

C O N V E G N O

La diagnostica di laboratorio

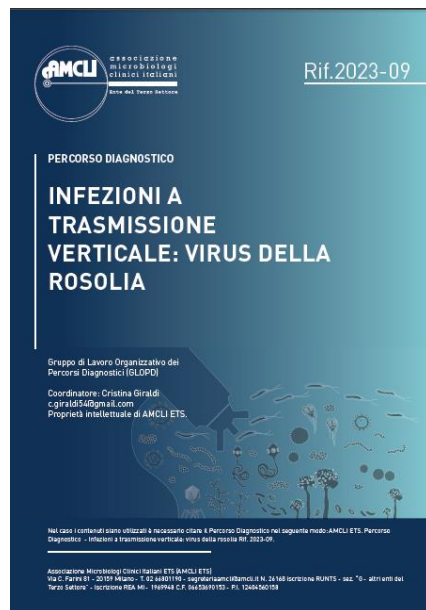
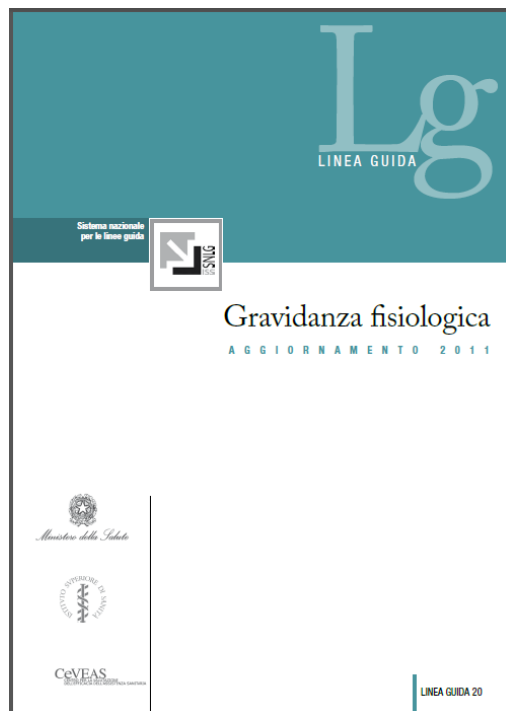
DIAGNOSI e GESTIONE delle **INFEZIONI** in **GRAVIDANZA:** un **APPROCCIO** **MULTIDISCIPLINARE**

Debora Lepri

*SC Servizio Medicina di Laboratorio, ASST di
Mantova*

Ospedale Carlo Poma, Mantova

Mantova, 7 Dicembre 2024
Speranza Società Cooperativa Sociale Onlus



SCREENING DELLE INFEZIONI IN GRAVIDANZA



RACCOMANDAZIONI MODIFICATE

RACCOMANDAZIONI CONFERMATE

NUOVE RACCOMANDAZIONI

RACCOMANDAZIONI MODIFICATE

		SCREENING IN GRAVIDANZA
CITOMEGALOVIRUS	✓	Raccomandato Forte, qualità delle prove moderata forte
EPATITE C (HCV)	✓	Raccomandato Forte, qualità delle prove bassa
BATTERIURIA ASINTOMATICA	✗	Non raccomandato Condizionata, qualità delle prove bassa o molto bassa
ROSOLIA	✗	Non raccomandato Forte, qualità delle prove molto bassa



RACCOMANDAZIONI CONFERMATE

		SCREENING IN GRAVIDANZA
VAGINOSI BATTERICA ASINTOMATICA	✗	Non raccomandato Forte, qualità delle prove bassa o molto bassa
HERPES SIMPLEX VIRUS (HSV)	✗	Non raccomandato Forte, qualità delle prove moderata
CHLAMYDIA TRACHOMATIS	✓	Raccomandato Forte, qualità delle prove molto bassa
GONORREA	✓	Raccomandato Forte, qualità delle prove molto bassa
SIFILIDE	✓	Raccomandato Forte, qualità delle prove molto bassa



2.11. Sifilide

QUESITI

- Lo screening della sifilide dovrebbe essere offerto a tutte le donne in gravidanza oppure solo alle donne a rischio?
- Alle donne in gravidanza dovrebbe essere offerto lo screening della sifilide soltanto nel primo trimestre oppure sia nel primo che nel terzo trimestre?

Raccomandazione

1. Lo screening sierologico della sifilide, da eseguire con test treponemici immunometrici o immunoenzimatici per la ricerca degli anticorpi (ELISA o EIA o CLIA o CMIA), deve essere offerto a tutte le donne in gravidanza alla prima visita prenatale e nel terzo trimestre. Un ulteriore test treponemico (TPHA) e un test non treponemico (RPR o VDRL) dovrebbero essere sempre utilizzati come *reflex* in caso di positività del test immunoenzimatico, al fine di confermare la diagnosi e definire lo stato di attività della malattia.

raccomandazione forte, qualità delle prove molto bassa

RACCOMANDAZIONI CONFERMATE

		SCREENING IN GRAVIDANZA
STREPTOCOCCO GRUPPO B	✓	Raccomandato Forte, qualità delle prove molto bassa
TOXOPLASMOSI	✓	Raccomandato Forte, qualità delle prove molto bassa
HIV	✓	Raccomandato Forte, qualità delle prove bassa
EPATITE B (HBV)	✓	Raccomandato Forte, qualità delle prove molto bassa

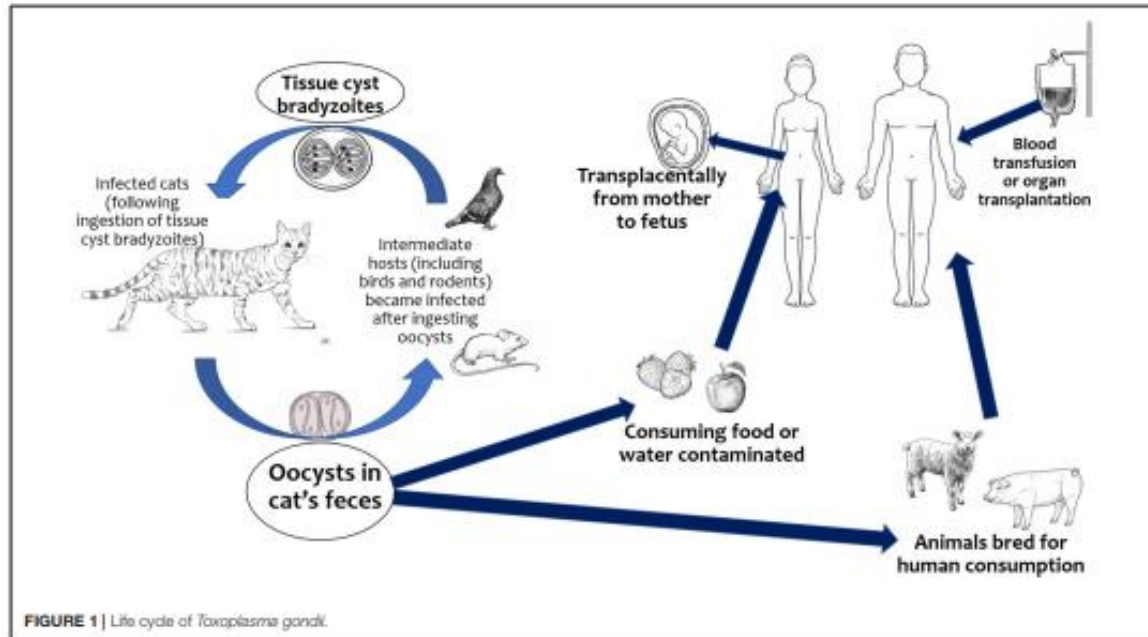


NUOVE RACCOMANDAZIONI

		SCREENING IN GRAVIDANZA
MALATTIA DI CHAGAS	✓	Raccomandato Forte, qualità delle prove moderata
TUBERCOLOSI	✓	Raccomandato Forte, qualità delle prove molto bassa



TOXOPLASMA GONDII



Protozoo parassita intracellulare obbligato

Tre genotipi:

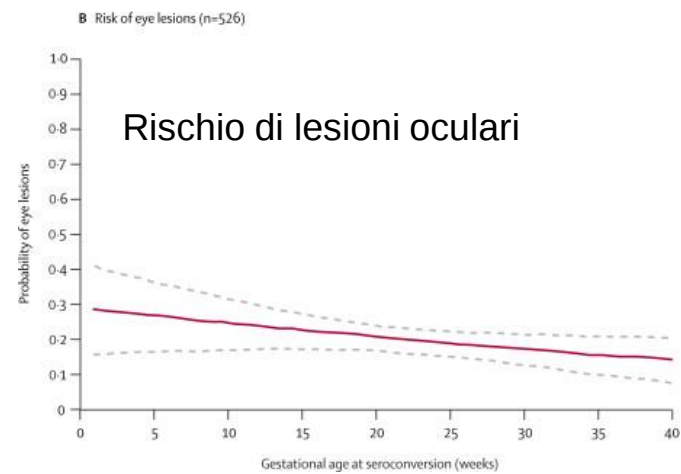
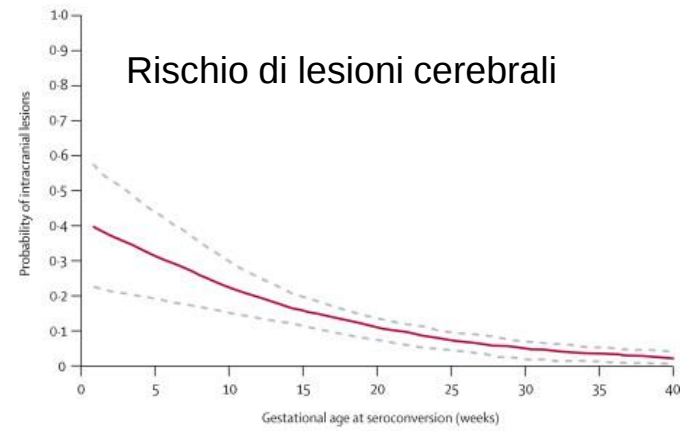
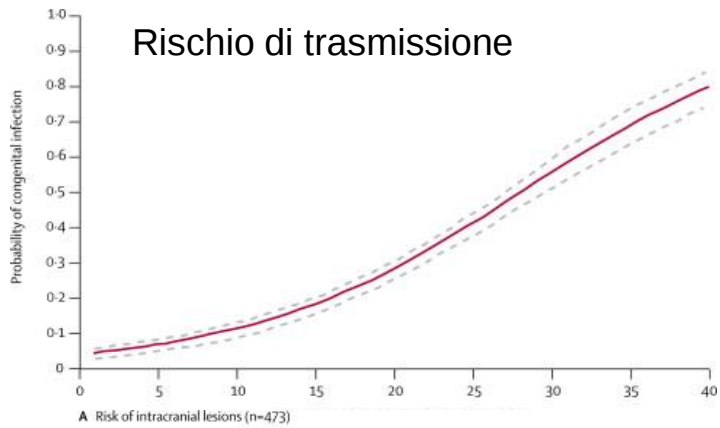
- Il tipo I,
- Il tipo II, più diffuso in Europa
- Il tipo III che viene più facilmente isolato negli animali.

In aree come Sud America, a seguito della ricombinazione genetica dei tre ceppi, sono presenti genotipi atipici, di solito molto più virulenti.

In caso di infezioni materne acquisite in **epoca periconcezionale** o nelle **prime settimane di gestazione**, il **rischio di trasmissione al feto è inferiore al 2%**.

La frequenza di trasmissione è **superiore al 60%** nelle infezioni acquisite dalla madre **nel terzo trimestre**.

Epoca di trasmissione e gravità della toxoplasmosi congenita sono inversamente correlate.



