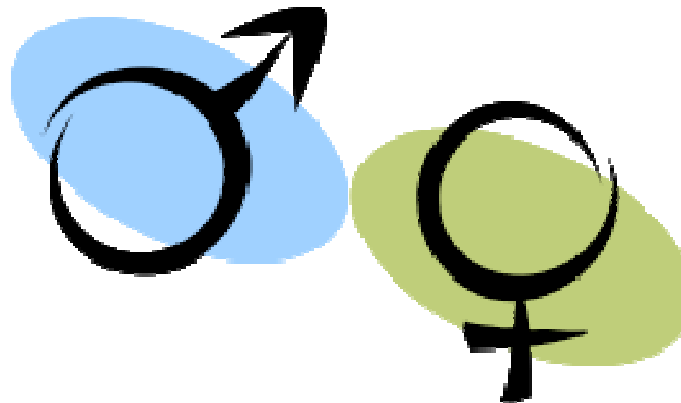


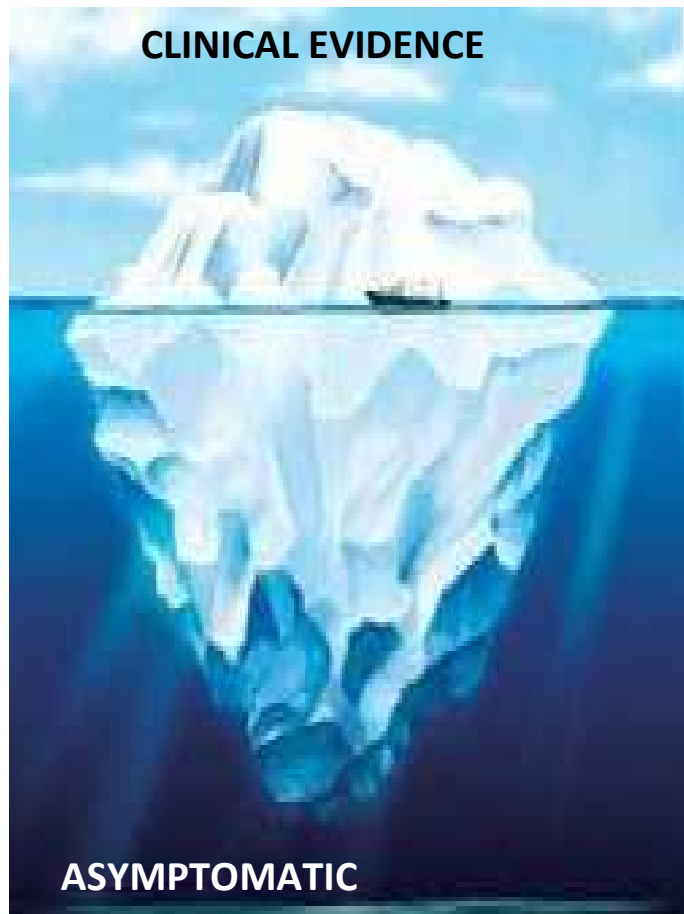
LE INFEZIONI DELL'APPARATO GENITALE E LE MALATTIE A TRASMISSIONE SESSUALE (non HIV):
ASPETTI CLINICI E DIAGNOSTICI
25 gennaio 2013
Auditorium Ospedale S. Chiara
Trento

Le infezioni da *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*



Lucia Collini
Microbiologia e Virologia
Ospedale S. Chiara
Trento

In linea con le direttive dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, anche in Italia si è diffuso l'uso del termine **Infezioni Sessualmente Trasmesse (IST)** che ha sostituito quello di Malattie Sessualmente Trasmissibili utilizzato fino alla fine del secolo scorso, per incorporare anche quella importante quota di infezioni a diminuita, o assente, espressione clinica.



La *Chlamydia* è asintomatica nella grande maggioranza dei soggetti infettati, si stima oltre il 70% delle donne e il 50% degli uomini.

Molto spesso la gonorrea è asintomatica, soprattutto nelle donne.

La diffusa assenza di sintomi tra le persone infette rende più complicata la diagnosi e più facile il contagio.

sti
review

Organo ufficiale della SIMAST.
Società Interdisciplinare per lo Studio delle Malattie
Sessualmente Trasmissibili

IUSTI
INTERNATIONAL UNION AGAINST
SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS
EUROPE



[SIMaST](#)

Società Interdisciplinare per lo studio delle
Malattie Sessualmente Trasmesse



MMWRTM

Morbidity and Mortality Weekly Report

www.cdc.gov/mmwr

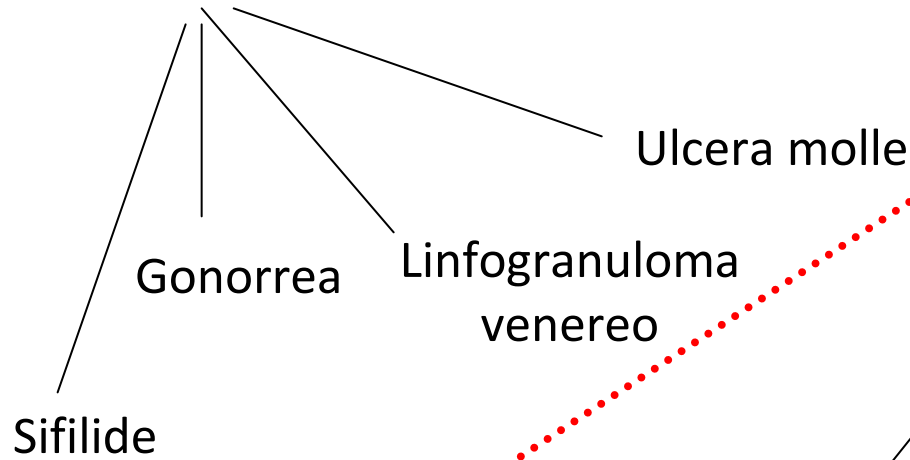
Recommendations and Reports

December 17, 2010 / Vol. 59 / No. RR-12

**Sexually Transmitted Diseases
Treatment Guidelines, 2010**

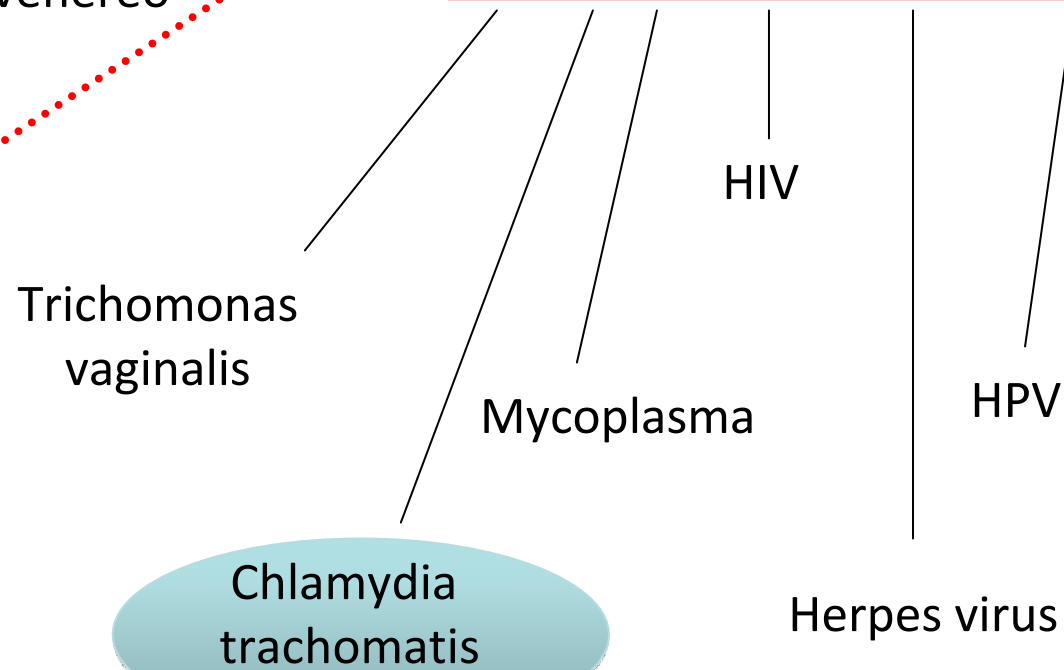
19° secolo

Infezioni sessualmente trasmesse



21° secolo

Infezioni sessualmente trasmesse di seconda generazione



L'infezione da *Chlamydia* è la più frequente IST in Europa

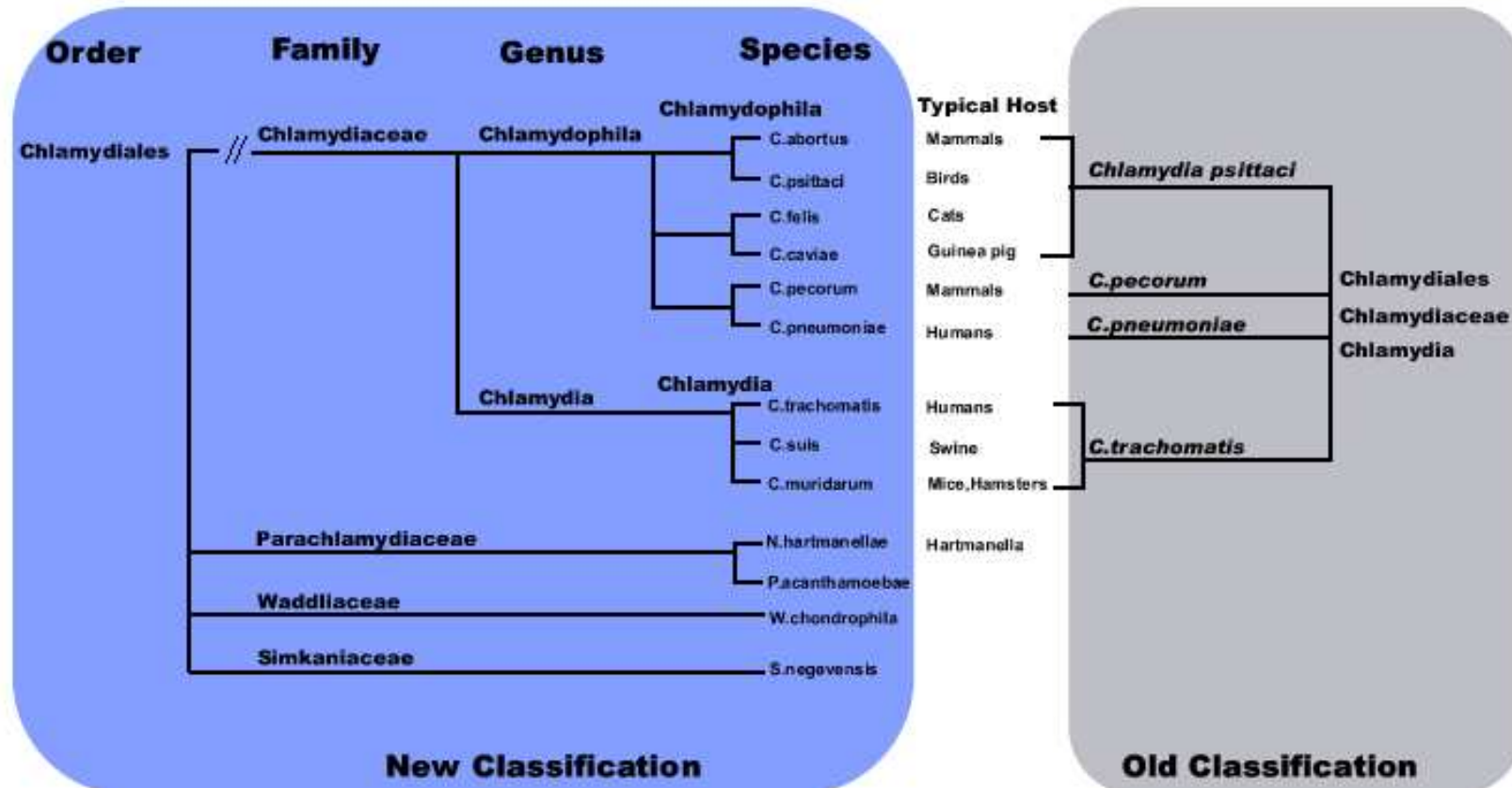
Focus su
Chlamydia trachomatis

Batterio intracellulare obbligato

Infetta le cellule dell'epitelio colonnare



Attuale classificazione delle *Chlamydiae*
 criteri fenotipici, morfologici e genetici



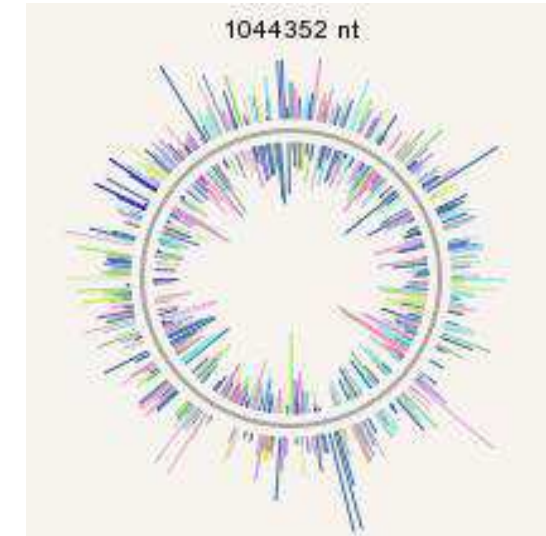
All'interno della famiglia Chlamydiaceae sono compresi due generi – Chlamydophila e Chlamydia – e nove specie



Le specie patogene per l'uomo sono tre:
Chlamydia trachomatis, *Chlamydophila pneumoniae* e *Chlamydophila psittaci*

Il genoma di *Chlamydia trachomatis*:

Genome Info:	Features:	BLAST homologs:	Links:	Review Info:
Refseq: NC_012686	Genes: 936	COG	Genome Project	Publications: [1]
GenBank: FM872308	Protein coding: 875	TaxMap	Refseq FTP	Refseq Status: PROVISIONAL
Length: 1,044,352 nt	Structural RNAs: 43	TaxPlot	GenBank FTP	Seq. Status: Completed
GC Content: 41%	Pseudo genes: 18	GenePlot	BLAST	Sequencing center: Wellcome Trust Sanger Institute
% Coding: 88%	Others: 18	gMap	TraceAssembly	Completed: 2009/05/19
Topology: circular	Contigs: None		CDD	Organism Group
Molecule: DNA			Other genomes for species: 11	



DNA genomico di 1000 kbp e plasmide criptico di 7 kbp.

Nuova Variante in Svezia (2006): un ceppo di *C. trachomatis* con una delezione (di 377bp di lunghezza) nel plasmide criptico (nuova variante - **nvCT**).

