

Screening universale e Test Mirato per la diagnosi delle infezioni congenite da CMV. Uno studio retrospettivo.

Parolin Giulia², Spinoni Vania¹, Bazzana Tullia³, Orru Giulia², Morizzi Carmela², Scuderi Francesco³, Nassif Nader³, Redaelli De Zinis Luca³, Barezzani Maria Grazia².

1. Department of Neonatology, ASST Spedali Civili - University of Brescia, Italy

2. Department of Pediatric Audiology and Phoniatrics, ASST Spedali Civili - University of Brescia, Italy

3. Department of Pediatric Otolaryngology, ASST Spedali Civili - University of Brescia, Italy

Abstract:

INTRODUZIONE - L'infezione congenita da CMV è la principale causa di ipoacusia neurosensoriale tardiva e di disturbi neurologici. Spesso è asintomatica alla nascita e si mantiene latente nel tempo. **OBIETTIVO DELLO STUDIO** - L'obiettivo di questo studio è fare un confronto tra lo screening universale e lo screening mirato (expandedtargeted screening) che si sono svolti in periodi differenti presso il nostro ospedale. **MATERIALI E METODI** - Da Ottobre 2015 a Maggio 2017 è stato applicato uno screening universale alla nascita. Tutti i neonati presso gli Spedali Civili (nido-terapia intensiva neonatale) sono stati sottoposti al test salivare per CMV. Dal 2021 al 2023 i neonati sono stati sottoposti ad expandedtargeted applicato solo ai bambini con sintomi collegabili all'infezione o refer alle otoemissioni (TEOAE). In entrambi i casi una positività al test salivare, era confermato con test plasmatico o urinario. I pazienti positivi sono stati sottoposti a follow-up audiologico ed a visita di controllo auxologica, oftalmologica e neuropsichiatrica. **RISULTATI** - Nel primo periodo (2015-2017) sono stati analizzati tutti i 5032 neonati. Il test di ricerca di CMV è stato riscontrato positivo in 21 neonati (0,41%), 2 refer e 19 pass. Nel secondo periodo (2021-2023), invece sono nati 9792 bambini, tra questi 130 da una madre con infezione di CMV o aventi sintomi riconducibili all'infezione, quindi sottoposti a test. Di questi, 17 (0,17%) positivi all'infezione, 7 erano refer e 10 pass. **CONCLUSIONI** - Il test universale è più completo rispetto a quello mirato in quanto identifica i pazienti che hanno un'infezione congenita silente e permette di monitorarli nel tempo per individuare precocemente le sequele tardive. Potrebbe essere applicato grazie alla disponibilità del test salivare.

Parole chiave: Cytomegalovirus, congenital cytomegalovirus infection, hearing, newborn hearing screening, screening,

Abstract:

INTRODUCTION - Congenital CMV infection is the main cause of late sensorineural hearing loss and neurological disorders. It is often asymptomatic at birth and remains latent over time. **OBJECTIVE OF THE STUDY** - The aim of this study is to make a comparison between universal screening and expandedtargeted screening that took place at different times at our hospital. **MATERIALS AND METHODS** - Universal screening at birth was applied from October 2015 to May 2017. All newborns at the Spedali Civili (from newborn and intensive care unit) underwent saliva testing for CMV. From 2021 to 2023, expandedtargeted screening was applied to newborns, so only infants with symptoms related to infection or refer to otohaemissions (TEOAE) were analyzed. In both cases a positive saliva test was confirmed by plasma or urine test. The positive patients underwent audiological follow-up and auxological, ophthalmological and neuropsychiatric check-ups. **RESULTS** - All 5032 infants were tested in the first period (2015-2017). The CMV test was positive in 21 infants (0.41%), 2 refer and 19 pass. In the second period (2021-2023), on the other hand, 9792 infants were born, of whom 130 were born to a mother with CMV infection or with symptoms suggestive of infection and were therefore tested. Of these, 17 (0.17%) were positive for infection, 7 were refer and 10 pass. **CONCLUSIONS** - The universal test is more complete than the targeted test in identifying patients who have a silent congenital infection and allows them to be monitored over time to detect late sequelae at an early stage. It could be applied thanks to the accessibility of the saliva test.

Keywords: Cytomegalovirus, congenital cytomegalovirus infection, hearing, newborn hearing screening, screening,

Introduzione

Epidemiologia

Il Citomegalovirus (CMV) è un virus a DNA appartenente alla famiglia degli Herpesviridae. Si tratta di un virus ubiquitario che deve il suo nome all'effetto citopatico che esercita sulle cellule infettate, le quali aumentano notevolmente di volume prima di andare incontro a lisi.

Il CMV presenta una sieroprevalenza mondiale dello 0.64%. Gli esseri umani rappresentano l'unico serbatoio per il CMV, la cui trasmissione avviene per contatto interumano diretto o indiretto (trasmissione orizzontale dell'infezione). Le fonti di infezione includono: secrezioni orofaringee, urina, secrezioni cervicali e vaginali, sperma, latte materno, lacrime, feci, sangue. La propagazione dell'infezione è favorita dall'eliminazione molto prolungata del virus e dal fatto che la maggior parte delle infezioni decorre in modo asintomatico o paucisintomatico.

Nei Paesi Industrializzati fino al 50% delle donne in età fertile è sieropositiva, percentuale che raggiunge il 90%-100% delle donne in età fertile nei Paesi a risorse limitate.

