

GRAVIDANZA E HCV

A. LIMONE, M. BERNARDON, M. ZANETTE, C. BUSINELLI, GP. MASO, G. DAL MOLIN*

Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia, IRCCS Burlo Garofolo - Trieste

*Istituto d'Igiene, IRCCS Burlo Garofolo - Trieste

L'epatite C costituisce oggi un problema socio sanitario di primaria importanza in Italia e nel mondo: l'infezione da HCV cronicizza in oltre il 70% dei casi ed il 20 al 40% dei pazienti va incontro nell'arco di circa 20 anni a cirrosi epatica. L'epatocarcinoma si sviluppa quasi esclusivamente nei soggetti con cirrosi epatica con una frequenza del 10-20% dopo 5 anni (incidenza 0.2-0.4% per anno).

Il virus HCV si trasmette mediante il contatto con sangue infetto e gli oggetti appuntiti, cavi e/o taglienti sono un perfetto veicolo di trasmissione, se non sterilizzati adeguatamente. Secondo i dati SEIVA (Osservatorio Epidemiologico dell'Istituto Superiore di Sanità sulle infezioni epatiche) gli interventi di chirurgia (siano essi interventi maggiori, minori, od estetici), sono considerati tra le cause principali di nuove infezioni. Fattori indipendentemente associati al rischio di essere infettati dal virus sono: la tossicodipendenza, la trasfusione di sangue, l'uso di siringhe di vetro, la pregressa tubercolosi e l'ospedalizzazione prima del 1970¹. Oltre alla seppur ben remota possibilità di trasmissione orizzontale, il neonato da madre infetta da HCV è esposto al rischio di contrarre l'infezione per via verticale. Sebbene la letteratura scientifica evidenzi la bassa incidenza di trasmissione verticale dell'infezione, quest'ultima può avvenire in corso di gravidanza o molto più probabilmente intraparto. Un'eventuale infezione del bambino è di notevole impatto negativo sulla madre e sul bambino stesso, poichè al momento attuale non si può intervenire con terapie farmacologiche se non in età adolescenziale. Dal punto di vista epidemiologico, i dati di prevalenza in Europa e America del Nord dell'infezione da HCV in gravidanza sono molto simili a quelli della popolazione generale delle stesse classi d'età (dallo 0.2 al 3%). Questo dato risulta ovvio, dal momento che le donne gravide sono da considerarsi, per certi aspetti, una popolazione sentinella, non essendo selezionate^{2,3}. Per quanto riguarda lo screening per l'infezione da HCV nelle donne gravide, il dibattito è tuttora aperto e vi sono opinioni contrastanti in merito. In alcuni Paesi lo screening non viene considerato necessario, a causa del basso tasso di trasmissione materno fetale e della mancanza di effettiva strategia preventiva⁴. Queste considerazioni portano a preferire allo screening di massa una ricerca limitata alle categorie a rischio: infezione da HIV, tossicodipendenza con uso di droghe endovenose, emofilia, storia di trasfusione o trapianto precedente il 1990, emodialisi, presenza di piercing e tatuaggi, operatori a contatto con persone a rischio, conviventi di persone infettate dal virus HCV ed in generale, tutti coloro ai quali vengono

riscontrate alterazioni persistenti per un periodo superiore ai 6 mesi dei test di funzionalità del fegato. Secondo il decreto Bindi del 1998, in Italia lo screening per l'HCV può essere eseguito gratuitamente tra la 33a e la 37a settimana di gestazione in concomitanza all'esecuzione dell' HbsAg. Nelle donne cui l'infezione viene diagnosticata per la prima volta in gravidanza, la valutazione clinica, il trattamento e la biochimica del danno epatico dovrebbero essere posticipati dopo il parto⁵. Dati recenti hanno evidenziato che lo screening per l'infezione da HCV nelle gravide asintomatiche ed il contemporaneo trattamento, non era vantaggioso in relazione al rapporto costo beneficio⁶.

