



Biometria splenica ed epatica fetale in gravidanze complicate da sieroconversione da HCMV

Annalisa Rizzo, Alessia Arossa, Silvia Bariselli, Maryam Nazifi, Manuela Formica,
Alessandro Alfei

*Clinica Ostetrico-Ginecologica, Università degli Studi di Pavia, Fondazione
IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia*

Biometria splenica ed epatica fetale in gravidanze complicate da sieroconversione da HCMV

Scopo dello studio è stato quello di valutare l'efficacia della misurazione del perimetro della milza e del diametro del fegato nel predire l'infezione fetale da HCMV in gravidanze complicate da infezione primaria. Sono state arruolate 30 pazienti con infezione primaria da HCMV in gravidanza. Ogni paziente è stata sottoposta ad ecografie ostetriche mensili, nel corso delle quali è stata effettuata la misurazione della circonferenza della milza e del diametro del fegato fetali in aggiunta alle valutazioni ecografiche standard. La diagnosi di trasmissione verticale è stata effettuata mediante isolamento virale sull'urina del neonato nella prima settimana di vita. Dei 30 feti studiati, 15 sono risultati infetti al controllo post-natale. Sono state effettuate 59 misurazioni della circonferenza della milza e 61 del diametro epatico. La biometria epatica non ha mostrato differenze significative tra feti infetti e non. Tra la 30 e la 36 settimana la circonferenza della milza è risultata tendenzialmente maggiore nel gruppo feti infetti rispetto al gruppo di quelli non infetti (sensibilità: 36%, specificità: 81%, VPP: 55.81%, VPN: 65.5%). La misura ecografica della circonferenza della milza appare come un parametro potenzialmente utile nel predire la trasmissione materno-fetale dell'infezione da HCMV in aggiunta ai già noti aspetti morfologici.

Ulteriori valutazioni prospettiche sono indispensabili per inserire di routine la valutazione ecografica di questo parametro nei casi di infezione primaria materna da HCMV, per incrementare la sensibilità dell'esame ecografico nell'individuazione dei casi di trasmissione verticale.

Fetal splenic and hepatic biometry in pregnancies complicated by HCMV primary infection

Objective of our study is to assess the efficacy of ultrasound measurements of splenic perimeter and hepatic diameter to predict fetal HCMV infection in pregnancy complicated by primary infection. We have been enrolled 30 patients. Obstetric ultrasound studies have been performed every month. During ultrasound examination we evaluated splenic circumference and hepatic diameter in association with standard ultrasound measurements. Post-natal diagnosis of congenital infection was achieved by virus recovery from an urine sample taken within one week after delivery. We studied 30 patients, 15 of them result infected at post-natal control. 59 splenic circumference and hepatic diameter have been measured. Hepatic biometry didn't show significant differences compared to non-infected group. Between 30 and 36 weeks of gestation splenic circumference resulted greater in infected fetus than in non-infected. (sensitivity 36%, specificity 81%, VPP 55.81%, VPN 65.5%).

The ultrasound measure of splenic circumference seems to be a useful parameter to predict maternal-fetal transmission of HCMV infection in association with other known morphological aspects. Further prospective evaluations are necessary to use splenic circumference measure as a routine parameter in case of maternal primary HCMV infection, and to increase sensitivity of ultrasound exam in identifying cases of vertical transmission.

Introduzione

Il citomegalovirus umano (HCMV) è la causa più comune di infezione intrauterina, essendo riscontrato in circa l'1% dei nati vivi [1]. HCMV è un virus patogeno opportunista che appartiene alla famiglia degli *Herpesviridae* e, come tutti i membri di questa famiglia, rimane latente nell'ospite, andando incontro a periodiche riattivazioni. Nell'adulto immunocompetente l'infezione primaria è solitamente asintomatica o caratterizzata da sintomi aspecifici (febbre, cefalea, astenia marcata, artralgie, sindrome simil-mononucleosica).