Risk of transmission and clinical manifestations in children infected by *T gondii* by gestational age at maternal seroconversion



Possible
chorioretinitis



2.13. Toxoplasmosi

QUESITI

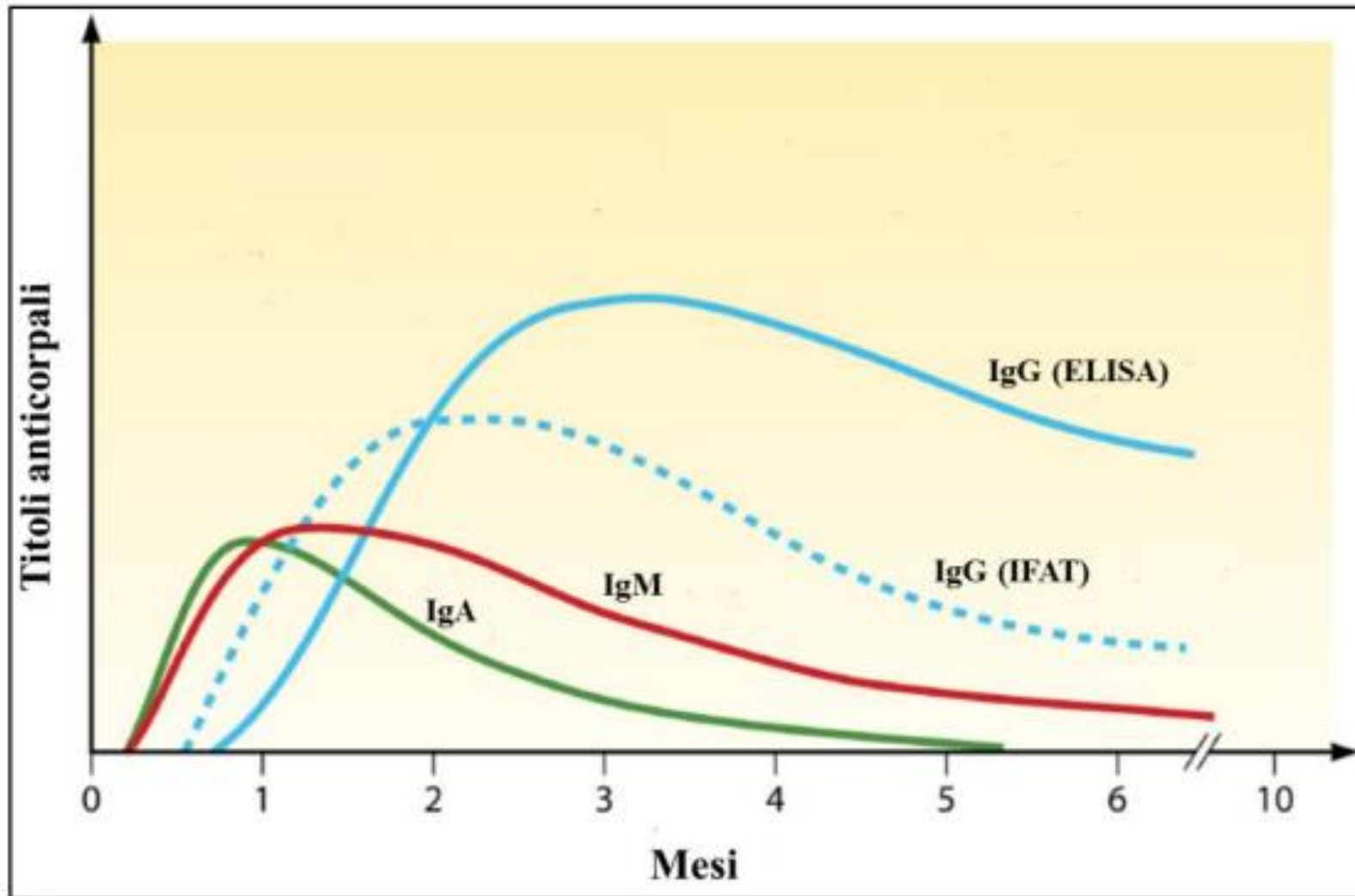
- Alle donne in gravidanza dovrebbe essere offerto lo screening della toxoplasmosi?
- Alla donna che sieroconverte in gravidanza dovrebbe essere offerto un trattamento antiprotosoario?
- Quali sono l'efficacia e la sicurezza delle indagini per diagnosticare l'avvenuta infezione fetale da *Toxoplasma gondii* in una madre che sieroconverte in gravidanza?
- Le donne in gravidanza dovrebbero ricevere informazioni relative alla prevenzione primaria della toxoplasmosi?

Raccomandazioni

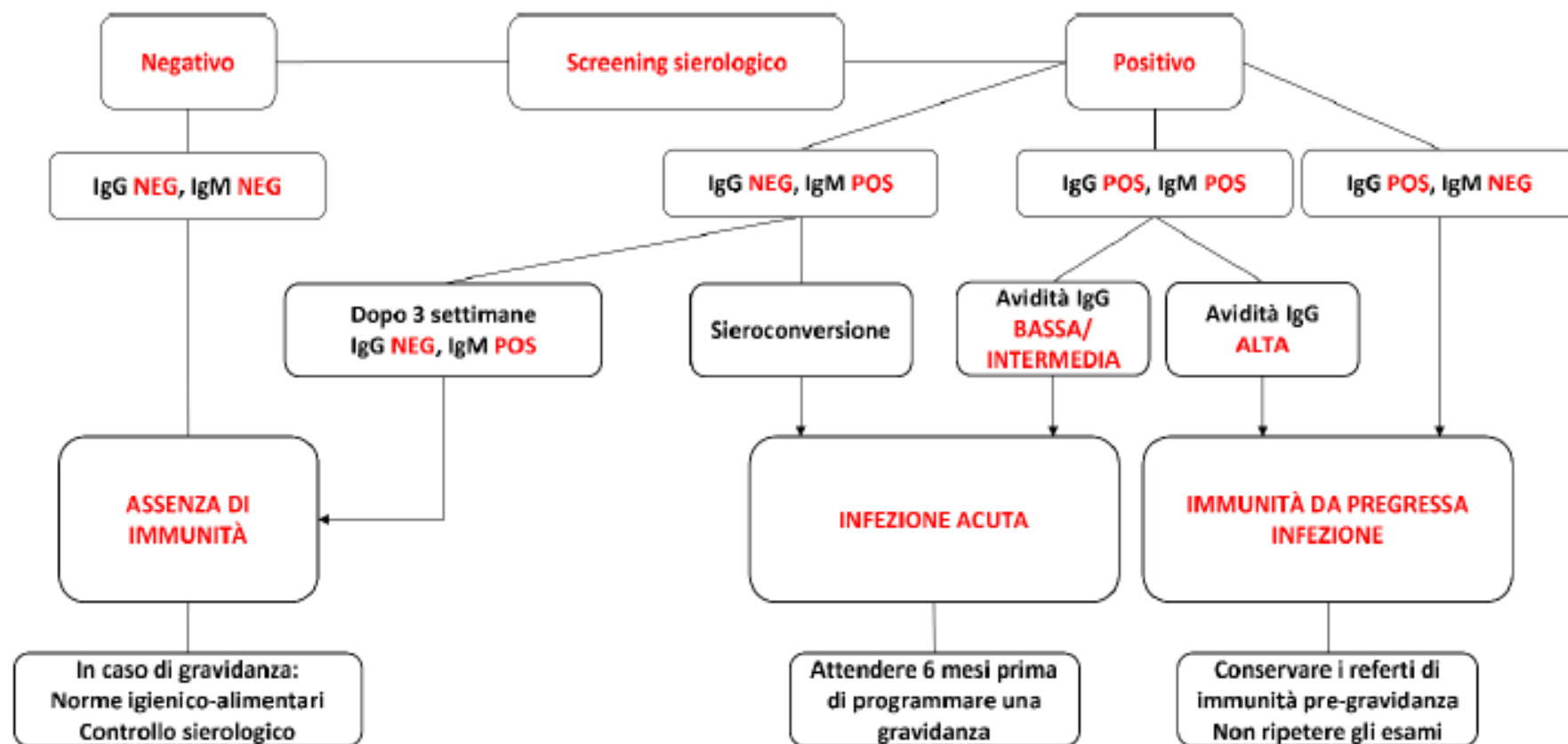
1. Lo screening sierologico della toxoplasmosi deve essere offerto a tutte le donne in gravidanza alla prima visita e ripetuto ogni 4-6 settimane, se il primo esame risulta negativo, fino al termine della gravidanza
2. Informazioni sulla toxoplasmosi e sulle misure igieniche e i comportamenti in grado di ridurre il rischio di acquisizione dell'infezione devono essere offerte a tutte le donne in gravidanza che risultano negative al test sierologico

raccomandazioni forti, qualità delle prove molto bassa

CINETICA DELLA RISPOSTA ANTICORPALE



FLOW-CHART DELLO SCREENING SIEROLOGICO PRECONCEZIONALE



FLOW-CHART DELLO SCREENING SIEROLOGICO PRECONCEZIONALE

Lo screening preconcezionale si basa sulla determinazione di anticorpi specifici anti-Toxoplasma gondii IgG ed IgM e permette di inquadrare lo stato sierologico della donna.

A seconda del risultato della sierologia, possiamo distinguere **4 categorie di gravide:**

1. IgG negative, IgM negative: assenza di immunità.

Si consiglia la profilassi igienico alimentare ed il controllo sierologico mensile, possibilmente fino ad un mese dopo il parto per evidenziare anche le infezioni più tardive.

2. IgG positive, IgM negative: immunità da pregressa infezione.

La donna non deve più effettuare controlli né nell'attuale gravidanza né in quelle successive. Sarebbe opportuno conservare i referti di immunità pre-gravidanza e non ripetere più gli esami per Toxoplasma gondii.

L'unica eccezione è rappresentata da donne con severa immunocompromissione, per le quali andranno effettuati controlli per evidenziare eventuali riattivazioni, con possibile trasmissione verticale dell'infezione al feto.

NORME IGIENICO-ALIMENTARI



FIGURE 4 | Recommendations to prevent *Toxoplasma* transmission during pregnancy.

FLOW-CHART DELLO SCREENING SIEROLOGICO PRECONCEZIONALE

Lo screening preconcezionale si basa sulla determinazione di anticorpi specifici anti-Toxoplasma gondii IgG ed IgM e permette di inquadrare lo stato sierologico della donna.

A seconda del risultato della sierologia, possiamo distinguere 4 categorie di gravide:

1. IgG negative, IgM negative: assenza di immunità.

Si consiglia la profilassi igienicoalimentare ed il controllo sierologico mensile, possibilmente fino ad un mese dopo il parto per evidenziare anche le infezioni più tardive.

2. IgG positive, IgM negative: immunità da pregressa infezione.

La donna non deve più effettuare controlli né nell'attuale gravidanza né in quelle successive. Sarebbe opportuno conservare i referti di immunità pre-gravidanza e non ripetere più gli esami per Toxoplasma gondii.

L'unica eccezione è rappresentata da donne con severa immunocompromissione, per le quali andranno effettuati controlli per evidenziare eventuali riattivazioni, con possibile trasmissione verticale dell'infezione al feto.

FLOW-CHART DELLO SCREENING SIEROLOGICO PRECONCEZIONALE

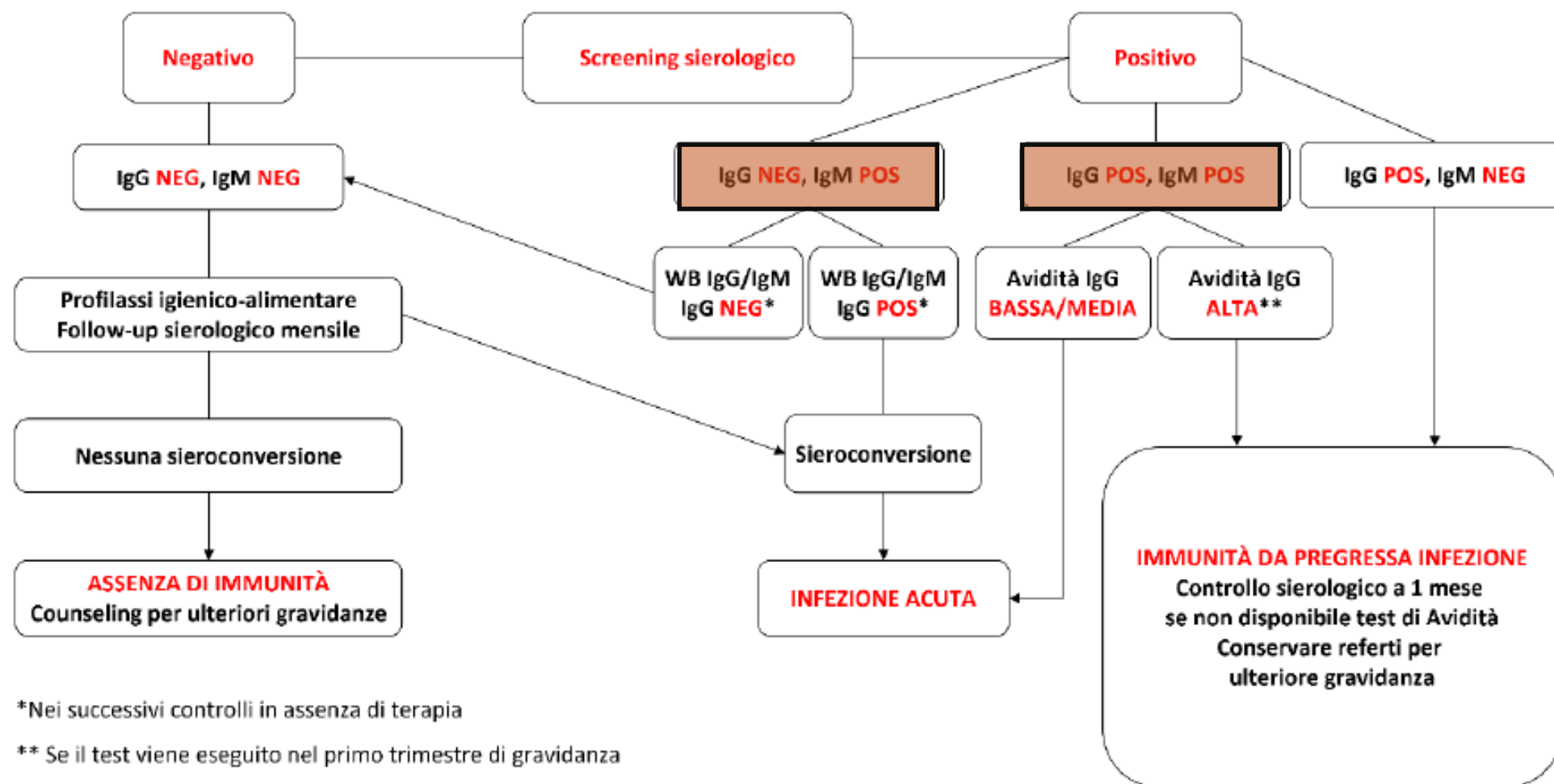
3. IgG negative, IgM positive: sieroconversione in fase iniziale oppure falsa positività per IgM. È consigliato ripetere il controllo sierologico nello stesso laboratorio a distanza di 15-20 giorni per valutare un'eventuale sieroconversione delle IgG, che insieme alla conferma delle IgM è sufficiente alla diagnosi di infezione primaria in atto; in quest'ultimo caso è consigliabile **un'attesa di 6 mesi prima di programmare una gravidanza**.



