



Associazione Ginecologi
Extra Ospedalieri

VI CORSO BASE

COLPOSCOPIA

Diagnostica e Operativa del Basso Tratto Genitale
8-9-10 Novembre 2018 MILANO



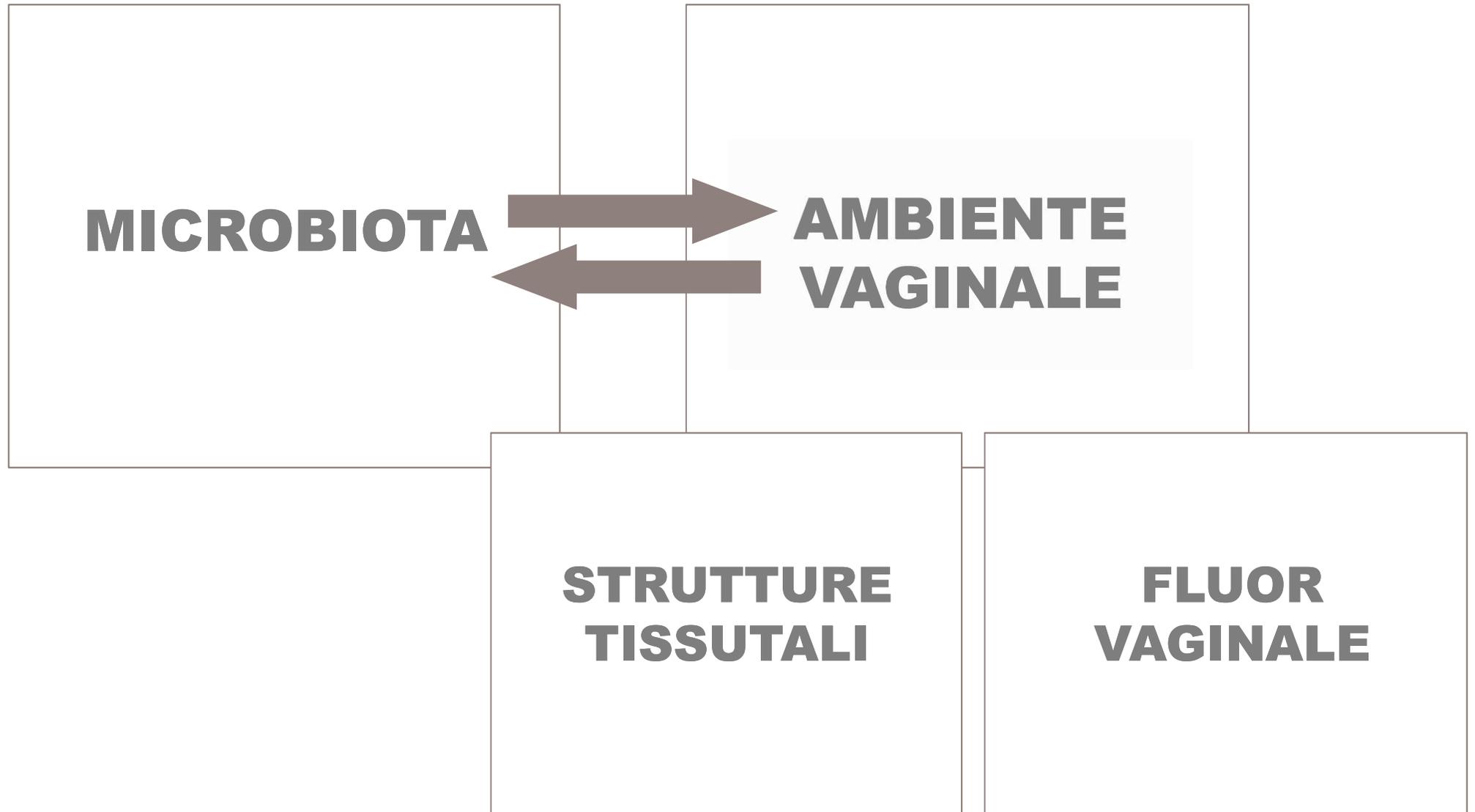
Presidenti: *B. Stefanon, G. Bandieramonte*

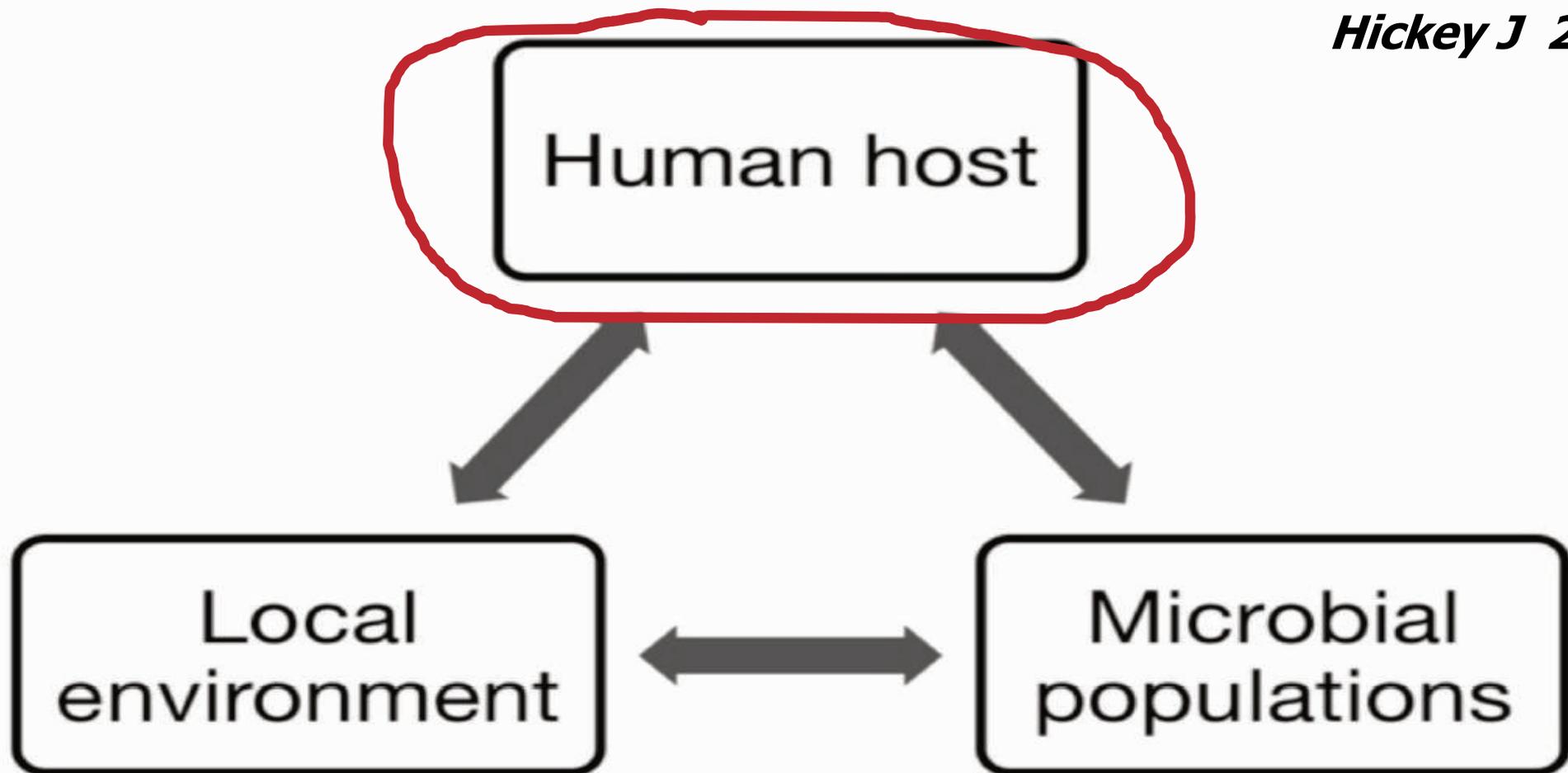
APPROCCIO DIAGNOSTICO ALLA PATOLOGIA VAGINALE

**L'ECOSISTEMA
SINTOMI E SEGNI
L'ESAME BATTERIOLOGICO
COME E QUANDO**

**Brunella Guerra
Bologna**

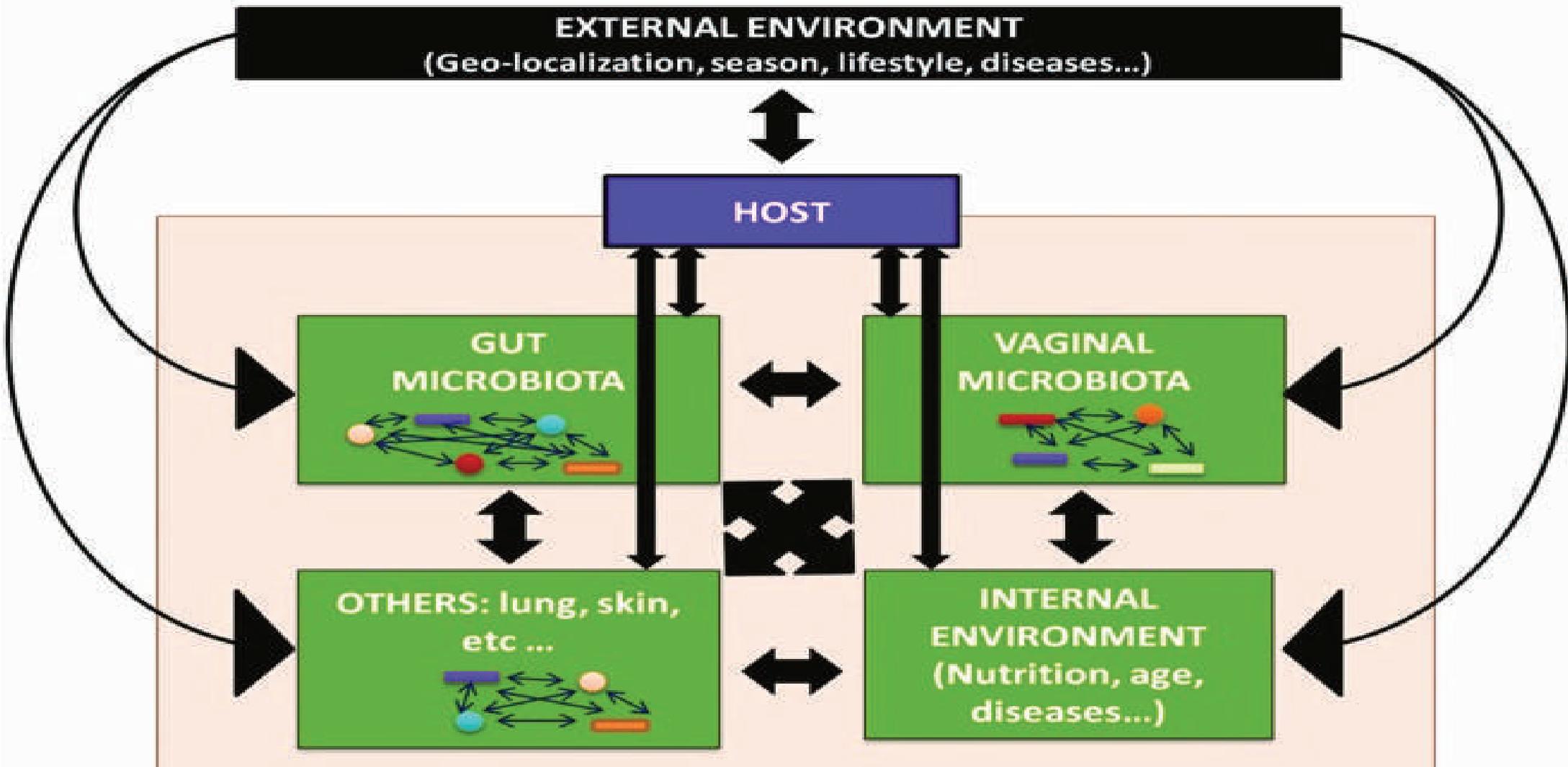
ELEMENTI COSTITUENTI L' ECOSISTEMA VAGINALE





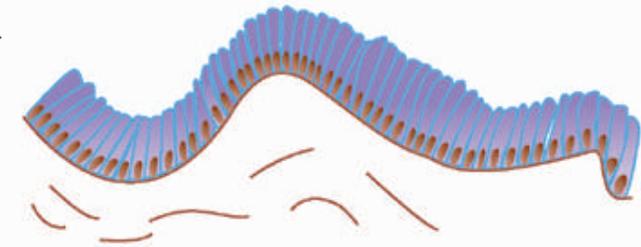
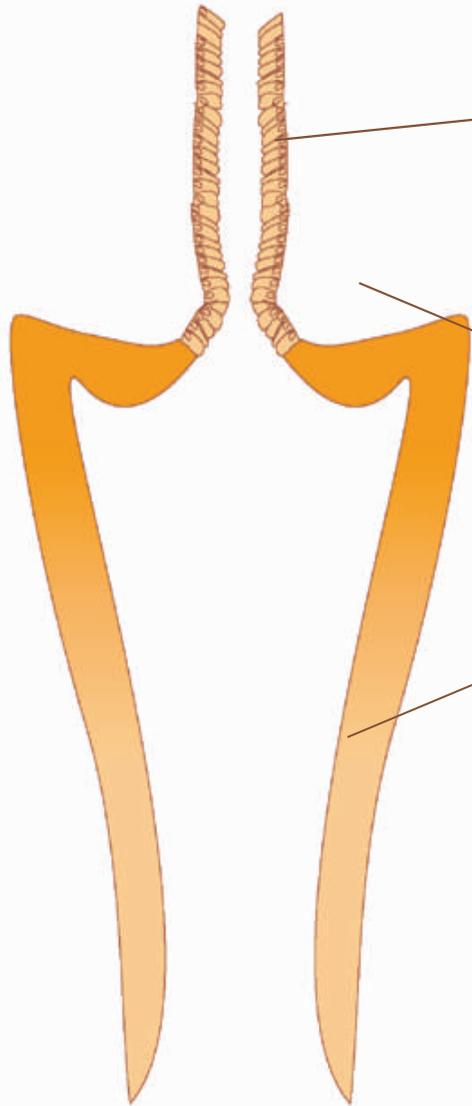
L'ecosistema vaginale è strettamente influenzato dalle popolazioni microbiche residenti e dall'ambiente locale e inoltre condizionato dalle caratteristiche dell'ospite

The role of metagenomics in understanding the human microbiome in health and disease

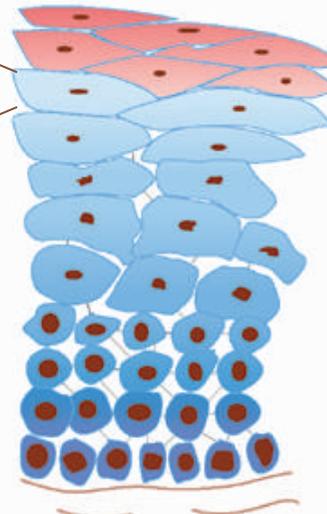


Martin R et al, 2014

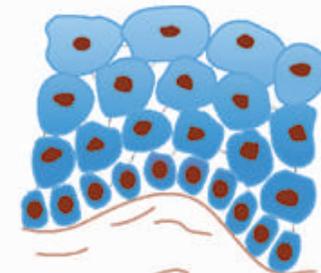
EPITELI DI RIVESTIMENTO DELLA NICCHIA VAGINALE



EPITELIO CILINDRICO



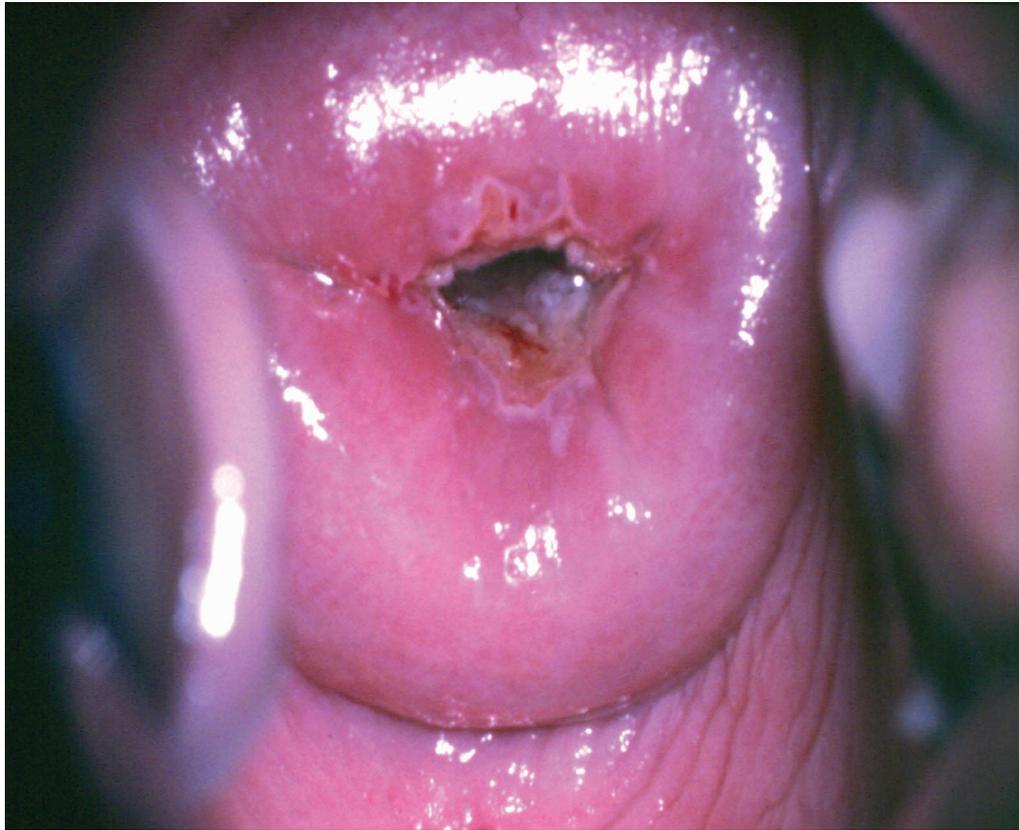
EPITELIO QUAMOSO
TROFICO



EPITELIO QUAMOSO
ATROFICO

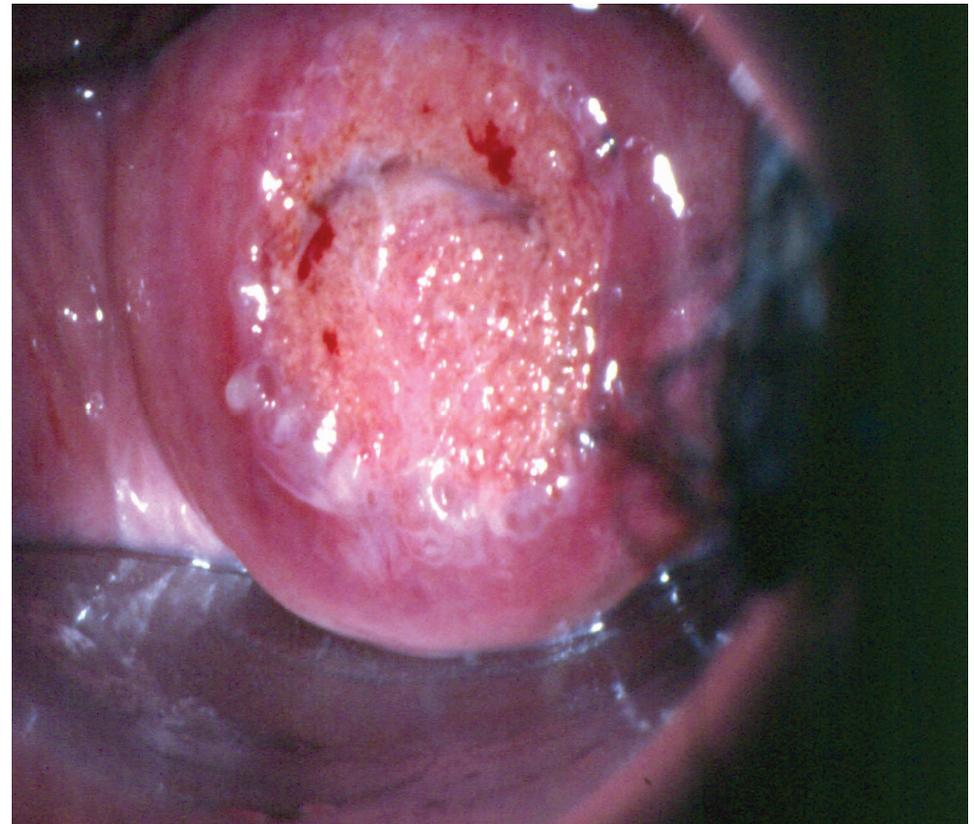
In condizioni fisiologiche l'epitelio squamoso riveste quasi per intero le pareti vaginali, l'epitelio cilindrico è presente limitatamente all'area prospiciente l'orifizio uterino esterno

