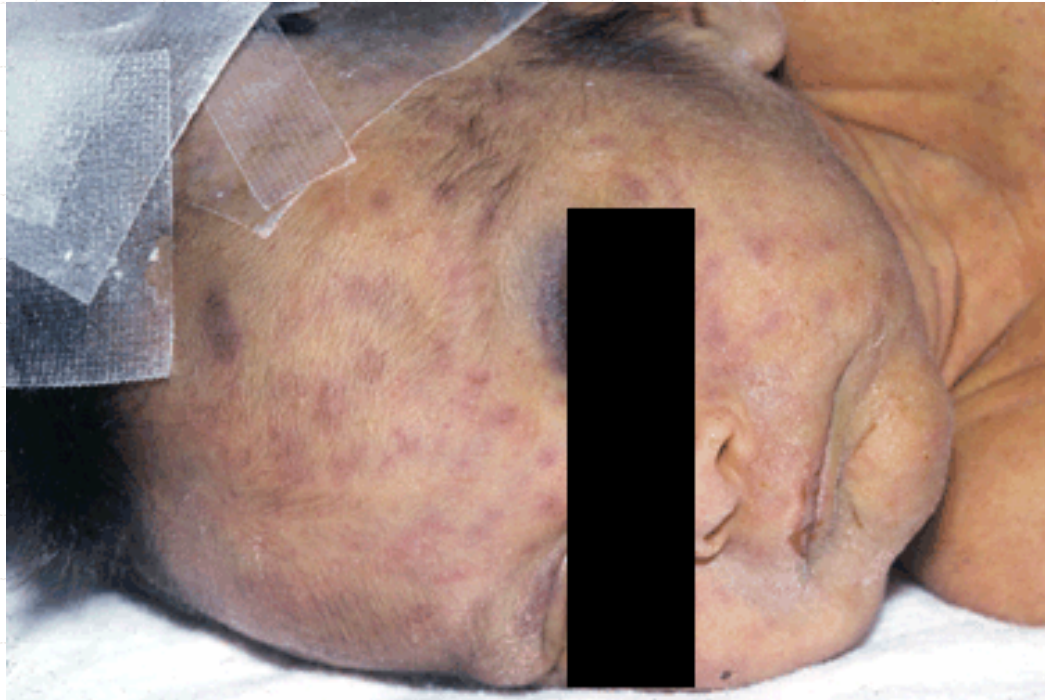


Congenitale CMV-infecties: PCR op amniosvocht

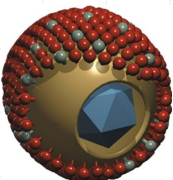


Inhoud

- Inleiding
- Prenatale diagnosestelling:
 - CMV-infectie moeder
 - CMV-infectie foetus
 - Outcome baby
- Therapie/Preventie
- Conclusie

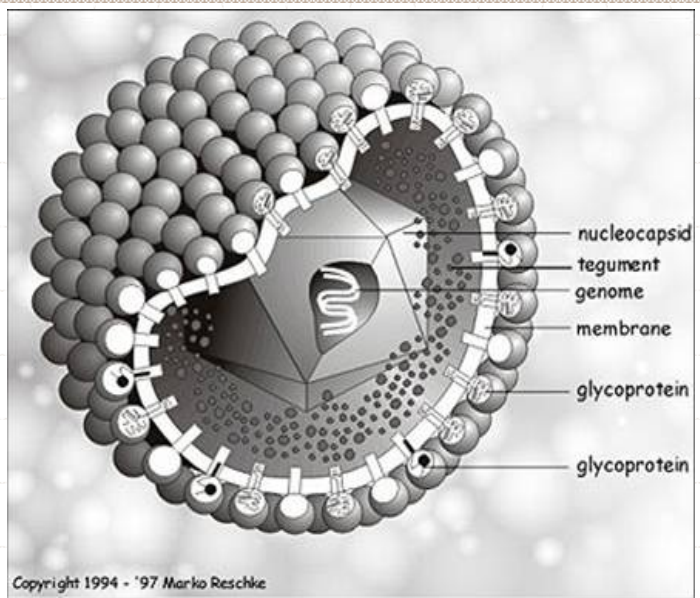
Inhoud

- Inleiding
- Prenatale diagnosestelling:
 - CMV-infectie moeder
 - CMV-infectie foetus
 - Outcome baby
- Therapie/Preventie
- Conclusie



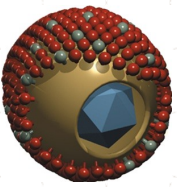
Inleiding

Cyto-megalo-virus



- Humane herpesvirussen
- Cellen: gezwollen + aspect van uilenogen

- Infectie:
- Primo-infectie
 - Reactivatie latent virus
 - Reïnfectie



Inleiding

Congenitale CMV

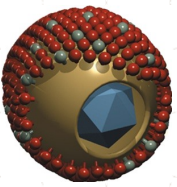
Prevalentie congenitale CMV: 0.2 – 2.2 %

Infectie bij zwangere vrouwen:

1. Contact met speeksel/urine van jonge kinderen
Kinderdagverblijven: 83% van de kinderen tussen 13 - 24 m.
excreteert CMV (*Pass et al., NEJM, 1982*)
2. Via sexuele contacten

Diagnose bij de pasgeborene:

Positieve viruskweek op urinestaal (saliva) tijdens de eerste levensweken



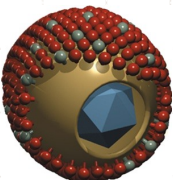
Inleiding

Congenitale CMV

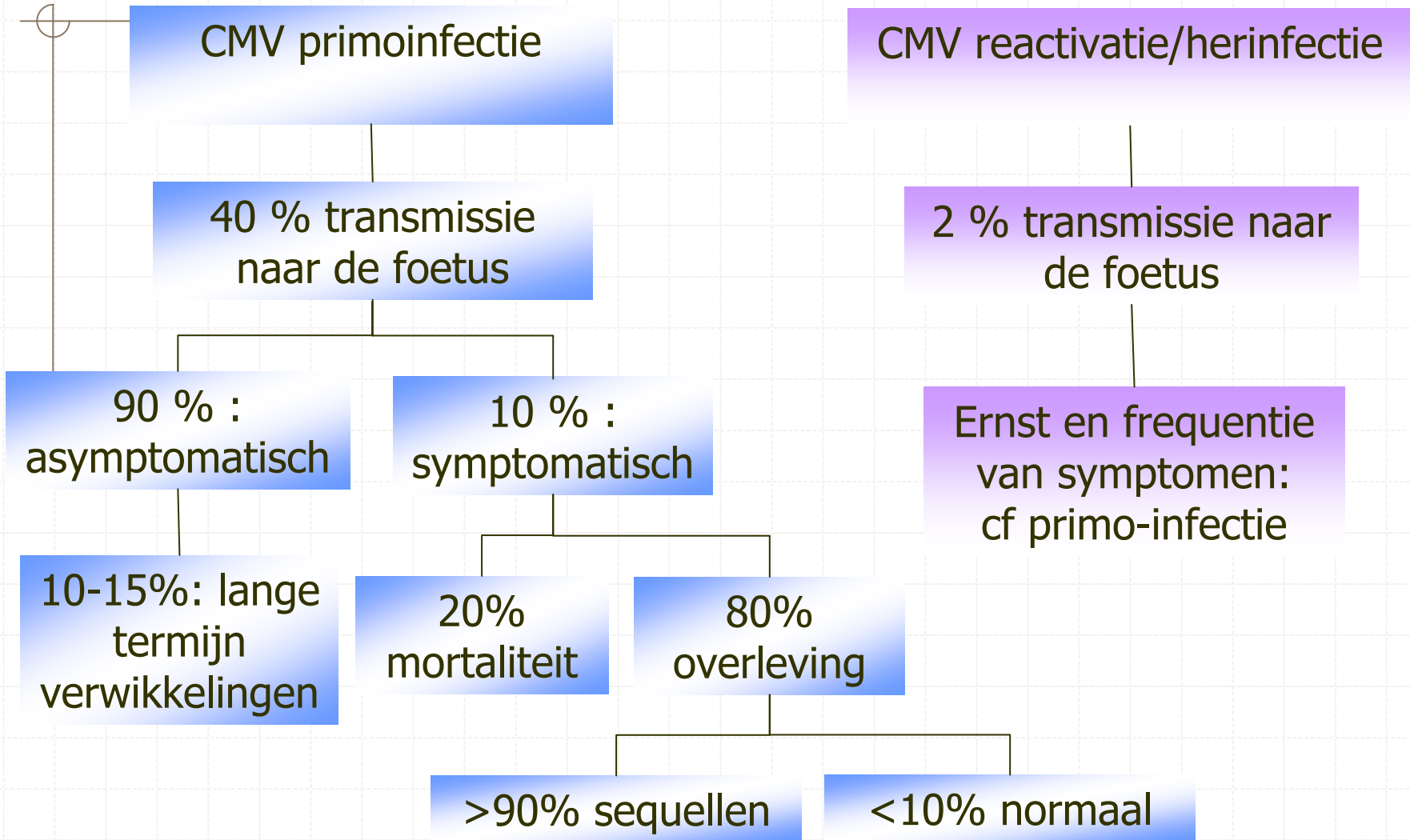
Symptomen:

- Bij geboorte: zeer variabel
 - Asymptomatisch
 - Petechiën, icterus, HSM, pneumonie
 - Microcefalie, periventriculaire calcificaties, ventrikeldilatatie, hypotonie, gehoorverlies, oftalmologische symptomen

- Lange termijnseffecten:
 - psychomotorische/mentale retardatie, epilepsie, hypotonie, parese, gehoorverlies, visuele stoornissen



Inleiding



Inhoud

- Inleiding
- Prenatale diagnosestelling:
 - CMV-infectie moeder
 - CMV-infectie foetus
 - Outcome baby
- Therapie/Preventie
- Conclusie



CMV-infectie moeder

Moeten we de moeder screenen?

