

# *Trichomonas vaginalis*

## GENERALITÀ

Parassita flagellato, patogeno, che infetta il tratto urogenitale, l'uomo è l'unico ospite conosciuto. *T. vaginalis* appartiene al Regnum *Protozoa*, Phylum *Metamonada*, Subphylum *Trichozoa*, Classe *Trichomonadea* Ordine *Trichomonadida*, Famiglia *Trichomonadidae*, Genere *Trichomonas*. Il parassita varia, in misura ed aspetto, in base alle condizioni fisicochimiche dell'ambiente in cui si trova, e assume un aspetto piriforme in coltura, un aspetto ameboide a contatto con le cellule epiteliali vaginali.

*T. vaginalis* possiede cinque flagelli, quattro dei quali sono situati nella porzione anteriore, il quinto flagello è incorporato all'interno di una membrana ondulante che è supportata da una costa non contrattile. I flagelli e la membrana ondulante danno a questo parassita una motilità fremente caratteristica. In condizioni di crescita sfavorevoli, *T. vaginalis* può assumere forma rotonda e interiorizzare i flagelli. Il citoscheletro di *T. vaginalis* è composto di tubulina e fibre di actina, il nucleo si trova nella porzione anteriore del parassita, e, come in altri eucarioti, è circondato da una membrana nucleare dotata di pori. Una sottile struttura, chiamata assostilo, inizia dal nucleo e taglia in due il protozoo longitudinalmente, si sporge all'estremità posteriore del parassita, che termina con una punta; questa struttura potrebbe ancorare il parassita alle cellule epiteliali vaginali. All'interno del citoplasma sono presenti dei granuli, catalasi negativi, che producono idrogeno molecolare; prendono nome di idrogenosomi e sono importanti per il metabolismo. I granuli sono distinti in due gruppi: uno paracostale e parassostile. Il secondo è disposto lungo l'assostilo in tre file parallele, questa è una caratteristica distintiva di *T. vaginalis*. Sono stati riscontrati granuli di glicogeno, inoltre, *T. vaginalis* dimostra attività di idrolasi e contiene fagosomi.

## CICLO VITALE

Il ciclo vitale di *T. vaginalis* comprende soltanto lo stadio di trofozoite, non si riscontra fase di cisti; è un anaerobio facoltativo, si divide per scissione binaria, non sopravvive a lungo fuori dall'ospite. *T. vaginalis* è un parassita obbligato, non ha la capacità di sintetizzare molte macromolecole, in particolare purine, pirimidine, e molti lipidi. Questi nutrienti sono acquisiti dalle secrezioni vaginali o mediante fagocitosi di cellule batteriche o dell'ospite.

## TRASMISSIONE

L'infezione è stata rilevata in tutti i continenti, senza variabilità stagionale. Il parassita ha una distribuzione cosmopolita ed è stato identificato in tutti i gruppi razziali e strati sociali. L'incidenza stimata è più di 170 milioni di casi in tutto il mondo. La trasmissione avviene principalmente per via sessuale, si stimano circa 5 milioni di donne e 1 milione di uomini infetti negli Stati Uniti, le stime potrebbero comunque essere in difetto, in quanto per tale infezione non esiste obbligo di notifica, l'infezione è spesso asintomatica nei maschi, e i test diagnostici utilizzati nei laboratori hanno efficacia diversa. Altre forme di trasmissione sono:

1. Trasmissione non sessuale: *speculum*, effetti personali per igiene intima (rara in età adulta);
2. Trasmissione genitale: madre – neonato durante il parto (2-17% femmine nate da madri infette); - parassita in infezioni polmonari nei neonati.

In Italia, le informazioni disponibili sulla diffusione nazionale delle MST provengono dai dati riportati dal Ministero della Salute, che sono limitati alle sole malattie a notifica obbligatoria, cioè gonorrea, sifilide e pediculosi del pube. Non sono invece disponibili i dati sulla diffusione nazionale di altre MST che non sono a notifica obbligatoria quali, ad esempio, le patologie genitali provocate da *Chlamydia trachomatis*, da *Trichomonas vaginalis*, da HSV-1 e 2 e da HPV.

