

# L'infezione congenita da CMV: follow-up a lungo termine in bambini con diagnosi precoce tramite screening neonatale.

Francesca Forli<sup>1</sup>, Francesco Lazzerini<sup>1</sup>, Stefano Berrettini<sup>1</sup>, Luca Bruschini<sup>1</sup>, Davide Bernacca<sup>1</sup>, Francesca Lorenzoni<sup>2</sup>, Simona Fiori<sup>3,4</sup>, Silvia Capobianco<sup>1</sup>

U.O. Otorinolaringoiatria, Audiologia e Foniatria, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana (AOUP), Pisa

U.O. Neonatologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana (AOUP), Pisa

Dipartimento di Neuroscienze dello Sviluppo, IRCSS Fondazione Stella Maris, Pisa

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa, Pisa

## Abstract:

**Obiettivi:** L'infezione congenita da Citomegalovirus (cCMV) può causare sequele a lungo termine di tipo neurocognitivo, uditivo e visivo. Questo studio descrive le sequele cliniche a lungo termine e anomalie neuroradiologiche in bambini identificati tramite screening neonatale per infezione congenita da citomegalovirus (cCMV) e seguiti per almeno 2 anni presso un Centro Audiologico di III Livello. **Metodi:** Sono stati raccolti dati audiologici neonatali e di follow-up, valutazioni cliniche e virologiche alla nascita, anomalie oftalmologiche, neuropsichiatriche e neuroradiologiche compatibili con cCMV. Il coefficiente di correlazione di Spearman ( $\rho$ ) è stato utilizzato per valutare correlazioni tra i parametri. **Risultati:** 61 neonati affetti da cCMV sono stati identificati tramite screening neonatale per cCMV, con diagnosi confermata principalmente tramite PCR su urine raccolte entro il 15° giorno di vita. 17 bambini erano prematuri (media: 33,5 settimane). 16 pazienti (26,2%) sono stati ricoverati in terapia intensiva neonatale. Tra i 35 neonati (57,3%) sintomatici, 19 hanno ricevuto terapia antivirale. 20 bambini presentavano ipoacusia neurosensoriale, di questi l'85% è risultato Refer allo screening audiologico neonatale, mentre il 15% Pass. 5/20 bambini (25%) presentavano ipoacusia isolata, mentre 15/20 (75%) in associazione ad altre sequele. In 5/20 pazienti (25%) è stata osservata una progressione della soglia uditiva. 13/20 bambini hanno ricevuto protesi acustiche, tra questi 8 sono stati successivamente sottoposti a impianto cocleare. 24 pazienti (34,3%) presentavano anomalie neurocognitive e 10 (17%) anomalie oftalmologiche. 30 bambini sono stati sottoposti a risonanza magnetica, che mostrava anomalie compatibili con cCMV nel 63,3% dei casi. **Conclusioni:** Questo studio evidenzia le conseguenze a lungo termine del cCMV in bambini identificati precocemente, sottolineando l'importanza di una diagnosi precoce e di un follow-up multidisciplinare.

**Parole Chiave:** citomegalovirus congenito, ipoacusia, screening neonatale universale, gravidanza

## Abstract (in English):

**Objectives:** Congenital cytomegalovirus infection (cCMV) can cause long-term neurocognitive, auditory, and visual sequelae. This study describes the long-term clinical sequelae and neuroradiological abnormalities in children identified through neonatal screening for congenital cytomegalovirus (cCMV) infection and followed for at least 2 years at a Tertiary Level Audiology Center. **Methods:** Neonatal and follow-up audiological data, clinical and virological assessments at birth, and ophthalmological, neuropsychiatric, and neuroradiological abnormalities compatible with cCMV were collected. Spearman's correlation coefficient ( $\rho$ ) was used to assess correlations between parameters. **Results:** 61 neonates with cCMV were identified through neonatal screening for cCMV, with diagnosis primarily confirmed by PCR on urine collected within the first 15 days of life. 17 children were premature (average: 33.5 weeks). 16 patients (26.2%) were admitted to the neonatal intensive care unit. Among the 35 symptomatic neonates (57.3%), 19 received antiviral therapy. 20 children presented with sensorineural hearing loss, of which 85% were referred after neonatal hearing screening, while 15% received Pass results at the neonatal hearing screening. 5/20 children (25%) had isolated hearing loss, while 15/20 (75%) had it in association with other sequelae. In 5/20 patients (25%), progression of the hearing threshold was observed. 13/20 children received hearing aids, and of these, 8 subsequently underwent cochlear implantation. 24 patients (34.3%) had neurocognitive abnormalities, and 10 (17%) had ophthalmological abnormalities. 30 children underwent magnetic resonance imaging, which showed abnormalities compatible with cCMV in 63.3% of cases. **Conclusions:** This study highlights the long-term sequelae of cCMV in children identified early, emphasizing the importance of early diagnosis and multidisciplinary follow-up.

**Keywords:** congenital cytomegalovirus, hearing loss, universal neonatal screening, pregnancy

## Introduzione

Il citomegalovirus (CMV) o Human Herpesvirus 5 è un virus a DNA a doppio filamento che appartiene alla famiglia dei beta-herpesviridae, con una sieroprevalenza mondiale negli adulti compresa tra il 45% e il 90% (Cannon et al., 2010). Viene trasmesso in senso orizzontale (da un individuo all'altro) attraverso il contatto diretto con fluidi corporei come urina, saliva, sperma, secrezioni vaginali e cervicali, lacrime o sangue, o in senso verticale (da madre a figlio) tramite infezione virale transplacentare (congenita), durante la nascita o attraverso il latte materno (infezione postnatale) (Pass et al., 2014). L'infezione da Citomegalovirus Congenito (cCMV) è l'infezione congenita più frequente a livello mondiale, colpendo in Italia tra lo 0.57 e l'1% di tutti i neonati nati vivi (Barbi et al., 2006; EpiCentro CMV ISS), un'incidenza in linea con quella di altri paesi postindustriali (Kabani et al., 2020; Cannon et al., 2014).

Il rischio di trasmissione del CMV dalla madre al feto dipende da vari fattori, tra cui lo stato sierologico materno, l'età materna e la presenza di un'infezione materna primaria o di una riattivazione durante la gravidanza (Dollard et al., 2007). Le infezioni primarie nella madre durante la gravidanza pongono un rischio maggiore di trasmissione al feto (40%) rispetto alla riattivazione o alla reinfezione (1%), ma probabilmente non un impatto clinico più severo sul neonato una volta che l'infezione fetale si è stabilita (Giannattasio et al., 2017; Kobas 2018). Inoltre, una minore età materna e l'esposizione ad bambini piccoli aumentano la probabilità di contrarre il virus durante la gravidanza (Boppana et al., 2010). Una volta che l'infezione è avvenuta, il CMV può esercitare un'azione dannosa sullo sviluppo fetale sia direttamente, tramite un effetto teratogeno soprattutto a carico del sistema nervoso centrale (Cheeran et al., 2009), sia indirettamente, interferendo con la differenziazione placentare (Pereira et al., 2013). La gravità clinica dell'infezione è stata riportata come massima se la trasmissione materno-fetale avviene nel primo trimestre di gravidanza (Enders et al., 2011).

Alla nascita, l'infezione può essere sintomatica (10%) o asintomatica (90%), ma entrambi gli scenari presentano il rischio di sviluppo di

sequele a lungo termine (50% dei neonati sintomatici e 8-15% degli asintomatici) (Rawlinson et al., 2017; Dollard et al., 2007), che colpiscono principalmente il sistema nervoso centrale (CNS) con problematiche audio-vestibolari, oftalmiche e neurocognitive.

