

Il laboratorio nella diagnosi delle malattie sessualmente trasmesse

Enrico Massimo MAGLIANO

Servizio di Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliera Niguarda Cà Granda, Milano

Riassunto. - Per fornire un contributo efficace nello studio delle infezioni sessualmente trasmesse, è necessario da parte del microbiologo clinico non solo riuscire ad identificarne il maggior numero in relazione al quesito diagnostico del clinico, ma il saper operare una attenta scelta delle indagini di laboratorio più idonee da condurre, con una corretta fase preanalitica e una attenta interpretazione finale dei risultati. A tal fine è richiamata la necessità di stabilire criteri e protocolli operativi da includere in linee guida per la diagnosi di laboratorio delle MST. A sostegno di questo vengono presentati criticamente alcuni studi italiani sulla variabilità delle procedure diagnostiche applicate alle più comuni sindromi infettive genitali.

Parole chiave: malattie sessualmente trasmesse, reazione polimerasica a catena, amplificazione a catena mediante ligasi, sierologia, linee guida.

Summary (*The role of laboratory in sexually transmitted diseases diagnosis*). - In light of the wide array of sexually transmitted infections, it is important that accurate, increasingly advanced laboratory procedures be used to identify the specific agents and that the results of these procedures be correctly interpreted. For this reason, guidelines for the laboratory diagnosis of sexually transmitted diseases (STD) must include standardised criteria and protocols. This report presents the results of several Italian studies on the variability of laboratory procedures for diagnosing the most common STD.

Key words: sexually transmitted diseases, polymerase chain reaction, ligase chain reaction, serology, guidelines.

Introduzione

Attualmente il microbiologo clinico con l'aiuto delle più recenti innovazioni tecnologiche è in grado di identificare la maggior parte degli agenti etiologici responsabili di malattie sessualmente trasmesse (MST).

Tuttavia anche l'impiego di tecnologie semplificate viene vanificato se non si attua preliminarmente una attenta scelta delle indagini più idonee, una impostazione corretta della fase preanalitica ed infine una critica interpretazione dei risultati.

Il laboratorio e le indagini mirate

A riprova della non omogeneità nell'approccio diagnostico diretto sono interessanti i dati raccolti in una indagine sulle diagnostiche microbiologiche in Lombardia [1] in cui si dimostra ad esempio sul tampone uretrale per diagnosi di uretrite come le ricerche siano mirate con criteri diversi, non standardizzati, e talvolta criticabili. Infatti per la diagnosi di uretrite le indagini routinarie sono indirizzate alla ricerca di "ogni microrganismo" nel 43,7%, sono invece mirate nel 56,3% dei laboratori. Le indagini mirate (Fig. 1), sono rivolte prevalentemente alla ricerca di *Neisseria gonorrhoeae* di *Chlamydia trachomatis*, di miceti e di

micoplasmici, mentre solo raramente di *Gardnerella vaginalis* o di *Trichomonas vaginalis*.

Anche sulle modalità con cui vengono affrontate le indagini indirette (sierologia) una recente indagine condotta in 369 ospedali lombardi [2] ha permesso di rilevare tra l'altro come per la lue vengono eseguiti oltre 28 000 sierodiagnosi alla settimana. Una così elevata richiesta di accertamenti per la lue, non è motivata dall'incidenza estremamente bassa di questa infezione nella popolazione generale senza contare quanto rappresenti in termini di costi e di carichi di lavoro. L'indagine condotta dal nostro gruppo sull'approccio diagnostico delle cervico-vaginiti in Italia [3] ha messo in evidenza il mancato coordinamento operativo tra il microbiologo e il ginecologo che risulta spesso instaurare terapie ad ampio spettro senza richiedere un esame batteriologico (23,5% dei casi) o senza attenderne l'esito (29,1% dei casi).

Consideriamo inoltre che l'interpretazione dei risultati richiede ampie conoscenze della patogenesi delle varie infezioni ed una stretta collaborazione tra il clinico e il microbiologo in particolare in un campo complesso come quello delle MST dove più microrganismi possono colonizzare la stessa sede, dove il passaggio flora-residente opportunista è frequente, dove la latenza microbica può alternarsi a momenti di espressione aggressiva.

Il laboratorio e le moderne biotecnologie

L'introduzione delle biotecnologie ha creato grande aspettativa sulla diagnosi in tempo reale. A nostro parere, tranne alcune eccezioni, il passaggio dalla ricerca alla routine è ancora in atto e l'applicazione pratica richiede a tutt'oggi l'utilizzo di personale esperto, anche considerando le problematiche di inibizione e contaminazione che si determinano operando direttamente su materiali biologici.

Di recente abbiamo studiato [4] l'impiego delle biotecnologie semplificate rapide nello studio delle patologie vaginali i cui risultati preliminari sono incoraggianti ma richiedono sicuramente ulteriori indagini. Grande interesse ha suscitato l'utilizzo di tecniche molecolari su materiali da prelievi non invasivi, come le urine, soprattutto nello screening dell'infezione da *C. trachomatis*, in particolare impiegando la *ligase chain reaction* (LCR). Il bersaglio della LCR è localizzato all'interno del DNA plasmidico di *C. trachomatis* e rappresenta una sequenza breve, altamente conservata in tutti i sierotipi. La sensibilità del metodo con costi ridotti apre nuove strade nelle indagini di massa a scopo preventivo su popolazioni selezionate (adolescenti, gruppi a rischio, gravide, ecc.). I campioni, prelevati con il kit fornito dalla ditta possono essere conservati per 4 giorni a temperatura ambiente prima di essere analizzati oppure a -20° per 60 giorni.