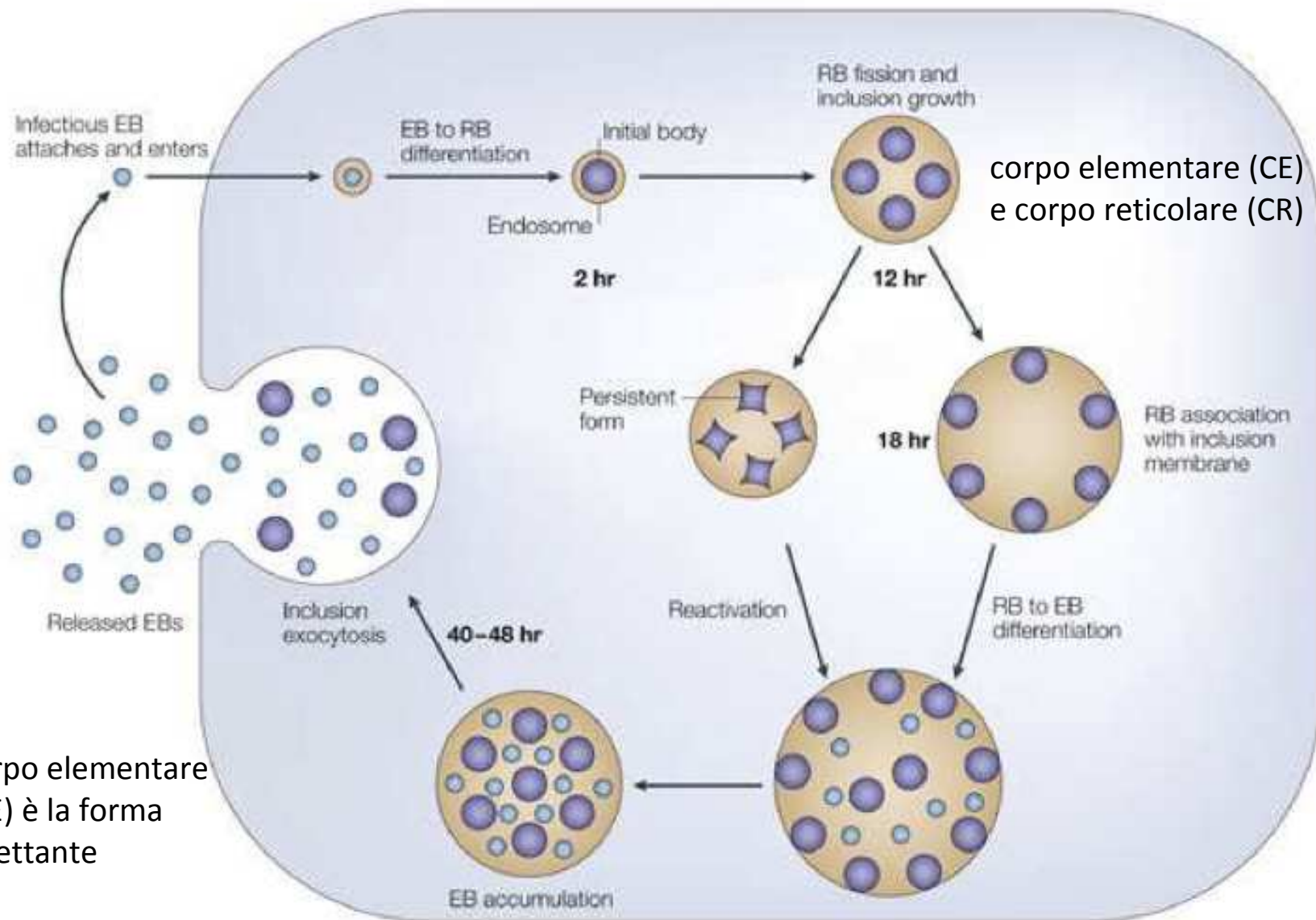
Casi isolati sono stati trovati in Norvegia, Irlanda, Danimarca, Francia e Scozia.

sito NCBI (National Center for Biotechnology Information)

Rapid communications

THE SWEDISH NEW VARIANT OF CHLAMYDIA TRACHOMATIS (NVCT) REMAINS UNDETECTED BY MANY EUROPEAN LABORATORIES AS REVEALED IN THE RECENT PCR/NAT RING TRIAL ORGANISED BY INSTAND E.V., GERMANY

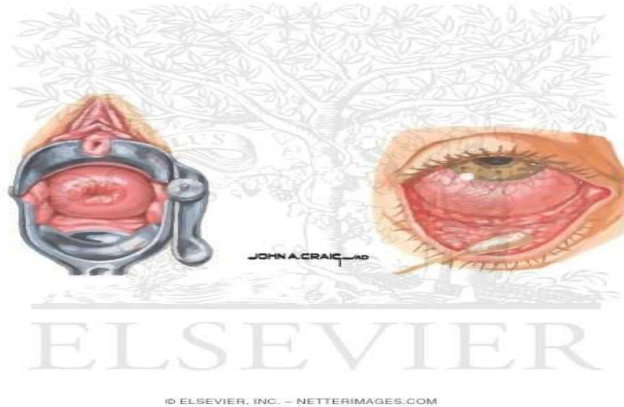
ciclo di sviluppo intra ed eso cellulare (48- 72 ore)



corpo elementare (CE) è la forma infettante

LPS

Il Lipopolisaccaride è in tutti i membri del genere Chlamydia, è considerato un antigene di gruppo



a) LGV biovar
(gruppo psittacosi-ornitosi e linfogranuloma venereo)

Biovar LGV

5 serovar:
L1, L2, L2a, L2b, L3

b) TRACOMA biovar
(responsabile del tracoma, della congiuntivite da inclusi e di diffuse infezioni delle vie genitali)

Biovar tracoma

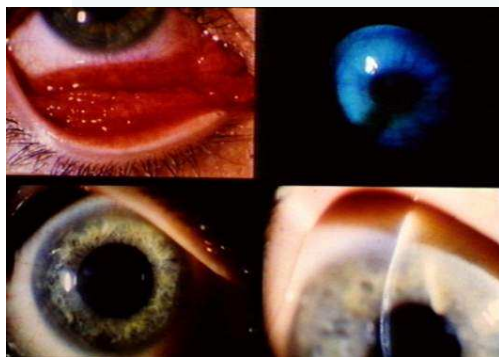
15 serovar:
A, B, Ba, C, **D**, Da, E, F
G, Ga, H, I, Ia, J, **K**

Antigeni

MOMP

Proteina maggiore della membrana esterna, codificata dal gene *omp1*, immunodominante e capace di stimolare la produzione di anticorpi neutralizzanti. Sulla base della MOMP i biovar sono suddivisi in sierovar

SIEROTIPI	TRASMISSIONE	PATOLOGIA
A, B, Ba, C	contatto con materiali, mani, lacrime infetti	Tracoma oculare, congiuntiviti, cicatrici congiuntivali e corneali
D, Da, E, F, G, H, I, Ia, Ja, K	sessuale e perinatale	Malattie oculari e genitali, cerviciti, uretriti, endometriti, malattia infiammatoria pelvica, infertilità, gravidanza ectopica, congiuntiviti, polmoniti neonatali
L1, L2, L3	sessuale	Linfogranuloma venereo, invasione sottomucosa e dei linfonodi, con necrosi, granulomi e fibrosi



Untreated chlamydia can lead to infertility.





Trasmissione



- **sessuale o verticale**
- Alta trasmissibilità
- Periodo di incubazione 7-21 giorni
- Alta percentuale di asintomatici
- Diffusa la reinfezione
- Trasmisione perinatale avviene a livello di congiuntiva nel neonato (30%-50%)



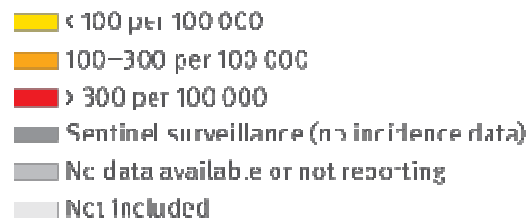


Epidemiologia: in Europa

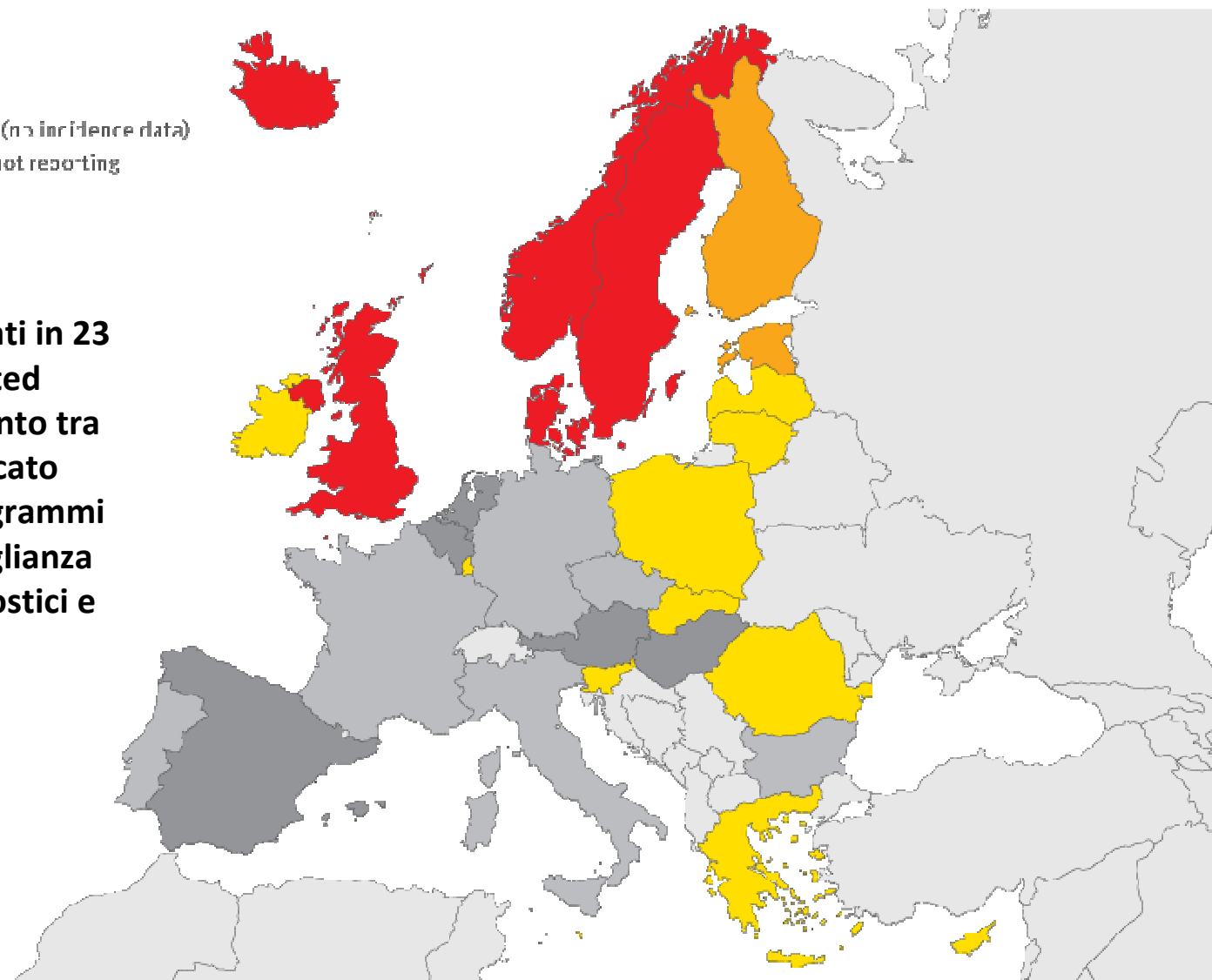
- 4 milioni di nuovi casi di infezione da *Chlamydia*
- Nei giovani sessualmente attivi 5%-10%,
(età inferiore ai 25 anni e il sesso femminile: maggiori fattori di rischio)
- Numero di casi diagnosticati in aumento (in Europa Occidentale è causa del 40% delle uretriti maschili)
- WHO : 92 milioni di nuovi casi diagnosticati all'anno



Chlamydia: numero di casi per 100 000, EU/EEA, 2009



345.000 casi riportati in 23 paesi, il 60% in United Kingdom ! Il confronto tra i vari stati è complicato (differenze nei programmi di screening/sorveglianza e nei metodi diagnostici e percentuale dei sottostimati)

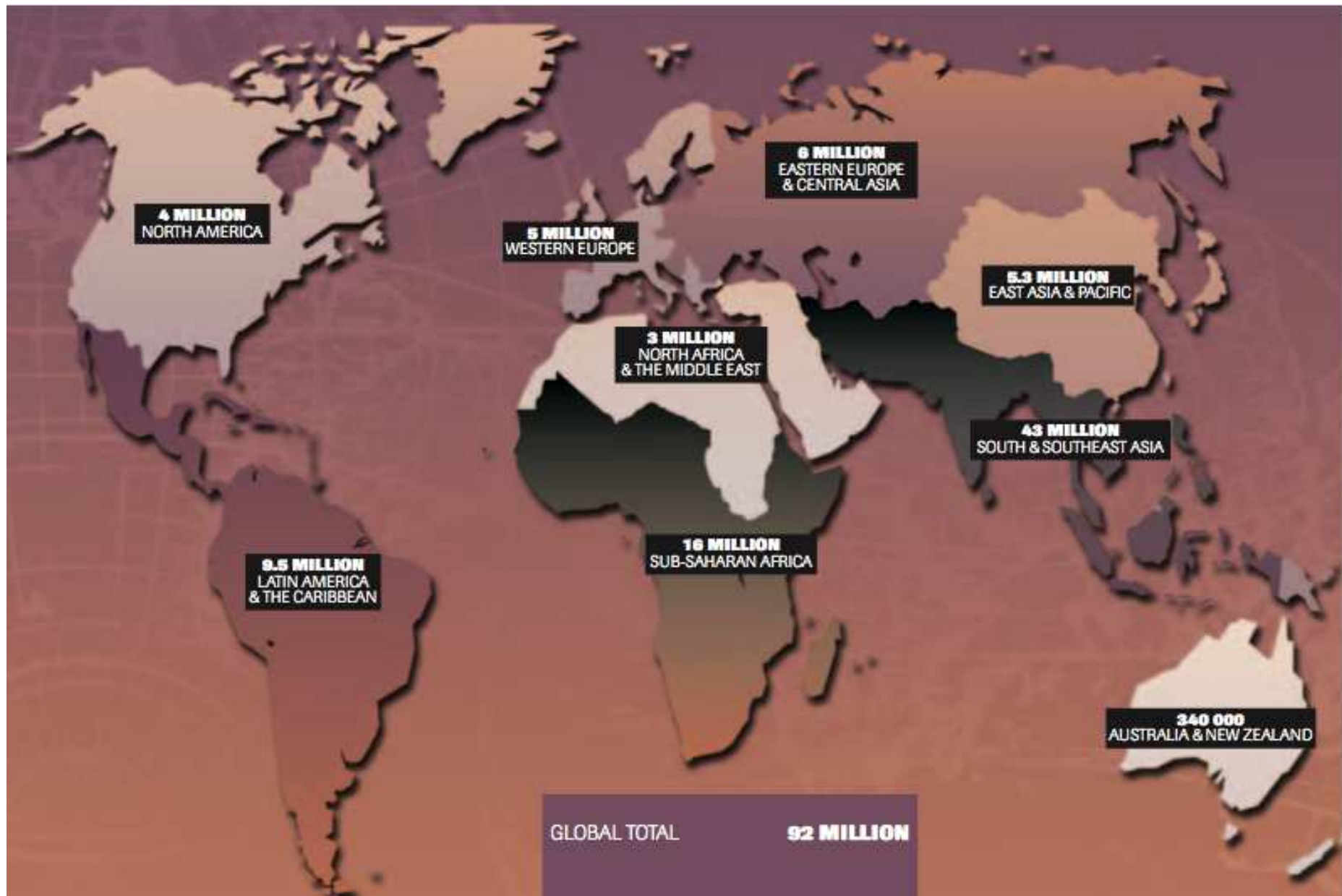


Level A: Symptomatic case management + opportunistic testing + screening programme (UK, The Netherlands, Nordic)