EPITELI DI RIVESTIMENTO DELLA NICCHIA VAGINALE



In caso di ectopia o ectropion la nicchia vaginale risulta rivestita anche da epitelio cilindrico in corrispondenza della cervice uterina

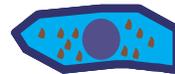
◁ Quando la giunzione squamo-cilindrica coincide con l'orifizio uterino esterno anatomico la nicchia vaginale risulta rivestita quasi esclusivamente da epitelio squamoso



COMPONENTE TISSUTALE

Epitelio squamoso di rivestimento

- Strato superficiale
- Strato intermedio
- Strato parabasale
- Strato basale



Barriera chimica
(ac.lattico)

Sottomucosa

Cellule mobili

Leucociti → IgG, IgA, cellule T
→ Immunità umorale e cellulomediata

Macrofagi → Enzimi proteolitici
Mastzellen →

Cellule permanenti

Fibroblasti → Fibrille

Reticolari → Lamina basale

Fibrille tipo collagene

Elastiche → Pareti capillari

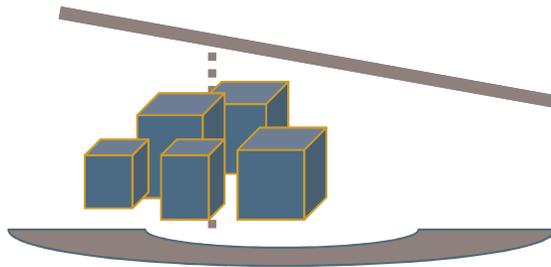
Sostanza fondamentale

— materiale anisto proteico

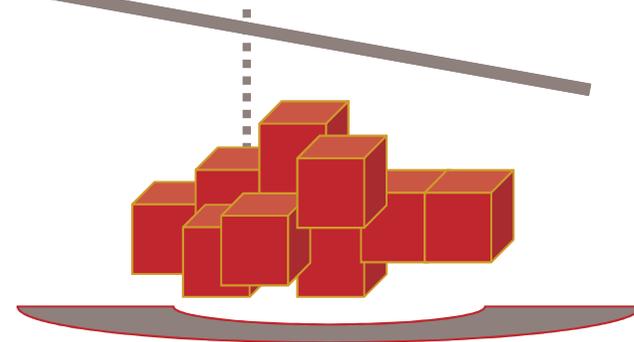
Risposta immunitaria

DIFESE IMMUNITARIE

Immunità umorale



Immunità cellulare



E' l'immunità cellulare piuttosto che quella umorale a giocare un ruolo critico nel contesto dei meccanismi difensivi vaginali

TH1

IL-2

IL-8

IL-6

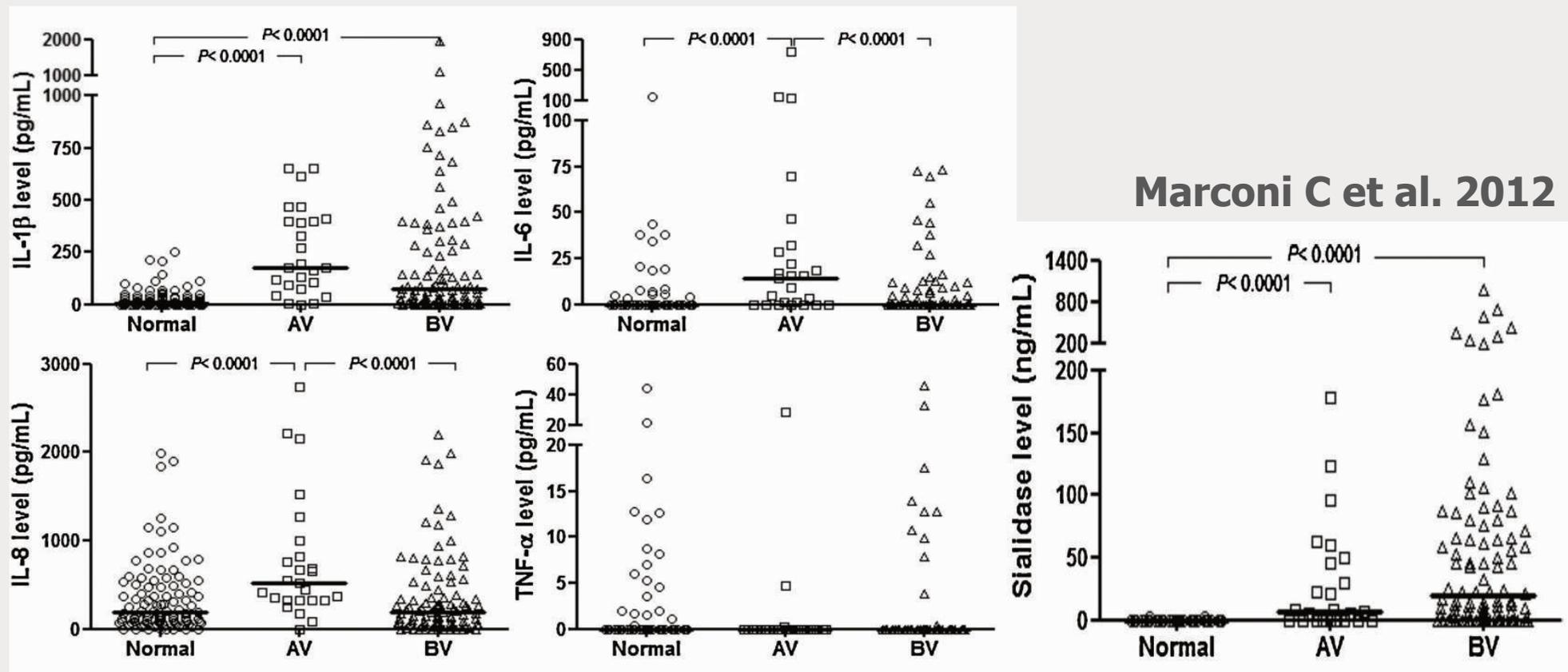
TNF-a

IL-12

IL-1b

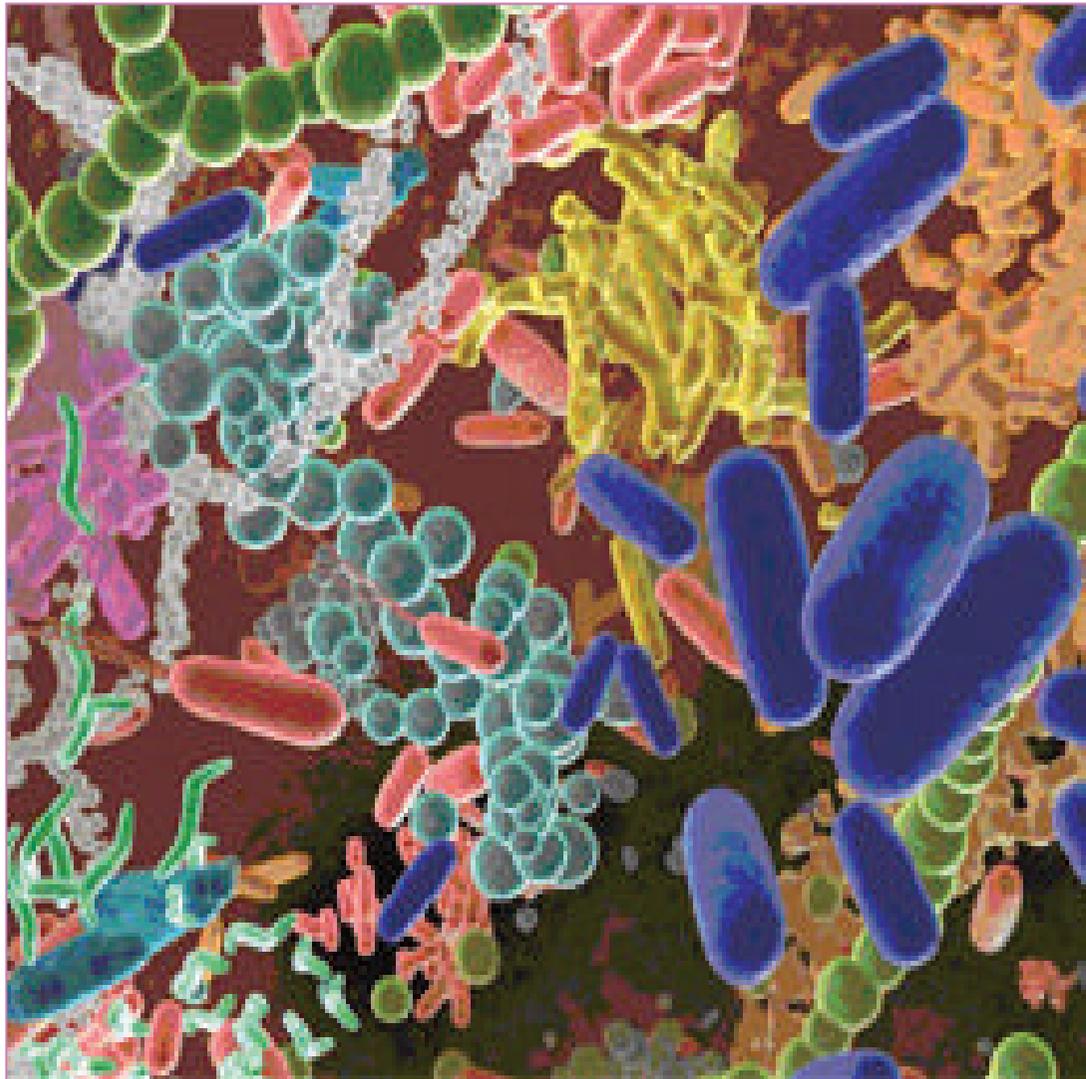
IFN- γ

LEVELS OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES AND SIALIDASE ACTIVITY IN AEROBIC VAGINITIS IN RELATION TO NORMAL VAGINAL FLORA AND BACTERIAL VAGINOSIS



Marconi C et al. 2012

- Alti livelli di IL-1 β in AV e in BV ($p < 0.0001$) rispetto a donne con flora normale
- Alti livelli di IL-6 in AV ($p < 0.0001$) rispetto a donne con flora normale o BV
- Accresciuti livelli di IL-8 in AV ($p < 0.001$) rispetto a donne con flora normale o BV
- Accresciuti livelli di sialidasi in AV e BV ($p < 0.0001$) vs donne con flora normale



MICROBIOTA VAGINALE

*Insieme dei microrganismi
che popolano la vagina
in equilibrio dinamico tra
loro e con l'ambiente*

MICROBIOMA : insieme dei geni dei batteri

MICROBIOTA VAGINALE

Microrganismi isolabili dalla vagina di donne sane

AEROBI

Streptococchi A (piogeni)
Streptococchi B (agalactiae)
Streptococchi D (faecalis)
Stafilococchi epidermidis

Cocchi gram-positivi

ANAEROBI

Peptococchi
Peptostreptococchi

Lattobacilli

10⁷ – 10⁸
CFU /g di fluido vaginale

Anaerobi / Aerobi

2 - 5 / 1

Gardnerella vaginalis
Klebsiella pneumoniae
Enterobacter Spp
Proteus Spp
Pseudomonas Spp

Bacteroides
Prevotella
Mobiluncus

Altri microrganismi

Micoplasmi Urogenitali, Candida spp.

MICROBIOTA VAGINALE

LATTOBACILLI

- Gruppo eterogeneo di batteri gram-positivi, aerobi facoltativi, di varie dimensioni, di forma bastoncellare
- Antiche denominazioni:
 - Bacillus vaginae*
 - Bacillus Döderlein* (1892)
 - Lactobacillus acidophilus* complex (1928)
 - Lactobacillus spp.* (1980)



Community groups or Community State Type (CST)

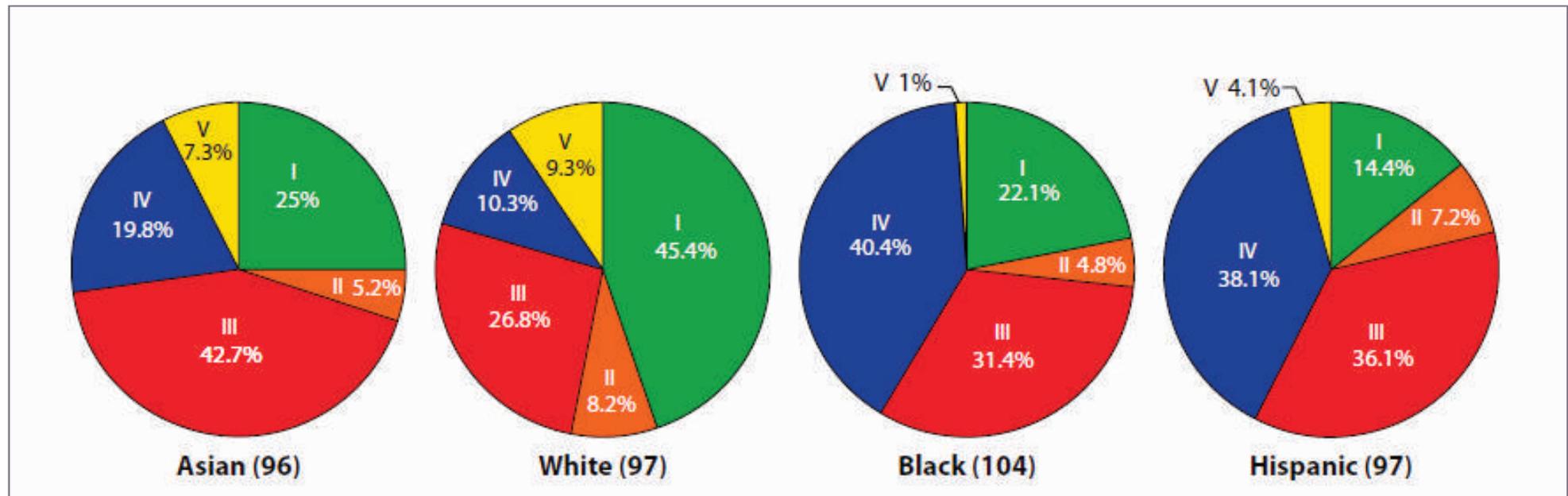
I	L. Crispatus
II	L. Gasseri
III	L. Iners
IV A	Diversity group *
IV B	
V	L. Jensenii

* Gruppo eterogeneo caratterizzato dalla scarsità di lattobacilli e da una maggiore proporzione di batteri anaerobi o facoltativi (*Prevotella*, *Aopobium*, *Gardnerella*, *Dialister*, *Megasphaera*, *Peptoniphilus*, *Sneathia*, *Eggerthella*, *Aerococcus*, *Finegoldia*, *Mobiluncus*..)

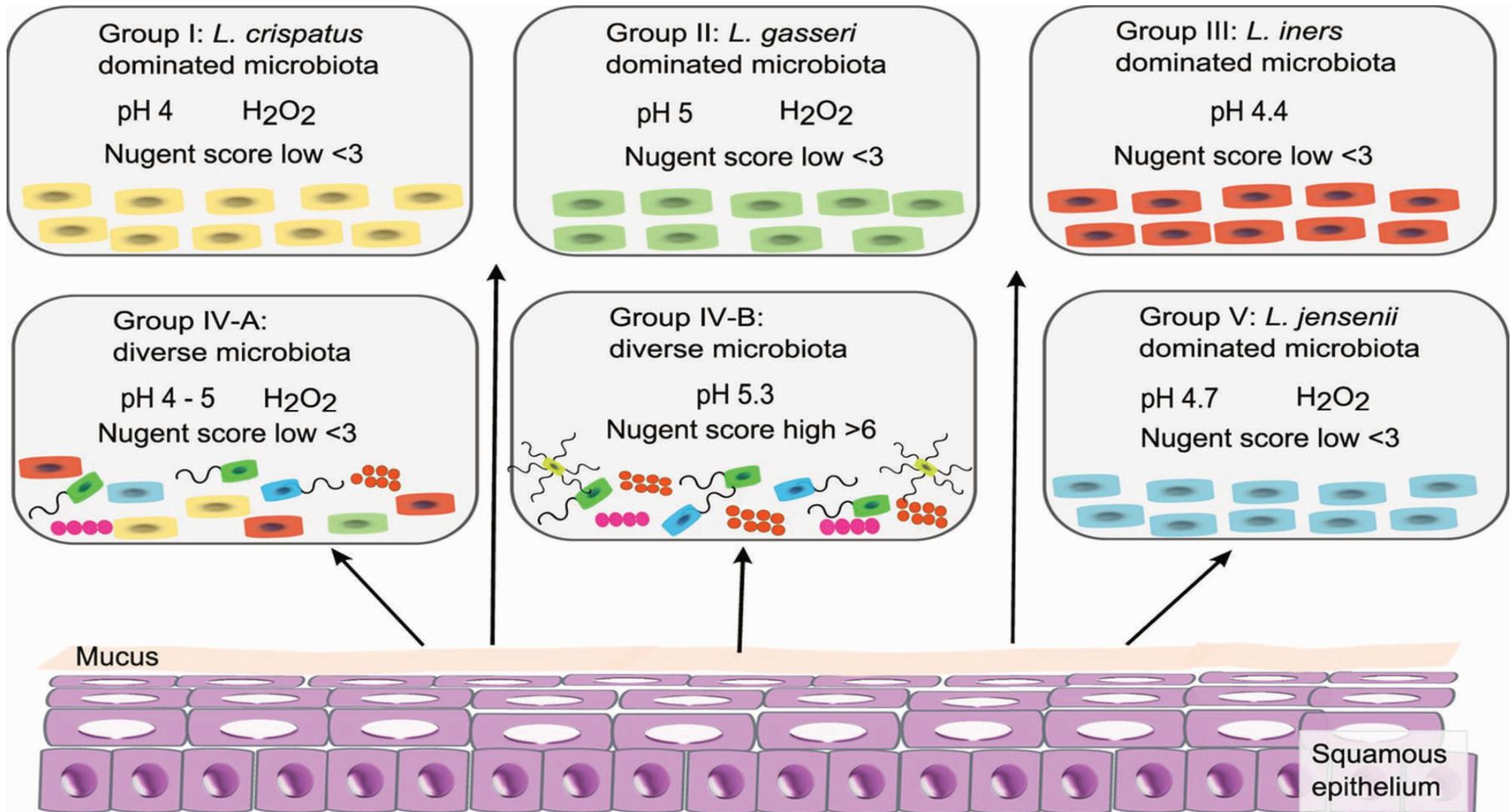
Ravel J. et al, 2011 – Gajer P. et al, 2012

Vaginal microbiome of reproductive-age women

Representation of vaginal bacterial community groups within each ethnic group of women.