Il cCMV è la principale causa di ipoacusia neurosensoriale (SNHL) infantile di origine non genetica, riportata nel 22-65% dei neonati sintomatici con cCMV, che hanno 6 volte più probabilità di sviluppare SNHL rispetto ai bambini positivi ma asintomatici alla nascita (Dreher et al., 2014; Fowler et al., 2006; Rosenthal et al., 2009). Uno studio trasversale recente su 1033 pazienti con cCMV (De Cuyper et al., 2023) ha descritto 3 fattori di rischio indipendenti per la SNHL congenita: petecchie alla nascita, cisti periventricolari alla risonanza magnetica e sieroconversione nel primo trimestre. La SNHL nel cCMV presenta una vasta gamma di manifestazioni cliniche in termini di gravità (da ipoacusia di grado lieve a grave-profondo), lateralità (unilaterale o bilaterale), insorgenza (presente alla nascita o manifestata nei primi anni di vita), progressione e fluttuazioni della soglia uditiva. La SNHL presenta un'insorgenza ritardata in circa il 21% dei bambini, con un'età media di presentazione di 33 e 44 mesi rispettivamente per i neonati sintomatici e asintomatici (Marsico et al., 2017). I fattori di rischio per lo sviluppo di SNHL associata al cCMV a insorgenza tardiva includono un'età gestazionale <37 settimane, un peso alla nascita <2500 g e una presentazione alla nascita del cCMV clinicamente grave (Wu et al., 2022). L'ipoacusia associata a cCMV è stata descritta come progressiva nel 33-50% dei casi, con un'età media di progressione di 18 mesi e un rischio aumentato per i bambini con un'insorgenza precoce dell'ipoacusia (Fowler et al., 1997; Lanzieri et al., 2017). Inoltre, il 30% dei bambini con SNHL, più frequentemente quelli asintomatici alla nascita, può mostrare fluttuazioni della soglia uditiva e talvolta anche un miglioramento dei sintomi uditivi (Goderis et al., 2014; Aldè et al., 2023). La diagnosi e il trattamento precoce dei deficit uditivi è di fondamentale importanza per supportare un corretto sviluppo della comunicazione e del linguaggio, potenzialmente mitigando o evitando difficoltà accademiche

e sociali (Lopez et al., 2017). Considerando la possibilità di un'insorgenza tardiva e/o di una progressione dell'ipoacusia associata al cCMV e che il 2% dei bambini con cCMV asintomatico alla nascita soddisferà i criteri per l'impianto cocleare entro i 5 anni di età (Lanzieri et al., 2017), è importante includere i pazienti con cCMV in programmi di follow-up audiologico a lungo termine (Rawlinson et al., 2017).

Le anomalie neuroevolutive nel cCMV possono influenzare lo sviluppo motorio, comportamentale, cognitivo e linguistico dei bambini affetti, e possono avere un impatto sostanziale a lungo termine. Poiché l'intero spettro delle difficoltà cognitive potrebbe non essere evidente fino all'età di 5-7 anni, è consigliabile valutare i bambini in un follow-up più lungo rispetto a quanto riportato nella maggior parte degli studi clinici (Townsend et al., 2013). Il cCMV sintomatico alla nascita, la microcefalia e le calcificazioni cerebrali moderate-severe sono stati segnalati come predittori indipendenti per anomalie neuroevolutive nel cCMV (Kettler et al., 2023). È stato riportato come il 38% dei bambini con cCMV sintomatico presenti un QI inferiore a 70 (Dreher et al., 2014). In un recente studio su 141 bambini con cCMV (Aldè et al., 2023), il 34% presentava un ritardo del linguaggio, il 12.8% un ritardo motorio, l'11.3% un disturbo dell'equilibrio e il 4.3% un ritardo cognitivo. Analogamente, in uno studio che ha seguito 76 pazienti con cCMV per una durata media di 13 anni, Giannattasio e colleghi hanno riportato la diagnosi di disabilità intellettiva nel 43% dei pazienti, spesso in concomitanza di un deficit visivo e/o uditivo (Giannattasio et al., 2017).

Le sequele oftalmiche, tra cui corioretinite, atrofia del nervo ottico e anomalie corticali (Ghekiere et al., 2012), sono state riportate nel 21% dei bambini con cCMV (Lanzieri et al., 2017). Come per i sintomi uditivi, anche le sequele oftalmiche a lungo termine dovrebbero essere valutate periodicamente tramite visite di follow-up oftalmologico (Ghekiere et al., 2012; Coats et al., 2000).

Attualmente non esistono linee guida riguardanti il follow-up a lungo termine dei bambini con cCMV. Tuttavia, le raccomandazioni pubblicate nel 2017 su *The Lancet* da Rawlinson e colleghi (Rawlinson et al., 2017) e riportate più recentemente da Pinniti e Boppana (Pinniti e Boppana, 2023) raccomandano fortemen-

te un follow-up audiologico, oftalmologico e neuroevolutivo nei bambini con cCMV. In particolare dal punto di vista audiologico, è raccomandabile una valutazione ogni 6 mesi per i primi 3 anni di vita e annualmente dai 3 anni fino all'adolescenza (10-19 anni). Un esame oftalmologico dovrebbe essere eseguito precocemente, con visite di follow-up sulla base del quadro clinico. Inoltre, in alcuni bambini, soprattutto con cCMV sintomatico, le valutazioni del neurosviluppo dovrebbero essere eseguite e definite caso per caso.

In considerazione dell'elevata prevalenza del CMV nella popolazione adulta, del tasso sostanziale di infezione congenita e dell'impatto clinico e sociale della malattia dovuto alle sequele a lungo termine, è consigliabile un'identificazione precoce dei neonati affetti tramite un protocollo di screening, con l'obiettivo di differenziare tra cCMV congenito e acquisito e di garantire interventi riabilitativi e terapeutici appropriati e tempestivi. La regione Toscana ha sviluppato dal 2008 un protocollo di screening neonatale "hearing-targeted" obbligatorio per il cCMV, per i neonati che risultano Refer allo screening audiologico neonatale (Ghirri et al., 2011). Questo è, a nostra conoscenza, il primo protocollo di screening per il cCMV pubblicato su riviste internazionali. Presso l'Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana il protocollo di screening è stato esteso dal 2012 ad alcune categorie di neonati a rischio per cCMV, inclusi neonati pretermine, piccoli per l'età gestazionale (Small for Gestational Age, SGA), sintomatici e neonati nati da madri infette (Berrettini et al., 2017; Forli 2021).

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare le sequele audiologiche, oftalmologiche e neurocognitive a lungo termine nei bambini con cCMV seguiti per almeno 2 anni in un Centro Audiologico di III livello e identificati precocemente tramite screening neonatale "extended hearing-targeted" per il cCMV.

## Materiali and Metodi

### Protocollo

Questo studio osservazionale retrospettivo ha considerato bambini nati tra il 2007 e il 2021, che hanno ricevuto una diagnosi di cCMV alla nascita grazie al protocollo di

screening della Regione Toscana (Berrettini et al., 2017) e che sono stati valutati tramite follow-up in un centro di riferimento audiologico di III livello per almeno 2 anni. I neonati sono stati sottoposti a test diagnostici per il cCMV nel caso in cui avessero ottenuto un risultato refer al protocollo di screening uditivo tramite otoemissioni (TEOAE) (Berrettini et al., 2017), oppure qualora la presentazione clinica suggerisse un'infezione da cCMV, oppure (solo per i bambini ricoverati presso l'Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana) nel caso in cui fossero presenti fattori di rischio associati al cCMV (prematurità, madri cCMV+, neonati SGA) (Forli et al., 2021). La diagnosi di cCMV nel periodo prenatale è stata confermata tramite analisi PCR del DNA virale su liquido amniotico prelevato tramite amniocentesi, e nel periodo postnatale tramite analisi PCR del DNA virale su urine raccolte entro il 15° giorno di vita, o retrospettivamente su Dried Blood Spot su carte Guthrie in 6 bambini che presentavano una storia clinica neonatale e postnatale fortemente indicativa di cCMV.