Level B: Symptomatic case management + opportunistic testing (Eastern Europe)

Level C: Symptomatic case management (Southern Europe)

Chlamydia: numero di casi nel mondo



Diagnosi di laboratorio



Saggi utilizzati

- coltura
- saggi non colturali
 - Saggi di immunofluorescenza e immunoenzimatici
 - Sierologia



- Saggi di amplificazione genica (*NAATs*)

Coltura su linee cellulari



Da sempre il “gold standard”:
(cellule *McCoy* , con successiva reazione di immunofluorescenza con anticorpo monoclonale)

Sensibilità variabile (50%-80%)



Alta specificità (100%)

Non adatta per ampi programmi di *screening*

Saggi non colturali, saggi di non amplificazione genica

Immunofluorescenza

Antigene : MOMP rilevato con anticorpo monoclonale
(Proteina Maggiore sulla membrana batterica)

Sensibilità: 68 – 100 %

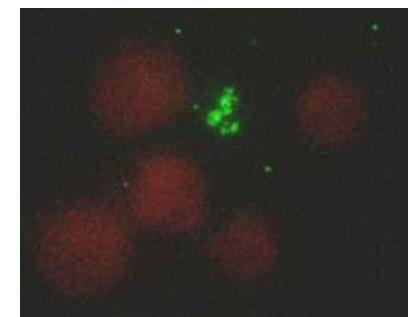
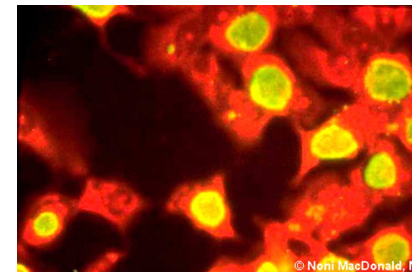
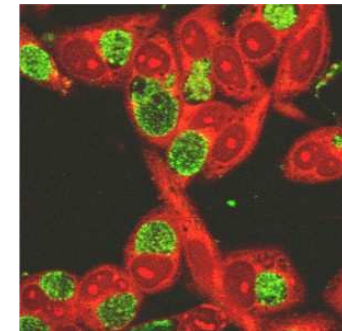
Specificità : 82 – 100 %

Vantaggi: veloce, facile

Svantaggi: soggettivo

cut-off variabile

basso numero di campioni



Saggi non colturali, saggi di non amplificazione genica

Saggi immunoenzimatici (E.I.A.)

Antigene : LPS (Lipopolisaccaride genere-specifico)

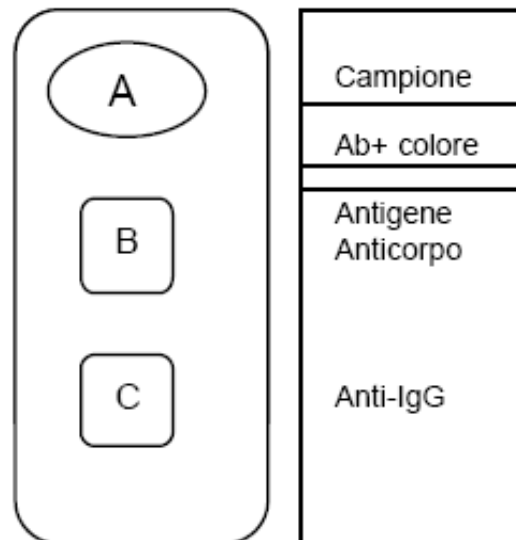
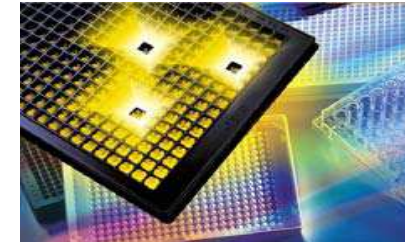
rilevato con un anticorpo marcato

Sensibilità : 70 – 100 % (perdono troppi +)

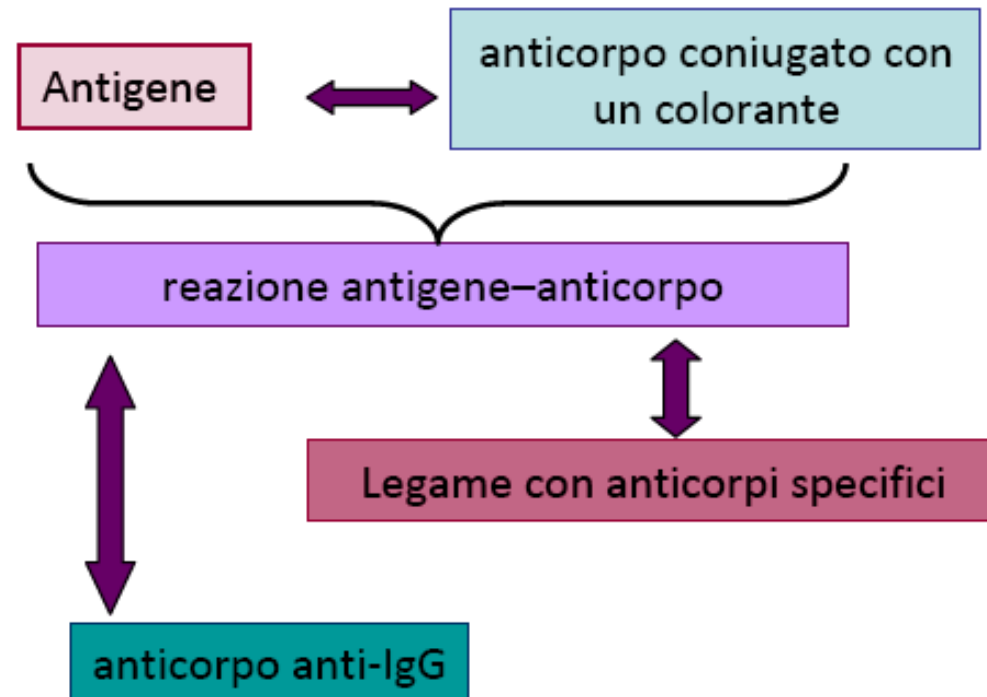
Specificità : > 90 % (danno troppi falsi +)

Vantaggi: veloce, facile, per molti campioni

Svantaggi: falsi positivi



Determinazione qualitativa dell'antigene



ABBANDONARE I SAGGI CON SCARSE PERFORMANCE

La coltura, i test EIA e i test in IF non rilevano dal 20 al 30% delle infezioni e sono scoraggiati dalla recenti Linee Guida

Saggi di immunofluorescenza (DFA) e immunoenzimatici (EIA) identificano 10^4 - 10^7 organismi

I test di amplificazione (*nucleic acid amplification tests* - NAATs) possono identificare 10-100 organismi in un campione

Metodo	Sensibilità	Specificità	Tempo	Vantaggi	Limiti
Coltura cellulare	60-80%	>99%	72 h	Elevata specificità	Bassa sensibilità Complessità Tempo
IFA	65-75%	97-99%	45'	Semplicità	Bassa sensibilità
EIA	60-75%	97-99%	4 h	Test singolo Automazione	Lettura soggettiva Bassa sensibilità
POC	25-65%	95%	30'	Basso costo Test singolo	Test di conferma Sensibilità molto bassa
Test molecolari					
DNA probe	65-75%	98-99%	2 h	Semplicità	Bassa sensibilità
Hybrid capture	95%	98-99%	4 h	Semi-automazione Automazione	Solo per tampini cervicali
NAAT	>95%	>98%	2-4 h	Elevata sensibilità Utilizzo di prelievi non invasivi	Costi Contaminazioni

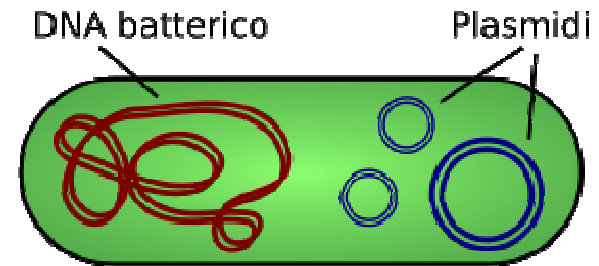
NAATs identificano il 20-30% in più delle infezioni rispetto alla coltura ed il 25-70% in più dei DFA e EIA. La specificità raggiunge il 99.5%.

Saggi di amplificazione dell'acido nucleico

Possibili target rilevabili:

La maggior parte dei saggi NAATs disponibili in commercio sono in grado di rilevare un solo bersaglio

- o DNA plasmidico (plasmide criptico),
- o DNA cromosomico,
- o sequenza genica della proteina della membrana esterna (MOMP),
- o RNA ribosomiale.



Il plasmide: numero di copie medio di 4 plasmidi per cromosoma ed è altamente conservato.

NAATs

Saggi di amplificazione dell'acido nucleico

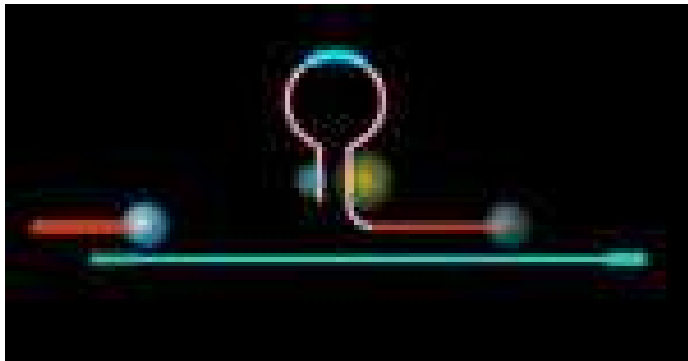


- NAATs disponibili in commercio:
 - Becton Dickinson BDProbe Tec[®] Strand displacement amplification (SDA, Becton Dickinson)
 - Gen-Probe AmpCT, Aptima[®] Transcription mediated amplification assay (TMA)
 - Abbott RealTime PCR assay (Abbott Diagnostics)
 - Roche Amplicor[®] COBAS Taqman, Polymerase chain reaction assay (Real-time PCR)
- Ricerca nello stesso campione di *N. gonorrhoeae*
- Sensibilità maggiore degli altri metodi: si sono rapidamente imposti come *gold standard* (ora anche per casi medico-legali)

Becton Dickinson BD Probe Tec® *Strand displacement* amplificati (SDA)



Target: *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* **DNA**

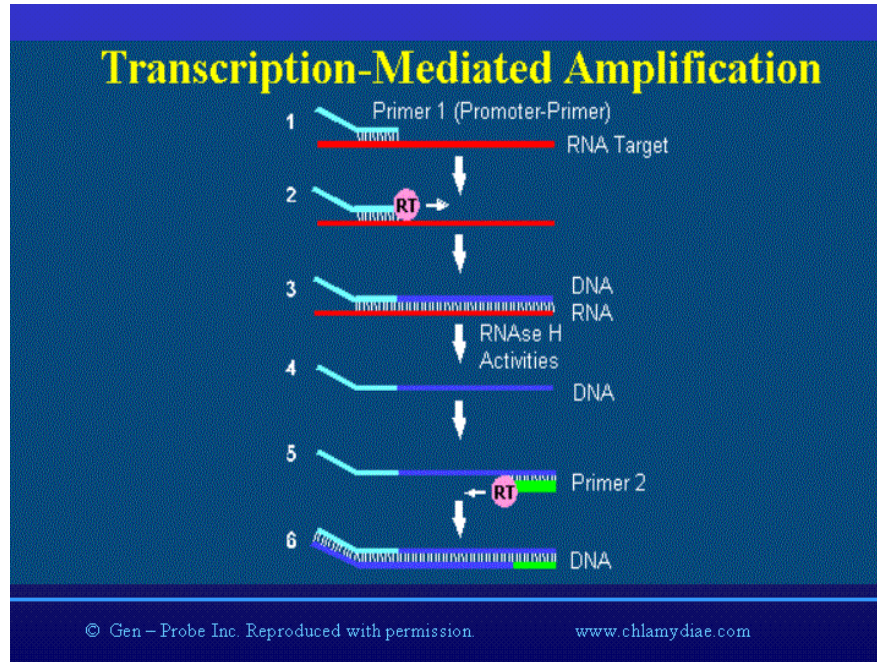


Il prodotto di amplificazione viene evidenziato mediante ibridizzazione con una sonda *molecular beacon* e conseguente emissione di segnale fluorescente

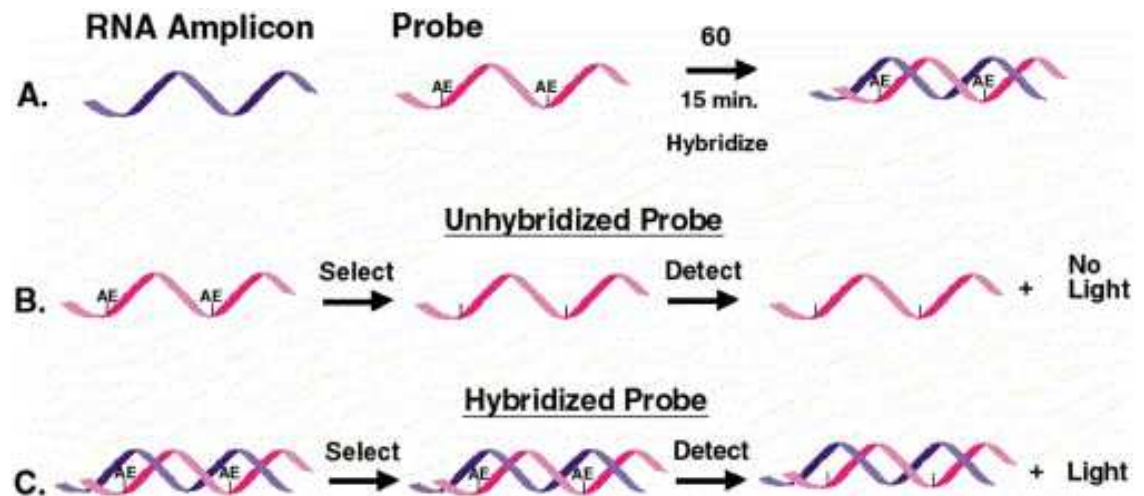
Nella fase iniziale (**amplificazione** del *target*), l'amplificazione viene iniziata da due coppie di *primer*, complementari a sequenze nucleotidiche contigue all'interno del *target*.

L'**allungamento** del *primer* "a monte" (*bumper*) causa il distacco del *primer* "a valle", che si è a sua volta allungato, fino alla sua completa liberazione.