Ravel J. Et al, 2011



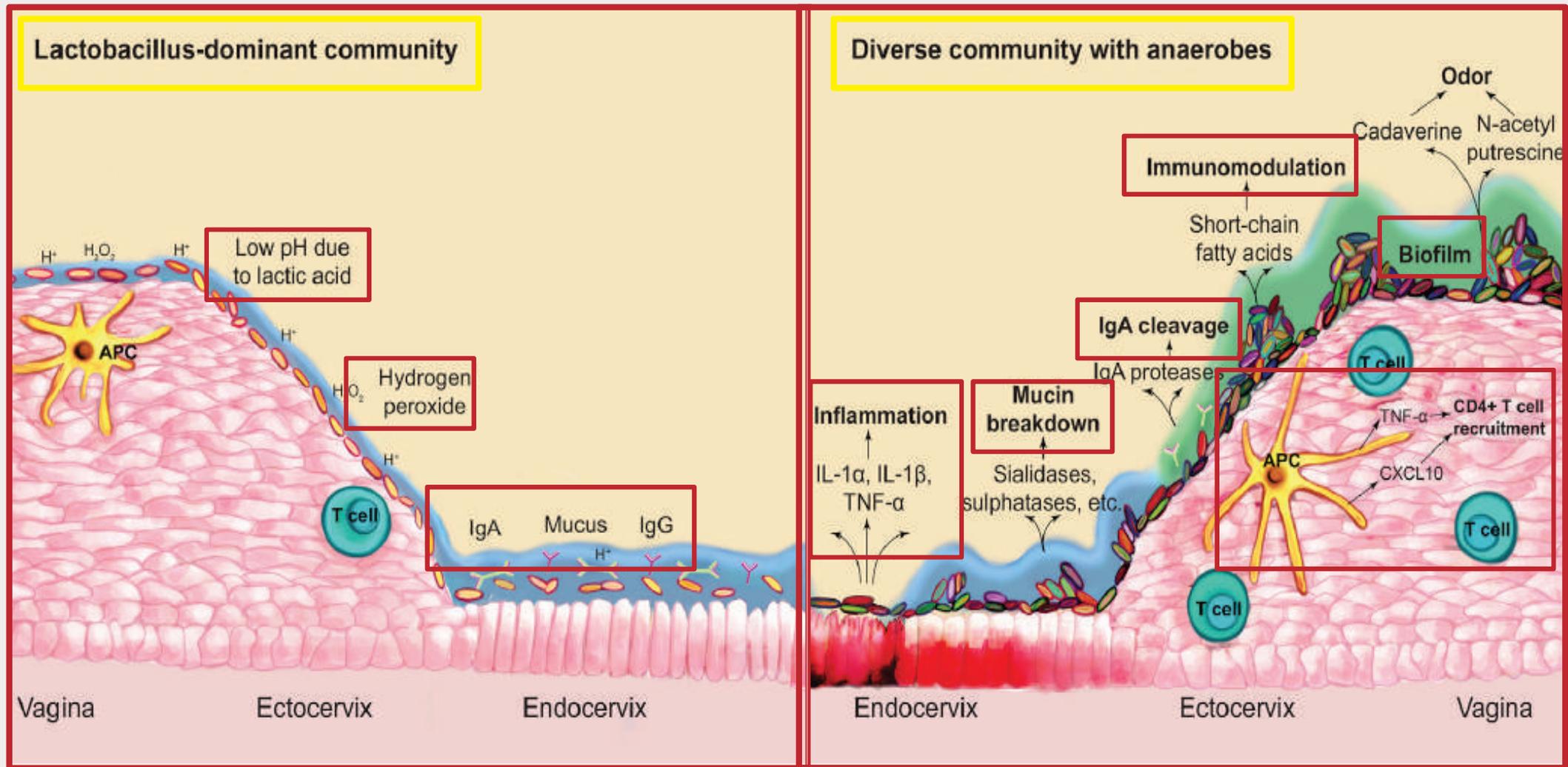
CST IV-A: Peptoniphilus, Anaerococcus, Corynebacterium, Finegoldia, Prevotella e poche altre specie.

CST IV-B: Prevalenza del genere Atopobium + *L.iners* + Prevotella, Sneathia, Gardnerella, Parvimonas, Mobiluncus e altre batteri associati a VB.

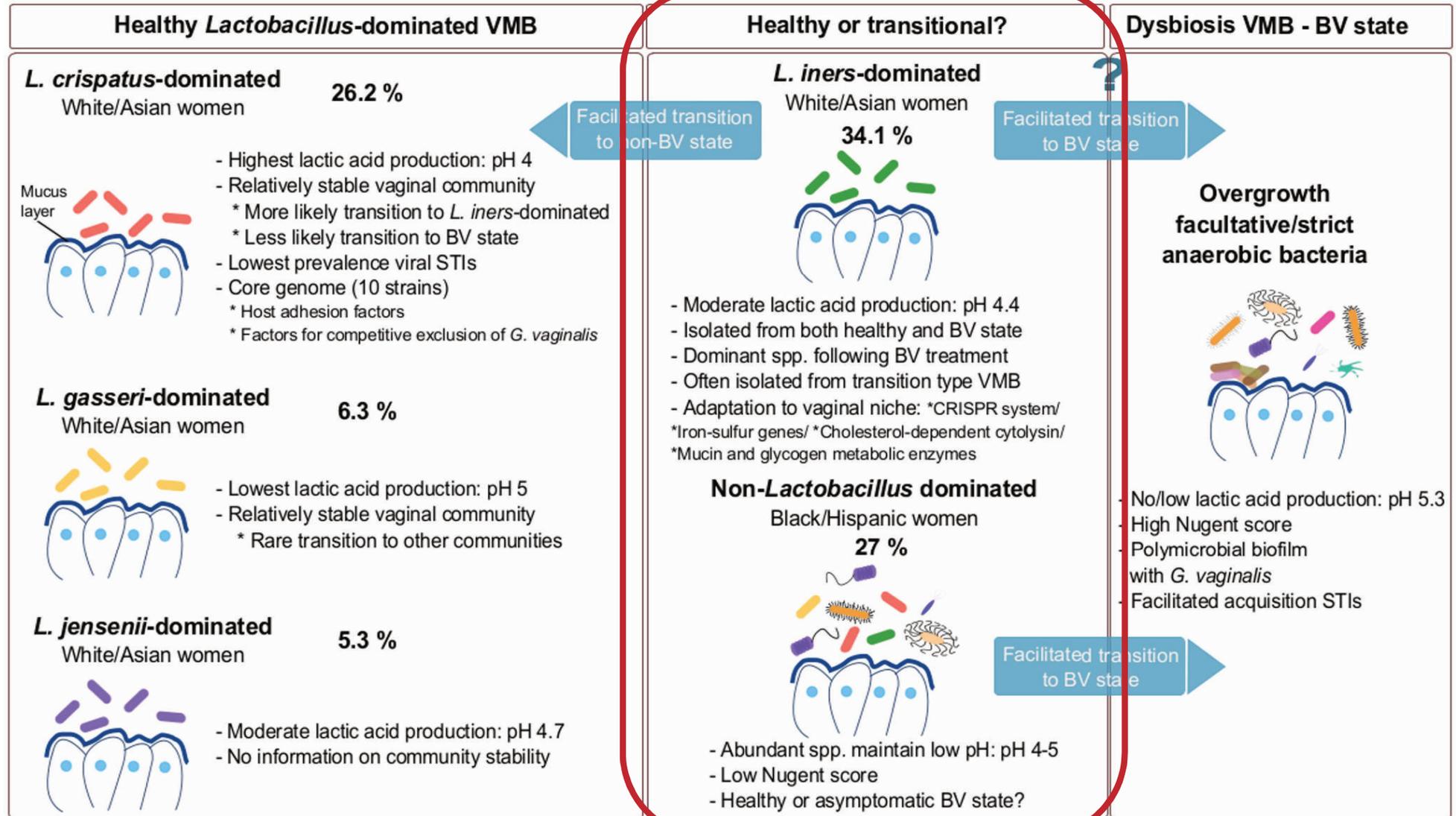
Cervicovaginal Microbiota and Reproductive Health: The Virtue of Simplicity

Anahtar MN. et al, Cell Host & Microbe 2018

Review



Composition of VMB during healthy and dysbiotic states



MICROBIOTA VAGINALE

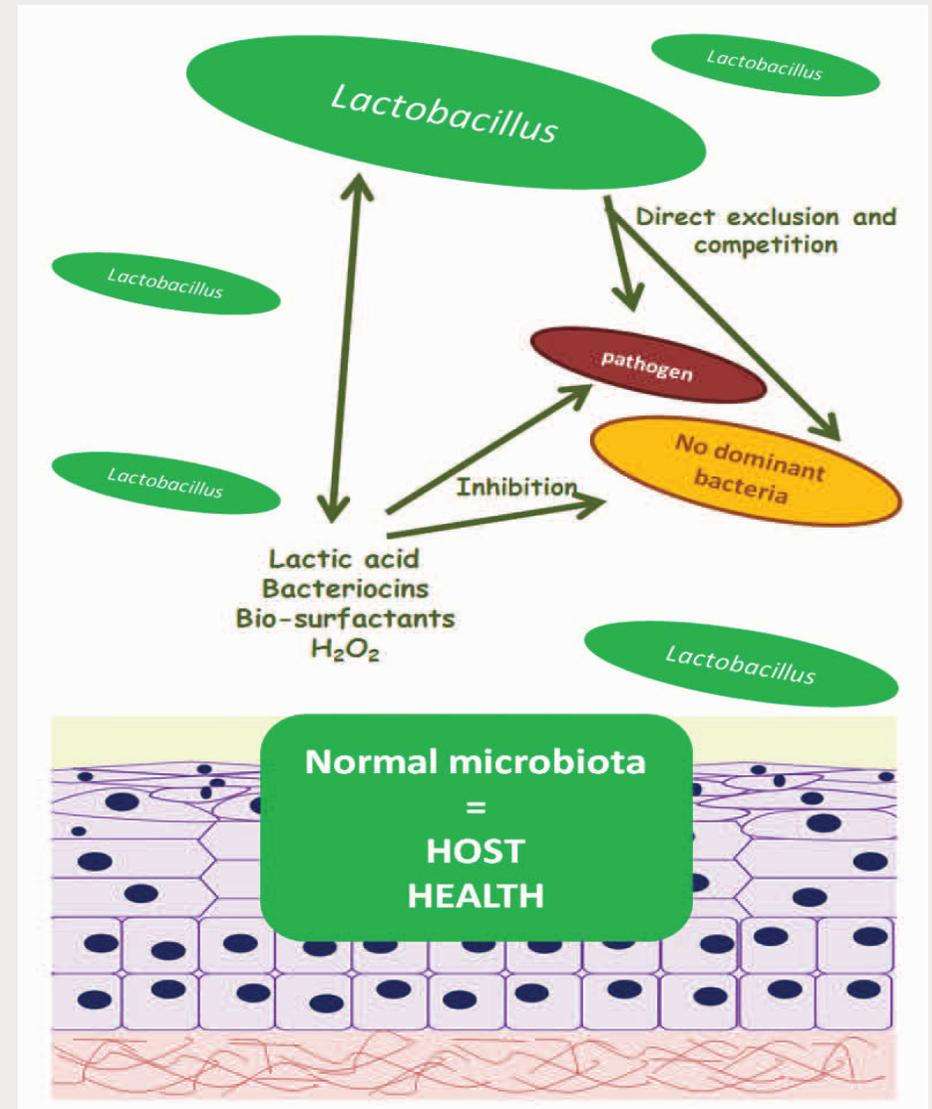
- ▶ Il paradigma che la donna sana sia sempre colonizzata da un alto numero di lattobacilli è stato messo in discussione
- ▶ Il concetto di “normalità è difficile da definire
- ▶ La presenza di lattobacilli è un indubbio marker di ambiente vaginale in buona salute
- ▶ La diagnosi di VB deve essere rivista

MICROBIOTA VAGINALE

Ruolo protettivo dei lattobacilli

Esclusione dei patogeni per competizione

Inibizione della crescita dei patogeni

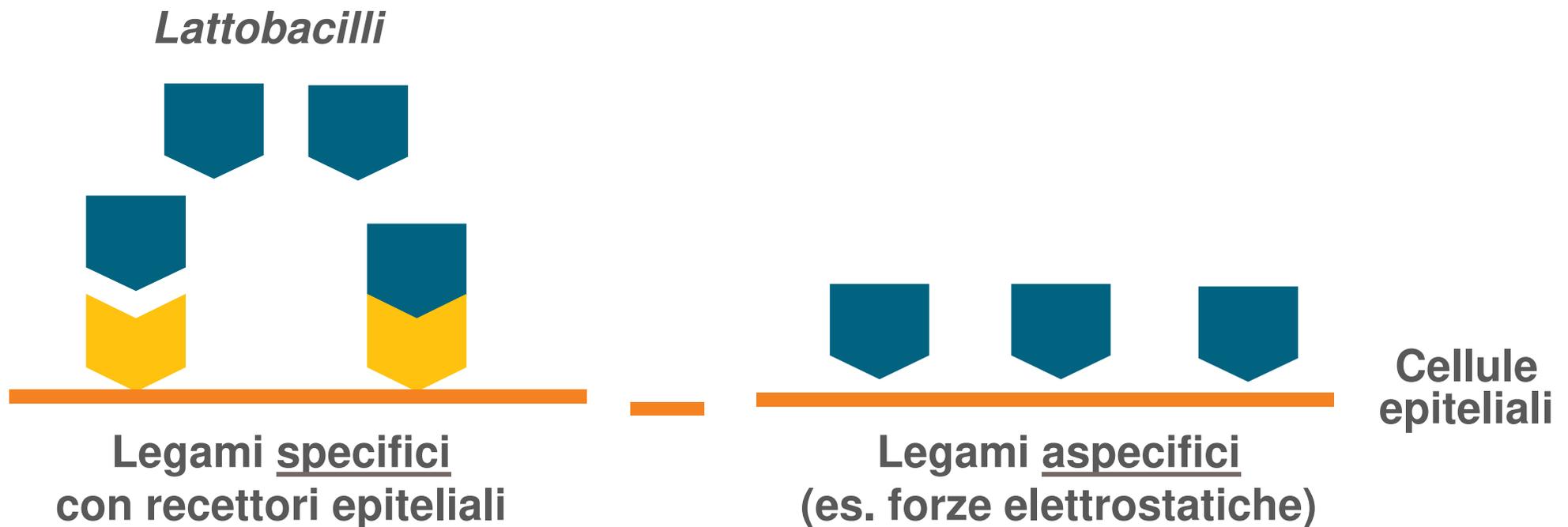


RUOLO PROTETTIVO DEI LATTOBACILLI

Inibizione dell'adesione dei patogeni alla mucosa vaginale



*Competizione nel fenomeno di aderenza alle cellule epiteliali vaginali
I lattobacilli si legano in modo specifico e aspecifico alle cellule epiteliali
impedendo ai microrganismi patogeni di trovare liberi i siti di legame e
quindi di aderire alla mucosa vaginale*



RUOLO PROTETTIVO DEI LATTOBACILLI

Inibizione della crescita dei patogeni



I lattobacilli sintetizzano sostanze attive contro l'insorgenza delle infezioni microbiche

Lattobacilli

Acido lattico

H₂O₂

Batteriocine

Immunomodulazione?

