associazione microbiologi clinici italiani

Ente del Terzo Settore

Rif.2023-02

PERCORSO DIAGNOSTICO

SIFILIDE

Gruppo di Lavoro Organizzativo dei Percorsi Diagnostici (GLOPD)

Coordinatore: Cristina Giraldi
c.giraldi54@gmail.com
Proprietà intellettuale di AMCLI ETS.

Nel caso i contenuti siano utilizzati è necessario citare il Percorso Diagnostico nel seguente modo: AMCLI ETS. Percorso Diagnostico - Sifilide Rif. 2023-02.

Associazione Microbiologi Clinici Italiani ETS (AMCLI ETS)
Via C. Farini 81 - 20159 Milano - T. 02 66801190 - segreteriaamcli@amcli.it N. 26168 iscrizione RUNTS - sez. "G - altri enti del Terzo Settore" - Iscrizione REA MI - 1969948 C.F. 06653690153 - P.I. 12404560158

REFERENTE

Claudio Foschi, Microbiologia, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna; Microbiologia, DIMEC, Università di Bologna

ESTENSORI DEL DOCUMENTO:

Antonella Marangoni, Microbiologia, DIMEC, Università di Bologna
Ivano Dal Conte, Dipartimento di Malattie Infettive, Ospedale Amedeo di Savoia, Torino
Fulvia Pimpinelli, Microbiologia, Istituto San Gallicano I.F.O., Roma

AMCLI
associazione microbiologi clinici italiani
Ente del Terzo Settore

REVISORI ESTERNI

Paolo Fazii , Microbiologia, Ospedale Spirito Santo, Pescara

Sommario

1. ASPETTI EPIDEMIOLOGICI E CLINICI 4
2. DIAGNOSI 6
2.1 TEST TREPONEMICI (TT) 7
2.2 TEST NON TREPONEMICI (NTT) 8
3. ALGORITMI DIAGNOSTICI 10
4. SITUAZIONI PARTICOLARI 12
4.1 DIAGNOSI DI SIFILIDE CONGENITA 12
4.2 DIAGNOSI DI NEUROSIFILIDE 13
4.3 PAZIENTI HIV POSITIVI 14
4.4 RICERCA DI ALTRE INFEZIONI SESSUALMENTE TRASMESSE (IST) 14
4.5 NOTIFICA E CONTACT TRACING 14
5. BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE 16
Links utili 16
Allegati 17

associazione microbiologi clinici italiani
Ente del Terzo Settore

1. ASPETTI EPIDEMIOLOGICI E CLINICI

La sifilide (lue) è una malattia sistemica, dovuta a *Treponema pallidum* subspecie *pallidum*, di norma a trasmissione sessuale che evolve in vari stadi e può causare danni acuti e cronici potenzialmente fatali negli stadi più avanzati.

La distribuzione della malattia è abbastanza variegata. Secondo l'ECDC nel 2019 sono stati segnalati 35 039 casi confermati di sifilide in 29 Stati membri dell'UE/SEE, con un tasso di notifica di 7,4 casi ogni 100000 abitanti.

I tassi di sifilide segnalati erano nove volte superiori negli uomini rispetto alle donne, con un picco nella fascia di età maschile 25-34 anni (31 casi per 100000 abitanti). La maggior parte (74%) dei casi di sifilide è stata segnalata in uomini che hanno rapporti sessuali con uomini (Men who have Sex with Men: MSM).

Tra il 2010 e il 2017, la tendenza delle notifiche di sifilide tra gli uomini è in continuo aumento, principalmente a causa di un aumento del numero di casi tra gli MSM. In Italia dal 1° gennaio 1991 al 31 dicembre 2020, il Sistema di sorveglianza nazionale ha segnalato un totale di 9440 nuovi casi di sifilide primaria e secondaria (oggi con il termine di sifilide recente si contemplano le due fasi cliniche di sifilide primaria e secondaria; la sifilide terziaria è invece denominata sifilide tardiva). Il 91,5% (n. 8642) dei casi di sifilide recente è stato diagnosticato in uomini e l'8,5% (n. 798) in donne.

L'età mediana dei soggetti con sifilide recente è stata di 36 anni. Il 15,8% dei soggetti con sifilide I-II era di nazionalità straniera, di questi la maggior parte proveniva da altri Paesi europei e dall'America (rispettivamente, 47,6% e 26,5%).

Relativamente alla modalità di trasmissione, il 31,3% dei casi di sifilide I-II è stato segnalato in uomini eterosessuali, il 59,6% in MSM e il 9,1% in donne. Nel 2020 gli MSM costituivano il 75,5% dei casi segnalati. Nel 2020, i centri hanno segnalato 447 nuovi casi di sifilide I-II. In figura 1 è riportato l'andamento temporale dei casi italiani di sifilide recente nel tempo.

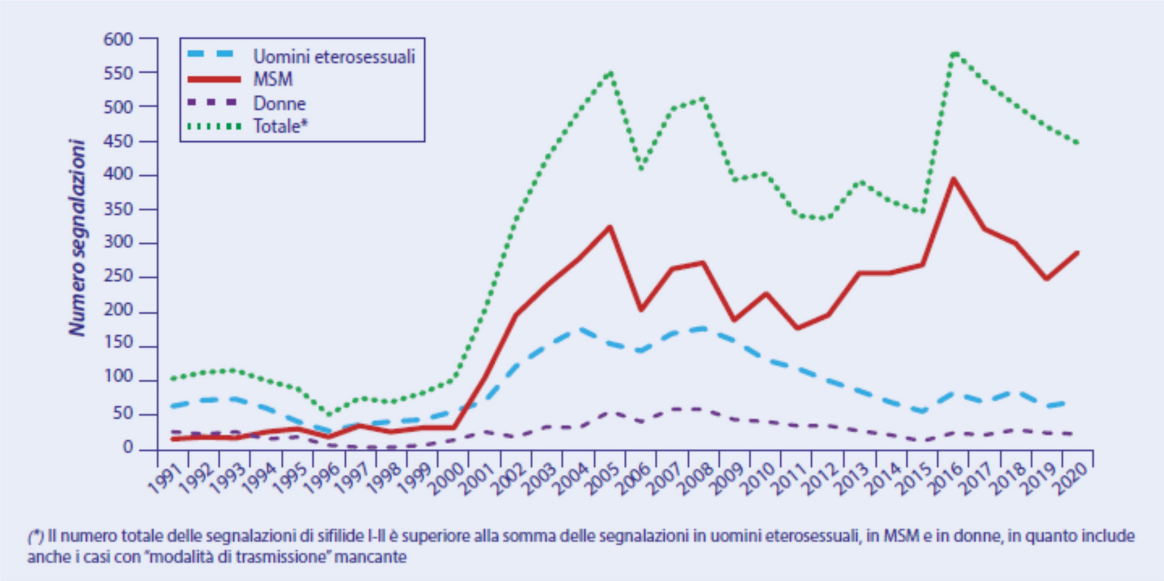


Figura 1 - Andamento temporale dei casi italiani di sifilide contagiosa (1991-2020) (Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità)

L'incubazione dell'infezione è di circa 3 settimane (10-90 gg). La "lesione primaria" è generalmente un nodulo ulcerato superficiale, duro-elastico 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.