Gen-Probe AmpCT, Aptima® Transcription mediated amplification assay (TMA)



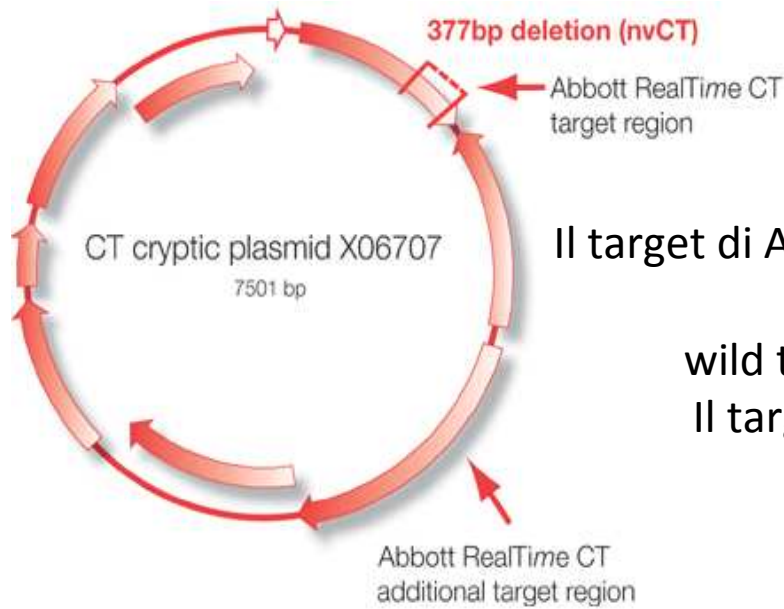
Target: **RNA ribosomiale** di *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*



Abbott RealTime PCR assay (Abbott Diagnostics)

SONDA LINEARE a singolo filamento

Tecnologia: reazione polimerasica a catena



Il target di Abbott RealTime CT/NG è doppio sul plasmide criptico, riconosce:

wild type (wtCT) e new variant della clamidia (nvCT).
Il target del gonococco è una regione del gene Opa.

Bersaglio della PCR il **DNA plasmidico** di CT
e **DNA genomico** di NG



Roche Amplicor® COBAS Taqman, Polymerase chain reaction assay (Real-time PCR)



Diagnostics

Sample Types

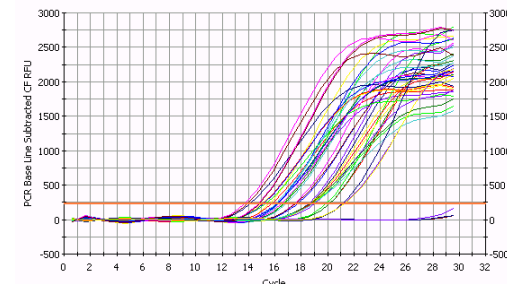
- Urine (male+female)
- Swabs (endocervical)

Sensitivity & Specificity

- Sensitivity Female Urine = 95 %
- Sensitivity Male Urine = 96.4 %
- Sensitivity Swabs = 98%
- Specificity Urine = 100%
- Specificity Swabs = 100%

Tecnologia: reazione polimerasica a catena in Real time automatizzata.

Target: **DNA (plasmide criptico per CT)**



La diagnosi precoce delle infezioni da *Chlamydia trachomatis* è un approccio indispensabile per prevenire la diffusione dell'infezione e le sue complicanze (programmi di *screening*).

Diagnosi

Tutte le *NAATs* commerciali mostrano un'adeguata sensibilità e specificità. La piattaforma di test selezionato deve avere un valore predittivo positivo (VPP) oltre il 90% e rilevare tutte le varianti conosciute.



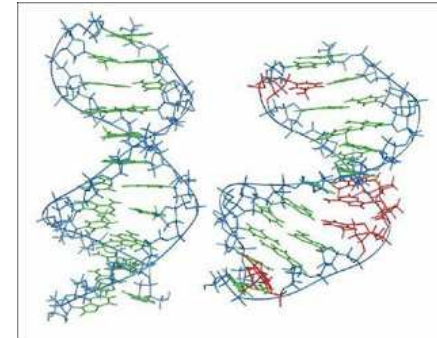
La **scelta della piattaforma** di prova dipende da una varietà di fattori :

- Il volume dei campioni da trattare
- Riproducibilità
- *Hands-on-time*/automation
- Costo di reagenti / attrezzature
- La sensibilità e la specificità dei test individuali per diversi campioni clinici
- Se il test viene utilizzato per rilevare *C.trachomatis* solo o come test combinato per *C.trachomatis* e *N.gonorrhoeae*.

-*ligase chain reaction* (LCR),
-*transcription-mediated amplification* (TMA)
-*polymerase chain reaction* (PCR)

NAATs

Nessuno singolo fornisce il 100% di sensibilità e specificità (inibitori, contaminazioni, riproducibilità e fattori ormonali).



L'elevata sensibilità (>90%) e specificità (>98%) rendono i *NAATs* i migliori test per la diagnosi delle infezioni da *Chlamydia trachomatis*.

L'introduzione dei *NAATs* ha permesso di utilizzare, per la diagnosi delle infezioni da *Chlamydia trachomatis*, campioni alternativi, rispetto al tampone endocervicale o uretrale, come le urine o i tamponi vaginali e vulvari, mantenendo le proprie caratteristiche di *performance*

Usa dei saggi NAAT con Appropriati campioni clinici:

	Specimens							
	<i>first catch urine</i>	cervix	vulval-vaginal	urethra	Glans penis	pharynx	rectum	Conjunctiva
NAAT	1	1	1	1*	3	2#	2#	2
Tissue culture	3 (No longer recommended)							

Key:

1	Test of choice
2	Test of choice, not licensed
3	Not recommended

* men and women with persistent urethral symptoms where tests from other sites are negative or women who have undergone a hysterectomy

men who have sex with men (MSM) and commercial sex workers (CSW)



I campioni di elezione per la NAAT sono il tampone uretrale, cervicale, vaginale (auto-prelievo e non) e il primo mitto di urine

Campioni Appropriati per uomo e donna

Type of specimen of first choice
 Men: first-void urine
 Women: (self-collected) vaginal swab



	Specimen
Men	First catch urine (specimen of choice) or urethral swab
Men who have sex with men (MSM)	First catch urine (specimen of choice) or urethral swab and Pharyngeal and rectal swab
Women undergoing speculum examination	Endocervical swab
Women not requiring speculum examination	Self taken lower vaginal swab (specimen of choice) or first catch urine*

* please note first catch urine samples may be less sensitive than endocervical or self taken lower vaginal swabs for the detection of *C. trachomatis*.

Nell'uomo sintomatico la sensibilità del primo getto d'urina è 85-95% (con alta concordanza nelle diverse NAATs).

Buona accettabilità della raccolta del campione.

Nella donna la sensibilità del primo getto d'urina è 80-90%.

Valida alternativa è il tampone vaginale autoprelevato con buona accettabilità.

La differenza di sensibilità tra test su campioni prelevati da vari siti è probabilmente il risultato della differenza di carica batterica in questi campioni.

Diagnosi

**Pool di campioni di urina
NO!!!**

I campioni di urina nella donna possono contenere inibitori che danno risultati falsamente-negativi



La maggior parte delle NAATs non certificano l'utilizzo di pool di campioni



**Liquido seminale
NO!!!**

Forti inibitori di NAATs

Buona correlazione tra positività nel primo getto di urina e il liquido seminale

Tamponi faringei e congiuntivali

Campioni di scelta per basse cariche o nella congiuntivite neonatale

Tamponi rettali

Non per coltura cellulare e saggi immunoenzimatici (tossicità del campione e possibili cross-reazioni)

NAATs non perde in specificità, anche se andrebbero confermati i risultati con un secondo saggio

Sebbene *not licensed* questi siti, le NAATs possono essere utilizzate e potenzialmente dare risultati validi su campioni faringei e rettali

NAATs

possibilità di effettuare la ricerca, nella diagnosi di ARe da clamidia, del DNA su liquido e/o tessuto articolare

precisazione

in grado di evidenziare *C. trachomatis* in più del 30% dei casi di “artrite indifferenziata”, mostra dei limiti di sensibilità e specificità (positività anche in soggetti asintomatici)

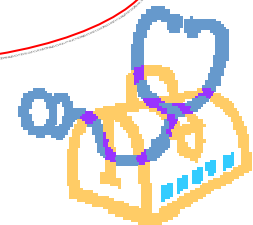
mancata corrispondenza tra positività della PCR per clamidie nel liquido sinoviale e la presenza di anticorpi anti-clamidia nel sangue supporta ancor più la convinzione che le artriti reattive e le “altre malattie reumatiche” sostenute da clamidie siano in realtà sottostimate

Follow-up

NAATs non distinguono microrganismi vivi e microrganismi morti
POSITIVITA' fino a 4-6 settimane dopo la terapia

NO saggi molecolari per il follow-up terapeutico

Diagnosi



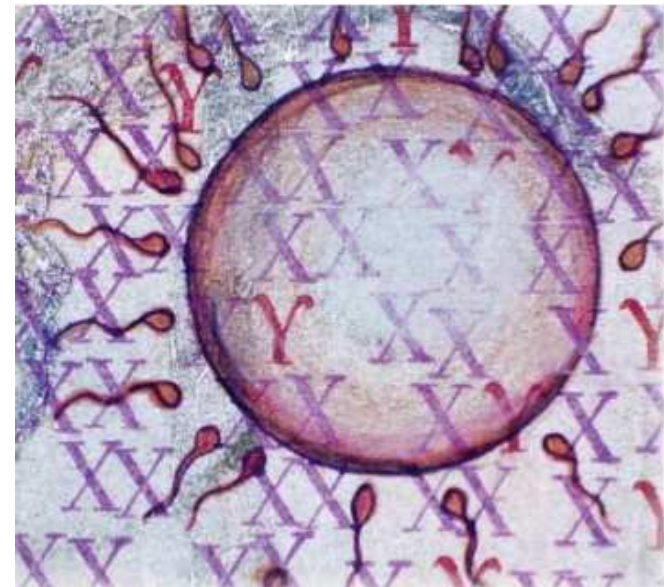
Sierologia

Solo la patologia invasiva porterà a livelli di anticorpi utili per la diagnosi sierologica

Nessun valore nella diagnosi di cervicite e uretrite

Il dosaggio degli anticorpi anti *C.trachomatis* può essere utile nella diagnosi di malattia invasiva, come LGV che coinvolge i linfonodi e nella polmonite neonatale. La dimostrazione di anticorpi specifici a titolo elevato si è dimostrata correlata all'infertilità da danno tubarico con titoli elevati (IgG e / o IgA).

La durata di positività anticorpale non è nota



Perchè lo screening per l'infezione da *Chlamydia*?

- Screening può ridurre l'incidenza dell'infezione più severa di più del 50%.
- La maggior parte delle infezioni è asintomatica sia nell'uomo che nella donna
- Screening riduce la prevalenza nella popolazione e soprattutto riduce la trasmissione

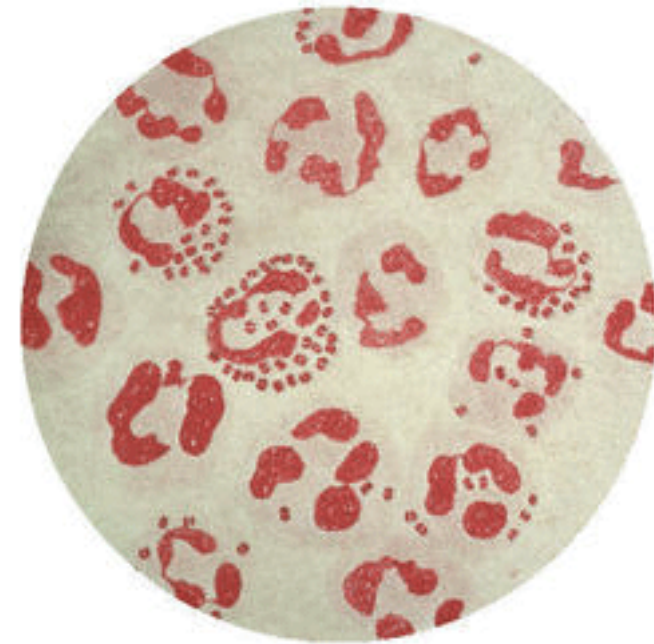


Table 1. CDC Recommendations for STI Screening in Pregnancy

Condition	Screening recommended?	Preferred test
Bacterial vaginosis*	No	—
Chlamydia	Yes: all pregnant women	NAAT
Gonorrhea	Yes: women who are at risk† or living in a high-prevalence area	NAAT or culture on Thayer-Martin media
Hepatitis B	Yes: all pregnant women	HBsAg serology
Hepatitis C	Yes: women who are at high risk‡	Anti-HCV
Herpes	No (culture lesions if present)	Culture, PCR
HIV	Yes: all pregnant women	EIA, Western blot
HPV	No	—
Syphilis	Yes: all pregnant women	RPR or VDRL
Trichomoniasis	No	—

Neisseria gonorrhoeae

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



La trasmissione avviene per contatto di secrezione infetta da una mucosa all'altra, genito-genitale, genito-anorettale, oro-genitale od oro-anale o dalla madre al bambino alla nascita. Una volta avvenuto il contatto, il microrganismo aderisce alle cellule epiteliali e penetra.

L'infezione coinvolge principalmente l'epitelio colonnare dell'uretra, l'endocervice, il retto, la faringe e le congiuntive. Sebbene l'infezione rimanga generalmente localizzata al sito d'infezione, può svilupparsi anche al livello della bocca, della gola, degli occhi e del retto e può talvolta risalire il tratto genitale causando la malattia infiammatoria pelvica (PID) ed un'epididimo-orchite, o disseminarsi con batteriemia.