Nella popolazione di donne in età fertile giocano un ruolo importante per la diffusione dell'infezione la trasmissione sessuale e il contatto stretto e quotidiano con i bambini.

Il CMV rappresenta la causa più comune di infezione congenita nel mondo (0.48-1.42 %). In Italia e nei Paesi Industrializzati colpisce 0.3-0.7 % dei nuovi nati ogni anno con un numero di casi attesi di infezione congenita di 1 caso ogni 100-150 nuovi nati. Nei Paesi a basso reddito l'incidenza sale a 1-5% dei nati vivi.

In caso di infezione materna da CMV in gravidanza il rischio di trasmissione transplacentare del virus al prodotto del concepimento aumenta con l'avanzare dell'età gestazionale, con un outcome neonatale peggiore se l'infezione è acquisita precocemente.

In particolare il rischio di trasmissione al feto è 30-35 % dopo MPI (maternal primary infection) e 0.2-2% (a seconda degli studi e comunque < 3.5%) dopo NPI (non-primary infections). In entrambi i casi il quadro clinico alla nascita e l'outcome neonatale a distanza appare sovrapponibile. (Salomè S, 2023)

Se in passato lo screening sierologico per CMV delle gravide non rientrava nei LEA in quanto non disponibile una terapia efficace nel contrastare la trasmissione dell'infezione al feto, da Dicembre 2023 l'Istituto Superiore di Sanità ha modificato le linee guida italiane introducendo lo screening per CMV per tutte le donne gravide, il cui stato sierologico non sia noto o negativo nel periodo periconcezionale o nel I° trimestre di gravidanza. Questa modifica nella gestione della gravidanza fisiologica è stata possibile in quanto uno studio clinico randomizzato in doppio cieco (Shahar-Nissan et al, 2020) e una revisione sistematica degli studi (Chatzakis, 2023) ha evidenziato come il trattamento delle gravide con siero conversione per CMV in gravidanza riduca significativamente il rischio di infezione fetale.

Attualmente, in assenza di un vaccino efficace da somministrare alla popolazione, l'unica modalità di prevenzione primaria è rappresentata dalle norme igienico-sanitarie da mettere in atto dal periodo periconcezionale a tutto il primo trimestre. In gravidanza, in caso di infezione materna primaria e non è possibile una prevenzione secondaria attraverso la terapia materna con vVlaciclovir. In caso di infezione neonatale sintomatica o di ipoacusia neurosensoriale isolata è possibile eseguire una prevenzione terziaria trattando il neonato con Valganciclovir, terapia da avviare il prima possibile, non oltre il primo mese di vita e per una durata di 6 mesi (6 settimane solo in caso di piastrinopenia e/o ipertransaminasemia persistente) (Leruez-Ville M 2024)

La diagnosi di infezione congenita da CMV in un neonato va fatta il prima possibile, nelle prime due-tre settimane di vita e comunque entro il mese di vita.

Diagnosi

Nel DPCM del 12 gennaio 2017 lo screening sierologico dell'infezione da CMV alle donne in gravidanza non era incluso tra le prestazioni specialistiche per il controllo della gravidanza fisiologica, escluse dalla partecipazione al costo. Tuttavia il sistema nazionale nelle linee guida italiane (ISS) suggerisce lo screening sierologico dell'infezione da CMV deve

essere offerto a tutte le donne in gravidanza entro il primo trimestre e fino alla 24esima settimana di gravidanza, oppure in presenza di segni suggestivi di infezione fetale all'ecografia. Fino a Dicembre 2023 rimanevano non indagate le gravidanze dalla 24esima alla 40esima settimana (ISS) in quanto l'infezione contratta nel II° e III° trimestre di gravidanza è correlabile con un outcome neonatale a distanza benigno (sequele a lungo termine nello 0.1% dei casi nelle infezioni del II° trimestre di gravidanza e nello 0% dei casi di infezione contratta nel III° trimestre di gravidanza).

La diagnosi di infezione congenita da CMV si basa sulla ricerca del DNA virale mediante PCR (CMV-DNA PCR) su urine o saliva.

Il test su saliva si esegue su un campione facile da raccogliere, prevede un approccio semplice, pratico e poco costoso, facilmente accettato dai genitori. Questo tipo di diagnostica può presentare una certa quota di falsi positivi a causa della contaminazione della mucosa orale dal tratto genitale materno o dal latte materno. Questa modalità diagnostica presenta una sensibilità del 93%, una specificità del 91%, valore predittivo negativo del 98% e valore predittivo positivo del 98%. In caso di test salivare positivo è indicata la conferma diagnostica mediante ricerca del DNA virale su urine.

La ricerca di DNA virale su urine mediante PCR è l'esame gold standard in quanto presenta la massima sensibilità e specificità. In letteratura sono riportati una sensibilità del 100%, specificità del 99.7%, valore predittivo negativo del 99%, valore predittivo positivo del 73%. Purtroppo nei primi giorni di vita la raccolta di un campione di urine in un neonato può essere particolarmente complicata.