Il test indiretto di screening si basa sulla rilevazione degli anticorpi anti HCV usando la tecnica EIA (*enzime immunoassay*). Il test ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) di terza generazione è oggi usato di routine. Più del 90% dei test sarà positivo circa un mese dopo l'esposizione in caso di infezione in atto. In caso di positività anticorpale la presenza dell'HCV RNA conferma l'infezione in atto e mediante metodica PCR, si attesta la presenza di viremia da HCV, mentre la valutazione quantitativa della viremia da HCV è necessaria per valutare la dinamica della replicazione virale e per ottimizzare e monitorare i protocolli di trattamento⁷. Le indagini molecolari sono utili nella valutazione diagnostica dei pazienti immunocompromessi e nei neonati da madre HCV positive, poichè una positività anticorpale per HCV potrebbe rappresentare una persistenza degli anticorpi materni. Nelle gestanti HCV positive, risulta inoltre utile l'esecuzione di un'ecografia epatica per visualizzare l'eventuale presenza sia di colestasi intraepatica gravidica, sia di alterazioni macroscopiche parenchimali in caso di assenza di reperto bioptico antecedente alla gravidanza. L'eventuale indagine bioptica è da rimandare al periodo del puerperio.

In merito al decorso clinico dell'epatite C in gravidanza, i risultati presenti in letteratura riguardano quasi esclusivamente l'epatite cronica, mentre mancano informazioni consistenti relative alla fase acuta, dato che l'incidenza dei nuovi casi è molto modesta. Nel caso di infezione cronica da HCV, la patologia non provoca embrio-fetopatia specifica⁸. Per quanto riguarda invece le influenze tra infezione e gravidanza, la maggior parte degli autori sostiene che non sembra che l'HCV giochi un'influenza negativa sui decorso della gravidanza nè che la gravidanza induca un peggioramento del danno epatico⁹⁻¹¹. I dati della letteratura in merito alle variazioni della carica virale sono contrastanti. Alcuni autori hanno osservato un aumento dei livelli di HCV-RNA sierico nel secondo e terzo trimestre di gravidanza¹². In altri studi, invece, la carica virale sarebbe debole durante la gravidanza, ma aumenterebbe successivamente nel postpartum, con una possibile esacerbazione dell'epatite cronica^{4,10,13}. Infine in uno studio sono stati osservati livelli di viremia fluttuanti durante la gravidanza e bassi o irrilevabili nel postpartum¹⁴. In merito al danno epatico, la maggior parte degli autori sostiene che in gravidanza le pazienti siano generalmente asintomatiche, nonostante uno studio riporti la possibilità dalla comparsa di colestasi nel secondo e nel terzo trimestre con un'incidenza dell'11% rispetto all'1% circa della popolazione italiana. La colestasi intraepatica durante la gravidanza

è una complicanza che in genere non comporta conseguenze per la madre, ma può essere dannosa per il feto. La diagnosi di colestasi gravidica si realizza sulla base della presenza di prurito insorto durante la gravidanza, che persiste fino al parto e scompare dopo la nascita del bambino, in assenza di condizioni cutanee o mediche note associate al prurito (criteri minimi). Il sospetto diagnostico deve essere confermato dall'incremento sia delle transaminasi sieriche, sia dei sali biliari in relazione al range di normalità in gravidanza¹⁵. In caso di colestasi gravidica, il trattamento con acido ursodesossicolico migliora il prurito ed i markers biochimici di colestasi, facilita le gravidanze a termine nelle paziente affette da colestasi, con un aumento del peso neonatale in rapporto con i soggetti non trattati. Il farmaco è ben tollerato e non sono stati descritti effetti avversi nei figli delle pazienti¹⁶.

Per quanto riguarda le transaminasi, in generale gli autori concordano nel sostenere che le ALT diminuiscono spesso durante il secondo e soprattutto il terzo trimestre, per aumentare nuovamente dopo il parto^{10,12,17}. Questo dato è confermato da risultati recenti che hanno dimostrato una correlazione inversa tra ALT e livelli sierici di interferone alfa endogeno; tale dato potrebbe suggerire un effetto terapeutico dell'interferone alfa endogeno in gravidanza.