4. IgG positive, IgM positive: in questo caso risulta cruciale il **test di Avidità delle IgG**, che si basa sul principio secondo cui le IgG subiscono, durante l'evoluzione della risposta immunitaria, un aumento dell'affinità per l'antigene. Ne deriva che più la produzione di IgG è temporalmente vicina al momento dell'infezione, minore sarà la forza del legame all'antigene e minore sarà l'Avidità; ciò permette di distinguere tra donne con immunità da pregressa infezione (Avidità alta) e donne con infezione acuta da Toxoplasma gondii in atto (Avidità bassa), per le quali sarà consigliabile una condotta di **attesa di 6 mesi prima di programmare una gravidanza**.



FLOW-CHART DELLO SCREENING SIEROLOGICO IN GRAVIDANZA



*Nei successivi controlli in assenza di terapia

** Se il test viene eseguito nel primo trimestre di gravidanza

Due sono i quadri sierologici che pongono più problemi diagnostici:

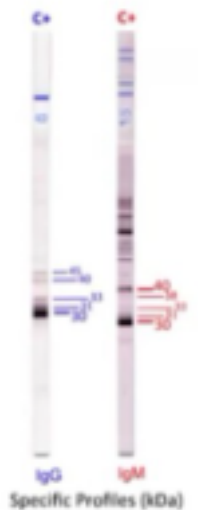
IgG negative, IgM positive:

Oltre a ripetere il controllo sierologico nello stesso laboratorio a distanza di 15-20 giorni per valutare un'eventuale sieroconversione delle IgG, è necessario considerare che la terapia può modificare la cinetica anticorpale, ritardando o addirittura inibendo la produzione di alcune classi anticorpali (IgG, IgA).

In caso di trattamento, effettuare già sul primo prelievo esami di secondo livello.

Utile nel differenziare un caso di sieroconversione da una falsa positività IgM è il Western-blot che permette di:

- rilevare anticorpi IgG specifici prima dei test tradizionali
- evidenziare la specificità antigenica degli anticorpi IgM



IgG-IgM WBII on 93 seroconversion and 68 aspecificity

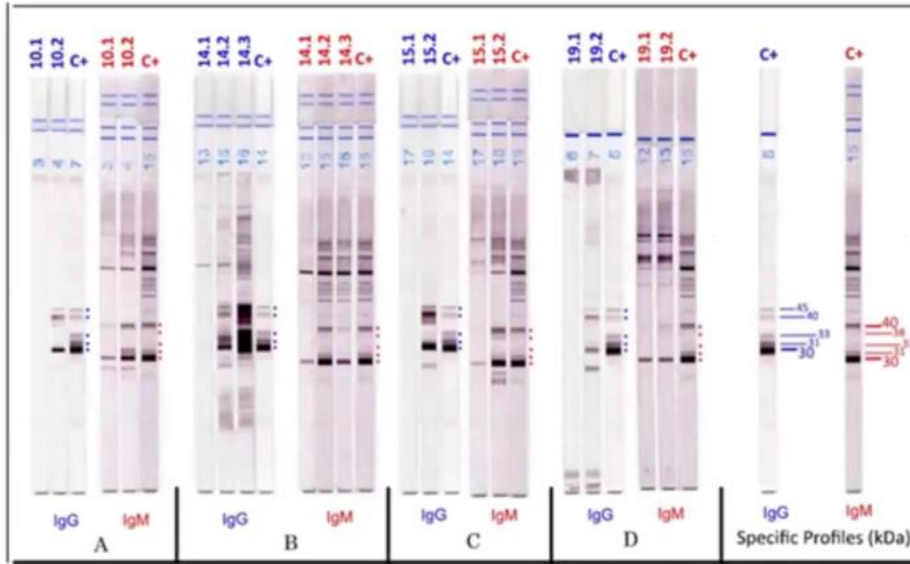


Figure 1: IgG and IgM Toxo II WB in four patients with seroconversion. ABCD: patient samples at Time 0 (Negative IgG Positive IgM with traditional tests) and 1 month later (equivocal or positive IgG positive IgM with traditional tests) C positive control.

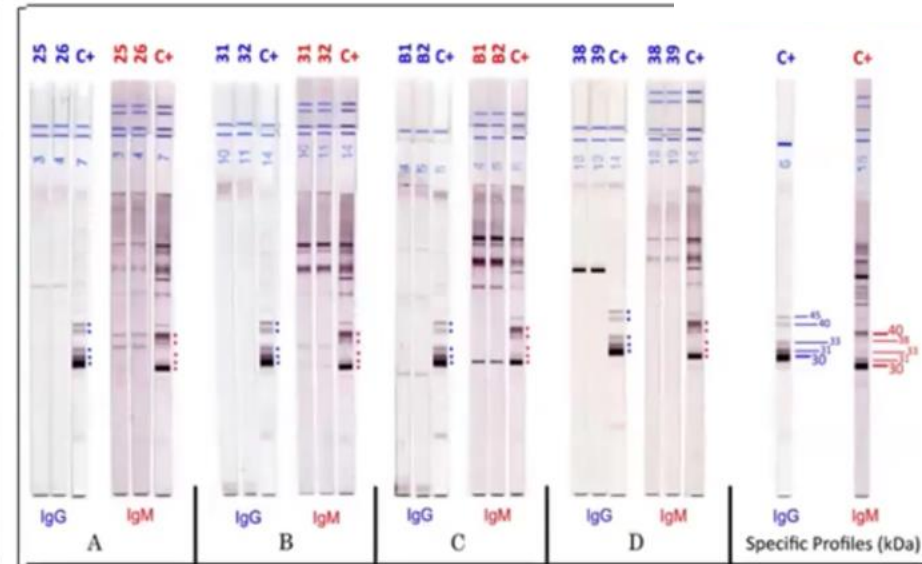


Figure 2: IgG and IgM TOXO II WB in four patients with false positive IgM. ABCD: patient samples at different times : time 0 and one month later (all patients were Negative IgG , Positive IgM with traditional tests) C positive : positive control.

Sensitivity 97.8% (CI 91.7 - 99.6)
Specificity 86.7% (CI 79.3 - 95.4)

IgG positive, IgM positive:

Sono necessari esami di secondo livello per la datazione dell'infezione.

La presenza di IgM, che possono persistere anche per più di un anno dal momento dell'infezione, non è necessariamente indice di una Toxoplasmosi in fase acuta.

Test di Avidità delle IgG per datare nel modo più preciso possibile l'infezione

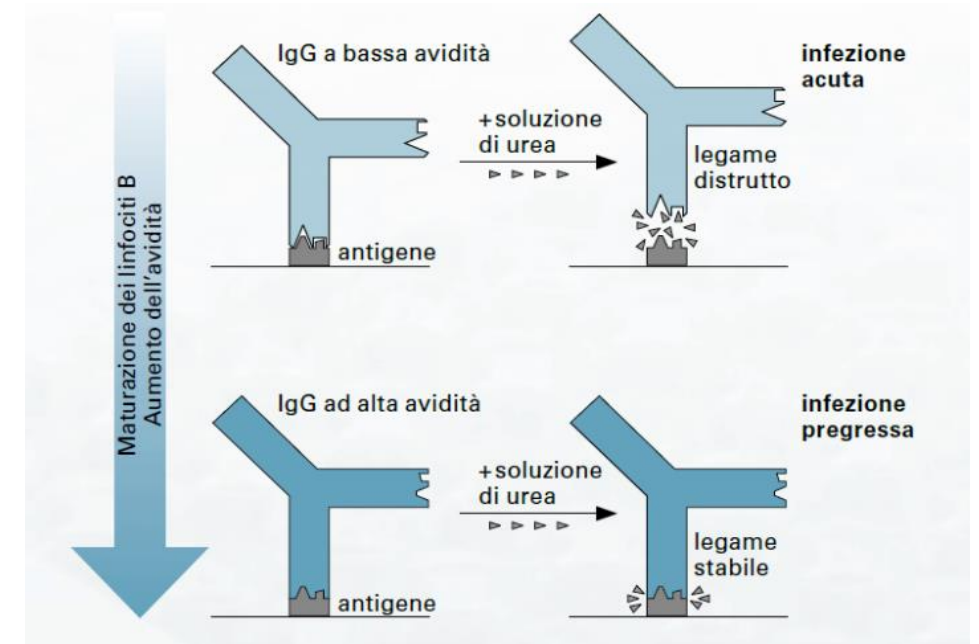


Avidità non alta

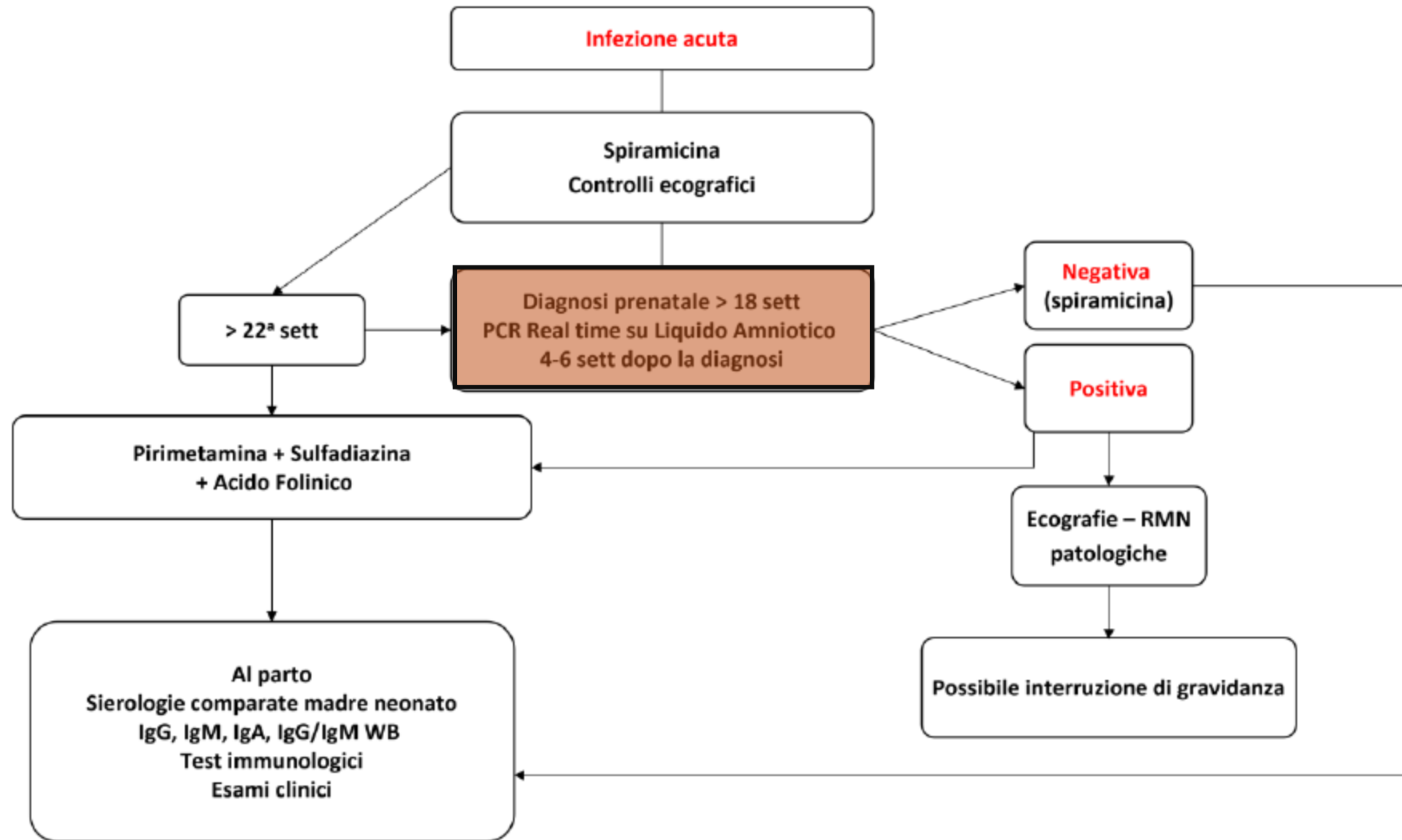
Non si può escludere l'infezione nei 4 mesi antecedenti