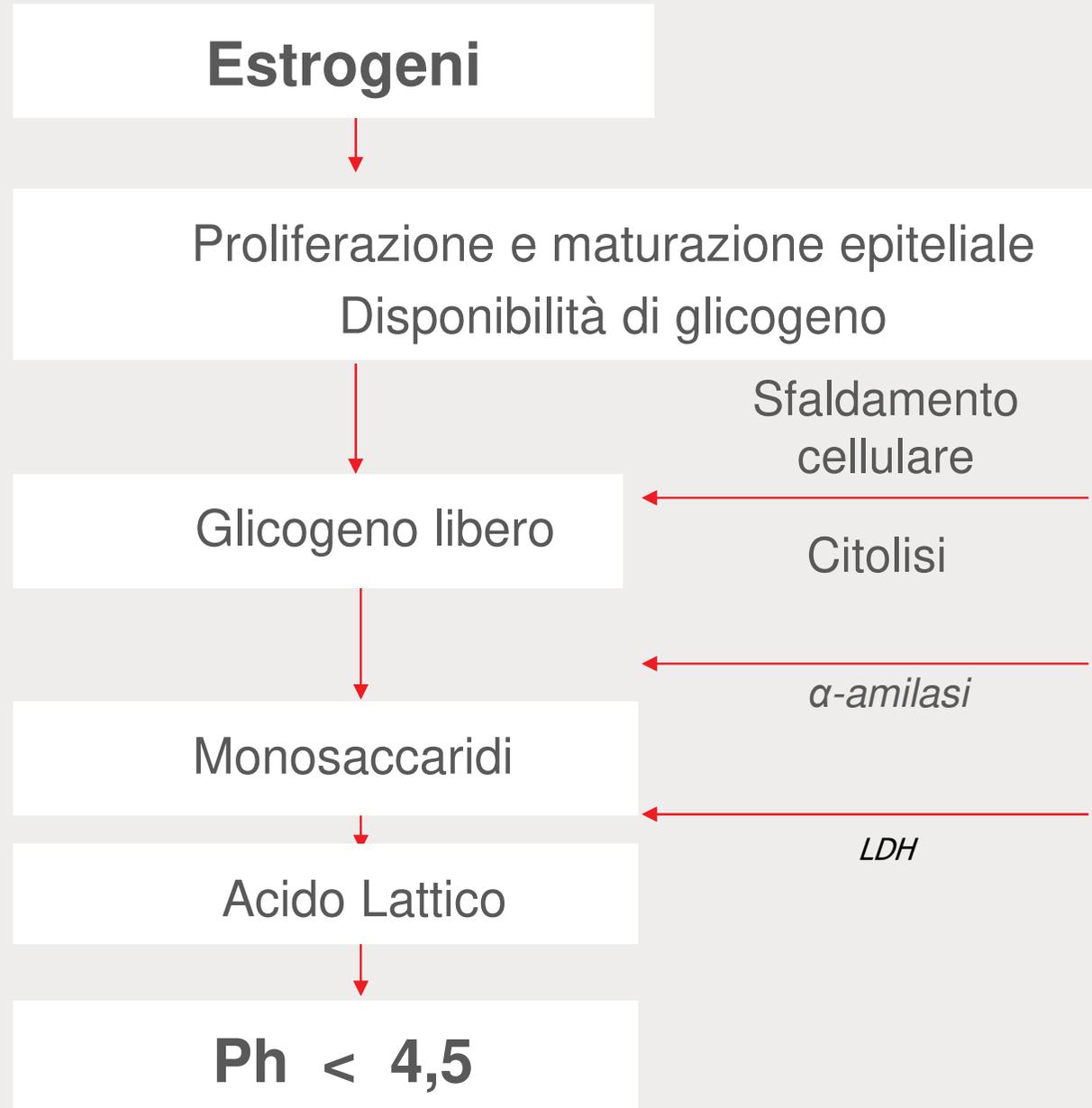
**Ph basso
Effetto inibente
su alcuni ceppi**

**Effetto battericida
su alcuni ceppi**

**Proprietà
antibiotiche**

**Produzione di
citochine**

Stato ormonale e influenza sul Ph



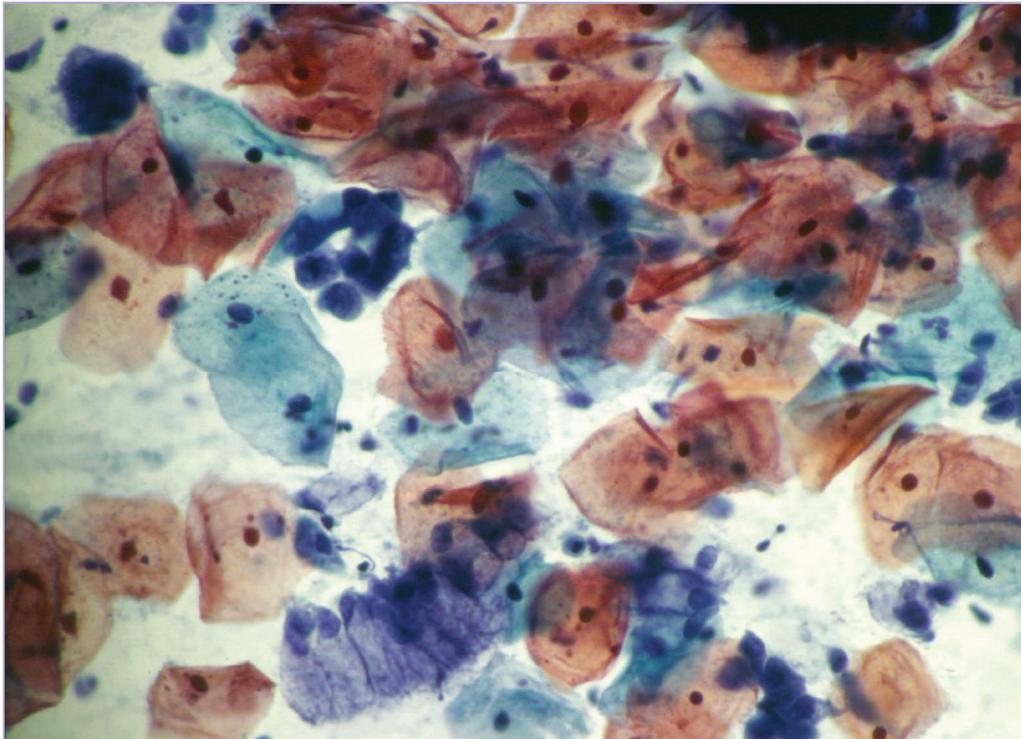
Progesterone

Flora batterica

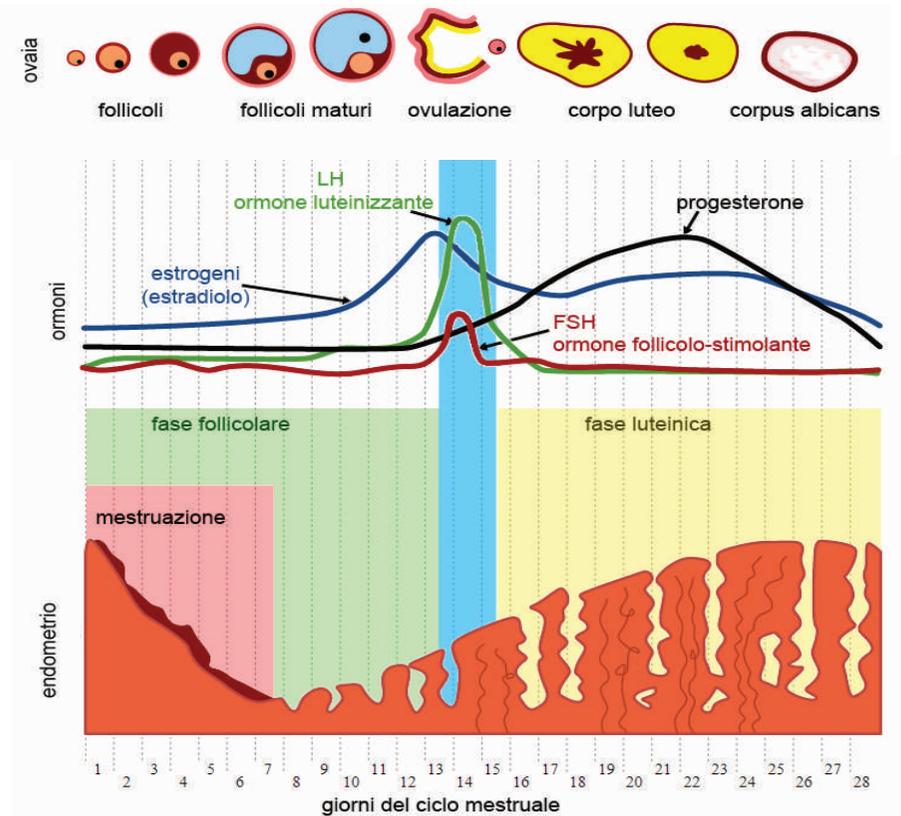
Enzimi cellulari

Lattobacilli

Variazioni dell'ecosistema vaginale in relazione al ciclo ormonale

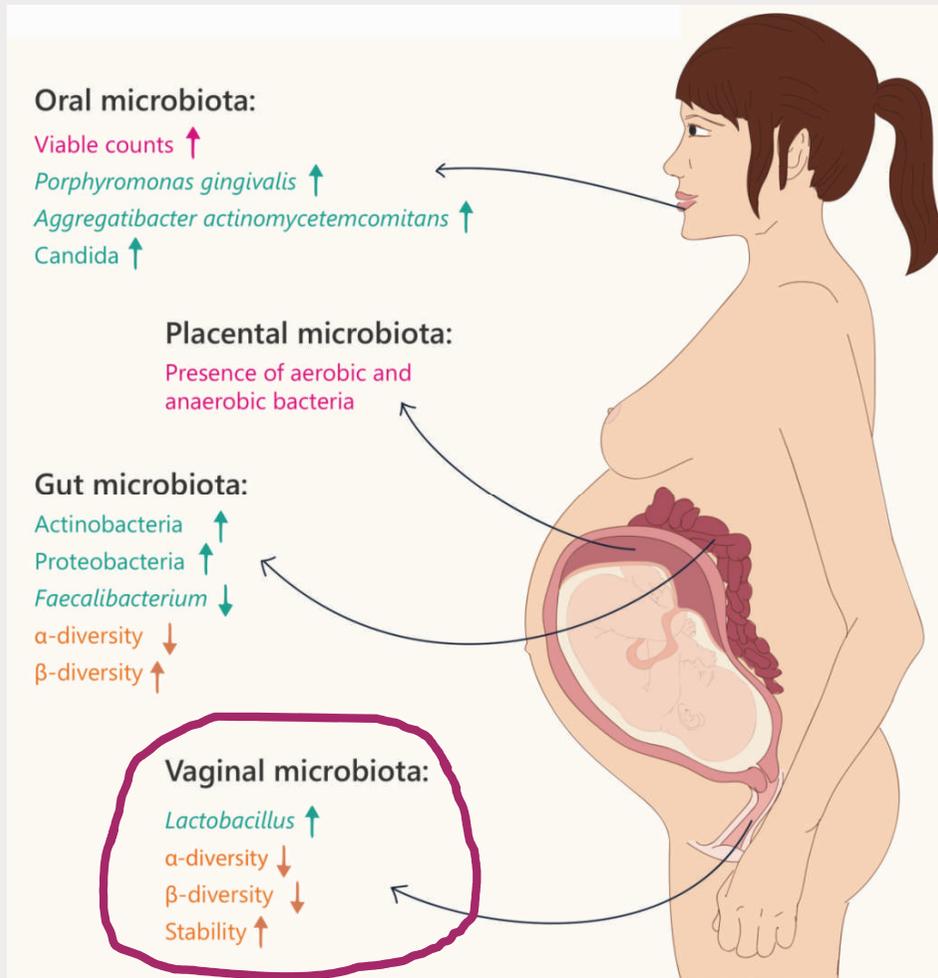


Striscio vaginale in fase ovulatoria



- ▶ Durante il ciclo ormonale la maggiore stabilità delle comunità microbiche correla con la più alta concentrazione estrogenica
- ▶ La natura dinamica del microbiota si osserva in particolare in corrispondenza della mestruazione con variazioni considerevoli da donna a donna

Vaginal microbiota during pregnancy



Meital Nuriel-Ohayon et al. 2016



- ✓ Higher abundance of *Lactobacillus* spp. in pregnant women than in non-pregnant women
- ✓ Higher stability of the vaginal microbiota of pregnant women than that of non-pregnant women
- ✓ Diversity community group (IV-B) rarely observed in pregnant women delivered at term
- ✓ During normal pregnancy, bacterial communities do shift from one CST dominated by *Lactobacillus* spp. to another CST dominated by *Lactobacillus* spp. but rarely to CST IV

Romero et al. Microbiome 2014

Vaginal microbiota during pregnancy and risk of preterm delivery

PNAS

High diversity vaginal CST 4 was associated with an increased incidence of preterm birth. In particular, the *Lactobacillus*-poor CST 4 community exhibited a much stronger association with preterm delivery than did any of the *Lactobacillus*-dominated CSTs (1–3, 5). This finding is consistent with previous associations between either high-diversity vaginal communities or bacterial vaginosis and increased risk for preterm birth.

DiGiulio DB et al. PNAS 2015



The vaginal microbiota agrees with the potentially beneficial presence of an *L. crispatus/gasseri*-dominated microbiota (CSTI/II) over other *Lactobacilli*, particularly the potentially detrimental *L. jensenii* (CSTV).

L. jensenii-dominance and decreased lactate and/or succinate could increase the risk of PTB, while *L. crispatus/gasseri* may confer some protection against inflammation-associated PTB

Stafford GP et al. Frontiers in Physiology 2017



Redundancy analysis (RDA) of microbial community composition at all three body sites (gut, mouth, vagina) revealed gestational age to be a significant source of variation in patterns of gene abundance. The diversity of *Lactobacillus iners*-dominated communities in the vagina, unlike most other vaginal community types, significantly increased with gestational age

Goltsman DSA. et al, Genome Res 2018



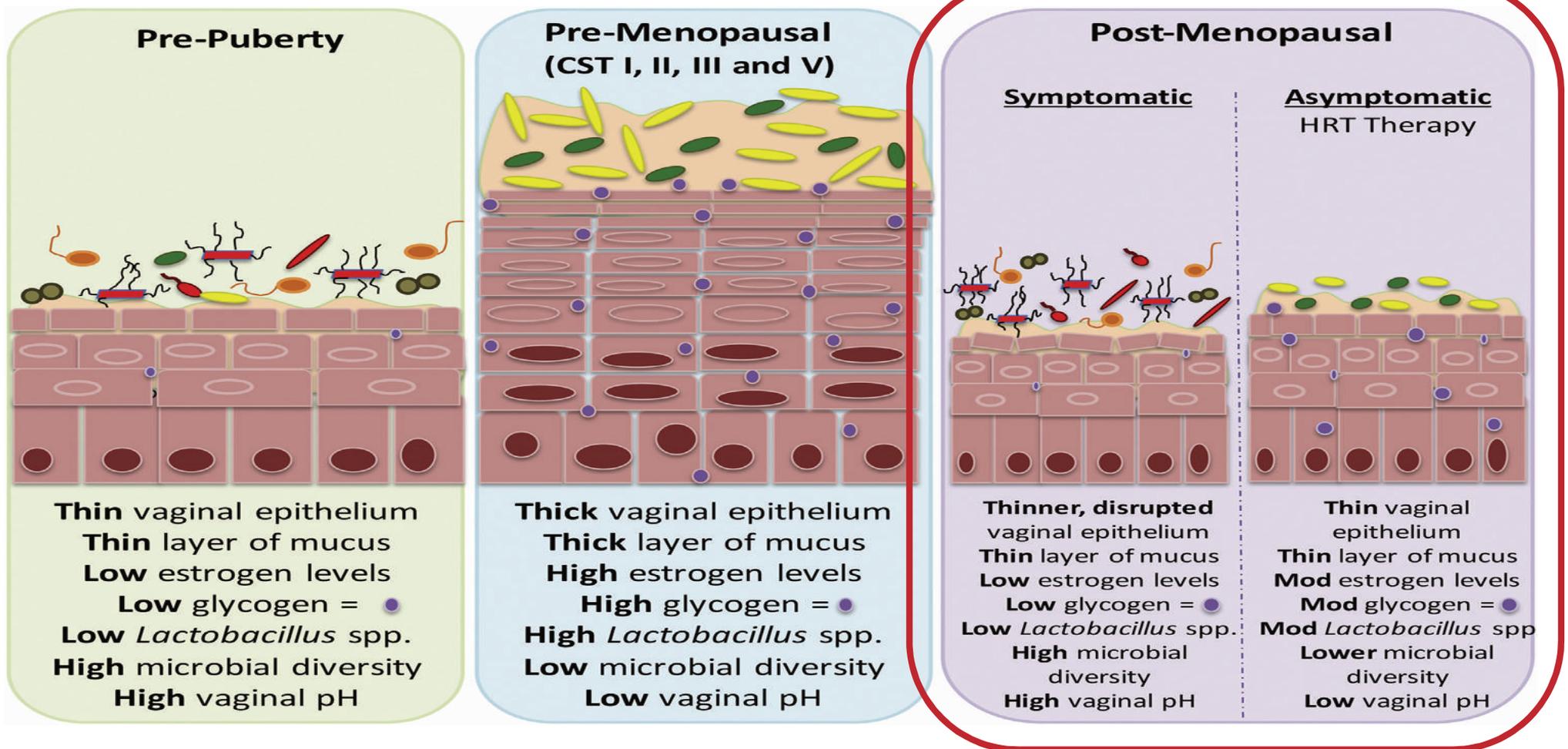
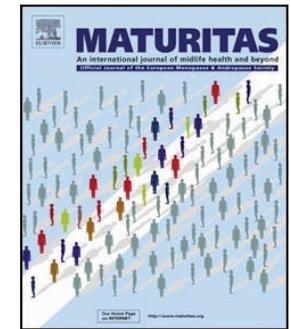
L.gasseri/L.johnsonii, *L.crispatus/L.acidophilus*, *L.iners/Ralstonia solanacearum* and *Bifidobacterium longum/Bifidobacterium breve* may be associated with decreased risk of early preterm birth. A BV-related vaginal CST vs a CST non-dominated by *Lactobacillus* may be associated with increased risk of early preterm birth

Tabatabaei N. et al , BJOG 2018

Review article

Menopause and the vaginal microbiome

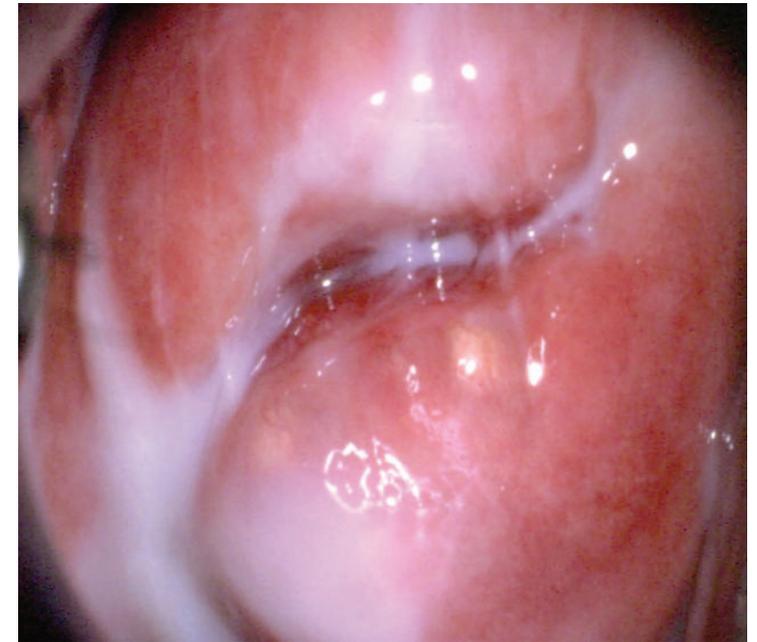
A.L. Muhleisen, M.M. Herbst-Kralovetz - *Maturitas* 2016



FLUOR VAGINALE

- *Commistione di trasudato del plasma, di muco cervicale e di liquido endometriale*
- *Esprime nei suoi componenti i processi biologici e biochimici che caratterizzano l'habitat vaginale*
- *Varia da soggetto a soggetto e in relazione alla fase del ciclo e allo stato ormonale*

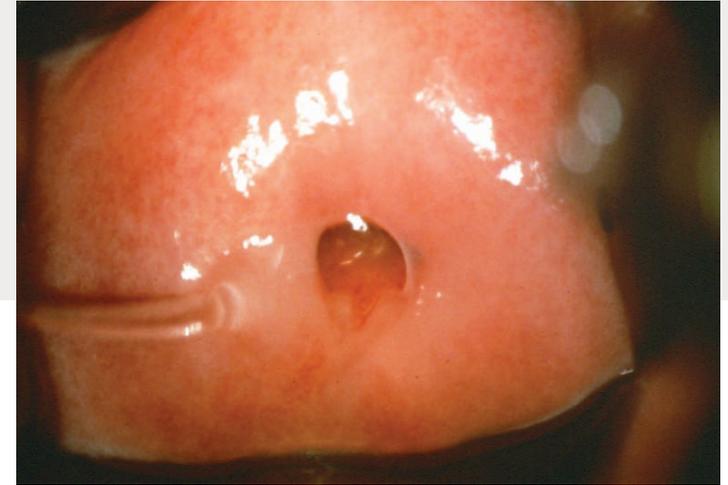
- Acqua (> 90%)
- Sali, Urea, Acido lattico, Acido acetico, Carboidrati, Albumina, Acidi grassi...
- Granulociti, linfociti, monociti
- Immunoglobuline
- Cellule di sfaldamento
- Muco cervicale
- Secreto delle ghiandole di Bartolino e Skene



FUNZIONE LUBRIFICANTE, IDRATANTE, PROTETTIVA

MUCO CERVICALE

Fattore aspecifico di protezione



- Azione lubrificante
- In grado di escludere meccanicamente patogeni o antigeni
- Composto di acqua, sali, urea, carboidrati, mucina, albumina, acidi grassi, anticorpi, lisozima...
- Ricco di carboidrati, capaci di interferire sulle ligasi batteriche allo strato cellulare
- Ricco di sostanze di difesa (*anticorpi, lattoferrina, lisozima, ecc...*)

Il muco cervicale è soggetto ad influenze ormonali (età, ciclo ovarico, gravidanza), imput genetico (espressione di geni MUC 1, 4, 5a, 5b, 6), influenze farmacologiche (E/P)

FATTORI INFLUENZANTI / DESTABILIZZANTI L'ECOSISTEMA VAGINALE

Età

- attività sessuale
 - ipoestrogenismi
 - atrofia, prolasso
 - traumatismi
- (corpi estranei, pessari)

Rapporti sessuali

- ↑ Ph (eiaculato, orgasmo)
- Microtraumatismi
- Patogeni esogeni
- Frequenza

Abitudini sessuali

- Rapporti ano-genitali
- Rapporti oro-genitali
- Uso di spermicidi

Gravidanza

- Carico ormonale
- Deficit immunitario

Contraccettivi (?)