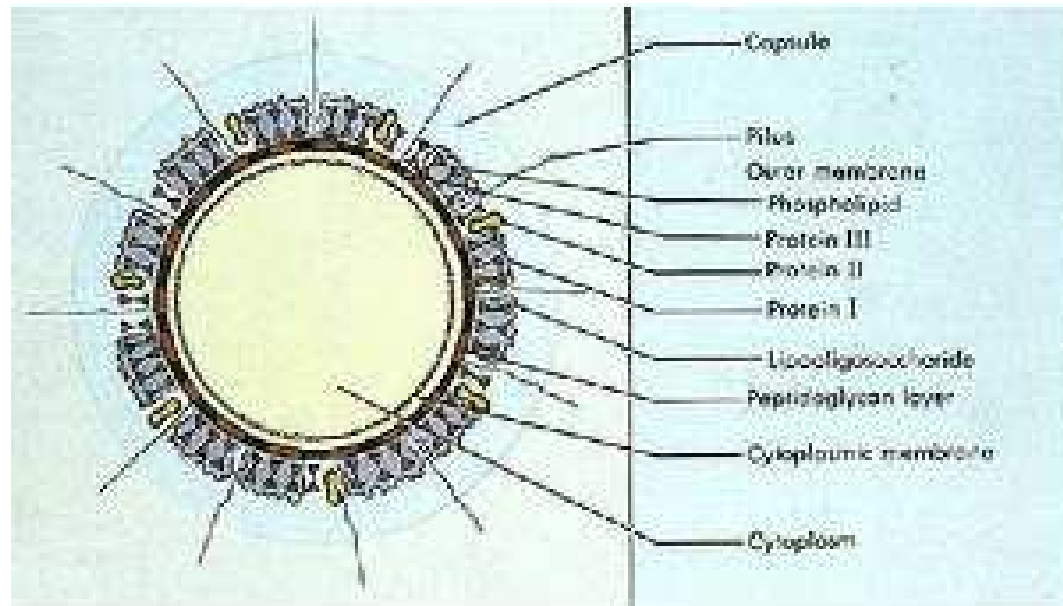
Struttura antigenica eterogenea

Pili intervengono nel processo di adesione alle cellule ospiti
Sono composti da molecole proteiche di pilina, diversa per ogni ceppo

Proteina I Por

(canale di membrana)

Ogni ceppo esprime un solo tipo di Por (18 varianti PorA e 28 di PorB)

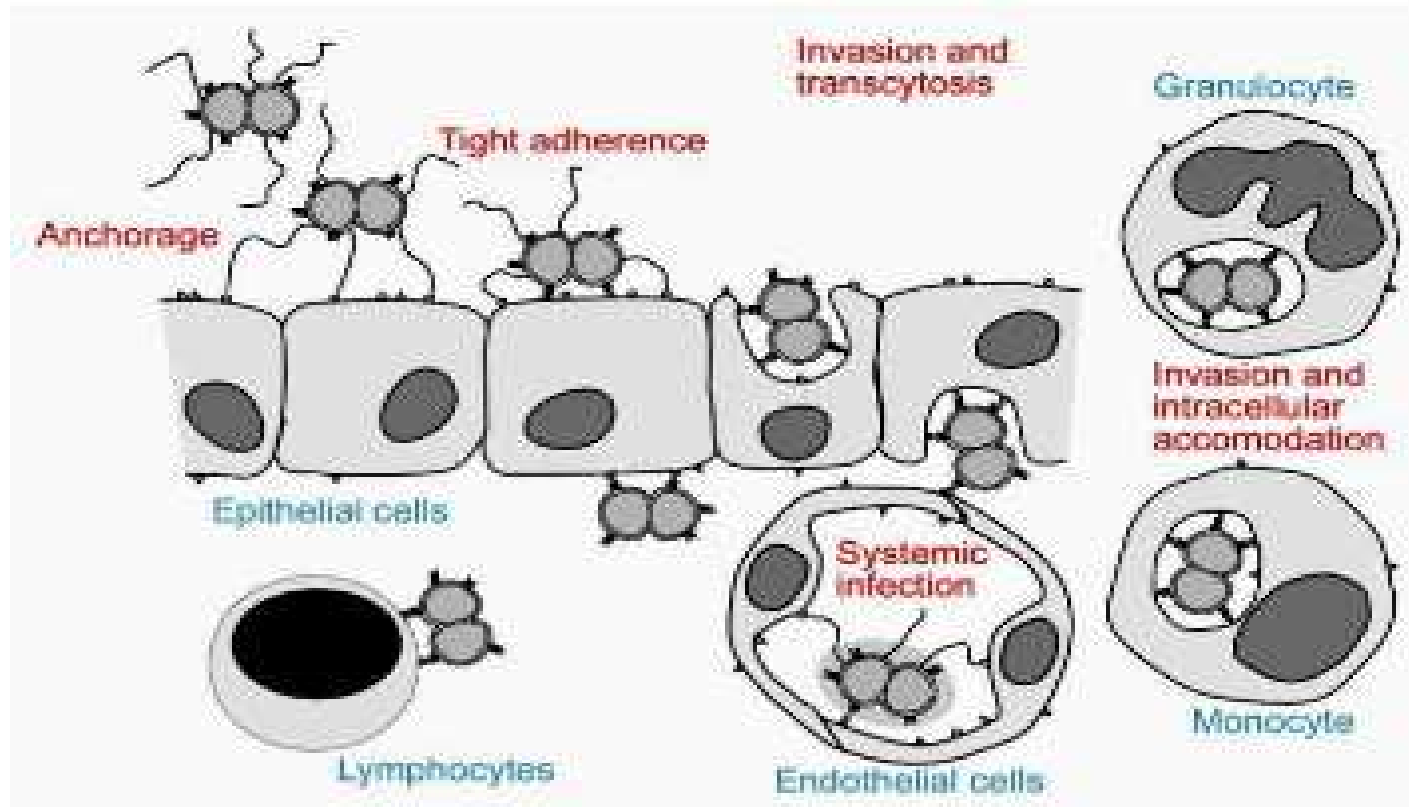


Proteina II Opa (*outer membrane protein*) funziona nell'adesione dei gonococchi nelle colonie e alle cellule ospiti. Una porzione si trova nella membrana esterna della cellula gonococcica, mentre la rimanente è esposta sulla superficie

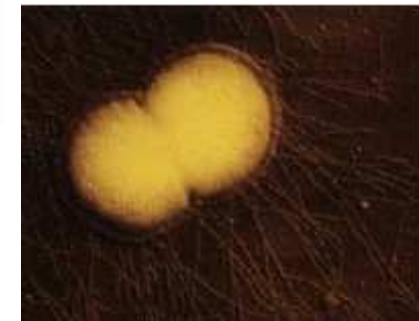
Proteina III Rmp conservata in tutti i ceppi di gonococchi forma i pori sulla superficie cellulare

Fattori di patogenicità

I pili, conferiscono al germe la capacità di aderire all'epitelio superficiale delle mucose, di resistere alla fagocitosi, di ingannare le difese immunitarie attraverso variazioni di fase e/o antigeniche



Le proteine della membrana esterna, (IgA-proteasi che viene prodotta dai gonococchi, taglia ed inattiva le IgA1, la principale immunoglobulina mucosale



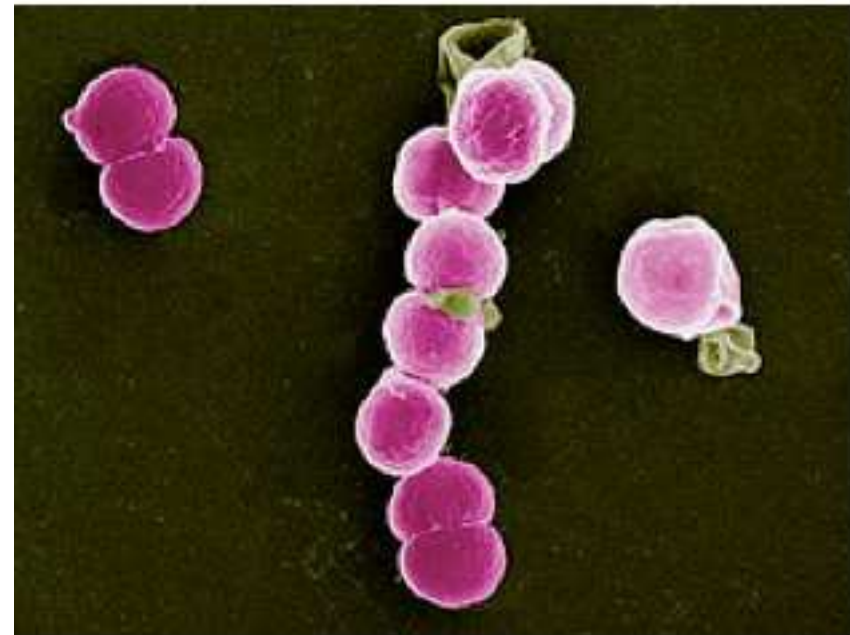
Il lipopolisaccaride (LOS) con effetti endotossici (tossicità delle infezioni gonococciche)

La diffusa assenza di sintomi tra le persone infette rende più complicata la diagnosi e più facile il contagio

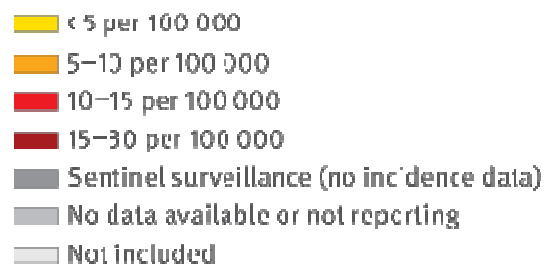
L'incidenza più elevata di gonorrea si riscontra nei giovani adulti (15-29 anni) soprattutto nelle minoranze etniche e nei maschi omosessuali (MSM)

32 000 casi in Europa nel 2010

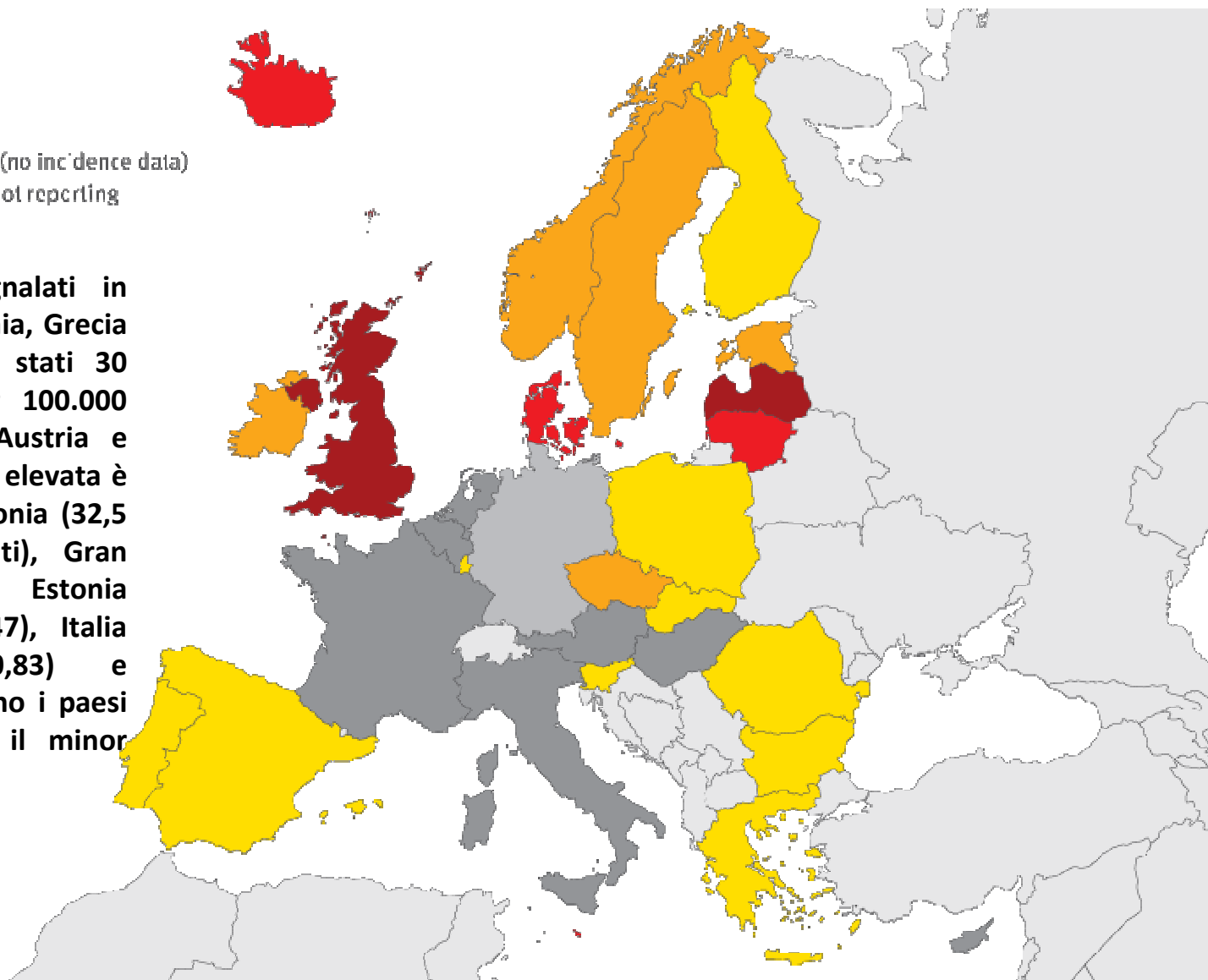
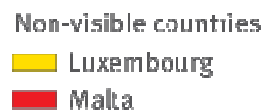
Gonorrea è la seconda infezione sessualmente trasmessa più comune

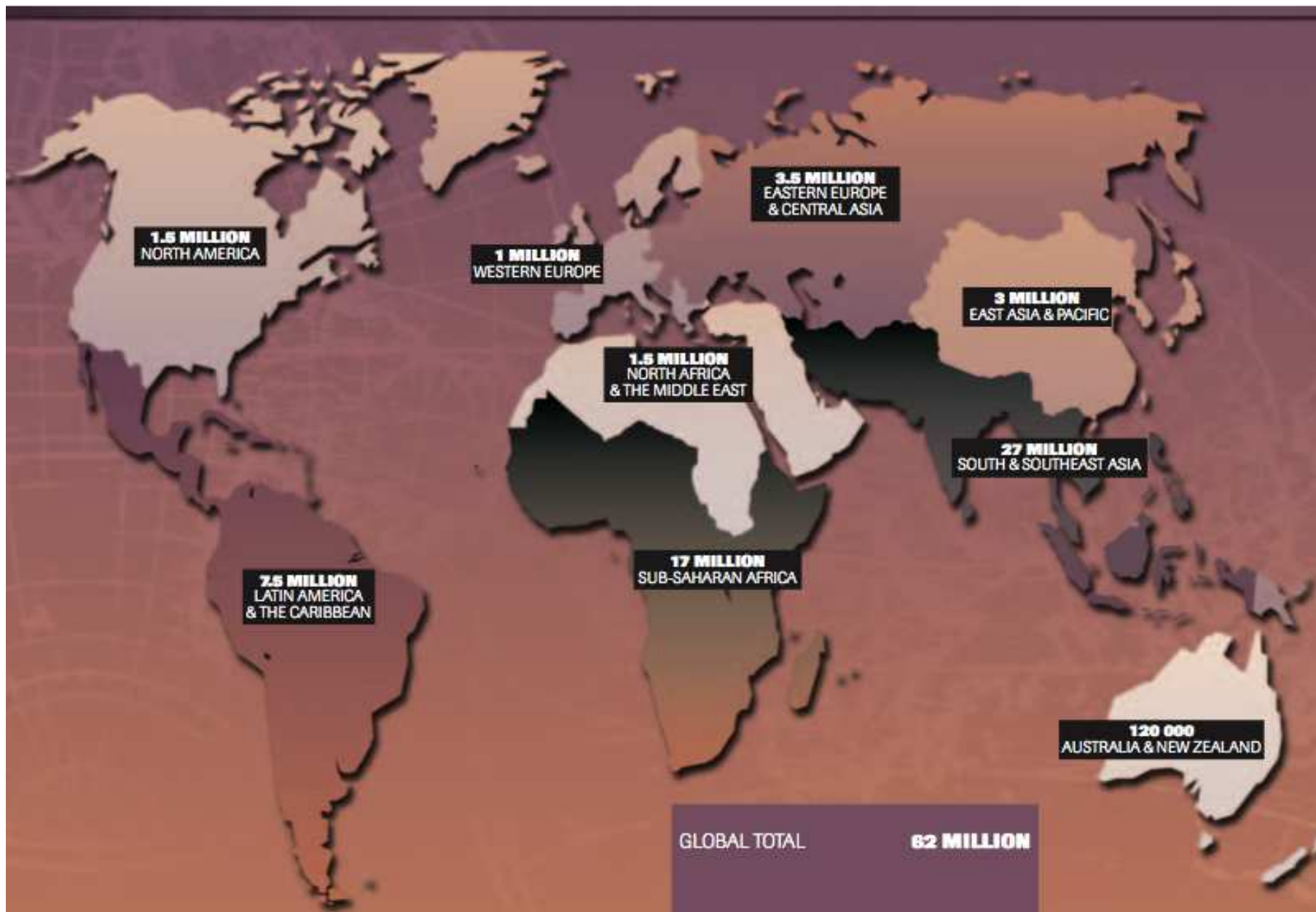


Gonorrhea: number of cases per 100 000 in EU/EEA, 2000–2009



Nel 2006 i casi segnalati in Europa (esclusi Germania, Grecia e Liechtenstein) sono stati 30 534, pari ad 8.9 per 100.000 abitanti (escludendo Austria e Francia. L'incidenza più elevata è stata osservata in Lettonia (32,5 casi ogni 100 abitanti), Gran Bretagna (31,5), ed Estonia (20,8). Portogallo (0,47), Italia (0,67), Spagna (0,83) e Lussemburgo (0,85) sono i paesi che hanno segnalato il minor numero di casi.