Sia i bambini asintomatici che sintomatici alla nascita sono stati sottoposti a valutazioni audiologiche di follow-up ogni 6 mesi fino all'età di 3 anni, e annuali dai 3 ai 6 anni di età. Le valutazioni audiologiche includevano otomicroscopia, impedenzometria, potenziali uditivi evocati da clic (ABR) e, quando possibile, esame audiometrico condizionato. Tutti i bambini con diagnosi otite media effusiva (OME) (diagnosticata tramite timpanometria e otomicroscopia) sono stati rivalutati dopo adeguata terapia medica. Durante gli ABR, i click sono stati presentati a una velocità di 21.1/sec con un livello massimo di stimolazione di 95 dB SPL. L'esame audiometrico condizionato, che stima le soglie uditive per frequenze tra 250 e 4000 Hz, è stato eseguito su bambini di età superiore a 6 mesi che dimostravano sufficienti livelli di collaborazione e abilità neurocognitive adeguate. La perdita uditiva è stata classificata come lieve (soglie uditive tra 21 e 40 dB), moderata (41-70 dB), grave (71-90 dB) e profonda (>91 dB) (Kimberlin et al., 2015). La perdita uditiva è stata considerata neurosensoriale se la differenza tra via aerea e via ossea era inferiore a 10 dB. Una progressione della perdita uditiva è stata definita come un peggioramento della soglia uditiva di 10 o più dB misurata in successive

valutazioni, non attribuibile a una patologia dell'orecchio medio (Salomè et al., 2020). I bambini che sono stati sottoposti a impianto cocleare sono stati valutati pre- e post-IC anche tramite le Categories of Auditory Perception (CAP) (Archbold et al., 1995), le Nottingham Auditory Milestones (NAMES) (Datta et al., 2010), e i livelli comunicativi di Bates (Bates et al., 1987)

Il follow-up includeva inoltre valutazioni oftalmologiche e neuropsichiatriche infantili. Per i pazienti nati presso l'Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, una valutazione oftalmologica è stata eseguita nei pazienti con cCMV alla nascita, e poi a 3, 12 e 24 mesi di vita. Successivamente è stata ripetuta ogni due anni fino all'età di 6 anni. Le valutazioni oftalmologiche includevano l'esame oculare esterno, l'oftalmoscopia indiretta e la misurazione dell'acuità visiva corretta (punteggio di Snellen) nei bambini più grandi o valutazione del comportamento di fissazione nei bambini non verbali e preverbalmente. Le anomalie oftalmiche riscontrate includevano corioretinite, atrofia del nervo ottico, strabismo (inclusi esotropia o exotropia), nistagmo, ambliopia o astigmatismo.

Solo per i pazienti nati a Pisa (n=21), l'imaging cerebrale è stato acquisito durante il sonno naturale nel periodo perinatale, e lo sviluppo neuroevolutivo è stato valutato periodicamente da neonatologi e neurologi infantili in un programma di follow-up dedicato per pazienti ad alto rischio (Novak et al., 2017). Questo programma di follow-up include una valutazione neurologica e dei movimenti generali a 3 mesi (Crowle et al., 2023), una valutazione neurologica a 6 mesi (Uusitalo et al., 2021), e una valutazione neuroevolutiva a dodici mesi di età utilizzando la scala Bayley III (Novelli et al., 2022). In particolare, le anomalie neuroevolutive sono state raggruppate in quattro categorie come segue: a) disturbi neuromotori specifici, come paralisi cerebrale infantile o disturbi della coordinazione dello sviluppo; b) anomalie comportamentali, inclusi disturbo da deficit di attenzione e iperattività e disturbo dello spettro autistico; c) anomalie intellettive, inclusi ritardo globale o disabilità intellettiva documentata; d) epilessia; e) disturbi del linguaggio. Inoltre, sono stati raccolti dati sui programmi di riabilitazione seguiti dai pazienti nel corso degli

anni, specificando la tipologia di riabilitazione tra logopedia, fisioterapia, riabilitazione psicomotoria o pedagogica. Mentre logopedia e fisioterapia sono interventi specifici rispettivamente per il ritardo/disturbo del linguaggio o motorio, la riabilitazione psicomotoria è un approccio evolutivo per il ritardo globale/per la disabilità intellettiva, mentre la riabilitazione pedagogica è fornita per difficoltà scolastiche nella scuola primaria.

Per i bambini con cCMV non nati a Pisa, le informazioni sugli esitineuroevolutivi ed oftalmologici sono stati raccolti ai fini di questo studio utilizzando dati estratti da un'intervista clinica semi-strutturata durante gli appuntamenti di follow-up audiologico.

30 bambini inclusi in questo studio sono stati sottoposti anche a valutazione di imaging tramite risonanza magnetica (MRI) del cervello e del tronco encefalico. Le immagini cerebrali sono state riviste e classificate come negative o positive per reperti compatibili con cCMV. In quest'ultimo gruppo sono state incluse le anomalie della sostanza bianca, i disturbi della migrazione neuronale come schizencefalia, pachigia, lissencefalia, polimicrogria o displasia corticale, ipoplasia cerebellare, calcificazioni periventricolari e ventricolomegalia (Fink et al., 2010).

La Tabella 1 descrive le variabili considerate per i pazienti inclusi nello studio.

**Tabella 1. Variabili considerate nella popolazione inclusa nello studio.** SGA: Small for Gestational Age (piccolo per età gestazionale); IUGR: Intra-Uterine Growth Retardation (ritardo di crescita intrauterina); cCMV: Citomegalovirus congenito; TEOAE: Transitory Evoked Otoacoustic Emission; AABR: Automatic Auditory Brainstem Response (potenziali evocati uditivi automatici); ABR: Auditory Brainstem Response (potenziali evocati uditivi)

<p><b>Caratteristiche demografiche</b> Sesso Luogo e data di nascita</p>
<p><b>Caratteristiche neonatali</b> Età gestazionale alla nascita Peso alla nascita SGA, IUGR Ricovero in Terapia Intensiva Neonatale (TIN) o Sub-Intensiva</p>
<p><b>Aspetti virologici</b> Tecnica di diagnosi di infezione da cCMV Carica virale Trattamenti antivirali somministrati nel primo mese di vita</p>
<p><b>Valutazione audiologica</b> Esito dello screening audiologico neonatale (TEOAE ± AABR) Durata del follow-up audiologico Pazienti lost-to-follow-up Soglia uditiva misurata all'ultimo follow-up audiologico, tramite ABR o esame audiometrico condizionato Tipo e severità dell'ipoacusia Progressione della perdita uditiva con soglia di partenza e soglia finale Età di progressione dell'ipoacusia Utilizzo di protesi acustiche e/o impianto cocleare Risultati audiologici dei bambini sottoposti a impianto cocleare</p>
<p><b>Valutazione neuropsichiatrica infantile</b> Specifici disordini neuromotori, come paralisi cerebrale infantile o disordini dello sviluppo motorio Anomalie della comunicazione e dell'attenzione, inclusi disturbi dello spettro autistico e disturbi da deficit dell'attenzione/iperattività Anomalie intellettive, incluso ritardo globale o disabilità intellettiva documentata Epilessia Disturbi del linguaggio</p>

**Valutazione oftalmologica**

Presenza di anomalie come miopia, astigmatismo, ipermetropia, strabismo, anomalie retiniche

**Valutazione radiologica**

Presenza di anomalie all'imaging compatibili con cCMV: anomalie della sostanza bianca: anomalie della sostanza bianca, i disturbi della migrazione neuronale come schizencefalia, pachigiria, lissencefalia, polimicrogria o displasia corticale, ipoplasia cerebellare, calcificazioni periventricolari e ventricolomegalia

**Riabilitazione**

Necessità e tipo di approccio riabilitativo: logopedia, psicomotricità, fisioterapia, pedagogico

**Analisi statistica**

Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando il software SPSS versione 23.0 per Windows (SPSS Inc. Chicago, 2017). Le variabili categoriche sono state espresse come percentuali, mentre le variabili continue sono state espresse come medie e deviazioni standard (SD). Il coefficiente di correlazione di Spearman ( $\rho$ -p) è stato utilizzato per valutare possibili correlazioni tra i parametri considerati, utilizzando come variabili indipendenti: carica virale, somministrazione di trattamenti antivirali, sintomi alla nascita, se il neonato era SGA (Small for Gestational Age) o presentava ritardo della crescita intrauterina (IUGR), il ricovero in un'unità di terapia intensiva neonatale (TIN), e le anomalie alla risonanza magnetica. I risultati con un valore  $p < 0.5$  sono stati considerati statisticamente significativi.