Avidità alta

Infezione antecedente almeno 4 mesi la data del prelievo



MANAGEMENT DELL'INFEZIONE ACUTA IN GRAVIDANZA



DIAGNOSI PRENATALE - AMNIOCENTESI

La sensibilità della **PCR** su **liquido amniotico** risulta influenzata da:

- **Appropriatezza del prelievo:**

Deve essere eseguito non prima di 4-6 settimane dall'esordio dell'infezione nella gravida, ad almeno 18 settimane di età gestazionale, non deve essere ematico e in quantità non inferiore a 10 ml.

- **Tecnica impiegata:**

La PCR va eseguita almeno in duplicato sul sedimento ottenuto dalla centrifugazione di 10 ml di liquido amniotico.

Specificità del 100% e sensibilità del 92%.

Quando la PCR su LAM risulta positiva, la diagnosi di toxoplasmosi congenita è pressoché certa, mentre nei casi di LAM negativo, rimane una piccola percentuale di possibili falsi negativi, oltre che di trasmissioni tardive dell'infezione, avvenute successivamente all'amniocentesi.

In caso di amniocentesi positiva, è previsto lo shift terapeutico da spiramicina a pirimetamina+sulfadiazina.

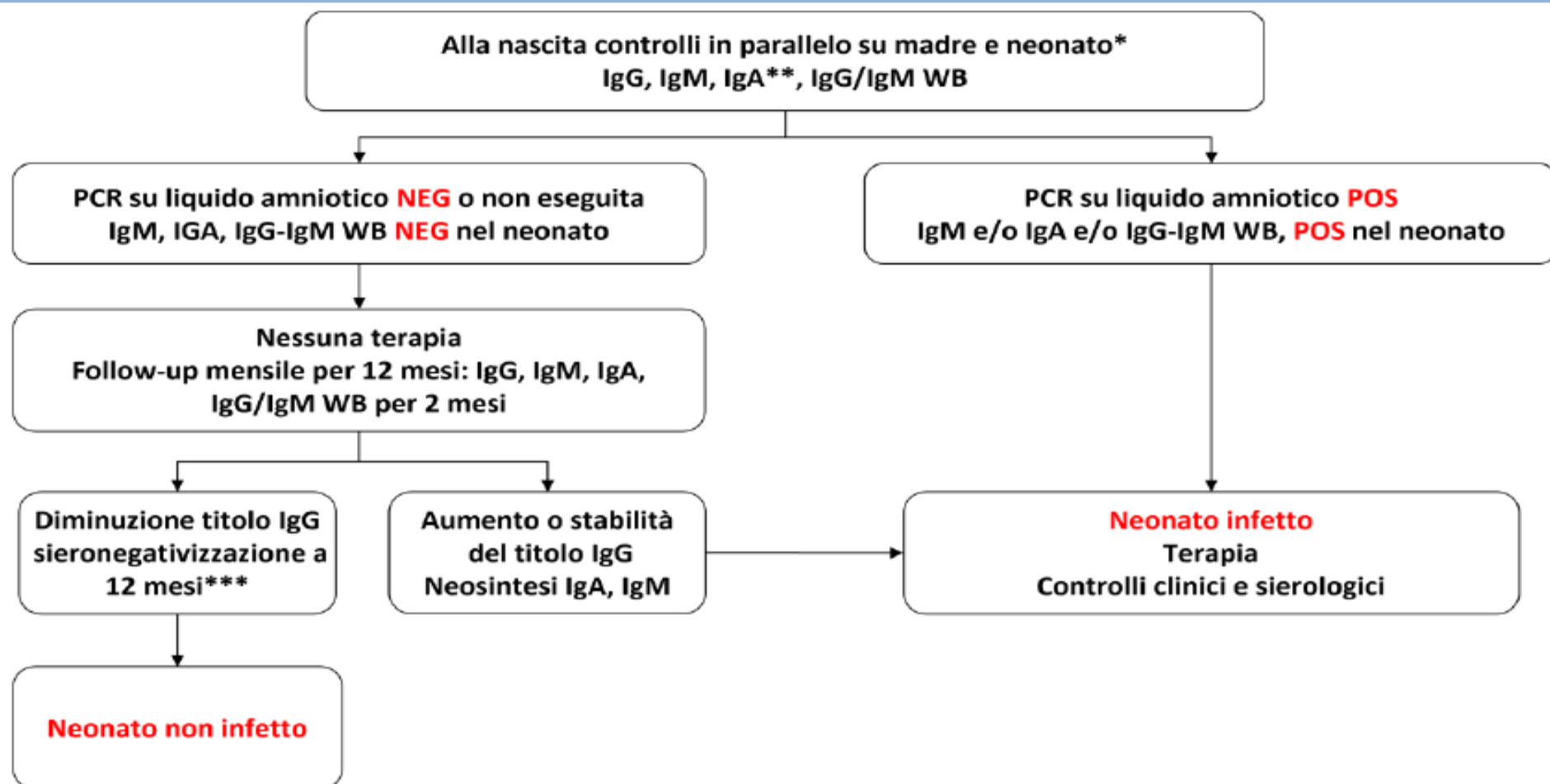
RISK OF FETAL INFECTION FROM REACTIVATION OR REINFECTION

Congenital toxoplasmosis secondary to maternal **reinfection** with a different *T. Gondii* strain is a very rare event. One review demonstrated that prior immunity to *T. Gondii* did not protect against reinfection with an atypical strain.

Theoretically, **reactivation** of latent toxoplasmosis during pregnancy leading to congenital infection could occur in pregnant individuals with HIV infection who are severely immunocompromised, but the risk appears to be absent or very low.

Patients receiving immunosuppressive therapies for conditions such as inflammatory bowel or rheumatologic diseases could also be at risk for having a congenitally infected infant due to reactivation, but no clear data in this population are available.

MANAGEMENT DEL NEONATO A RISCHIO



*Su sangue periferico

** IgA /IgM ISAGA sono i test più sensibili

*** Sieri vanno conservati per un anno e follow-up eseguito nello stesso laboratorio

N.B.: Sieronegativizzazioni transitorie sono possibili in corso di terapia

ACCERTAMENTI SIEROIMMUNOLOGICI SPECIFICI NEONATALI

Il riscontro di anticorpi anti-Toxoplasma gondii IgM e IgA con metodo ELISA su un campione di sangue periferico del neonato, rappresenta il più valido marker di infezione congenita, anche se l'assenza di tali anticorpi non esclude l'infezione.

Con tali test si riesce a fare diagnosi solo nel 75% dei neonati infetti; inoltre, quando l'infezione materna avviene in un'epoca gestazionale prossima al parto, la sierologia alla nascita può essere falsamente negativa.

Gli anticorpi IgG di origine materna attraversano la barriera placentare, pertanto non sono un indicatore di Toxoplasmosi congenita. Il titolo di IgG nel neonato tende a diminuire fino alla completa negativizzazione intorno a 6-12 mesi.

La persistenza di IgG all'anno di vita del neonato è indice di Toxoplasmosi congenita, mentre la negativizzazione (in neonati non trattati) esclude definitivamente l'infezione.

Neonato senza
infezione congenita



Sieronegativizzazione a
1 anno di vita

Follow up per un anno

ACCERTAMENTI SIEROIMMUNOLOGICI SPECIFICI NEONATALI

Il riscontro di anticorpi anti-Toxoplasma gondii IgM e IgA con metodo ELISA su un campione di sangue periferico del neonato, rappresenta il più valido marker di infezione congenita, anche se l'assenza di tali anticorpi non esclude l'infezione.

Con tali test si riesce a fare diagnosi solo nel 75% dei neonati infetti; inoltre, quando l'infezione materna avviene in un'epoca gestazionale prossima al parto, la sierologia alla nascita può essere falsamente negativa.

Gli anticorpi IgG di origine materna attraversano la barriera placentare, pertanto non sono un indicatore di Toxoplasmosi congenita. Il titolo di IgG nel neonato tende a diminuire fino alla completa negativizzazione intorno a 6-12 mesi.

La persistenza di IgG all'anno di vita del neonato è indice di Toxoplasmosi congenita, mentre la negativizzazione (in neonati non trattati) esclude definitivamente l'infezione.

In neonati a rischio di Toxoplasmosi congenita, con IgG positive a fronte di IgA ed IgM negative, è molto utile il Western-Blot comparativo mamma-neonato, che permette una precoce identificazione degli anticorpi sintetizzati dal neonato, poiché questi hanno una specificità antigenica diversa da quelli materni.

Il Western-Blot ha una specificità molto alta (97-100%) e, in aggiunta agli esami tradizionali, permette di identificare il 96-98% dei neonati infetti; tuttavia la metodica WB diventa aspecifica dopo il terzo mese di vita del neonato.

Un altro test che si è dimostrato estremamente efficace nella diagnosi precoce di Toxoplasmosi congenita è il dosaggio dell'interferon gamma (IFN- γ) dopo stimolazione del sangue intero con antigene toxoplasmico (IGRA). Al momento attuale è un test non commercializzato ed eseguibile solo in pochi laboratori di riferimento

CITOMEGALOVIRUS

Il Citomegalovirus umano (CMV o HHV5) è un beta-herpesvirus ubiquitario con un tasso di positività sierologica del 40-90 % nella popolazione umana adulta.

