La ricerca di anticorpi diretti contro HSV1-2 è utile per la diagnosi di infezione primaria. Nelle recidive i test non sono utili per capire se siamo di fronte ad una riattivazione. La ricerca di anticorpi diretti contro HSV 1-2 è impiegata per gli studi di prevalenza e di incidenza di questi virus nella popolazione. Tuttavia oggi sono disponibili anticorpi tipo specifici diretti contro le glicoproteine di Herpes, rispettivamente G2(HSV-2) e G1 (HSV-1) che permettono di capire se l'infezione è dovuta ad HSV-1 o HSV- 2 (sensibilità 80-98% e specificità ≥96%). Questi test sono stati approvati dall' FDA.

- PCR

La reazione polimerasica a catena (PCR) permette di amplificare regioni bersaglio del DNA virale, si può utilizzare in alcuni casi, qualora non sia possibile eseguire un esame diretto o colturale, ad esempio su lesioni crostose in via di guarigione, dal momento che la carica virale è molto bassa. L'impiego di questa tecnica qualitativa o quantitativa *(Real Time*) ha permesso di dimostrare come lo *shedding* asintomatico sia la causa principale della diffusione del virus con i rapporti sessuali.

Counselling

La diagnosi di herpes genitale spesso causa notevole stress dovuto alla paura di avere una patologia che non guarisce. Inoltre spesso vi è la preoccupazione di trasmettere l'infezione al partner. E' importante consigliare come gestire la terapia con i farmaci antivirali quando si presenti la recidiva, questo determina una riduzione dell'ansia e migliora la qualità di vita.

Le finalità del *counselling* devono essere quelle di:

- Spiegare le modalità di presentazione della malattia, il rischio di recidive, il rischio dello *shedding* asintomatico nella trasmissione.
- Spiegare al paziente che il primo episodio di herpes genitale non sempre è dovuto ad un rapporto recente ma può manifestarsi anche parecchi mesi/ anni dopo che è stata acquisita l'infezione.
- Impiegare i farmaci e ridurre i sintomi clinici.
- Come gestire una eventuale gravidanza. Le donne in gravidanza che non sono infettate da HSV2 devono evitare i rapporti col partner infetto durante il terzo trimestre di gravidanza.
- Come informare il partner.
- Come evitare il rischio di trasmissione durante i rapporti sessuali (astenersi dai rapporti quando si è in presenza di lesioni e nel periodo prodromico).
- Come utilizzare il *condom* per prevenire la trasmissione del virus in particolare dopo il manifestarsi del 1° episodio.

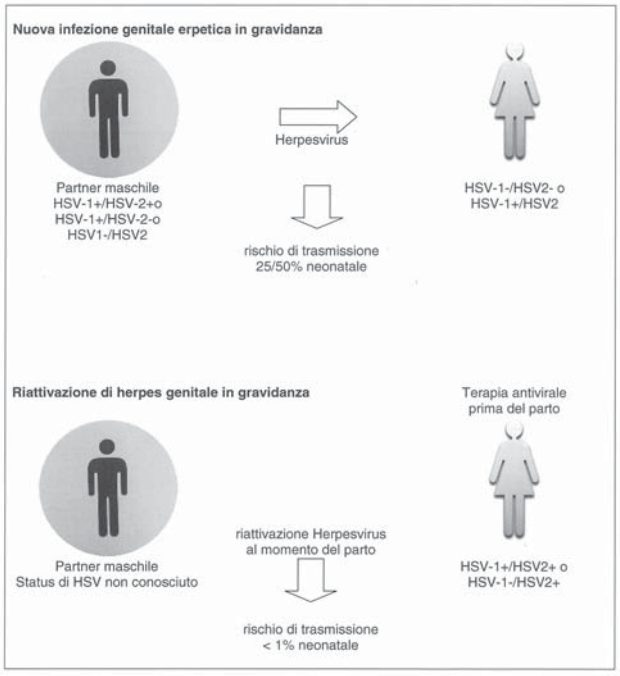

Figura 2. Infezione da HSV in gravidanza.

Herpes genitale in gravidanza

Il rischio di trasmissione al neonato da madre infetta è molto elevato qualora la madre abbia acquisito l'herpes genitale poco prima del parto(30/50%) mentre è molto più basso meno dell'1% se l'infezione materna è stata acquisita durante i primi mesi di gravidanza o se la donna presenta una recidiva da una precedente infezione[16] (Fig. 2).

Per prevenire l'infezione neonatale erpetica bisogna attuare le misure che impediscano l'infezione nell'ultimo periodo prima del parto ed evitare l'esposizione alle lesioni erpetiche al momento della nascita. Le donne che non presentano lesioni genitali erpetiche in gravidanza dovrebbero: evitare rapporti durante l'ultimo trimestre con *partners* che presentino lesioni erpetiche genitali certe o sospette. Evitare contatti oro-genitali con *patrners* che presentino lesioni erpetiche labiali nell'ultimo trimestre.