**Risultati****Valutazione clinica e strumentale alla nascita**

Durante il periodo di reclutamento (2007-2021), 61 neonati (36 F; 25 M) hanno ricevuto diagnosi di infezione da cCMV. La maggior parte dei pazienti (54) è nata in Toscana e tra questi 21 pazienti sono nati a Pisa e sono stati identificati nell'ambito del protocollo di screening audiologico neonatale esteso per il cCMV. Tra il 2012 e il 2021, 19 597 neonati sono stati sottoposti a screening uditivo neonatale presso l'Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, e 2 898 sono stati sottoposti a test per il cCMV mediante PCR su urine raccolte

entro i primi 15 giorni di vita, identificando 29 bambini cCMV+ (1% dei neonati sottoposti a screening per cCMV e 0,14% di tutti i neonati testati tramite il protocollo di screening uditivo neonatale). In questo studio, tutti i pazienti arruolati hanno effettuato un follow-up audiologico per almeno 2 anni, con un tempo medio di follow-up di 54 mesi (intervallo: 24-169 mesi).

51 neonati (83,6% del campione totale) hanno ricevuto diagnosi di cCMV tramite PCR del DNA virale su urine raccolte entro i primi 15 giorni di vita, 1 (1,6%) tramite PCR del DNA virale su Dried Blood Spot (DBS), 3 (4,9%) hanno ricevuto diagnosi prenatale tramite PCR del DNA virale su liquido amniotico raccolto tramite amniocentesi, e 6 bambini (9,8%) con segni e sintomi suggestivi di infezione da cCMV sono stati sottoposti a PCR del DNA virale su urine raccolte dopo il 15° giorno di vita, e successivamente la diagnosi è stata confermata tramite PCR su DBS. La carica virale media nei campioni di urina è stata riportata in 35/61 pazienti (57,3%) con un valore medio di 3.436.899,82 copie/mL (499-10 000 000). 17 neonati sono nati pretermine, con un'età gestazionale media di 33,5 settimane. 16 pazienti (26,2%) sono stati ricoverati in un'Unità di Terapia Intensiva o sub-Intensiva Neonatale. Alla nascita, 35 neonati erano sintomatici (57,3%) (Tabella 2). In 19 neonati sintomatici (31,1%) è stata somministrata terapia antivirale tramite valganciclovir orale in 16 (84,2%) pazienti, in ganciclovir in 1 (5,2%) paziente, mentre in due pazienti (10,55%) la somministrazione di ganciclovir è stata seguita da valganciclovir orale.

**Tabella 2. Sintomi presenti alla nascita in 35/61 neonati.** SGA: Small for Gestational Age (piccolo per l'età gestazionale); IUGR: Intra-Uterine Growth Retardation (ritardo di crescita intrauterina)

Sintomi	N° bambini	% tra i neonati asintomatici (n=35)
<b>Esame obiettivo</b>		
Icttero neonatale	28	80.0%
Distress respiratorio	13	37.1%
SGA	6	17.1%
SGA	5	14.3%
SGA + IUGR	1	2.8%
IUGR	2	5.7%
Epatosplenomegalia	2	5.7%
Emorragia intraventricolare	2	5.7%
Micropetecchie	1	2.8%
<b>Esame obiettivo neurologico</b>		
Ipotonia	1	2.8%
Anomalie generiche del movimento	1	2.8%
<b>Esami ematici</b>		
Anemia	4	11.4%
Neutropenia isolata	1	2.8%
Piastrinopenia	1	2.8%

## Sequela audilogiche

Complessivamente, 20 dei 61 bambini con diagnosi di cCMV (32,7%) inclusi in questa coorte hanno sviluppato ipoacusia, di cui il 50% presentava segni e sintomi compatibili con cCMV alla nascita, mentre i restanti erano asintomatici (Figura 1). Allo screening audiologico neonatale mediante otoemissioni (TEOAE), seguito in alcuni casi da ABR automatici (AABR) secondo le Linee Guida della Regione Toscana (Berrettini et al., 2017), 39 neonati con cCMV (63,9%) hanno ottenuto risultato Pass bilateralmente, 8 (13,1%) hanno ricevuto un risultato Refer unilateralmente, e 14 (23,0%) Refer bilateralmente. Tra i 20 bambini con SNHL, 17 (85%) sono risultati Refer allo screening, e 12 (60%) di questi sono stati sottoposti sia a TEOAE che a AABR. Al contrario, 3 neonati che hanno poi sviluppato ipoacusia (15%) hanno superato lo screening audiologico, che è stato condotto solo con TEOAE in 2 pazienti e con TEOAE+AABR in un bambino.

Per i 3 pazienti con SNHL che hanno superato lo screening audiologico neonatale, uno è stato testato perché sintomatico alla nascita, con evidenza all'imaging di ventricolomegalia risultato da una probabile encefalopatia emorragica-ischemica in utero; il secondo paziente è stato testato perché la madre aveva ricevuto diagnosi di cCMV durante la gravidanza; il terzo paziente era sintomatico alla nascita e trattato con terapia antivirale con valganciclovir. Dei 22 bambini che sono risultati Refer allo screening audiologico alla nascita, 17 (77,7%) hanno sviluppato successivamente ipoacusia. Dei 20 bambini (32,7%) con ipoacusia: 3 (4,8%) presentavano una ipoacusia di grado lieve unilateralmente (1 a destra e 2 a sinistra); 1 (1,6%) una ipoacusia lieve bilaterale; 2 (3,2%) una ipoacusia moderata bilaterale; 1 (1,6%) una ipoacusia grave unilateralmente destra; 4 bambini (6,4%) una sordità unilateralmente (Single-Sided Deafness-SSD), 3 sul lato

destro e 1 sul lato sinistro; 1 bambino (1,6%) presentava un'ipoacusia di grado moderato a destra e un'ipoacusia di grado profondo a sinistra; infine, 8 bambini (13,1%) presentavano un'ipoacusia profonda bilaterale. In 5/20 bambini (25%) l'ipoacusia si presentava come patologia isolata, mentre in 15/20 (75%) bambini l'ipoacusia era associata ad altre sequele a lungo termine (Figura 1). In 5 pazienti (8% dell'intera coorte, 25% dei bambini con SNHL) è stata osservata una progressione della soglia uditiva. L'età media di progressione

era di 26 mesi (intervallo: 5-44 mesi). Tutti i bambini che hanno mostrato una progressione erano risultati Refer allo screening audiologico neonatale. I dettagli sui 5 bambini che hanno mostrato una progressione della perdita uditiva sono riportati nella Tabella 3. I fattori di rischio per la progressione, calcolati mediante il coefficiente di correlazione di Spearman ( $\rho$ -p), erano una peggiore soglia uditiva finale (Spearman's  $\rho=0,434$ ;  $p=0,0001$ ) e una peggiore soglia uditiva alla nascita (Spearman's  $\rho=0,298$ ;  $p=0,020$ ).