(Leruez-Ville M 2024),

La diagnosi di infezione congenita mediante ricerca sierologica anticorpale non è raccomandata in epoca neonatale poiché le IgM hanno una bassa sensibilità alla nascita (non tutti i neonati infetti producono IgM anti-CMV) e in caso di IgG positive non è possibile differenziare quelle di origine materna da quelle neonatali. (Dollard et al 2021)

L'infezione congenita da CMV deve essere diagnostica entro la terza settimana di vita. Esami molecolari eseguiti dopo la terza-quarta settimana di vita non permettono di discriminare un'infezione congenita da una perina-

tale (infezione al momento del passaggio dal canale del parto) o postnatale.

Popolazione da analizzare e disturbi correlati

Secondo la letteratura più recente lo screening per CMV andrebbe eseguito sicuramente in neonati nati da madri con infezione primaria sospetta o confermata durante la gravidanza, in nati con riscontro di anomalie fetali ascrivibili a CMV, in nati con sordità alla nascita (riscontro di otoemissioni TEOAE refer), in nati con ritardo di crescita intrauterino simmetrico (IUGR) ad eziologia ignota, in nati con sintomi di flogosi virale, anomalie di laboratorio e/o al neuroimaging ascrivibili a CMV, in neonati pretermine con età gestazionale inferiore a 32 settimane o peso alla nascita inferiore a 1500 g o per diagnosi differenziale con altre infezioni postnatale. (Leruez-Ville M 2024)

L'85%-90% dei neonati con infezione congenita da CMV sono asintomatici alla nascita.

Solo il 10%-15% presenza sintomi o segni riferibili all'infezione.

Il quadro clinico dell'infezione congenita da CMV comprende:

1. Segni e sintomi non neurologici:

- prematurità
- ritardo di crescita intrauterino/neonato piccolo per età gestazionale
- porpora/petecchie/blueberry muffin rash
- - segni e sintomi di compromissione d'organo (sierositi, epatite, ittero precoce, polmonite)
- Interstiziale, cardiomegalia, anomalie oculari, ipoacusia)

2. Segni e sintomi neurologici:

- microcefalia
- meningoencefalite
- ipotonia/letargia
- ipereccitabilità/convulsioni
- difficoltà di alimentazione
- sordità neurosensoriale
- corio retinite/atrofia ottica

3. Alterazioni laboratoristiche:

- anemia
- neutropenia (< 1000/mmc)

- piastrinopenia (< 100.000/mmc)
- iperbilirubinemia (bilirubina diretta > 3 mg/dl)
- ipertransaminasemia (ALT/AST almeno 2 volte rispetto alla normalità)

Alla valutazione audiologica le alterazioni uditive sono in particolare ipoacusia neurosensoriale (SNHL) con soglia >25 dB uni o bilaterale.

Al neuroimaging si possono evidenziare segni aspecifici di infezione da CMV come alterazioni infiammatorie da danni diretti dovuti alla risposta infiammatoria all'infezione: vasculopatia talamo-striatale, pseudocisti, presenza di setti intraventricolari, ventricolomegalia, calcificazioni periventricolari, o danni cerebrali specifici quali malformazioni corticali (tipicamente polimicrogiria, solchi scarsamente sviluppati, ipoplasia cerebellare) o anomalie della sostanza bianca. La presenza o assenza di alterazioni cerebrali e il tipo di danno cerebrale sono in funzione dell'epoca gestazionale a cui l'infezione è stata contratta. (Leruez-Ville M, 2024)

In caso di infezione congenita sia i neonati sintomatici che quelli asintomatici possono presentare sequele a lungo termine anche se i dati della letteratura confermano che solo i neonati con infezione contratta nel periodo periconcezionale e nel 1° trimestre di gravidanza possono sviluppare complicanze.

Le complicanze a lungo termine sono rappresentate da sordità neurosensoriale, neurodisabilità (ritardo cognitivo-psicomotorio) e disturbi visivi e interessano il 15-60% dei neonati sintomatici e il 10-15% dei neonati asintomatici. (Salomè S, 2023)

Complessivamente circa il 14% dei bambini con infezione congenita da CMV sviluppa una sordità neurosensoriale (40-60% dei sintomatici e 10-15% degli asintomatici). Solo in 1/3 dei casi è presente alla nascita con esordio più precoce nei casi sintomatici (33 mesi vs 44 mesi). La sordità neurosensoriale è generalmente bilaterale e grave-profonda nei pazienti sintomatici mentre negli asintomatici è di solito monolaterale e medio-grave.

Tra tutti i bambini affetti da sordità neurosensoriale congenita da moderata a profonda si stima che il 15-20% sia attribuibile all'infezione congenita da CMV (Grosse SD, 2007)

Tipologie di screening adottabili

Per quanto riguarda le tipologie di screening infantile di ricerca dell'infezione congenita di CMV, si possono attuare diverse strategie in quanto attualmente non ve ne è una universale:

- screening universale prevede la ricerca di CMV-DNA in tutti i nati;

- hearing target screening prevede la ricerca del DNA virale solo nei neonati che non hanno superato lo screening uditivo

- expandedtargeted screening prevede la ricerca di CMV-DNA su tutti i neonati con sintomi collegabili ad infezione congenita da CMV (storia materna di infezione da CMV, bilirubina elevata, enzimi epatici elevati, REFER allo screening uditivo, alterazioni radiologiche SNC suggestive, trombocitopenia, bassa crescita intrauterina, basso peso per età gestazionale, microcefalia o macrocefalia, calcificazioni intra-addominali, epatomegalia o splenomegalia non spiegabili, petecchie).