Si raccomanda il parto cesareo per prevenire l'infezione neonatale anche in presenza di herpes genitale ricorrente nella madre.

Riassumendo le linee guida del CDC 2006[2] raccomandano l'esecuzione degli esami per la ricerca delle seguenti MST per lo screening alle donne gravide:

- *Chlamydia trachomatis.*
- *Neisseria gonorroheae.*
- Epatite B.
- HIV.
- Sifilide.

Viene anche raccomandato il tampone vaginale per fare diagnosi di vaginosi batterica se la gravida ha avuto in precedenza un parto prematuro. E' importante

valutare anche altre infezioni come quelle causate da *Herpesvirus* e da *Papillomavirus* (HPV).

Per la prevenzione viene raccomandato di:

- Utilizzare il *condom* nei rapporti sessuali fin dall'inizio del rapporto.
- Limitare il numero di *partners* sessuali.
- Evitare i rapporti sessuali occasionali.
- Acquisire informazioni sulle MST.
- Presentarsi regolarmente alle visite prenatali.

Conclusioni

Le MST si presentano con un quadro sintomatologico spesso sfumato ma possono, specie in gravidanza, creare numerosi problemi anche gravi sia alla madre che al neonato. Va considerato che i recenti flussi migratori diretti verso il nostro paese da aree endemiche, per alcune di queste malattie, comporteranno presumibilmente un aumento di patologie associate. Per prevenire tale diffusione sarà fondamentale promuovere una serie di iniziative come la raccolta informatizzata dei dati nelle strutture sanitarie ed attuare efficaci campagne di informazione e di screening.

Bibliografia

1. http://www.cdc.gov/std/STDFact-STDs&Pregnancy.htm (data di consultazione: 28.4.2010).
2. Mullick S, Watson-Jones D, Beksinska M, Mabey D. Sexually transmitted infections in pregnancy: prevalence, impact on pregnancy outcomes, and approach to treatment in developing countries. Sex Transm infec 2005; 81: 294-302.
3. Latino MA, Caneparo A, Rosso C, De Intinis G, De Maria D. Infezioni genitali da chlamydia trachomatis. In: Latino MA, Magliano E, ed. Infezioni Genitali: aspetti patogenetici, clinici e diagnostici. Milano:AMCLI; 2008. p. 97-112.
4. Wedemeyer H. Prophylaxis and vaccination of viral hepatitis. In: Hepatology 2009 - A clinical textbook Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, Wedemeyer H, eds. Düsseldorf: Flying Publisher; 2009. p. 99-109.
5. Workowski KA, Berman SM, Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2006. MMWR Recomm Rep 2006;55:1-94.
6. Capobianchi M. HIV. XXXVII Congresso Nazionale AMCLI, Stresa 5-8 Ottobre 2008 Percorsi Diagnostici. Disponibile su: URL: http://www.amcli.it (data di consultazione: 28.4.2010).
7. Latino MA. Sifilide Percorso Diagnostico presentato durante il XXXVII Congresso Nazionale AMCLI - Stresa, 5-8 ottobre 2008. Disponibile su: URL: http://www.amcli.it (data di consultazione: 28.4.2010).
8. Goldenberg RL, Hauth J, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. N Engl J Med 2010; 342: 1500-7.
9. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. Virology 2004; 324:17-27.
10. Munoz N, Bosch FX, De Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003; 3486:518-27.
11. Rassu M, Barzon L, Nicolaci P, Preti M. L'infezione da papilloma virus umano. In: Latino MA, Magliano E, ed. Infezioni Genitali: aspetti patogenetici, clinici e diagnostici. Milano:AMCLI; 2008. p. 167-85.
12. Silverberg MJ, Thorsen P, Linderberg H, Grant La, Keerti V. Condyloma in pregnancy is strongly predictive of juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis. Obstetrics and Gynecology 2003; 101:645-52.
13. Jakobsson M, Gissler M, Sainio S, Paavonen J, Tapper AM. Preterm delivery after surgical treatment for cervical intraepithelial neoplasia. Obstet Gynecol 2007; 109:309-13.
14. Vaccarella S, Herrero R, Snijders PJ, Dai M, Thomas JO, Hieu NT, et al. Smoking and Human papilloma virus infection: pooled analysis of the International Agency for research on cancer HPV prevalence surveys. Epidemiol 2008; 37:536-46.
15. Rassu M, De Maria D, Latino MA. Le infezioni genitali da Herpes simplex virus (HSV). In: Latino MA, Magliano E, ed. Infezioni Genitali: aspetti patogenetici, clinici e diagnostici. Milano:AMCLI; 2008. p. 187-200.
16. Corey L, Wald A. Maternal and neonatal Herpes Simplex virus infections. N Engl J Med 2009; 361:1376-85.