

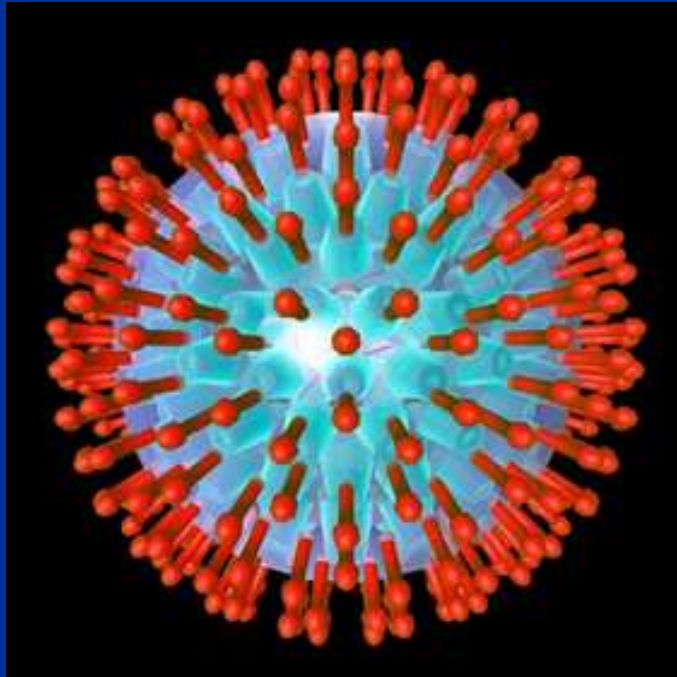
LE INFEZIONI VIRALI: HSV E HPV

Mario Rassa
U.O di Microbiologia e Virologia
Ospedale San Bortolo Vicenza

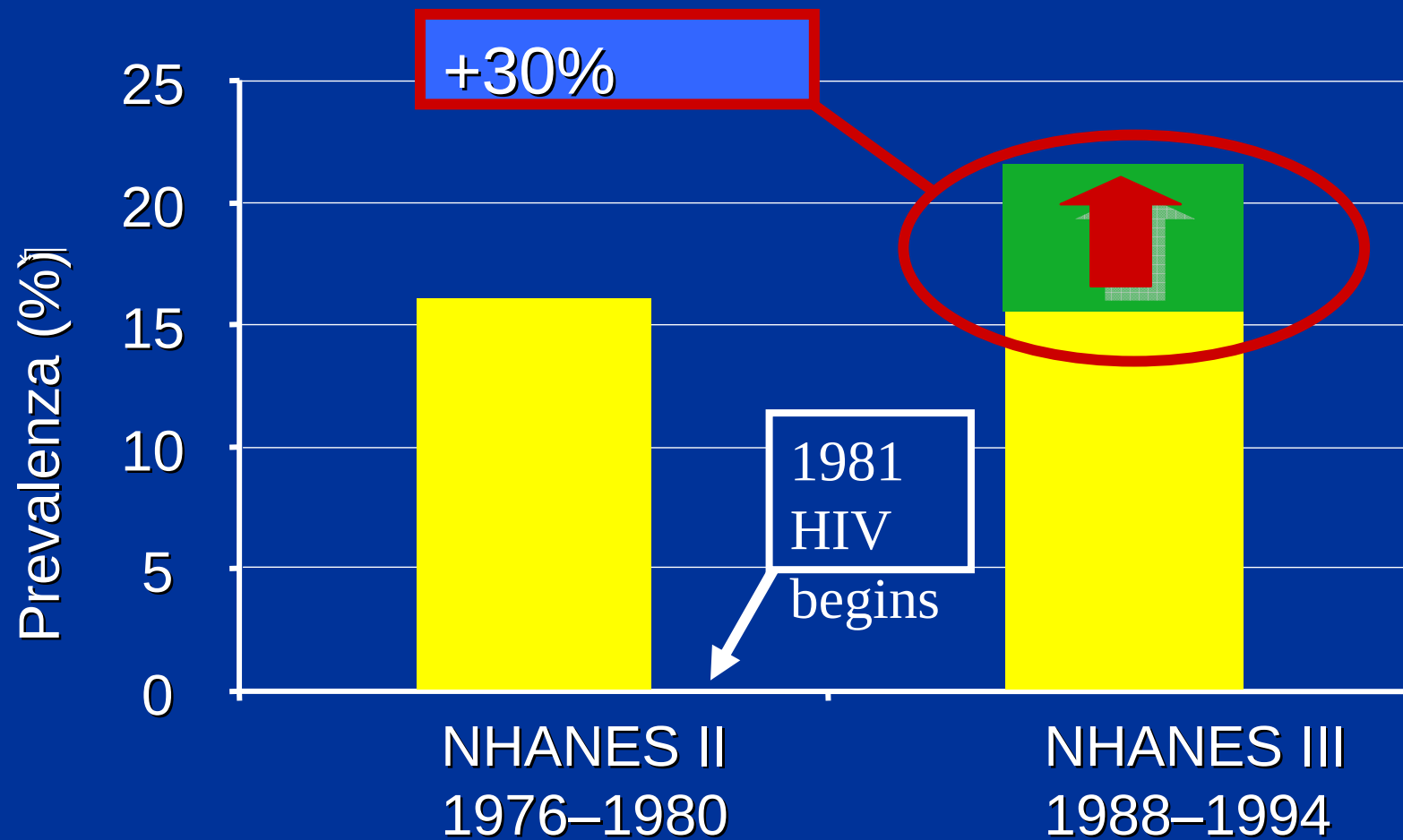


Trento 25gennaio 2013

HSV



Sieroprevalenza di HSV2



Herpes genitale (HSV 2-1)

- L'infezione in circa il 50% dei casi può essere asintomatica. Tuttavia si associa alla trasmissione con i rapporti sessuali e alla trasmissione materno-infantile .

Estimated Number of Pregnant Women with STD each year in USA

• <u>Herpes simplex virus 2</u>	880,000
• <u>Chlamydia</u>	100,000
• <u>Trichomoniasis</u>	124,000
• <u>Gonorrhea</u>	13,200
• <u>Hepatitis B</u>	16,000
• <u>HIV</u>	6,400
• <u>Syphilis</u>	<1 ,000
• <u>Bacterial vaginosis</u>	1,080,000 (**)

Anticorpi anti-HSV-2

- In Italia, Cusini et al. (Sex.Trans.Dis. 2000), mostra, con metodo EIA, una prevalenza del 24.6%, senza differenza tra maschi e femmine.

WWW.IHMF.ORG

Identificazione di HSV1/2 prima infez

HSV2

- Acquisiz con rapporti sess genitali
- Recidive più frequenti 4/anno
- 90% dei pazienti recidiva entro I°anno

HSV1

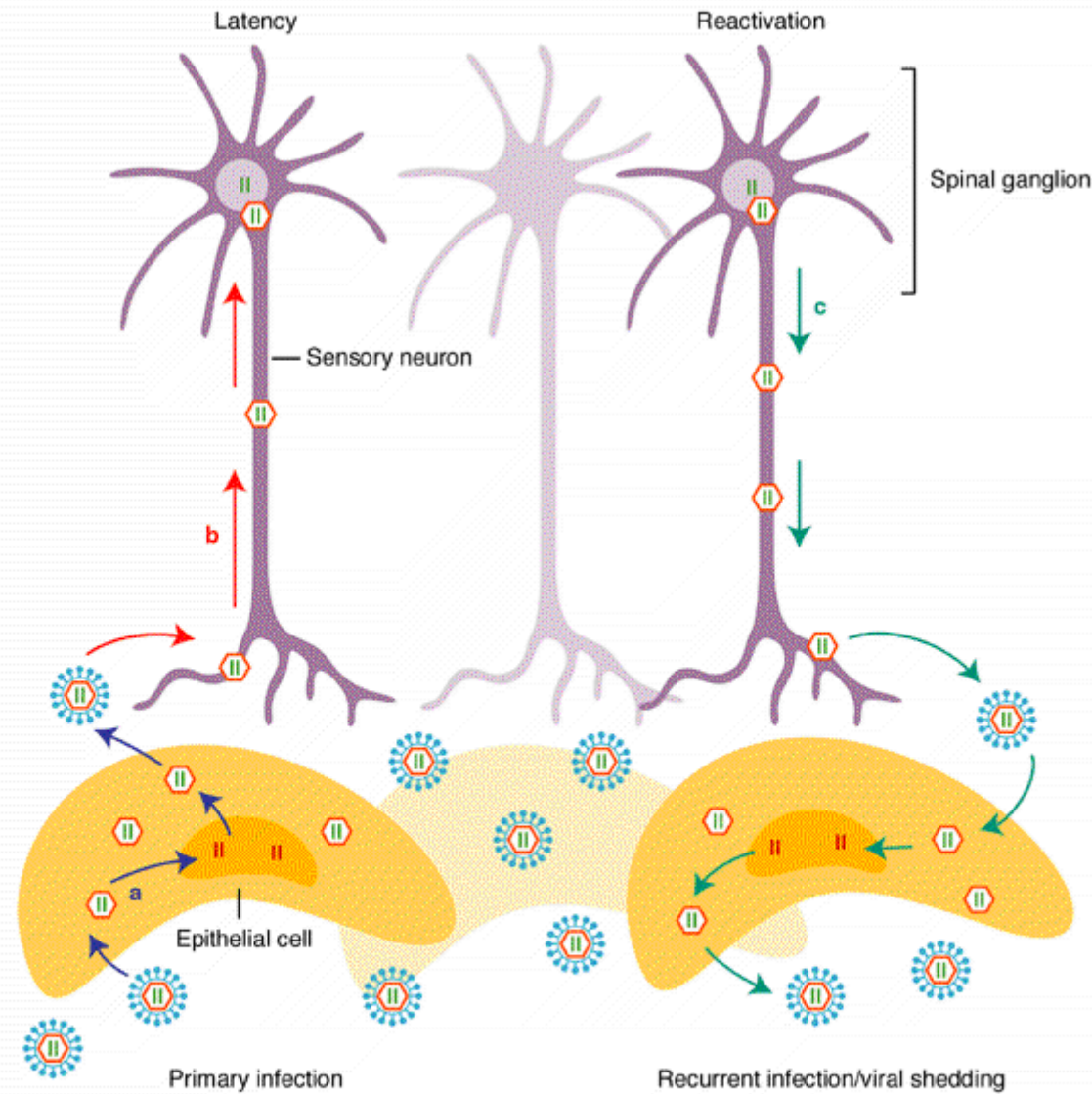
- Acquisiz attraverso sesso orale o genitale
- Recidive meno freq, 1 per anno
- 20/50% dei paz. Una recidiva entro I° anno

HSV asintomatico

- Un aspetto importante è che molti pazienti infetti risultano asintomatici e tuttavia presentano uno shedding virale a livello uro-genitale.
- .
- Nell'Herpes genitale, HSV-1 è responsabile del 10-40% dei casi.