- Azione meccanica
- Irritanti chimici
- Influenza ormonale

Antibiotici

- Riduzione lattobacilli
- Azione immunosoppressiva
- Flora intestinale perturbata

Diabete

- ↑ Disponibilità glucosio

Dieta

- ↓
Influenza sul microbiota intestinale
- Iperglicemia
 - Stress ossidativo
 - Radicali liberi
 - Infiammazione

Immunodepressione

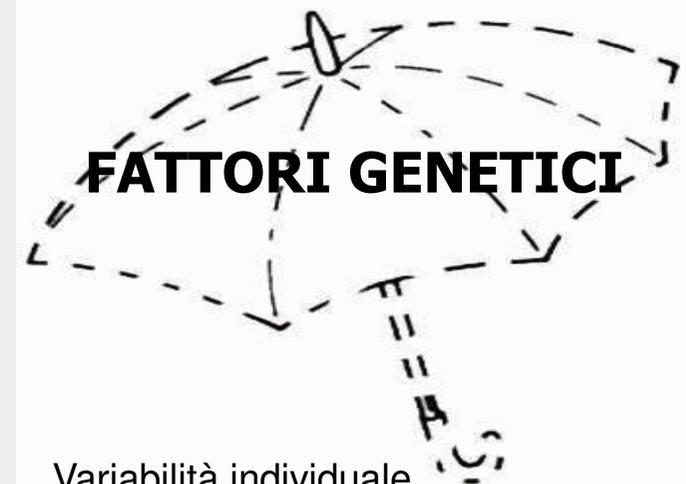
- Congenita o acquisita
- Corticosteroidi, stress
- Denutrizione, tabagismo
- Stati patologici debilitanti

Abitudini igieniche

- Modo di lavarsi
- Abuso di lavande vaginali
- Deodoranti
- Assorbenti
- Salvaslip

Indumenti sintetici

- ↑ temperatura
- ↑ umidità
- Ipersensibilità, allergia



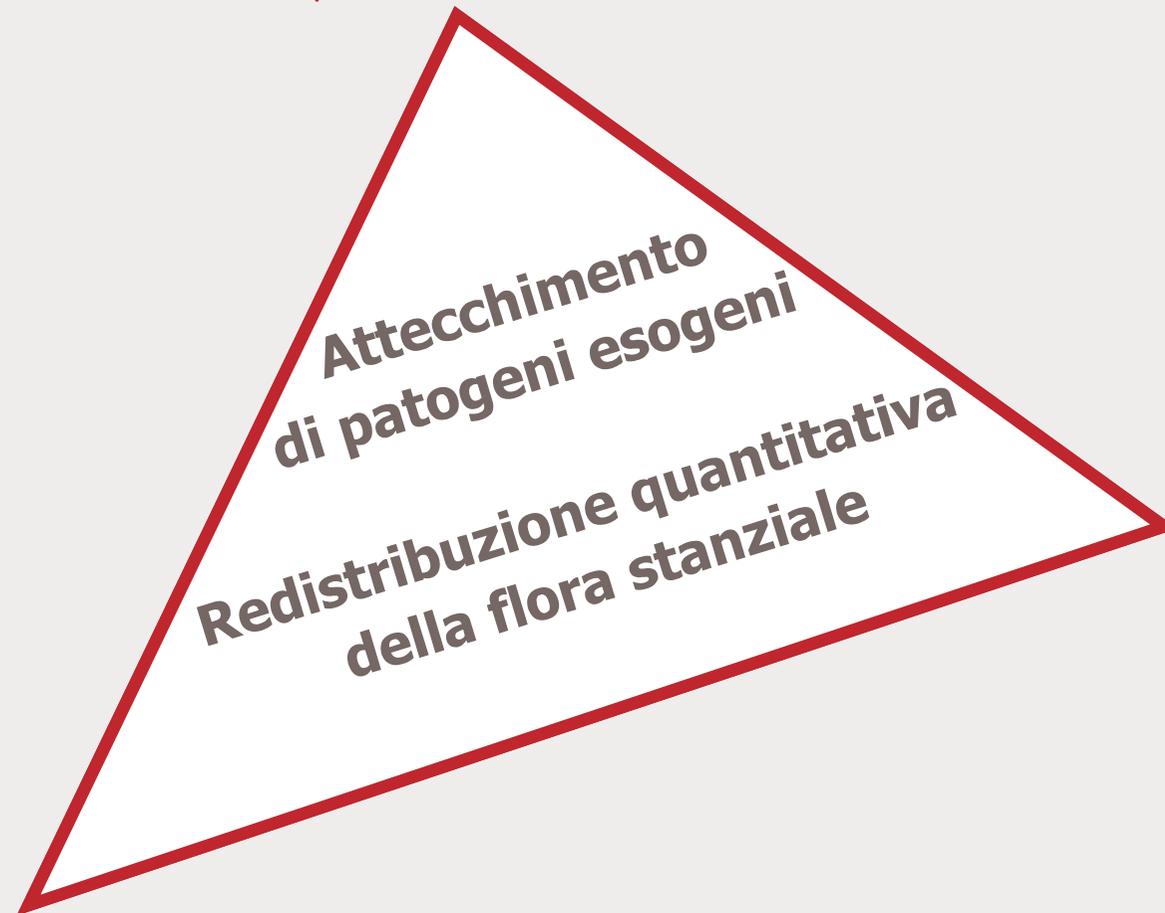
Variabilità individuale

- suscettibilità alle infezioni
- capacità di attivare un'adeguata risposta infiammatoria

ROTTURA DELL'EQUILIBRIO DEL MICROBIOTA VAGINALE

↓ Alterazione dei meccanismi di controllo dell'omeostasi vaginale

↓ Modificata suscettibilità dell'ospite



INFEZIONE

DISBIOSI

DISBIOSI / INFEZIONE

SINTOMI E SEGNI

SINTOMI

Percezione di leucorrea anormale

Prurito

Bruciore

Dispareunia

Disuria

**Nessun
sintomo**

Miceti

Trichomonas
Miceti
Batteri

Chlamydia
Gonorrea
Micoplasmi

Vaginosi B.

Chlamydia
Gonorrea
Micoplasmi

SEGN

Aspetto delle mucose

CERVICE Eritematosa → Miceti, Trichomonas, Batteri, *Endocerviciti*
Risposta infiammatori assente → Vaginosi Batterica

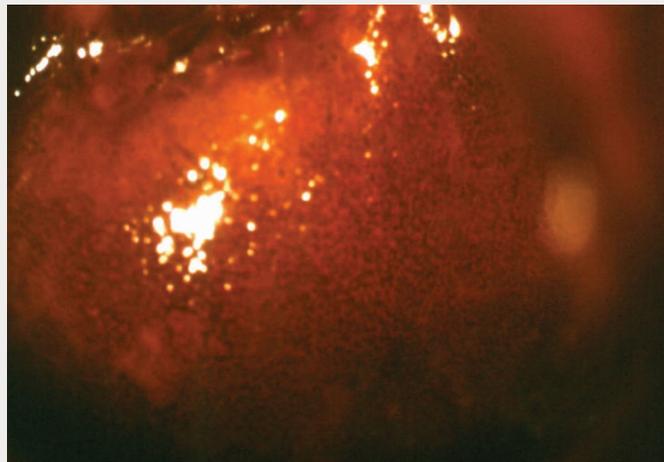
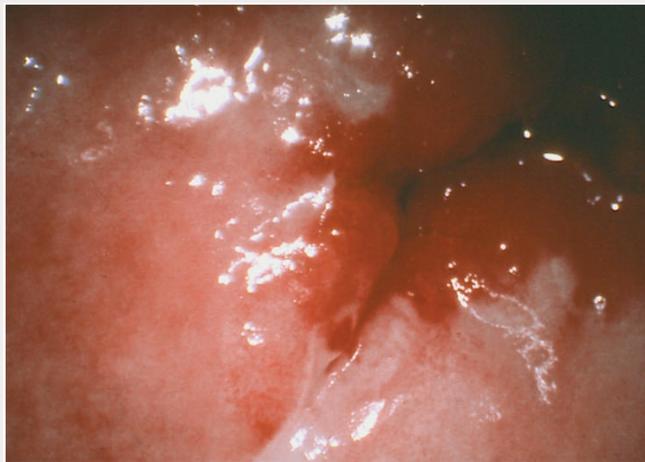


VAGINA Eritematosa → Miceti, Trichomonas, Batteri
Risposta infiamm. assente → Vaginosi Batterica
Endocerviti



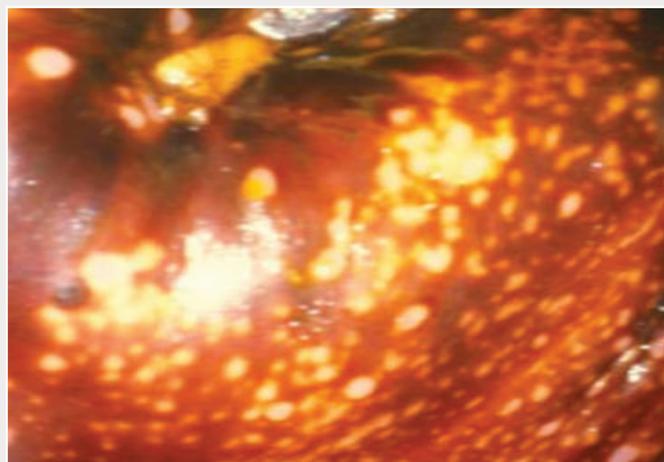
VULVA Eritematosa, edematosa → Miceti
Eritematosa → Trichomonas
Risposta infiamm. assente → Vaginosi Batterica
Endocerviti





COLPITE

Il quadro colposcopico dell'infezione vaginale



SEGNI

Caratterizzazione dell'essudato

Bianco, compatto disomogeneo, inodore



MICETI

Bianco-grigiastro, fluido, omogeneo, talvolta schiumoso



VAGINOSI BATTERICA (ANAEROBI)

Bianco-grigiastro o giallastro, fluido, schiumoso o omogeneo



TRICHOMONAS V. (ANAEROBI)

Bianco-grigiastro o giallastro, fluido, aspecifico



VAGINITE AEROBICA (COLIFORMI NON ACIDOFILI)

Bianco pastoso, finemente granulare



VAGINOSI CITOLITICA (LATTOBACILLI)

Aspecifico, scarso, mucoide

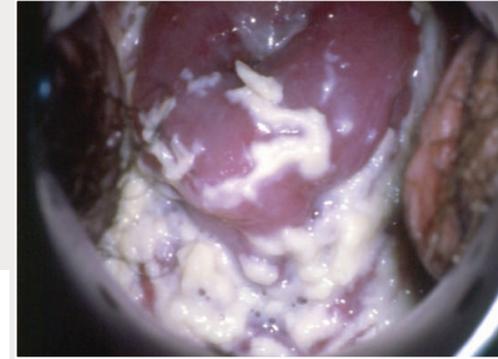


MICOPLASMI UROGENITALI

Muco-purulento, mucoide



CHLAMYDIA T. N.GONORRHOEAE



ESAME BATTERIOLOGICO

Prelievo di essudato cervicale, vaginale o vulvare volto all'identificazione/isolamento di microrganismi potenzialmente patogeni mediante :

- ▶ allestimento di preparati per microscopia a fresco o dopo colorazione
- ▶ semina in coltura
- ▶ indagini immunoenzimatiche
- ▶ indagini molecolari

ESAME MICROSCOPICO

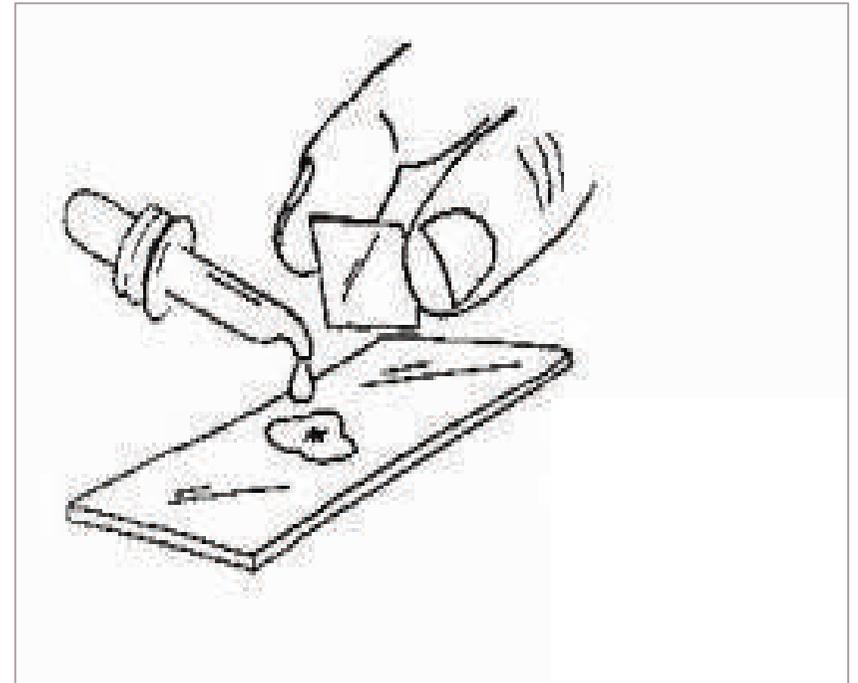
Test elettivo quando si sospetta un'infezione vaginale



- Identificazione su base morfologica di microrganismi presenti nel campione di essudato in esame
- Rilievo di eventuali alterazioni correlabili all'infezione a carico della componente cellulare epiteliale
- Valutazione della reazione infiammatoria (*leucociti*)
- A fresco o previa colorazione

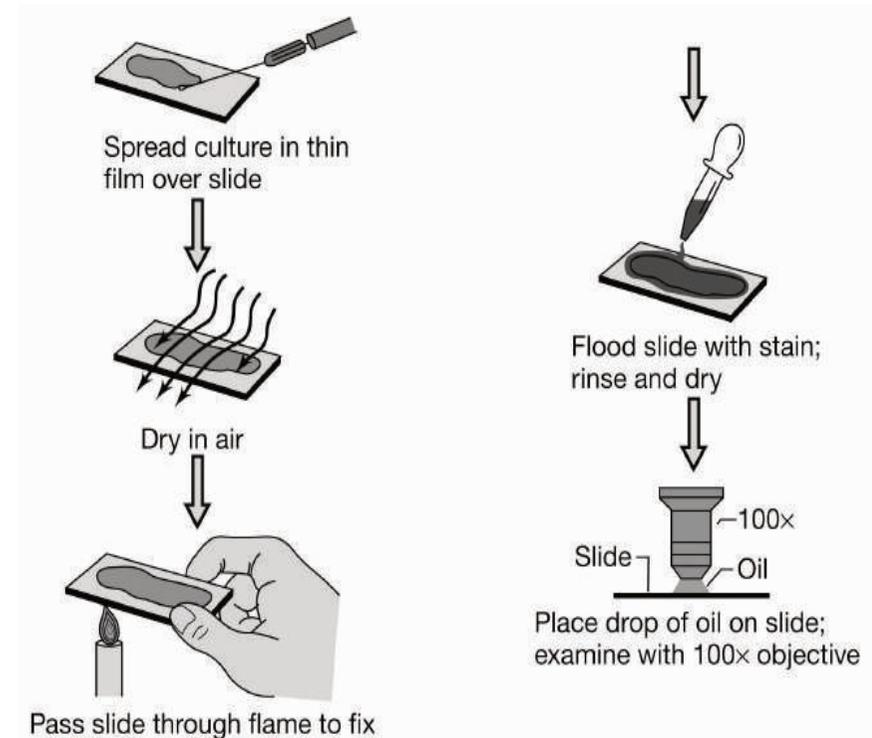
Esame microscopico a fresco

- **Prelievo dal fornice posteriore**
- **Deposizione su vetrino “portaoggetti”**
- **Diluizione con 1-2 gocce di soluzione fisiologica**
- **Apposizione di vetrino “coprioggetti”**
- **Osservazione con microscopio ottico, preferibilmente in contrasto di fase**



Esame microscopico previa colorazione *

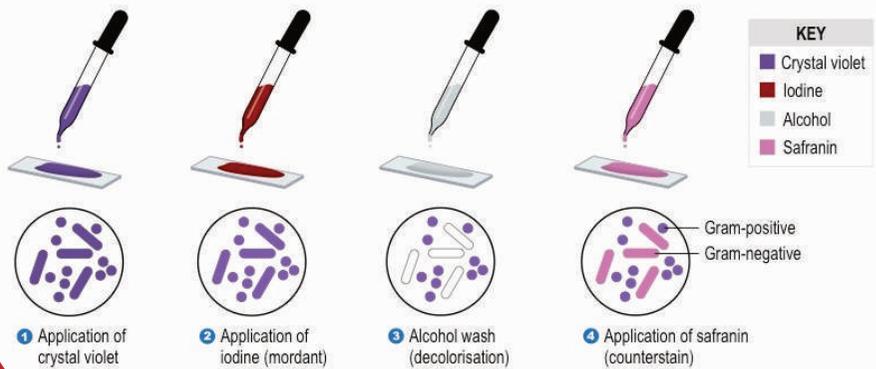
- Prelievo dal fornice posteriore
- Deposizione su vetrino “portaoggetti”
- Essiccazione o fissazione
- Colorazione (Gram, Giemsa, Papanicolau)
- Osservazione con microscopio ottico (*obiettivo ad immersione*)



* Utilizzabile in alternativa alla microscopia a fresco

DIAGNOSI DI VAGINOSI BATTERICA

Diagnosi di laboratorio GRAM STAIN



NUGENT SCORE

Morfotipi	N° per campo	Punteggio
<i>Lactobacillus simili</i> (bacilli Gram positivi)	> 30	0
	5 - 30	1
	1 - 4	2
	< 1	3
<i>Mobiluncus simili</i> (batteri Gram negativi)	0	4
	> 5	2
	< 1-4	1
<i>Gardnerella/Bacteroides</i> (coccobacilli Gram variabili e batteri Gram negativi pleiomorfi)	> 30	4
	5 - 30	3
	1 - 4	2
	< 1	1