Tabella 3. Caratteristiche audiologiche dei 5 pazienti (8% dell'intera coorte, 25% dei bambini con ipoacusia) che hanno mostrato una progressione della soglia uditiva.

N° caso	Età della progressione (mesi)	Progressione bilaterale/monolaterale	Soglia di partenza (agli ABR)	Soglia finale (agli ABR)
<b>Caso 1</b>	5	Bilaterale	Sinistro: 80 dB (severa) Destro: 75 dB (severa)	Sinistro: >80 dB (profonda) Destro: >80 dB (profonda)
<b>Caso 2</b>	14	Monolaterale (sinistro)	Sinistro: 55 dB (moderata) Destro: >80 dB (profonda)	Sinistro: >80 dB (profonda) Destro: >80 dB (profonda)
<b>Caso 3</b>	42	Bilaterale	Sinistro: 45 dB (moderata) Destro: 15 dB (normoacusia)	Sinistro: >80 dB (profonda) Destro: 55 dB (moderata)
<b>Caso 4</b>	44	Monolaterale (destra)	Sinistro: 15 dB (normoacusia) Destro: 55 dB (moderata)	Sinistro: 15 dB (normoacusia) Destro: >80 dB (profonda)
<b>Caso 5</b>	26	Monolaterale (destra)	Sinistro: >80 dB (profonda) Destro: 60 dB (moderata)	Sinistro: >80 dB (profonda) Destro: >80 dB (profonda)

13 bambini (21,3% dell'intera coorte, 65% dei bambini con ipoacusia) hanno ricevuto una protesizzazione acustica (PA), di questi 2 (3,2% dell'intera coorte, 10% dei bambini con ipoacusia) monolaterale, e 3 (4,9% dell'intera coorte, 15% dei bambini con ipoacusia) bilaterale. 8/13 bambini sono stati successivamente sottoposti a intervento di impianto cocleare (IC): 2 (3,2% dell'intera coorte, 10% dei bambini con ipoacusia) unilaterale, incluso 1 paziente che utilizza una stimolazione bimodale (PA+IC) e 6 pazienti (9,8% dell'intera coorte, 30% dei bambini con ipoacusia) bilaterale (5 di loro sequenziale e 1 simultaneo).

L'età del primo intervento di impianto è stata in tutti i casi inferiore ai 24 mesi (età media 17 mesi; range 10-24 mesi).

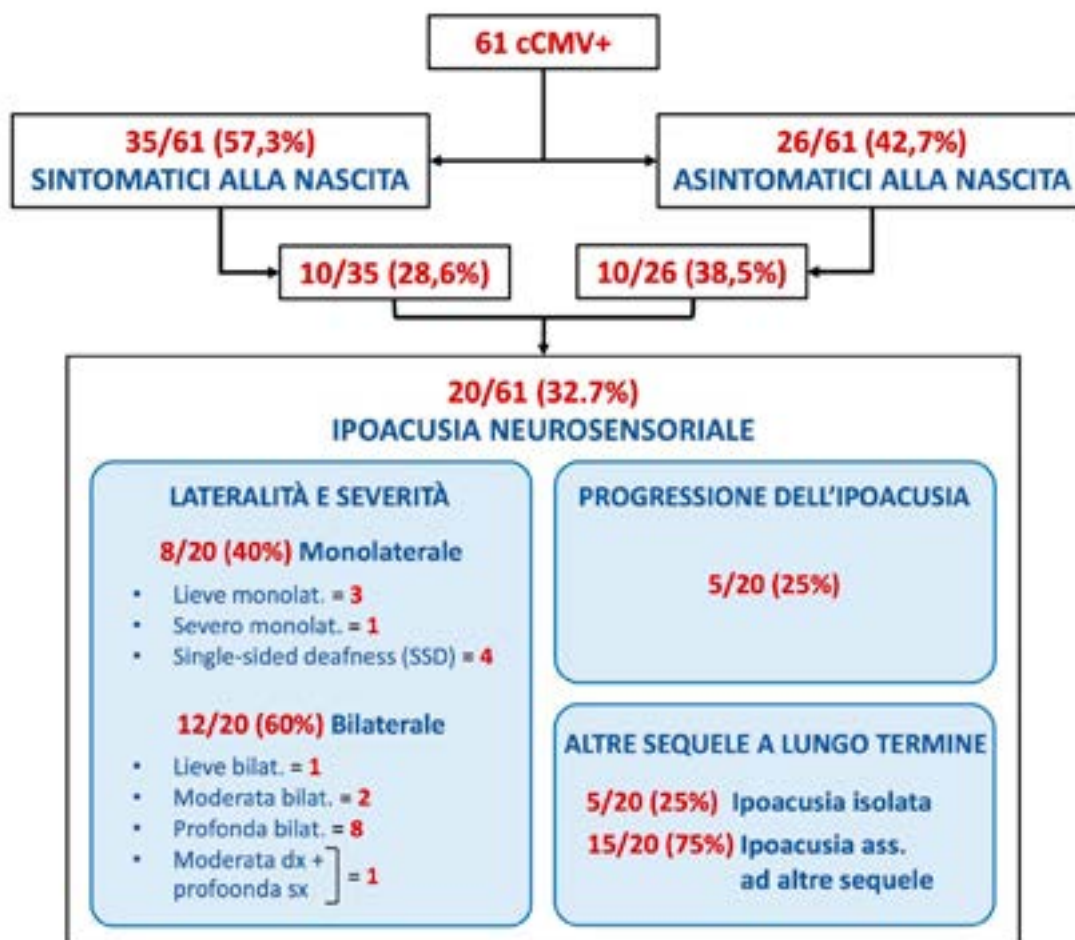
Degli 8 bambini con impianto cocleare monolaterale o bilaterale, 4 bambini (3 con IC bilaterale sequenziale, 1 con IC monolaterale) hanno raggiunto eccellenti capacità di discriminazione uditiva, con un riconoscimento del 100% delle parole bisillabiche nel rumore e silenzio. Al contrario, i restanti 4 bambini (2 con IC bilaterale sequenziale, 1 con IC bilaterale simultaneo, 1 con IC monolaterale) hanno mostrato abilità uditive limitate alla detezione dei suoni AMBO e dei fonemi Ling. I bambini



che non hanno raggiunto eccellenti risultati di discriminazione uditiva presentavano comorbidità di carattere neuropsichiatrico, tra

cui disturbo dello spettro autistico, disabilità intellettiva grave, disturbo pervasivo dello sviluppo.

**Figura 1. Caratteristiche audiologiche dei pazienti inclusi nella popolazione di studio.**



Per quanto riguarda i risultati alla percezione verbale secondo le Categories of Auditory Performance (CAP) (Archbold et al., 1995), 3 bambini partendo da una categoria 1 pre-IC (“reazione ai suoni ambientali”) e 1 bambino partendo da una categoria 5 (“comprensione di frasi semplici senza labiolettura”) hanno raggiunto gradualmente una categoria 6 post-IC (“comprensione di una conversazione senza labiolettura”). I restanti 4 bambini, affetti da comorbidità di carattere neuropsichiatrico, nella condizione pre-IC non risultavano valutabili o risultavano appartenenti alla categoria 0 (“non consapevolezza di suoni ambientali o voci”). Post-IC 2 4 di questi bambini hanno raggiunto la categoria 1, uno la

categoria 3 (“identificazione di suoni ambientali”), uno la categoria 5.

Per valutare lo sviluppo linguistico pre- e post-IC sono state utilizzate le Nottingham AuditoryMilestones (NAMES) (Datta et al., 2010), secondo le quali 4 bambini pre-IC appartenevano a uno stadio preverbale, 3 bambini a uno stadio 1, un bambino a uno stadio 2. Post-IC due bambini hanno raggiunto gradualmente lo stadio funzionale, due lo stadio 3, tre bambini sono rimasti allo stadio preverbale, un bambino ha raggiunto gradualmente lo stadio transizionale.