Come riporta una recente revisione della letteratura riguardo la sieroprevalenza del HCMV, l'infezione è relativamente comune tra le donne in età fertile, che presentano una sieroprevalenza che varia tra il 45 e il 100%. La sieroprevalenza tende ad essere più elevata nei paesi in via di sviluppo, mentre sta diminuendo progressivamente nei paesi con un livello socio-economico più alto. La popolazione femminile sieronegativa in età fertile rappresenta quindi un gruppo a rischio di contrarre l'infezione primaria nel corso della gravidanza, soprattutto se a contatto diretto con bambini di età inferiore ai 3 anni inseriti in comunità [2]. La diagnosi di infezione primaria in gravidanza impone un *counselling* personalizzato alla coppia, al fine di poter intraprendere un percorso diagnostico adeguato anche alle esigenze della paziente, fornendo il maggior numero di elementi prognostici possibile per permettere scelte consapevoli [3].

La trasmissione verticale dell'infezione avviene nel 40% dei casi in corso di infezione primaria materna nel primo e secondo trimestre (aumenta in caso di infezione contratta nel terzo trimestre): tra questi, solo il 10% circa saranno sintomatici alla nascita, con manifestazioni variabili quali petecchie, epatite, basso peso, microcefalia, deficit uditivi mono-bilaterali, calcificazioni cerebrali, epato-splenomegalia, deficit visivi. Del restante 90% dei nati infetti ma asintomatici, circa il 10-15% potrà andare incontro allo sviluppo di sequele tardive, in particolare ipoacusia e ritardo psico-motorio [4].

La diagnosi prenatale si basa su metodiche non invasive, come l'esame ecografico, ed invasive, come l'amniocentesi e la funicolocentesi. L'amniocentesi può essere effettuata dopo almeno 6-8 settimane dall'infezione materna e comunque non prima della 20° settimana di gestazione, momento in cui l'emuntorio fetale ha raggiunto la maturità funzionale. Questa procedura permette di valutare la presenza e la quantità di DNA virale nel liquido amniotico, tuttavia la quantità di DNA rilevata non sembra avere valore prognostico. Nei casi in cui l'amniocentesi risulta positiva, si propone alla paziente un prelievo di sangue fetale per la ricerca di alcuni parametri biochimici e virologici che invece risultano essere correlati con la presenza o meno di sintomi alla nascita [5] e l'esecuzione di una RMN dell'encefalo fetale per una valutazione più dettagliata della morfologia encefalica [6]. L'ecografia rimane sempre il *gold standard* per il monitoraggio mensile delle gravidanze complicate da infezione primaria. I parametri ecografici indicativi di infezione primaria sono spesso aspecifici e tardivi, come microcefalia, ventricolomegalia, calcificazioni cerebrali o epatiche, iperrecogenicità intestinale, IUGR ed anidramnios [7]. Recentemente è stato proposto come nuovo *marker* ecografico di infezione fetale la presenza di un alone iperrecogeno periventricolare a livello del corno posteriore del ventricolo laterale dell'encefalo fetale [8].

Scopo del lavoro

Lo scopo dello studio è stato quello di valutare l'efficacia della misurazione ecografica del perimetro della milza e del diametro del fegato nel predire l'infezione fetale da HCMV in gravidanze complicate da infezione primaria acquisita tra la 5° e la 26° settimana di gravidanza, in assenza di diagnosi prenatale invasiva.

Materiali e metodi

Sono state arruolate 30 pazienti con infezione primaria da HCMV contratta in gravidanza, afferite presso la Clinica Ostetrico-Ginecologica della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia nel periodo compreso tra Giugno 2009 e Gennaio 2011.

La diagnosi di infezione primaria materna si è basata sulla documentazione di una sierconversione delle IgG e/o la presenza di anticorpi HCMV-specifici, sull'indice di avidità delle IgG e la presenza del virus o di prodotti virali nel sangue. La presenza di anticorpi IgG e IgM HCMV-specifici viene determinata tramite esame immunoenzimatico (ELISA), mentre la ricerca del DNA virale nel sangue materno è stata effettuata con tecniche di biologia molecolare (*REAL TIME PCR*). Per la datazione dell'infezione è stata considerata la cinetica anticorpale e, a supporto delle indagini di laboratorio, sono stati ricercati dati anamnestici riferibili ad una sintomatologia aspecifica, quali cefalea, febbre, astenia marcata e sintomi delle alte vie respiratorie, oltre ad alterazioni ematologiche e biochimiche (innalzamento degli enzimi epatici, linfo-monocitosi, etc).