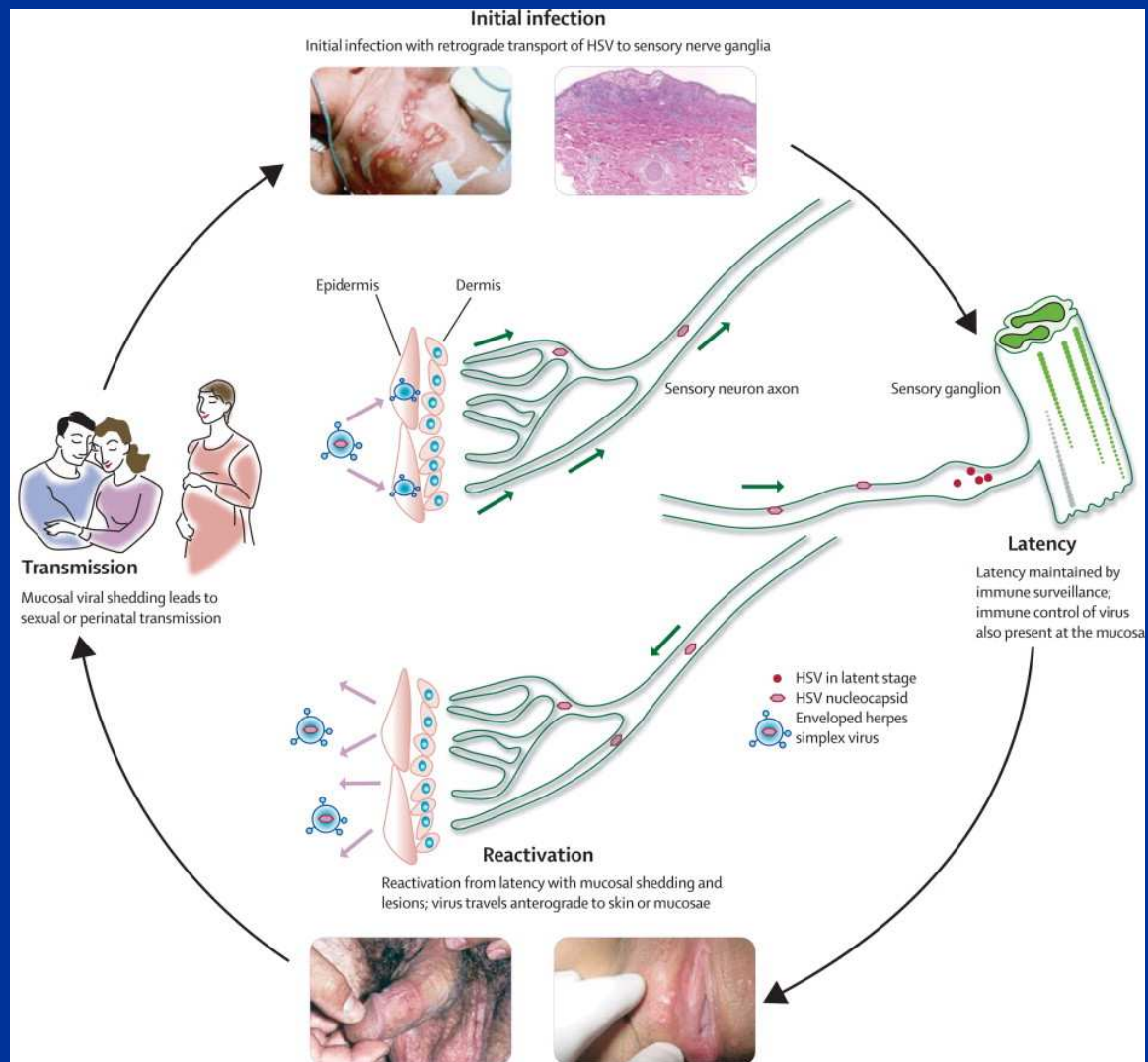
Trasmissione di HSV 2

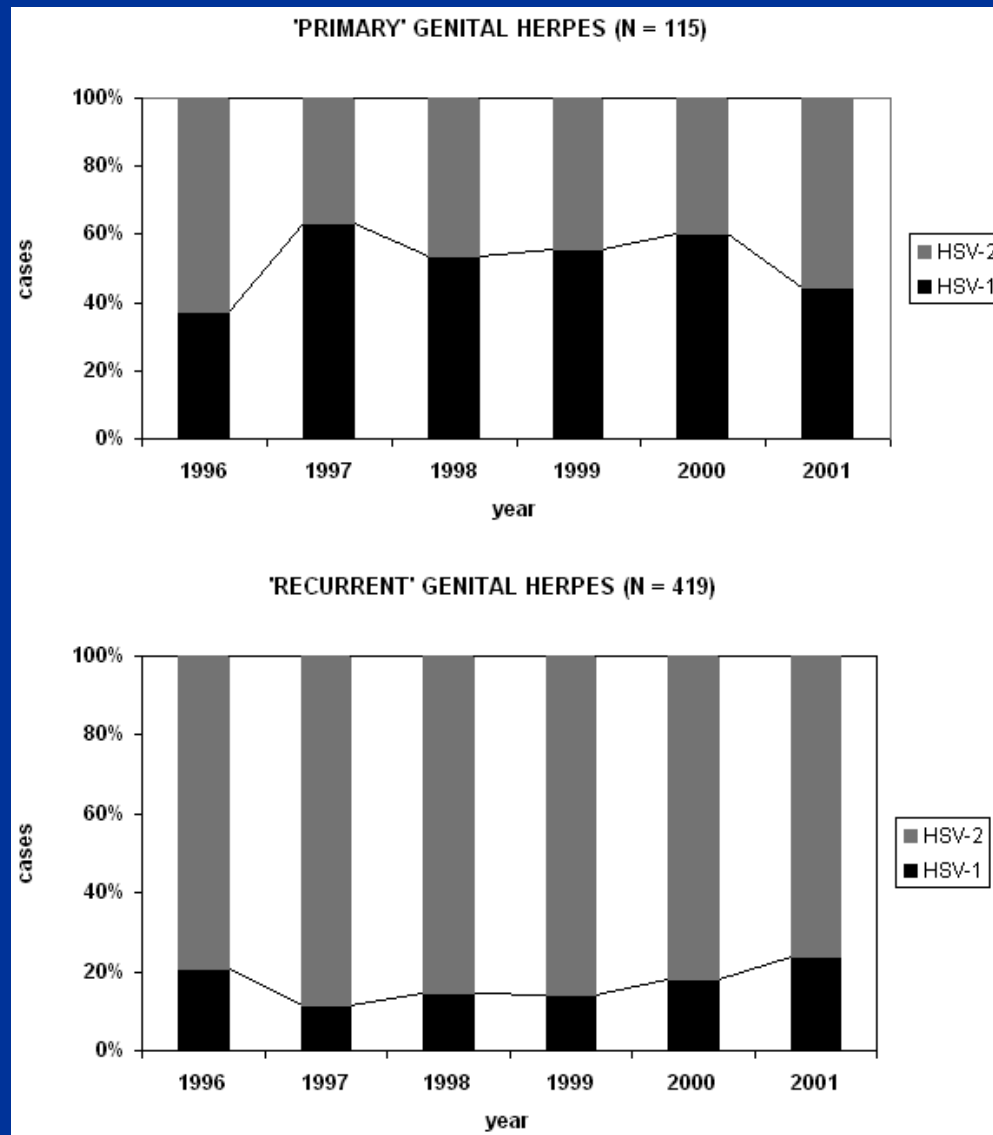
Il rischio di trasmissione di HSV 2 è maggiore
nella infezione primaria rispetto alla riattivazione



The herpes simplex virus life cycle

Expert Reviews in Molecular Medicine © 2003 Cambridge University Press





Importance of Herpes Simplex Virus Type-1 (HSV-1) in Primary Genital Herpes

Rutger F. Nieuwenhuis¹, Gerard J. J. van Doornum², Paul G. H. Mulder³, H. A. Martino Neumann¹ and Willem I. van der Meijden¹

Departments of 1Dermatology and Venereology, 2Virology and 3Epidemiology and Biostatistics, Erasmus MC, University Medical Center, Rotterdam, The Nether

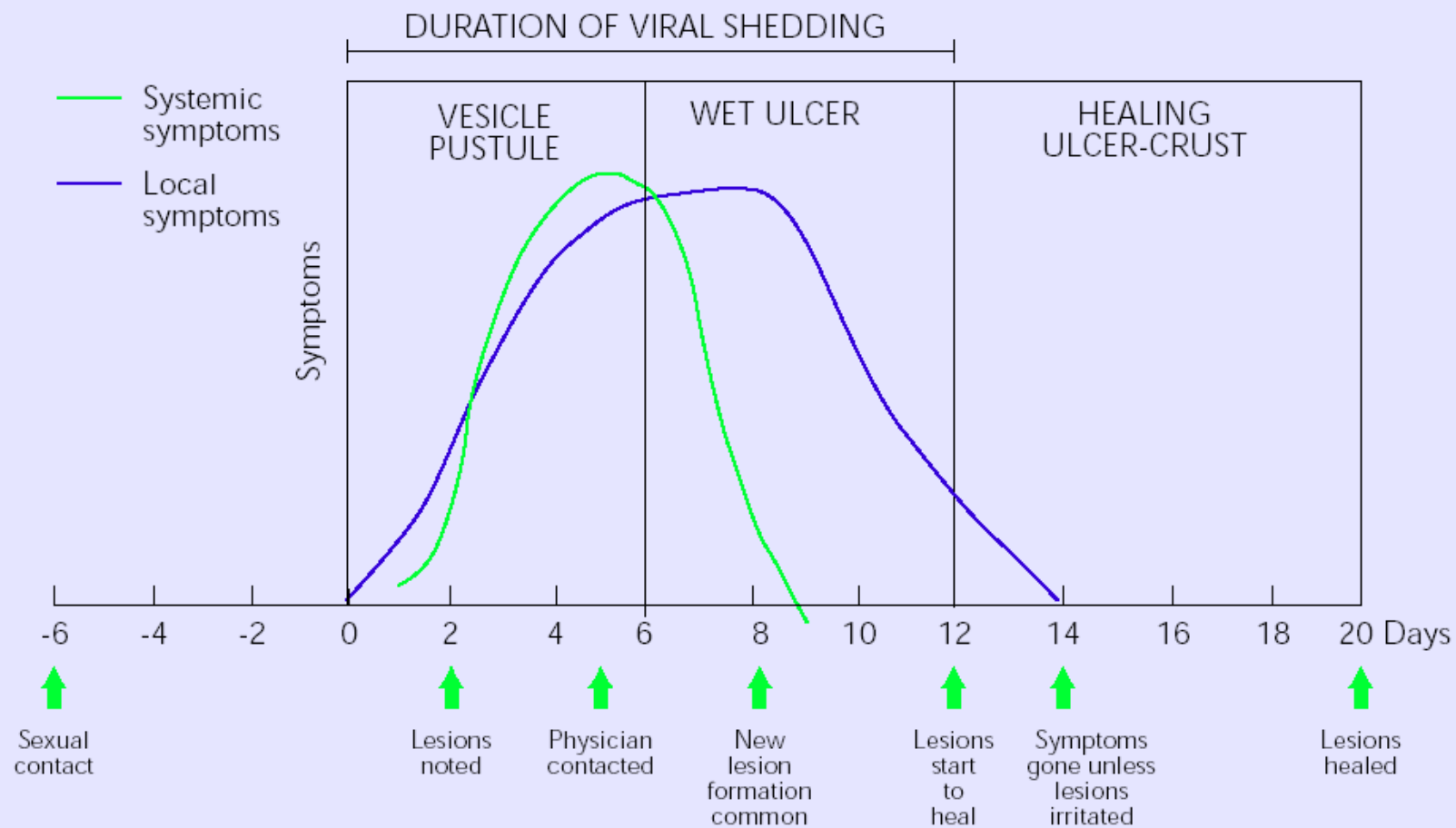


Figure 2: The clinical course of primary genital HSV infection¹

Diagnosi di herpes genitale

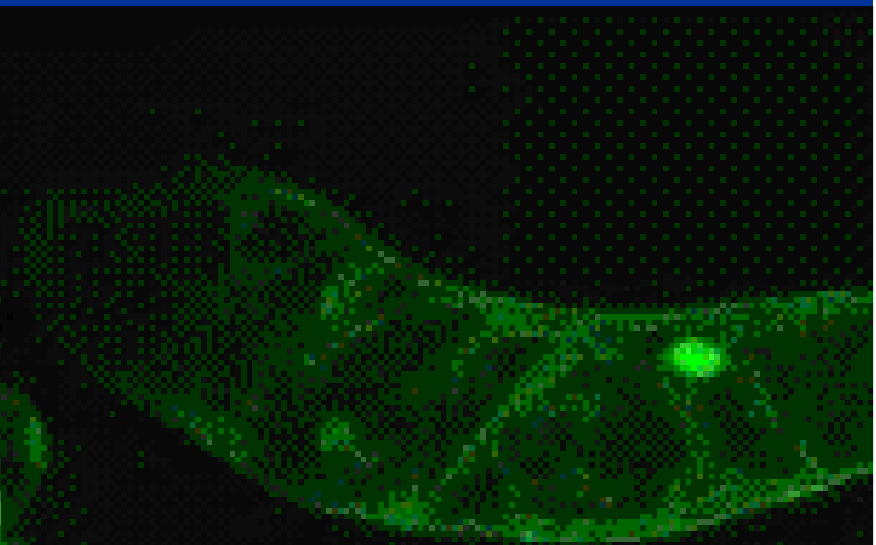
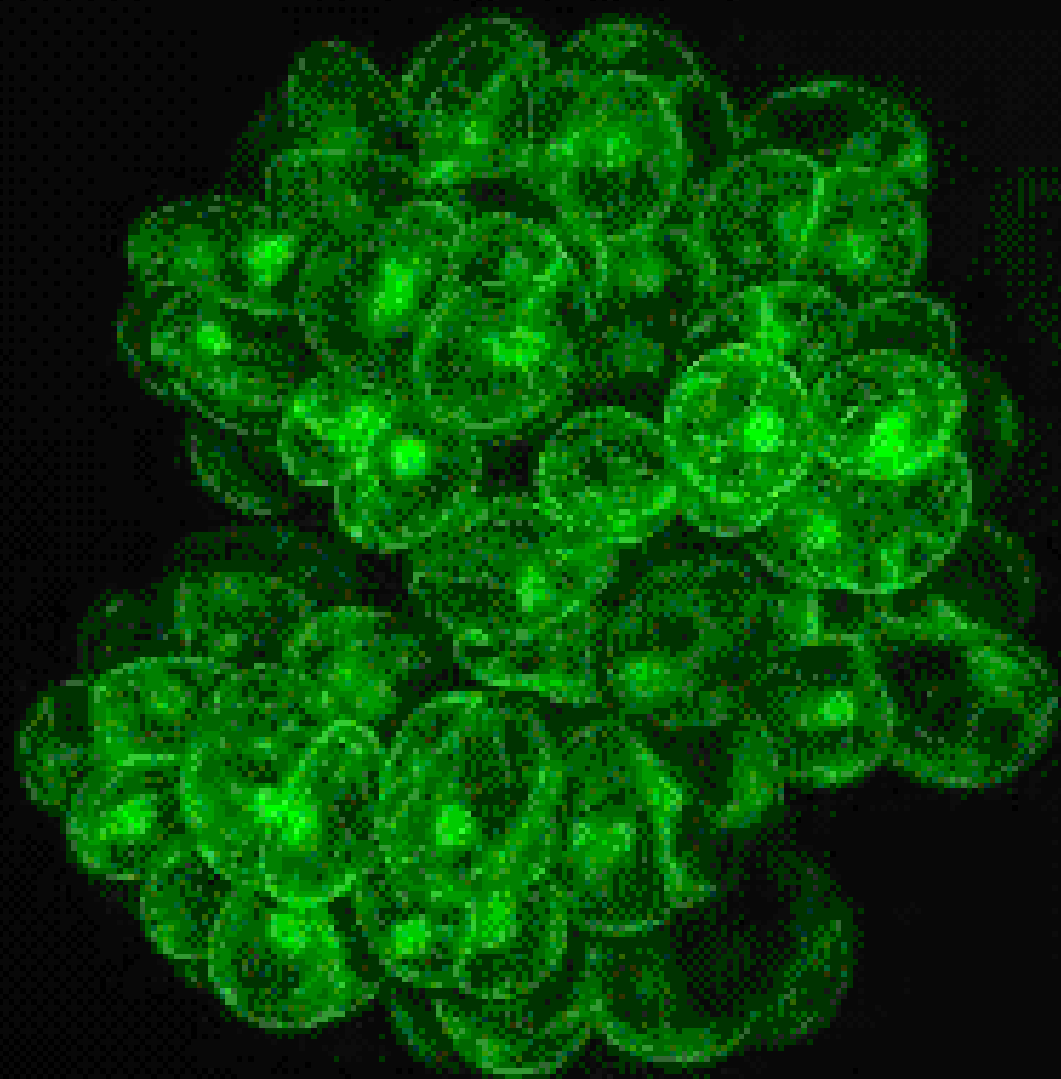
☐ Storia clinica

☐ Esame obiettivo

Laboratorio

- Es diretto :IF/coltura/PCR
- Sierologia Tipo specifica (IgG)
- Sensibilità 97/100% specificità 94/98%





60% Unrecognized symptomatic

Fissurazioni
Lesioni perianali
Dolore urinario
Perdite vaginali /uretrali
Dolore radicolare
Cistite
Candidiasi
Lesioni interne

20% Asymptomatic

20% Recognized symptomatic

Figure 8: Manifestations of disease among individuals infected with HSV-2²

Genital Herpes Simplex Virus Ulcerations (Arrows)