RESERVOIR: uomo

TRASMISSIONE: diretto/indiretto contatto

- **SORGENTE:** tutte le secrezioni
- **DIFFUSIONE:** eliminazione del virus per lunghi periodi
- La maggior parte delle infezioni sono asintomatiche

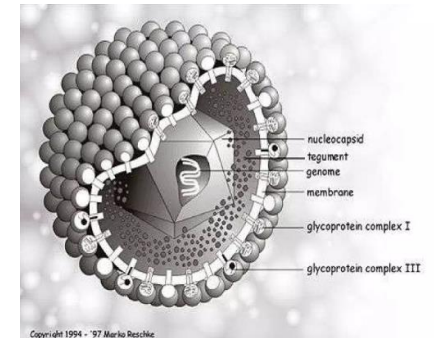
Infezione attiva da CMV

Infezione primaria

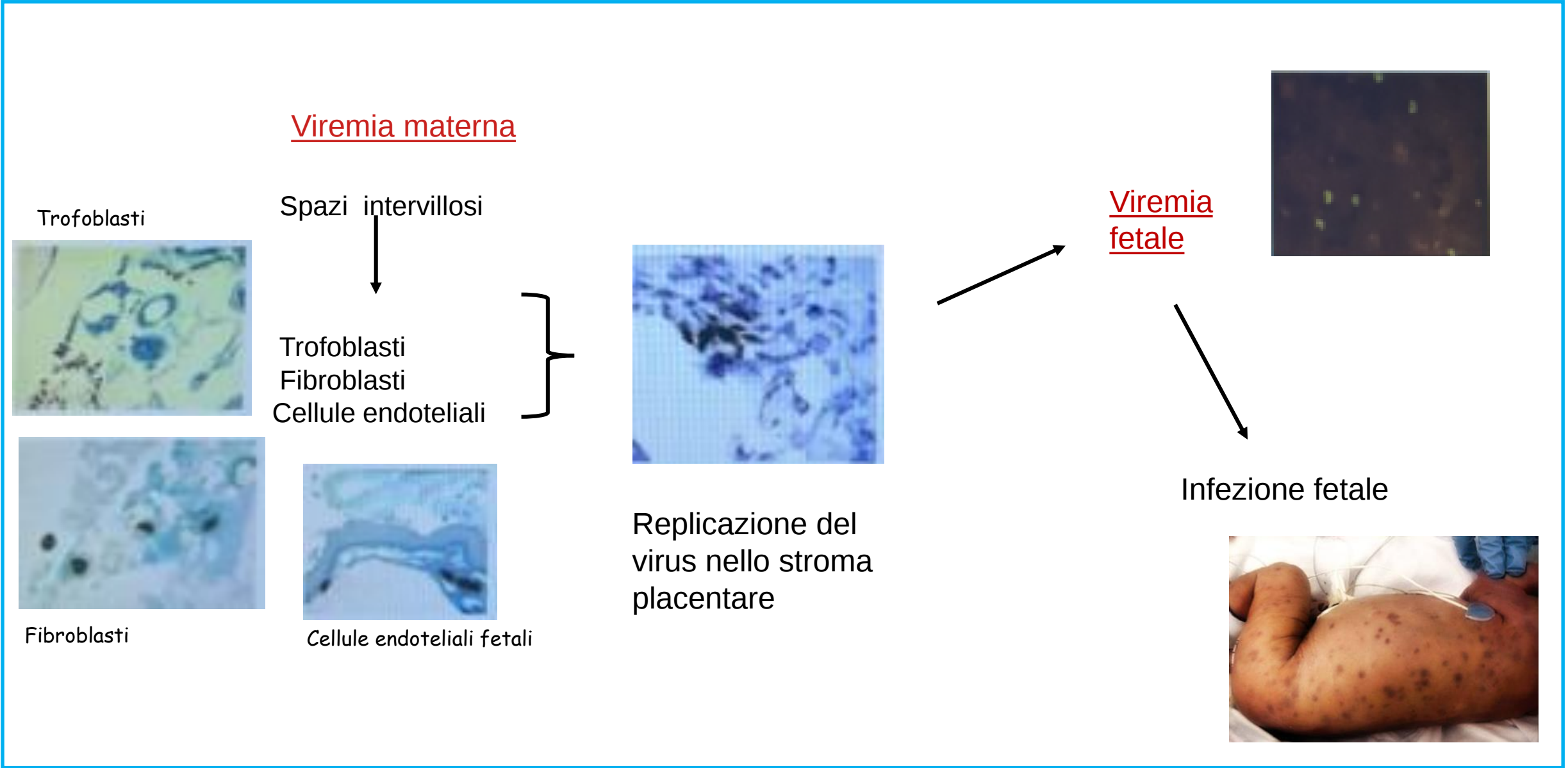
-esogena

Infezione non primaria

-riattivazione endogena (ceppo endogeno latente)
-reinfezione esogena (immunità incompleta
diversità genetica dei ceppi virali)



STORIA NATURALE DELL'INFEZIONE FETALE DA CMV

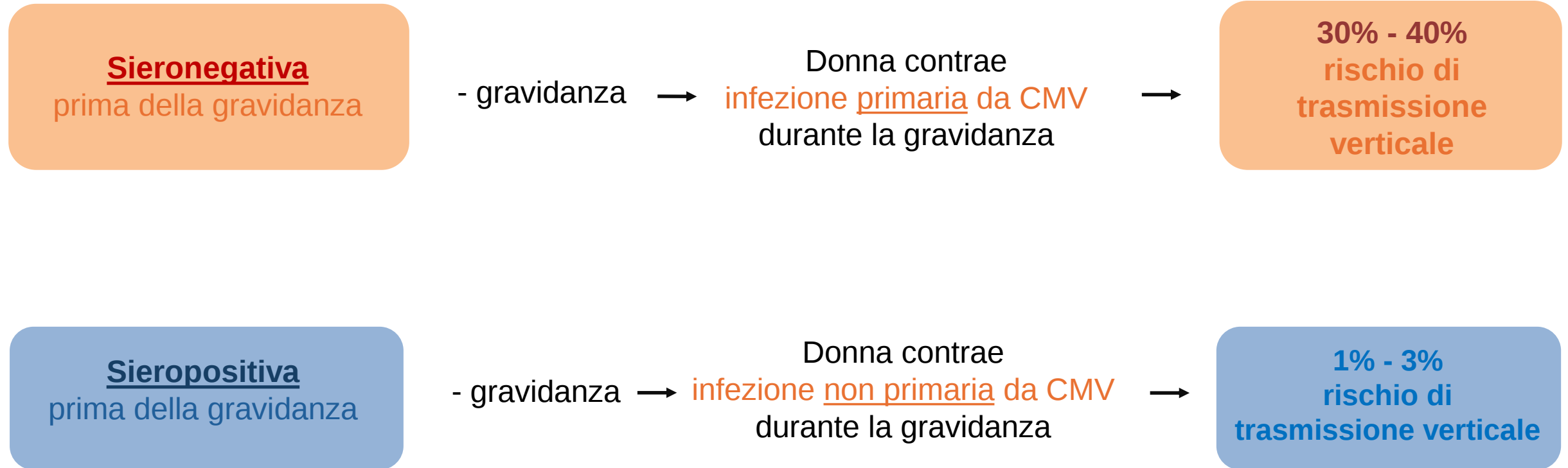


Tutte le donne sono a rischio di infezione da CMV

Ogni gravidanza è a rischio di infezione da CMV

**Quali pazienti in gravidanza sono però più a rischio
di trasmettere il CMV al feto?**

QUALI PAZIENTI IN GRAVIDANZA SONO PIU' A RISCHIO DI TRASMETTERE IL CMV AL FETO?



Il “peso” delle infezioni congenite da CMV a seguito di infezioni materne **primarie** rispetto a infezioni materne **non primarie** varia con il tasso di sieroprevalenza osservato nelle donne in gravidanza

**In countries where CMV seroprevalence
in pregnant women is low/medium-low (60-70%):
around half cCMV infections are due to maternal primary-infection**

11,942 consecutive newborns screened
in 2 maternities

Prevalence of cCMV: 0,37%

52% of cases followed
maternal
primary infection

48% of cases followed
maternal
non-primary infection

Leruez-Ville et al, CID, 2017



3,151 consecutive newborns screened
in 3 maternities

Prevalence of cCMV: 0,66%

58% cases followed
maternal
primary infection

42% of cases followed
maternal
non-primary infection

Chiereghin et al, Frontiers in Pediatrics, 2023



**In countries where CMV seroprevalence in pregnant women is high (>90%)
90% of cCMV infections are due to maternal non-primary infection**

1,721 newborns screened in Brazil
Seroprevalence in mothers = 98%
Prevalence of cCMV: 0,5%

10% of cases followed maternal
primary infection

90% of cases followed maternal
non-primary infection

Mussi-Pinhata et al, JID, 2017



Consensus recommendation for prenatal, neonatal and postnatal management of congenital cytomegalovirus infection from the European congenital infection initiative (ECCI)



Marianne Lervuez-Ville,^{a,b,u,*} Christos Chatzakis,^{c,d,u} Daniele Lilleri,^{e,v} Daniel Blazquez-Gamero,^{f,v} Ana Alarcon,^g Nicolas Bourgon,^c Ina Foulon,^h Jacques Fourgeaud,^{a,b} Anna Gonce,ⁱ Christine E. Jones,^j Paul Klapper,^k André Krom,^l Tiziana Lazzarotto,^{m,n} Hermione Lyall,^o Paulo Paixao,^p Vassiliki Papaevangelou,^q Elisabeth Puchhammer,^r George Sourvinos,^s Pamela Vallely,^k Yves Ville,^{a,c,w} and Ann Vossen^{t,w}



SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF CMV INFECTION

Pay close attention when the level of CMV–IgG antibodies is very low (close to the reference cut-off of the test)

Low levels of CMV IgG antibodies
in maternal serum samples
represent a challenge to the clinician:

- ✓ **Low IgG levels** can be associated with a **true positive** and a **false positive** result

Establishing CMV serological status

We recommend repeating weakly positive IgG results with a second assay or sending the sera to a reference laboratory:

1. Sera that are positive with both assay can be declared **positive + +**
2. Those with discordant results should be considered equivocal and declared **negative - -**

SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF CMV INFECTION

Low levels of CMV IgG antibodies
in maternal serum samples
represent a challenge to the clinician:

- ✓ Low IgG levels with positive IgM
may be associated with
false high – IgG avidity results
- ✓ Low IgG levels with negative IgM
may be associated with
false low – IgG avidity results

Pay close attention when the level of CMV – IgG antibodies is very low
[with all automated IgG avidity testings!!](#)

Recommendations:

IgG+ & IgM+

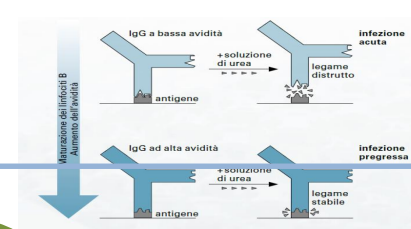
If the IgG level is very low, it is suggested to report IgG avidity test:

NOT DOSABLE and request an additional sample at least 15 days later

~~IgG+ & IgM-~~ **IgG+ & IgM+**

It is essential to use the IgG avidity test to rule out recent (<90 days) maternal primary infection only in serum samples positive for IgG and IgM antibodies

IGG – AVIDITY TEST SPECIFIC FOR CMV



Latest generation IgG avidity assays allow excluding a **recent** MPI (<3 months) and a **semi-recent** MPI (>3 months/<6 months) with a high sensitivity (94-100% and 80-90% respectively).

Therefore, **high IgG avidity** in the first trimester allows with a high probability to exclude MPI

- in the first trimester,
- in the periconceptional (± 2 weeks from conception) and
- in the preconceptional (2-8 weeks before conception) periods.

In recent MPI, a **low** or a **moderate avidity** is found in 85-90% and in 10-15% of sera, respectively.

In **semi-recent** MPI avidity is low in 10-50% of cases, moderate 30-70% or high 10-20% respectively.

Six months after MPI, IgGs with intermediate avidity are still found in 20-40% of sera.

Recommendation:

We recommend that sera with a **moderate avidity** should be retested with **another avidity assay** or should be sent to an expert laboratory.

If the second assay produces a high avidity value, recent MPI is unlikely.

Pregnant women in their first trimester with positive IgM together with low or confirmed moderate IgG avidity are eligible for secondary prevention.



2.3. Infezione da *Cytomegalovirus* (CMV)

QUESITO

Lo screening dell'infezione da *Cytomegalovirus* (CMV) dovrebbe essere offerto a tutte le donne in gravidanza oppure solo alle donne a rischio?