L'obiettivo di questo studio è confrontare lo screening universale con lo screening mirato che si sono svolti in periodi differenti presso l'ASST Spedali Civili di Brescia, al fine di evidenziare i vantaggi e gli svantaggi nell'applicazione delle due metodiche e di valutare, secondo la nostra esperienza e secondo la letteratura, quale dei due risulta più completo ed efficace sia da un punto di vista clinico che economico.

E' stata condotta anche un'analisi descrittiva degli outcome clinici, quindi una valutazione delle sequele dell'infezione da CMV nel nostro campione.

Materiali e metodi

Presso la nostra clinica degli Spedali Civili di Brescia lo screening audiologico è iniziato nel 2008 per tutti i bambini, sia prematuri che nati a termine. Dal 2011 ad oggi tutti i bambini con sintomi collegabili all'infezione da CMV (storia materna di infezione da CMV, bilirubina elevata, enzimi epatici elevati, REFER allo screening uditivo, alterazioni radiologiche SNC suggestive, trombocitopenia, bassa crescita intrauterina, basso peso per età gestazionale, microcefalia o macrocefalia, calcificazioni intra-addominali, epatomegalia o splenomegalia non spiegabili, petecchie) vengono sotto-

posti ad un test salivare e, se risulta positivo, vengono confermati con un test sulle urine o su campione ematico. I positivi vengono poi inseriti in un programma di follow-up.

È noto dalla letteratura che questo tipo di screening non riesce ad identificare tutti i pazienti che svilupperanno dei sintomi tardivi durante l'infanzia.

Nella nostra clinica, abbiamo eseguito in via sperimentale da ottobre 2015 a maggio 2017 uno screening universale che ha permesso di somministrare il test salivare per il CMV a tutti i neonati, quindi di arruolare anche i neonati positivi al CMV asintomatici nel follow-up audiologico al fine di identificare precocemente i pazienti con necessità terapeutica e supporto educativo o di device.

È stato scelto come primo test quello di ricerca di CMV su campione salivare, raccolto immediatamente strofinando un tampone all'interno della guancia del neonato in terapia intensiva. Nei neonati sani in neonatologia il campione è stato raccolto insieme agli esami del sangue eseguiti a 49 ore di vita. Tutti i bambini non venivano svezzati per almeno due ore prima di eseguire il test.

I tamponi venivano conservati a 20 ° C prima di essere analizzati. In laboratorio veniva utilizzata la CMV DNA rt-PCR ed i campioni positivi rivalutati per la conferma. I bambini risultati positivi venivano definitivamente confermati mediante una valutazione del CMV DNA urinario. Tutti i bambini risultati positivi sono stati inseriti in un programma di follow-up audiologico e di sviluppo neurologico (TAB.1, TAB 2).

Risultati

Tra ottobre 2015 e maggio 2017 sono stati analizzati 5032 campioni salivari. Ventuno neonati (0,41%) sono risultati positivi ad i test. Diciotto (85,7%) provenivano dal nido, tre dalla terapia intensiva (14,3%).

Sette neonati (33,3%) erano correlati ad una sieropositività materna con sieroconversione durante la gravidanza. Quattordici bambini (66,7%) non avevano segni fetali di infezione e non avevano fattori di rischio associati ad infezione da CMV. Tra queste madri cinque erano immuni in gravidanza, 8 non avevano valutato la sierologia durante la gravidanza e

solo una madre tra queste era sieronegativa durante la gravidanza.

Allo screening neonatale tra i neonati analizzati, solo due erano risultati REFER alle TEOAE, tutti gli altri erano risultati PASS.

Tra i neonati con una diagnosi congenita di CMV, quattordici bambini non avevano segni fetali di infezione e si presentavano asintomatici alla nascita, ma durante il follow-up due pazienti hanno sviluppato un'ipoacusia uno a 6 mesi, l'altro a 3 mesi.

Tra gli altri neonati una bambina aveva microcefalia e polimicrogiria identificate alla RMN ed ha sviluppato ritardo psicomotorio, due bambini erano prematuri con basso peso alla nascita, una neonata aveva una lesione intraventricolare, un bambino presentava leukomalacia, due bambini avevano cisti cerebrali alla RMN.

Successivamente a questa esperienza, eseguita in modo sperimentale, è ricominciato uno screening di tipo expandedtargeted screening pertanto è stato possibile effettuare un confronto con i dati relativi agli anni più recenti ed abbiamo deciso di analizzare i nati tra 2021 e 2023.

I nati vivi nel periodo analizzato sono stati 9792, tra questi la ricerca del CMV è stata svolta sui pazienti con madre avente sierologia positiva al CMV e ai pazienti con sintomi collegabili all'infezione, spesso ricoverati in TIN per questi motivi (bilirubina elevata, enzimi epatici elevati, basso peso per età gestazionale, microcefalia o macrocefalia, ...). I bambini venivano sottoposti a tampone salivare e, se risultati positivi veniva confermato l'esito con una ricerca del CMV DNA sulle urine o nel sangue.

In totale sono stati riscontrati 130 neonati analizzati, associati a sierologia positiva della madre o sintomi correlati al CMV (microcefalia, petecchie, TEOAE refer); tra questi allo screening uditivo 7 sono risultati refer, di questi tutti positivi alla ricerca di CMV. Tra i pass 10 sono risultati positivi alla ricerca di CMV DNA.