Kimberlin, D. W. et al. N Engl J Med 2004;350:1970-1977



The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

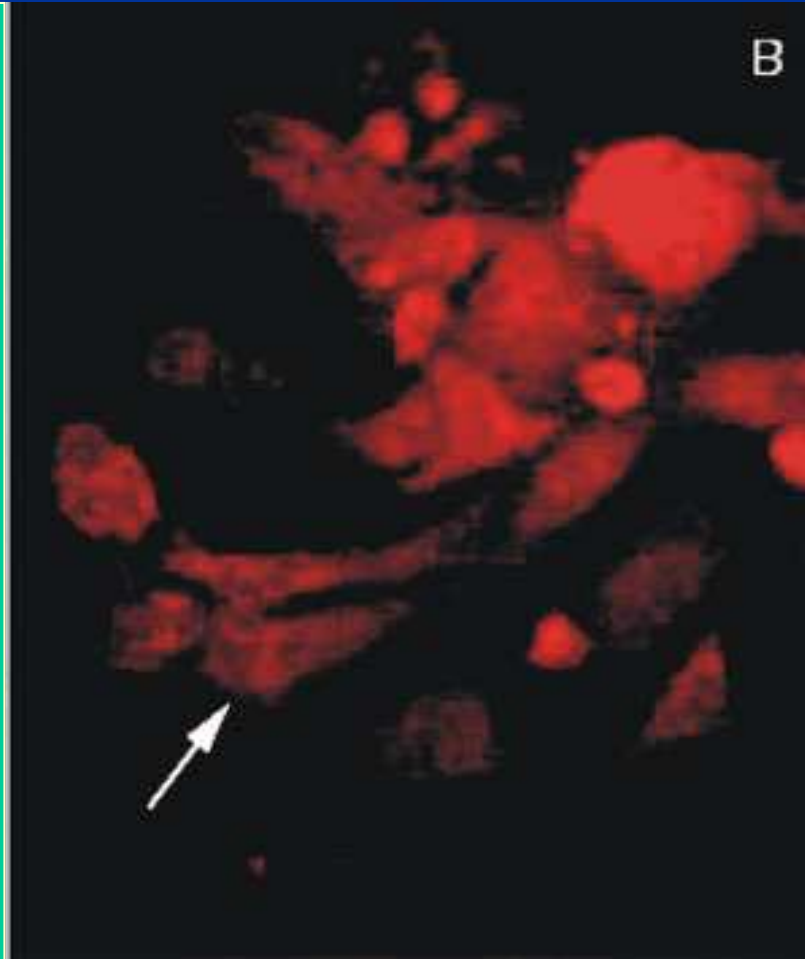


QUADRO CLINICO HSV

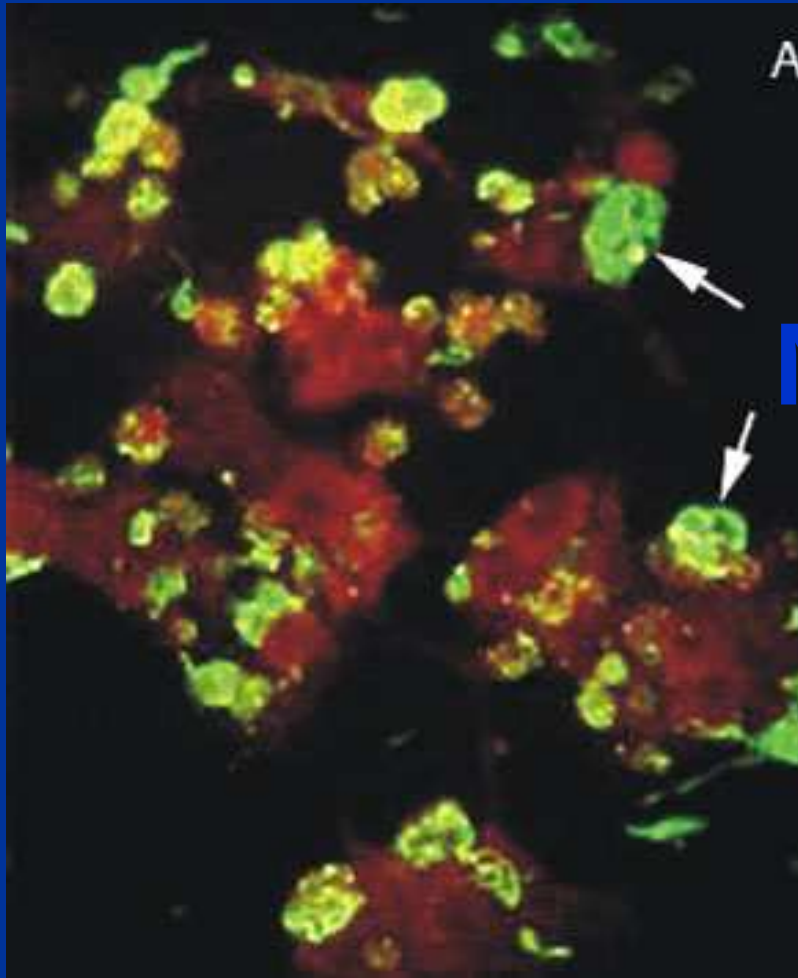
- Presenza di vescicole, ulcere, dolore, disuria, fino alla ritenzione urinaria.
- Le recidive di herpes tipo 2 sono molto frequenti (16 volte più frequenti rispetto ad herpes tipo 1).

IF diretta

Gentalyn
Acyclovir
aureomicina



IF diretta

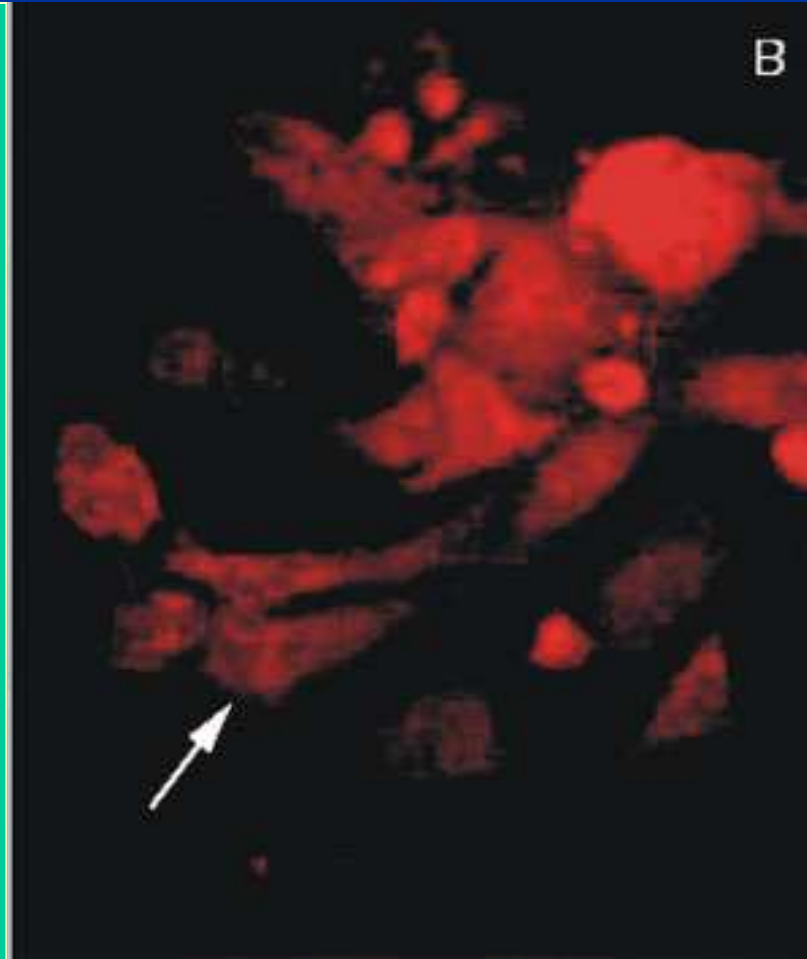
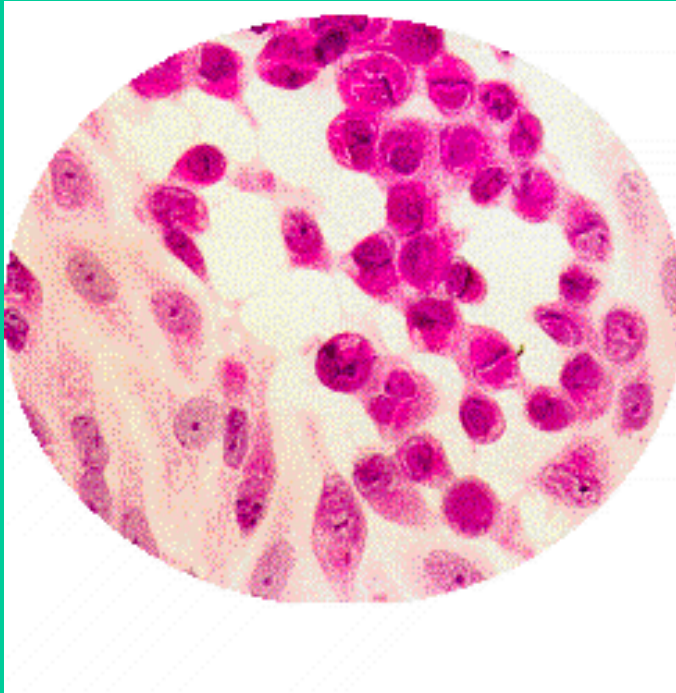


Nessuna crema
Nessun
farmaco topico

HSV 1-2

- IF
- COLTURA (CELL VERO)

Mediamente 2/3gg



Trasporto dei campioni



4 °C

DIAGNOSI

- COLTURA VIRALE (fino a 10gg)
- IFA (IMMUNOFLUORESCENZA DIRETTA) 1 h
- EIA
- PCR

SENSIBILITA' DEI VARI TEST

PCR>COLTURA>EIA>IFA

Laboratory analysis: Patient with lesions

Test	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Comments
Viral culture	60–85	100	False positives are rare False negatives occur more frequently Temperature sensitive
Nucleic acid amplification technique	>95	>99	Very useful and reliable Not readily accessible
Immunofluoresence	50–90	«95	Only if other tests are unavailable Large quantities of virus required False negatives are frequent
Cytology: Tzanck test	40–60	100 for herpesvirus group	Only if other tests are unavailable

Laboratory analysis: Patient without lesions

Test	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Comments
Serology: Western blot	>99	>99	To confirm infection and viral typing (HSV-1 or HSV-2)
Serology: ELISA (Focus)	96-100	97-98	To confirm infection and viral typing (HSV-1 or HSV-2)
Serology: POCKit* N/A	96	98	Fast and convenient Only detects HSV-2

Ashley RL. *Sex Transm Inf* 2001;**77**:232-237

Ashley RL, et al. *Sex Transm Dis* 2000;**27**(5):266-269

SHEDDING ASINTOMATICO

- E' LA PRESENZA DI HSV A LIVELLO DELLE MUCOSE
 - L'IMPIEGO DELLA PCR HA DIMOSTRATO L'IMPORTANZA DELLO SHEDDING NELLA TRASMISSIONE DELL'HERPES GENITALE.
-
- ❖ PER RIATTIVAZIONE(CERVICE UTERINA)
 - ❖ PER PRESENZA DI LESIONI ULCERATIVE (VULVARI-PENIENE)

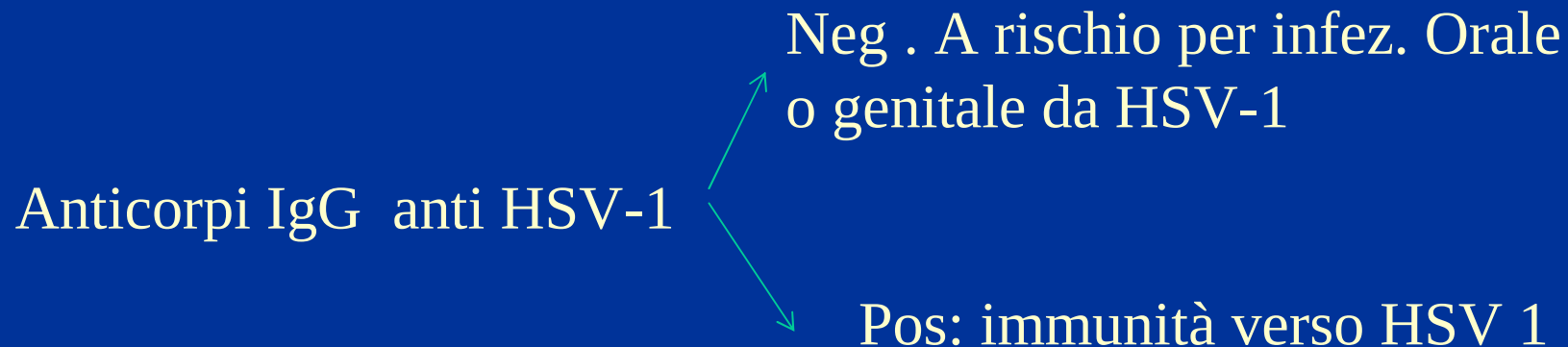
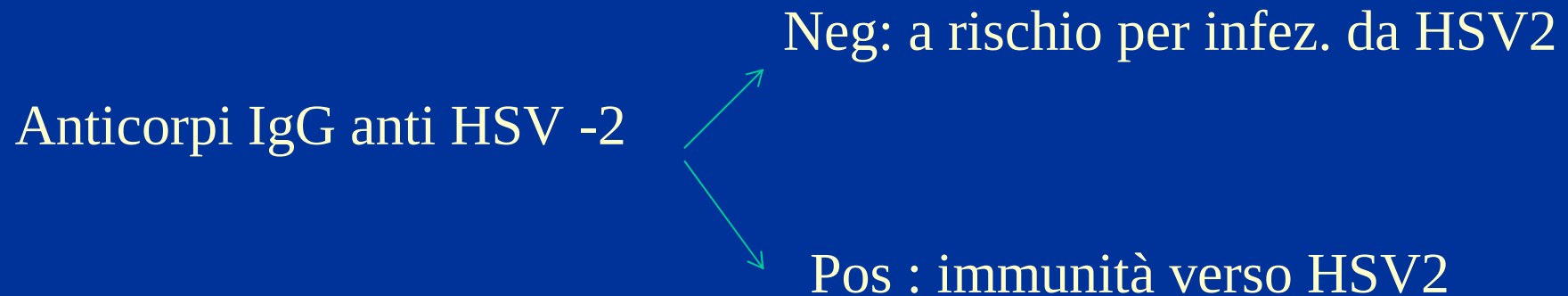
FATTORI CHE FAVORISCONO LA DIFFUSIONE DEL VIRUS

- HSV DA INFEZIONI LATENTI CHE POSSONO RIATTIVARSI
- NON ESISTE UN TRATTAMENTO CHE ERADICHI L'INFEZIONE
- SHEDDING VIRALE ASINTOMATICO

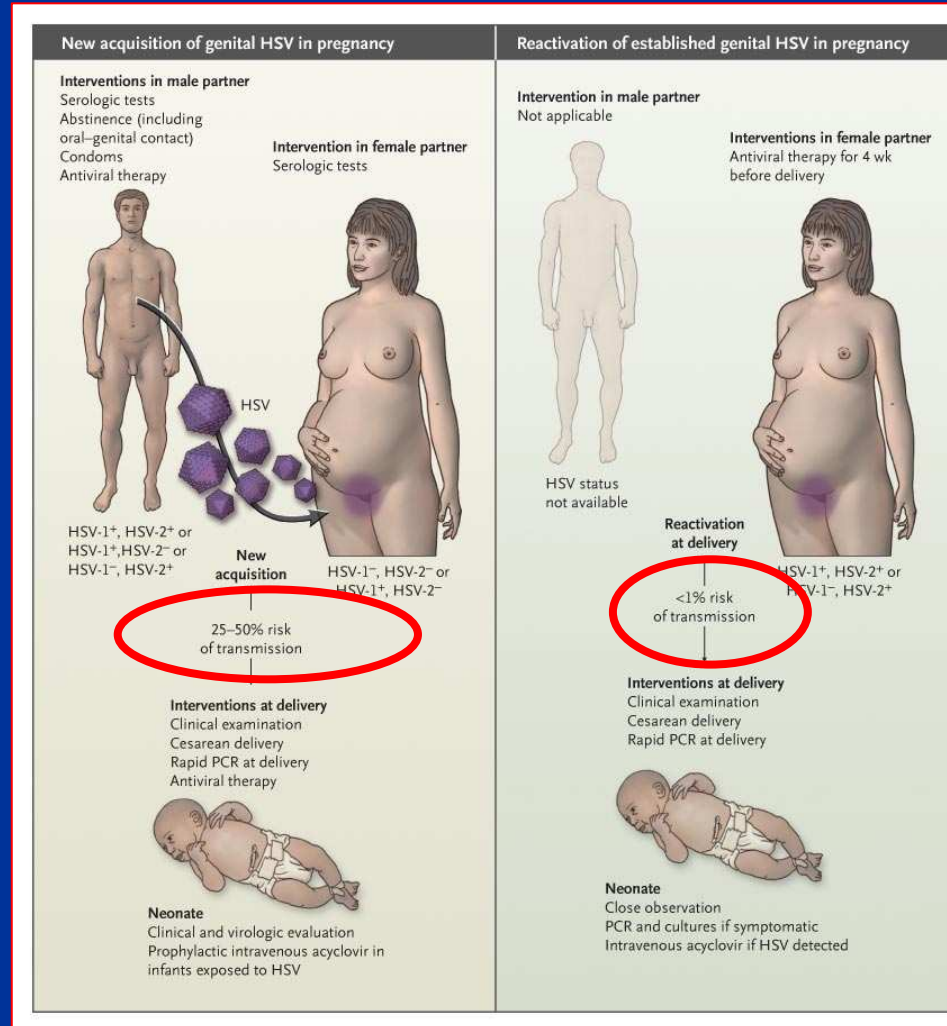
anticorpi

- HSV 1
- HSV 2
- Ricerca IgG anti hsv totali
- Se positiva ricerca ac specifici

interpretazione



Pathogenesis of Neonatal Herpes Simplex Virus (HSV) Infection



Corey L and Wald A. N Engl J Med 2009;361:1376-1385



The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

trattamento

- Prevezione delle complicanze
- Riduzione dei sintomi
- Guarigione rapida delle lesioni

Prevenzione di nuove lesioni

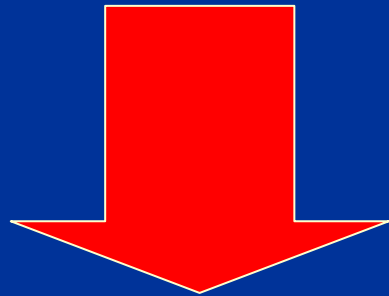
Riduzione dello shedding virale

Prevenzione della trasmissione dell'infez.