Raccomandazioni

1. Lo screening sierologico dell'infezione da CMV deve essere offerto a tutte le donne in gravidanza con stato sierologico non noto o negativo (anticorpi IgG e IgM negativi) alla prima alla prima visita e comunque entro il primo trimestre e ripetuto ogni 4-6 settimane, se il primo esame risulta negativo (anticorpi IgG e IgM negativi) sino a 24 settimane di gravidanza.
2. Lo screening sierologico dell'infezione da CMV deve essere offerto in presenza di segni suggestivi di infezione fetale all'ecografia ostetrica e/o di sintomi materni suggestivi di infezione sintomatica da CMV, come sindrome simil-mononucleosica, malattia simil-influenzale oppure epatite indifferenziata.
3. Informazioni sull'infezione da CMV e sulle misure igieniche e i comportamenti in grado di ridurre il rischio di acquisizione dell'infezione devono essere offerte a tutte le donne in gravidanza, a quelle che intendono pianificarla e alle persone di loro fiducia, indipendentemente dallo stato sierologico e rischio di esposizione

raccomandazioni forti, qualità delle prove moderata-forte

DIAGNOSIS OF PRIMARY CMV INFECTION IN PREGNANT WOMEN

Categories	Period	What does this mean?	What should be done
IgG- IgM-	Just before pregnancy or during pregnancy	Non immune woman High risk of acquiring primary infection	Information on hygiene and behavioral measures
IgG+ IgM-	Before ≤12/14 WG	Past infection	No further diagnostic investigation is required
IgG- IgM+	Before or during pregnancy	Acute phase of primary infection ?? Or IgM false positive result ??	Serological testing performed in the same lab after 10-15 days
IgG+ IgM+	Before ≤12/14 WG	Active infection? Primary infection? Non primary?	Advanced diagnosis Avidity IgG test & IgG-IgM IB testing

IgG negative
IgM negative

- ✓ Suscettibilità
- ✓ Follow up

Norme igienico-sanitarie

Research Paper

Prevention of Primary Cytomegalovirus Infection in Pregnancy☆



Maria Grazia Revello ^a, Cecilia Tibaldi ^e, Giulia Masuelli ^e, Valentina Frisina ^e, Alessandra Sacchi ^e, Milena Furione ^b, Alessia Arossa ^a, Arsenio Spinillo ^a, Catherine Klersy ^c, Manuela Ceccarelli ^f, Giuseppe Gerna ^{d,*}, Tullia Todros ^e, for the CCPE Study Group ¹

Be careful when:



Changing /
disposing of
diaper



Kissing



Wiping mouth
and nose /
disposing of tissues



Feeding

Wash your hands and surfaces



**Safe kissing /
hugging**



INTERVENTION GROUP

331 donne

↓ **1.2%**

4 sieroconversioni
(3 neonati infetti)

COMPARISON GROUP

315 donne

↓ **7.6 %**

24 sieroconversioni
(8 neonati infetti)

$\Delta = 6.4\%$

(95%CI 3.2-9.6, P< 0.001)

IgG **positive**
IgM negative

Infezione pregressa

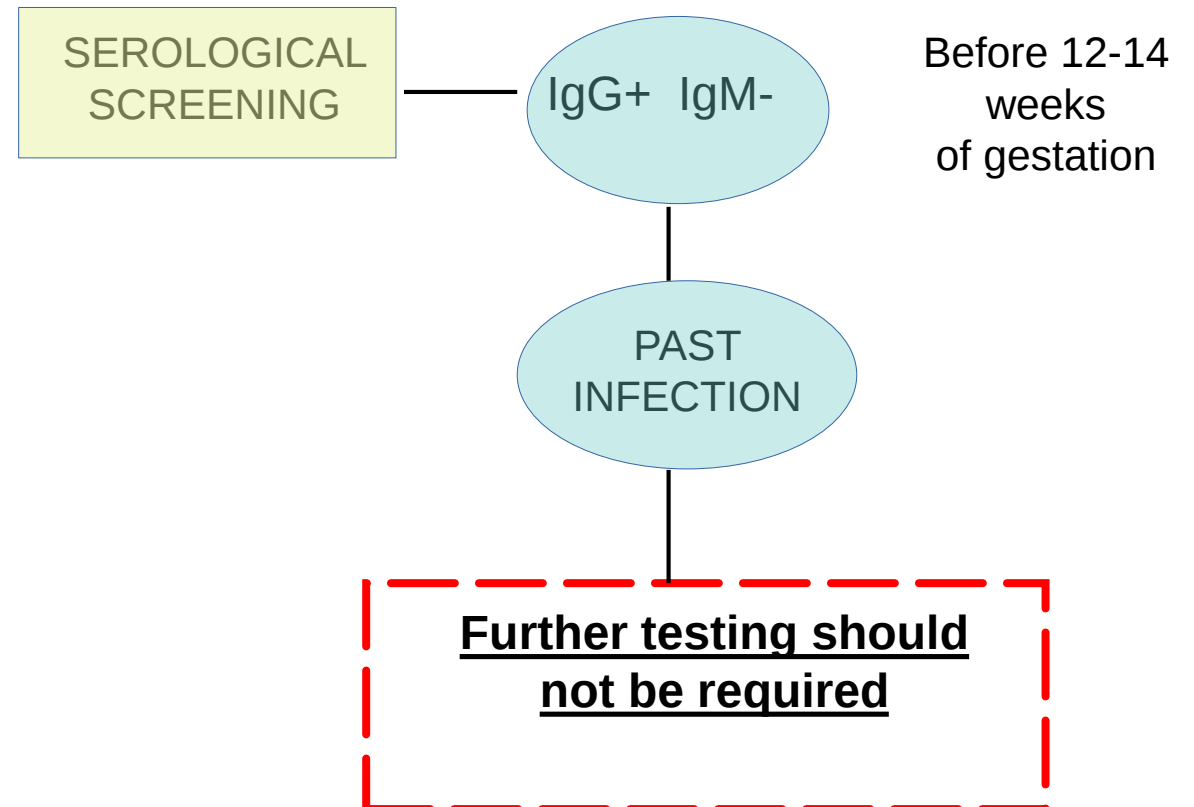
Anche se non completamente protettiva, l'immunità acquisita protegge dall'infezione primaria in gravidanza che comporta il rischio maggiore per il feto, mentre la possibilità di un'infezione non primaria, pur non essendo escludibile durante la gravidanza stessa, comporterebbe un rischio prospettico di infezione fetale molto basso (<3%) e non superiore a quello inerente allo stato gravidico in sé.

Consensus intersocietario
AMCLI-SIGO-SIMaST-SIN-SIP 2012

Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy

T. Lazzarotto¹, B. Guerra², L. Gabrielli¹, M. Lanari³ and M. P. Landini¹

1) Department of Haematology, Oncology and Laboratory Medicine, Operative Unit of Clinical Microbiology, 2) Department of Obstetrics and Gynaecology, St Orsola Malpighi General Hospital, University of Bologna, Bologna and 3) Operative Unit of Paediatrics and Neonatology, La Scaletta Hospital, Imola-Bologna, Italy



IgG negative
IgM **positive**

✓ Ulteriori indagini

CMV Anticorpi	IgG Avidità	Interpretazione	Ulteriori indagini
IgM pos IgG neg	Non applicabile	Infezione primaria in fase acuta O Falsa positività delle IgM ?????	Ripetere il test dopo 2 – 4 settimane nello stesso laboratorio

La sensibilità della PCR del CMV nel sangue intero per la diagnosi di infezione primaria materna è del 100% nelle prime due settimane dall'inizio dell'infezione e si riduce all'88-97% rispettivamente nelle successive due.

In questi casi, il test PCR su sangue intero potrebbe essere utile per escludere o confermare un'infezione primaria materna in corso

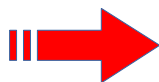
IgG positive
IgM positive

Diagnosi avanzata

Test dell'avidità delle IgG
Test di secondo livello

La corretta interpretazione di una positività delle IgM specifiche in gravidanza è cruciale

Falsi positivi



Interruzione di gravidanza

Per questo, la diagnosi in gravidanza non deve mai basarsi unicamente su un referto di IgM positive
(soprattutto se eseguite come esame di screening)

DIAGNOSI DI INFEZIONE PRIMARIA MATERNA DA CMV

Diagnosi sierologica
Anticorpi anti CMV

IgG screening test +
IgM screening test

Se IgG e IgM positive
Test di avidità delle IgG

AFFIDABILE <14 WG

Diagnosi virologica
CMV DNA

Saliva - Real Time PCR

Sangue intero – Real Time PCR

Urine – Real Time PCR

Non sempre affidabile

Un risultato negativo per la ricerca del DNA di CMV nel sangue intero, saliva ed urina non esclude l'infezione primaria

DIAGNOSI DI INFEZIONE NON PRIMARIA MATERNA DA CMV

Quali test devono essere utilizzati in gravidanza?

There is no valid laboratory test to identify women with pre existing immunity at risk of giving birth to an infected newborn.

CMV serology and PCR are not helpful

1. With a 0-25% IgM detection rate
2. A rise in IgG titers in 0-22%
3. And a positive DNAemia reported in 24-66% of the cases

DIAGNOSIS OF FETAL INFECTION

CMV PCR on amniotic fluid is the gold standard for diagnosing fetal CMV infection. Most guidelines recommend performing the PCR on AF collected at or **after 21 weeks and at least 6 weeks** after MPI for opyimal sensitivity.

However, a recent study showed that PCR on AF is a reliable method to diagnose fetal infection **from 17 weeks** onwards, provided that amniocentesis is performed **at least 8 weeks** after MPI.

Table 2b Diagnostic value of CMV DNA detection in amniotic fluid in relation to gestational week and time interval between estimated seroconversion and amniocentesis

Gestational weeks + days	Time interval	N	Result PCR	Congenital infection		Sensitivity % (95%CI)	NPV %
				Yes	No		
≥17 + 0 ^a	≤8 weeks	25	Positive	5	0	45.5	70.0
			Negative	6	14	(17-77)	
	>8 weeks	52	Positive	20	0	90.9	93.3
			Negative	2	30	(71-99)	
≥20 + 0	≤8 weeks	19	Positive	3	0	33.3	62.5
			Negative	6	10	(7.5-70)	
	>8 weeks	37	Positive	18	0	90.0	89.5
			Negative	2	17	(68-99)	

CI, confidence interval; CMV, cytomegalovirus; NPV, negative predictive value.

^aPatients with amniocentesis at 17 + 0 to 19 + 6 (n = 21) and ≥20 + 0 (n = 56).

Recommendation

- We recommend the administration of oral valacyclovir at a dose of 8 g/day in cases with maternal primary infection in the periconceptional period or the first trimester of pregnancy, as early as possible after the diagnosis and until the result of the CMV PCR in amniocentesis. **Grade A**
- We recommend the dose regiment of 2 g 4 times per day to minimize the risk of renal side effects. **Grade D**
- We recommend against the administration of hyperimmune globulin, at doses of 100 IU/kg every 4 weeks, in pregnant women with primary CMV infection. **Grade A**
- Administration of hyperimmune globulin at dose of 200 IU/kg every 2 weeks, in women with very recent primary CMV infection in the first trimester may be considered. **Grade C**
- We recommend performing CMV PCR in amniotic fluid collected from 17 + 0 weeks gestation for the diagnosis of fetal CMV infection, provided that maternal infection occurred at least 8 weeks earlier. **Grade B**
- Fetal ultrasound assessment and MRI assessment in the third trimester is recommended in infected fetuses, as it can provide information regarding the presence of CMV associated findings which will provide prognostic information. **Grade A**
- In women with confirmed fetal infection, fetal treatment with valacyclovir 8 g/day may be considered after discussion with an expert team. **Grade C**
- We recommend reassurance in women with negative CMV PCR in amniotic fluid since late fetal infection (after the amniocentesis) is not associated with long term sequelae. **Grade A**

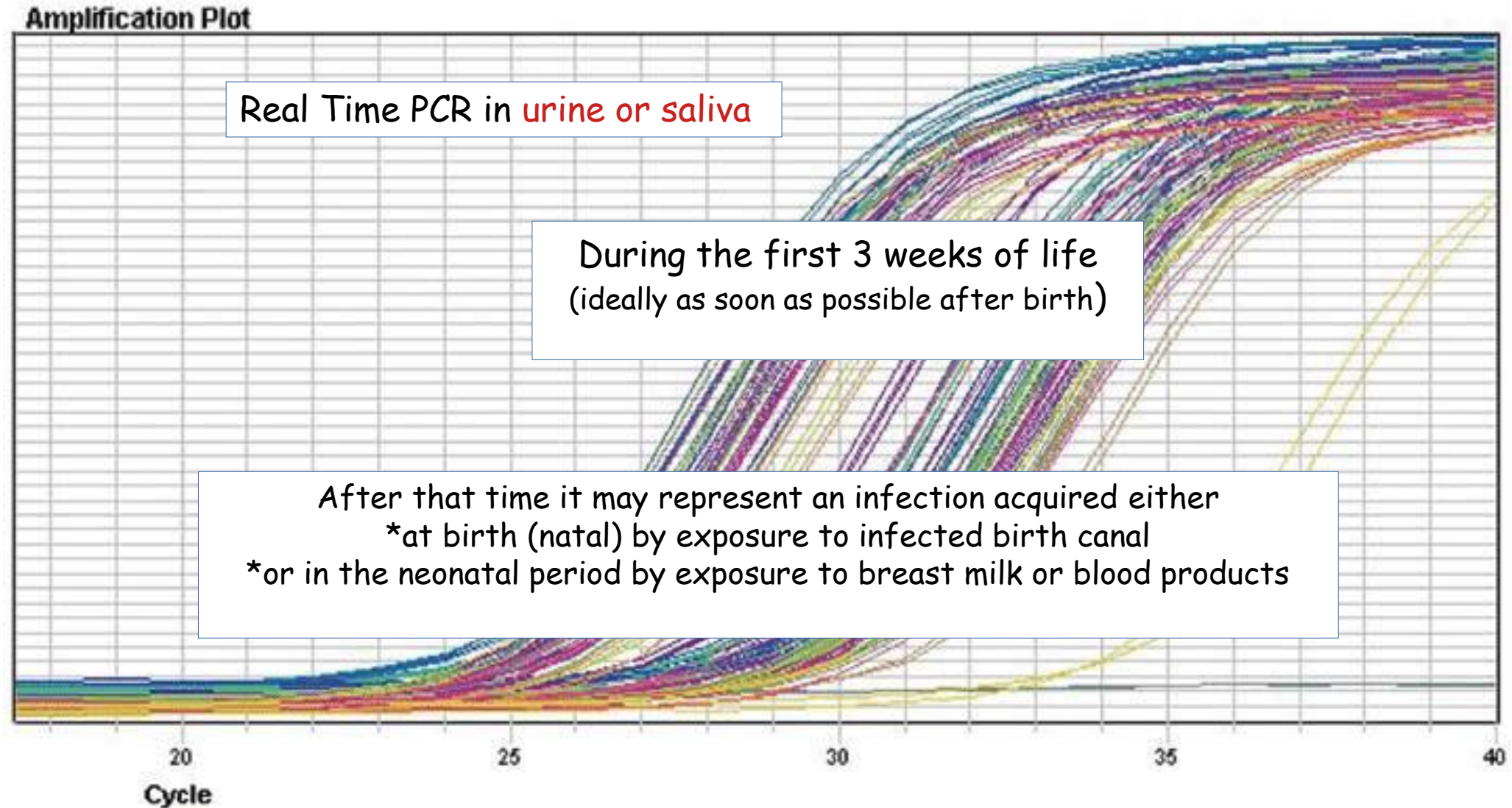
Table 2: Recommendations on secondary prevention, diagnosis of fetal infection and follow-up of infected fetuses.