La gonorrea è una delle malattie sessualmente trasmissibili più diffuse al mondo. Eppure, la scarsa disponibilità di dati rende difficile la descrizione del fenomeno e quindi il controllo dell'infezione.



Nel 2008, dato *World Health Organization* (WHO)

106 milioni di casi di gonorrea fra adulti nel mondo

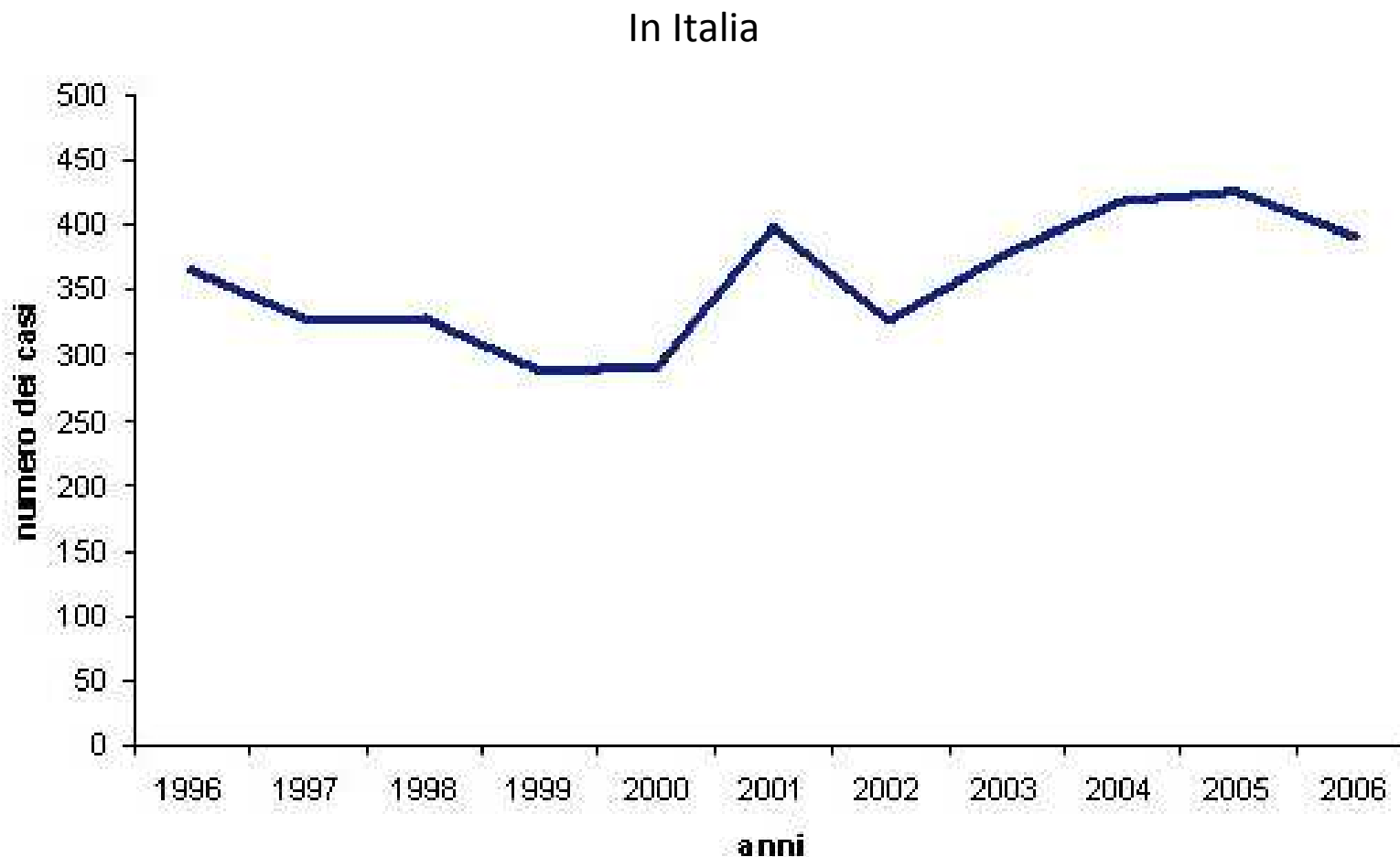
In Europa, la gonorrea è la seconda più comune causa di infezione batterica sessualmente trasmessa

L'incidenza è sottostimata in molti paesi a causa di mancanti mezzi diagnostici, mancati *case report* e sorveglianza.

Considerevole variazione geografica nella distribuzione dell'infezione e maggiore frequenza dell'infezione nell'uomo rispetto alla donna (infezione sintomatica nell'uomo e omosessualità).

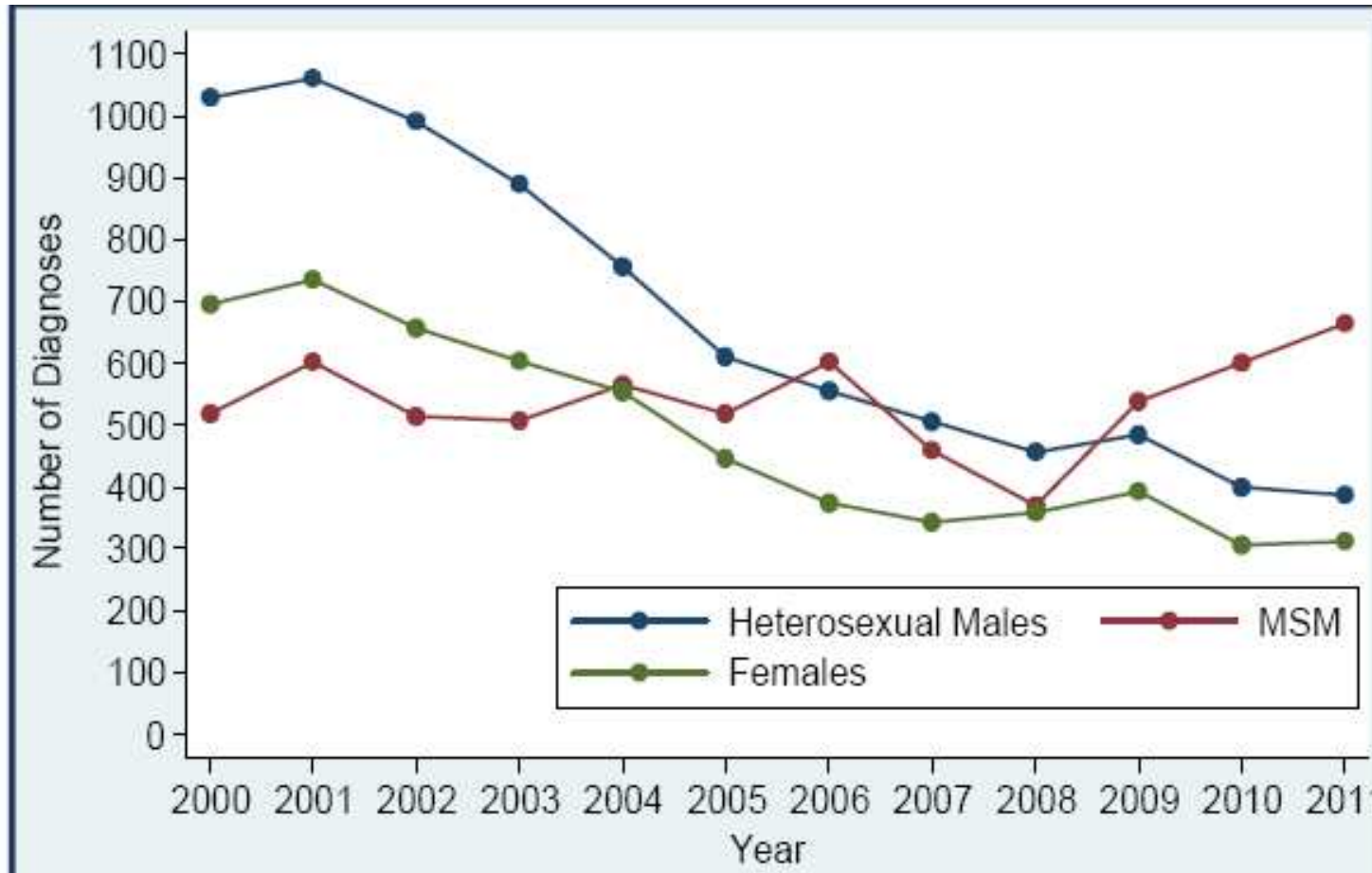


Negli Stati Uniti i nuovi casi di contagio sono circa 700 mila all'anno, di cui solo la metà vengono segnalati al Centro per il controllo delle malattie (CDC)



In base ai dati ricavati dalle notifiche obbligatorie tra il 2000 e 2005, si è osservato un aumento dell'incidenza della gonorrea del 33,3% nella fascia di età 15-24 anni.

Numero di gonorrea diagnosticati per genere e orientamento sessuale



Diagnosi di laboratorio

La diagnosi di laboratorio della gonorrea si basa sulla identificazione di *N.gonorrhoeae* nelle secrezioni genitali, rettali, faringee o oculari



Microscopia di preparati genitali, sensibilità $\geq 95\%$ in pazienti sintomatici; $\leq 55\%$ negli asintomatici e nelle infezioni endocervicali ($\leq 55\%$) o rettali ($\leq 40\%$) e non può essere raccomandata come test diagnostico in tali situazioni



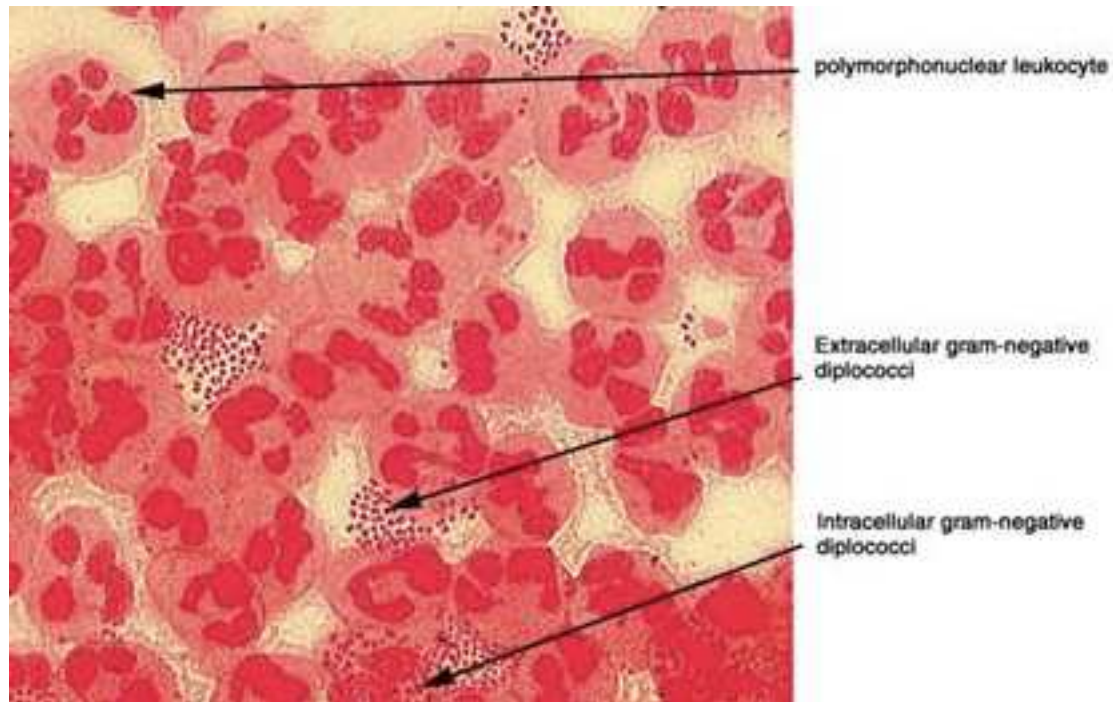
Coltura (specifico ed economica) consente una rapida identificazione e l'effettuazione del test di suscettibilità antibiotica.

E' raccomandato l'utilizzo di terreni di coltura selettivi addizionati con antibiotici, indicati per campioni prelevati da endocervice, uretra, retto e faringe (NO urina!). La sensibilità dell'esame colturale è elevata per i campioni prelevati in sede genitale, a condizione che la raccolta, il trasporto e la conservazione del campione stesso siano adeguati.

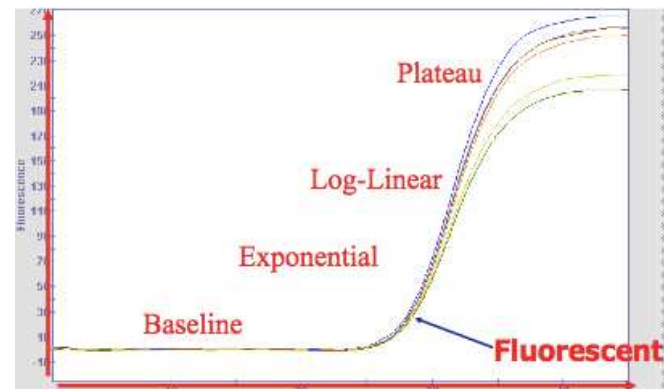


Saggi di amplificazione dell'acido nucleico (NAATs)

Diagnosi



Nessun test offre 100% sensibilità e specificità



La scelta dei campioni e il metodo di raccolta dipendono:

- dalle metodiche utilizzate dal laboratorio,
- dal quadro clinico,
- dall'età, dal sesso e dall'orientamento sessuale del paziente.

Tutti i siti in cui sono presenti dei sintomi (secrezioni e/o dolore) dovrebbero essere indagati.

I *NAATs* sono più sensibili ($\geq 90\%$) rispetto alla coltura soprattutto su campioni ottenuti da tampone faringeo o rettale. Il loro utilizzo eventuale deve essere necessariamente accompagnato da un test di conferma. Possono essere utilizzati su campioni di urine, tamponi vaginali auto-prelevati dalla paziente e tamponi endocervicali ed uretrali.

Nella donna, la sensibilità dei test *NAATs* su campioni di urine è minore rispetto a quella di test eseguiti su tamponi prelevati dal tratto genitale: questo campione non è quindi raccomandato.

Nel caso di un'infezione genitale localizzata a livello endocervicale o uretrale un singolo campione endocervicale o vaginale valutato con *NAAT* è dotato di sufficiente sensibilità (90%) se utilizzato come test di *screening*.