I risultati comunicativi sono stati valutati tramite i livelli di Bates (Bates et al., 1987), secondo i quali quattro bambini pre-IC appar-

tenevano a uno stadio 2 o tra 2 e 3, per poi post-IC raggiungere gradualmente lo stadio 6, mentre i quattro bambini con comorbidità neuropsichiatriche appartenevano a un livello 1 pre-IC e tre di questi sono rimasti a uno stadio 1 post-IC, mentre un bambino ha raggiunto gradualmente lo stadio 2-3.

Il tempo medio di follow-up audiologico per tutti i bambini della coorte è stato di 54 mesi (intervallo: 24-169 mesi). 2 bambini sono stati trasferiti ad altri centri audiologici prima del completamento del follow-up.

### Sequele neurologiche e del neurosviluppo

16 (40%) dei 40 pazienti arruolati in questo studio che sono stati sottoposti valutazioni neurologiche e neuropsichiatriche infantili presentavano anomalie neurologiche e/o neuropsichiatriche, tra cui: anomalie del controllo motorio (n=5/40, 12,5%); anomalie di comunicazione e attenzione (n=4/40, 10%); anomalie intellettive (n=5/40, 12,5%); e in 1 paziente (n=1/40, 2,5%), epilessia. Complessivamente, i disturbi neurologici e neuropsichiatrici sono stati associati a una soglia uditiva peggiore ( $\rho$  di Spearman=0,410,  $p=0,020$ ).

Lo sviluppo del linguaggio risultava interessato in 20 dei 39 bambini valutati (51,3%), includendo sia quadri di ritardo del linguaggio all'ultima valutazione rispetto all'età anagrafica, che veri e propri disturbi del linguaggio. Tra i bambini con ritardi del linguaggio rispetto all'età anagrafica, l'80% presentava ipoacusia (n=16/20), mentre il 20% era normoacusico (n=4/20). In tutti i bambini con disturbi o ritardi nello sviluppo del linguaggio è stata avviata la terapia riabilitativa logopedica.

### Imaging

In questa coorte, la Risonanza Magnetica (RM) è stata eseguita in 30 bambini con cCMV. Questo sottogruppo includeva tutti i 21 pazienti nati a Pisa, e 9 bambini provenienti da altri centri in Toscana che avevano eseguito la RM cerebrale per motivi clinici. 11/30 bambini (36,7%) presentavano risultati all'imaging nei limiti di norma, mentre nella maggior parte dei bambini (n=19/30, 63,3%) sono state identificate anomalie compatibili con cCMV, che includevano calcificazioni isolate (4/19), microcefalia (1/19), malformazioni cerebra-

li (2/19), e anomalie della sostanza bianca (12/19). Tredici dei diciannove pazienti con anomalie alla RM cerebrale presentavano disturbi neurologici e/o neuropsichiatrici (68%), mentre 3/11 soggetti presentavano anomalie neuropsichiatriche con una RM cerebrale negativa (27%). L'ecografia cranica (cUS) è stata eseguita in 12 bambini, da sola (n=7) o in combinazione con RM (n=5). I reperti più comuni alla cUS erano le calcificazioni periventricolari iperecogene, osservate in 10 pazienti (n=10/12, 83,3%), e le cisti germinolittiche, osservate in 5 pazienti (n=5/12, 41,7%). In un paziente è stata osservata una lieve asimmetria dei ventricoli laterali, e in un altro la conformazione plesso coroideo risultava gravemente irregolare.

### Sequele oftalmologiche

10 bambini (17% di tutta la coorte) presentavano disturbi oftalmologici, che includevano: miopia (n=3, 4,9% dell'intera coorte, 28,6% dei bambini con sequele oftalmologiche), astigmatismo (n=4, 7,3% dell'intera coorte, 42,9% dei bambini con sequele oftalmologiche), ipermetropia (n=3, 4,9% dell'intera coorte, 28,6% dei bambini con sequele oftalmologiche), strabismo (n=1, 2,4% dell'intera coorte, 14,3% dei bambini con sequele oftalmologiche) e disturbi retinici (n=3, 4,9% dell'intera coorte, 28,6% dei bambini con sequele oftalmologiche).

### Approcci riabilitativi

Tutti i bambini con disturbi del linguaggio (n=20) hanno seguito terapia logopedica. Inoltre 24 bambini (39,3% dell'intera coorte) hanno seguito altri tipi di approcci riabilitativi: 20 (81,8%) riabilitazione psicomotoria (32,1% dell'intera coorte), 2 (3,6%, 9% dell'intera coorte) riabilitazione pedagogica e 2 (3,6%, 9% dell'intera coorte) fisioterapia. Nel gruppo di 24 bambini che hanno seguito altri tipi di approcci riabilitativi, 17 (70,8%) hanno seguito anche terapia logopedica.

### Analisi statistica di correlazione

È stato inoltre calcolato il coefficiente di correlazione di Spearman ( $\rho$ -p) tra le varie caratteristiche cliniche riportate dai bambini affetti da cCMV, con l'obiettivo di identificare

eventuali correlazioni significative. La presenza di sintomi compatibili con cCMV alla nascita è risultata significativamente correlata con un periodo di ricovero in un'Unità di Terapia Intensiva o Sub-Intensiva Neonatale ( $\rho$  di Spearman=0,354,  $p=0,25$ ). La somministrazione di antivirali nel primo mese di vita presentava correlazione con:

- Una soglia uditiva peggiore ( $\rho=0,420$ ,  $p=0,004$ )
- Anomalie radiologiche compatibili con cCMV alla risonanza magnetica ( $\rho=0,600$ ,  $p=0,002$ )
- Disturbi oftalmologici ( $\rho=0,430$ ,  $p=0,011$ )

Una progressione della soglia uditiva è risultata significativamente correlata con una soglia uditiva iniziale ( $\rho=0,298$ ,  $p=0,020$ ) e finale peggiore ( $\rho=0,434$ ,  $p=0,0001$ ). Al contrario, una diagnosi di disturbi neurocognitivi risultava significativamente associata a una soglia uditiva peggiore ( $\rho=0,368$ ,  $p=0,020$ ), e specificamente la presenza di ritardi o disturbi del linguaggio era significativamente correlata sia con una soglia uditiva peggiore ( $\rho=0,582$ ,  $p=0,0001$ ) che con una progressione del deficit uditivo ( $\rho=0,374$ ,  $p=0,019$ ). Inoltre, la presenza di ritardi o disturbi del linguaggio era significativamente associata alla presenza di altri disturbi neurocognitivi ( $\rho=0,677$ ,  $p=0,0001$ ).

Considerando la carica virale, quando misurata, non è stata osservata alcuna correlazione significativa.

## Discussione

Determinare l'impatto a lungo termine del cCMV è di fondamentale importanza per valutare il rapporto costo-efficacia dei protocolli di screening neonatale per la malattia. Tuttavia, tra gli studi presenti in letteratura vi è un'ampia variabilità per quanto riguarda la gravità e la prevalenza degli esiti a lungo termine associati a cCMV, a causa dell'eterogeneità nei criteri di inclusione tra i protocolli di studio, con alcuni studi che includono pazienti testati per il cCMV su sospetto clinico e non identificati attraverso lo screening (Lanzieri et al., 2017; Rubinacci et al., 2022), e altri che includono solo pazienti sottoposti a screening (Townsend et al., 2013). Come riportato da Dreher (Dreher et al., 2014), le coorti che includevano

bambini con cCMV sintomatico riferiti al test per l'infezione per sospetto clinico presentano solitamente una malattia più grave e sequele a lungo termine più frequenti rispetto alle coorti di bambini con cCMV asintomatico identificati tramite screening neonatale.