DIAGNOSI DI INFEZIONE CONGENITA NEL NEONATO



In caso di sospetta/accertata infezione da CMV in gravidanza (primaria o non primaria) e/o sospetto clinico neonatale è necessario procedere alle indagini neonatali per la diagnosi di infezione congenita da CMV che, se confermata, deve dar luogo a valutazioni clinico-laboratoristico-strumentali atte a definire il coinvolgimento di organi ed apparati. In base a questi elementi potrà essere espresso un giudizio prognostico, avviato il follow up e, ove indicata, iniziata la terapia.

DIAGNOSI DI INFEZIONE CONGENITA NEL NEONATO



VIRUS DELLA ROSOLIA

Famiglia Togaviridae - Genere Rubivirus

Proprietà del virione



Dotato di envelope

Capside a simmetria icosaedrica

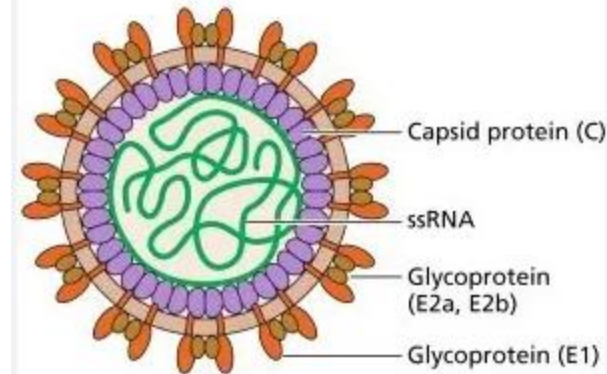
Genoma ad RNA, singolo filamento a polarità positiva

Caratteristiche



Infezione ubiquitaria a circolazione endemica

Trasmissione interumana attraverso
- le secrezioni nasofaringee
- contatto interumano diretto



ASPETTI CLINICI E PATOGENESI

Il virus della rosolia penetra nell'organismo attraverso le prime vie aeree. Nelle cellule della mucosa si ha una prima fase di replicazione, cui fa seguito una seconda nei linfonodi cervicali.

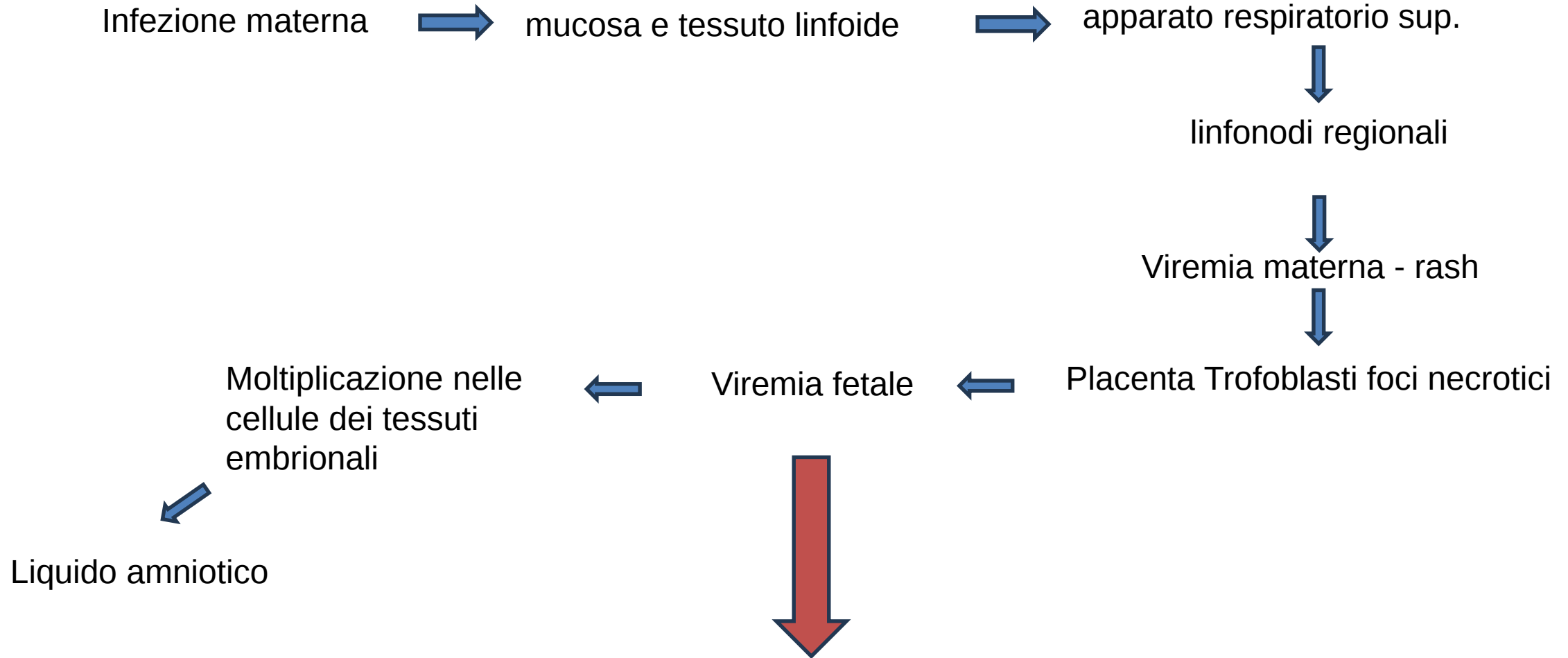
Il periodo di incubazione varia da due a tre settimane, con una media di quattordici giorni. L'escrezione virale, dal rinofaringe, inizia circa 7 giorni prima dell'esantema e persiste fino a 7-12 giorni dopo il rash. Pertanto, l'isolamento domiciliare è raccomandato fino ad una settimana dalla scomparsa delle manifestazioni cutanee. La fase viremica è presente nei sette giorni che precedono la comparsa dell'esantema.

ROSOLIA IN GRAVIDANZA

L'infezione, che decorre in forma asintomatica nel 25-50% dei casi, se contratta entro le prime 16-18^a settimane di gestazione (SG) può determinare nell'embrione/feto aborto o gravi alterazioni transitorie e/o permanenti definite come "sindrome da rosolia congenita" (SRC). Nei restanti casi l'infezione materna può esitare nella nascita di un neonato infetto asintomatico (infezione da rosolia congenita, IRC) o di un neonato non infetto.

La probabilità di danno fetale è maggiore nelle prime settimane di gravidanza e tende ad annullarsi dopo la 17^a SG. Il periodo di maggiore esposizione teratogenica avviene quando il rash compare tra 3 e 6 settimane dall'ultima mestruazione. La SRC è pari all'85% se la rosolia è contratta dalla madre nelle prime 12^a SG con maggiori probabilità di lesioni multiple e del 35% tra 13-16^a SG. Dopo la 17^a SG il rischio di SRC è minimo o nullo.

PATOGENESI DELLA ROSOLIA CONGENITA



Disturbi nella morfogenesi di vari organi sindrome da rosolia congenita

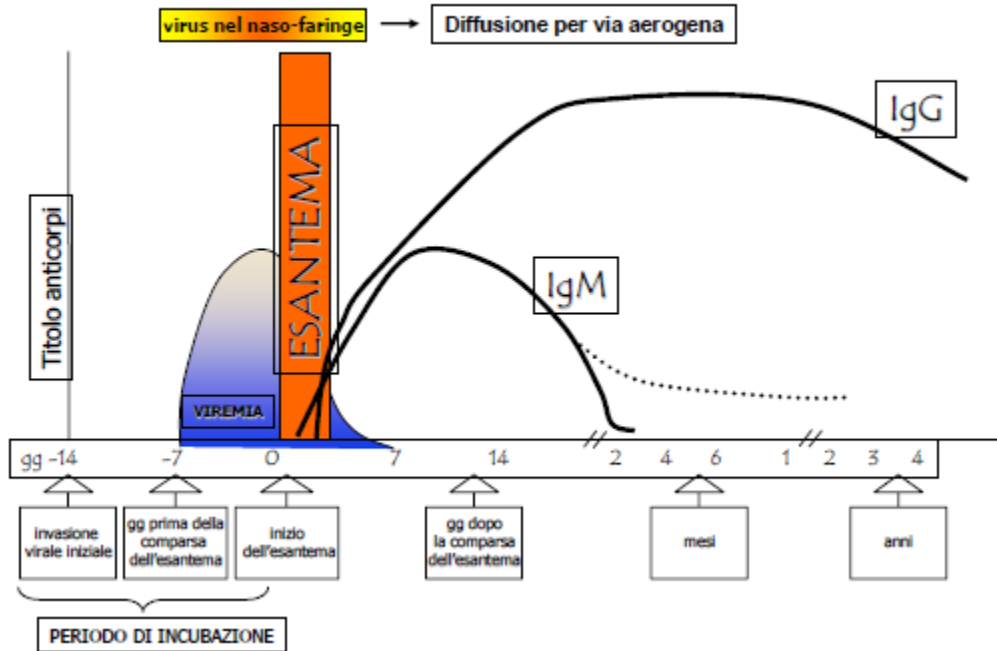
INTERVENTI DI PREVENZIONE

La vaccinazione in epoca preconcezionale rimane la più efficace strategia preventiva della trasmissione materno-fetale (Filia et al, 2018; WHO, 2023; AMCLI, 2023)

Definita suscettibile la donna che non abbia documentazione scritta di vaccinazione contro la rosolia o di immunità avvenuta per infezione naturale (Boucoiran et al. 2018, WHO 2023, AMCLI 2023)

CINETICA VIRALE ED ANTICORPORALE DA INFEZIONE RUBEOLICA

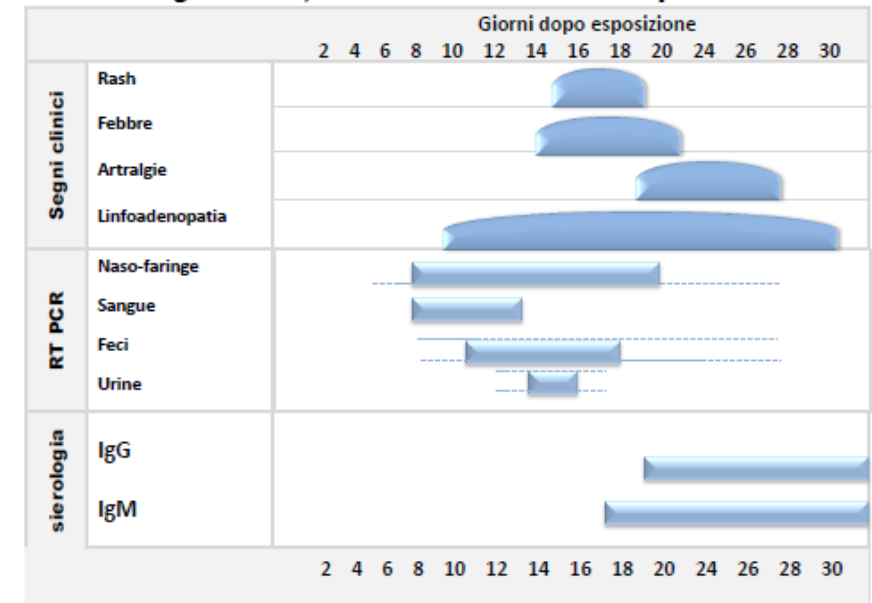
Storia naturale dell'infezione primaria: produzione del virus e cinetica anticorpale



RV penetra nell'organismo attraverso le alte vie aeree dove avviene la prima fase di replicazione, cui fa seguito una seconda nei linfonodi cervicali. Il periodo di incubazione è in media di quattordici giorni. La fase viremica si manifesta sette giorni prima della comparsa dell'esantema, mentre l'escrezione virale dal rinofaringe inizia circa sette giorni prima del rash e persiste fino a 7-12 giorni dopo. Le RV-IgM compaiono entro una settimana dall'esantema e sono evidenziabili per circa 50-60 giorni. RV-IgG si rilevano, generalmente, dopo 2-5 giorni dalla comparsa delle RV-IgM e persistono conferendo l'immunità.