Guidelines: NICE, ICSI, ACOG, VVOG:

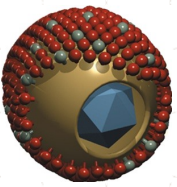
Systematische screening is niet nodig

- Al dan niet intra-uteriene transmissie?
- Welke kinderen symptomen? Ernst van de symptomen?
- Geen vaccin of profylactische therapie

Kenniscentrum, CDC:

Eénmalige serologie voor/aan het begin van de ZWS

Als negatief: motivatie tot hygiënische maatregelen bij contact met jonge kinderen



CMV-infectie moeder

Praktijk ligt ver van de guidelines:

70% van de zwangeren: minstens 1 x serologie

19% van de zwangeren: meer dan 3 x serologie
(gegevens KCE)

Voorstanders serologie:

Positieve serologie koppelen aan interventies:

- Opvolgen met echo/KST
- Amniocentese/cordocentese (?)
- Evt. zwangerschapsonderbreking
- Toekomst: therapie?
- Opvolging kind

Inhoud

- Inleiding
- Prenatale diagnosestelling:
 - CMV-infectie moeder
 - CMV-infectie foetus
 - Outcome baby
- Therapie/Preventie
- Conclusie

Inhoud

- Inleiding

- Prenat

- CMV

- CMV

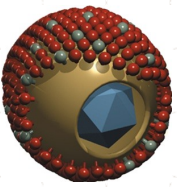
- Outcome baby

1. Zijn er parameters bij de *moeder* die transmissie naar de foetus kunnen voorspellen?

2. Zijn er testen bij *de foetus zelf* om infectie aan te tonen?

- Therapie/Preventie

- Conclusie



CMV-infectie foetus

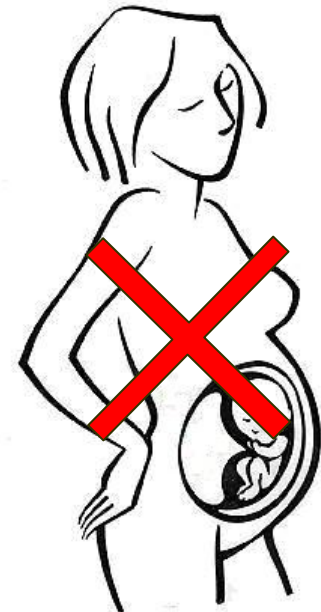
1. Zijn er parameters bij de *moeder* die transmissie naar de foetus kunnen voorspellen?

I. CMV in urine van de moeder

II. CMV in bloed van de moeder

III. Immunologische factoren: uitblijven van de lymfoproliferatieve respons

Geen goede parameters bij de moeder om transmissie naar de foetus te voorspellen





CMV-infectie foetus

2. Zijn er testen bij de foetus om infectie aan te tonen?

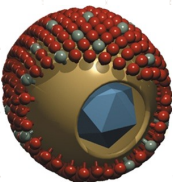
a) Foetaal bloed (cordocentese)

- Complicaties:
- transiënte bloeding
 - transiënte foetale tachycardie (7-9%)
 - premature bevalling (<2%-5%)
 - foetaal verlies (1.7-1.9%)

b) Vruchtwater (amniocentese)

- Complicaties:
- foetaal verlies (<1%)
 - lekken van amniosvocht
 - vaginale bloeding





CMV-infectie foetus

2. Zijn er testen bij de *foetus* om infectie aan te tonen?

a) Foetaal bloed (cordocentese):

I. Antistoffen: CMV IgM

II. CMV in bloed foetus

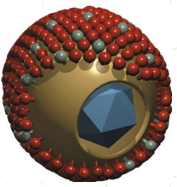
III. Niet specifieke parameters

Tassis et al: Geïnfecteerde foetussen:

- lagere bloedplaatjes
- hogere levels van gamma GT
- hogere levels beta2-microglobuline

Gebrekkige
sensitiviteit

Gebrekkige
specificiteit



CMV-infectie foetus

2. Zijn er testen bij de *foetus* om infectie aan te tonen?

b) Vruchtwater (amniocentese)

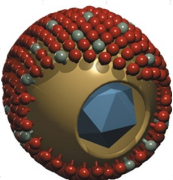
I. Virale kweek

Specificiteit: 100%

Sensitiviteit: beperkter: tot 50% vals negatieve resultaten

II. CMV DNA (PCR)

- Pre-analytische factoren
- Analytische factoren
- Diagnostische performantie



CMV-infectie foetus

2. Zijn er testen bij de *foetus* om infectie aan te tonen?

b) Vruchtwater (amniocentese)

I. Virale kweek

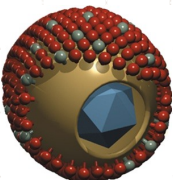
Specificiteit: 100%

Sensitiviteit: beperkter: tot 50% resultaten

II. CMV DNA (PCR)

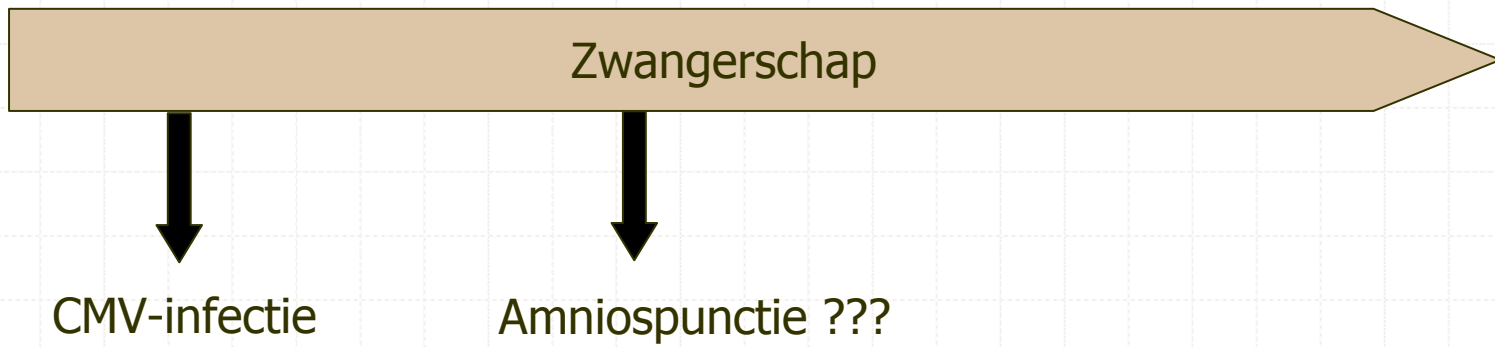
PCR kan in 7-50% van de cultuur-negatieve amniosvochten.

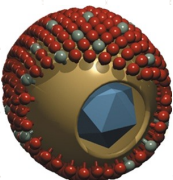
Pre-analytische factoren



CMV-PCR amniosvocht

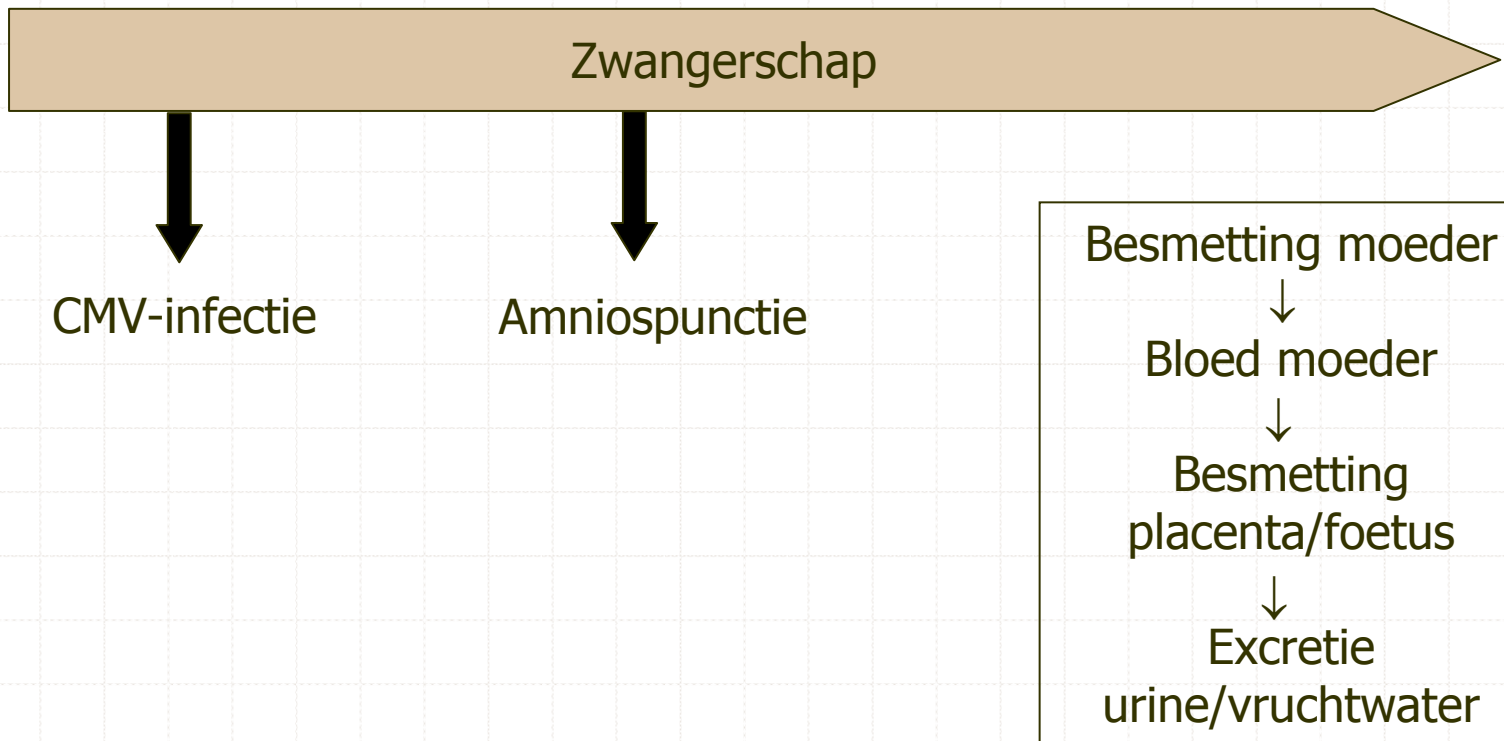
Pre-analytische factoren: patiëntenvariabelen