Una migliore comprensione della storia naturale della malattia è inoltre necessaria per la stesura dei protocolli di prevenzione e terapia e per guidare le analisi di costo-efficacia. Un protocollo di follow-up a lungo termine dei bambini affetti da cCMV è impegnativo ma necessario per la diagnosi dei sintomi a insorgenza tardiva, come l'ipoacusia che può svilupparsi in età più avanzata o progredire dalla soglia iniziale, e per poter descrivere l'intero spettro delle difficoltà cognitive che possono non essere evidenti fino a quando il bambino non abbia 5-7 anni (Townsend et al., 2013). In questo studio, il tempo medio di follow-up è stato di 54 mesi (intervallo: 24-169 mesi). Il protocollo audiologico completo prevedeva una valutazione ogni 6 mesi fino all'età di 3 anni e una valutazione annuale dai 3 ai 6 anni di età.

Lo spettro clinico delle manifestazioni da cCMV varia dall'assenza di segni e sintomi a quadri clinici severi con un ampio spettro di espressioni della malattia (ipoacusia neurosensoriale, epatosplenomegalia, ittero, petecchie, microcefalia, corioretinite, riduzione della crescita intrauterina). Inoltre, in questo studio è stata evidenziata un'associazione tra infezione da cCMV e nascite pretermine e SGA, in linea con studi precedenti (Akivaet et al., 2023; Suarez et al., 2023; Kobaset al., 2018). Il citomegalovirus, infatti, infetta la placenta causando disfunzione placentare che può manifestarsi con restrizione della crescita, nascite pretermine e morti antenatali. Nella nostra coorte, 17 bambini sono nati pretermine, con un'età gestazionale media di 33,5 settimane, il 5,8% di loro erano SGA e non tutti hanno mostrato un deficit uditivo alla nascita. I bambini pretermine e SGA hanno una maggiore incidenza di vari sintomi come ittero e distress respiratorio, che possono essere causati dal virus in caso di malattia epatica o polmonite (Lunardi et al., 2020; Lorenzoni et al., 2014).

Nella nostra coorte composta da 61 bambini, il 57,3% ha presentato sintomi alla nascita, i più frequenti dei quali erano l'ittero neona-

tale (n=28, 45,9% dell'intera coorte, 37,1% dei sintomatici alla nascita) e il distress respiratorio (n=13, 21,3% dell'intera coorte, 37,1% dei sintomatici alla nascita), in linea con alcuni rapporti precedenti (Ross et al., 2021). Al contrario, altri studi presenti in letteratura non riportano l'ittero neonatale e il distress respiratorio come sintomi comuni tra i neonati cCMV+ (Akivaet al., 2023; Suarez et al., 2023), e l'alta prevalenza di questi sintomi nella nostra coorte potrebbe essere più associata alle nascite pretermine che al cCMV stesso. Infatti, il distress respiratorio è stato osservato in 13 bambini, 12 dei quali erano nati pretermine. Non siamo stati in grado di raccogliere i test di funzionalità epatica in relazione al rapporto sull'ittero neonatale, rendendo probabile la sovrapposizione tra l'epatopatia realmente associata a cCMV e altri tipi di ittero neonatale (come l'ittero fisiologico, l'ittero del pretermine ecc.).

A causa della relativa varietà nella presentazione del cCMV, è difficile correlare il quadro clinico all'infezione, ma una precisa descrizione dello spettro e della frequenza di presentazione di segni e sintomi può aiutare a estendere ulteriormente il target dello screening neonatale per il cCMV. Infatti, il solo screening audiologico potrebbe essere insufficiente per consentire una diagnosi precoce di cCMV. Ad esempio, nella nostra coorte 39 bambini hanno ricevuto risultati Pass allo screening audiologico neonatale e non avrebbero ricevuto una diagnosi di cCMV se non avessero mostrato, in 25 casi (64,1%), altri sintomi che hanno permesso loro di essere testati e di ricevere la diagnosi di positività. Tuttavia, sarebbe necessario aumentare la numerosità della coorte per trarre conclusioni definitive su questo argomento.

Il cCMV rappresenta la più importante causa di sordità infantile a origine non genetica e nella nostra coorte la proporzione di bambini con cCMV che ha sviluppato ipoacusia neurosensoriale era elevata (20 su 61 pazienti, 32,7%). Una proporzione sostanziale di soggetti (21,9% dell'intera coorte) ha sviluppato una perdita uditiva da grave a profonda in una o entrambe le orecchie, una percentuale dell'intera coorte maggiorerispetto a quella riportata in studi precedenti (Aldè et al., 2023; Ross et al., 2021; Foulon et al., 2015). Tuttavia, coerentemente con altri studi, tra i pa-

zienti con ipoacusia la maggior parte dei casi presentava un'ipoacusia di grado grave-profondo. Chung e colleghi (Chung et al., 2023) hanno riportato una perdita uditiva da grave a profonda nel 71% delle orecchie nei pazienti con perdita uditiva bilaterale e nell'83% dei pazienti con perdita uditiva monolaterale. Nel nostro studio, il 50% dei soggetti con perdita uditiva erano asintomatici alla nascita, pertanto un quadro sintomatico alla nascita non ha aumentato il rischio di sviluppare ipoacusia. Questi risultati sono in contrasto con altri studi, che hanno descritto un'associazione tra quadri clinici sintomatici alla nascita e il rischio di ipoacusia bilaterale (De Cuyperet al., 2023). La progressione della soglia uditiva è stata riportata in numerosi studi (Lanzieri et al., 2017; Goderiset al., 2014; Aldè et al., 2023; Torrecillas et al., 2020) ed è stata associata a un'insorgenza congenita o comunque precoce dell'ipoacusia e a un livello uditivo iniziale peggiore. Questi risultati sono stati confermati dal presente studio, in cui il 25% dei bambini cCMV+ con ipoacusia ha mostrato una progressione della soglia uditiva, con un'età media di progressione di 22 mesi (intervallo 5-44), e un'associazione significativa con una soglia uditiva iniziale e finale peggiore.

L'associazione tra la carica virale misurata alla nascita e lo sviluppo di ipoacusia è un argomento controverso tra diversi autori. Lanari ha riportato che il 70% delle complicazioni correlate al cCMV sono state sviluppate da bambini con una carica virale >10.000.000 copie/mL (Lanari et al., 2006), e questo è stato confermato da altri autori (De Cuyperet al., 2023; Bradford et al., 2005; Boppana et al., 2005; Nijman et al., 2012) ma al contrario altri studi non hanno evidenziato alcuna associazione tra la carica virale e lo sviluppo di sequela (Kawada et al., 2015; Ross et al., 2009). I risultati contraddittori di questi diversi studi potrebbero essere associati alle dimensioni ridotte del campione di studio, alle diverse definizioni di malattia e sintomi, ai criteri di inclusione o alle misurazioni degli esiti. Anche nel presente studio non è stata osservata un'associazione significativa tra carica virale e ipoacusia. Tuttavia, la carica virale è stata riportata solo in 35 pazienti su 61, e quindi la dimensione della popolazione di studio ha limitato la possibilità di trarre conclusioni definitive su questo aspetto.

Periodiche valutazioni di tipo neurologico e/o neuropsichiatrico infantile dei pazienti affetti da cCMV sono fondamentali per determinare il carico della malattia. È stato riportato come una presentazione di malattia di tipo sintomatico alla nascita possa essere un fattore di rischio per lo sviluppo di disabilità neurologiche e neurocognitive a lungo termine, poiché questo tipo di sequele è presente in circa il 40% dei neonati cCMV sintomatici alla nascita rispetto al 5% dei neonati cCMV asintomatici (Lanzieri et al., 2017; Zavattoni et al., 2014). In questo studio, le sequele neurocognitive sono state riportate nel 40% dei bambini esaminati, una percentuale inferiore rispetto ad altri lavori, probabilmente a causa di un tempo di follow-up più breve, poiché l'intero spettro delle disabilità neurocognitive sembra emergere a circa 7-8 anni di età (Townsend et al., 2013). Nel presente studio è emersa una significativa correlazione tra le sequele neurocognitive a lungo termine e ipoacusia, sottolineando ulteriormente l'importanza dello screening e della diagnosi precoce per trattare e seguire specificamente i bambini con cCMV in cui i deficit neurocognitivi e uditivi si associano. La correlazione tra la gravità dell'ipoacusia e i disturbi neuropsichiatrici associati è probabilmente collegata alla gravità dell'infezione da cCMV, un virus che può colpire più di un sistema.