In merito alla terapia dell'epatite C in gravidanza, il trattamento attualmente più efficace (interferone alfa combinato con ribavarina) deve essere sospeso e, se possibile, anche in epoca preconcezionale. Nello specifico, la terapia con interferone alfa va interrotta in gravidanza, a causa delle ripercussioni della sua attività antiproliferativa sullo sviluppo fetale. Nei pochi casi documentati in letteratura, legati essenzialmente alla somministrazione inavvertita in gravidanza, i problemi principali sono stati il ritardo di crescita intrauterino (IUGR) e la prematurità^{4,10}. Inoltre, dal momento che l'interferone è controindicato nei bambini di età inferiore ai due anni, a causa della sua neurotossicità, si ritiene che questo rischio potrebbe sussistere anche per il feto¹⁸. La ribavarina possiede invece proprietà teratogene e mutagene, tali da renderla assolutamente controindicata durante la gravidanza. La sua somministrazione va sospesa nella donna e nell'uomo rispettivamente 4 e 7 mesi prima della procreazione. L'allattamento è controindicato durante il trattamento^{10,19}.

Nonostante alcuni studi abbiano fornito risultati contrastanti in merito, molti autori sostengono che il tasso di trasmissione verticale, determinato nei bambini mediante quantificazione dell'HCV-RNA con metodiche di PCR, si aggira attorno al 5%²⁰.

Le Linee Guida (Commissione Epatologica della Società Italiana di Gastroenterologia ed Epatologia Pediatrica) per la diagnosi di trasmissione verticale dell'HCV prevedono che se la madre è anti-HCV positiva, ma HCV RNA negativa (PCR negativa) durante la gravidanza, è sufficiente sottoporre il bambino ad un semplice test sierologico per anticorpi anti-HCV a 18-24 mesi. Se a quell'epoca il test è positivo significa che vi è stata infezione, dal momento che gli anticorpi acquisiti passivamente dalla madre alla nascita scompaiono entro questo lasso di tempo. In caso di positività si procede ad eseguire la PCR per valutare la viremia e le transaminasi per valutare l'eventuale malattia epatica. Se la madre è invece HCV-RNA positiva in

gravidanza, si esegue una valutazione delle transaminasi e della viremia del bambino al terzo mese di vita. Se il bimbo risulta PCR positivo va eseguita una analoga valutazione al 6° mese e la persistenza di PCR positiva indica che l'infezione è stata trasmessa. Se al terzo mese il bimbo è PCR negativo e con transaminasi normali si farà solo un test anticorpale a 18-24 mesi, se invece è PCR negativo ma con transaminasi aumentate la viremia andrà comunque controllata a 6 mesi²¹.

In merito alle tipologie di trasmissione materno fetale, non è stato tuttavia ancora del tutto chiarito quando e come si realizzi il contagio. Storicamente si considera che tre siano le modalità possibili: intrauterina (transplacentare in ogni momento della gravidanza), intraparto o postnatale. In realtà, viste le conoscenze attuali in merito alla trasmissione mediante l'allattamento, la trasmissione postnatale è da considerarsi improbabile²². La presenza del virus è stata rilevata occasionalmente nel liquido amniotico, ma questo ritrovamento non è sufficiente per affermare che l'infezione avvenga in utero^{23,24}. Secondo alcuni studi il ritrovamento di HCV-RNA nel siero in alcuni neonati nelle prime 24 ore di vita, è verosimilmente compatibile con una trasmissione intrauterina^{20,25}. È invece estremamente difficile interpretare la positività del cordone ombelicale per l'HCV-RNA come un'indicazione di infezione intrauterina per la possibilità di contaminazione con il sangue materno^{18,25}. In uno studio la positività del cordone ombelicale non si è rivelata predittiva della successiva infezione nel bambino⁴. Il possibile effetto protettivo del taglio cesareo elettivo sulla diminuzione del rischio di trasmissione materno fetale, farebbe invece pensare ad una trasmissione perinatale che si realizza durante il parto vaginale^{17,26}. Questa possibilità verrebbe rafforzata dal fatto che in alcuni bambini la positività non sia immediata alla nascita, ma si verifichi dopo qualche mese²⁷.

I fattori di rischio che in letteratura sono stati presi in considerazione per la trasmissione materno fetale dell'HCV sono essenzialmente di tipo infettivologico (viremia antepartum), immunitario (coinfezione HCV-HIV, tossicodipendenza in gravidanza) e ostetrico (modalità di parto, allattamento e procedure invasive).