Alla fase primaria, segue la fase "secondaria" generalmente caratterizzata da un'eruzione cutanea generalizzata (esantema maculo-papulare), non sempre apprezzata dal paziente, che può interessare anche il palmo delle mani e la pianta dei piedi. Sono presenti anche lesioni mucose localizzate ai genitali, al cavo orale o nell'ano (i cosiddetti condilomi piani): tali lesioni risultano altamente contagiose.

Essendo una fase sistemica possono essere compresenti sintomi a carico di tutti gli organi interni: possono quindi manifestarsi problemi oculari, otici, polmonari, epatici e renali. È frequente la presenza di treponemi nel liquido cefalo rachidiano non sempre indice, però, di patologia a carico del sistema nervoso centrale.

A questa fase fa seguito un periodo di latenza (sifilide latente precoce) che, nei primi uno o due anni, può essere interrotta da successive eruzioni cutanee. Dopo tale periodo, la latenza può durare anche tutta la vita (sifilide latente tardiva). In un terzo di questi casi tardivi non trattati ed in un lasso di tempo estremamente variabile, la malattia può evolvere verso la fase tardiva; che si manifesta clinicamente con lesioni viscerali (cardio-vascolari e neurologiche, in particolare meningite, disfunzioni dei nervi cranici, sifilide meningovascolare [ictus, mielite] e neurosifilide parenchimatosa [paresi generale, tabe dorsale]) e/o lesioni cutanee ed ossee, definite gomme luetiche, ad andamento cronico.

In gravidanza l'infezione non trattata porta ad infezione transplacentare con possibile aborto o morte prematura del feto (fino ad un terzo dei casi) o gravi danni al neonato. Quest'ultimo può presentare una malattia sistemica alla nascita (sifilide connatale precoce, con il quadro di una sifilide secondaria) o dopo due anni (sifilide connatale tardiva). Nelle donne in gravidanza con sifilide precoce non trattata, il 70-100% dei bambini saranno infettati. La maggior parte delle trasmissioni al feto si verificano nella tarda gravidanza (dopo 28 settimane) e il trattamento prima di questo periodo di solito previene le forme congenite.

In Figura 2 è riportato uno schema dell'evoluzione clinica della sifilide.

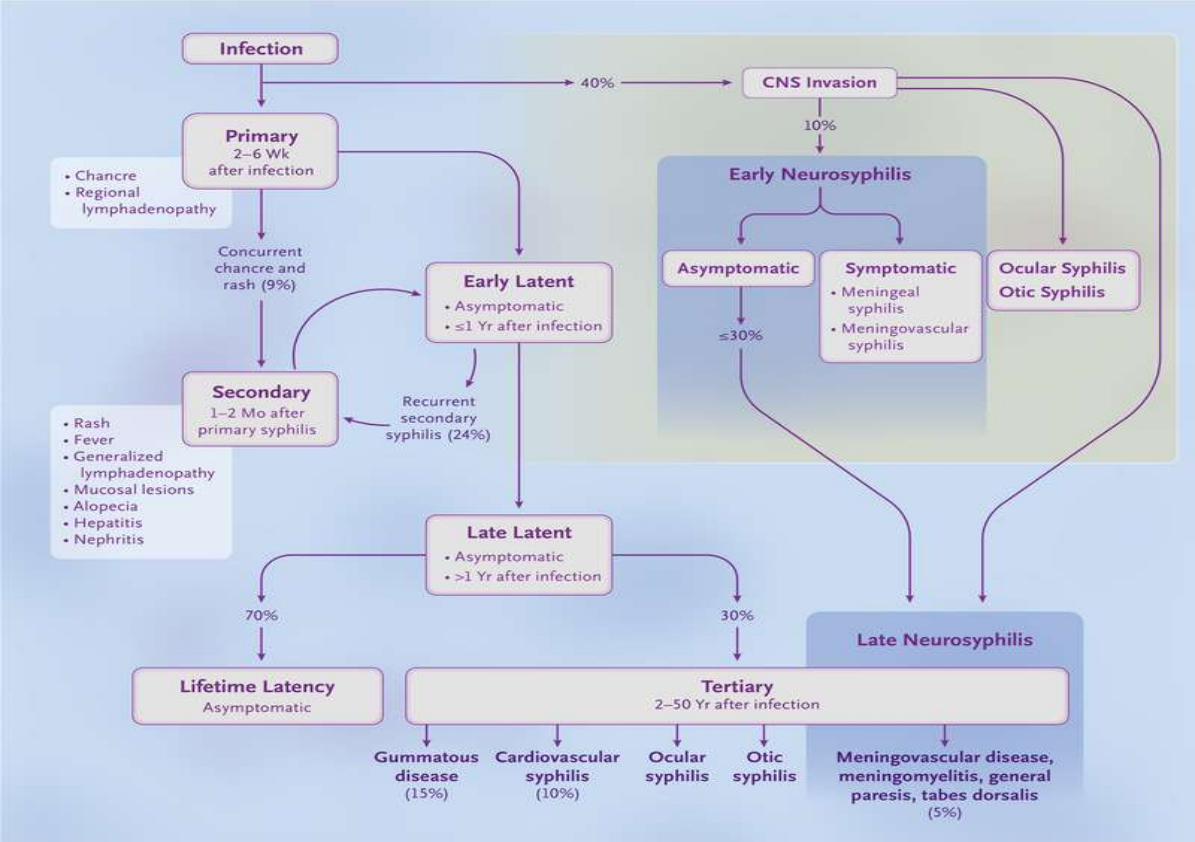


Figura 2: Storia naturale dell'infezione da *Treponema pallidum* (Ghanem KG, et al. The Modern Epidemic of Syphilis. N Engl J Med 2020; 382:845-854)

Ente del Terzo Settore

2. DIAGNOSI

La diagnosi di sifilide è sempre basata su caratteri epidemiologici, clinici e laboratoristici. Essendo una malattia clinicamente proteiforme, molti specialisti possono essere coinvolti nella gestione di tale infezione e l'acume clinico ed un alto indice di sospetto deve pervadere tutto il personale sanitario.