Al follow-up dieci bambini risultano attualmente privi di sequele (un refer, gli altri pass alla nascita); due hanno ritardo psicomotorio e del linguaggio isolati; due hanno ritardo psicomotorio e ipoacusia neurosensoriale monolaterale (una di grado moderato, l'altra severa); due con ipoacusia neurosensoria-

TAB 1

Programma per la valutazione clinico-laboratoristica-strumentale del bambino con infezione congenita da CMV.

	epoca neonatale	3 mesi	6 mesi	12 mesi	18 mesi	24 mesi	36 mesi	48 mesi	60 mesi	72 mesi
valutazione clinico-audiologica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
esami ematici*	X	X								
PCR-RT su sangue e urine	X	X								
ecografia cerebrale	X									
RMN cerebrale	X									
valutazione neurologica	X	X								
test di sviluppo psicomotorio			X	X	X	X	X	X	X	X
ABR	X	X	X	X	X					
esame audiometrico						X	X	X	X	X
Fundus oculi	X	X								
visita oculistica				X		X				X

Esami ematici*: emocromo con formula e piastrine, transaminasi, bilirubina totale e diretta, gamma GT, PT, PTT []; in corso di terapia antivirale con GCV o V-GCV monitorare ogni una-due settimane la crisi ematica e la funzionalità epatica e renale; la valutazione del carico virale su sangue e urine (PCR-RT) va eseguita prima di intraprendere la terapia, in un periodo intermedio e, alla sospensione della terapia.

Abbreviazioni: PCR-RT (Polymerase Chain Reaction - Real Time); RMN: Risonanza Magnetica Nucleare; ABR: Auditory Brainstem Response.

TAB 2



SPEDALI CIVILI DI BRESCIA
AZIENDA OSPEDALIERA
 Presidio OSPEDALE DEI BAMBINI
SSVD AUDIOLOGIA E FONIATRIA
 Responsabile
dr.ssa Maria Grazia Barezzani

INCONTRO CON DOTT. SSA VANIA SPINONI- PROTOCOLLO CMV CONNATALE- PREMATURITA'

Il confronto con il neonatologo ha portato a ufficializzare e rendere comune un protocollo interno sulla gestione- follow-up del paziente con positività CMV nati all'OC, basandoci sulle linee guida più riconosciute a livello internazionale.

CMV

PZ SINTOMATICO: al primo contatto TEAOE e AABR

PASS

↓

- ABR a 3 mesi
- ABR a 6 mesi
- ABR a 12 mesi
- Audiometria comportamentale a 24 mesi
- Audiometria comportamentale a 36 mesi
- follow-up audiologico 1 volta all'anno fino ai 6 anni

REFER

↓

presa in carico presso il ns Servizio

PZ ASINTOMATICO: al primo contatto TEAOE e AABR

PASS

↓

- ABR a 3 mesi
- ABR a 12 mesi
- Audiometria comportamentale a 24 mesi
- Audiometria comportamentale a 36 mesi
- follow-up audiologico 1 volta all'anno fino ai 6 anni

REFER

↓

presa in carico presso il ns Servizio

Entro i 6 mesi: rimedi azione protesica (se necessaria) nei casi bilaterali

le monolaterale isolata (uno di grado lieve, l'altro profonda); un bambino con ipoacusia neurosensoriale bilaterale, profonda a sinistra dove è stato posizionato un IC, e moderata a destra dove porta una protesi auricolare.

I bambini affetti da infezione congenita da CMV vengono sottoposti ad un programma

specifico per la valutazione clinico-laboratorio-strumentale che prevede diverse indagini dalla nascita ai 72 mesi, associata ad un programma di monitoraggio audiologico che prosegue fino ai 6 anni (Tab 1, Tab 2).

Confronto tra i risultati dei due studi

Ottobre 2015-maggio2017		2021-2023	
Nati: 5032		Nati:9792	
Sottoposti a test: tutti		Sottoposti a test: 130 (1,32%) analizzati	
26 (0,51%) positivi a CMV		17 (0,17%) positivi a cmv	
24 PASS 2 REFER		10 PASS 7 REFER	
SEGNI/SINTOMI ALLA NASCITA	SEQUELE AL FOLLOW UP	SEGNI/SINTOMI ALLA NASCITA	SEQUELE AL FOLLOW UP
14 bambini: non avevano segni fetali di infezione, ma due hanno sviluppato successivamente ipoacusia 4 bambini prematuri con basso peso alla nascita 1 microcefalico con danni cerebrali identificati alla RMN 1 bambina con lesione intravitrea 4 bambini presentavano cisti cerebrali 1 bambino con leukomalacia 1 bambina microcefalia e polimicrogiria con sviluppo di ritardo psicomotorio	2 hanno sviluppato ipoacusia successivamente 1 bambino ha sviluppato ritardo psicomotorio 23 asintomatici	7 bambini asintomatici 6 bambini: cisti cerebrali 1 cisti cerebrali e iperbilirubinemia 2 ipertransaminasemia 1 colestasi ed iperecogenicità vasi talamo striatali	10 bambini: asintomatici 2 bambini. hanno sviluppato ritardo di linguaggio e ritardo psicomotorio 2 hanno ritardo psicomotorio e ipoacusia neurosensoriale monolaterale 2 hanno ipoacusia neurosensoriale monolaterale isolata 1 ha ipoacusia neurosensoriale bilaterale (profonda a sinistra dove è stato posizionato IC e moderata a destra dove porta una protesi auricolare)

Discussione

Lo screening mirato risulta essere attualmente la modalità più diffusa ed in alcuni presidi ospedalieri è applicata principalmente solo ai bambini che non passano lo screening uditivo. Nel 2008 Stehel EK et al. ha dimostrato che cercare l'infezione da CMV in questa popolazione è importante e fattibile, in quanto il 6% dei neonati che hanno il risultato refer allo screening, sono affetti da infezione congenita di CMV ed il 75% di loro sono identificati esclusivamente sulla base dello screening uditivo.