PUNTEGGIO: 0 - 3 Normale 4 - 6 Intermedio 7 - 10 V.Batterica

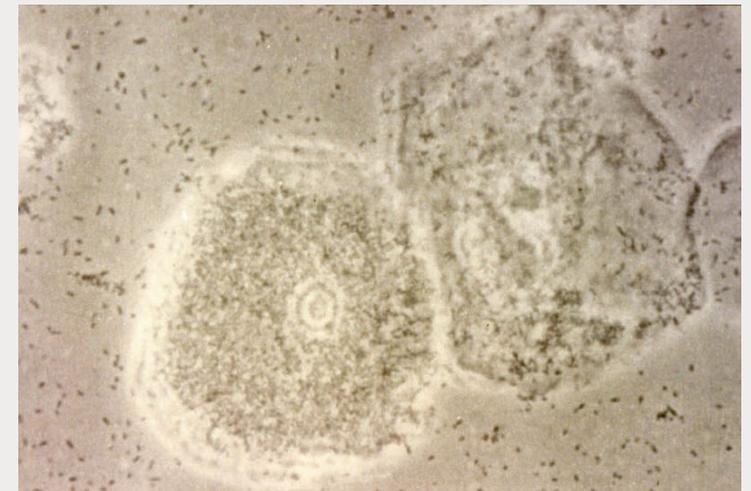
Diagnosi clinica

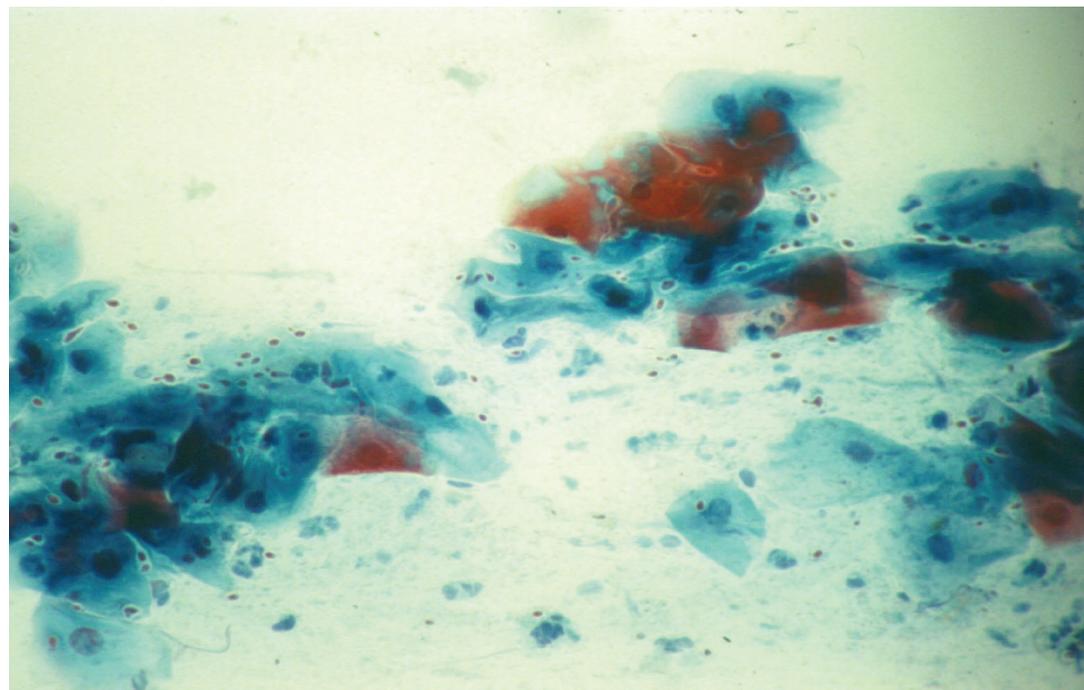
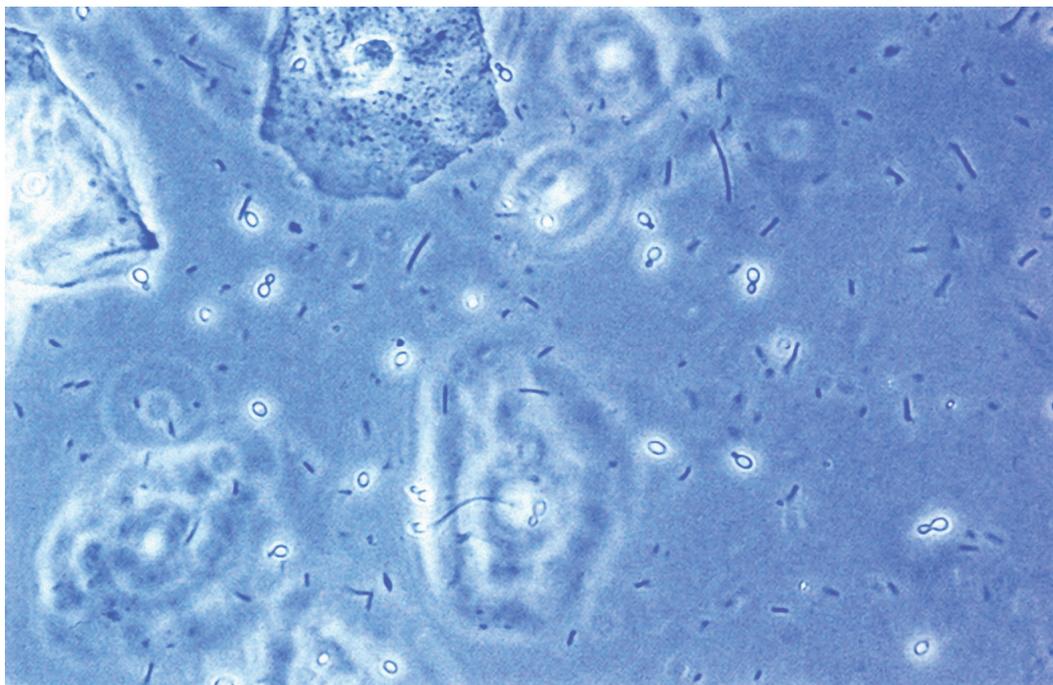
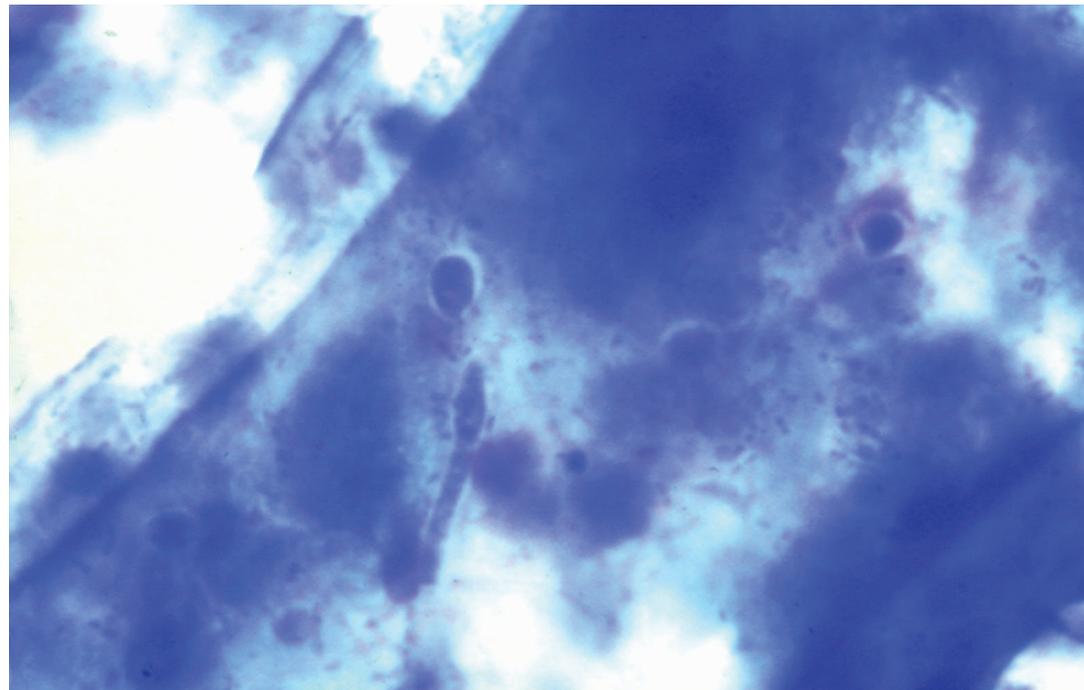
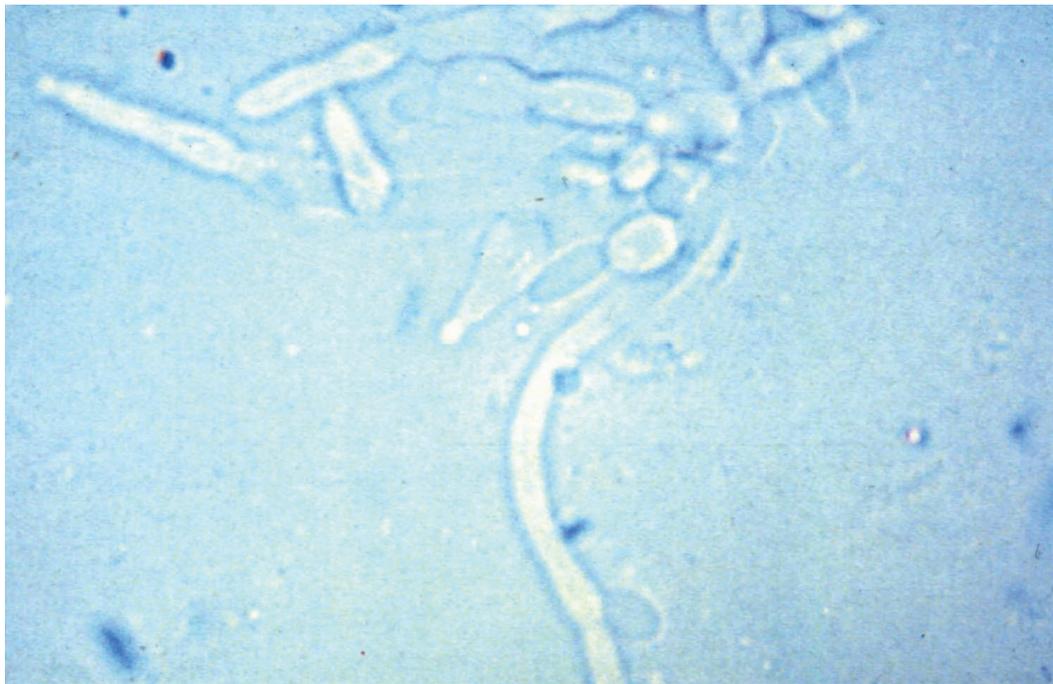
Criteri di Amsel*

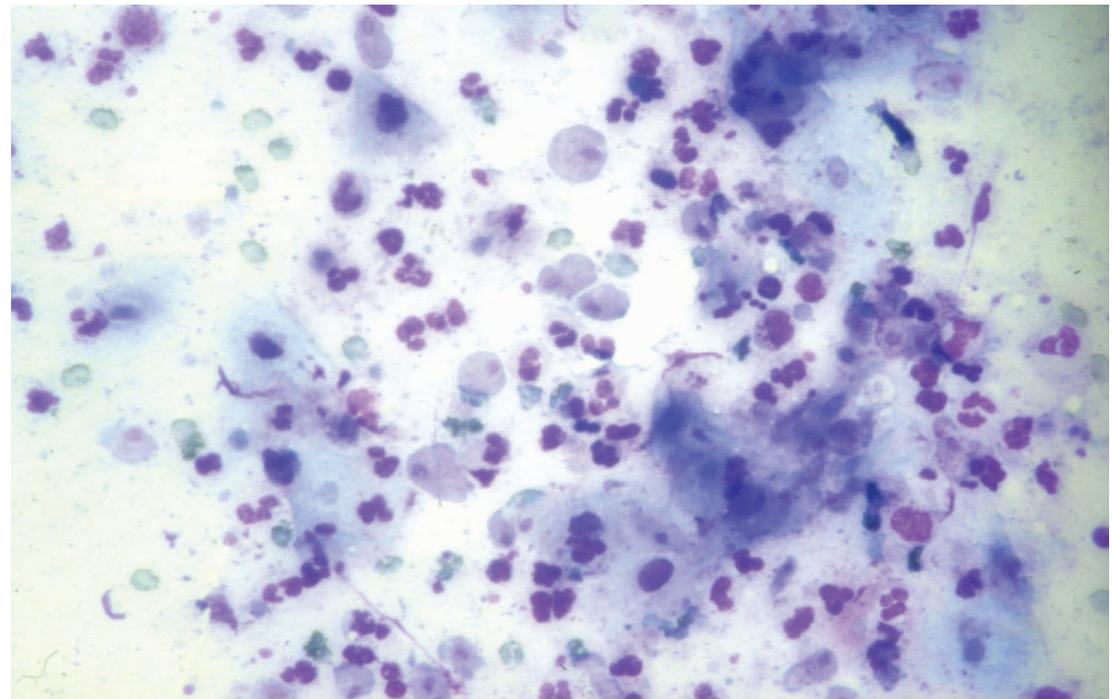
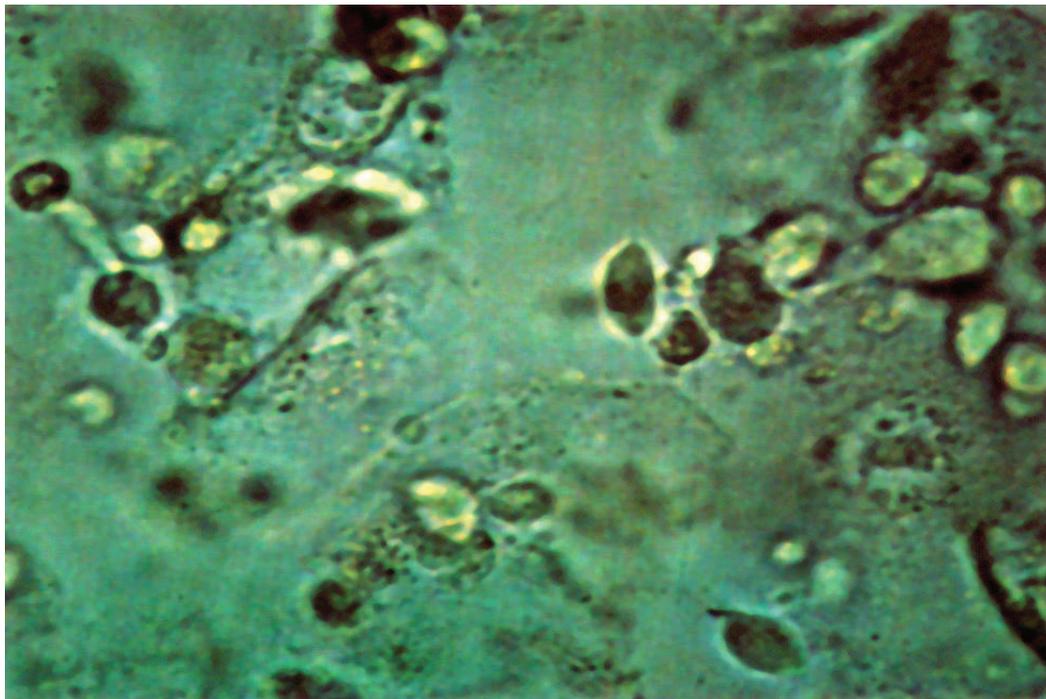
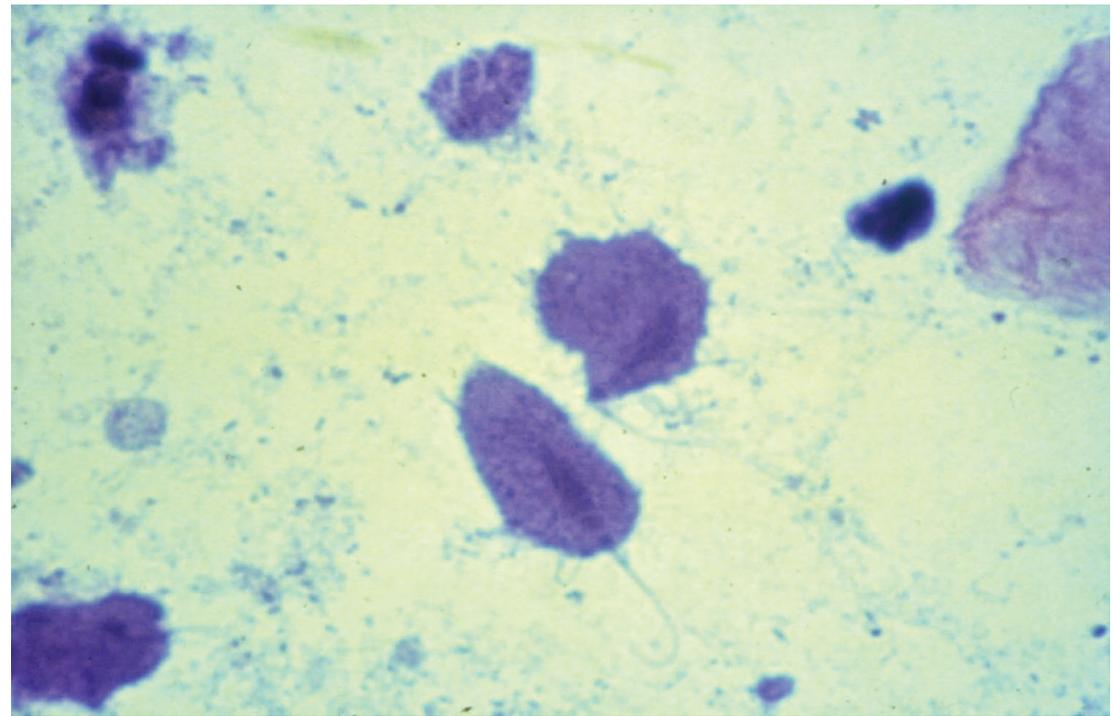
- Essudato omogeneo aderente alle pareti vaginali, talvolta schiumoso
- Ph > 4.5
- Fish odor test → positivo
- Clue cells* (≥ 2 x campo) all'esame microscopico a fresco