La diagnosi **diretta** di infezione luetica**,** possibile in pochi centri specialistici, è basata sulla ricerca dei treponemi (da lesione primaria e/o secondaria umida) in microscopia in campo oscuro (sensibilità >97%) o con immunofluorescenza diretta e va confermata, in un secondo tempo, con indagini sierologiche.

La diagnosi diretta con tecniche di amplificazione degli acidi nucleici (es. PCR) è ormai una tecnica consolidata e molti studi ne hanno dimostrato una buona sensibilità (>94%) e specificità (>98%). Attualmente, i test molecolari sono i migliori per lesioni orali o di altre sedi dove la contaminazione con treponemi commensali è probabile (es. *Treponema denticola*). I test molecolari possono essere eseguiti utilizzando tessuti (es. tampone della lesione/sifiloma), liquor cerebrospinale (CSF) o sangue (sebbene la sensibilità su sangue sia piuttosto scarsa). Non esiste un test PCR approvato a livello internazionale per *T. pallidum* e, di conseguenza, è fondamentale selezionare rigorosamente un metodo validato e utilizzato sempre con adeguati controlli di qualità. Recentemente sono stati introdotti test molecolari multiplex che permettono la diagnosi differenziale in caso di lesioni ulcerative, ricercando contemporaneamente il genoma di diversi microorganismi

oltre *T. pallidum* (es. HSV-1, HSV-2, *Chlamydia trachomatis* sierotipi L1-L3, *Haemophilus ducreyi*).

La diagnosi immunoistochimica utilizzando anticorpi policlonali contro *T. pallidum* può essere efficace per identificare i treponemi nelle lesioni cutanee, mucosali e tissutali ma non è utilizzabile per la diagnosi routinaria. A livello tissutale è possibile utilizzare anche l'ibridazione *in situ* ma, anche in questo caso, l'esecuzione viene demandata ad un laboratorio con esperienza nel campo e non ha valore come diagnosi di routine. Le colorazioni di Warthin-Starry e quella di Levaditi (impregnazione argentica) sui tessuti sono molto difficili da eseguire e nella maggior parte dei casi hanno un valore limitato, oramai di interesse storico.

Attualmente la diagnosi di laboratorio di gran lunga più frequente è quella indiretta, sierologica, basata sulla dimostrazione di anticorpi. La diagnosi **sierologica** di infezione luetica si esegue con due tipi di test: (i) test treponemici che evidenziano anticorpi diretti contro antigeni specifici di *Treponema pallidum*, e (ii) test non treponemici che evidenziano anticorpi diretti contro antigeni lipoidei rilasciati dai tessuti danneggiati durante l'infezione (cardiolipina).

Essendo il periodo di incubazione della sifilide compreso tra 9 e 90 giorni, il tempo di risposta anticorpale è variabile, secondo l'individuo ed il tipo di test impiegato. Con alcuni test treponemici le IgM possono essere evidenziate mediamente circa 2 settimane dopo l'infezione e le IgG dopo circa 4 settimane; pertanto, al momento della comparsa delle manifestazioni cliniche, buona parte dei pazienti presenta positività per IgM e IgG. I test non treponemici si positivizzano mediamente 10-15 gg dopo la comparsa della lesione primaria, che in media compare 6 settimane dopo l'infezione. Vi possono, quindi, essere casi con lesione primaria in cui non sono rilevabili anticorpi. In assenza di trattamento, il titolo raggiunge un picco tra 1 e 2 anni dopo l'infezione e rimane positivo con titoli bassi nella malattia tardiva per lunghi anni. I test treponemici si positivizzano dai 5 ai 15 giorni dopo la comparsa della lesione iniziale

2.1 TEST TREPONEMICI (TT)

La maggior parte di questi test utilizza antigeni treponemici ricombinanti e rileva sia IgG che IgM. L'indicazione al loro utilizzo varia a seconda dell'algoritmo impiegato (vedi oltre). È clinicamente importante ricordare che la quantificazione dei test treponemici non è utile a livello diagnostico e nella gestione clinico-terapeutica della sifilide (con possibile eccezione della sifilide congenita).

Questi test, pertanto, **non devono** essere utilizzati per valutare l'attività e la risposta al trattamento dell'infezione luetica.

Fra i test treponemici, ricordiamo:

1. **TPHA** (Treponema Pallidum Haemagglutination Assay) e **TPPA*** (Treponema Pallidum Particle agglutination Assay). Hanno una sensibilità variabile dal 60 al 99% (bassa sensibilità solo all'esordio della malattia), ed una specificità >99%
2. **EIA/ELISA** (test immunoenzimatico). Ha una sensibilità > 98% ed una specificità >97%
3. **CLIA/CMIA/ECLIA** (test in chemiluminescenza). Hanno sensibilità e specificità rispettivamente del > 98% e >97%
4. **FTA-ABS** (test in immunofluorescenza con adsorbimento). Ha una sensibilità dell'84% nella sifilide primaria e di circa 100% negli altri stadi, con una specificità del 96%

5. **Western blot** per IgG e IgM (immunoblot), sensibilità 95% per IgG, 90% per IgM ed una specificità >99%
6. **TPI** (Treponema Pallidum Immobilization o test di Nelson e Meyer) per anni ha rappresentato il test di conferma per eccellenza per la sua alta specificità ma, da qualche lustro, è stato abbandonato per vari motivi.

I test treponemici disponibili non permettono la distinzione tra sifilide acquisita e forme di treponematosi endemiche (Bejel, Pinta, Yaws) che tuttavia presentano caratteri epidemiologici e clinici alquanto diversi pur se con delle caratteristiche comuni.

In caso di mancato approvvigionamento del test TPPA, si consiglia di utilizzare test treponemici alternativi con medesimo significato (es. TPHA). Il presente percorso diagnostico verrà prontamente revisionato in caso di situazioni critiche legate a difficile reperimento di kit diagnostici

2.2 TEST NON TREPONEMICI (NTT)

I test non treponemici utilizzano un antigene complesso costituito da cardiolipina, lecitina e colesterolo (test lipoidali) e rilevano una miscela di IgG e IgM eterofile. Sono eseguiti manualmente, ma sono economici, semplici e, se eseguiti in modo appropriato, hanno una sensibilità relativamente elevata. I test non treponemici quantitativi sono ESSENZIALMENTE utilizzati per monitorare la progressione della malattia e valutare l'effetto del trattamento durante le visite di *follow-up*. Attualmente i test non treponemici più utilizzati sono:

1. **RPR** (*Rapid Plasma Reagin* - test di agglutinazione treponemica)
2. **VDRL** (*Veneral Disease Research Laboratory* -test di flocculazione treponemica)

VDRL e RPR devono entrambe essere eseguite con metodiche quantitative poiché il titolo di positività del test correla con l'attività della malattia e con la risposta alla terapia. I titoli anticorpali ottenuti con i due test, 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 e da segnalare la possibilità dell'effetto prozona (che si presenta in circa il 2% degli individui con infezione) dovuto dell'eccesso di anticorpi anti-cardiolipina, 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 a valori elevati di anticorpi anti-*T. pallidum* (es. 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.