Diagnosi di laboratorio e campioni clinici

Diagnosi

Site/specimen	Test	Comments
Urethra (intraurethral) (young and adult males)	Gram stain (for Gram negative intracellular diplococci) (symptomatic men only)	Generally diagnostic of gonorrhea
	Culture	Confirmation and antimicrobial susceptibility testing
	Non-culture test (NAAT)	In cases where culture not practical (does not provide antibiotic susceptibility)
Endocervix/urethra (young and adult females)	Gram stain (for Gram negative intracellular diplococci)	Sensitivity lower than in male urethral specimens and not routinely recommended
	Culture	Confirmation and antimicrobial susceptibility testing
	Non-culture test (NAAT)	In cases where culture not practical (does not provide antibiotic susceptibility)
Vagina	Culture	Confirmation and antimicrobial susceptibility testing
	Non-culture test (NAAT)	In cases where culture not practical (does not provide antibiotic susceptibility)
Pharynx/conjunctiva/rectum	<ul style="list-style-type: none"> • Culture (Gram stain and non-culture tests not suitable for these sites) • NAAT is not approved in Canada for oropharyngeal or rectal use. For conjunctiva, pharynx and rectum refer to package insert for specific test. 	Confirmation and antimicrobial susceptibility testing
Urine (males and females)	<ul style="list-style-type: none"> • Non-culture test (NAAT) 	Should not be used in cases of treatment failure when antimicrobial susceptibility data are critical
Disseminated infection	<ul style="list-style-type: none"> • Genital testing • Blood culture • Gram stain and culture of skin lesion • Synovial fluid if arthritis 	

Canadian Guidelines on
Sexually Transmitted Infections



Public Health
Agency of Canada

ATTENZIONE :

Quando si utilizza un *NAAT* per ritrovare *N. gonorrhoeae*, il valore predittivo positivo (PPV) del protocollo utilizzato dovrebbe superare il 90%

Principali fattori che influenzano il PPV sono :

La prevalenza della gonorrea nella popolazione in esame

La variabilità della specificità delle *NAATs* nella popolazione saggiata, e la variazione nella *NAAT* particolarmente nei siti non-genitali.



CDC – confirmatory testing if PPV < 90%

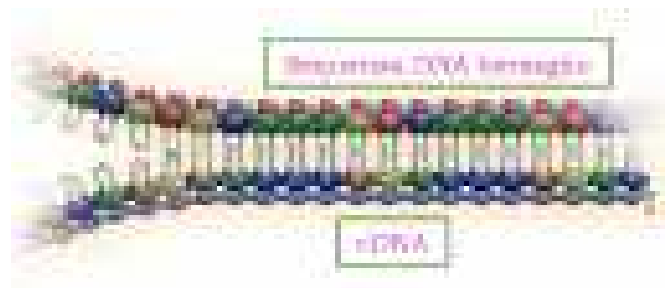
In realtà, nella pratica clinica, non dovrebbero essere utilizzati come unico saggio diagnostico di routine, ma dovrebbero sempre essere confermati dall'esame colturale.

In popolazioni con **bassa prevalenza** (<1%) delle infezioni gonococciche, il PPV potrebbe essere <80% (non utilizzare *NAATs* come screening !!!)

Limiti NAATs

NAATs : test di scelta per lo screening delle infezioni rettali e faringee (più sensibili della coltura),
ma *not licensed* su questi materiali extragenitali

Si possono avere falsi risultati positivi, dovuti a cross-reazioni con Neisserie commensali, come ad esempio quelle presenti nella cavità orale, in quanto le sequenze target utilizzate dalle NAATs possono essere comuni a Neisserie non patogene



Saggio di conferma o ripetizione con una NAAT che ha come *target* un'altra sequenza

L'esame colturale rappresenta ancora il *gold standard* per la diagnosi in siti extra-genitali.



Indicazioni al test

Sintomi o segni di secrezione uretrale negli uomini

Secrezioni vaginali associate a fattori di rischio per infezione a trasmissione sessuale (età <30 anni, nuovo partner sessuale)

Cervicite muco-purulenta

Partner sessuale di persona a cui sia stata diagnosticata un'infezione a trasmissione sessuale (IST) o malattia infiammatoria pelvica (PID)

Epididimo-orchite acuta in maschi di età inferiore a 40 anni

PID acuta

Screening per IST in giovani adulti

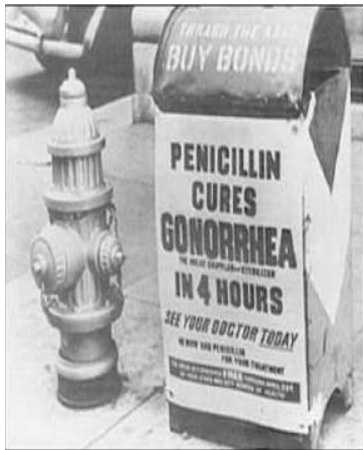
Screening in soggetti con nuovo partner sessuale o partner sessuali multipli

Congiuntivite purulenta nel neonato

Indicazioni al test

In pazienti asintomatici dopo circa due settimane dalla fine della terapia:
NAATs

Saggio di controllo al persistere dell'infezione e Saggio di sensibilità antimicrobica dopo 7 giorni dalla terapia, affiancato da un saggio *NAAT* per aumentare la sensibilità (se coltura negativa).



Non consentono di sorvegliare la resistenza agli antibiotici (sempre saggio per la produzione di β -lattamasi e per la resistenza ai chinolonici; sempre più frequentemente descritte resistenze acquisite sia di tipo cromosomico sia di tipo plasmidico)

Nuovi ceppi di *Neisseria gonorrhoeae* multiresistenti

Punti chiave

- Resistenza di *Neisseria gonorrhoeae* agli antibiotici, chinolonici, tetracicline, beta lattamici, è aumentata, riducendo le opzioni di trattamento
- La resistenza alle cefalosporine di terza generazione è emersa in Giappone e Norvegia e si sta diffondendo!



**WHO gonococcal
antimicrobial surveillance
programme (GASP)**



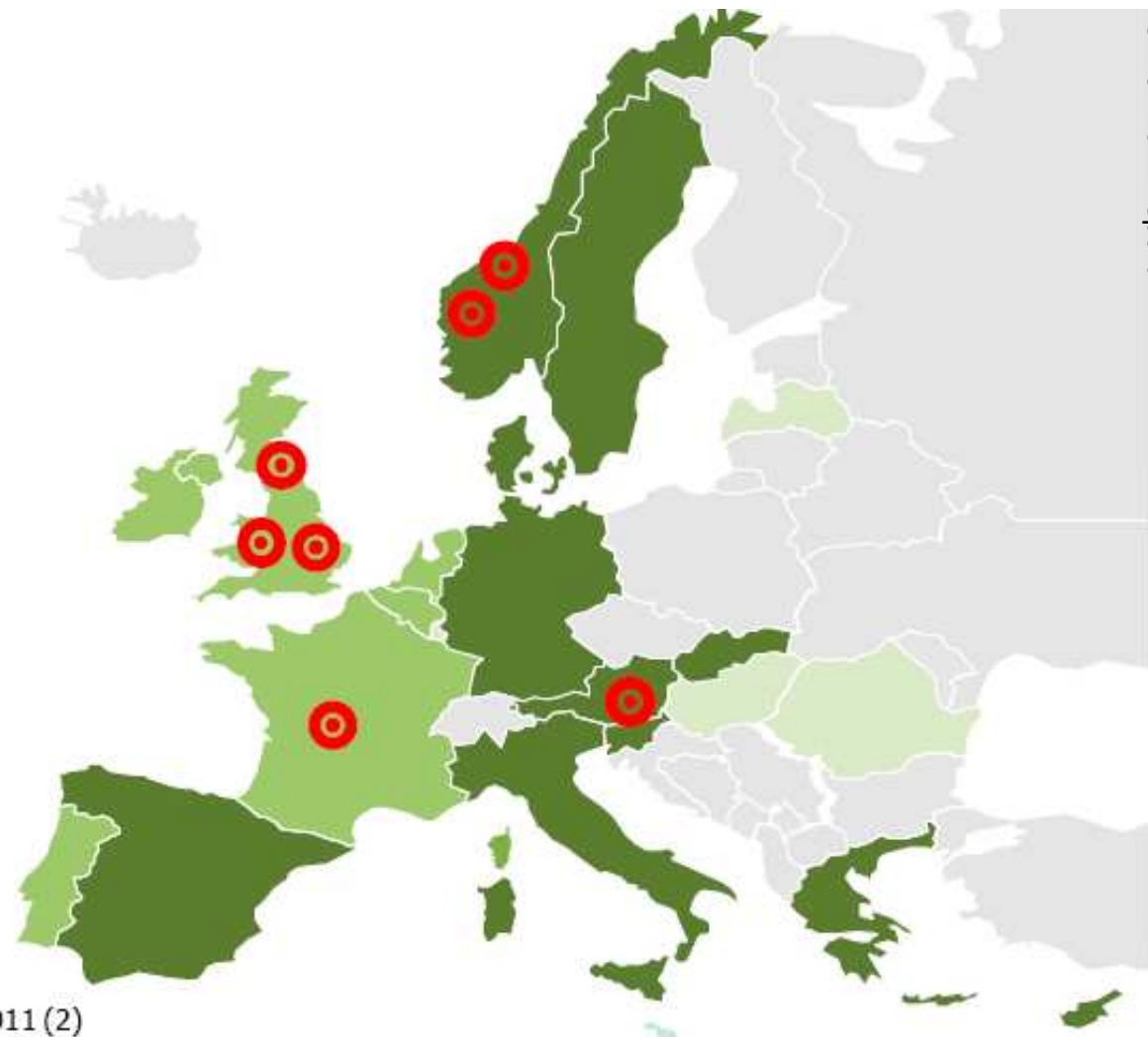
Threat of global rise in untreatable sexually transmitted infections

Diminuzione della sensibilità al cefixime: report dei fallimenti terapeutici

No decreased susceptibility

Less than 5% decreased susceptibility

More than 5% decreased susceptibility



GRASP 2011 Report

○ Reports of treatment failures 2010 (5), 2011 (2)

GRASP

The Gonococcal Resistance
to Antimicrobials
Surveillance Programme

**Working case definition per confermare un fallimento terapeutico:
criteri clinici e di laboratorio**

1	A gonorrhoea patient who returns for test of cure or who has persistent genital symptoms after having received treatment for laboratory-confirmed gonorrhoea with a recommended cephalosporin regimen (ceftriaxone or cefixime in appropriate dose) AND
2	remains positive for one of the following tests for <i>N. gonorrhoeae</i> : <ul style="list-style-type: none"> • presence of intracellular Gram-negative diplococci on microscopy taken at least 72 hours after completion of treatment; OR <ul style="list-style-type: none"> • isolation of <i>N. gonorrhoeae</i> by culture taken at least 72 hours after completion of treatment; OR <ul style="list-style-type: none"> • positive nucleic acid amplification test (NAAT) taken two to three weeks after completion of treatment AND
3	denies sexual contact during the post-treatment follow-up period AND
4	decreased susceptibility to cephalosporin used for treatment*. <ul style="list-style-type: none"> • cefixime: MIC>0.12 mg/L** • ceftriaxone: MIC>0.12 mg/L**

* Ideally, the pre- and post-treatment isolates should be examined with an appropriate and highly discriminatory molecular epidemiological typing method (to confirm an identical strain) and with genetic methods (to confirm the resistance determinants in order to show that the strain is truly resistant).

** These thresholds are in accordance with EUCAST tentative breakpoints.

**“Response plan to control and manage the threat of multidrug resistant
gonorrhoea in Europe”
pubblicato a giugno 2012**

**Ecdc mira a fornire uno strumento volto ad arginare la diffusione dei ceppi di
gonorrea antibiotico resistente tra la popolazione europea: attraverso il
miglioramento della sorveglianza e delle tecniche di diagnosi, un maggiore
controllo dei pazienti a cui è stata diagnosticata la gonorrea e hanno
sperimentato il fallimento terapeutico e la sensibilizzazione di tutti gli strati della
popolazione verso questa patologia**

***“... risk that gonorrhoea may become an untreatable disease
in the near future ...”***

ECDC Director Marc Sprenger.



www.ecdc.europa.eu

**NAAT più “nuove” disponibili in commercio
CT/NG**



Cepheid GeneXpert® CT/NG : *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*



Diversi tipi di campione:
urina,
tamponi endocervicali,
tamponi uretrali

Analisi *on-board*

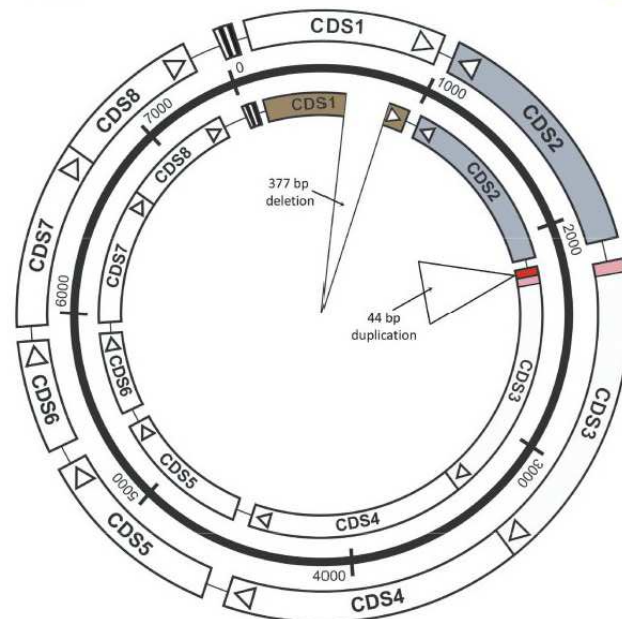
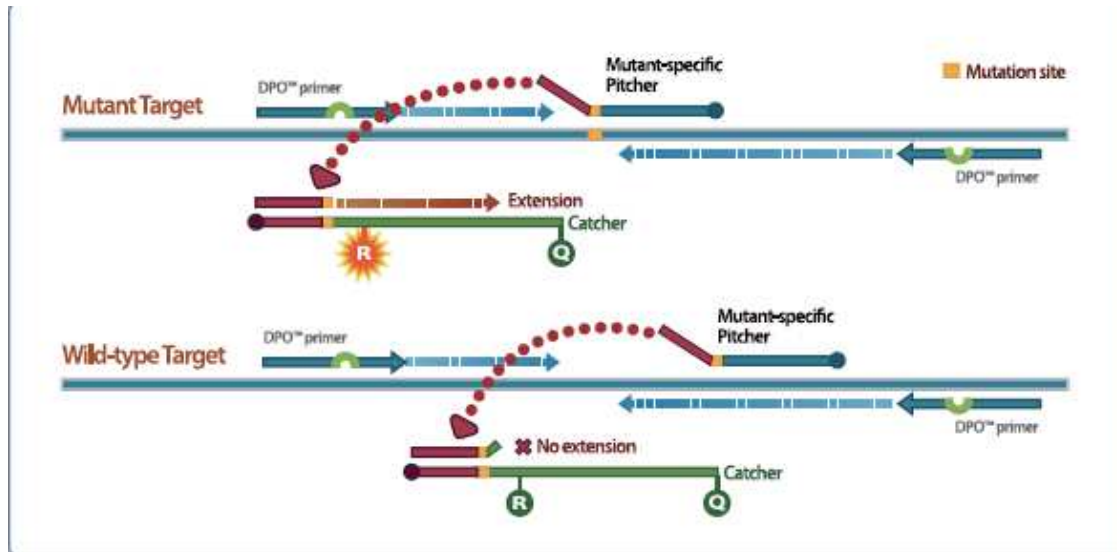
Tecnologia *random access*

Target: **DNA cromosomico**

Tre controlli interni: -un *Controllo Sample Processing (SPC)*, che monitora la procedura di estrazione e l'eventuale presenza di inibitori della reazione di PCR,
-un *Controllo di Adeguatezza del Campione (SAC)*, che verifica che il campione contenga cellule umane, rivelando la presenza anche di una sola coppia del gene umano
-e un *Controllo Sonda (PCC)*, che assicura la reidratazione dei reagenti, l'integrità della sonda e la stabilità dei fluorofori.