La diagnosi di infezione congenita è stata effettuata mediante isolamento virale sull'urina del neonato con metodica *Shell Vial* e quantificazione delle copie di DNA virale mediante *REAL TIME PCR*, entro la prima settimana di vita, al fine di escludere una positività dovuta ad infezione connatale.

Ogni paziente è stata sottoposta ad ecografie seriate a cadenza mensile nel corso delle quali, oltre alle misure biometriche standard e allo studio morfologico di secondo livello, sono state effettuate la misurazione della circonferenza splenica e del diametro epatico fetali. Per la valutazione ecografica è stato utilizzato un ecografo Ge Voluson 730 con sonda Convex 5 Mhz. La misurazione del diametro del fegato è stata effettuata identificando l'aorta fetale su sezione longitudinale, lateralizzando la sonda parallelamente a questo piano fino alla visualizzazione dell'emidiaframma destro e dell'apice del lobo destro del fegato. La misurazione della circonferenza della milza è stata effettuata partendo dalla sezione trasversale standard dell'addome fetale usata per la misurazione della circonferenza addominale (vaso ombelicale, stomaco, costa unica) e spostando la sonda in senso cranio-caudale fino alla visualizzazione della milza. Per le curve di riferimento del diametro epatico e della circonferenza splenica ci siamo avvalsi di quanto riportato in letteratura [9-10]. Le misurazioni ottenute sono state poste sulle curve di riferimento in relazione alla settimana di gestazione per stabilire i relativi percentili. Sono state considerate aumentate le misurazioni di questi parametri che risultavano maggiori o uguali al 95° percentile per l'epoca gestazionale.

Sono state infine ricercate le correlazioni tra la presenza di infezione congenita e l'alterazione dei parametri ecografici analizzati. I risultati ottenuti sono stati valutati con un grafico di dispersione lineare.

Risultati

Il nostro campione è risultato costituito da 30 pazienti di età compresa tra 21 e 41 anni, con infezione primaria da HCMV contratta tra la 5° e la 26° settimana di epoca gestazionale. La misurazione del diametro del fegato e della circonferenza della milza è stata effettuata a partire dalla 20 settimana di epoca gestazionale. Nessuna gravidanza tra quelle osservate è esitata in IVG o si è interrotta spontaneamente. Dei 30 feti studiati, 15 sono risultati infetti al controllo post-natale (50%). Sono state effettuate 59 misurazioni della circonferenza della milza e 61 del diametro epatico.

Abbiamo confrontato, attraverso l'utilizzo di grafici, la biometria epatica tra i feti risultati non infetti alla nascita (Figura 1A) e quelli risultati infetti (Figura 1B). I grafici mostrano che non vi sono differenze significative tra i feti infetti alla nascita e quelli non infetti per quanto riguarda il diametro epatico.

Abbiamo quindi confrontato la circonferenza splenica tra i feti risultati non infetti alla nascita (Figura 2A) e quelli risultati infetti (Figura 2B). Dall'osservazione dei grafici emerge che la milza risulta di maggiori dimensioni nel gruppo dei feti infetti, in particolare tra la 30 e la 36 settimana di epoca gestazionale, rispetto al gruppo di quelli risultati non infetti. Partendo da questa osservazione, abbiamo calcolato la sensibilità, la specificità, il valore predittivo positivo (VPP) e il valore predittivo negativo (VPN) per il parametro "milza maggiore o uguale al 95° percentile tra la 30 e la 36 settimana di gravidanza" (Tabella 1).

Discussione

L'infezione congenita da HCMV è responsabile di severe conseguenze neuro-sensoriali, è quindi di fondamentale importanza l'identificazione e l'impostazione di un corretto percorso diagnostico delle gravidanze complicate da infezione primaria da HCMV. L'esame ecografico rimane il *gold standard* per il monitoraggio seriato di queste gravidanze. Recenti studi hanno dimostrato che lo *screening* ecografico effettuato da parte di operatori adeguatamente formati, volto a valutare le eventuali anomalie morfologiche derivanti dall'infezione intrauterina da HCMV (microcefalia, ventricolomegalia, calcificazioni cerebrali o epatiche, ipercogenicità intestinale, IUGR ed anidramnios) ha una sensibilità del 20.9% e una specificità del 93.3% [6]. L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'efficacia di due nuovi parametri ecografici fetali nell'individuazione dei feti infetti al fine di poter migliorare l'efficacia e arricchire l'informazione fornita dall'esame ecografico.