Risultati falsi positivi ai test non treponemici sono associati a varie condizioni. La frequenza è stimata in media nello 0,2–0,8% dei test.

Risultati falsi positivi possono essere suddivisi in acuti (durata <6 mesi) e cronici (durata ≥6 mesi) e dovuti alle seguenti condizioni.

Condizioni acute:

- post-immunizzazione,
- infarto miocardico recente,
- malattie infettive febbrili (es. malaria, epatite, mononucleosi da EBV, varicella e morbillo)

- gravidanza.

Condizioni croniche:

- tossicodipendenza
- malattie autoimmuni (LES, sindrome antifosfolipidi)
- infezione da HIV
- malattie croniche come la lebbra e tumori maligni
- patologia epatica cronica
- età avanzata.

La maggior parte dei sieri che mostrano risultati falsamente positivi presentano titoli anticorpali ai test non treponemici ≤1:4. Un test non treponemico positivo deve essere ritestato su un secondo campione insieme a un test treponemico.

Test treponemici occasionalmente falsi positivi (test FTA-ABS più frequentemente di TPHA/TPPA) possono essere osservati nelle malattie autoimmuni, malattia di Lyme e anche durante la gravidanza.

Può essere possibile dirimere il dubbio attraverso l'esecuzione di test immunoblot per IgG. Tutti i test treponemici che richiedono la lettura visiva dei risultati (FTA-ABS test, TPHA, TPPA ecc.) sono più soggetti a risultati falsi positivi.

Tutti i test sierologici sono negativi prima della comparsa di una lesione primaria e nei primi 5-15 giorni. In particolare

a. TT positivo/NTT negativo (2/3 di casi nella sifilide primaria)
b. TT negativo/NTT positivo (1/3 dei casi nella sifilide primaria),
c. NTT negativo (o presente a un *plateau* di basso titolo) insieme a un TT positivo sono frequenti nella sifilide trattata e curata.

Test treponemici persistentemente falsi negativi nel corso della malattia sono estremamente rari e di solito possono essere spiegati solo da problemi tecnici nelle prove di laboratorio o da scambio di campioni.

NTT falso negativo e TT positivo possono essere dovuti al fenomeno prozona (soprattutto nella sifilide precoce) per un eccesso di anticorpi anticardiolipina. È sempre raccomandato testare il campione con diluizioni seriali del siero per NTT in caso di un TT positivo ad elevato titolo.

Recentemente sono stati introdotti in commercio test sierologici rapidi 'point of care' (POCT) in grado di rilevare sia anticorpi anti-treponemici che anti-cardiolipina in pochi minuti. Questi test hanno dimostrato una sensibilità ed una specificità rispettivamente del 75-98% e 93-98%.

I POCT potrebbero incrementare i programmi di screening, soprattutto in paesi a basso tenore economico oppure in situazioni in cui occorre assicurare in un unico momento sia la diagnosi che la terapia (rischio di non ritorno del paziente o pazienti "difficili" da raggiungere ed agganciare al servizio), dove non è disponibile un laboratorio, e in popolazioni/comunità ad alto rischio (es. *gay pride* e altri eventi ricreativi frequentati da MSM)

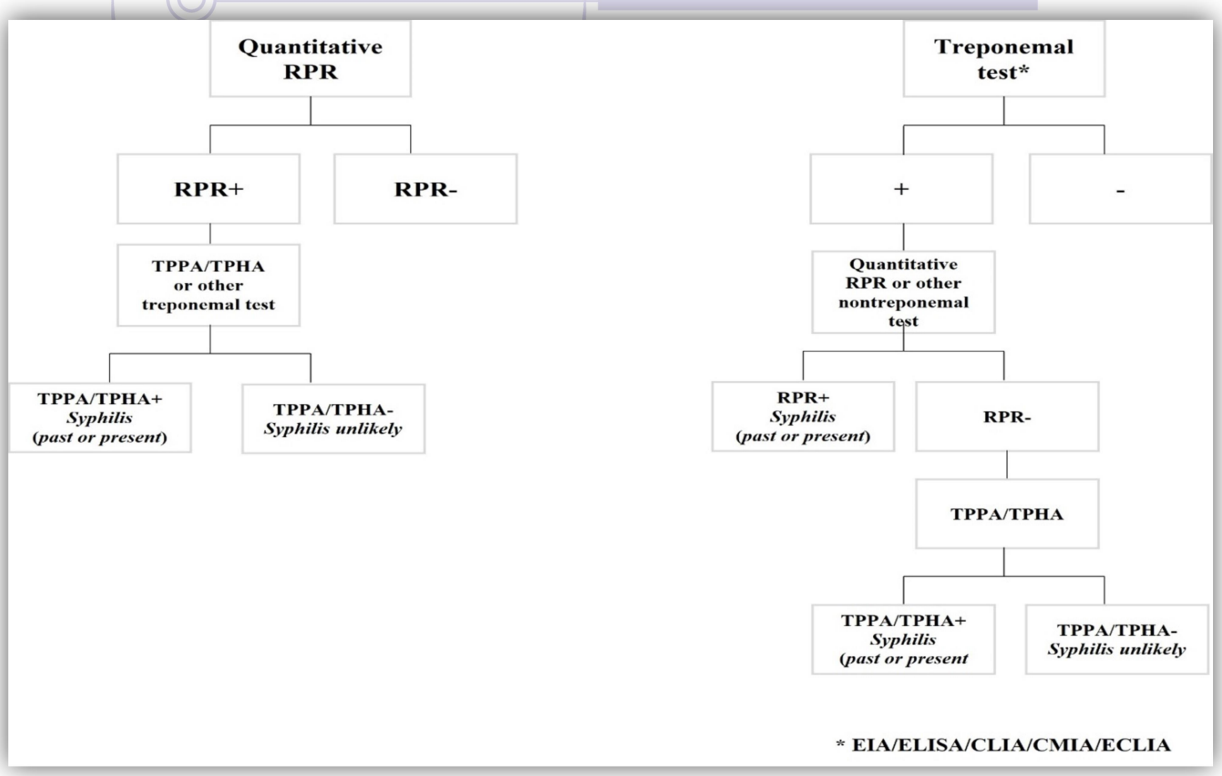
associazione microbiologi clinici italiani AMCLI Ente del Terzo Settore