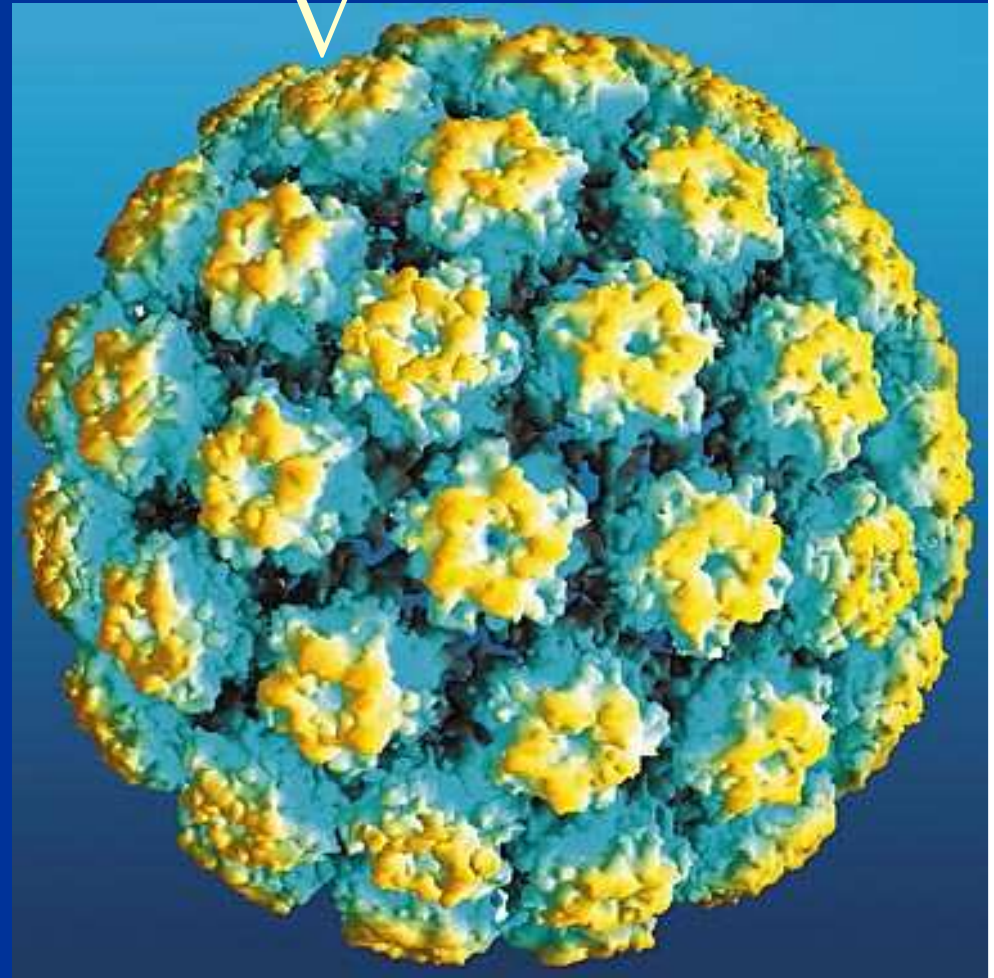
- I° episodio di herpes genitale

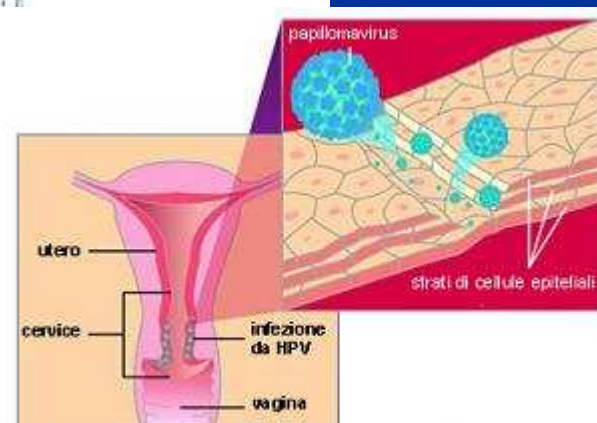
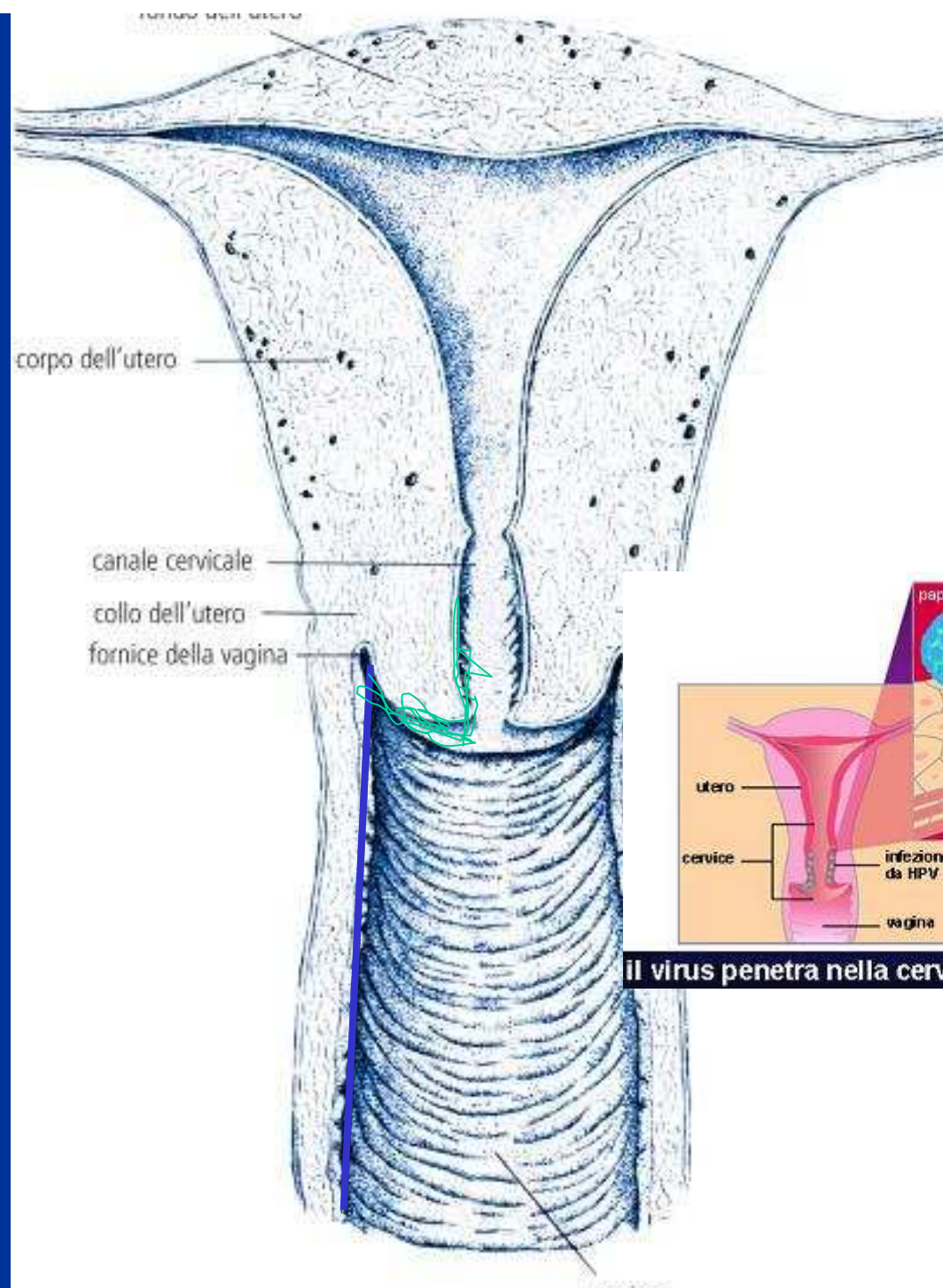
- Herpes genitale ricorrente

Cellule epitelio



HP
V

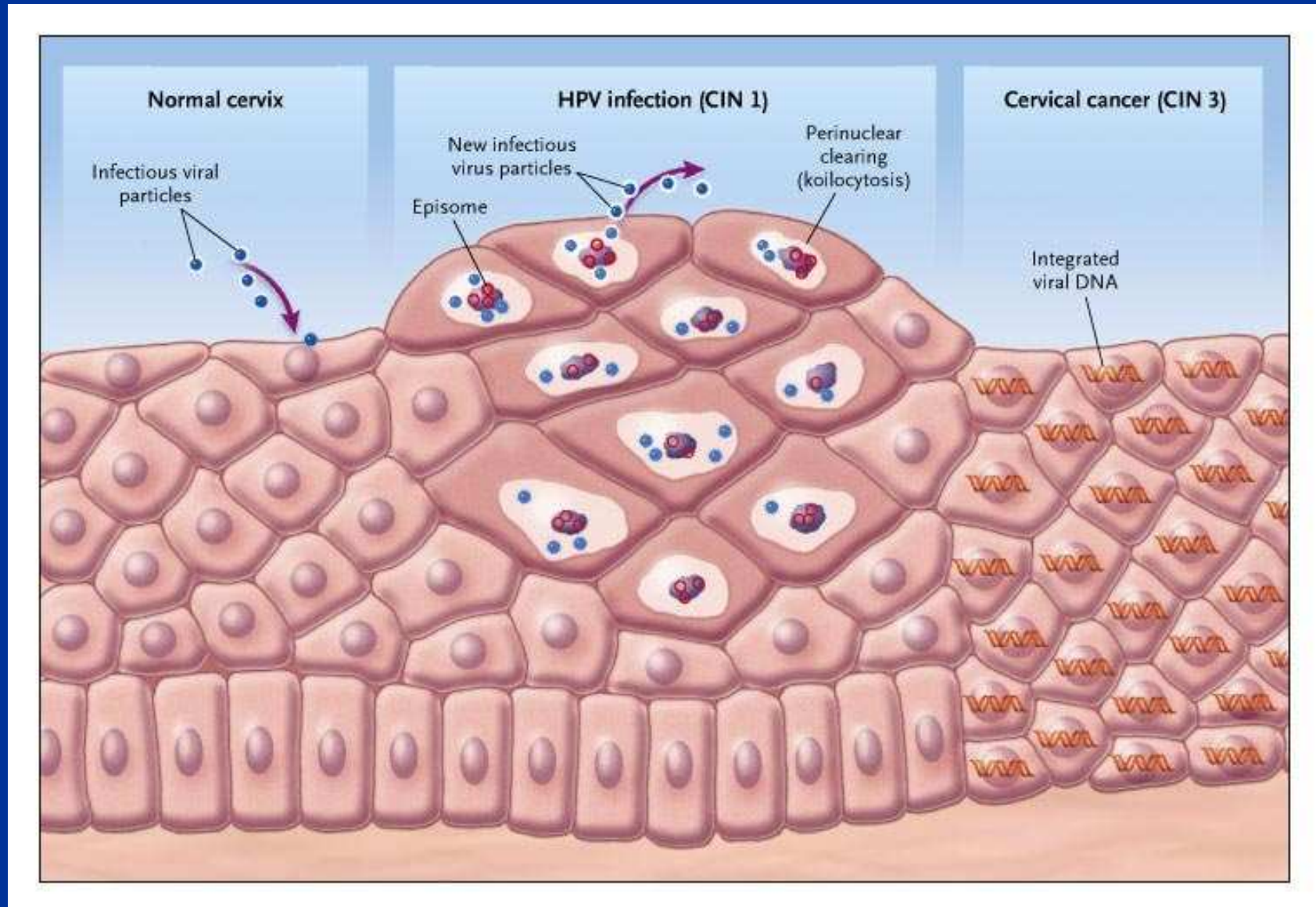




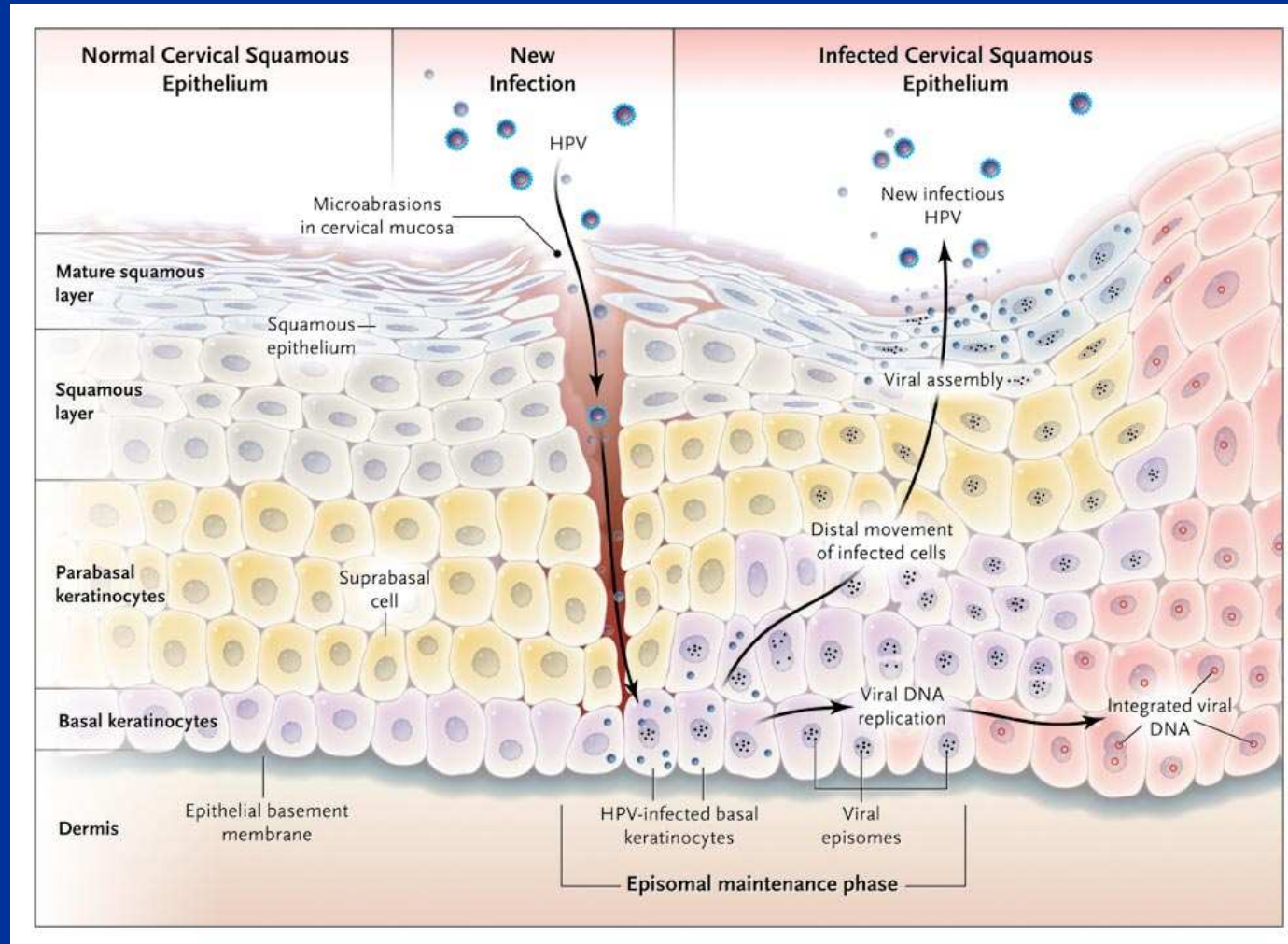
il virus penetra nella cervice uterina

NATIONAL CANCER INSTITUTE

Spectrum of Changes in Cervical Squamous Epithelium Caused by Human Papillomavirus (HPV) Infection