Dall'analisi dei nostri dati emerge che la misura ecografica del fegato non risulta significativamente diversa tra i feti infetti e non, mentre la misura ecografica della circonferenza della milza, con una specificità calcolata del 81% nel terzo trimestre, potrebbe essere un parametro potenzialmente utile nel predire la trasmissione materno-fetale dell'infezione da HCMV, ovviamente in aggiunta ai già noti aspetti morfologici valutati routinariamente. Riteniamo tuttavia necessario proseguire nello studio di questo parametro, innanzitutto per incrementare la numerosità del campione e, in secondo luogo, per effettuare valutazioni prospettiche al fine di poter confermare con dati statistici maggiormente significativi la validità di questo parametro sia nel monitoraggio che nelle informazioni prognostiche nelle gravidanze con infezione da HCMV.

Tabelle e figure

Tabella 1. Validità dell'esame ecografico per il parametro circonferenza splenica nell'identificazione dei feti con infezione congenita da HCMV.

Milza \geq 95° percentile	Feti infetti alla nascita
Sensibilità	36%
Specificità	81%
VPP	55.81%
VPN	65.5%

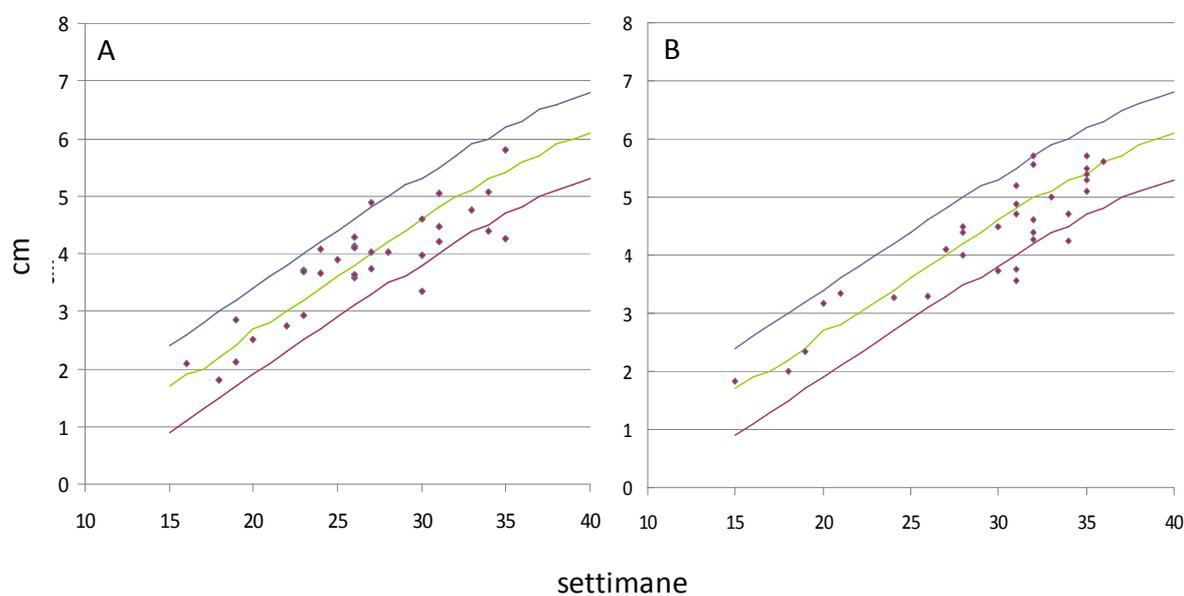


Figura 1. Grafico di dispersione del diametro epatico in relazione alla settimana di gestazione tra i feti non infetti alla nascita (A) e tra i feti infetti alla nascita (B).