Tuttavia, come ha evidenziato Fowler et al. (2017). nonostante lo screening target identi-

fichi molti neonati con ipoacusia neurosensoriale alla nascita, pecca nell'identificare circa il 43% dei neonati che sviluppano una perdita uditiva tardiva durante l'infanzia o nell'adolescenza. Un altro problema insorge in quanto nei neonati prematuri lo screening uditivo non può essere somministrato prima delle 34 settimane di gestazione, perciò l'interpretazione di un eventuale test di ricerca del CMV svolta successivamente, risulta dubbia. E' stato anche proposto di conservare dei campioni di prelievo di sangue che si raccolgono per i programmi di screening neonatale, ma la sensibilità risulta essere subottimale. Inoltre

non tutti i genitori acconsentono a trattenere i campioni di sangue per eseguire altre indagini (Choi KY 2009)

Uno studio target poi andrebbe sempre ampliato e dovrebbe sempre includere il test CMV in quei neonati che presentano segni clinici, di laboratorio o radiografici di infezione congenita da CMV, ad esempio SGA, epato-splenomegalia, trombocitopenia, calcificazioni periventricolari o vasculopatia lenticolare.

Inoltre, il 2-7% dei neonati nati da madri infettate con l'immunodeficienza umana hanno un'infezione congenita da CMV e quindi dovrebbero far parte pure loro di un programma di screening mirato. (Duryea EL 2010)

Il problema rimane legato al fatto che lo screening target non identifica quei neonati asintomatici alla nascita che sono a rischio di sviluppare problemi tardivi di perdita uditiva e di sviluppo neuromotorio.

Queste problematiche sono state individuate anche nel nostro campione, in quanto si può facilmente osservare che nello screening target solo lo 0,16% dei nati è stato riscontrato positivo al CMV, contro lo 0,41% dei neonati quando è stato svolto uno screening universale.

L'approccio alternativo è proprio lo screening universale di tutti i neonati (Barkai G 2014, Cannon MJ 2014). Questo approccio andrebbe ad evitare tutti i problemi associati allo screening target, , bisognerebbe definire una strategia di screening che possa andare ad individuare tutti i pazienti che non hanno particolari segni o sintomi della malattia. Circa il 90% dei bambini con CMV congenito, infatti, non hanno segni clinici della patologia nel periodo neonatale, ma mesi o anni dopo sviluppano ipoacusia neurosensoriale tardiva in circa il 15-20% dei casi. (Boppana SB 2013).

Nel 1968 la WHO (World health Organization) ha definito dei criteri per implementare lo screening di alcune patologie: se hanno un'elevata prevalenza, è disponibile uno screening adeguato, esistono delle terapie efficaci. L'infezione da CMV risponde a tutti questi criteri, pertanto sembra opportuno organizzare uno screening universale adeguato. In particolare il trattamento precoce della patologia in neonati con ipoacusia, risulta importante proprio perché i primi 12-24 mesi risultano essere un periodo critico per lo sviluppo del linguaggio e l'apprendimento.

Vi è la probabilità che l'inserimento di uno screening universale possa comportare ansia e disagio psicologico nei genitori. Tuttavia, sembra che sia però accettato dalla maggior parte dei genitori che preferiscono avere a disposizione l'informazione piuttosto che non sapere se il figlio possa avere delle conseguenze in futuro (Williams EJ, 2013).

Un altro dubbio riguardo lo screening universale riguarda i pazienti asintomatici con diagnosi di CMV congenito ed il loro trattamento. A meno che non abbiano anomalie legate all'infezione, infatti, pare opportuno non eseguire alcuna terapia, bensì avviarli a follow-up audiologico.

Sia lo screening universale che quello target sono stati dimostrati essere economicamente vantaggioso. (Bergevin A, 2015)

Lo screening universale offre un risparmio netto maggiore e la più grande opportunità di fornire cure mirate. Lo screening target sembra essere efficace da un punto di vista dei costi ma richiede il test per un numero inferiore di neonati, rischiando pertanto di non identificare un elevato numero di pazienti con infezione da CMV a rischio di sviluppare una perdita uditiva tardiva. Questi risultati suggeriscono che l'implementazione dei programmi di screening neonatale del CMV è giustificata. (Gantt S. 2016)

L'incremental cost-effectiveness ratios (ICERs) dello screening targetted e universale rispetto all'assenza di screening è pari a 79 \$ e 2087 \$ per quality-adjusted life-year guadagnati, rispettivamente. (Chen 2020)

La prevalenza del CMV, le sequele associate, la disponibilità del test salivare per lo screening, la terapia antivirale a disposizione e la disponibilità di tecniche di rimediazione in caso di ipoacusia, rendono giustificabile l'utilizzo di uno screening universale.