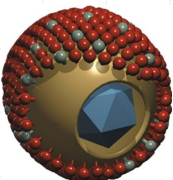




CMV-PCR amniosvocht

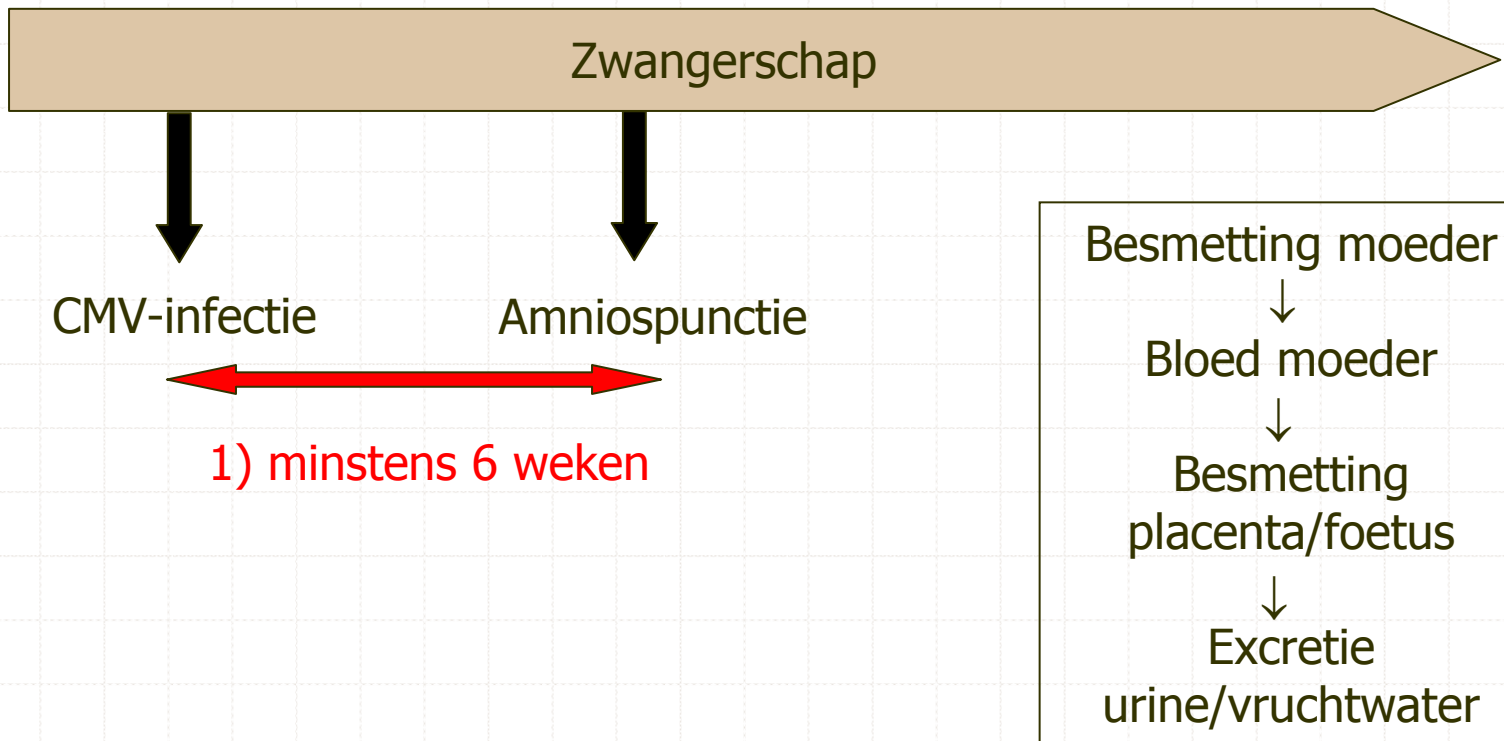
Pre-analytische factoren: patiëntenvariabelen

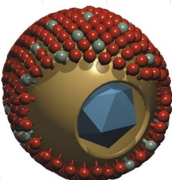




CMV-PCR amniosvocht

Pre-analytische factoren: patiëntenvariabelen





CMV-PCR amniosvocht

Pre-analytische factoren: patiëntenvariabelen

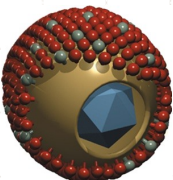


CMV-infectie



Amniospunctie

2) minstens 21 weken
zwangerschap



CMV-PCR amniosvocht

2. Zijn er testen bij de *foetus* om infectie aan te tonen?

b) Vruchtwater (amniocentese)

I. Virale kweek

Specificiteit: 100%

Sensitiviteit: beperkter: tot 50% resultaten

II. CMV DNA (PCR)

PCR kweek in 7-50% van de cultuur-negatieve amniosochten.

Analytische factoren



CMV-PCR amniosvocht

Analytische factoren

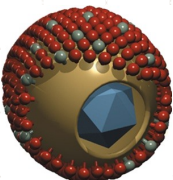


Manuele extractie:
QIAamp DNA mini kit (QIAGEN)



Applied Biosystems 7900 toestel
In house real time Taqman PCR
Onderste detectielimiet: 500 copies/mL

Twee maal per week
Kostprijs: 30 euro, geen terugbetaling



CMV-PCR amniosvocht

2. Zijn er testen bij de *foetus* om infectie aan te tonen?

b) Vruchtwater (amniocentese)

I. Virale kweek

Specificiteit: 100%

Sensitiviteit: beperkter: tot 50% resultaten

II. CMV DNA (PCR)

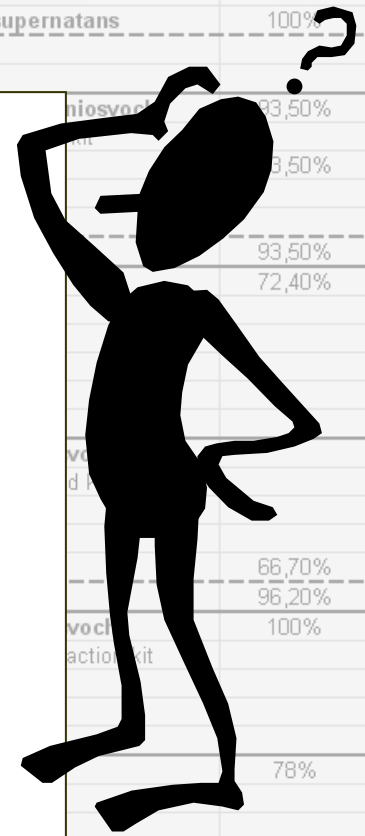
PCR kan in 7-50% van de cultuur-negatieve amniosochten.

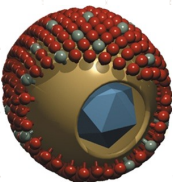
Diagnostische performantie

| Artikel | Populatie | PCR-techniek | Voorbereiding amniosvocht | Sens. | Specif. |
|--------------------------------|--|---|--|------------------------------------|---------|
| Avidor et al, 2004 | 23 foetussen: bewezen CMV-infecties | Single-round PCR (in house) | Onbehandeld supernatans | 30% | |
| | positieve cultuur van het amniosvocht (21) of CMV-inclusies bij APO (2) | | DNA extractie op supernatans | 89% | |
| | Punctie tussen 18 en 42 weken ZWS | Semi-nested PCR (in house) | DNA extractie op cellulaire fractie | 89% | |
| | Geen gegevens over duur infectie | | Onbehandeld supernatans | 96% | |
| | | | | DNA extractie op superatans | 100% |
| | | Cobas Amplicor CMV monitor (Roche) | DNA extractie op cellulaire fractie | 100% | |
| | | | Onbehandeld supernatans | 100% | |
| | 29 controlestalen (geen verdere gegevens) | Cobas Amplicor CMV monitor (Roche) | DNA extractie op supernatans | 100% | 100% |
| Revello et al, 2003 | 31 foetussen: bewezen CMV infectie | NASBA intermediate-early mRNA (BioMérieux) | RNA extractie op het amniosvocht met de NucliSens isolation kit (BioMérieux) | 93,50% | 98,50% |
| | 34 foetussen: gezond | NASBA late 9967 mRNA (BioMérieux) | | 93,50% | 100% |
| | Criterium: Isolatie op urine | | | | |
| | Geen gegevens over tijdstip punctie of duur infectie | | | | |
| | | PCR, geen verdere gegevens | | 93,50% | 100% |
| Gouarin et al, 2001 | 29 foetussen: bewezen CMV infectie | Probe hybridisatietechniek: | 4 centra met verschillende extractietechnieken | 72,40% | 96,90% |
| | 66 foetussen: gezond | 4 verschillende centra met elk andere probes en primers | | | |
| | Criterium: Isolatie op urine | | | | |
| | 5/ 8 vals negatieve resultaten waren van stalen voor 22 weken of minder dan 6 weken na seroconversie | | | | |
| Enders, 2001 | 57 foetussen: bewezen CMV infectie | Probe hybridisatietechniek: | DNA extractie op amniosvocht High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche) | | |
| | 132 foetussen: geen infectie | in house | | | |
| | Criterium: CMV isolatie in foetaal weefsel of in neonatale urine | | | | |
| | ZWS-duur ≤ 21 weken | | | 66,70% | 100% |
| | ZWS-duur > 21 weken | | | 96,20% | 100% |
| Guerra, Lazzarotto et al, 2000 | 16 foetussen: bewezen CMV infectie | Probe hybridisatietechniek (in house) | DNA extractie op amniosvocht | 100% | 67,30% |
| | 52 foetussen gezond | | IsoQuick Nucleic Acid Extraction kit (ORCA Corp) | | |
| | Isolatie op urine of saliva, APO | | | | |
| | Punctie op 21-22 weken ZWS | | | | |
| | 9-13,5 weken na infectie van de moeder | | | | |
| Liesnard et al, 2000 | 55 foetussen: bewezen CMV infectie | de eerste 32 stalen: | geen gegevens | 78% | 100% |
| | 155 foetussen: gezond | single-round PCR (in house) | | | |
| | Isolatie op urine, saliva, IgM in bloed | | | | |
| | Beperkte gegevens over tijdstip punctie of duur infectie | alle volgende stalen: nested PCR (in house) | | | |
| Revello et al., 1998 | 6 foetussen: bewezen CMV-infecties | Modified nested PCR (in house) | DNA extractie op amniosvocht | 83% | 100% |
| | 6 foetussen: gezond | | (groter volume dan bij de klassieke nested PCR) | | |
| | Isolatie op urine | | | | |
| | Punctie op 18 - 32 weken ZWS | | | | |
| | Geen gegevens over duur infectie | | | | |
| Lazzarotto, Guerra et al, 1998 | 12 foetussen: bewezen CMV-infecties | Probe hybridisatietechniek (in house) | DNA extractie op amniosvocht | 100% | 83,30% |
| | 90 foetussen: gezond | | IsoQuick Nucleic Acid Extraction kit (ORCA Corp) | | |
| | Isolatie op urine of saliva | | | | |
| | Punctie op 21-22 weken ZWS | | | | |
| | Geen gegevens over duur infectie | | | | |