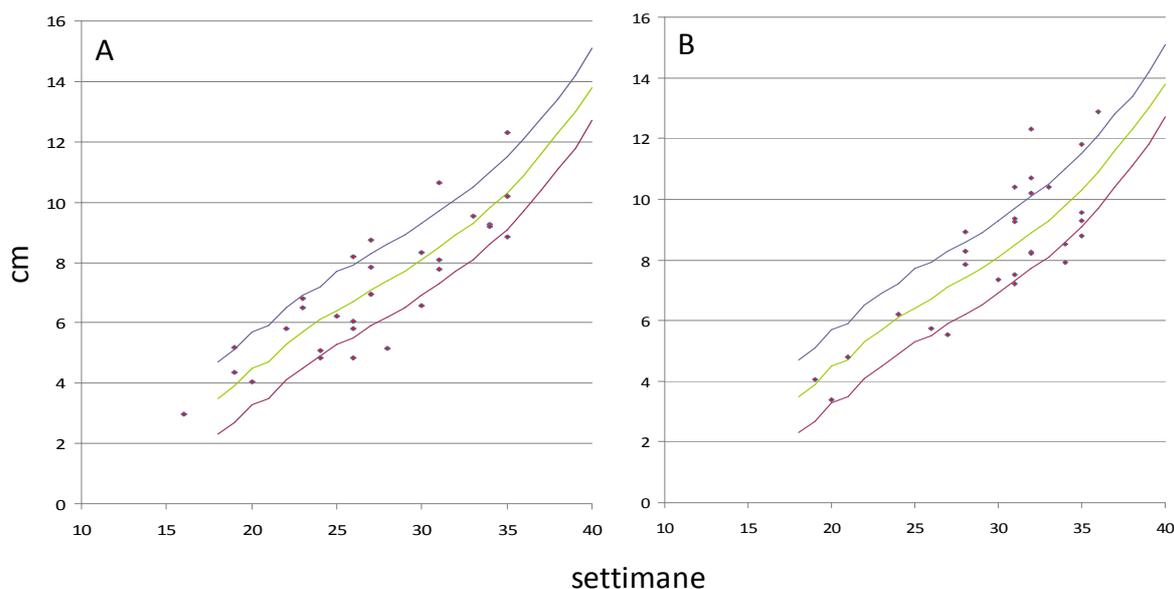


Figura 2. Grafico di dispersione della circonferenza splenica in relazione alla settimana di gestazione tra i feti non infetti alla nascita (A) e tra i feti infetti alla nascita (B).

Bibliografia

1. Guerra B, Simonazzi G, Puccetti C, et al. Ultrasound prediction of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:380.e1-380.e7.
2. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev Med Virol* 2010;20:202-213.
3. Revello MG, Fabbri E, Furione M, et al. Role of prenatal diagnosis and counseling in the management of 735 pregnancies complicated by primary human cytomegalovirus infection: a 20-year experience. *J Clin Virol* 2011;50(4):303-307.
4. Stagno S, Whitley RJ. Herpesvirus Infections of Pregnancy: Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Infections. *N Engl J Med* 1985;313:1270-1274.
5. Fabbri E, Revello MG, Furione M, et al. Prognostic markers of symptomatic congenital human cytomegalovirus infection in fetal blood. *BJOG* 2011;118:448-456.
6. Doneda C, Parazzini C, Righini A, et al. Early cerebral lesions in cytomegalovirus infection: prenatal MR imaging. *Radiology* 2010;255(2):613-621.
7. Guerra B, Simonazzi G, Puccetti C, et al. Ultrasound prediction of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:380.e1-380.e7.
8. Simonazzi G, Guerra B, Bonasoni P, et al. Fetal cerebral periventricular halo at midgestation: an ultrasound finding suggestive of fetal cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2010;202(6):599.e1-e5.
9. Vintzileos AM, Neckles S, Campbell WA, et al. Fetal liver ultrasound measurements during normal pregnancy. *Obstet Gynecol* 1985;66(4):477-480.
10. Schmidt W, Yarkoni S, Jeanty P, et al. Sonographic measurements of the fetal spleen: clinical implications. *J Ultrasound Med* 1985;4(12):667-672.