L'incidenza dell'infezione da *T. vaginalis* differisce in base alla popolazione presa in esame, si riscontra una incidenza maggiore in popolazione con:

1. Basso status socioeconomico;
2. Multipli partner sessuali;
3. Scarso livello di igiene personale

L'infezione da *T. vaginalis* ha importanti implicazioni mediche, sociali ed economiche, l'infezione nella donna predispone a rottura prematura delle membrane placentari, parto prematuro, e basso peso alla nascita. L'infezione si associa anche a: cancro della cervice, malattia infiammatoria pelvica atipica e infertilità e, come per altre malattie sessualmente trasmesse, può aumentare la predisposizione all'infezione dal virus HIV.

### **MANIFESTAZIONE CLINICA**

L'infezione da *T. vaginalis*, può causare, nella donna, vaginiti, cerviciti e uretriti, si può riscontrare una secrezione vaginale abbondante, liquida, verdastra, maleodorante e schiumosa. I sintomi iniziali, intenso prurito vaginale e vulvare e una abbondante secrezione, possono essere spesso improvvisi e associati alla mestruazione o seguire la stessa; una percentuale oscillante tra il 25-50% delle pazienti infette è asintomatica. L'infezione presenta una grande varietà di quadri clinici, dallo stato di portatore asintomatico a vaginite, con circa un terzo di pazienti infetti asintomatici che diventa sintomatica entro 6 mesi. *T. vaginalis* infetta principalmente l'epitelio squamoso del tratto genitale. L'infezione persiste per lunghi periodi nelle femmine, e solo per un breve periodo di tempo nei maschi; è principalmente una malattia dell'età riproduttiva, raramente si osserva prima del menarca o dopo la menopausa. Il periodo di incubazione varia da 4 a 28 giorni. A seconda della gravità dell'infezione, la tricomoniasi può essere classificata come acuta, cronica o asintomatica. Il quadro clinico dell'infezione acuta rivela diffusa vulvite a causa di leucorrea abbondante. Piccole chiazze emorragiche possono trovarsi nella mucosa vaginale e cervicale, questo aspetto maculato è stato definito come un aspetto "a fragola" e si osserva solo nel 2% delle pazienti. Questa sintomatologia è ciclica e peggiora intorno al periodo delle mestruazioni. Nell'infezione cronica, i sintomi predominanti sono lievi, con prurito e dispareunia, mentre la secrezione vaginale può essere molto scarsa e mista a muco. Questa forma è particolarmente importante dal punto di vista epidemiologico perché le pazienti sono la fonte principale di trasmissione del parassita. Il 25- 50% delle donne infette sono asintomatiche, hanno un pH vaginale normale da 3,8 a 4.2 e una normale flora vaginale, nel 20% delle pazienti si associa disuria. Le complicazioni all'infezione da *T. vaginalis* sono: infezioni alle ghiandole di Bartolini, annessiti, piosalpingite, endometrite, infertilità, basso peso alla nascita, erosione cervicale; l'infezione è anche associata con un aumento di trasmissione del virus HIV.

Le infezioni da *T. vaginalis* negli uomini possono essere classificate in tre gruppi:

1. Stato di portatore, identificato dalle indagini su partner sessuali infette;
2. Infezione acuta, caratterizzata da profusa uretrite purulenta;
3. Lieve malattia sintomatica, che è clinicamente indistinguibile da altre uretriti non gonococciche.

*T. vaginalis* è la causa del 11% dei casi di uretrite non gonococcica nei maschi, la durata dell'infezione è di 10 giorni o meno nella maggior parte dei pazienti. In pazienti sintomatici, i sintomi più comuni sono: secrezioni chiare o mucopurulente, disuria, e leggera sensazione di prurito o bruciore subito dopo un rapporto sessuale. Le complicanze associate all'infezione includono uretrite, prostatite, balanopostite, epididimite.

## DIAGNOSI CLINICA

La presenza di prurito, dispareunia, secrezioni giallo-verdastre maleodoranti e schiumose, un pH elevato, l'eventuale presenza della manifestazione "a fragola" permettono di effettuare una prima diagnosi clinica, la conferma viene però effettuata mediante analisi di laboratorio.