La viremia materna durante la gravidanza o il parto è associata con un rischio aumentato di trasmissione verticale²⁸. Se non c'è evidenza di viremia nel siero durante la gravidanza il rischio di trasmissione dell'infezione al neonato è molto scarso (0.3%) (European Pediatric HCV Network)²⁹. La presenza di viremia comporta invece un rischio di trasmissione del 3-6% circa. Diversi Autori hanno dimostrato che il rischio di trasmissione è significativamente più alto nei bambini nati da madri con livelli sierici maggiori di HCV-RNA rispetto ai figli di donne con livelli inferiori di viremia^{19,30,31}. L'alta carica virale e la positività delle IgM anti-HCV sembrano essere entrambi due importanti fattori di rischio per la trasmissione dell'infezione al neonato³². La trasmissione verticale sembra aumentare quando la carica virale è superiore 10⁶ copie/ml^{10,20,28}. A sostegno del ruolo della viremia, vi è anche il dato di un maggiore rischio di contagio nei figli di donne che soffrono di epatite acuta C durante la gravidanza³³. Per tale ragione, durante la gravidanza, la viremia dovrebbe essere monitorata attentamente.

In epoca pregestazionale, potrebbe invece risultare utile in caso di viremia elevata e laddove esistano le condizioni per tale trattamento, impostare una terapia con interferone e programmare la gravidanza in relazione alla diminuzione della viremia.

Per quanto riguarda invece l'effetto della progressione della patologia materna sul tasso di trasmissione, le notizie sono scarse, anche se in generale si ritiene che l'infiammazione epatica diminuisca in gravidanza. Un singolo studio ha dimostrato che la trasmissione correla con le cellule mononucleate infette presenti nel sangue periferico^{18,34}. Si ritiene inoltre, che non vi sia correlazione tra genotipo e carica virale^{19,31,35}.

La coinfezione materna con virus C e virus dell'AIDS (HIV) è sempre stata associata ad un maggior rischio di trasmissione del virus C, sia per l'immunodepressione indotta dall'HIV, sia perchè la mamma HIV positiva è spesso anche tossicodipendente.

In merito all'immunocompetenza materna, in caso di coinfezione con il virus dell'HIV, il rischio di trasmissione materno fetale dell'HCV aumenta con un tasso di trasmissione medio che può arrivare al 15%^{4,26,31}.

La spiegazione più verosimile sarebbe che l'immunodeficienza legata alla diminuzione dei linfociti T CD4, che caratterizza l'infezione da HIV, possa facilitare la replicazione del virus dell'HCV e, conseguentemente, aumentare il rischio di trasmissione^{4,36}. Al riguardo è da segnalare che la coinfezione HCV-HIV, oltre ad aumentare la trasmissione materno fetale, aumenta anche il tasso di trasmissione orizzontale dell'infezione da HCV³⁷.

Anche in caso di tossicodipendenza con uso di droghe endovenose, la trasmissione aumenta all'incirca del 10%. Si ritiene infatti che la situazione di immunodepressione associata alla tossicodipendenza favorisca il contagio. Nello specifico, si verifica una significativa riduzione dei linfociti T CD4 (helper) ed un aumento dei linfociti T CD8 (citotossici)^{35,38,39}.

Infine, per quanto riguarda i fattori di rischio più propriamente ostetrici, la modalità di parto è un elemento sul quale i diversi Autori si sono espressi in modo contrastante e pertanto, al momento, non vi sono sufficienti elementi per raccomandare un uso routinario del taglio cesareo. Secondo alcuni studi la trasmissione dell'infezione si verifica al momento del parto, perchè le contrazioni uterine possono creare delle microlesioni placentari durante il travaglio tali da permettere il passaggio di sangue materno all'interno della circolazione fetale. Inoltre, durante il passaggio attraverso il canale del parto, il feto viene a contatto diretto con le secrezioni vaginali e con il sangue materno infetto. Tale ipotesi, supportata da una maggiore frequenza di infezione dopo il parto vaginale o il taglio cesareo d'emergenza, suggeriscono che il cesareo elettivo, prima della rottura delle membrane e del travaglio, potrebbe ridurre il rischio di trasmissione materno fetale^{7,19,26}. Altri studi non hanno invece confermato questo potenziale vantaggio a favore del taglio cesareo^{25,35}.