3. ALGORITMI DIAGNOSTICI

Per suffragare la diagnosi di sifilide si possono utilizzare almeno tre differenti algoritmi diagnostici:

1. *Algoritmo di screening basato su test teponemico ('reverse' algorithm),* utilizzando preferibilmente un test immunometrico automatizzato (EIA/ELISA/CLIA/CMIA/ECLIA). Questo approccio è utilizzato in molti laboratori europei ed è particolarmente adatto per lo screening automatizzato ad alto rendimento di popolazioni asintomatiche compresi i donatori di sangue/plasma. L'algoritmo identifica sia i soggetti con precedenti trattamenti per sifilide efficacemente conclusi sia quelli con sifilide non trattata. Di solito è più sensibile nel rilevare la sifilide in fase molto precoce rispetto agli screening basati su test non treponemici. Tuttavia, può anche produrre un certo numero di test falsi positivi (cioè valore predittivi positivi molto bassi) nelle popolazioni a bassa prevalenza di infezione.
2. *Algoritmo di screening basato su test non treponemico ('traditional' algorithm),* preferibilmente quantitativo (utile per ovviare al fenomeno prozona nella sifilide infettiva/attiva). In questo algoritmo, ancora raccomandato in alcuni paesi, viene rilevata solo la sifilide in fase contagiosa; tuttavia, ha una sensibilità inferiore rispetto al precedente algoritmo e in particolare molti casi di sifilide precoce possono essere perduti.
3. *Algoritmo che combina TT con un NTT*: questo algoritmo è particolarmente utile nei casi in cui esiste il sospetto di una sifilide molto precoce (lesioni recenti, contatti di casi di sifilide ecc.) ed è attualmente il più consigliato.

La Figura 3 propone diversi algoritmi ('traditional' e 'reverse') per la diagnosi di sifilide.



La richiesta di indagini di laboratorio per sifilide è formulata per diverse ragioni:

1. *Screening*:

Dovrebbe essere proposto nei seguenti casi:

- donne in gravidanza;
- persone che donano sangue, emoderivati o organi;
- persone appartenenti a gruppi a più alto rischio di sifilide:
- pazienti con nuova diagnosi di infezione sessualmente trasmissibile
- persone HIV positive
- persone in profilassi pre-esposizione (PrEP) per HIV;
- pazienti con epatite A, B e/o epatite C;
- pazienti sospetti per neurosifilide precoce (es. cecità o sordità improvvisa inspiegabile, o meningite);
- pazienti che dichiarano comportamenti sessuali a maggior rischio per sifilide (MSM, lavoratori nel mondo del sesso, e tutti quei soggetti a maggior rischio di acquisizione di malattie sessualmente trasmissibili);
- pazienti assistiti in ambulatori per la salute sessuale o consultori familiari

I test di screening dovrebbero essere basati sulla ricerca degli anticorpi totali in modo da permettere sia la rilevazione delle IgM iniziali che delle IgG che possono permanere per lunghissimo tempo. I test treponemici immunometrici (EIA/ELISA/CLIA/CMIA/ECLIA) rappresentano, oggi, i test di prima scelta. Anche l'associazione VDRL/RPR – TPHA/TPPA, utilizzata da molti laboratori, è valida per lo screening mentre non è più generalmente accettato l'utilizzo dei soli test non treponemici (VDRL/RPR) in quanto non è in grado di rilevare tutti i casi di infezione.

Se il test di screening è positivo occorre indagare i fattori di rischio e proseguire come al punto 2. Se risulta negativo e vi è un dato anamnestico di rischio in un periodo inferiore alle 3-4 settimane si deve procedere alla ripetizione del test.

2. *Test di conferma per positività sierologica al test di screening*

In caso di test treponemico di screening positivo (es. EIA/ELISA/CLIA/CMIA/ECLIA) è necessario effettuare un test treponemico di conferma (es. TPHA/TPPA) e un test non treponemico quantitativo. Un titolo elevato al test VDRL/RPR è suggestivo di infezione treponemica recente e/o attiva. Nei casi dubbi può essere utile la ripetizione dei test a distanza di una settimana ed eventualmente l'esecuzione del test immunoblot (attualmente il test più specifico).

Nelle forme molto iniziali, pregresse o trattate, il test treponemico è positivo a basso titolo mentre quello non treponemico è generalmente negativo o positivo a basso titolo (<1:4) stabile nel tempo.

In caso di reinfezione il titolo VDRL/RPR aumenta e per convezione internazionale deve aumentare di quattro volte. Il valore delle IgM come indice di malattia attiva è tuttora controverso.

3. *Follow up del paziente con infezione primaria/secondaria trattata*

Secondo le indicazioni europee VDRL o RPR quantitativi devono essere ripetute a 1, 3 e a 6 mesi dalla fine del ciclo terapeutico. Il follow up dovrebbe essere continuato fino a quando il test non treponemico diventa negativo o raggiunge un basso plateau (1:1–1:4 stabile per 1 anno in assenza di esposizioni a rischio). Pazienti con titoli persistentemente alti dovrebbero rimanere sotto controllo ed indagati o per possibile reinfezione o per

escludere la presenza di neurosifilide. In genere, si osserva una riduzione del titolo anticorpale di almeno quattro volte entro sei mesi.

La positività dei test treponemici (TPHA/TPPA) si riduce più lentamente e spesso residua per tutta la vita a basso titolo, (1/80-1/160) e, per questo motivo, viene denominata "cicatrice sierologica". Il titolo dei test treponemici, inoltre, non correla con l'attività della malattia e non dovrebbe essere usato per valutare la risposta al trattamento.

4. SITUAZIONI PARTICOLARI

4.1 DIAGNOSI DI SIFILIDE CONGENITA

Per una corretta diagnosi di lue congenita si devono prendere innanzitutto in considerazione i dati clinici ed anamnestici della madre (con particolare riguardo ad un suo mancato o insufficiente trattamento terapeutico prima o durante la gravidanza), ed eventuali evidenze cliniche e radiologiche di sifilide nel neonato.

La diagnosi sierologica di sifilide congenita, come nelle altre infezioni trasmesse verticalmente durante la gestazione, è resa difficoltosa dal passaggio transplacentare degli anticorpi materni di classe IgG.

In primis va eseguita la valutazione comparativa, alla nascita, dei titoli anticorpali dei test non treponemici (RPR o VDRL) eseguiti contemporaneamente sui campioni della madre e del neonato. Un titolo anticorpale maggiore di almeno quattro volte nel neonato rispetto alla madre è fortemente indicativo di lue congenita (attenzione: titoli sovrapponibili o addirittura inferiori nel neonato non possono escludere a priori la malattia).