Limiti dello studio

Il confronto che abbiamo svolto tra i due tipi di screening effettuati in diversi periodi presso il nostro presidio ospedaliero, ci ha permesso di evidenziare i limiti di uno screening target expanded, in linea con la letteratura. Infatti, nonostante i neonati analizzati con questa metodica siano associati alle caratteristiche dell'infezione connatale del CMV, risultano pur sempre un campione limitato che

esclude tutti coloro che sono asintomatici i quali potrebbero però sviluppare sintomatologia in futuro, privandoli di un follow-up e di un'eventuale diagnosi precoce con rimediazione tempestiva.

Inoltre, essendo i parametri ed i requisiti da considerare per applicare il test molteplici e talvolta aspecifici, potrebbero a volte sfuggire dall'esecuzione del test di ricerca di CMV.

Al contrario, uno screening universale permette di non perdere alcun paziente potenzialmente positivo al CMV.

Conclusioni

il costo/beneficio reale dello screening per cmv congenito è stato oggetto di studio da parte degli epidemiologi e virologi lombardi (Barbi, 2006) e da parte degli epidemiologi di diversi paesi (Stati Uniti, Australia, Inghilterra) (Cannon 2014). I benefici di una diagnosi neonatale dell'infezione sono rappresentati dalla possibilità di offrire un trattamento antivirale in casi selezionati. Vi sono studi che documentano il miglioramento della soglia

uditiva dopo trattamento antivirale nelle prime settimane di vita (Kimberlin DW, 2024) e c'è addirittura chi ritiene che avvenga anche nelle sordità da CMV congenito "late onset" (Amir 2014)

La diagnosi in età neonatale dell'infezione congenita da CMV consente inoltre il follow-up mirato con diagnosi precoce e intervento riabilitativo precoce per le ipoacusie e le disabilità ad insorgenza successiva alla nascita (Barbi 2008; Cannon 2014). Dalla nostra analisi emerge che nel periodo in cui è stato effettuato uno screening universale è stato possibile identificare anche quei neonati, ben il 66,7 % degli affetti da infezione da CMV, senza associazione ad infezione materna o a caratteristiche fetali tipiche dell'infezione, o che avevano superato lo screening uditivo, a dimostrazione del fatto che in un expanded-targeted screening sarebbero stati persi.

Si spera pertanto che si possa andare incontro in futuro ad uno screening universale approvato e condiviso dalla società scientifica, possibilmente da affiancare allo screening uditivo già in essere secondo i LEA.

Bibliografia

- Salomè S, Corrado FR, Mazzarelli LL, Maruotti GM, Capasso L, Blazquez-Gamero D, Raimondi F. Congenital cytomegalovirus infection: the state of the art and future perspectives. *Front Pediatr.* 2023 Nov 16;11:1276912. doi: 10.3389/fped.2023.1276912. PMID: 38034830; PMCID: PMC10687293.
- Leruez-Ville M, Chatzakis C, Lilleri D, Blazquez-Gamero D, Alarcon A, Bourgon N, Foulon I, Fourgeaud J, Gonce A, Jones CE, Klapper P, Krom A, Lazzarotto T, Lyall H, Paixao P, Papaevangelou V, Puchhammer E, Sourvinos G, Valley P, Ville Y, Vossen A. Consensus recommendation for prenatal, neonatal and postnatal management of congenital cytomegalovirus infection from the European congenital infection initiative (ECCI). *Lancet Reg Health Eur.* 2024 Apr 1;40:100892. doi: 10.1016/j.lanepe.2024.100892. PMID: 38590940; PMCID: PMC10999471.
- Grosse SD, Ross DS, Dollard SC. Congenital cytomegalovirus (CMV) infection as a cause of permanent bilateral hearing loss: a quantitative assessment. *J Clin Virol.* 2008 Feb;41(2):57-62. doi: 10.1016/j.jcv.2007.09.004. Epub 2007 Oct 24. PMID: 17959414.
- www.iss.it/linee-guida1
- Dollard SC, Dreon M, Hernandez-Alvarado N, Amin MM, Wong P, Lanzieri TM, Osterholm EA, Sidebottom A, Rosendahl S, McCann MT, Schleiss MR. Sensitivity of Dried Blood Spot Testing for Detection of Congenital Cytomegalovirus Infection. *JAMA Pediatr.* 2021 Mar 1;175(3):e205441. doi: 10.1001/jamapediatrics.2020.5441. Epub 2021 Mar 1. PMID: 33523119; PMCID: PMC7851756.
- Gant S, Dionne F, Kozak FK, Goshen O, Goldfarb DM, Park AH, Boppana SB, Fowler K. Cost-effectiveness of Universal and Targeted Newborn Screening for Congenital Cytomegalovirus Infection. *JAMA Pediatr.* 2016 Dec 1;170(12):1173-1180. doi: 10.1001/jamapediatrics.2016.2016. PMID: 27723885.