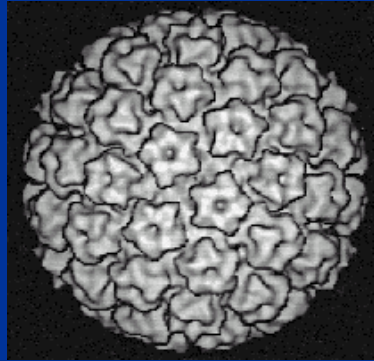
Human Papillomavirus Life Cycle in the Squamous Epithelium



Kahn J. N Engl J Med 2009;361:271-278

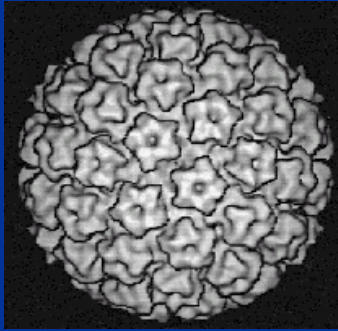


The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE



HPV

- Più di 120 sottotipi, indicati con un numero
- Alcuni a tropismo animale, la maggior parte a tropismo umano
- ~ 40 tipi con tropismo ano-genitale
- ~ 75% della popolazione entra in contatto con uno o più HPV nel corso della vita



HPV

Si suddividono, in base ai siti del DNA a cui sono affini, e quindi alle modificazioni che provocano, in :

- **“a basso rischio”,** che danno luogo a manifestazioni cliniche, come i condilomi genitali, le verruche, la papillomatosi laringea, ecc.
- **“ad alto rischio”,** che danno luogo a manifestazioni subcliniche e sono implicati nella carcinogenesi dei tumori del collo dell’utero e di altre mucose

POSITIVITA' PER HPV IN CARCINOMI UMANI ANOGENITALI E NON-ANOGENITALI

Sede	Tipo di HPV associato	Percentuale HPV-positivi
Cervice	16, 18, 31, 33, 35, 39...	~100%
Vulva		
basaloide, "warty"	16, 18	>50%
cheratinizzante	16	<10%
Pene		
basaloide, "warty"	16, 18	>50%
cheratinizzante	16	<10%
Vagina	16, 18	~40%
Ano	16, 18	~90%
Cavità orale e tonsille	16, 18, 33	~25%
Letto ungueale	16	~70%

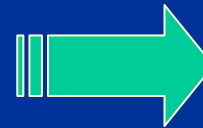
HPV

- Genotipi cutanei



Verruche

- Genotipi mucosotropici



Alto rischio

Basso rischio

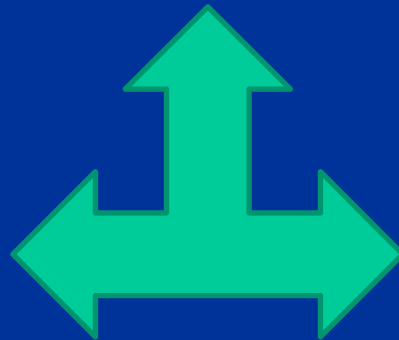
DIAGNOSI DI HPV

- Ginecologo
- Pap test
- DNA TEST

PAP
TEST

Positivo

Negativo



DNA TEST(PCR)

NEGATIVO



POSITIVO



viremia

- Nella infezione naturale il virus non dà viremia (non va nel sangue) e quindi non vengono prodotti livelli sufficienti di anticorpi neutralizzanti protettivi

HR HPV clearance in 12-18 mesi

LR HPV clearance in 4-9 mesi

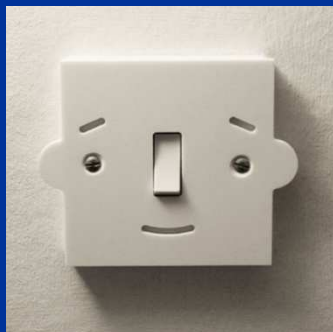
Anticorpi neutralizzanti

80/90%
DNA –
**Remissione
clinica**

Risposta immune

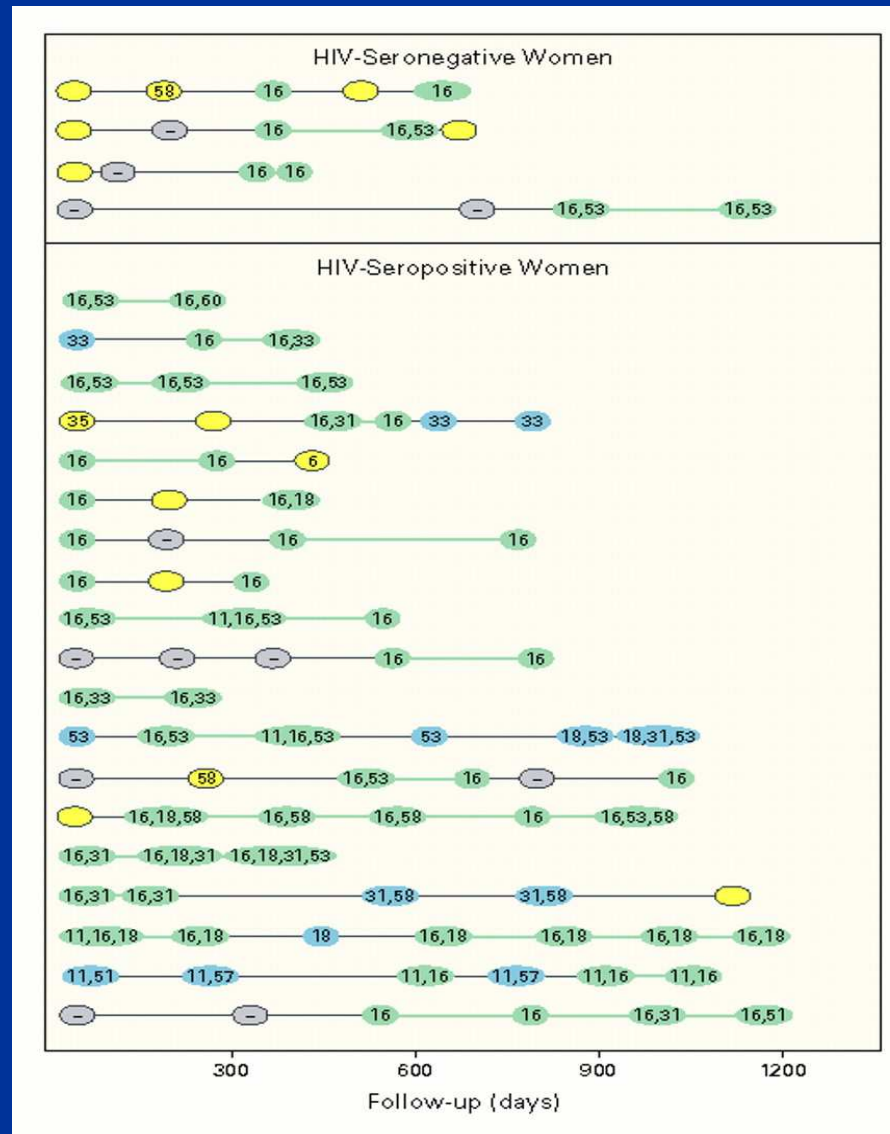
10/20% → CIN 2/3
DNA+

Persistenza Virale



CD4

Patterns of HPV Detection in Women with Persistent HPV-16 Infections



Classificazione non esaustiva

- Altri HPV si possono trovare nelle lesioni precancerose
- Genotipi a basso rischio possono essere identificati nei carcinomi della cervice uterina ma non sono la causa del tumore

- La presenza di HPV a livello cervicale è **asintomatica.**

La storia naturale dell'HPV

- ✓ La maggior parte delle infezioni sono transitorie e asintomatiche
- ✓ Il 70 -90% si risolve in uno-due anni
- ✓ L'HPV 16 persiste con più frequenza rispetto agli altri tipi
- ✓ L'HPV 18 sembra responsabile di un rapido viraggio verso la malignità

Fattori associati alla persistenza

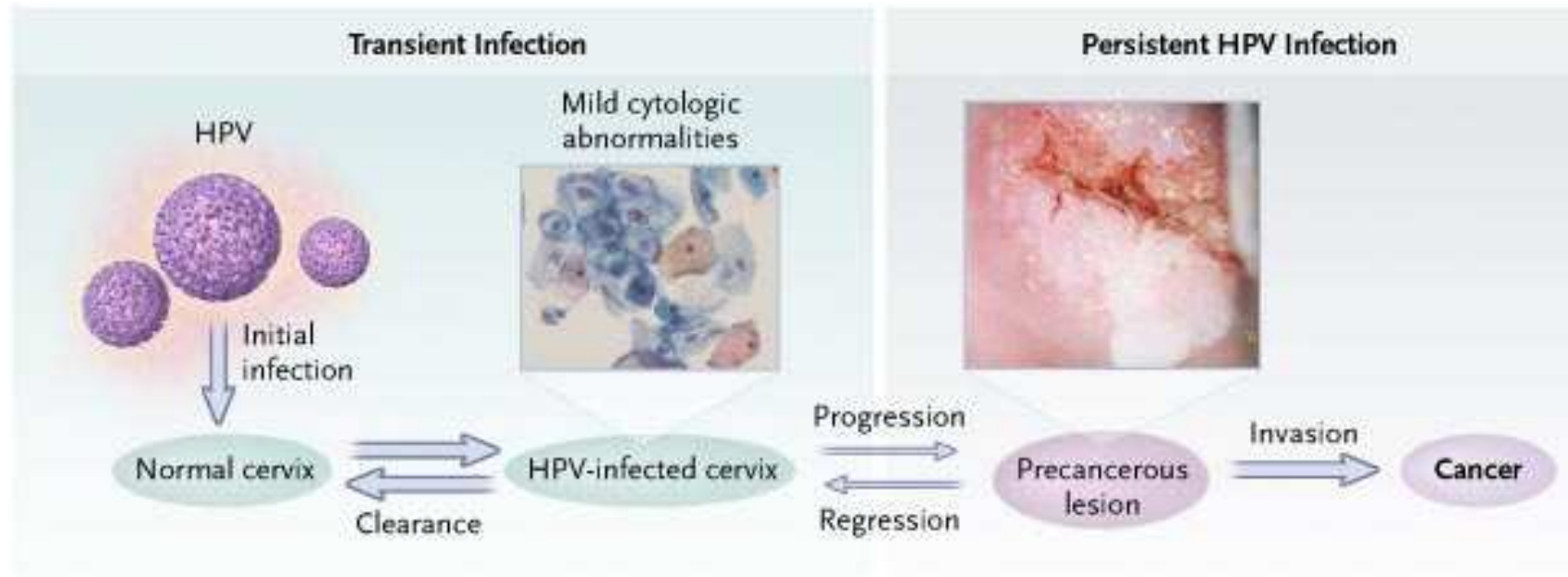
- ✓ Età avanzata
 - ✓ Tipi ad alto rischio
 - ✓ Infezioni con molteplici HPV
 - ✓ Immunodepressione
-
- ✓ La persistenza rappresenta uno dei più importanti fattori di rischio per lo sviluppo del tumore

Table 1. Number of cancers attributable to HPV infection, 2002: developed and developing countries¹²

		Developed countries		Developing countries	
Site of cancer	Attributable to HPV (%)	Total no. of cancers	Attributable to HPV (%)	Total no. of cancers	Attributable to HPV (%)
Cervix	100	83 400	83 400	409 400	409 400
Penis	40	5 200	2 100	21 100	8 400
Vulva, vagina	40	18 300	7 300	21 700	8 700
Anus	90	14 500	13 100	15 900	14 300
Mouth	≥3	91 200	2 700	183 100	5 500
Oropharynx	≥12	24 400	2 900	27 700	3 300
Total		237 000	111 500	678 900	449 600

Source: Reprinted from ref. 12 with permission from Elsevier.

The Three Steps of Cervical Carcinogenesis



Wright, T. C. et al. N Engl J Med 2003;348:489-490



LOW RISK



HIG RISK

Cosa governa la progressione?

- Il Genotipo di HPV
- La persistenza di HPV
- HPV integrazione

HPV E6 ONCOPROTEINA

- E6 ALTO RISCHIO (lega p53)  BLOCCO DNA REPAIR / APOPTOSI

carcinoma

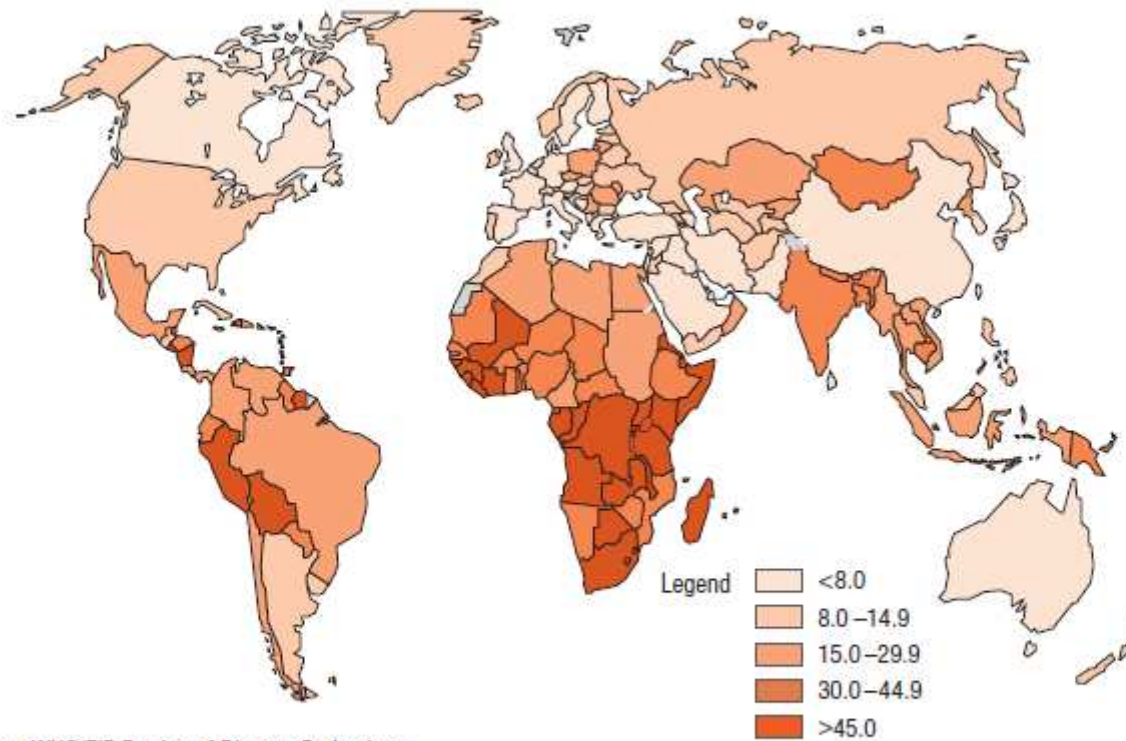
- E6 BASSO RISCHIO  NON LEGA P53
NESSUN EFFETTO



RISCHIO DI PROGRESSIONE

- IL RISCHIO PER HPV 16 E 18 è
MAGGIORE(40%) RISPETTO
AGLI ALTRI GENOTIPI DI HPV

Figure 1. Worldwide incidence of cervical cancer per 100 000 females (all ages), age-standardized to the WHO standard population, 2005



Source: WHO/EIP Burden of Disease Projections
(<http://www.who.int/healthinfo/statistics/bodprojections2030/en/index.html>).