| Artikel | Populatie | PCR-techniek | Voorbereiding amniosvocht | Sens. | Specif. |
|---|--|--|---|--------|---------|
| Avidor et al, 2004 | 23 foetussen: bewezen CMV-infecties positieve cultuur van het amniosvocht (21) of CMV-inclusies bij APO (2) | Single-round PCR (in house) | Onbehandeld supernatans | 30% | |
| | | | DNA extractie op supernatans | 89% | |
| | Punctie tussen 18 en 42 weken ZWS Geen gegevens over duur infectie | Semi-nested PCR (in house) | DNA extractie op cellulaire fractie | 89% | |
| | | | Onbehandeld supernatans | 96% | |
| | | | DNA extractie op superatans | 100% | |
| 29 controlestalen (geen verdere gegevens) | Cobas Amplicor CMV monitor (Roche) | Onbehandeld supernatans | 100% | | |
| | | DNA extractie op supernatans | 100% | | |
| | | geen gegevens | | | 100% |
| Revello et al, 2003 | | | amniosvocht | 93,50% | 98,50% |
| | | | | 93,50% | 100% |
| | | | | 93,50% | 100% |
| | | | | 72,40% | 96,90% |
| Gouarin et al, 2001 | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| Enders, 2001 | | | | | |
| | | | | 66,70% | 100% |
| | | | | 96,20% | 100% |
| Guerra, Lazzarotto et al, 2000 | | | vocht action kit | 100% | 67,30% |
| | | | | | |
| Liesnard et al, 2000 | | | | 78% | 100% |
| | Beperkte gegevens over tijdstip punctie of duur infectie | alle volgende stalen: nested PCR (in house) | | | |
| Revello et al., 1998 | 6 foetussen: bewezen CMV-infecties 6 foetussen: gezond Isolatie op urine Punctie op 18 - 32 weken ZWS Geen gegevens over duur infectie | Modified nested PCR (in house) | DNA extractie op amniosvocht (groter volume dan bij de klassieke nested PCR) | 83% | 100% |
| Lazzarotto, Guerra et al, 1998 | 12 foetussen: bewezen CMV-infecties 90 foetussen: gezond Isolatie op urine of saliva Punctie op 21-22 weken ZWS Geen gegevens over duur infectie | Probe hybridisatietechniek (in house) | DNA extractie op amniosvocht IsoQuick Nucleic Acid Extraction kit (ORCA Corp) | 100% | 83,30% |

- Grote verschillen in staalselectie
- tijdstip punctie & duur infectie
- diagnose congenitale CMV-infectie:
kultuur urine, saliva, amniosvocht, APO, IgM antistoffen bij het kind
- Verschillen in PCR
 - verschillende technieken
 - verschillende targetgenen
 - verschillen in staalvoorbereiding
 - verschillende detectiesystemen





CMV-PCR amniosvocht

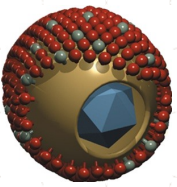
Analytische factoren

Mogelijke verklaringen voor *vals negatieve* resultaten zijn:

1. Een te lage gevoeligheid/problemen met de PCR-techniek op zich
2. Tijdstip amniopunctie: vanaf 21 weken en minstens 6 weken na de infectie

Mogelijke verklaringen voor *vals positieve* resultaten zijn:

1. Verkeerdelijke diagnose van een niet-geïnfecteerd kind door problemen met de urinecultuur voor CMV.
2. Contaminatie in het labo
- (3. Foetus heeft de infectie geklaard
Deze hypothese heeft men niet kunnen bevestigen)



CMV-PCR amniosvocht

Situatie Gasthuisberg

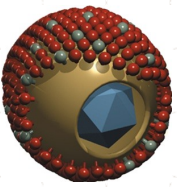
Alle amniosvochten voor CMV-detectie van november 2002 tot en met oktober 2006:

a) 241 stalen met negatieve PCR

b) 41 stalen met een positieve PCR

→ 25 extra-muros en 16 intra-muros

→ Van 35 moeders kregen we de toestemming om gegevens van zwangerschap en kind op te vragen



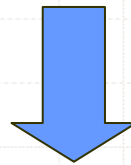
CMV-PCR amniosvocht

Situatie Gasthuisberg

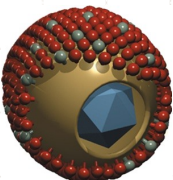
241 zwangeren met NEGATIEVE PCR op amniosvocht

→ 36 van deze zwangeren:

- bevallen in Gasthuisberg
- urinestaal baby eerste levensweken



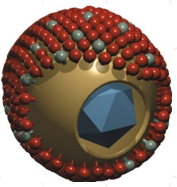
6 baby's POSITIEVE urine-kweek voor CMV !!!
= 6 baby's met congenitale CMV ook al was
PCR op amniosvocht negatief !



CMV-PCR amniosvocht

Situatie Gasthuisberg

| Amniosvocht negatief, urine positief | Tijdstip punctie | Aantal weken na infectie | Outcome baby |
|--------------------------------------|------------------|--------------------------|---|
| Patient 1 | 18 weken | 12 weken | 1 baby voorlopig ok 1 baby neurol. afwijk. |
| Patient 2 | 21 weken | 10 weken | Tweeling, geen problemen |
| Patient 3 | 21 weken | 7 weken | Voorlopig geen problemen |
| Patient 4 | 23 weken | 6 weken | Globale ontwikkelingsvertraging |



CMV-PCR amniosvocht

Situatie Gasthuisberg

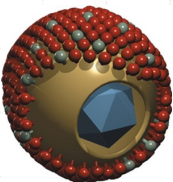
Alle amniosvochten voor CMV-detectie van november 2002 tot en met oktober 2006:

a) 241 stalen met negatieve PCR

b) 41 stalen met een positieve PCR

→ 25 extra-muros en 16 intra-muros

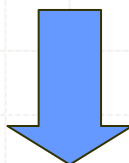
→ Van 35 vrouwen kregen we de toestemming om gegevens van zwangerschap en kind op te vragen



CMV-PCR amniosvocht

Situatie Gasthuisberg

35 patiënten met POSITIEVE PCR op amniosvocht en toestemming moeder om gegevens op te vragen



13 patiënten: ZWS beëindigd
7 foetussen: APO: CMV-inclusies
2 foetussen: geen APO
4 foetussen: volgt

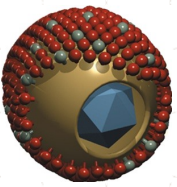
22 patiënten: ZWS niet beëindigd
15 baby's: urine positief
3 baby's: urine **negatief** !
4 baby's: volgt



CMV-PCR amniosvocht

Situatie Gasthuisberg

| Amniosvocht positief, urine negatief | Resultaat amnios-punctie | Resultaten baby | Urine |
|--------------------------------------|-----------------------------------|--|------------------------------|
| Patient 1 | 1.03 x 10 ⁶ copies /mL | Urine: negatief | Extramuros, getest in UZ GHB |
| Patiënt 2 | 7.10 x 10 ⁴ copies/mL | Urine 1: negatief Urine 2: positief | Extramuros, getest in UZ GHB |
| Patient 3 | 3.9 x 10 ⁵ copies/mL | Urine: negatief CMV IgM: pos | Extramuros, getest in UZ GHB |



CMV-PCR amniosvocht

Situatie Gasthuisberg

Congenitale CMV-infectie: hoge virusaantallen in de urine

Virale kweek = gouden standaard

3 stalen: vals negatief: verklaring???

1. Slechte bewaring/ transport

CMV = labiel virus, bewaren/transport op 4-8°C

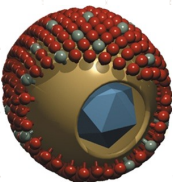
- op *kamertemperatuur*: opbrengst ↓↓↓

- invriezen: nefast

2. Bestaat intermittente secretie???

Dr. C. Liesnard (Erasmus, Brussel):

3 stalen, af en toe: 1/3 stalen negatief, ook met PCR



CMV-infectie foetus

Besluit

Amniocentese = beste techniek voor prenatale D/
van congenitale CMV
Cordocentese geen extra meerwaarde

CMV PCR op amniosvocht:

Matige sensitiviteit: negatieve PCR kan NIET garanderen dat het kind GEEN CMV-infectie zal hebben, zelfs niet als de amniospunctie op het juiste tijdstip wordt uitgevoerd !