- Chen K, Zhong Y, Gu Y, Sharma R, Li M, Zhou J, Wu Y, Gao Y, Qin G. Estimated Cost-effectiveness of Newborn Screening for Congenital Cytomegalovirus Infection in China Using a Markov Model. *JAMA Netw Open*. 2020 Dec 1;3(12):e2023949. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.23949. PMID: 33275150; PMCID: PMC7718603.
- Kimberlin DW, Aban I, Peri K, Nishikawa JK, Bernatoniene J, Emonts M, Klein N, Bamford A, DeBiasi RL, Faust SN, Jones CE, McMaster P, Caserta M, Ahmed A, Sharland M, Demmler-Harrison G, Hackett S, Sánchez PJ, Shackley F, Kelly D, Dennehy PH, Storch GA, Whitley RJ, Griffiths P; Collaborative Antiviral Study Group (CASG). Oral Valganciclovir Initiated Beyond 1 Month of Age as Treatment of Sensorineural Hearing Loss Caused by Congenital Cytomegalovirus Infection: A Randomized Clinical Trial. *J Pediatr*. 2024 May;268:113934. doi: 10.1016/j.jpeds.2024.113934. Epub 2024 Feb 2. PMID: 38309519.
- Cannon MJ, Griffiths PD, Aston V, Rawlinson WD. Universal newborn screening for congenital CMV infection: what is the evidence of potential benefit? *Rev Med Virol*. 2014 Sep;24(5):291-307. doi: 10.1002/rmv.1790. Epub 2014 Apr 24. PMID: 24760655; PMCID: PMC4494732.
- Amir J, Attias J, Pardo J. Treatment of late-onset hearing loss in infants with congenital cytomegalovirus infection. *Clin Pediatr (Phila)*. 2014 May;53(5):444-8. doi: 10.1177/0009922813510204. Epub 2013 Nov 25. PMID: 24275215.
- Barbi M, Binda S, Caroppo S, Primache V. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection and hearing loss. *J Clin Virol*. 2006 Feb;35(2):206-9. doi: 10.1016/j.jcv.2005.08.010. Epub 2005 Dec 27. PMID: 16384745.
- Stehel EK, Shoup AG, Owen KE, Jackson GL, Sendelbach DM, Boney LF, Sánchez PJ. Newborn hearing screening and detection of congenital cytomegalovirus infection. *Pediatrics*. 2008 May;121(5):970-5. doi: 10.1542/peds.2006-3441. PMID: 18450901.
- Fowler KB, McCollister FP, Sabo DL, Shoup AG, Owen KE, Woodruff JL, Cox E, Mohamed LS, Choo DI, Boppana SB; CHIMES Study. A Targeted Approach for Congenital Cytomegalovirus Screening Within Newborn Hearing Screening. *Pediatrics*. 2017 Feb;139(2):e20162128. doi: 10.1542/peds.2016-2128. Epub 2017 Jan 3. PMID: 28049114; PMCID: PMC5260148.
- Choi KY, Schimmenti LA, Jurek AM, Sharon B, Daly K, Khan C, McCann M, Schleiss MR. Detection of cytomegalovirus DNA in dried blood spots of Minnesota infants who do not pass newborn hearing screening. *Pediatr Infect Dis J*. 2009 Dec;28(12):1095-8. doi: 10.1097/INF.0b013e3181af6230. PMID: 19820425.
- Duryea EL, Sánchez PJ, Sheffield JS, Jackson GL, Wendel GD, McElwee BS, Boney LF, Mallory MM, Owen KE, Stehel EK. Maternal human immunodeficiency virus infection and congenital transmission of cytomegalovirus. *Pediatr Infect Dis J*. 2010 Oct;29(10):915-8. doi: 10.1097/INF.0b013e3181e0ce05. PMID: 20431424.
- Barkai G, Ari-Even Roth D, Barzilai A, Tepperberg-Oikawa M, Mendelson E, Hildesheimer M, Kuint J. Universal neonatal cytomegalovirus screening using saliva - report of clinical experience. *J Clin Virol*. 2014 Aug;60(4):361-6. doi: 10.1016/j.jcv.2014.04.024. Epub 2014 May 9. PMID: 24881490.
- Cannon MJ, Griffiths PD, Aston V, Rawlinson WD. Universal newborn screening for congenital CMV infection: what is the evidence of potential benefit? *Rev Med Virol*. 2014 Sep;24(5):291-307. doi: 10.1002/rmv.1790. Epub 2014 Apr 24. PMID: 24760655; PMCID: PMC4494732.
- Boppana SB, Ross SA, Fowler KB. Congenital cytomegalovirus infection: clinical outcome. *Clin Infect Dis*. 2013 Dec;57Suppl 4(Suppl 4):S178-81. doi: 10.1093/cid/cit629. PMID: 24257422; PMCID: PMC4471438.
- Williams EJ, Kadambari S, Berrington JE, Luck S, Atkinson C, Walter S, Embleton ND, James P, Griffiths P, Davis A, Sharland M, Clark JE. Feasibility and acceptability of targeted screening for congenital CMV-related hearing loss. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2014 May;99(3):F230-6. doi: 10.1136/archdischild-2013-305276. Epub 2014 Mar 4. PMID: 24596404.
- Bergevin A, Zick CD, McVicar SB, Park AH. Cost-benefit analysis of targeted hearing directed early testing for congenital cytomegalovirus infection. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2015 Dec;79(12):2090-3. doi: 10.1016/j.ijporl.2015.09.019. Epub 2015 Sep 25. PMID: 26432541.