Ricerca di HPV

- HC2(Hybrid capture)
- MY9/11/ reverse
- GP5/6
- LIPA
- Sequenza
- Real Time PCR
- Microarray
- N° di genotipi HPV
- 13
- 39
- 20
- 43
- ? (probabilmente la maggior parte)

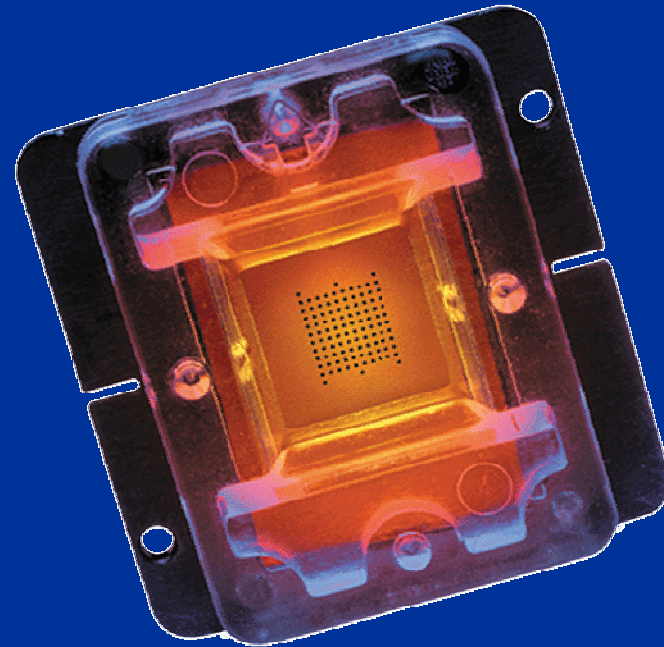
HPV-QUAD

è un test qualitativo per l'identificazione di 13 genotipi di HPV ad alto rischio (i 5 a più alto rischio individuati singolarmente, gli altri 4 a coppie) e i due genotipi a basso rischio più comuni

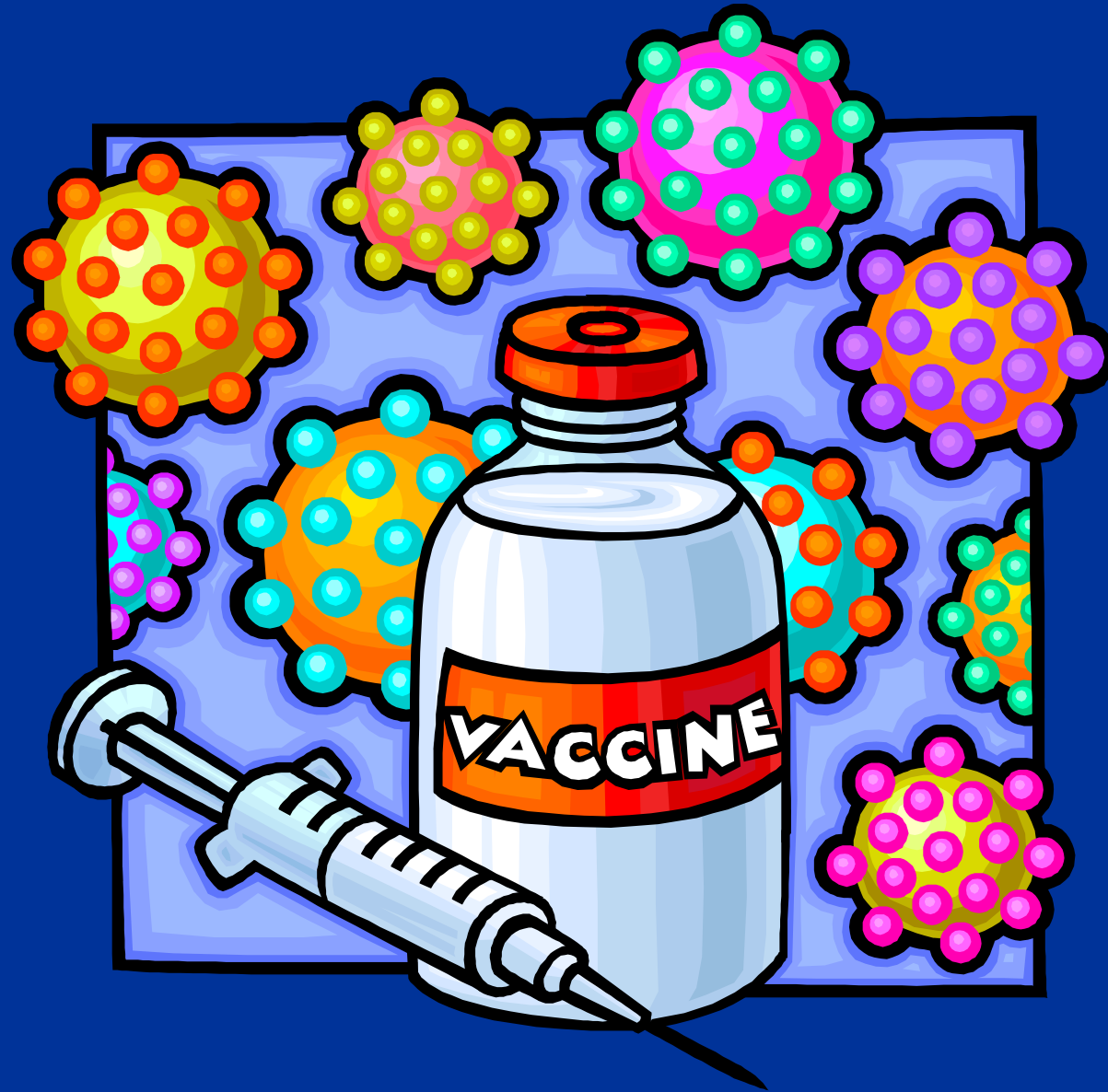
5 Genotipi ad alto rischio:	16, 18, 31, 33, 45, 35/68, 39/56, 51/59, 52/58
2 Genotipi a basso rischio:	6/11

INFINITI™ BioFilmChip Microarray: tecnologia di ultima generazione

1 Reg	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15 Reg
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
31	32	33 16	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43 16	44	45
46	47	48 89	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58 10	59	60
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
106	107	108	109	110	111	112	113 16	114	115	116	117	118	119	120
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135
136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150
151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165
166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180
181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195
196	197	198 16	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208 16	209	210
211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225
226	227	228	229	230	231	232	233 Reg	234	235 Bin	236	237 Bin	238	239 Bin	240 Ref



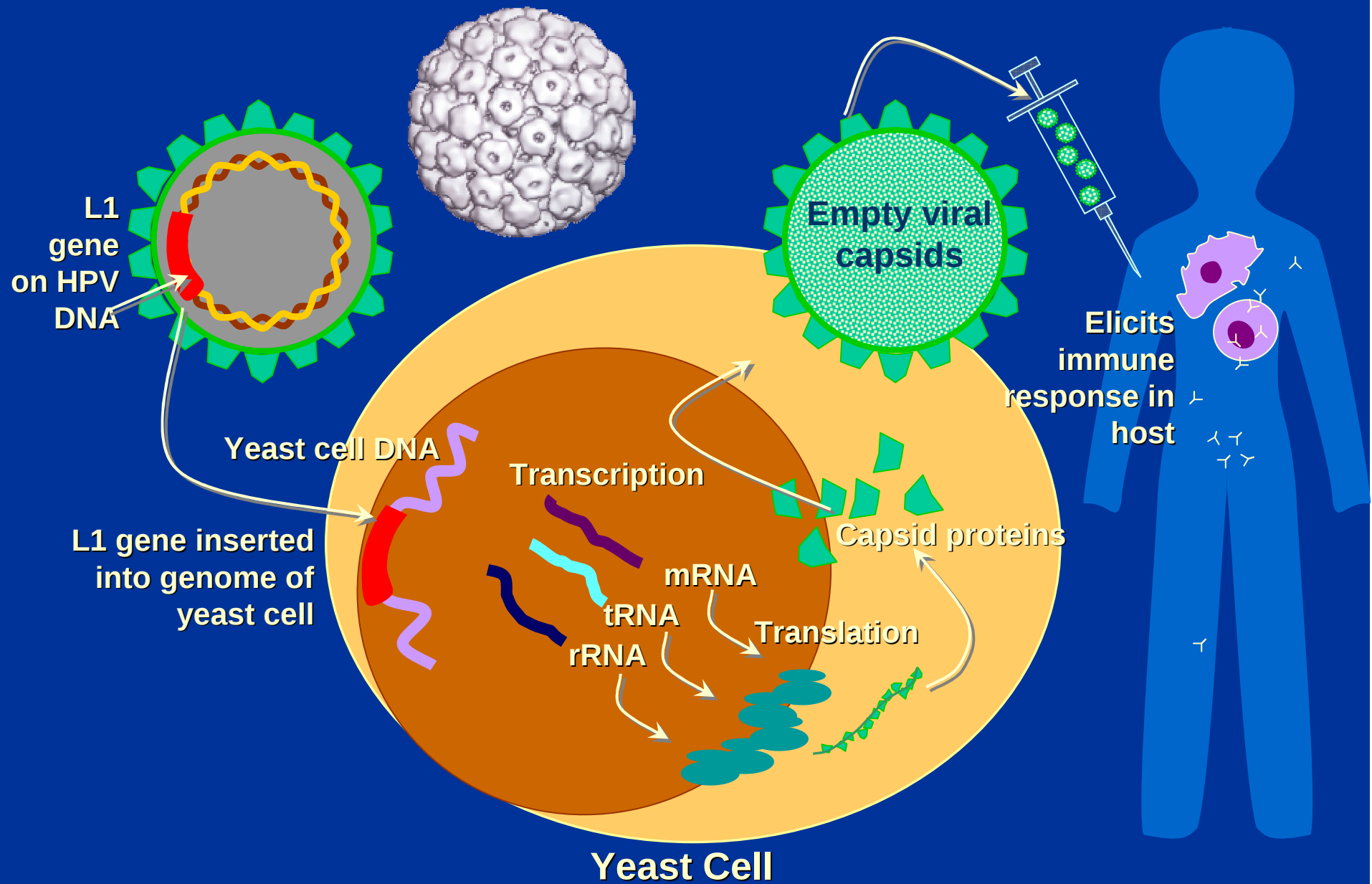
Tutte le determinazioni sono eseguite in duplicato per assicurare l'accuratezza del risultato



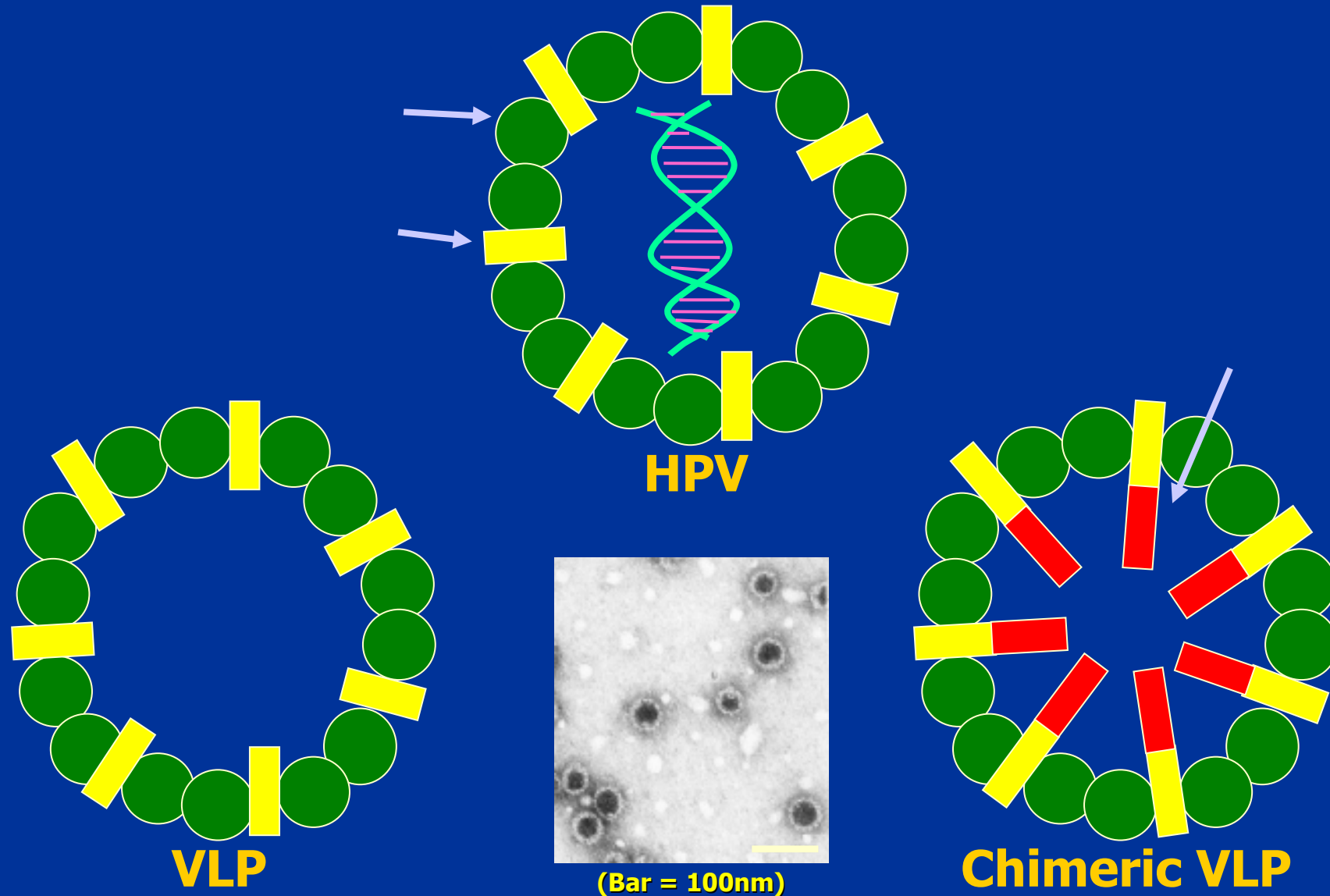
Vaccini

- Quadrivalente (16-18-6-11)
- Bivalente (16-18)
- (diversi gli adiuvanti)

HPV L1 VLP Vaccine Synthesis



HPV Virus-like Particles (VLP)



Assembly of HPV VLPs

Structural model of papillomavirus VLP*

L1 Protein
(55-57 kD)



5 x L1



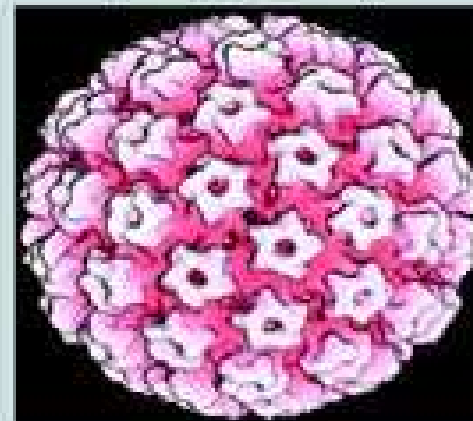
L1 Capsomere
(~280 kD)



72
Capsomeres



VLP
(~20,000 kD)



VLP = Virus-like particle

Kimbauer R et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1992.