Hoge specificiteit: bij een positieve PCR is de kans zeer hoog (tot 100%) dat de foetus **geïnfecteerd** is

Inhoud

- Inleiding
- Prenatale diagnosestelling:
 - CMV-infectie moeder
 - CMV-infectie foetus
 - Outcome baby
- Therapie/Preventie
- Conclusie

Inhoud

- Inleiding

- Prenata

- CMV-i

- CMV-i

- Outcome baby

1. Zijn er parameters bij de *moeder* die de ernst van de infectie bij de foetus kunnen voorspellen?

2. Zijn er testen bij *de foetus* om de ernst van de infectie te bepalen?

- Therapie/Preventie

- Conclusie

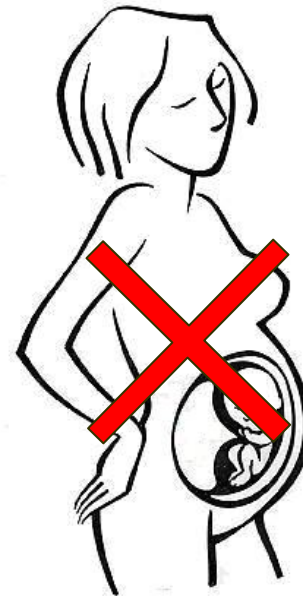


CMV-prognose foetus

1. Zijn er testen bij de *moeder* om de ernst van de infectie bij het kind te voorspellen?

I. CMV viral load in bloed van de moeder

Geen goede parameters bij de moeder om ernst bij de foetus te voorspellen

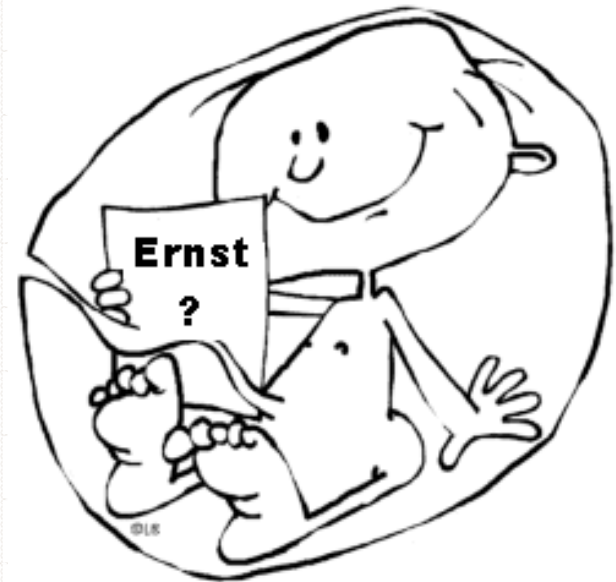




CMV-prognose foetus

2. Zijn er testen bij de *foetus* om de ernst van de infectie bij het kind te voorspellen?

- a) Beeldvorming: echografie/KST
- b) Foetaal bloed (cordocentese)
- c) Vruchtwater (amniocentese)





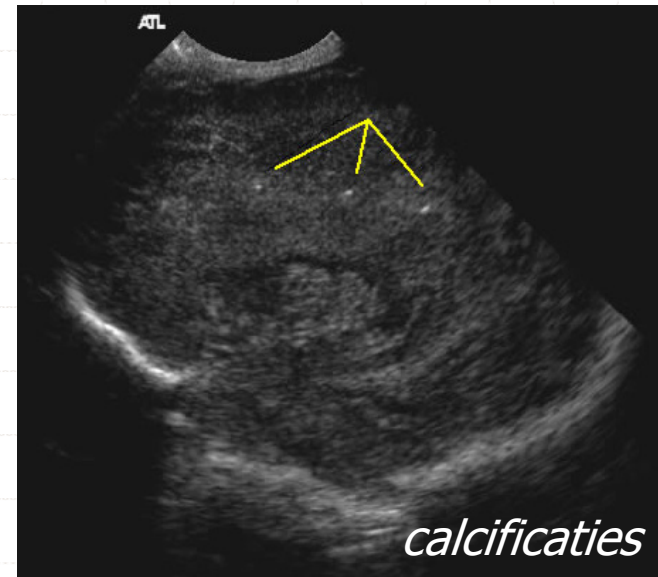
CMV-prognose foetus

2. Zijn er testen bij de *foetus* om de ernst van de infectie bij het kind te voorspellen?

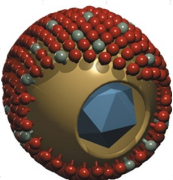
a) Beeldvorming:

- **Echo**: microcefalie, calcificaties, ventriculomegalie, ascites, HSM, hyperechogene darmen, IUGR
- **KST**: polymicrogyrie, hippocampale dysplasie en cerebellaire hypoplasie

- Lage sensitiviteit
- Afwijkingen meestal pas zichtbaar in derde trimester



→ alternatieven ???



CMV-prognose foetus

2. Zijn er testen bij de foetus om de ernst van de infectie bij het kind te voorspellen?

b) Foetaal bloed (cordocentese)

- I. CMV viral load
- II. CMV antistof titer
- III. Niet-specifieke parameters

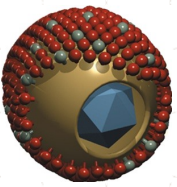
Beperkte data,
geen duidelijke
conclusie

IV. CMV genotype?

Pignatelli et al:

gN-1: mildere symptomen dan gN-4 en gN-3

Verder
onderzoek
nodig



CMV-prognose foetus

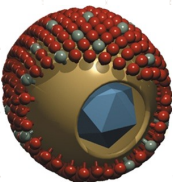
2. Zijn er testen bij de foetus om de ernst van de infectie bij het kind te voorspellen?

c) Amniosvocht (amniocentese)

Kwantitatieve CMV PCR:

Correleert de viral load in amniosvocht met de ernst van de CMV-infectie bij het kind?

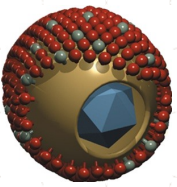
- Literatuur
- Studie Gasthuisberg



CMV-qPCR amniosvocht

1. Literatuur

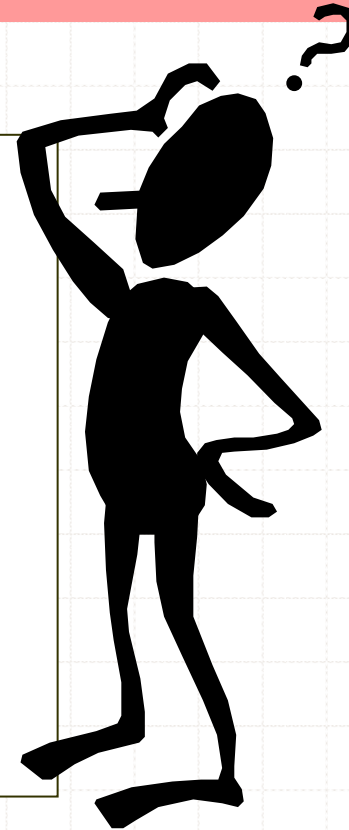
1. Lazzarotto, Guerra et al (Italië): 3 artikels
2. Gouarin et al (Frankrijk): 1 artikel
3. Revello et al (Italië): 1 artikel
4. Picone et al (Frankrijk): 1 artikel
5. Nedelec et al (Frankrijk): 1 artikel (abstract)

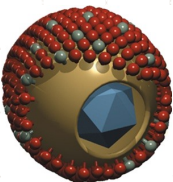


CMV-qPCR amniosvocht

1. Literatuur

- Verschillen in studieopzet
- Verschillen in PCR-techniek
- Verschillen in patiëntenpopulaties
 - Tijdstip punctie
 - Tijd tussen infectie en punctie
 - Definitie van congenitale CMV-infectie
 - Definitie van (a)symptomatisch





CMV-qPCR amniosvocht

1. Literatuur

1. Lazzarotto, Guerra et al.: 3 studies

Punctie op 21-23 weken ZWS

Viral load $\geq 10^3$ copies/mL: 100% zeker dat baby geïnfecteerd is

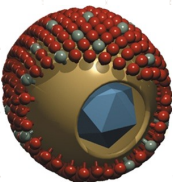
Viral load $\geq 10^5$ copies/mL: 100% zeker dat baby symptomatisch is

Viral load $< 10^5$ copies/mL: vrij grote zekerheid dat kind asymptomatisch is

Aantal 'geïnfecteerde' foetussen: 16, 12, 6

Patiënten met normale echo en ZWS-beëindiging worden ook als symptomatisch beschouwd !

Enige studie waarbij er patiënten zijn met zwak positieve PCR op amniosvocht en geen infectie van de pasgeborene !



CMV-qPCR amniosvocht

1. Literatuur

2. Gouarin et al.

Punctie op 14-38 weken ZWS

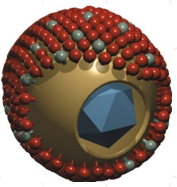
13 symptom. foetussen:
afwijkende echo, TOP

13 asymptom. foetussen:
asymptomatisch bij geboorte

Significant verschil in viral load tussen beide groepen,
doch ook overlap

Geen definitie van '(a)symptomatisch'

Geen verdere follow-up van de asymptotische pasgeborenen



CMV-qPCR amniosvocht

1. Literatuur

3. Revello et al.

Punctie op 18-29 weken ZWS

7 symptom. foetussen:
afwijkende echo of
symptomen bij geboorte

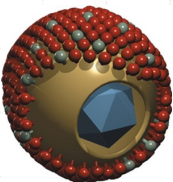
14 asymptom. foetussen:
Normale echo en asympt. bij
geboorte indien geen TOP

Verschil in viral load tussen beide groepen doch **niet** significant

Geen exacte definitie van '(a)symptomatisch'

Geen verdere follow-up van de asymptotische pasgeborenen

Patiënten met normale echo en ZWS-beëindiging worden als **asymptomatisch** beschouwd



CMV-qPCR amniosvocht

1. Literatuur

4. Picone et al.

Punctie op 17-37 weken ZWS

29 foetussen: ERNSTIG
Cerebrale afw. of 2 extra-
cerebrale afw. of gestoorde
neurolog. ontwikkeling

13 foetussen: NIET ERNSTIG
De overigen

Verskil in viral load tussen beide groepen doch **niet** significant

Hoe lang werden kinderen opgevolgd?