## DIAGNOSI DI LABORATORIO

La diagnosi di infezione da *T. vaginalis* viene effettuata generalmente mediante analisi di preparati "a fresco", da secrezioni vaginali o uretrali, secrezioni prostatiche e sedimento urinario, la sensibilità di tale metodo oscilla dal 50 al 70% in base all'adeguatezza del preparato, l'abilità del microscopista e dalla preservazione della vitalità del parassita, che perde la motilità velocemente appena allontanato dall'ospite. A causa della morfologia molto simile con *Pentatrichomonas hominis*, parassita intestinale non patogeno, nell'effettuare diagnosi di preparati "a fresco" bisogna escludere una contaminazione fecale del campione. I metodi colturali sono considerati il "gold standard", hanno una sensibilità superiore all'80%, esistono in commercio numerosi dispositivi per la ricerca colturale.

- L'osservazione di preparati fissati e colorati con Papanicolau, o Giemsa, possono evidenziare la presenza del parassita, che però spesso sono di difficile individuazione.
- Esistono test di agglutinazione al lattice, (Quick-Tri/Can) per la determinazione di *T. vaginalis* e *Candida* in campioni vaginali, con buona sensibilità e specificità per *T. vaginalis*.
- La diagnosi sierologica non è utile
- Esistono metodiche che sfruttano la tecnica di amplificazione di acidi nucleici (PCR), molto sensibili (> 90%) in campioni vaginali, un po' meno in urine (60-80% di sensibilità) (1)

## TERAPIA

Il trattamento di scelta, per l'infezione da *T. vaginalis* è il Metronidazolo, tutti i partner del paziente infetto devono eseguire la terapia; un fallimento nel trattamento con Metronidazolo è spesso causato da non compliance del paziente o da reinfezione.

Schemi terapeutici:

1. Metronidazolo: 2gr, oralmente, singola dose
2. Metronidazolo: 500mg, 2 volte/die per 7gg.

## VACCINO

Non disponibile

## PATOGENESI

Sebbene *T. vaginalis* sia stato intensamente studiato, e sia la più comune causa di infezioni sessualmente trasmesse, l'esatto meccanismo patogenetico non è stato ancora determinato. Si pensa che siano implicati diversi meccanismi, tra cui:

- Adesione cellulare;
- Emolisi;
- Escrezione di fattori solubili (proteinasi extracellulari e "Cell detaching factors");
- Interazione con la flora residente;
- Meccanismi di elusione del sistema immunitario dell'ospite;

La relazione ospite-parassita è molto complessa, e la vasta gamma di sintomi clinici non può essere attribuita ad un singolo meccanismo patogenetico. La superficie cellulare del parassita sembra svolgere un ruolo primario nei meccanismi di adesione, interazione ospite-parassita, e acquisizione di nutrienti, attività in cui sono implicate le proteine e glicoproteine di superficie.

### Adesione cellulare

L'adesione alle cellule epiteliali vaginali è un passaggio critico nella patogenesi della parassita, e risulta dipendente dal tempo di contatto, dalla temperatura, e dal pH. Il parassita appare più incline a parassitare linee cellulari epiteliali vaginali rispetto ad altri tipi cellulari (studi in vitro). La superficie del parassita è un mosaico di adesine, recettori per proteine e carboidrati della matrice extracellulare dell'ospite, che forniscono la base per il legame ligando- recettore. L'adesione del parassita alle cellule epiteliali sembra essere mediata da quattro proteine di adesione: AP65, AP51, AP33 e AP23. Le adesine sono espresse sulla superficie in modo alternato e con la coespressione di una proteina altamente immunogena, la proteina P270. L'espressione genica delle quattro adesine è stimolata, a livello trascrizionale, dal ferro. Il meccanismo di adesione sembra avere necessità della presenza di "Cisteina proteinasi". È stato osservato che il sito di contatto del parassita con le cellule epiteliali è quello opposto alla membrana ondulante e al flagello, e che microfilamenti si concentrano nel lato del parassita in contatto con le cellule epiteliali. *T. vaginalis* possiede proteine di superficie che legano la laminina, localizzate su tutta la superficie cellulare, la laminina è una glicoproteina di membrana, è localizzata sulle cellule epiteliali e promuove l'adesione cellulare, la differenziazione, la motilità, in cellule normali, e ha proprietà chemiotattiche. Si è evidenziata la capacità di *T. vaginalis* di aderire a supporti plastici coniugati con laminina e la capacità di endocitare particelle coniugate con laminina. Recettori simili sono stati riscontrati in batteri, macrofagi e cellule tumorali, ma il loro ruolo nella patogenicità del parassita non è ancora chiarito. *T. vaginalis* ha recettori per la fibronectina, glicoproteina di adesione della matrice extracellulare, non si è dimostrato però se questo legame sia implicato nel meccanismo di acquisizione di nutrienti, adesione, o una combinazione dei due processi. Sulla superficie del parassita è stata evidenziata la presenza di carboidrati che legano la lectina (D lattosio e N acetil D glucosamina), e che sembrano associati a virulenza, nello specifico a emolisi degli eritrociti, fagocitosi di cellule bersaglio, e possono essere associati a meccanismi di resistenza. Le lectine endogene sulla superficie del parassita possono svolgere un ruolo nei processi di adesione. È stata rilevata l'espressione da parte del parassita, sia sulla sua superficie cellulare, che nei brodi di coltura, dell'enzima neuraminidasi, che potrebbe avere un ruolo nei processi di adesione cellulare operando lisi dei legami di acido sialico sulla superficie delle cellule dell'ospite. L'adesione comunque non correla con la virulenza, in quanto ceppi di parassiti virulenti, isolati da pazienti sintomatici, esprimono differenti capacità di adesione alle cellule dell'ospite.