In tale scenario appare come i centri di riferimento dovranno utilizzare, per la realizzazione di una sorveglianza delle MST basata sulle diagnosi di laboratorio, strutture specializzate di buon livello che abbiano concordato preliminarmente linee guida per la scelta delle indagini e standardizzato le metodiche.

Verso le linee guida per le indagini microbiologiche per le MST

L'Associazione Microbiologi Clinici Italiani (AMCLI), in qualità di società scientifica operante nel settore, ha attivato un gruppo di lavoro per le malattie a trasmissione sessuale (GLAMST), con le seguenti finalità:

- interagire con gli organi istituzionali per il monitoraggio epidemiologico su scala nazionale;
- elaborare linee guida diagnostiche per le varie patologie, con particolare riferimento all'interpretazione dei risultati e in stretta cooperazione con i clinici;
- promuovere ricerche mirate in questo settore.

Come atto preliminare, il gruppo di lavoro ha raccolto informazioni circa le procedure maggiormente usate per la diagnosi di MST attraverso un'indagine nazionale condotta con numerosi laboratori. Da questo importante studio conoscitivo, che ha coinvolto 56 laboratori distribuiti su tutto il territorio nazionale emerge che pur

Microrganismi

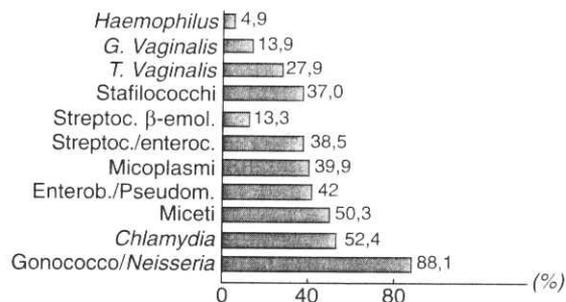


Fig. 1. - Ricerche mirate su tampone uretrale per diagnosi di uretrite (dati relativi a 143 laboratori, espressi in %).

essendoci una discreta uniformità di scelte operative e tecnologiche, si sente l'esigenza di più chiari protocolli operativi. Ad esempio, per quanto riguarda le indagini effettuate sull'essudato vaginale, quasi la metà dei laboratori (42,3%) non esegue la misurazione del pH vaginale, né il *fish-odor test*, e solo un esiguo numero di essi (17%) segnala la presenza di citolisi nello striscio.

Anche per la formulazione dei referti esiste un'ampia gamma di comportamenti, sia in caso di risposta negativa che positiva. Nella refertazione di esami "negativi", il 37% dei laboratori dichiara di non specificare le indagini eseguite, mentre il 25,8% non descrive il quadro microscopico pur effettuandone la lettura. Per quanto riguarda la refertazione di esami "positiva", il 55,7% dei laboratori segnala ogni singola positività di specie batteriche isolate, il 40,3% tiene in considerazione le sole positività associabili alla patologia in atto. Il 76,9% allega alla risposta l'antibiogramma di una o più delle specie microbiche isolate. Il GLAMST, tenendo conto del risultato di quest'indagine ha quindi elaborato le linee guida per le indagini microbiologiche nello studio delle infezioni uretro-cervico-vaginali [5]. Le linee guida riportano descritte le modalità di prelievo, di conservazione e di trasporto dei vari materiali. L'esecuzione e l'interpretazione dell'eventuale esame microscopico e la scelta dei terreni per l'esame colturale. Esaminano inoltre le varie metodiche in uso per la ricerca dei vari microrganismi, dall'esame microscopico ai test immunoenzimatici, alla biologia molecolare. Vengono inoltre definiti i criteri di buona pratica per impostare una richiesta degli esami adeguata, concordata con il clinico, e quelli per un'adeguata interpretazione dei risultati, che deve essere semplice, chiara e soprattutto standardizzata per permettere confronti con altri laboratori. Ovviamente la standardizzazione delle varie metodiche e il controllo di qualità contribuiscono alla produzione di risultati attendibili.

BIBLIOGRAFIA

1. GOGLIO, A., BURATTA, A., CARRERI, V. & GRUPPO DI LAVORO REGIONE LOMBARDIA PER L'ATTUAZIONE DEL CONTROLLO DI QUALITÀ IN MICROBIOLOGIA. 1994. Indagine sull'organizzazione e la diagnostica dei laboratori di microbiologia in Lombardia: la diagnosi batteriologica. *Boll. Microbiol. Med.* II, VII.
2. PIZZOCOLO, G., GARLASCHI, M.C., GOGLIO, A. & GRUPPO DI LAVORO REGIONE LOMBARDIA PER L'ATTUAZIONE DEL CONTROLLO DI QUALITÀ IN MICROBIOLOGIA. 1995. Indagine sull'organizzazione e la diagnostica dei laboratori di microbiologia in Lombardia: la diagnosi sierologica. *Boll. Microbiol. Med.* V, VII.
3. CONTI, E., PETRONE, M., FERRARI, A., MAGLIANO, E.M. *et al.* 1995. Indagine epidemiologica sulle vulvo-vaginiti in Italia. *G. Ital. Ostetr. Ginecol.* 2: 118.
4. CLERICI, P., LUSCO, G., MAGLIANO, E.M. *et al.* 1997. DNA probe test for rapid diagnosis of vaginal infections supported by *Gardnerella vaginalis*, *Candida* spp and *Trichomonas vaginalis*. International Congress STD, 19-22 October 1997, Siviglia. Association for Research in Clinical Microbiology, APICMC.
5. MAGLIANO, E.M., POZZOLI, R., SULIGOI, B. *et al.* 1999. Linee guida per le indagini diagnostiche microbiologiche nello studio delle infezioni uretro-cervico-vaginali. *Microbiol. Med.* 3: 20.