Un recentissima review pubblicata sulla Cochrane Library afferma che al momento non ci sono evidenze di trials randomizzati sui quali basare qualsiasi raccomandazione pratica riguardo la scelta di eseguire un taglio casareo elettivo rispetto al parto vaginale per prevenire la

trasmissione materno-fetale dell'HCV. Sebbene studi osservazionali non hanno generalmente supportato che il taglio cesareo elettivo previene la trasmissione materno fetale dell'HCV (a meno che non ci sia una coinfezione da HIV), questi dati andrebbero interpretati con cautela⁴⁰.

I risultati riportati in letteratura sono al contrario concordanti in merito all'allattamento al seno e dimostrano che non vi sia un aumento di trasmissione associato³⁵ anche in presenza di HCV nel latte e nel colostro⁴¹. Per questa ragione l'allattamento va incoraggiato con la possibile eccezione dei casi di epatite acuta in gravidanza³³ ed a quelli di sanguinamento e ragadi del capezzolo. Sono invece attualmente da considerarsi fattori di rischio procedure invasive per la diagnosi prenatale, come l'amniocentesi e il prelievo dei villi coriali⁴². In letteratura è stato documentato un caso di contaminazione per amniocentesi^{10,23}. Infine, in merito al rischio di trasmissione in gravidanze successive, è stato visto che esso non aumenta in caso di pregresso contagio materno fetale^{10,43}.

Flow-chart comportamentale:

In caso di riscontro di infezione da HCV per la prima volta in gravidanza è opportuno:
 Attestare la presenza di viremia da HCV mediante metodica PCR
 Attestare la presenza di un'eventuale coinfezione da HIV
 Monitorare gli indici di funzionalità epatica ogni 6-8 settimane
 Esporre alla paziente le modalità di rischio di trasmissione dell'infezione virale al neonato (verticale-intrapartum)
 Esporre alla paziente le modalità di esecuzione del parto ricordando che al momento non ci sono evidenze per raccomandare un uso routinario del taglio cesareo (a meno che non ci sia una coinfezione da HIV)

In caso di riscontro anamnestico di infezione da HCV in visita pre-concezionale:
 Valutazione dell'HCV RNA per stabilire se si tratti di una paziente guarita o portatrice
 Interrompere l'eventuale terapia in atto compatibilmente con quadro clinico della malattia (complicanze epato-biliari)
 In caso in cui si instauri una gravidanza seguire le stesse indicazioni come sopra riportate

Bibliografia

1. Chiamomonte M., Stroffolini T., Lorenzoni V., et al. Risk factors in community acquired hepatitis C virus chronic infection: a case control study in Italy. *J.Hepatol.* 1996; 24: 129-134.
2. Baldo V, Floreani A, Menegon T, Grella P, Patemoster DM, Trivello R. Hepatitis C virus, hepatitis B virus and human deficiency virus infection in pregnant women in North East Italy: a seroepidemiologic study. *European Journal of Epidemiology* 2000; 16: 87-91.
3. Patemoster DM, Santarossa C, Grella P, Palu G, Baldo V, Boccagni P, Floreani A. Viral load in HCV RNA positive pregnant women. *The American Journal of gastroenterology* 2001; 96: 2751-2754.
4. Conte D, Colucci A, Minola E, Fraquelli M, Prati D. Clinical course of pregnant women with chronic hepatitis C virus infection and risk of mother-to-child hepatitis C virus transmission. *Digest L Dis* 2001; 33: 366-371.