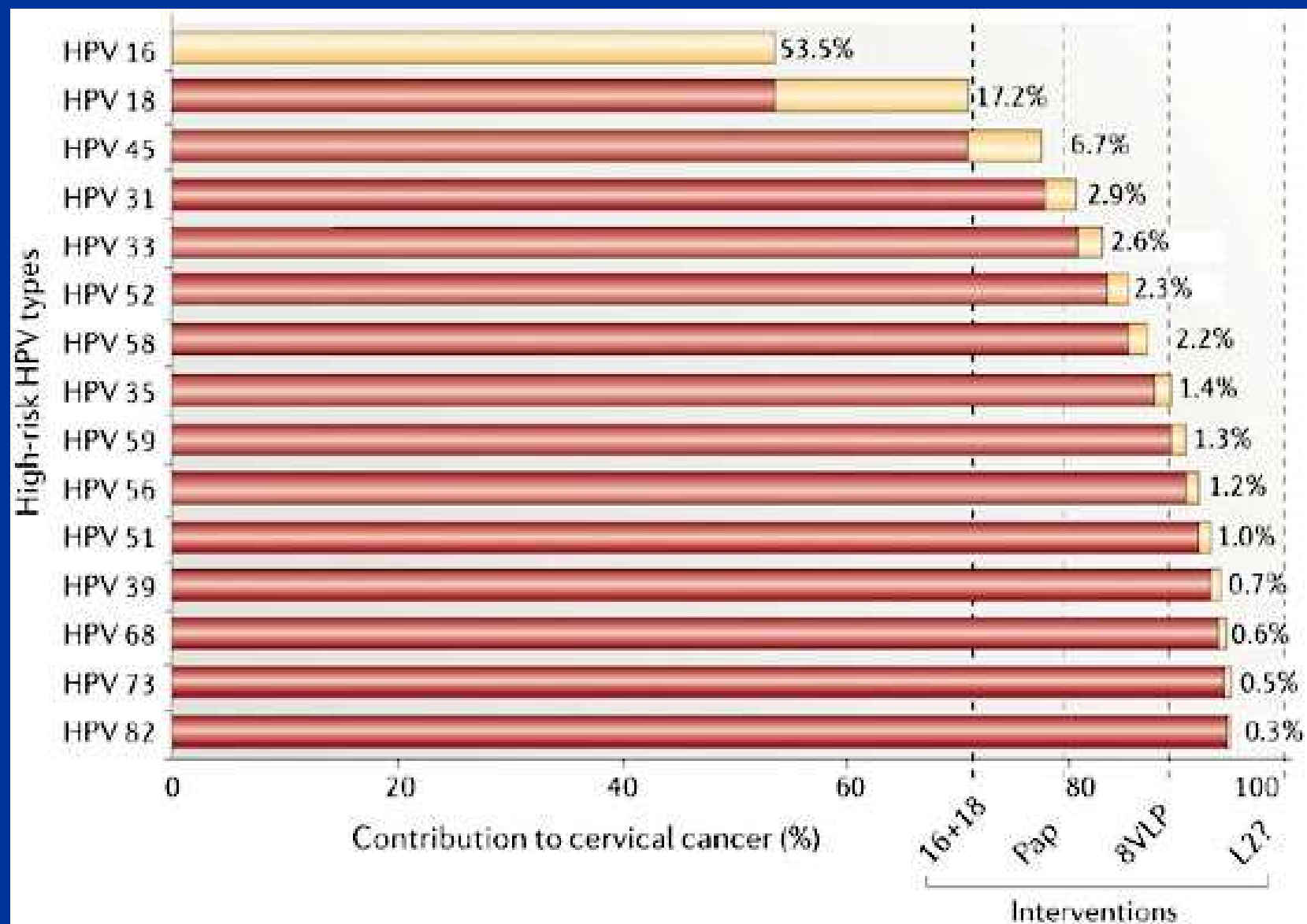
Syrjänen KJ, et al. United Kingdom: John Wiley & Sons, Inc. 2000.

General- Basic Components

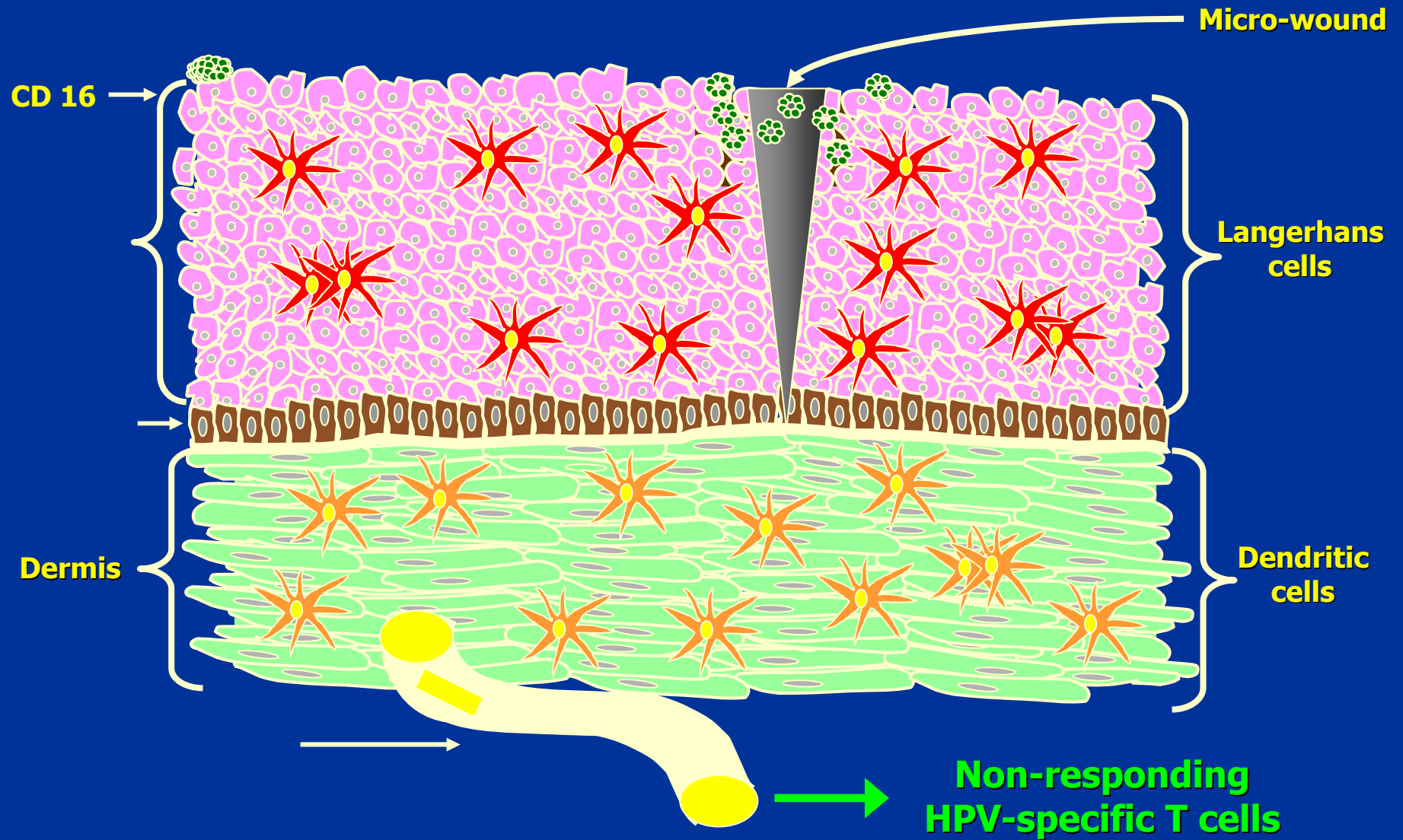
	Quadrivalent vaccine		Bivalent vaccine	
Manufacturer	MSD (GARDASIL)		GlaxoSmithKline (CERVARIX)	
Antigens (L1 HPV)	   		 	
Concentration per dose (µg)	20/40/40/20		20/20	
Volume	Per dose	0.5 mL	Per dose	0.5 mL
Adjuvant	AAHS (Amorphous Aluminium Hydroxyphosphate Sulfate) (same as HBV: more than 200 million doses have been used)	225 µg	AS04: Al(OH) ₃ + MPL® (used in HBV for patient with renal insufficiency)	500 µg+50 µg
Antibody measurement	cLIA (Competitive Luminex Immuno Essay) (measure Neutralizing Antibody)		ELISA – Total IgG (measure Non Neutralizing + Neutralizing Antibody)	
Expression system	Yeast		Baculovirus	
Schedule	Intramuscular	0, 2, 6 months Flexibility up to 12 months	Intramuscular	0, 1, 6 months