La diagnosi di infezione recente si basa sulla sieroconversione delle RV-IgG oppure sulla sieropositività delle RV-IgM e RV-IgG associate a basso RV-AI. La cinetica di AI è molto rapida, con un indice di maturazione delle RV-IgG elevato, già, dopo circa 6 settimane dall'infezione.

ROSOLIA
segni clinici, cinetica virale ed anticorpale



CINETICA ANTICORPALE DOPO VACCINAZIONE ANTI-RV

La cinetica anticorpale dopo vaccinazione è differente da quella che si verifica dopo infezione naturale.

La presenza di RV-IgM tende a persistere nel tempo, oltre 3-6 mesi e la maturazione di RV-AI è più lenta, con una stabilizzazione a livelli moderati che possono persistere nel tempo.

L'immunità indotta da una dose di vaccino si suppone duri tutta la vita, anche se i titoli anticorpali diminuiscono nel tempo. Ciò, probabilmente, è dovuto alla scarsa standardizzazione dei test RV-IgG in uso. Tali test, tutti quantitativi, pur avendo come unità di misura le Unità Internazionali (UI/ml), differiscono per gli antigeni utilizzati, i metodi di rivelazione, l'interpretazione dei risultati. Inoltre, tali test sono stati messi a punto per rilevare anticorpi IgG in soggetti affetti da rosolia e non per valutare il sierostato in soggetti vaccinati.

Ne consegue che i sieri di soggetti vaccinati con basse quantità di RV-IgG possono risultare alternativamente positivi, negativi o equivoci a seconda del test sierologico utilizzato. **Per questo non è suggerito il controllo sierologico post-vaccinazione.**

ACCERTAMENTI SIEROLOGICI E MOLECOLARI ENTRO LA 12^a SETTIMANA DI GESTAZIONE

DONNE SENZA CERTIFICATO DI VACCINAZIONE

IgG negative
IgM negative



indicano un soggetto suscettibile di infezione che necessita di controlli sierologici mensili fino alla 20^a SG ed al momento del parto

IgG **positive**
IgM negative



indicano uno stato immunitario di protezione dall'infezione. Non sono necessari altri controlli in gravidanza e nelle successive gestazioni.

ACCERTAMENTI SIEROLOGICI E MOLECOLARI ENTRO LA 12^a SETTIMANA DI GESTAZIONE

DONNE SENZA CERTIFICATO DI VACCINAZIONE

Dato anamnestico positivo per esantema o segni clinici sospetti di infezione rubeolica e/o cluster epidemiologici

RV-IgG negative e RV-IgM positive

eseguire la ricerca di RV-RNA su tampone naso-faringeo, urine e sangue (siero o sangue periferico) raccolti entro le prime 2 settimane dall'esordio della sintomatologia, se presente. Ripetere RV-IgG a distanza di 7-10 giorni. L'esito positivo dei test molecolari e/o la successivamente sieroconversione delle RV-IgG conferma la diagnosi eziologica di infezione rubeolica.

RV-IgG positive e RV-IgM positive

è raccomandata l'esecuzione di RV-AI.

Se RV-AI basso/moderato: diagnosi di infezione acuta da rosolia. Si suggerisce anche l'esecuzione di RV-RNA su tampone naso-faringeo, urine e sangue (siero o sangue periferico), che, se positiva, conferma la diagnosi.

Se RV-AI alto, è indicato un controllo sierologico di RV-IgG e RV-IgM a distanza di 2-3 settimane. In presenza di cinetica anticorpale, probabile infezione recente. In assenza di cinetica anticorpale: infezione da rosolia non confermata, possibile persistenza o reazione crociata da altre patologie infettive

ACCERTAMENTI SIEROLOGICI E MOLECOLARI ENTRO LA 12^a SETTIMANA DI GESTAZIONE

DONNE SENZA CERTIFICATO DI VACCINAZIONE

Assenza di dato anamnestico positivo per esantema o segni clinici sospetti di infezione rubeolica e/o cluster epidemiologici

RV-IgG negative e RV-IgM positive

la presenza di RV-IgM, in assenza di RV-IgG, può essere dovuta a:

- eventuali infezioni intercorrenti (SARS-CoV2, CMV, Toxoplasma gondii, Parvovirus B19, virus Epstein Barr o altro agente)
- eventuali vaccinazioni recenti verso SARS-CoV2, Influenza, Difterite-Tetano-Pertosse (DTP)
- malattie autoimmuni, presenza di fattore reumatoide
- molto raramente a fase acuta di rosolia.

L'esecuzione di un controllo sierologico (RV-IgG e RV-IgM) a distanza di 7-10 giorni consente di osservare la cinetica anticorpale. In caso di assenza di RV-IgG, la paziente va considerata sieronegativa.

Viceversa, la comparsa di RV-IgG con variazione dei livelli di RV-IgM viene considerato come un dato anamnestico positivo.

RV-IgG positive e RV-IgM positive

è raccomandata l'esecuzione di RV-AI.

RV-AI basso o moderato: potrebbe essere suggestivo di un'infezione recente da rosolia. La donna deve essere rivalutata a distanza di 2-3 settimane per confermare la cinetica di RV-IgG, RV-IgM e RV-AI.

RV-AI elevato: possibile persistenza di RV-IgM o reattività crociata da altre patologie infettive.

ACCERTAMENTI SIEROLOGICI E MOLECOLARI ENTRO LA 12^a SETTIMANA DI GESTAZIONE

DONNE CON CERTIFICATO DI VACCINAZIONE

a. RV-IgG positive e RV-IgM positive: non è necessario eseguire RV-AI.

Nei vaccinati, infatti, l'RV-AI può mantenersi basso o moderato per lungo tempo. Accertarsi che le RV-IgM non siano espressione di reazione crociata in corso di altre infezioni (Citomegalovirus, Toxoplasma gondii, Parvovirus B19, virus Epstein Barr) o vaccinazione recente (SARS-CoV2, Influenza, DTP) o malattie autoimmuni.

b. RV-IgG negative e RV-IgM negative:

Non sono necessari controlli sierologici in gravidanza e nelle successive gestazioni. Si consiglia vaccinazione post partum.

DIAGNOSI PRENATALE

La diagnosi prenatale su liquido amniotico (LA) e sangue cordonale per rosolia è raccomandata in 20[^]- 21[^] SG, possibilmente, 7-8 settimane dall'inizio dell'infezione materna ed esclusivamente per rosolia contratta entro la 18[^] SG. Essa si avvale delle seguenti procedure:

- ricerca del virus mediante tecniche di biologia molecolare (RT PCR) nel LA e sangue cordonale testati in repliche multiple
- ricerca delle RV-IgM su sangue cordonale.

La positività di uno o più dei suddetti test indica un'infezione congenita. In caso di negatività, si raccomanda controllo siero-virologico del neonato alla nascita (assenza di infezione congenita).

Nelle donne con rosolia contratta dopo la 18[^] SG è raccomandato esclusivamente il controllo clinico e siero-virologico nel neonato alla nascita, in considerazione della bassa incidenza di danno fetale.

Nelle gestanti con persistenza di RV-IgM non sono indicati controlli siero-virologici del neonato alla nascita. A seguito di vaccinazione accidentale nel primo trimestre, qualora la coppia decida per la diagnosi prenatale invasiva, si suggerisce la sola ricerca di RNA virale su LA e controllo siero-virologico del neonato alla nascita.

ACCERTAMENTI SIEROLOGICI E MOLECOLARI DOPO LA 12^a SETTIMANA DI GESTAZIONE

I test sieroimmunologici eseguiti in quest'epoca gestazionale hanno scarso valore diagnostico nell'escludere una possibile infezione nel primo trimestre per la rapida scomparsa delle RV-IgM e la precoce maturazione di RV-AI.

Pertanto, in assenza di dati sierologici precedenti alla gravidanza o di certificato vaccinale, la presenza di RV-IgG e/o RV-IgM ed un indice di RV-AI alto, non consentono di escludere un'infezione avvenuta ad inizio gravidanza.

Si raccomanda controllo sierologico mensile fino alla 20^a SG e in prossimità del parto e successivo controllo virologico del neonato alla nascita.

EPIDEMIOLOGIA

Dal 2013 incidenza di SRC è inferiore a 1 caso/100.000 nati vivi, con assenza di casi dal 2018 ad oggi (Giambi et al. 2018)

l'OMS ha dichiarato raggiunta nel 2021 l'eliminazione della trasmissione endemica della Rosolia in Italia (WHO 2023)

Interruzione della trasmissione indigena in un'area geografica definita, per almeno 36 mesi, in presenza di un sistema di sorveglianza efficiente

TRATTAMENTO IN GRAVIDANZA

Non esiste una terapia farmacologica specifica per la rosolia, il trattamento si avvale di farmaci sintomatici per la febbre o i dolori articolari

Non esiste trattamento per prevenire o ridurre la trasmissione materno-fetale in gravidanza

Sieroconversione materna entro il primo trimestre deve essere offerto un counselling multidisciplinare per l'elevata possibilità di danni fetali gravi (ISS-SNLG 2011, AMCLI 2023)



2.10. Rosolia

QUESITO

Alle donne in gravidanza dovrebbe essere offerto lo screening della rosolia?

Raccomandazioni

1. Lo screening della rosolia non deve essere offerto alle donne in gravidanza
2. La vaccinazione anti-rosolia deve essere offerta nel post partum a tutte le donne che non abbiano documentazione di avvenuta vaccinazione con due dosi di vaccino o di pregressa infezione (donne suscettibili)
3. Informazioni su strategie di prevenzione della diffusione di rosolia nella popolazione, sulla esposizione in gravidanza, sulla gratuità dei test per verificare la suscettibilità e sulla vaccinazione in periodo preconcezionale devono essere offerte a tutte le donne in gravidanza.

raccomandazioni forti, qualità delle prove molto bassa

CONFRONTO TRA I CONTESTI DELLE LG

2011

Trasmissione endemica

Coperture vaccinali non ottimali (< 50% in alcune regioni)

Incidenza SRC incidenza 5.2/100.000 nati vivi nel 2008

Assenza di trattamento per prevenire o ridurre la trasmissione madre-figlio in gravidanza

Unica misura efficace di prevenzione:
vaccinazione in epoca pre-concezionale

2023

Eliminazione trasmissione endemica

Copertura del 93% circa per prima dose in popolazione generale

Incidenza SRC < 1/100.000 nati vivi dal 2013 e assenza di casi dal 2018

Assenza di trattamento per prevenire o ridurre la trasmissione madre-figlio in gravidanza

Unica misura efficace di prevenzione:
vaccinazione in epoca pre-concezionale

Per questa condizione, il Comitato tecnico scientifico della linea guida effettuerà un monitoraggio costante dei dati epidemiologici oltre che della letteratura; la raccomandazione potrà essere modificata, coerentemente con nuove conoscenze e nuovi dati di popolazione eventualmente disponibili dal sistema di sorveglianza nazionale.

TAKE HOME MESSAGE

- ➔ Eseguire un'anamnesi accurata
- ➔ Ripetere i controlli sierologici sempre nello stesso laboratorio
- ➔ Di fronte a dei quadri di immunità/infezione pregressa non richiedere più il controllo sierologico, sia nella gravidanza in corso che nelle successive
- ➔ Non richiedere il dosaggio dell'AI se le IgM risultano negative
- ➔ Non richiedere il dosaggio dell'AI se precedentemente era già risultato alto
- ➔ Non fare affidamento ai risultati di AI nei casi in cui i valori di IgG siano bassi o moderati