Patiënten met minimale afwijkingen op echo en ZWS-
beëindiging worden als NIET ernstig beschouwd



CMV-qPCR amniosvocht

1. Literatuur

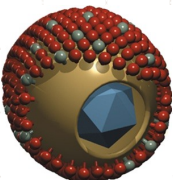
5. Nedelec et al. (enkel abstract)

Punctie op 17-37 weken ZWS

12 geïnfecteerde foetussen
PCR 1.1×10^3 - $> 10^7$ copies/mL

Geen verschil in viral load tussen
symptomatische en asymptomatische foetussen

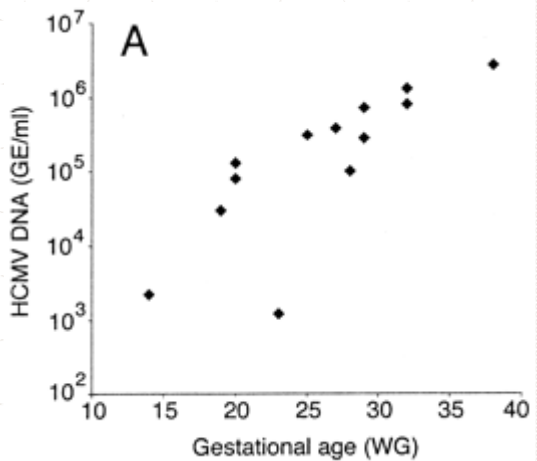
Klein aantal patiënten



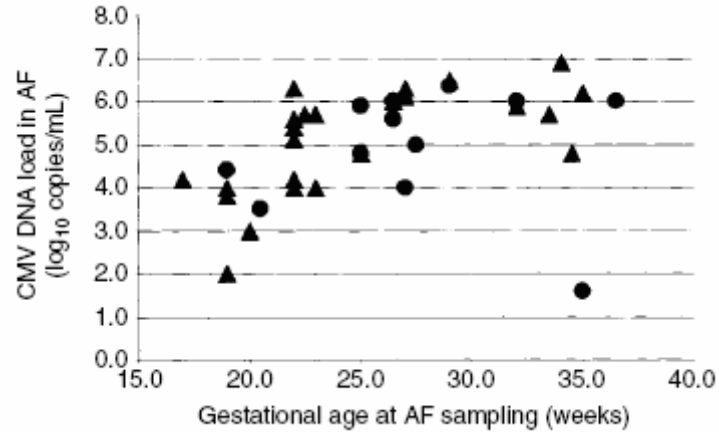
CMV-qPCR amniosvocht

1. Literatuur

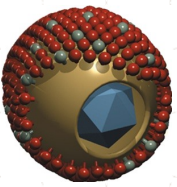
GOUARIN et al. en PICONE et al.:
een stijging van de viral load met een toenemende
zwangerschapsduur



Gouarin et al.



Picone et al.

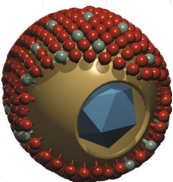


CMV-qPCR amniosvocht

1. Literatuur

Uit de literatuur kunnen we zeker **NIET** concluderen dat een hoog aantal viruscopies in het amniosvocht gelijk staat met een slechte prognose voor het kind !

Mogelijk bestaat er wel een relatie tussen viral load in amniosvocht en zwangerschaps*duur*

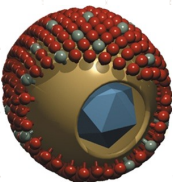


CMV-qPCR amniosvocht

2. Situatie Gasthuisberg

13 patiënten met een positieve PCR op amniosvocht waarbij de zwangerschap onderbroken werd

| Pat. | Punctie op (weken) | Aantal weken na infectie | Resultaat | ZWS beëindigd op | Afwijkingen op echo |
|------|--------------------|--------------------------|---|------------------|--|
| 1 | 21.5 w. | >12 w. | 1.29×10^7 | 35 w. | Cerebrale afw., echogene darmen |
| 2 | 21.4 w. | >13 w. | 8.51×10^6 | 25.1 w. | Cerebrale afw., vrij vocht |
| 3 | 20.3 w. | | 3.21×10^5 | | |
| 4 | 22 w. | | 6.76×10^7 | 23.3 w. | Vrij vocht, IUGR, echogene darmen |
| 5 | 21 w. | >20 w. | 4.22×10^5 | 34.2 w. | Cerebrale afw., IUGR, echogene darmen |
| 6 | 21.6 w. | >12 w. | 5.22×10^5 | 22.5 w. | Cerebrale afw., IUGR, cordecompensatie |
| 7 | 14.6 w. | | 2.80×10^3 | | |
| 8 | 21.3 w. | 11-13 w. | 8.60×10^5 | 23.4 w. | Geen afwijkingen |
| 9 | 21.0 w. | ±16 w. | 4.80×10^6 | 22.4 w. | Geen afwijkingen |
| 10 | 25.4 w. | ± 8 w. | 1.72×10^7 | 27.3 w. | Cerebrale afw., IUGR |
| 11 | 15.5 w. 19.5 w. | | 4.7×10^4 5.62×10^6 | | |
| 12 | | | 6.4×10^6 | | |
| 13 | 22.4 w. | ±12 w. | 5.23×10^5 | 24.5 w. | Geen afwijkingen |

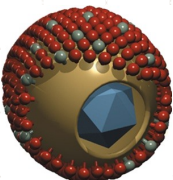


CMV-qPCR amniosvocht

2. Situatie Gasthuisberg

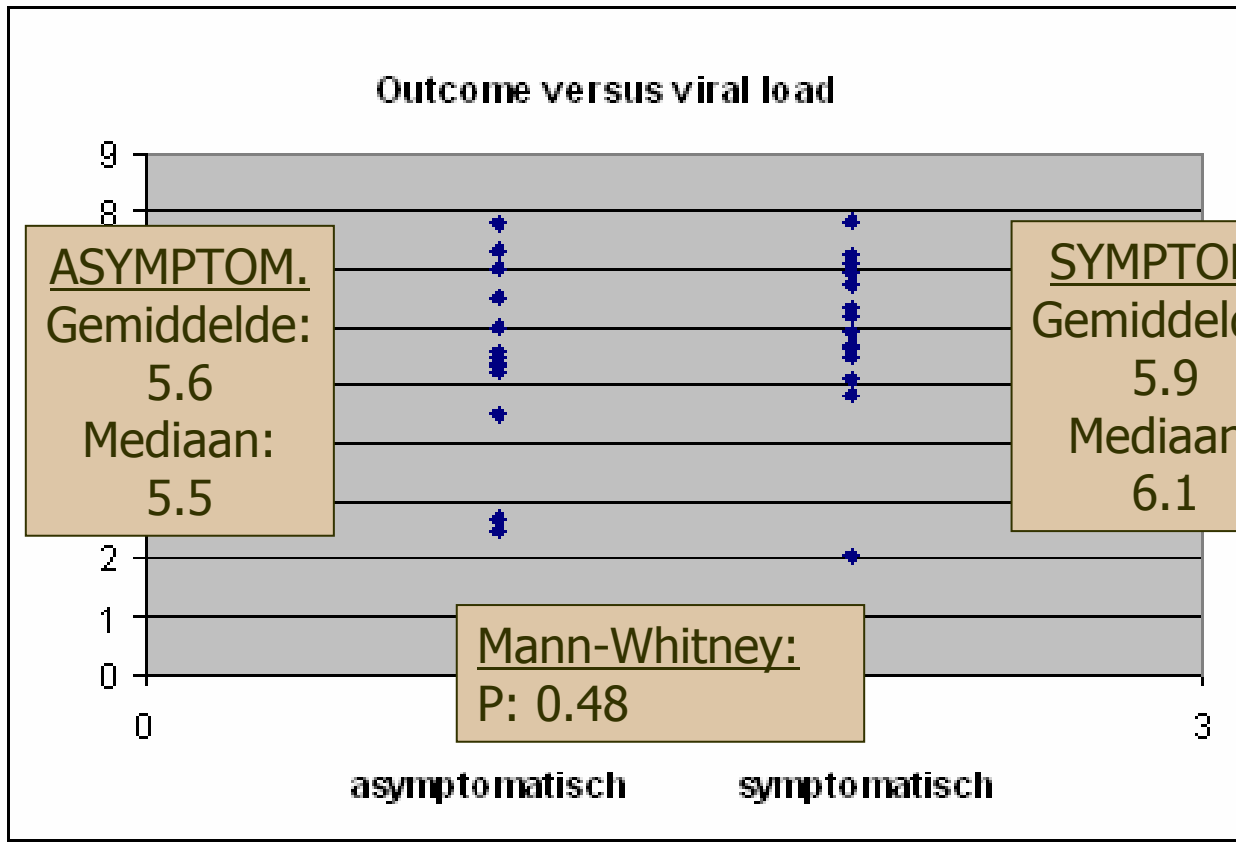
22 patiënten met een positieve PCR op amniosvocht waarbij de zwangerschap niet onderbroken werd