¹Gardasil Package Insert

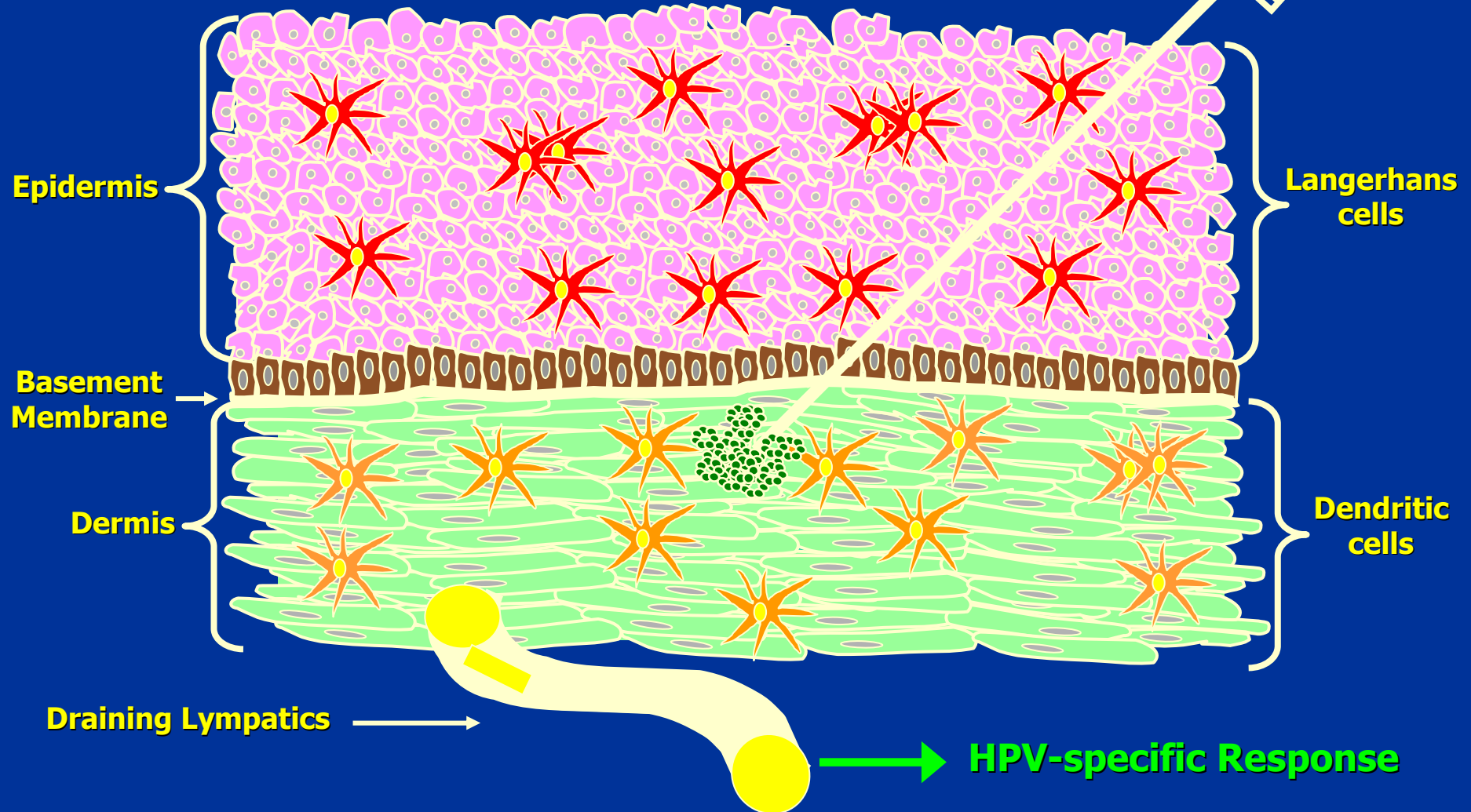
²Cervarix Package Insert



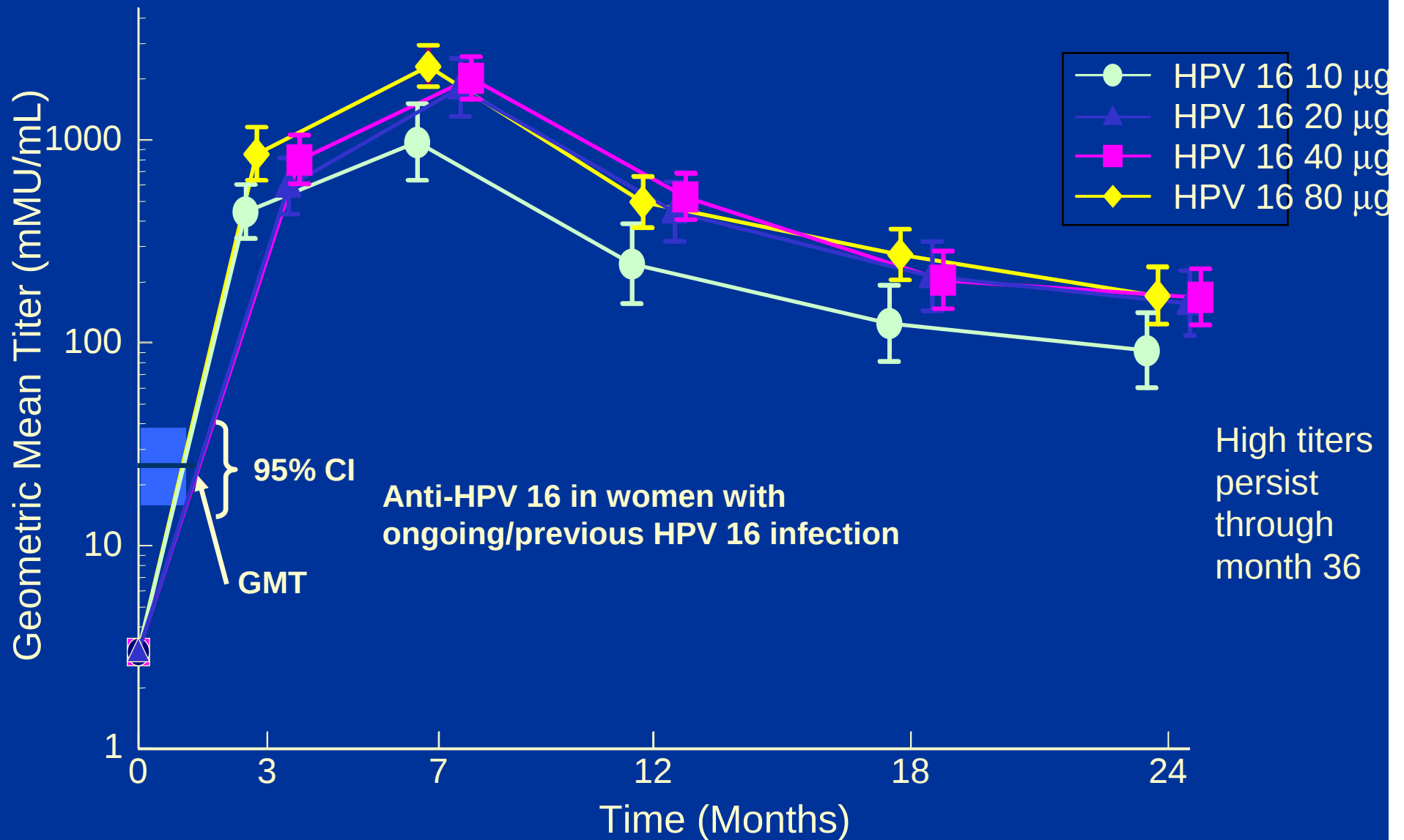
HPV Infection



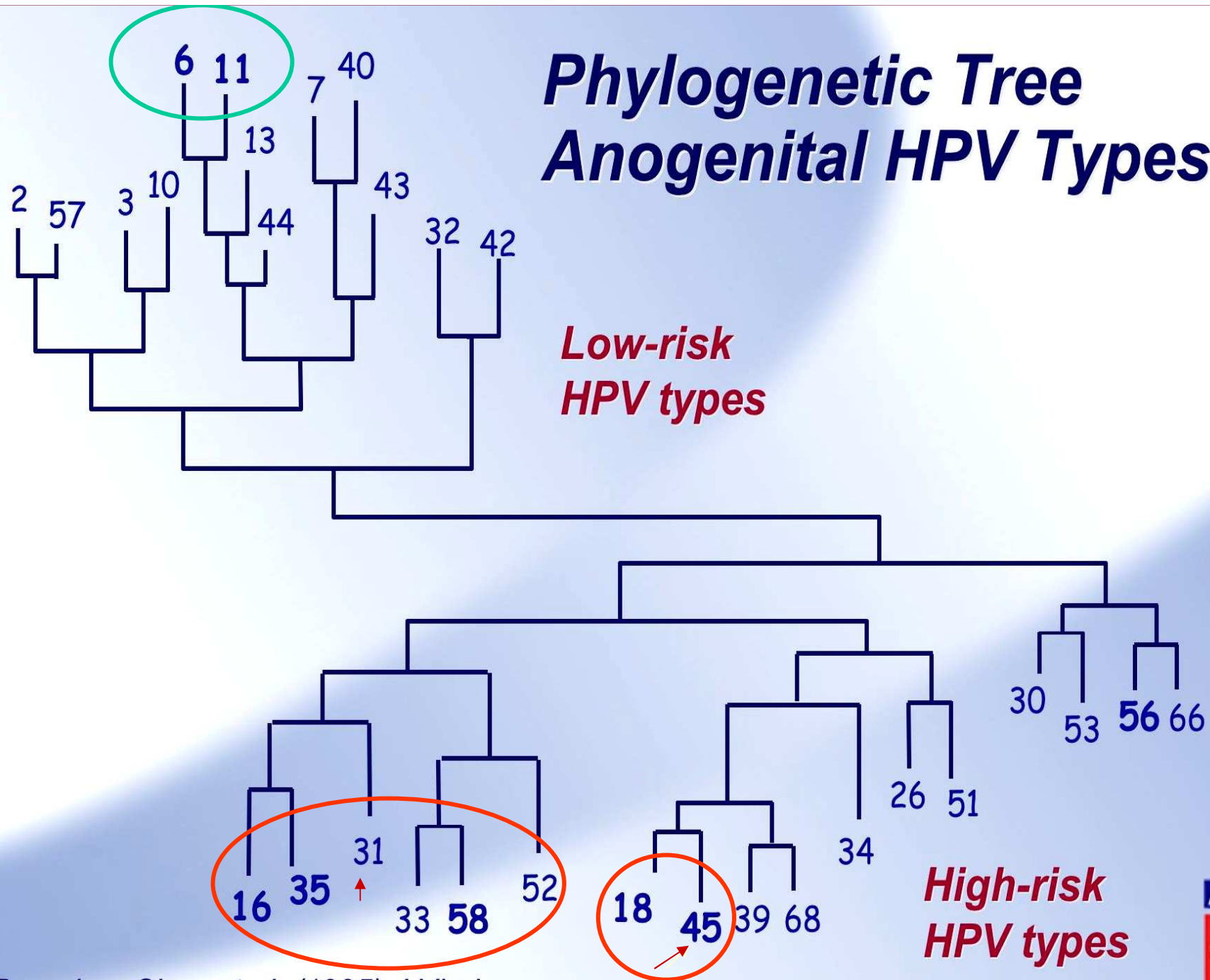
Vaccinations with HPV VLP



Anti-HPV 16 RIA Following Vaccination (Merck Trial) GMTs (mMU/mL) With 95% CIs

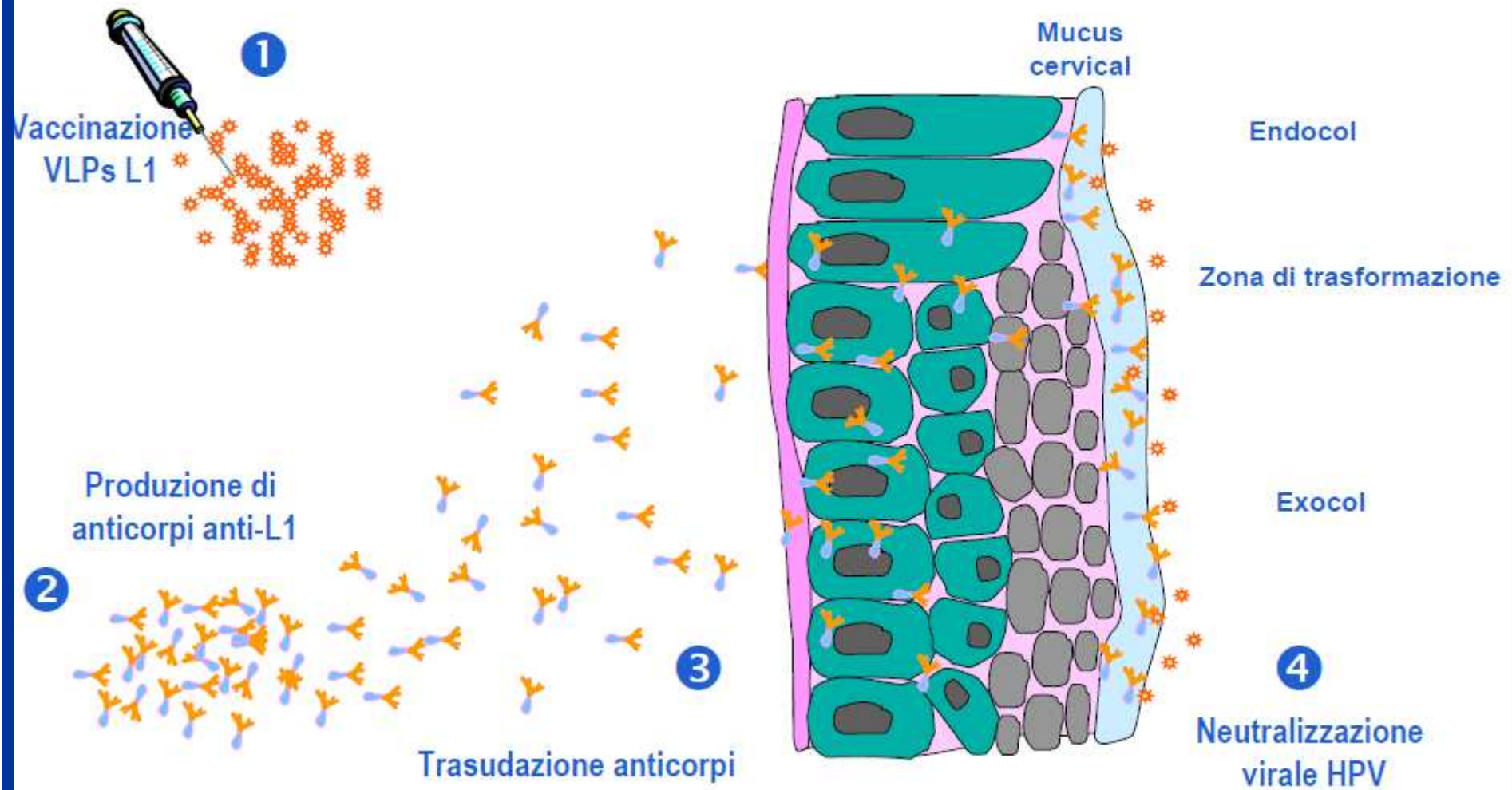


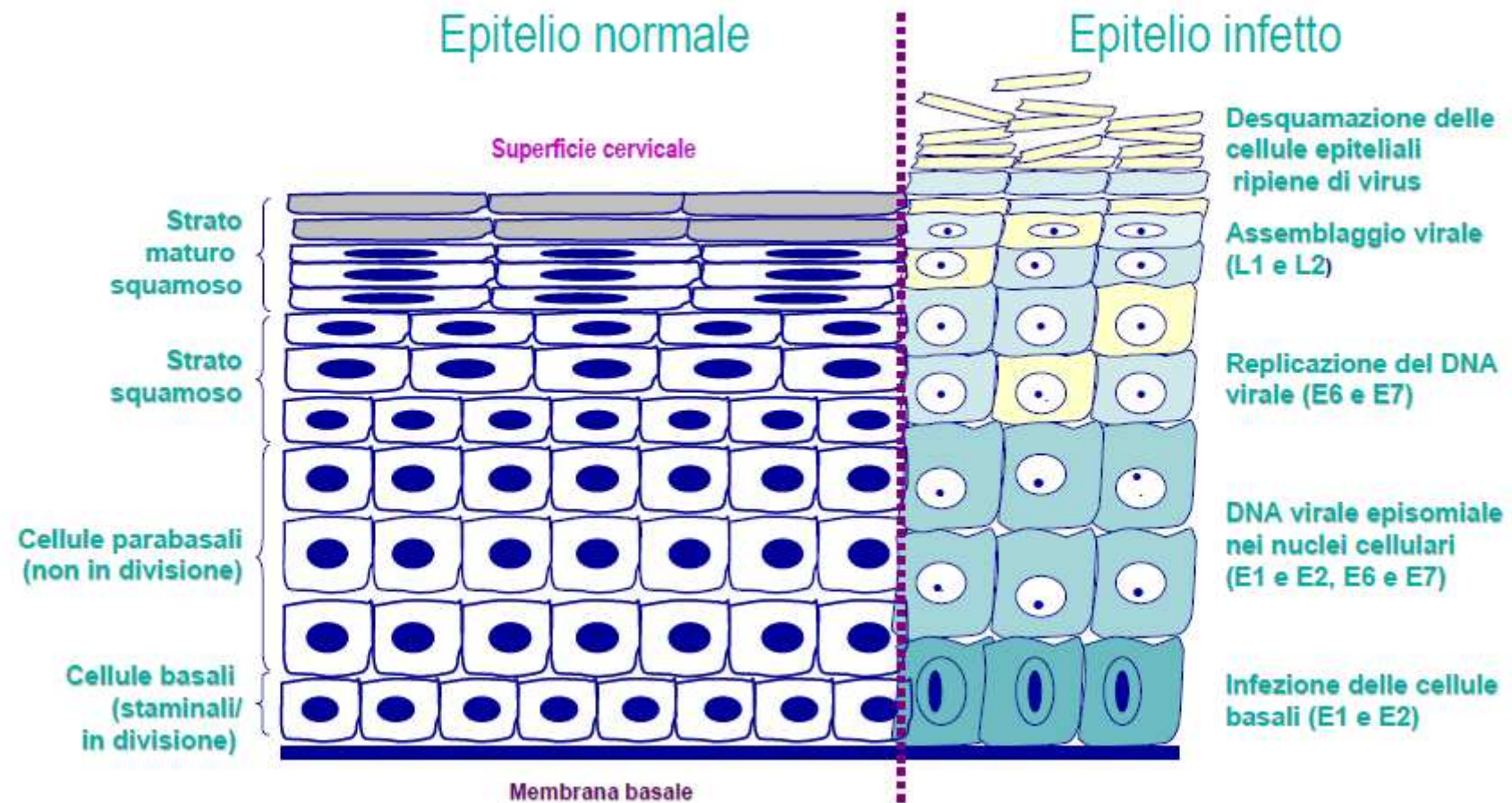
Phylogenetic Tree Anogenital HPV Types



Based on Chan et al. (1995) J Virol

Vaccinazione con HPV VLP L1





Lo screening per neoplasie intraepiteliali e tumori invasivi della cervice uterina **deve continuare sia nelle donne vaccinate che in quelle non vaccinate in accordo alle vigenti linee guida di prevenzione oncologica dei tumori della cervice uterina (II).**

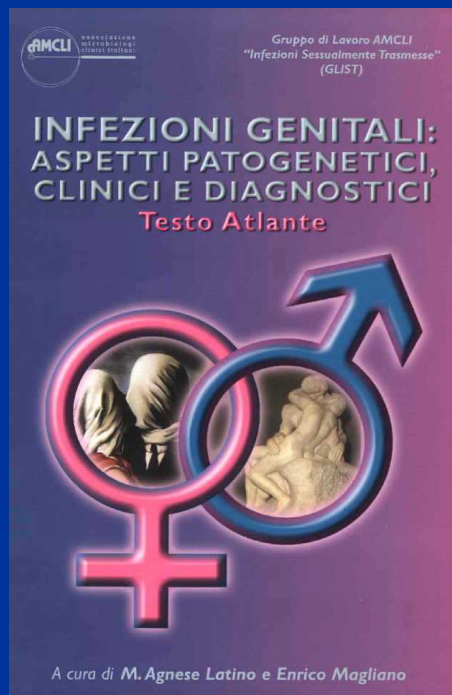
- I test sierologici per HPV e la valutazione della risposta immunitaria cellulo-mediata anti-HPV sono utili per valutare la risposta alla vaccinazione anti-HPV e per monitorare la durata della protezione immunitaria (IA).

A chi può essere somministrato il vaccino profilattico anti-HPV e come deve essere valutata la sua efficacia?

- La vaccinazione anti-HPV con vaccino quadrivalente/ bivalente è sicura ed efficace nel prevenire le lesioni precancerose, l'adenocarcinoma *in situ*, il carcinoma della cervice uterina invasivo



- Il vaccino anti-HPV dovrebbe essere somministrato **prima** della potenziale esposizione agli HPV genitali attraverso i contatti sessuali, poiché il potenziale beneficio diminuisce con l'aumentare del numero totale dei partner sessuali (IA).



Grazie per l'attenzione