### Emolisi

La mucosa vaginale può essere, per il parassita, un ambiente povero di nutrienti, considerando l'incapacità del parassita di sintetizzare lipidi e la notevole richiesta di ferro, si può comprendere come gli eritrociti possano essere una fonte primaria di lipidi e ferro. L'attività di emolisi è massima al pH di 4,5, suggerendo che il parassita vive bene nell'ambiente vaginale. La lisi degli eritrociti sembra essere mediata da recettori presenti sulle superfici cellulari del parassita e dell'eritrocita, e sembra avvenga con l'intervento di proteine tipo perforine. Sono state identificate cinque adesine, tre delle quali identiche a quelle che intervengono nel processo di adesione alle cellule epiteliali; è stata osservata una attività fagocitica del parassita nei confronti degli eritrociti. L'attività emolitica correla con la virulenza.

### Proteinasi

*T. vaginalis* ha da undici a ventitré distinte "cisteina proteinasi" (CPs), la maggior parte delle quali sono lisosomiali, e svolgono un ruolo importante nella patogenesi del parassita. Le proteinasi sono state implicate nell'attività di emolisi degli eritrociti, e sono implicate nei processi di adesione alle cellule epiteliali. Le cisteina proteinasi del parassita sono in grado di degradare le immunoglobuline G e A, presenti in vagina.

### Meccanismo di patogenicità indipendente dal contatto e Cell Detaching Factor

Nella patogenicità di *T. vaginalis* sono implicati meccanismi indipendenti da contatto cellulare, alcuni autori hanno rilevato che filtrati di brodo di coltura di parassita (quindi privi di parassita) hanno gli stessi effetti deleteri del parassita su colture cellulari; il pH e la presenza di metaboliti acidi possono avere un ruolo in questa azione, ma si è evidenziato il rilascio da parte del parassita, di altri fattori con effetto citopatico. Un prodotto di *T. vaginalis*, Cell Detaching Factor (CDF), ha un effetto citopatico sulle colture cellulari; quando applicato in vitro a un monostrato di coltura cellulare, le cellule si staccano, si raggruppano, ma rimangono vitali. Il distacco dei monostrati di cellule in vitro è analogo alla desquamazione delle cellule epiteliali vaginali osservato in infezioni acute. Il ruolo patogenetico di CDF è supportato dall'osservazione che *Pentatrichomonas hominis*, specie non patogena, non mostra l'attività CDF. CDF, è un fattore extracellulare, ed è risultato essere costituito da una glicoproteina di 200 kDa, sensibile al calore e al pH, si è osservato che la concentrazione di CDF nei filtrati di terreno di coltura di *T. vaginalis* dipende da tre fattori:

- tempo di crescita del parassita,
- dimensione dell'inoculo iniziale,
- pH.