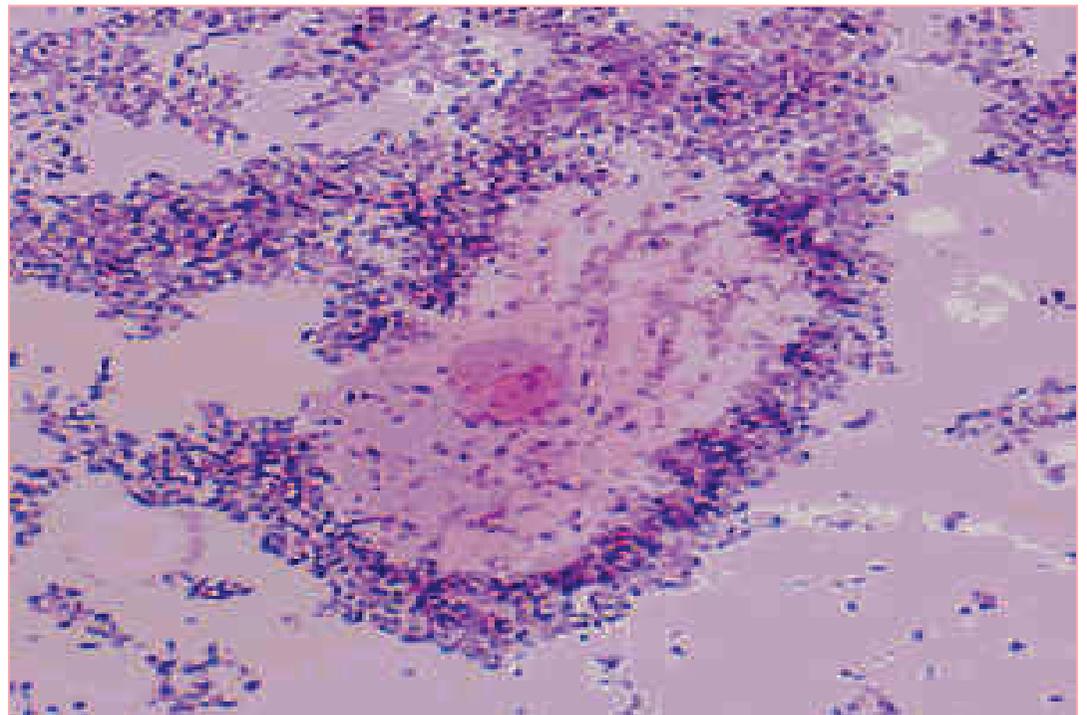
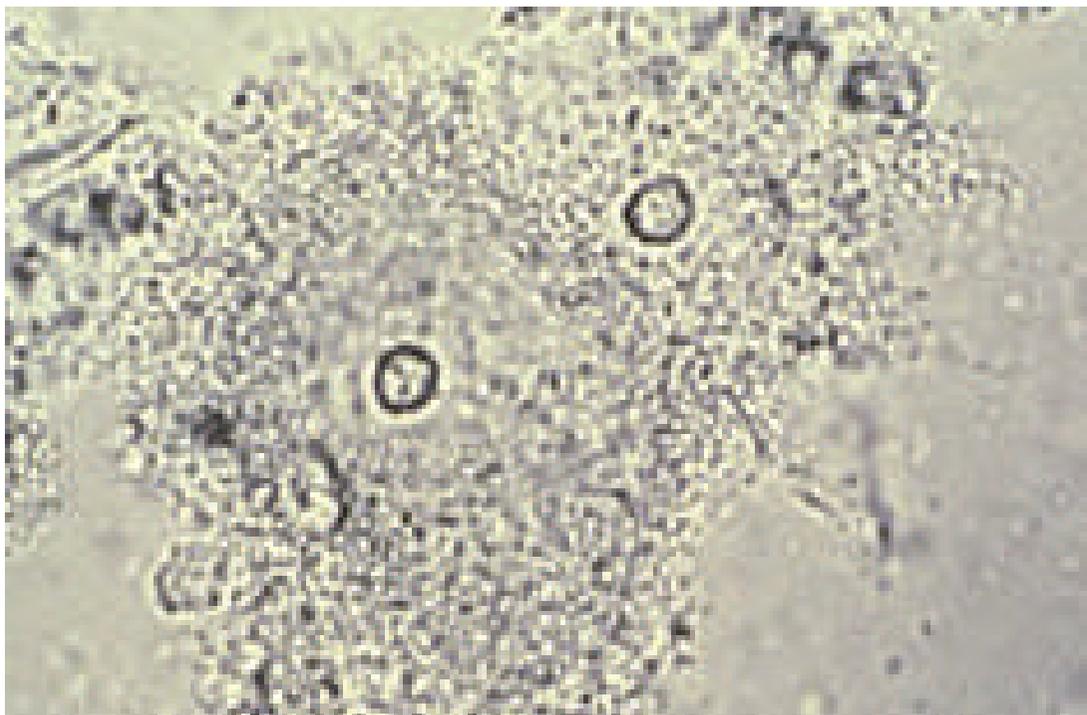
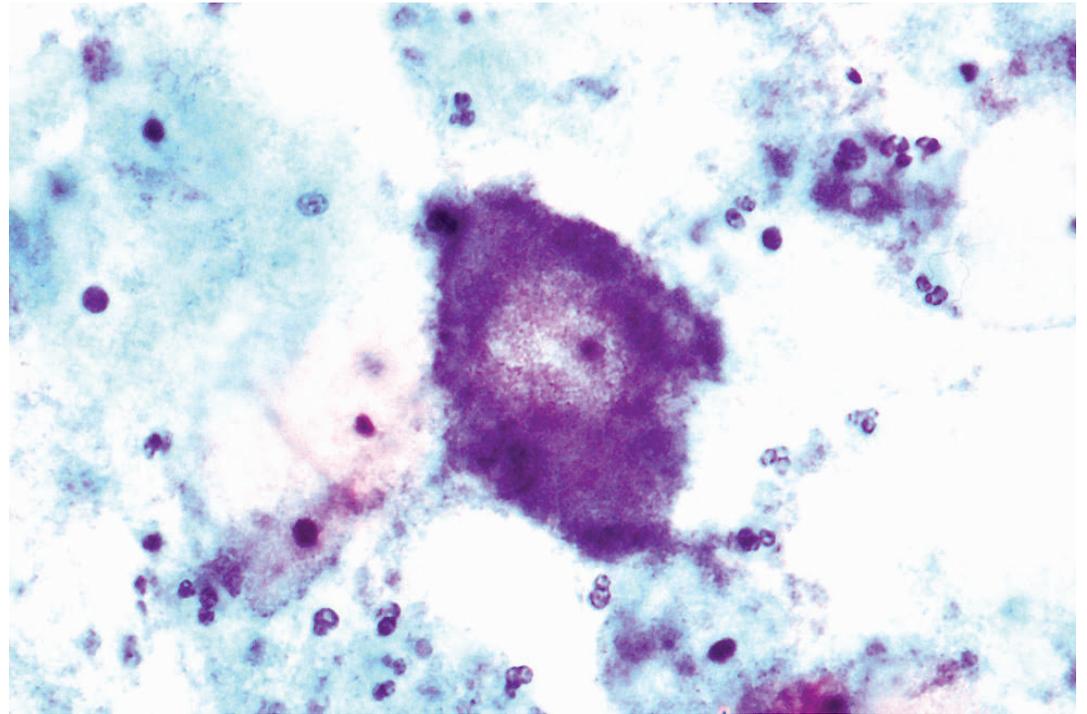
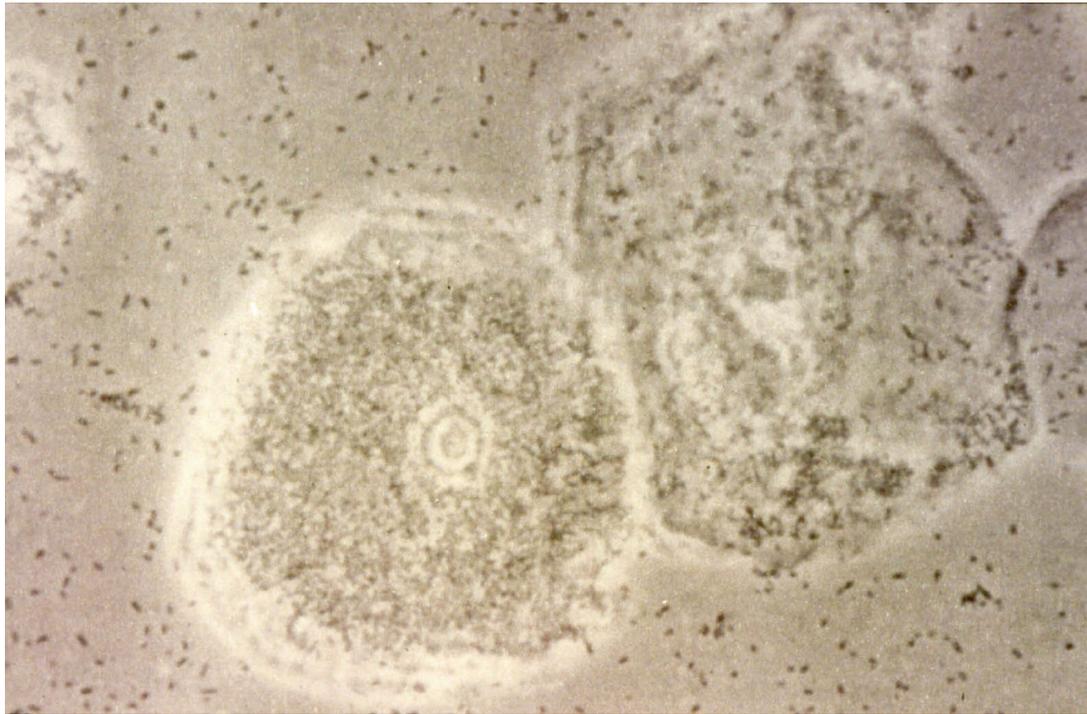
* la presenza di 3 dei 4 criteri di Amsel depone per VB

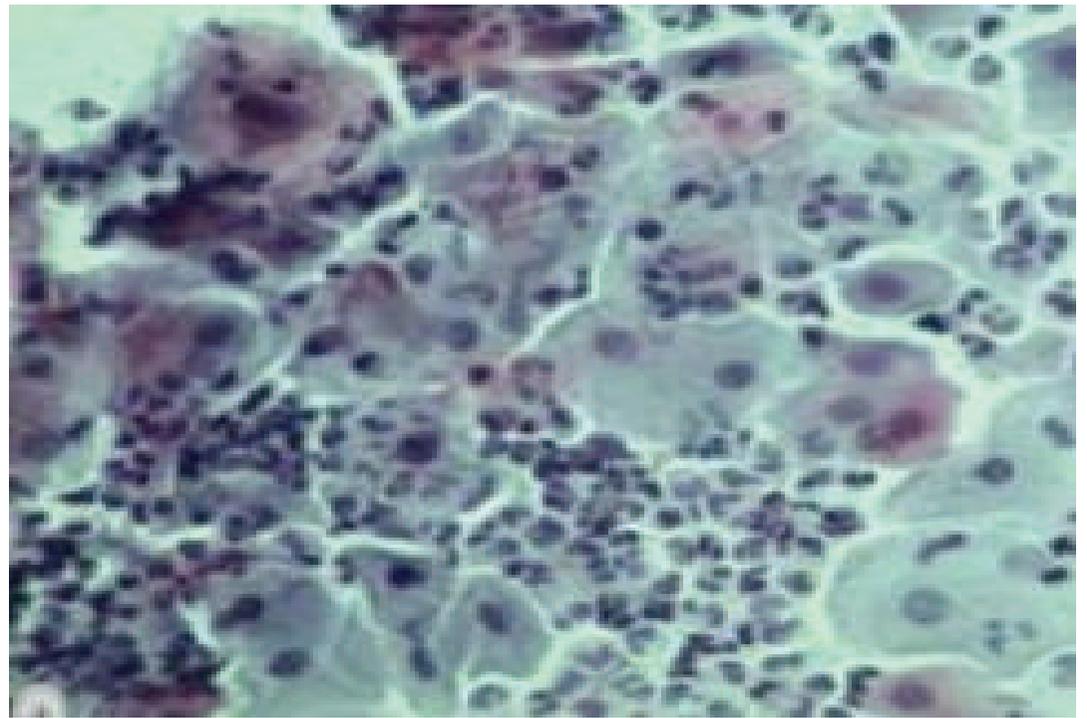
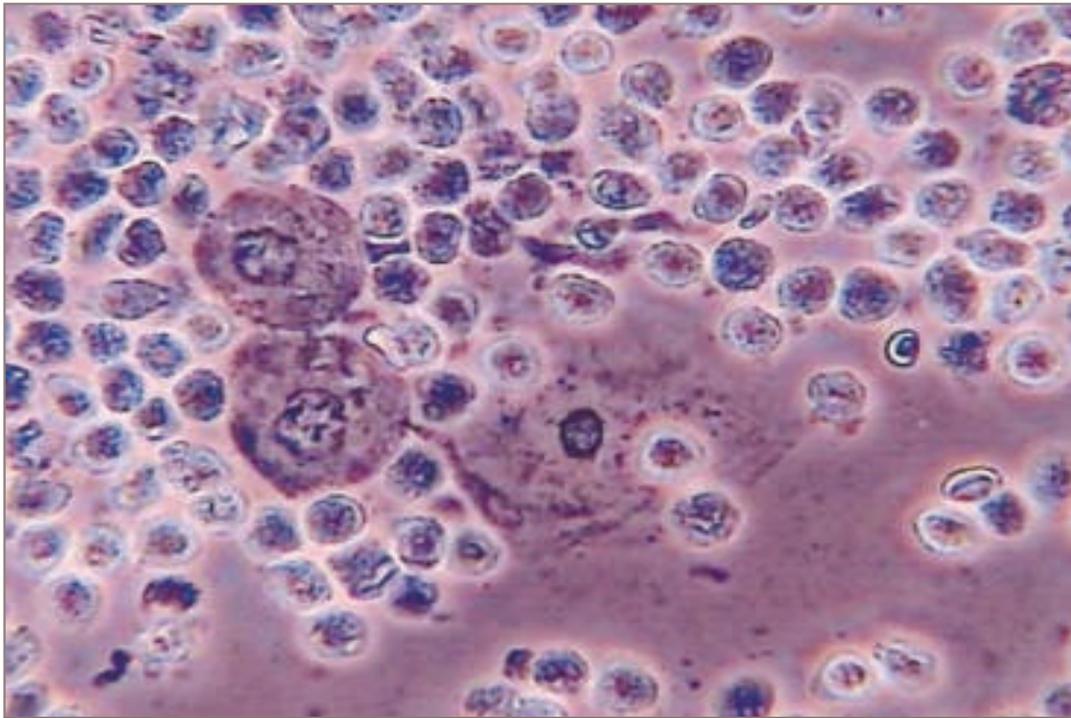
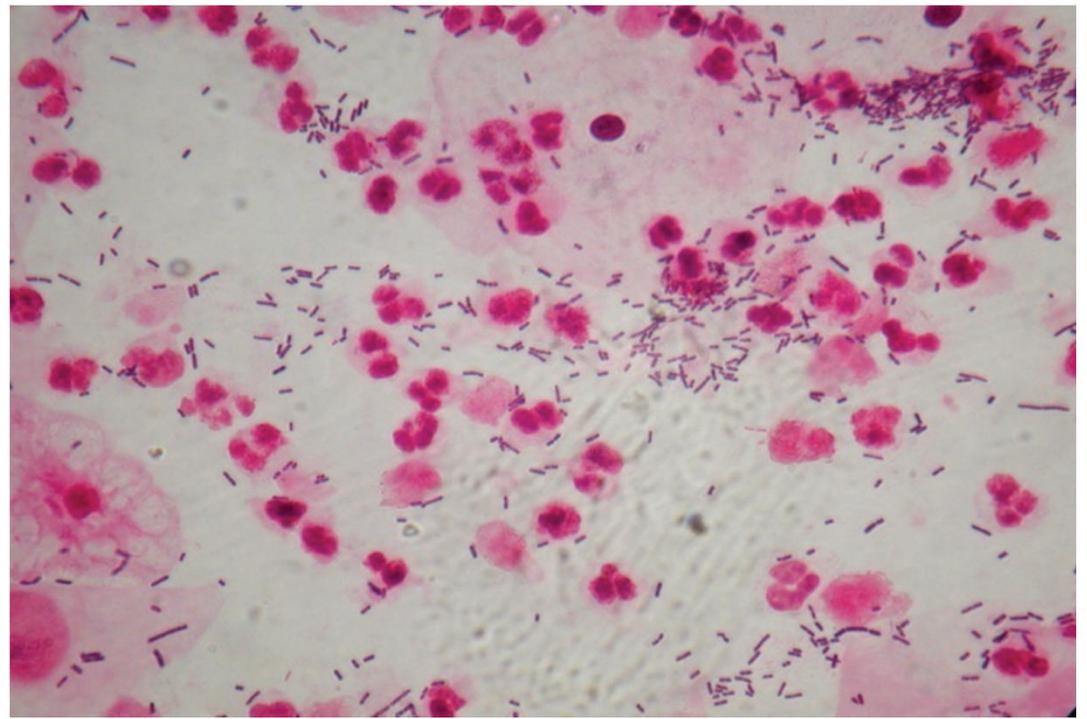
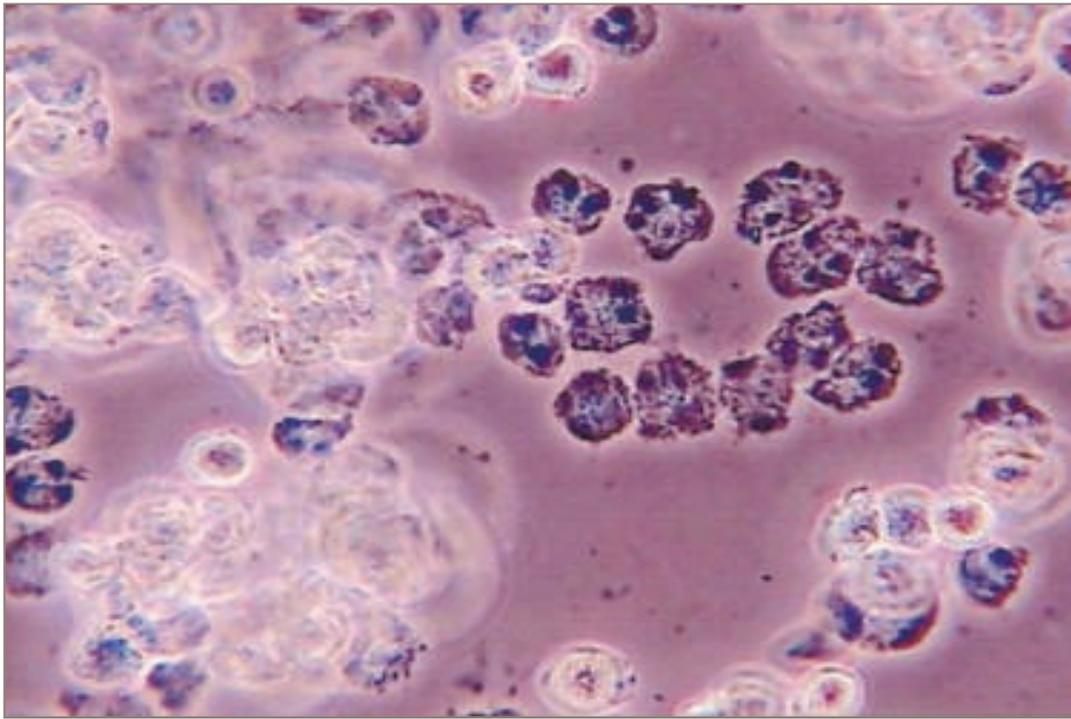
* sensibilità 90%, specificità 98%