Non vanno mai eseguiti test (sia treponemici che non) su sangue cordonale, perché i campioni possono essere inquinati da sangue materno.

L'esecuzione comparativa di test treponemici (es. TPHA o test immunometrici automatizzati) sui sieri della partoriente e del neonato può aiutare per un corretto inquadramento del caso, sebbene titoli sovrapponibili tra i due campioni non possano escludere l'infezione congenita, né titoli maggiori sul siero del neonato possano confermare il passaggio in utero di *T. pallidum.*

Laddove sia possibile, è utile ricorrere all'utilizzo del Western Blot per la ricerca di IgM specifiche sul siero del neonato. In casi dubbi, può essere di ulteriore aiuto l'esecuzione di test WB IgG comparativo madre-figlio per paragonare le reattività anticorpali del siero materno e del suo nato. Come nel caso di altre infezioni verticali (es. Toxoplasmosi) bisogna porre molta attenzione alla corretta interpretazione dei risultati ottenuti con il WB comparativo, che andrebbe pertanto eseguito da personale adeguato o in centri di riferimento.

Infine, in tutti i neonati con forte sospetto di lue congenita, sono inoltre consigliati: esame del liquido cefalo-rachidiano (citochimico e VDRL), ricerca dei treponemi in campo oscuro o in immunofluorescenza diretta o con test molecolari nelle lesioni e nei fluidi corporei (es. secrezione nasale).

Il TPHA e il WB, seppure non validati su liquor, possono essere utilizzati al fine di avere un quadro completo. In particolare, si suggerisce l'impiego del WB IgM su liquor: una positività a tale test è fortemente suggestivo di neurolue (anche se una negatività non esclude l'infezione).

4.2 DIAGNOSI DI NEUROSIFILIDE

L'interessamento del SNC può comparire in qualsiasi stadio della sifilide. Va subito considerato che non vi è uniformità di indicazioni a livello mondiale sulla gestione dell'interessamento neurologico; si riportano qui di seguito le indicazioni europee.

Un esame clinico completo (neurologico, oculare e otologico) è raccomandato in tutti i pazienti con un risultato sierologico positivo. Tuttavia, in quelli senza sintomi è raramente indicativo. L'esame del *fundus oculi* è indicato prima della puntura lombare e la tomografia computerizzata (TC) del cervello andrebbe sempre richiesta in caso di sintomi suggestivi. La valutazione del liquido cerebrospinale non è indicata nella sifilide precoce (indipendentemente che il paziente sia HIV positivo o negativo), a meno che non ci siano sintomi neurologici, oculari o auricolari.

La valutazione del liquido cerebrospinale è indicata nei pazienti con:

- evidenze cliniche di coinvolgimento neurologico, oculare e auricolare in qualunque stadio della malattia
- sifilide terziaria (cardiovascolare, gommosa)

La definizione di neurosifilide asintomatica è estremamente difficile e controversa. La maggior parte delle definizioni dipende dalla combinazione di test di laboratorio sul liquido cerebrospinale (proteine, cellule, test treponemici e non treponemici su liquor cefalo-rachidiano) ma non esiste una definizione consensuale. La valutazione del liquido cerebrospinale non è raccomandata nella stragrande maggioranza dei pazienti asintomatici. Tuttavia, sebbene manchino prove solide, alcuni esperti raccomandano ancora la valutazione del liquido cerebrospinale in pazienti asintomatici nelle seguenti situazioni per escludere casi di neurosifilide asintomatica:

- in pazienti HIV positivi con sifilide tardiva e conta dei CD4+ ≤ 350/mm3 e/o un titolo sierico VDRL/RPR>1:32
- in coloro che hanno un'insufficiente risposta sierologica (<4 volte la diminuzione del titolo anticorpale di un NTT) a 6-12 mesi dopo il trattamento della sifilide precoce o sono "serofast" (persistenza di bassi livelli di titolo anticorpale , cioè ≤4 volte di NTT, 1–2 anni dopo il trattamento di sifilide precoce).
- in quelli sottoposti a trattamento alternativo (es. tetracicline come doxiciclina) per la sifilide tardiva

L'esame del liquido cerebrospinale deve includere proteine totali, numero di cellule mononucleate, un TT (es. TPHA/TPPA) e uno NTT (preferibilmente VDRL). Nella neurosifilide è possibile un livello liquorale proteico normale. Il numero di cellule mononucleate nel liquido cerebrospinale può essere normale anche in casi di neurosifilide confermata, specialmente nelle forme parenchimatose (tabe dorsale, paresi generale). Al contrario, un elevato numero di cellule mononucleate nel liquido cerebrospinale può essere osservato in situazioni diverse, inclusa l'infezione da HIV, in assenza di sifilide.

Un test VDRL positivo nel liquido cerebrospinale si osserva solo in circa 1/3 dei casi di neurosifilide ma un test positivo può, in assenza di una documentata contaminazione ematica, essere considerato come indicativo di neurosifilide nella malattia tardiva. Nelle sifilidi precoci il significato di un test VDRL CSF positivo è meno chiaro. I test treponemici positivi (TPHA/TPPA) su liquor non confermano la diagnosi di neurosifilide ma un risultato negativo su liquido cerebrospinale indica che la neurosifilide è altamente improbabile. Diversi indici possono essere calcolati per valutare la significatività di

immunoglobuline anti-treponemiche del liquido cerebrospinale, tenendo conto del trasferimento attraverso la barriera emato-encefalica. Tuttavia, nessuno di questi si è rivelato significativo nella pratica clinica corrente. La PCR per il rilevamento di *T. pallidum* nel liquido cerebrospinale al fine di stabilire una diagnosi di neurosifilide è attualmente considerata di valore limitato, poiché ha mostrato una sensibilità e specificità subottimale. In caso di esame del liquido cerebrospinale anormale (livello proteico elevato e/o pleiocitosi), è necessario ripetere il controllo del liquido cerebrospinale dopo il trattamento (6 settimane-6 mesi).

4.3 PAZIENTI HIV POSITIVI

Nel paziente HIV-1 positivo il quadro clinico di sifilide può essere atipico e, soprattutto, si può verificare una progressione più rapida dei diversi stadi della malattia; pertanto, la gestione di questi pazienti resta di competenza strettamente specialistica.