L'attività del CDF è influenzata dal pH, il valore ottimale è di circa 7,2, tuttavia, si è riscontrata attività per valori compresi tra 5.0 a 8.5, e inattività a pH inferiore a 4.5. Ciò è di rilevanza clinica in quanto il pH normale della vagina è di 4,5, ma è superiore a 5,0 durante la tricomoniasi; l'aumento del pH vaginale durante la tricomoniasi può quindi essere cruciale nella patogenesi della malattia. I livelli di CDF correlano con la gravità dei sintomi clinici di vaginite. CDF è immunogenico, viene inattivato da sieri umani reattivi a *T. vaginalis*, la presenza di anticorpi a livello vaginale può diminuirne gli effetti. Non è ancora chiaro se la gravità dei sintomi dell'infezione è da annoverare alla concentrazione, all'attività, alla immunogenicità, o a una combinazione dei tre fattori. La produzione del fattore CDF può essere influenzata dalla concentrazione di estrogeni nella vagina, esperimenti in vitro hanno evidenziato una diminuzione di CDF in presenza di b-estradiolo. La massima riduzione è stata osservata a concentrazione di estradiolo compresa tra  $10^{-7}$  M e  $10^{-8}$  M, ciò è di rilevanza clinica in quanto i livelli sistemici di b-estradiolo sono compresi tra  $10^{-8}$  M e  $10^{-9}$  M, ciò può spiegare il peggioramento dei sintomi in prossimità del flusso mestruale, quando i livelli di estrogeni sono più bassi, così come il miglioramento dei sintomi della malattia dopo somministrazione di estrogeni a livello vaginale, pur senza l'eradicazione della malattia.

### Interazione con la flora vaginale

L'insediamento del parassita in vagina è difficile da comprendere in quanto il pH vaginale è di norma molto acido e il parassita riesce a vivere in ambiente con pH >5; la relazione tra *T. vaginalis* e la flora lattobacillare non è stata ancora pienamente compresa. Per effetto dell'infezione da *T. vaginalis* si verifica un innalzamento marcato del pH, una riduzione della flora lattobacillare e un incremento della proporzione di batteri anaerobi. In vitro, sembra che, in un ambiente a pH controllato, i lattobacilli non influenzino la crescita del parassita che comunque ha un effetto deleterio su *L. acidophilus*. È stato osservata attività fagocitica da parte di *T. vaginalis* nei confronti dei lattobacilli, l'attività del fattore CDF o di proteinasi secrete dal parassita potrebbero distruggere la flora lattobacillare.

### Elusione del sistema immunitario dell'ospite

*T. vaginalis* riesce ad insediarsi e prosperare in un ambiente ostile e mutevole, la sua capacità di elusione del sistema immunitario dell'ospite è un importante fattore patogenetico, e viene esplicita mediante elusione del sistema del complemento. Il muco cervicale presenta un ambiente in cui c'è ridotta attività da parte del sistema del complemento, il sangue mestruale è l'unica fonte di complemento a cui il parassita è sottoposto, ma comunque il sangue mestruale presenta circa la metà di attività del complemento rispetto al sangue venoso, e circa un terzo dei campioni di sangue mestruale non mostra attività del complemento. Durante il flusso mestruale si verifica una riduzione

del numero di parassiti in vagina ma si verifica un acuirsi dei sintomi della malattia, perché i fattori di virulenza del parassita sono mediati dalla disponibilità di ferro, abbondante nel periodo mestruale. Anche la resistenza al complemento aumenta in presenza di ferro, sembra che questo elemento porti una stimolazione dell'espressione di proteinasi, sulla superficie del parassita, in grado di degradare la frazione C3 del complemento. Alcuni autori hanno evidenziato due classi di marcatori alternativamente espressi sulla superficie del parassita: glicoproteine altamente immunogene (P270) e adesine (AP65, AP51, Ap53, Ap23). Sono state evidenziati due tipi di isolati del parassita: tipo I e tipo II, tutti sintetizzano la proteina P270, ma solo il tipo II può passare dall'espressione della proteina in superficie all'espressione citoplasmatica, sono così possibili due fenotipi: A<sup>+</sup>B<sup>-</sup> (P270 positivi) e A<sup>-</sup>B<sup>+</sup> (P270 negativi).