5. Zanetti AR, Tanzi E, Newell ML. Mother to infant transmission of hepatitis C virus. *J Hepatology* 1999; 31: 96-100.
6. Plunkett B.A., Grobman W.A., Routine hepatitis C virus screening in pregnancy: A cost-effectiveness analysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* (2005) 192, 1153-61
7. Rizzetto M, Smedile A. Epatiti virali croniche. In: *Manuale di gastroenterologia. Unigastro Coordinamento Nazionale Docenti Universitari Malattie dell' Apparato Digerente editrice Gastroenterologica Universitaria, Roma* 2004, pp 291-310.
8. Patemoster DM, Santarossa C, Stella A, Parise A, Palu G. Pregnancy in women infected with the hepatitis C virus. *Acta Biomedica Ateneo Parmense* 2000; 71: 553-557
9. Floreani A, Patemoster DM, Zappala F, Cusinato R, Bombi G, Grella P, Chiaramonte M. Hepatitis C virus infection in pregnancy. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1996; 103: 325-329.
10. Ranger-Rogez S, Alain S, Denis F. Virus des hepatites: transmission mere-enfant. *Pathologie Biologie* 2002; 50: 568-575.
11. Seow HF. Hepatitis B and C in pregnancy. *Current Obstetrics and Gynaecology* 1999; 9 :216-223.
12. Gervais A, Bacq Y, Bernuau J, Martinot M, Auperin A, Boyer N, Kilani A, Erlinger S, Valla D, Marcellin P. Decrease in serum ALT and increase in serum HCV RNA during pregnancy in women with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2000; 32: 293-299.
13. Wejstal R, Widell A, Norkrans G. HCV-RNA levels increase during pregnancy in women with chronic hepatitis C. *Scand J Infect Dis* 1998; 30: 111-113.
14. Lin HH, Kao IH, Hsu, HY et al. Absence of infection in breast-fed infants born to hepatitis C virus-infected mothers. *J Pediatr* 1995 ; 126 : 589-591.
15. Patemoster DM, Fabris F, Palu U. G, Santarossa C, Bracciante R, Snijders D, Floreani A. Intra-hepatic cholestasis of pregnancy in hepatitis C virus infection. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2002; 81 (2):99-103.
16. Zapata R Sandoval L, Palma J, Hernandez I, Ribaita J, Reyes H, Sedano M, Toha D, Silva JJ. Ursodeoxycholic acid in the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Liver Int.* 2005 Jun;25(3):548-54.
17. Giles M, Hellard M, Sasadeusz J. Hepatitis C and pregnancy: an update. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynecology* 2003; 43: 290-293.
18. Roberts EA, Yeung L. NIH consensus development conference: maternal-infant transmission of hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2002;36:S106-113.
19. Conte D, Fraquelli M, Prati D, Colucci A, Minola E. Prevalence and clinical course of chronic hepatitis C virus (HCV) infection and rate of HCV vertical transmission in a cohort of 15,250 pregnant women. *Hepatology* 2000; 31:751-755.
20. Bataillon A, Faucher P, Poncelet C, Demaria F, Benifla JL, Madelenat P. La transmission materno-fetale du virus de l'hepatite C: actualites sur l'interet de la cesarienne. *Gynecologie Obstetrique & Fertilité* 2003; 31: 964-968.
21. Commissione Epatologica della Societa Italiana di Gastroenterologia ed Epatologia Pediatrica (*Digestive and Liver Disease*, vol. 35, pag 453-57, anno 2003)
22. Polywka S, Schroter M, Feucht HH, Zollner B, Laufs R. Low Risk of Vertical Transmission of Hepatitis C Virus by Breast Milk. *Clin Infect Dis.* 1999 Nov;29(5):1327-9.
23. Delamare C, Carbonne B, Heim N, Berkane N, Petit JC, Uzan S et al. Detection of hepatitis C virus RNA (HCV RNA) in amniotic fluid : a prospective study. *J Hepatol* 1999; 31: 416-420.
24. Minola E, Maccabrini A, Pacati I, Martinetti M. Amniocentesi as a possible risk factor for mother to infant transmission of hepatitis C virus. *Hepatology* 2001;33:1341-1342
25. Young L TV, King SM, Roberts EA. Mother to infant transmission of hepatitis C virus. *Hepatology* 2001; 34: 223-229.
26. Gibb DM, Goodall RL, Dunn DT, Healy M, Neave P, Cafferkey M, Butier K. Mother to child transmission of hepatitis C virus: evidence for preventable peripartum transmission. *The Lancet* 2000; 356: 904-907.
27. Murakami J, Okamoto M, Miyata H et al. Evolution in the hypervariable region of hepatitis C virus in infants after vertical transmission. *Pediatric Research* 2000; 48: 450-456.
28. Okamoto M, Nagata I, Murakami J, Kaji S, Iitsuka T, Hoshika T et al. Prospective reevaluation of risk factors in mother to child transmission of hepatitis C virus: high virus load, vaginal delivery, and antinegative anti-NS4 antibody. *J Infect Dis* 2000; 182: 1511-1514.
29. European Pediatric HCV Network. A significant gender, but not elective cesarean section effect, on mother to child transmission of hepatitis C virus infection. *Journal of Infectious Disease* 2005;192:1872-9
30. Giacchino R, Tasso L, Timitilli A, Castagnola E, Cristina E, Sinelli N et al. Vertical transmission of hepatitis C virus infection: usefulness of viremia detection in HIV-seronegative hepatitis C virus-seropositive mothers. *J Pediatr* 1998; 132: 167-169.
31. Thomas DL, Villano SA, Riestler KA, Hershov R, Mofenson LM, Landesman SH, Hollinger FB, Davenny K, Riley L, Diaz C, Tang HB, Quinn Te. Perinatal transmission of hepatitis C virus from Human Immunodeficiency Virus Type 1-infected mothers. *The Journal of Infectious Diseases* 1998; 177: 1480-1488.
32. Dal Molin G, D'Agaro P, Ansaldo F, Ciana G, Fertz C, Alberico S, Campello C. Mother-to-Infant transmission of hepatitis