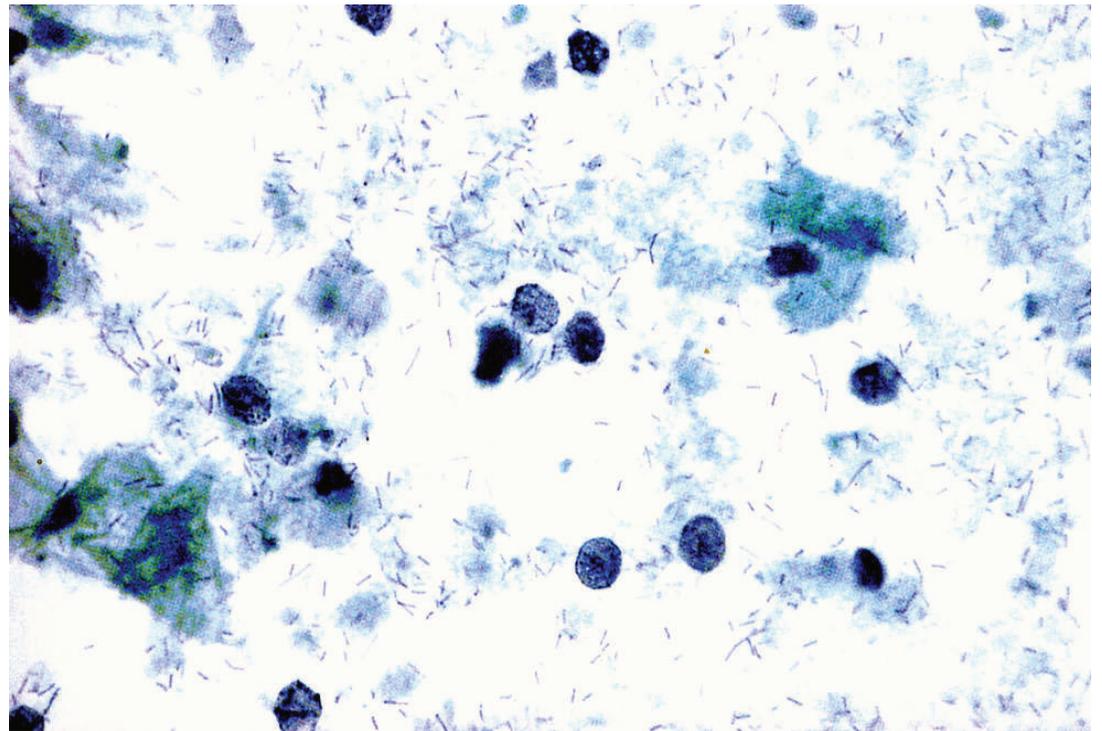
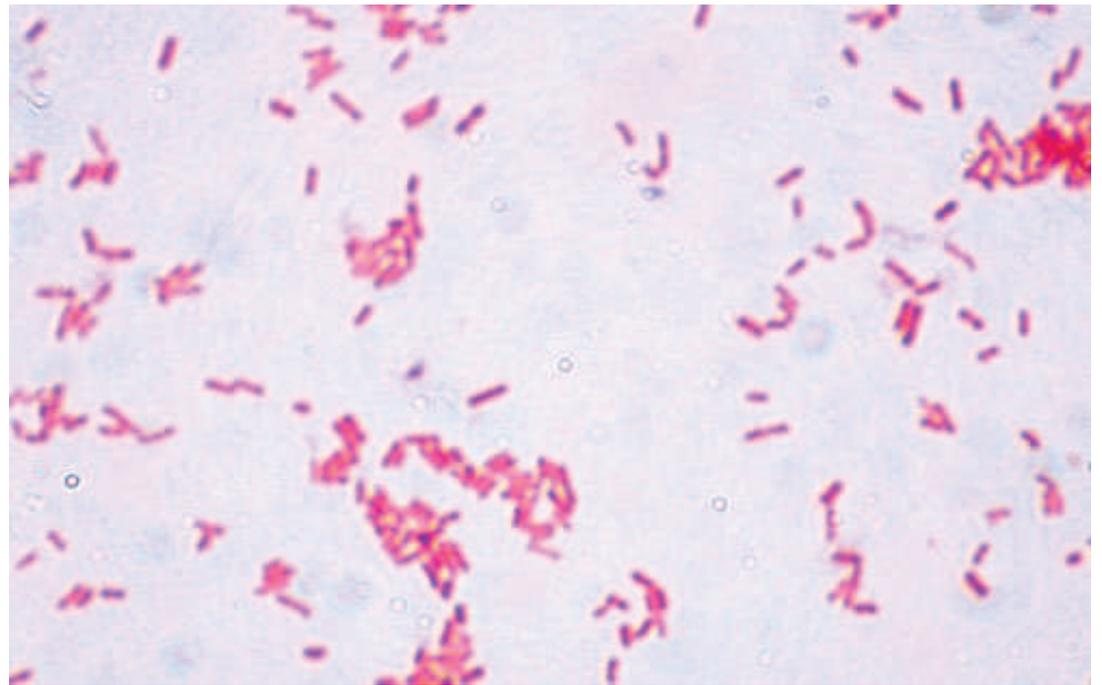












Esame Colturale

- Test elettivo quando si sospetti un'infezione endocervicale
- Test di secondo livello in caso di vulvovaginiti
 - forme ricorrenti o resistenti alla terapia
 - negatività degli esami microscopici in presenza di sintomi

- 
- Prelievo sterile dalla sede di infezione
 - Semina in terreni di coltura selettivi
(Sabouraud e Nickerson per Candida; McCoy per Chlamydia; Thayer Martin per Neisseria; Agar sangue per Gardenella; Diamond's per Trichomonas, ecc.)
 - Valutazione della sensibilità in vitro ai chemioterapici
(Antibiogramma, antimicogramma)

LIMITI DELL'ESAME COLTURALE COME PRIMO LIVELLO PER LA DIAGNOSI DI VULVOVAGINITE

Valore Predittivo Positivo < 50%

- Difficoltà a stabilire un ruolo patologico per ogni microrganismo identificato (*forme batteriche, micosi*)
- Alcuni microrganismi come Gardnerella V sono abitualmente presenti in vagina e reperibili in donne sane in percentuali variabili dal 14 al 70%
- Nelle indagini routinarie non vengono testati gli anaerobi

TECNICHE MOLECOLARI

Original Research
Clinical Validity

Il Pacchetto Flora Tris comprende:

Pacchetto Flora Tris (Codice SES3)
3 a scelta fra i seguenti patogeni:

Chlamydia trachomatis

Neisseria Gonorrhoeae

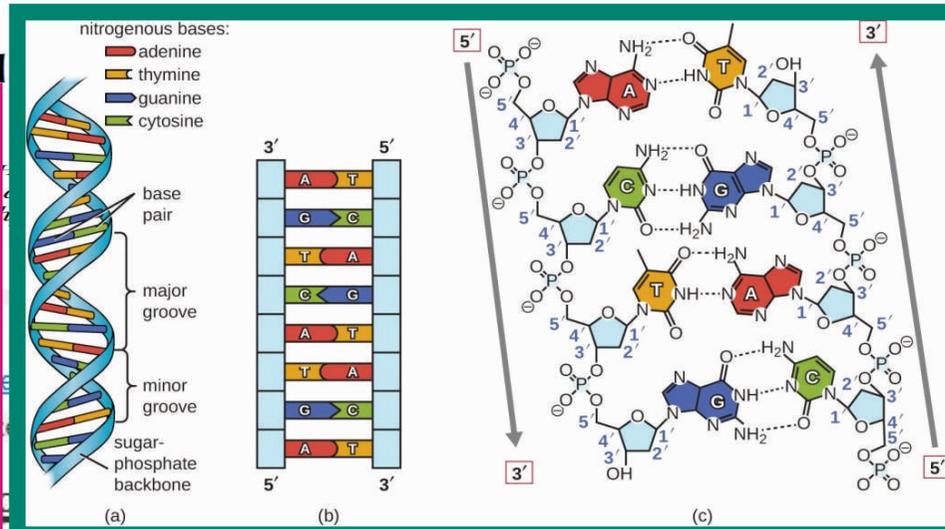
Mycoplasma genitalium

Mycoplasma hominis

Ureaplasma urealyticum

Ureaplasma parvum

Trichomonas vaginalis



Lactobacillus crispatus
Lactobacillus gasseri
Lactobacillus jensenii
Lactobacillus iners
Atopobium vaginae
Gardnerella vaginalis
Megasphaera 1
Megasphaera 2
Mobiluncus mulieris
Mobiluncus curtisii
Mycoplasma hominis
Mycoplasma genitalium
Ureaplasma urealyticum
Candida albicans
Candida glabrata
Chlamydia trachomatis
Neisseria gonorrhoeae
Trichomonas vaginalis
Escherichia coli
Enterococcus faecalis
Streptococcus agalactiae

Development of Bacterial Fluctuation Index (BFI) Treatment for Bacterial Vaginosis

PH VAGINALE

Valutazione effettuata mediante apposite cartine tornasole a livello del terzo medio della parete laterale della vagina

Range di normalità
3.3 - 4.5

Flora lattobacillare **3.3 - 4.0**
Candida **4.0 - 4.5**

Vaginosi batterica

Trichomonas V.

Micoplasmi U.G.

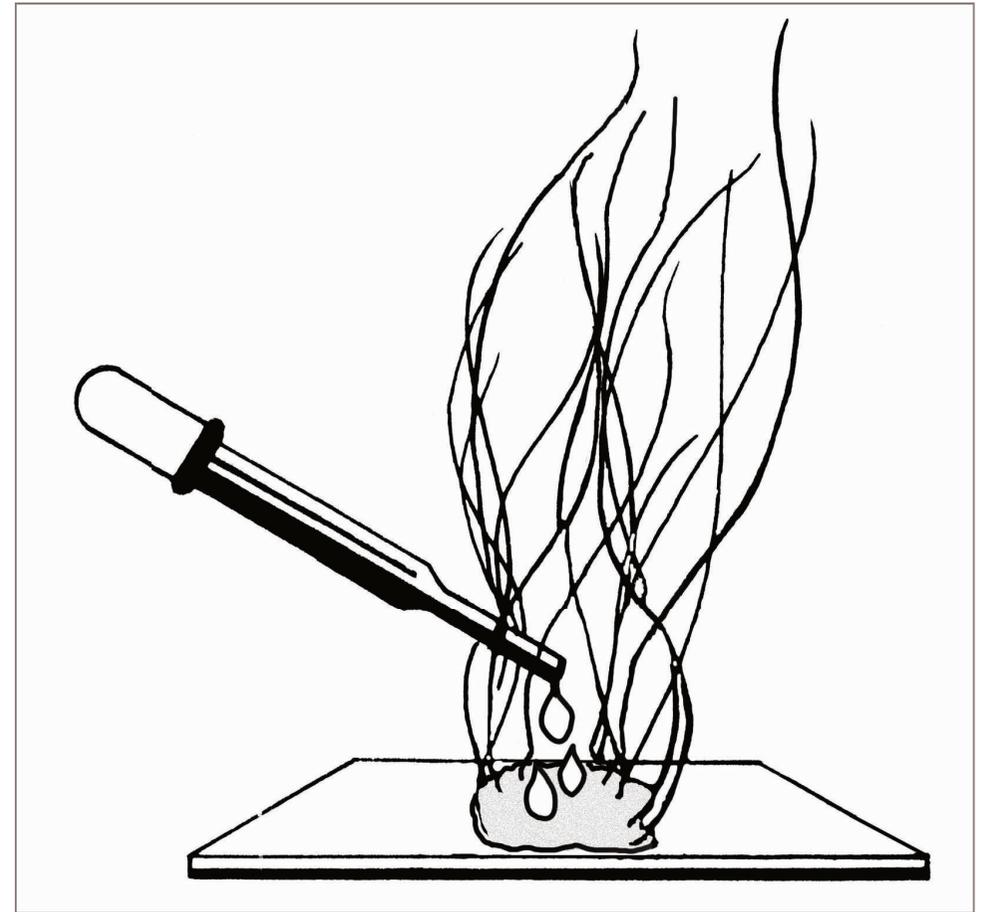
Chlamydia T.

Neisseria G.

> 4.5

Fish odor test

- ❑ Aggiunta di qualche goccia di KOH al 10% al secreto vaginale raccolto su vetrino
- ❑ Positivo se si sviluppa immediatamente un tipico odore di pesce marcio
- ❑ Indicativo (ma non specifico) di Vaginosi Batterica

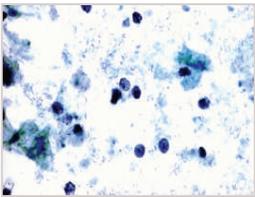


Leucorrea anormale

< 4.5 ————— Ph ————— > 4.5

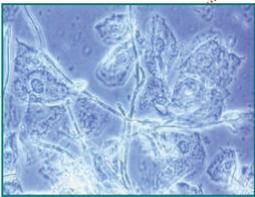
negativo ————— Fish odor test ————— positivo o negativo

Esame microscopico



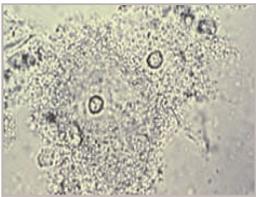
lattobacilli
no leucociti
citolisi

**Vaginosi
citolitica**



ife e/o spore
no/pochi lattobacilli
leucociti

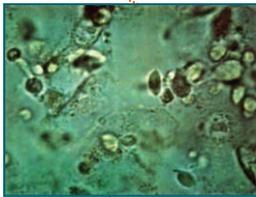
Miceti



clue cells
no/pochi lattobacilli
no/pochi leucociti

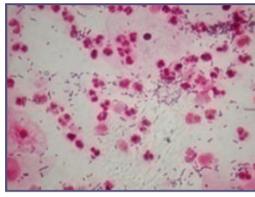
GRAM

**Vaginosi
Batterica**



elementi ovalari
flagellati mobili
leucociti
batteri liberi
no lattobacilli

**Trichomonas
Vaginalis**



batteri liberi
leucociti
no/pochi lattobacilli
cellule parabasali

**Vaginite
Aerobica**

Come?

▶ Sede dell'infezione

- *Endocervice (Chlamydia, Neisseria, Micoplasmi, etc...) se non disponibili indagini molecolari (rt-PCR) per cui basta il campione urinario o vaginale*

▶ Dispositivo sterile

- *Pipetta o spatola (vagina, vulva) → preparati a fresco o colorati*
- *Tampone (endocervice, vagina) → coltura/indagini molecolari*

▶ Campione rappresentativo

▶ Conservazione e trasporto (vedi istruzioni laboratorio)

*Esame microscopico
(colorato)*

- *Essiccazione all'aria (Giemsa)*
- *Fissazione alla fiamma (Gram)*
- *Alcol etilico (Papanicolaou)*

Coltura

- *Indicazioni Lab*

Molecolare

▶ Richiesta specifica e circostanziata

Quando?

▶ In presenza di sintomi soggettivi e/o obiettivi

- *prurito, bruciore, dispareunia, disuria*
- *leucorrea, xantorrea, mucopus*

▶ In assenza di sintomi in casi selezionati

Esempi:

- *gravide (36-37^a sett.) → prevenzione sepsi neonatale precoce da Streptococco B*
- *storia di poliabortività*
- *controlli dopo terapia (IST)*

Quando?

Fase intermestruale o comunque in assenza di sangue*

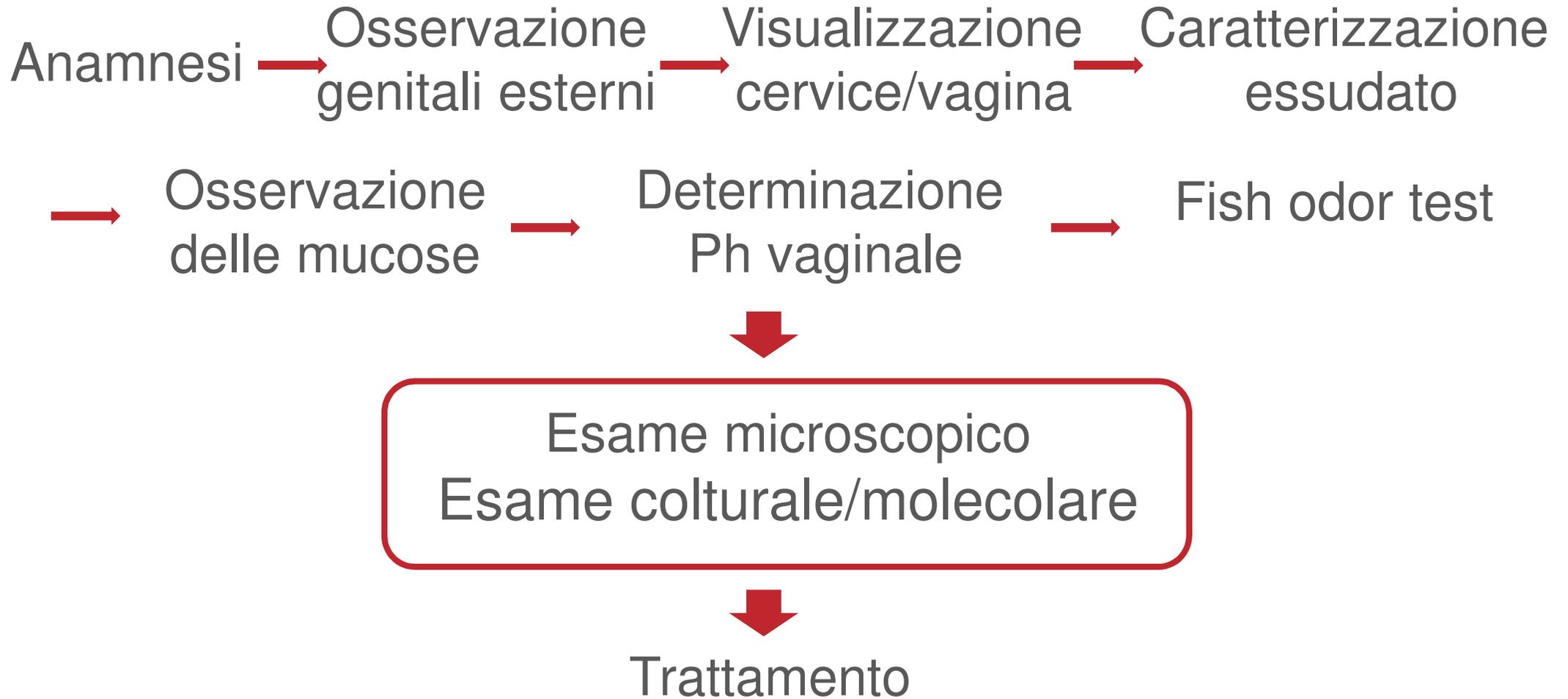
Prima dell'esame bimanuale

Almeno 72 ore dopo l'uso di lavande o di qualsiasi altra medicazione vaginale

A debita distanza da un rapporto sessuale*

** La presenza di sangue o sperma può inficiare l'esame batteriologico e/o alterare il ph*

Quando?





GRAZIE PER L'ATTENZIONE