| Pat . | Punctie op (weken) | Aantal weken na infectie | Resultaat | Outcome | Huidige lft. kind |
|-------|--------------------|--------------------------|--------------------|---|-------------------|
| 1 | 23 w. | ± 8 weken | 6.30×10^7 | Voorlopig geen problemen | 2.5 maand |
| 2 | 32.1 w. | ± 8 weken | 1.03×10^6 | Voorlopig geen problemen | 5 maand |
| 3 | 20.6 w. | > 11 weken | 1.98×10^5 | Voorlopig geen problemen | 3 maand |
| 4 | 21.1 w. | ± 10-12 weken | <500 | Voorlopig geen problemen | 6 maand |
| 5 | 20.4 w. | ± 11 weken | 2.28×10^5 | Voorlopig geen problemen | 6 maand |
| 6 | 30.2 w. | ± 10 weken | 1.12×10^7 | Voorlopig geen problemen | 8.5 maand |
| 7 | 21 w. | ± 11 weken | 8.37×10^5 | Petechiën, purpura, trombopenie | 6.5 maand |
| 8 | 24.2 w. | ± 8 weken | 2.09×10^7 | Voorlopig geen problemen | 8 maand |
| 9 | 20 w. | ± 8 weken | 7.10×10^4 | Links doof geboren | 8 maand |
| 10 | 22 w. | | 1.05×10^7 | Voorlopig geen problemen | 11 maand |
| 11 | 27.5 w. | ± 8 weken | 2.18×10^5 | Voorlopig geen problemen | 1 jaar 3 maand |
| 12 | 22.6 w. | ± 12-18 weken | 2.20×10^6 | Hersenen: cystische germinolyse | 1 jaar 7 maand |
| 13 | 26 w. | ± 7 weken | 1.19×10^2 | Hypotroof corpus callosum, verbrede ventrikels | 1 jaar 7 maand |
| 14 | 20 w. | > 12 weken | 3.10×10^4 | Voorlopig geen problemen | 1 jaar 7 maand |
| 15 | 22.1 w. | ± 10-12 weken | 3.11×10^5 | Voorlopig geen problemen | 1 jaar 8 maand |
| 16 | 25.3 w. | ± 8 weken | 3.16×10^2 | Voorlopig geen problemen | 1 jaar 7 maand |
| 17 | 18.4 w. | ± 16 weken | 1.30×10^5 | Bilateraal doof geboren | 1 jaar 8 maand |
| 18 | 19.4 w. | ± 7 weken | 1.6×10^6 | Cerebrale cysten, licht ↑ levertesten, R/ 3 weken | 1 jaar 10 maand |
| 19 | 25.2 w. | ± 10-15 weken | 2.18×10^2 | Rechts mogelijk gehoorverlies? | 2 jaar 7 maand |
| 20 | | | 3.64×10^5 | Voorlopig geen problemen | 2 jaar 5 maand |
| 21 | | | 1.64×10^5 | Voorlopig geen problemen | 2 jaar 11 maand |
| 22 | 24.6 w. | | 3.39×10^6 | Voorlopig geen problemen (tweeling) | 3 jaar |

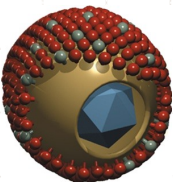


CMV-qPCR amniosvocht

2. Situatie Gasthuisberg



Grote spreiding
Grote overlap



CMV-qPCR amniosvocht

2. Situatie Gasthuisberg

Patiënt 1:

Vruchtwaterpunctie op 25.4 w.
± 8 weken na maternele infectie

Viral load: 1.72×10^7

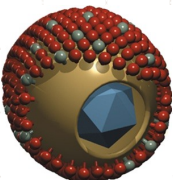
Foetus: ernstige cerebrale
afwijkingen, IUGR

Patiënt 2:

Vruchtwaterpunctie op 23 w.
± 8 weken na maternele infectie

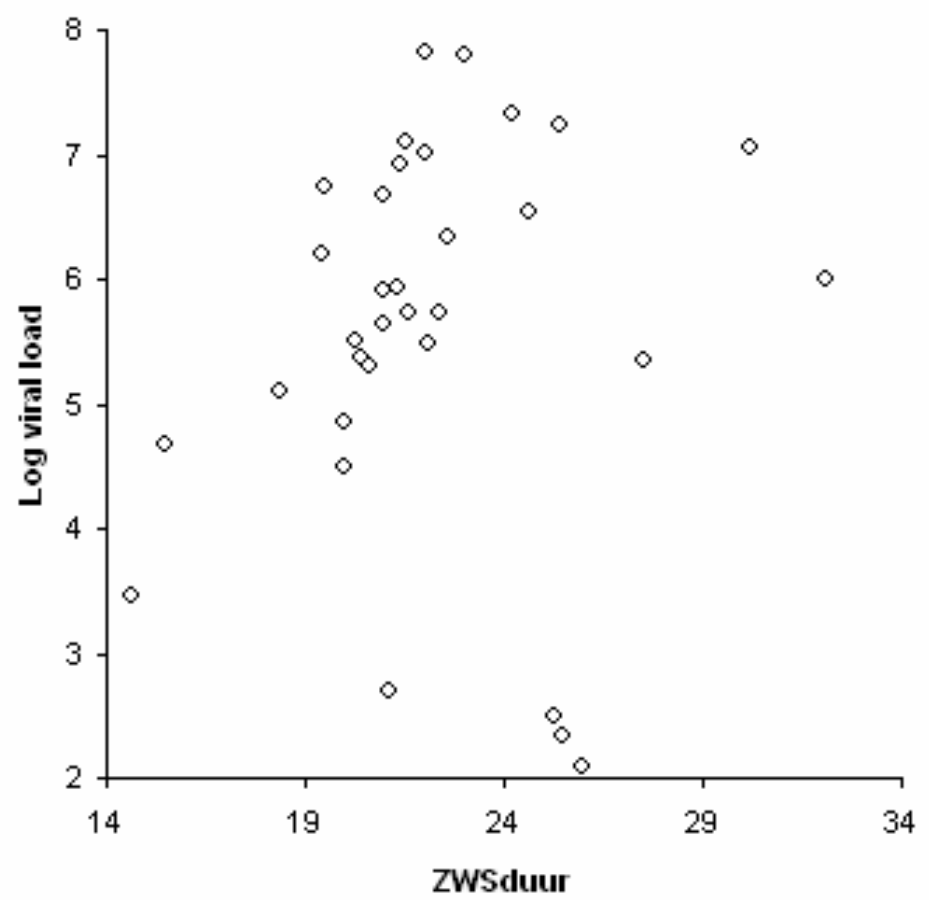
Viral load: 6.30×10^7

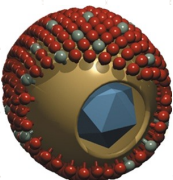
Kind: voorlopig asymptomatisch



CMV-qPCR amniosvocht

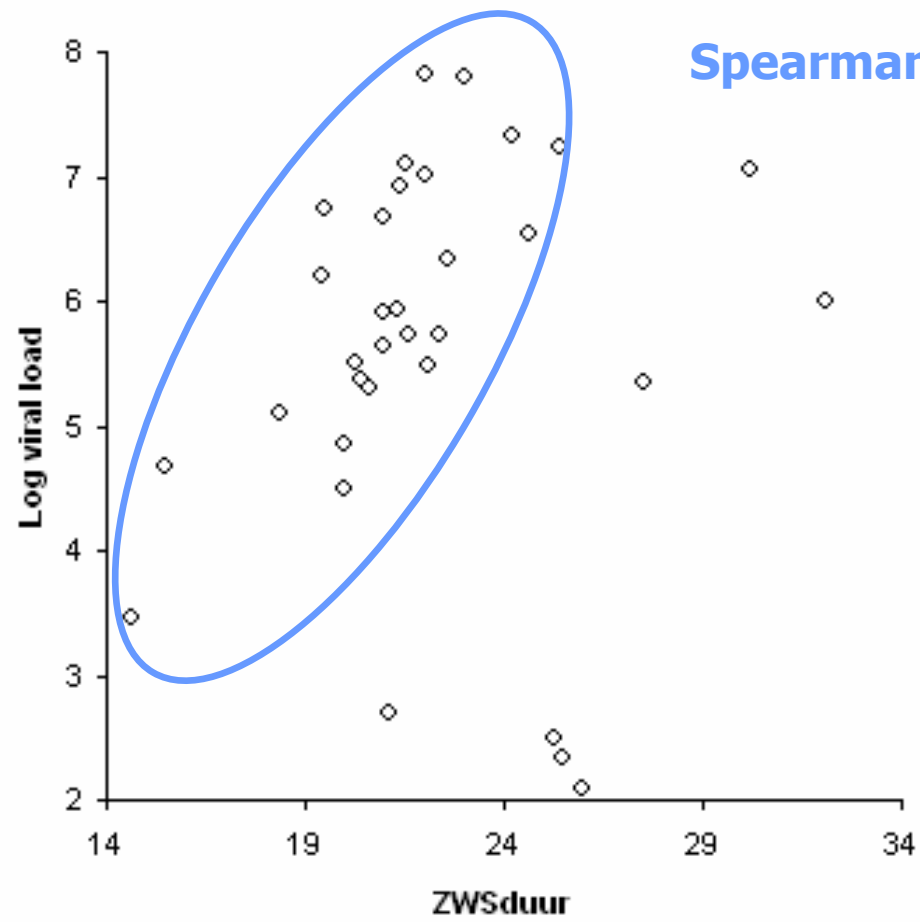
2. Situatie Gasthuisberg



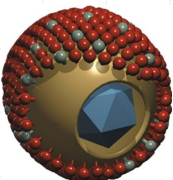


CMV-qPCR amniosvocht

2. Situatie Gasthuisberg

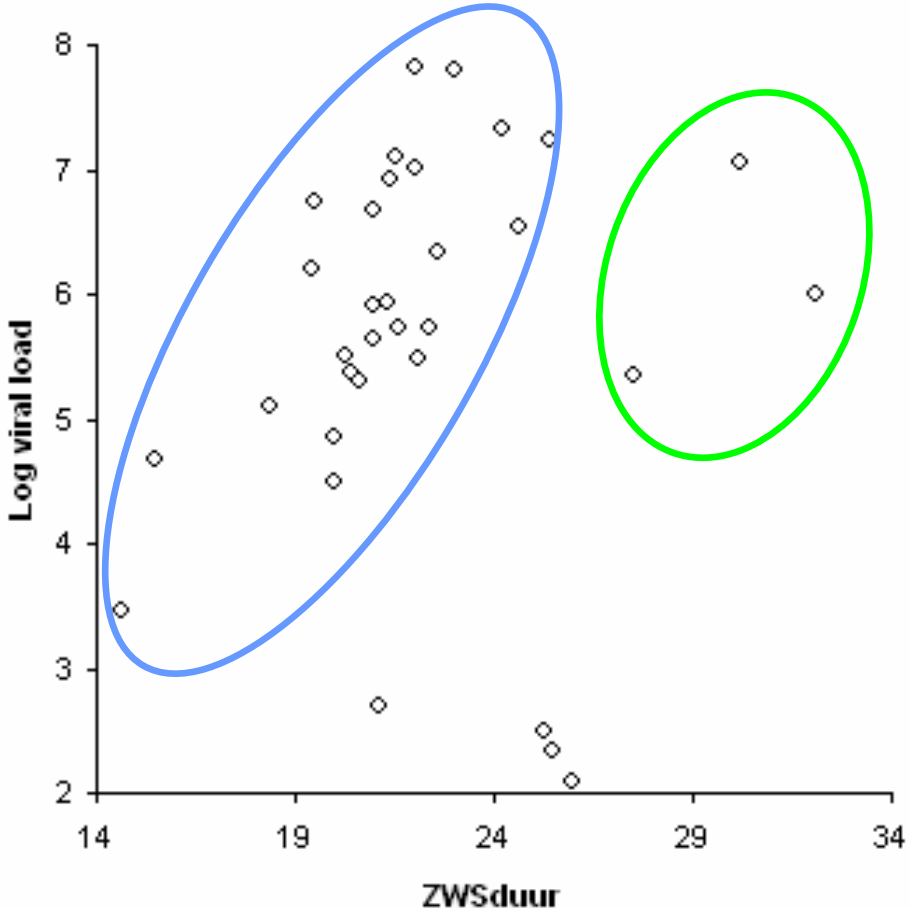


-Accumulatie van CMV in amniosvocht
-Toename van de urinaire flow van de foetus

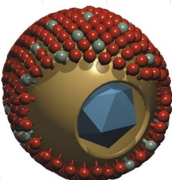


CMV-qPCR amniosvocht

2. Situatie Gasthuisberg

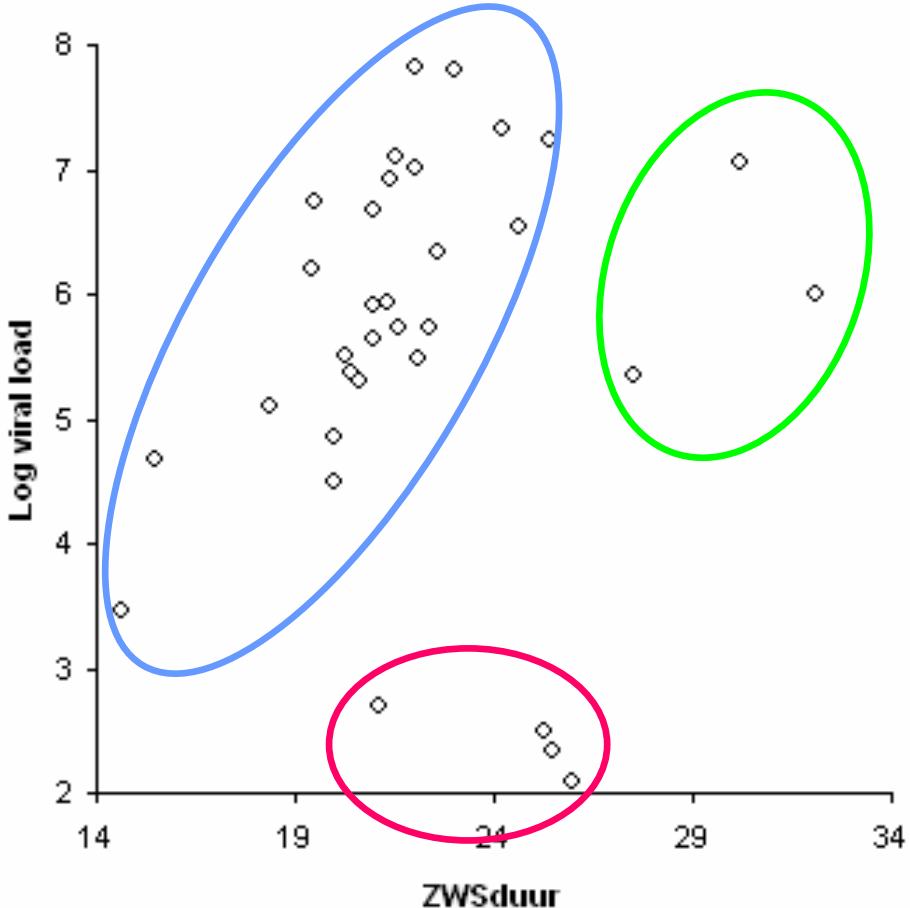


- Infectie later tijdens de zwangerschap
- ... ?



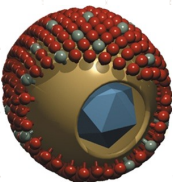
CMV-qPCR amniosvocht

2. Situatie Gasthuisberg



- Ander genotype dat moeilijk wordt opgepikt door de PCR???

- ...???



CMV-prognose foetus

Besluit

Noch uit de literatuur, noch uit onze eigen studie, kunnen we besluiten dat er een correlatie bestaat tussen de viral load in amniosvocht en de outcome van het kind.

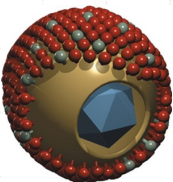
Viral load lijkt eerder gecorreleerd te zijn met de zwangerschaps*duur* dan met de ernst van de infectie bij het kind

De outcome van het kind is mogelijk gecorreleerd met andere factoren zoals het CMV genotype (verder onderzoek nodig)

Momenteel is beeldvorming het enige waarop we ons kunnen baseren (laattijdig & gebrekkige sensitiviteit)

Inhoud

- Inleiding
- Prenatale diagnosestelling:
 - CMV-infectie moeder
 - CMV-infectie foetus
 - Outcome baby
- Therapie/Preventie
- Conclusie



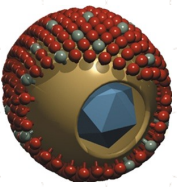
Therapie/ Preventie

1. Preventie: vaccin

Institute of Medicine Report: 'Vaccines for the 21th century'

CMV-vaccin: behoort tot de meest kost-effectieve vaccins
(cf veel kinderen met sequellen overleven)

Toekomstmuziek....



Therapie/ Preventie

2. Therapie

1. Prenatale therapie

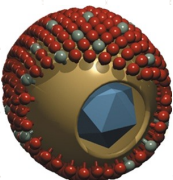
Hyperimmuunglobulines (Nigro et al): effectief voor preventie en R/
Cave verdere validatie nodig !

2. Postnatale therapie

- IV ganciclovir: 1 RCT: gunstig effect op gehoorverlies bij R/ van symptomatische kinderen met aantasting van het centraal zenuwstelsel.
- Cave: NE van ganciclovir

Inhoud

- Inleiding
- Prenatale diagnosestelling:
 - CMV-infectie moeder
 - CMV-infectie foetus
 - Outcome baby
- Therapie/Preventie
- Conclusie



Conclusie & to do

1. Kwantitatieve PCR op amniosvocht

PCR op amniosvocht vanaf 21 weken en minstens 6 weken na de maternele infectie

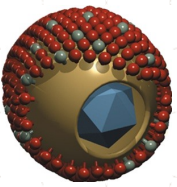
Negatief

Positief

Een negatieve test kan niet garanderen dat het kind niet geïnfecteerd is !

Kindje heeft een CMV-infectie maar we kunnen geen uitspraak doen over de ernst aan de hand van de viral load!

~~Therapie~~

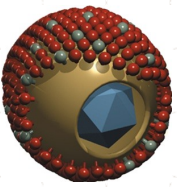


Conclusie & to do

1. Kwantitatieve PCR op amniosvocht

Wat is het nut van de qPCR op amniosvocht???

- Overleg met gynaecologen: afschaffen van de test?
- Indien toch nog uitgevoerd: enkel kwalitatief rapporteren?

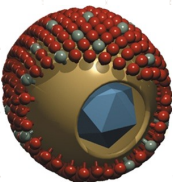


Conclusie & to do

1. Kwantitatieve PCR op amniosvocht

Verklaring voor vals negatieve/ zwak positieve resultaten?

CMV-genotype dat moeilijk wordt opgepikt door onze PCR?
Experimenteel: aanpassen primers/probes voor deze stalen: betere detectie?



Conclusie & to do

2. Urinecultuur voor CMV

Verklaring voor vals negatieve resultaten?

Slechte bewaring/ transport

Rejectiecriteria?

bv. stalen ontvangen >72 uur na afname

Commentaar bij resultaat?

CMV is enkel stabiel indien het staal bewaard/getransporteerd wordt op 4-8° C

Intermittente secretie?

Studie in house? 2 stalen afnemen: hogere opbrengst?

Inhoud

- Inleiding
- Prenatale diagnosestelling:
 - CMV-infectie moeder
 - CMV-infectie foetus
 - Outcome baby
- Therapie/Preventie
- Conclusie