I test sierologici per la sifilide in pazienti con coinfezione da HIV sono generalmente affidabili per la diagnosi di sifilide e per la valutazione della risposta al trattamento. Questi pazienti possono avere un tasso più lento di declino di VDRL/RPR dopo il trattamento, ma questo non dovrebbe essere considerato come una mancata risposta al trattamento. Test falsi negativi e falsi positivi e ritardata comparsa di siero-reattività sono stati segnalati aneddoticamente. In soggetti con infezione da HIV con sospetto clinico di sifilide ma sierologia ripetutamente negativa per la sifilide, si consiglia di eseguire altri esami diagnostici, come un esame istologico, immunofluorescente o PCR di una biopsia da una lesione clinicamente sospetta. I pazienti con infezione da HIV con sifilide precoce non tendono ad avere un rischio maggiore di neurosifilide precoce, o di coinvolgimento oculare o un tasso più elevato di fallimento del trattamento con penicilline.

4.4 RICERCA DI ALTRE INFEZIONI SESSUALMENTE TRASMESSE (IST)

Tutti i pazienti con diagnosi di sifilide dovrebbero essere indagati per altre IST batteriche, soprattutto *Neisseria gonorrhoeae* e *Chlamydia trachomatis*. In caso di ulcere genitali è utile la diagnosi differenziale con l'infezione erpetica, il linfogranuloma venereo, ulcera molle o granuloma inguinale. A tutti i pazienti positivi per sifilide deve essere proposto il test HIV e le vaccinazioni indicate secondo il tipo di esposizione (es. HAV, HBV, HPV, MPX) se non sono già stati vaccinati. Esiste una forte associazione epidemiologica tra sifilide e infezione da HIV, verosimilmente legata sia alla presenza di comportamenti sessuali a rischio sia alla presenza di ulcere e soluzioni di continuo delle mucose che possono costituire una porta d'entrata per HIV.

4.5 NOTIFICA E CONTACT TRACING

Tutti i casi di sifilide primaria, secondaria o latente recente sono soggetti a notifica obbligatoria.

I partner sessuali devono essere rintracciati e sottoposti a test. I test sierologici, se negativi, vanno in seguito ripetuti a 6 settimane e 3-6 mesi. Il tasso di positività nei contatti di un caso di sifilide primaria, secondaria e latente precoce può arrivare al 60%. Stante ciò, in caso di sifilide primaria dovrebbero essere rintracciati i partner dei 3 mesi precedenti le manifestazioni cliniche. In caso di sifilide secondaria questo tempo può essere esteso ai contatti avuti nei due anni precedenti. In caso di sifilide latente tardiva

Associazione Microbiologi Clinici Italiani
Ente del Terzo Settore

dovrebbero essere controllati i partner avuti anche in tempi più lunghi di due anni, in qualche caso anche gli eventuali figli.

AMCLI
associazione
microbiologi
clinici italiani
Ente del Terzo Settore

5. BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- Boog GHP, Lopes JVZ, Mahler JV, et al. Diagnostic tools for neurosyphilis: a systematic review. BMC Infect Dis. 2021;21(1):568.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Syphilis. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2019. Stockholm: ECDC; 2022.
- Ghanem KG, Ram S, Rice PA. The Modern Epidemic of Syphilis. N Engl J Med. 2020 Feb 27;382(9):845-854.
- Henninger ML, Bean SI, Lin JS. Screening for Syphilis Infection in Nonpregnant Adults and Adolescents: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. JAMA. 2022;328(12):1250-1252.
- Janier M, Unemo M, Dupin N, et al. 2020 European guideline on the management of syphilis. J Eur Acad Dermatol Venereol 2021;35(3):574-588.
- Luo Y, Xie Y, Xiao Y. Laboratory Diagnostic Tools for Syphilis: Current Status and Future Prospects. Front Cell Infect Microbiol. 2021;10:574806.
- Marangoni A, Foschi C, Capretti MG, et al. 2016. Early postnatal diagnosis of congenital syphilis: contribution of a comparative Western Blot method. Clin. Vaccine Immunol. 23:410-416.
- Ong JJ, Fu H, Smith MK, Tucker JD. Expanding syphilis testing: a scoping review of syphilis testing interventions among key populations. Expert Rev Anti Infect Ther. 2018;16(5):423-432.
- Ortiz DA, Shukla MR, Loeffelholz MJ. The Traditional or Reverse Algorithm for Diagnosis of Syphilis: Pros and Cons. Clin Infect Dis. 2020;71(Suppl 1):S43-S51.
- Park IU, Tran A, Pereira L, et al. Sensitivity and Specificity of Treponemal-specific Tests for the Diagnosis of Syphilis. Clin Infect Dis. 2020;71(Suppl 1):S13-S20.
- ProSPeRo Network. Standardised protocol for a prospective cross-sectional multicentre clinical utility evaluation of two dual point-of-care tests in non-clinical settings for the screening of HIV and syphilis in men who have sex with men. BMJ Open. 2022;12(6):e055275.
- Ren M, Dashwood T, Walmsley S. The Intersection of HIV and Syphilis: Update on the Key Considerations in Testing and Management. Curr HIV/AIDS Rep. 2021 Aug;18(4):280-288.
- Ropper AH. Neurosyphilis. N Engl J Med. 2019 Oct 3;381(14):1358-1363.
- Salfa MC, Ferri M, Suligoi B et al. Le Infezioni Sessualmente Trasmesse: aggiornamento dei dati dei due Sistemi di sorveglianza sentinella attivi in Italia al 31 dicembre 2020. Not Ist Super Sanità 2022;35(6):3-39
- Simpore A, Bazie BV, Zoure AA, et al. Performance of Molecular Tests in the Diagnosis of Syphilis From 2009 to 2019: A Systematic Review and Meta-Analysis. Sex Transm Dis. 2022;49(7):469-476.
- Thean L, Moore A, Nourse C. New trends in congenital syphilis: epidemiology, testing in pregnancy, and management. Curr Opin Infect Dis. 2022 Oct 1;35(5):452-460.
- Tsang RS, Shuel M, Hayden K, et al. Laboratory evaluation of two point-of-care test kits for the identification of infectious syphilis. Can Commun Dis Rep. 2022;48(2-3):82-88
- Tuddenham S, Katz SS, Ghanem KG. Syphilis Laboratory Guidelines: Performance Characteristics of Nontreponemal Antibody Tests. Clin Infect Dis. 2020;71(Suppl 1):S21-S42.
- Workowski KA, Bachmann LH, Chan PA, et al. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021. MMWR Recomm Rep. 2021;70(4):1-187.