Il fenotipo positivo manca di adesine e non può aderire alle cellule dell'ospite e parassitarle, solo i parassiti con fenotipo negativo esprimono le adesine e possono aderire alle cellule. In vivo si osserva un passaggio da fenotipo positivo a negativo; dopo prolungata coltura in vitro, i parassiti ritornano al fenotipo positivo. La proteina P270 è altamente immunogenica, gli organismi che la esprimono sulla superficie sono suscettibili di lisi mediata dal complemento, in vitro; Sulla superficie di tutti i parassiti è espressa un'altra molecola altamente immunogenica (la P230) che subisce variazioni conformazionali per eludere la risposta immunitaria (variazione fenotipica degli epitopi). Le IgG vaginali, reattive contro la proteina P230 non mostrano effetto citolitico, anche in presenza del complemento, inoltre la risposta anticorpale è ristretta a uno o pochi epitopi sulla molecola, ciò permette al parassita di evitare l'opsonizzazione. Oltre a questi meccanismi, *T. vaginalis* possiede altri metodi di evasione del sistema immunitario, sono state infatti riscontrate proteinasi in grado di degradare le IgG, IgM, IgA dell'ospite; il parassita inoltre rilascia abbondanti quantità di antigeni solubili altamente immunogenici, che possono neutralizzare gli anticorpi o i linfociti T citotossici, cortocircuitando così i meccanismi di difesa dell'ospite; per ultimo, il parassita può ricoprirsi di proteine plasmatiche dell'ospite e nascondersi al sistema immunitario.

#### Adattamento all'ambiente mutevole

*T. vaginalis* ha sviluppato meccanismi di adattamento all'ambiente vaginale, molto mutevole; durante la mestruazione si ha un influsso di eritrociti, macromolecole dell'ospite, costituenti del siero ematico e un notevole cambiamento di pH, ma il parassita resiste e l'infezione persiste. Il flusso mestruale fornisce al parassita i nutrienti, ma anche fonte di ferro che è un fattore chiave nella sua regolazione genica, stimolando l'espressione di geni per adesine, immunogeni e proteinasi che sono utili al parassita per resistere allo stress ambientale cui è sottoposto. Il parassita ha sviluppato meccanismi di resistenza allo stress ossidativo, l'esposizione a perossido d'idrogeno stimola la produzione di varie "heat shock protein" che agiscono da "chaperonine" e aiutano la cellula a resistere all'innalzamento e abbassamento repentino nella sintesi proteica causato dallo stress ambientale.

## Conclusioni

La tricomoniasi non è solo una malattia fastidiosa, ma una sgradevole, irritante e pericolosa patologia che può passare inosservata per anni ed essere trasmessa attraverso partner asintomatici. È la malattia sessualmente trasmessa, non virale, più diffusa al mondo, è fortemente associata a complicazioni in gravidanza e ad un incremento nella trasmissione del virus HIV.

Il trattamento di tutti gli individui infetti, sintomatici e non, sarebbe di aiuto nel limitare la diffusione. La resistenza al metronidazolo è comunque in aumento e potrebbe arrivare il momento in cui tale farmaco non sarà più attivo, inoltre il metronidazolo non può essere utilizzato per tutti i pazienti e sarebbe necessario sviluppare trattamenti con molecole diverse dalla famiglia del nitroimidazolo. Lo sviluppo di un vaccino sarebbe auspicabile, soprattutto per le aree ad alta prevalenza. *T. vaginalis* è un organismo molto complesso, per la sua biochimica e i suoi meccanismi di patogenicità, dallo studio approfondito di questi aspetti e dalla comprensione del ruolo del sistema immunitario dell'ospite potranno scaturire nuove e più efficaci strategie di intervento.

## **Bibliografia**

1. Patrick R. Murray *et al.*: Manual of Clinical Microbiology, 2003
2. M.C. Salfa *et al.*: La Sorveglianza delle Malattie Sessualmente Trasmesse basata su una rete di centri clinici: 18 anni di attività, *Not Ist Super Sanità* 2012;25(2):3-10
3. Systema Naturae 2000 / Classification
4. Dino Petrin *et al.*: Clinical and Microbiological Aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clinical Microbiology Reviews*, apr 1998, p 300-317.