Il processo analitico consiste nelle seguenti fasi, tutte svolte automaticamente dallo strumento: purificazione del campione, amplificazione degli acidi nucleici contenuti utilizzando *real-time* PCR in microfluidica ed infine rilevamento delle sequenze bersaglio CT e/o NG tramite l'emissione di un segnale a fluorescenza.

Seegene Anyplex™ II STI-7 Detection Assay



PCR real-time multiplex
simultaneamente ricerca 7
agenti eziologici di
infezioni sessualmente
trasmesse (tempo di circa
tre ore e mezza)



[Target Pathogens]

◆ *Chlamydia trachomatis* (CT)

◆ *Neisseria gonorrhoeae* (NG)

◆ *Mycoplasma genitalium* (MG)

◆ *Mycoplasma hominis* (MH)

◆ *Trichomonas vaginalis* (TV)

◆ *Ureaplasma urealyticum* (UU)

◆ *Ureaplasma parvum* (UP)

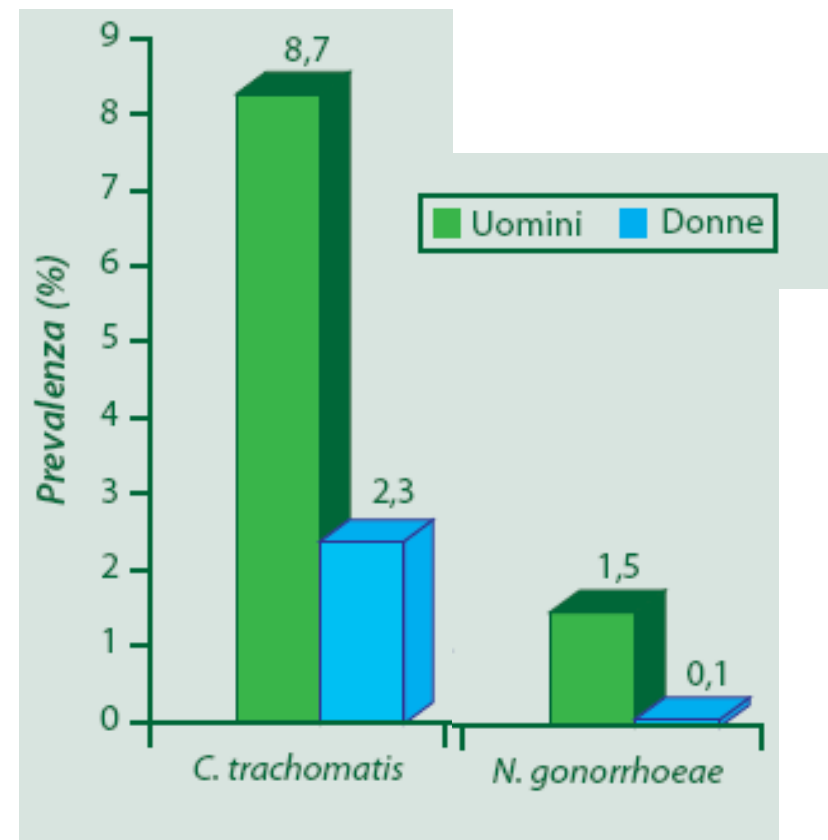


ITALIA

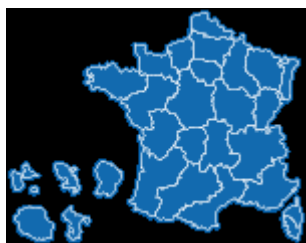


Non sono invece disponibili i dati sulla diffusione nazionale di altre IST che non sono a notifica obbligatoria, quali ad esempio l'infezione da *Chlamydia trachomatis*

In Italia, le informazioni disponibili sulla diffusione nazionale delle IST provengono dai dati riportati dal Ministero della Salute, che sono tuttavia limitati alle sole malattie a notifica obbligatoria, cioè sifilide e gonorrea, e condizionati dal problema della sottotifica



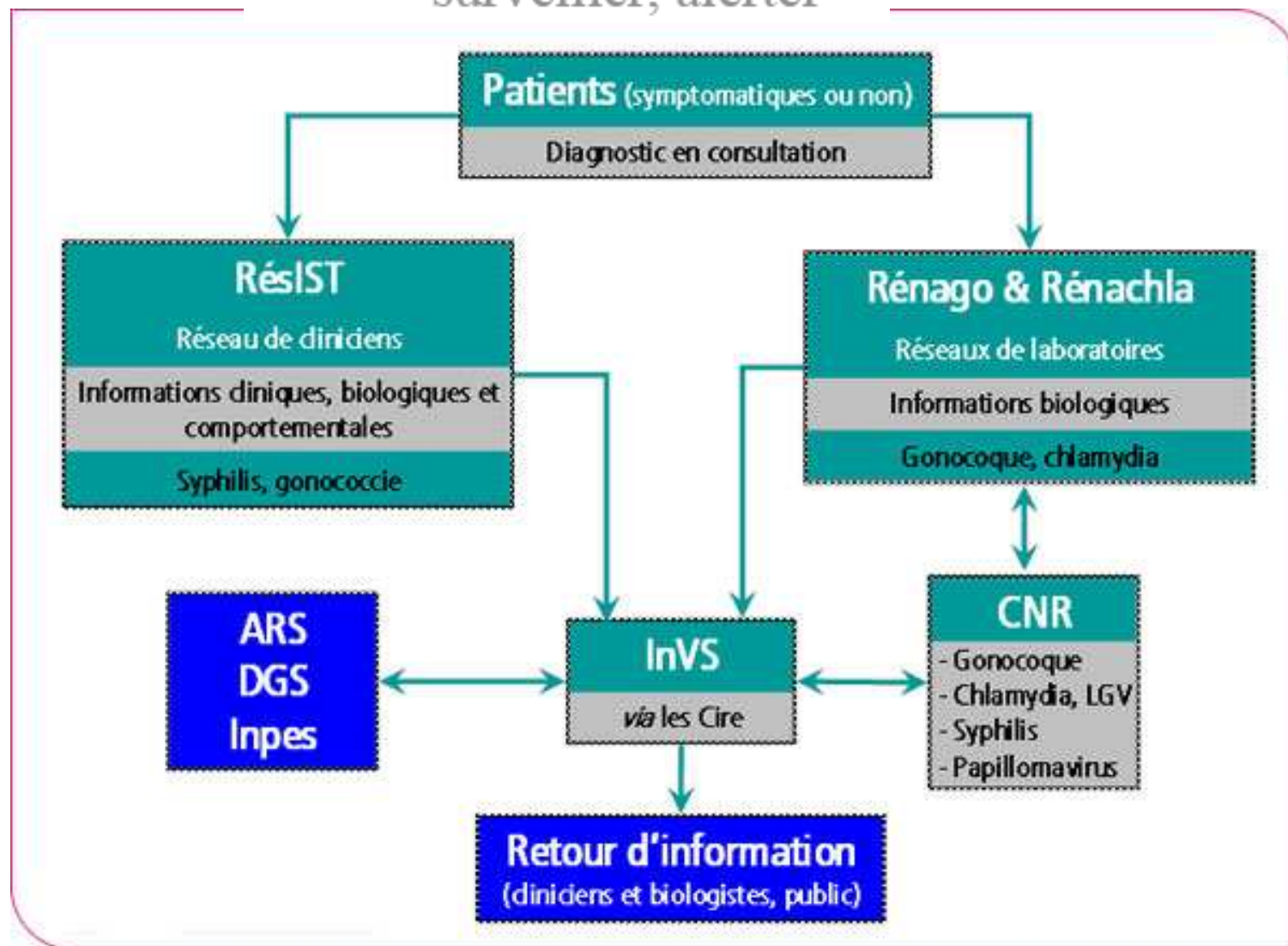
Prevalenza delle tre infezioni per sesso (Sorveglianza sentinella delle IST basata su laboratori, aprile 2009-agosto 2010)



“ observer,
surveiller, alerter ”



FRANCIA

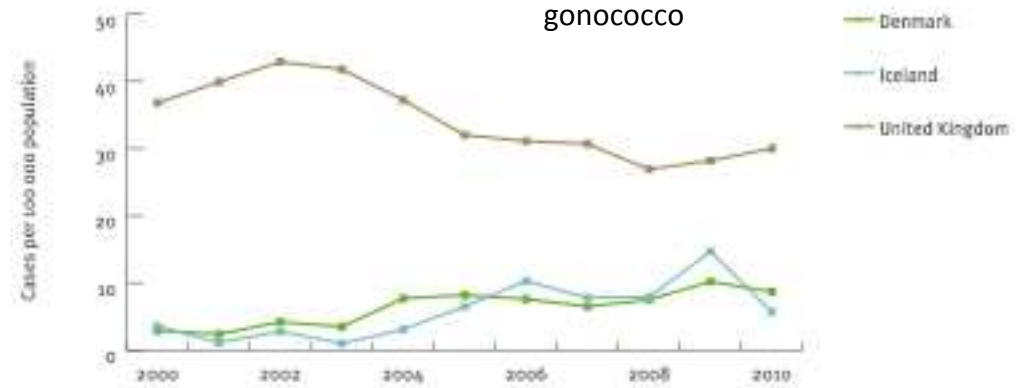
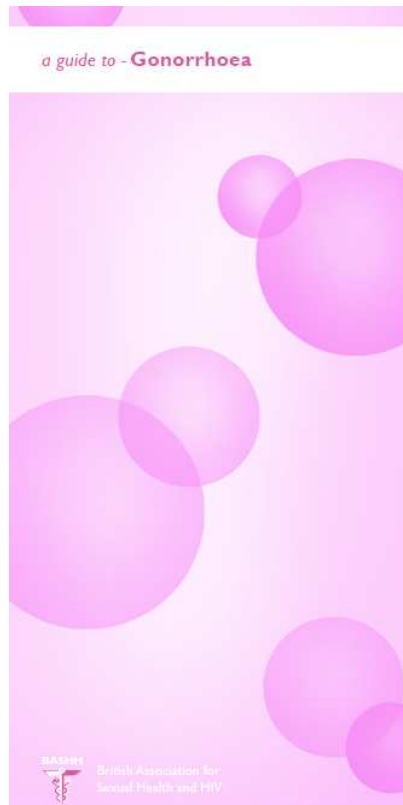
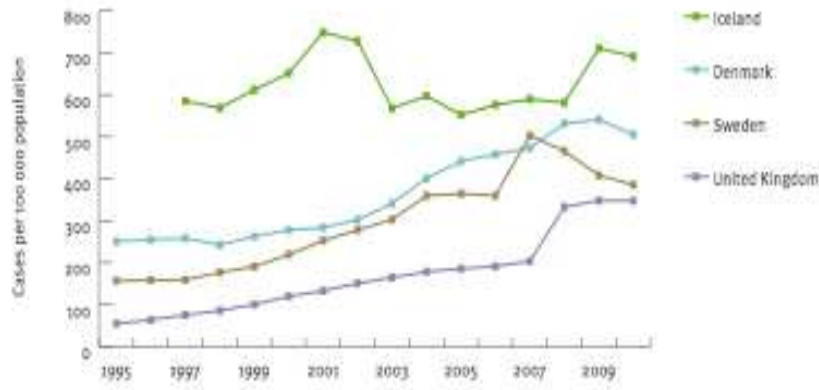


ARS : Agences régionales de santé
CNR : Centres nationaux de référence
DGS : Direction générale de la santé
Inpes : Institut national de prévention et d'éducation pour la santé

Chlamydia

INGHILTERRA e SCOZIA

Sexual Health Helpline
0800 567 123



La UK Royal College of Obstetrics and Gynaecology ha prodotto un depliant d'informazione per la paziente disponibile sul sito

<http://www.rcog.org.uk>



SCANDINAVIA



National guidelines *Chlamydia* testing:

DANIMARCA Test in donne asintomatiche con frequenti cambi di partner

NORVEGIA Test in gravidanza

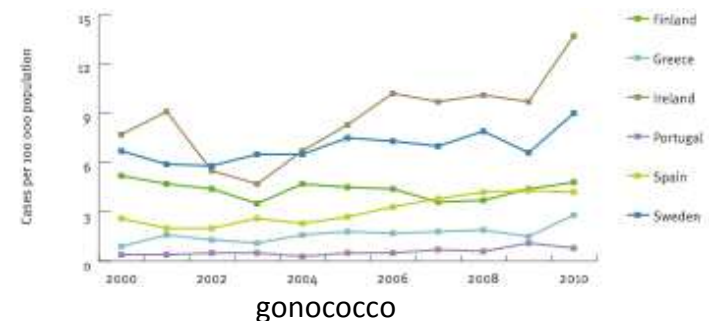
SVEZIA Test in asintomatici

TECHNICAL REPORT

REVIEW OF CHLAMYDIA CONTROL ACTIVITIES IN EU COUNTRIES

Stockholm, May 2008

Sorveglianza infezione gonococcica



In conclusione

Il numero di segnalazioni IST in Europa mostra tendenze divergenti.

Ogni IST sembra incidere su distinte sottopopolazioni a rischio (-età < 25 anni,-rapporti sessuali con più di un partner/nuovi partner,-mancato uso di contraccettivi di barriera).



Chlamydia è la IST più diffusa, con alti tassi nella parte occidentale e settentrionale dell'UE e tendenza in aumento. *N.gonorrhea* mostra diverse tendenze nei vari paesi che riflettono diverse popolazioni a rischio e in lieve flessione.

La sorveglianza in Europa è essenziale per fornire le informazioni necessarie a controllare la distribuzione di malattia e la trasmissione di infezioni e le eventuali conseguenze.



PRACTICING SAFE SEX NOW, PROTECTS YOUR ABILITY TO HAVE CHILDREN LATER.

Sexually transmitted infections (STIs) are a leading cause of infertility and often have no symptoms. Behaviors you engage in before you are ready to have children can impact your future ability to conceive. STIs can cause infertility in men and women.

GET THE FACTS WWW.PROTECTYOURFERTILITY.ORG 1-866-228-6906

AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE The space for this public service message is provided by 

SITI WEB

www.eurosurveillance.org

www.who.int/std_diagnostics

www.cdc.gov/STD

www.sign.ac.uk/guidelines

www.essti.org

www.hpa.org.uk/

<http://www.iusti.org/>



Fact sheet



Gonorrhoea

www.betterhealth.vic.gov.au

What's New?



LINEE GUIDA

L.G. Ecdc 2009

Scottish Guidelines Network 2009

L.G. Preventive Services Task Force 2007

L.G. CDC 2006

Eurosurv 17/29 - Luglio 2012

Canadian L.G.