Links utili

https://www.hpa-standardmethods.org.uk/

https://www.cdc.gov/STD/default.htm

https://www.who.int/std_dignostics

https://www.iusti.org/sti-information/pdf/guidelines.pdf

https://www.pnlg.it/tskfrc/cap26.php

https://testdirectory.questdiagnostics.com/test/test-guides/CF_Syphilis/syphilis-laboratory-support-for-screening-diagnosis-and-monitoring

https://www.canada.ca/en/public-health/services/infectious-diseases/sexual-health-sexually-transmitted-infections/canadian-guidelines/syphilis/screening-diagnostic-testing.html

Allegati

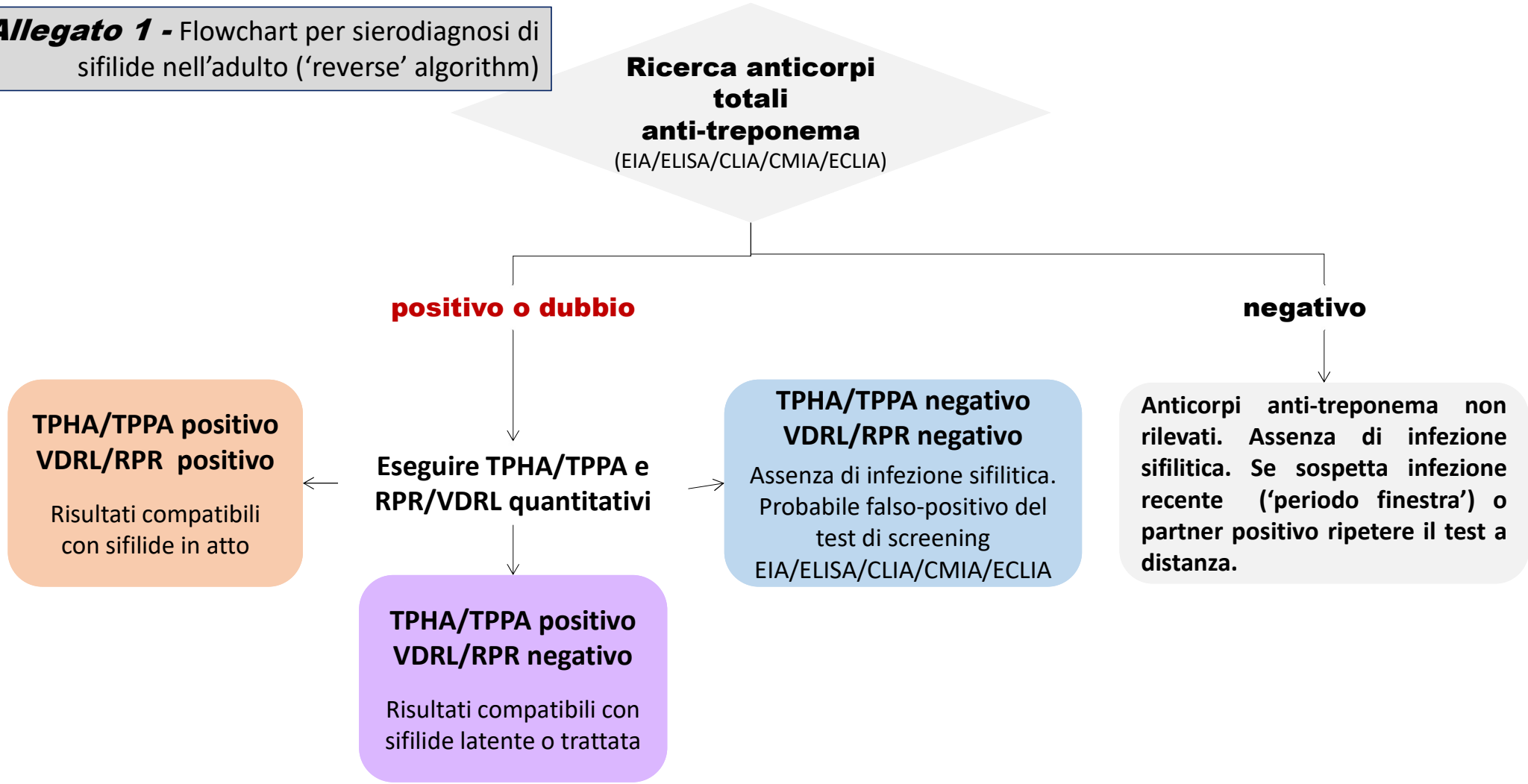
1-Flowchart per sierodiagnosi di sifilide nell'adulto ('reverse' algorithm)

2-Flowchart per diagnosi di sifilide congenita nel neonato

3-Esempi di referti di laboratorio

AMCLI
associazione
microbiologi
clinici italiani
Ente del Terzo Settore

Allegato 1 - Flowchart per sierodiagnosi di sifilide nell'adulto ('reverse' algorithm)



Allegato 2 - Flowchart per diagnosi di sifilide congenita nel neonato

Neonati nati da madre con sierologia positiva per sifilide

Nati da madri con trattamento effettuato prima della gravidanza o comunque >30 giorni prima del parto

Esecuzione RPR quantitativo, TPHA e WB IgG/IgM su siero

Nati da madre mai trattate o con trattamento inadeguato (<30 gg prima del parto o con farmaci diversi da penicillina)

- **Esecuzione RPR quantitativo, TPHA e WB IgG/IgM su siero**
- **Esecuzione VDRL, TPHA e WB IgG/IgM su liquor**

Tutti i neonati vengono inseriti in un follow-up con prelievi seriali a 3, 6, 9, 12 mesi e/o fino a eventuale negativizzazio

Allegato 3 – Esempi di referti di laboratorio

	Esame	Esito	Valori di riferimento	Interpretazione
Caso A	**Ab. anti *T. pallidum* IgG+IgM** *metodica: CMIA*	**Negativo**	/	*Anticorpi anti-treponema non rilevati. Assenza di infezione sifilitica. Se sospetta infezione recente ('periodo finestra') o partner positivo ripetere il test a distanza.*
Caso A	**Ab. anti *T. pallidum* IgG+ IgM** *metodica: CMIA*	**Positivo**	/	*Risultati compatibili con sifilide in atto*
	TPHA *metodica: agglutinazione*	**>=1/640**	≥1/80 = positivo 1/40 = indeterminato	
	***Ab anti T. pallidum* RRP quantitativo** *metodica: agglutinazione*	**Positivo** **1/4**	/	
Caso C	**Ab. anti *T. pallidum* IgG+ IgM** *metodica: CMIA*	**Positivo**	/	*Risultati compatibili con sifilide latente o trattata*
	TPHA *metodica: agglutinazione*	**>=1/640**	≥1/80 = positivo 1/40 = indeterminato	
	***Ab anti T. pallidum* RRP quantitativo** *metodica: agglutinazione*	**Negativo**	/	