- C virus: rate of infection and assessment of viral load and Ig-M anti-HCV as risk factors. *Journal of Medical Virology* 2002; 67: 137-142.
33. Kumar U, Monjardino J, Thomas HC. Hypervariable region of hepatitis C virus envelope glycoprotein (E2/NS 1) in an agamma globulinemic patient. *Gastroenterology* 1994 ; 106 : 1072-1075.
34. Azzari C, Resti M, Moriondo M, Ferrari R, Lionetti P, Viemcci A. Vertical transmission of HCV is related to maternal peripheral blood mononuclear cell infection. *Blood* 2000;96:2045-2048 .
35. Resti M, Azzari C, Mannelli, F, Moriondo M, Novembre E, De Martino M et al. Mother to child transmission of hepatitis C virus: prospective study of risks factors and timing of infection in children born to women seronegative for HIV-1. Tuscany study Group on Hepatitis C Virus Infection. *Br Med J* 1998; 317: 437-441.
36. Tovo P, Paloma E, Ferraris G, Principi N, Ruga E, Dallacasa P et al. Increased risk of maternal infant hepatitis C virus transmission for women coinfectd with human immunodeficiency virus type 1. Italian Study Group for HCV infection in Children. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 1121-1124.
37. Zanetti AR, Romano L. Evolving epidemiology of viral hepatitis in Italy. *Dig Liv Dis* 2001;3:740-742.
38. Granovski MO, Minkoff HL, Tess BH, Waters D, Hatzakis A, Devoid D, Landesman SH, Rubinstein A, Di Bisceglie AM, Goedert n. Hepatitis C virus infection in the mothers and infants cohort study. *Pediatrics* 1998; 102: 355-359.
39. Mazza C, Ravaggi A, Rodella A, Padula D, Duse M, Lomini M et al. Prospective study of mother to infant transmission of hepatitis C virus (HCV) infection. Study Group for Vertical Transmission. *J Med Virol* 1998; 55: 328.
40. McIntyre PG, Toshi K, McGuire W. Caesarean section versus vaginal delivery for preventing mother to infant hepatitis C virus transmission. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006, Issue 4.
41. Lin HH, Kao JH. Hepatitis C virus load during pregnancy and puerperium. *BJOG* 2000; 107: 1503-1506.
42. Resti M, Bortolotti F, Vajro P, Maggiore G. Guidelines for the screening and follow-up of infants born to anti-HCV positive mothers. *Dig Liv Dis* 2003; 35: 453-457.
43. Resti M, Bortolotti F, Azzari C, Giacchino R, Zancan L, Gussetti N, Vierucci A. Transmission of hepatitis C virus from infected mother to offspring during subsequent pregnancies. *J Pediatr Gastroenterology Nutr* 2000; 30 : 491-493.
44. Floreani A, Paternoster DM, Zappala F, Cusinato R, Bombi G, Grella P, Chiaramonte M. Hepatitis C virus infection in pregnancy. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1996; 103: 325-329.