È stato ipotizzato che il citomegalovirus possa interferire con lo sviluppo oftalmologico, producendo diverse anomalie oftalmologiche, tra cui corioretinite, atrofia del nervo ottico e anomalie corticali (Ghekieer et al., 2012). In questo studio, il 17% dei bambini con cCMV ha presentato anomalie visive, il 28,6% delle quali composto da disturbi retinici, una percentuale simile a studi precedenti (Dreher et al., 2014; Lanzieri et al., 2017). Tuttavia, abbiamo riportato tra le anomalie oftalmologiche anche errori di rifrazione come miopia, astigmatismo, ipermetropia e strabismo che possono avere un'origine diversa dal cCMV, sovrastimando quindi probabilmente la prevalenza delle sequele oftalmologiche nella popolazione di studio.

Gli studi sul neuroimaging in pazienti con cCMV sono pochi, soprattutto quelli che considerano la Risonanza Magnetica (RM). Infatti, nel European Expert Consensus Statement on Diagnosis and Management of cCMV del 2017

(Luck et al., 2017) è stato raccomandato di includere dati di neuroimaging (soprattutto tramite RM) nei futuri studi di ricerca, con l'obiettivo di integrare le informazioni per la previsione di disabilità a lungo termine, in particolare in assenza di malattia clinicamente rilevabile alla nascita.

In questo studio, il 63,3% dei pazienti con cCMV che ha eseguito la RM cerebrale perinatale o postnatale presentava anomalie compatibili con il cCMV, tra cui calcificazioni isolate, microcefalia, malformazioni cerebrali e anomalie della sostanza bianca. Questi risultati sono in linea con studi precedenti che riportano un'alta prevalenza di anomalie neuroradiologiche tra i bambini affetti da cCMV, soprattutto se sintomatici alla nascita, andando dal 59% (Hranilovitch et al., 2020), al 69% (Blázquez-Gamero et al., 2019), al 79,5% (Lucignani et al., 2021), all'83% (Chung et al., 2023). Inoltre, la prevalenza di sequele cliniche di tipo neurologico e/o neuropsichiatrico era maggiore nei soggetti con anomalie alla RM cerebrale, rinforzando così l'utilità della RM cerebrale nel follow-up dei neonati con cCMV. Inoltre, in termini clinici di praticità, va considerato che la RM cerebrale è una tecnica totalmente non invasiva che può essere eseguita nel periodo neonatale senza sedazione (Antonov et al., 2017). Poiché le anomalie alla RM cerebrale risultano associate alle sequele neuropsichiatriche, i dati del neuroimaging possono essere utilizzati per pianificare i programmi di follow-up nei pazienti con cCMV. Una limitazione di questo studio risiede nel fatto che non è stato applicato un protocollo standardizzato nella raccolta dei dati neuroradiologici, che risultano assenti in molti pazienti della coorte, e quando presenti sono stati acquisiti con tempi di acquisizione diversi e con un possibile bias di selezione, concentrandosi sui casi clinicamente più gravi.

Le anomalie neuroradiologiche hanno dimostrato una correlazione statisticamente significativa con le sequele oftalmologiche, ma non con quelle audilogiche. Questi risultati sono coerenti con uno studio recente su 1033 pazienti affetti da cCMV, in cui solo alcuni reperti patologici alla RM (specificamente la presenza di cisti periventricolari) hanno mostrato un'associazione alla diagnosi di ipoacusia, mentre quest'associazione non era presente per le anomalie all'ecografia crani-

ca, agli esami ematochimici e alla valutazione oftalmologica (De Cuyperet al., 2023).

In questo studio la somministrazione di una terapia antivirale, costituita da valganciclovir o ganciclovir, è stata associata a una presentazione clinica più grave, con una soglia uditiva peggiore, anomalie neuroradiologiche e disordini della vista. Infatti, il documento di consensus pubblicato su *The Lancet* nel 2017 consiglia la somministrazione di un ciclo di 6 mesi di valganciclovir solo nei pazienti con cCMV sintomatico alla nascita (Rawlinson et al., 2017). Anche se alcuni studi hanno riportato un minimo effetto delle terapie antivirali nel prevenire le sequele audiologiche (Aldèet al., 2023; Kimberlin et al., 2015; Rosset al., 2021), il presente studio non ha evidenziato un vantaggio audiologico significativo per i bambini sottoposti alla nascita a terapia antivirale, in linea con altri studi (Lanzieri et al., 2022). Tuttavia, è stato riportato come il trattamento antivirale, pur non modificando gli esiti audiologici a lungo termine, possa comunque ritardare l'insorgenza o la progressione dell'ipoacusia nel periodo prelinguale, migliorando in ultima istanza l'impatto della patologia sullo sviluppo del linguaggio (Lanzieri et al., 2023; Philips et al., 2014).

Considerata l'estrema variabilità nella presentazione clinica del cCMV e l'assenza di un programma di screening consolidato, l'identificazione dei soggetti affetti alla nascita risulta estremamente difficoltosa. Inoltre, la presentazione clinica eterogenea rende complesso prevedere l'evoluzione clinica della malattia nei singoli casi, complicando la gestione dei casi e il counselling dei pazienti e delle loro famiglie. Pertanto, è necessario sviluppare programmi di screening consolidati per la diagnosi precoce del cCMV, con l'obiettivo di implementare trattamenti farmacologici e riabilitativi precoci e protocolli di follow-up. Complessivamente, queste misure terapeutiche hanno la potenzialità di migliorare gli esiti clinici dei pazienti con cCMV. La coorte in questo studio è relativamente omogenea, con una porzione significativa (57,3%) sintomatica alla nascita. Questa omogeneità può limitare la capacità dello studio di trarre considerazioni circa l'efficacia di un approccio di screening neonatale "extended hearing-targeted" per la diagnosi di cCMV, o di valutare accuratamente la prevalenza dei sintomi del

cCMV. Tuttavia, l'obiettivo principale dello studio è stato quello di descrivere le sequele a lungo termine della malattia in una popolazione di individui cCMV+ identificati precocemente, e l'inclusione di una coorte il più possibile omogenea ha facilitato il raggiungimento di questo obiettivo.

Inoltre, il presente studio ha dimostrato l'importanza di un follow-up completo e protratto nel tempo per i pazienti con una diagnosi di cCMV che comprendeva valutazioni audiologiche, oftalmologiche, neuropsichiatriche infantili e radiologiche.

Questo studio presenta dei limiti. Nonostante il principale obiettivo di questa ricerca fossero gli esiti di tipo audiologico, sono state raccolte numerose informazioni cliniche, inclusi gli esiti oftalmologici e neuropsichiatrici. Tuttavia, i pazienti hanno partecipato a protocolli di follow-up diversi, con una generale mancanza di eterogeneità in particolare nei protocolli di valutazione neuropsichiatrica infantile. Gli studi di tipo prospettico che considerino gli esiti neuropsichiatrici e neurocognitivi fino all'età scolare saranno di fondamentale importanza nel contribuire a una descrizione completa dell'impatto della malattia.

## Conclusioni

In conclusione, l'impatto clinico e sociale dell'infezione congenita da CMV è considerevole. Sequele a lungo termine associate al cCMV sono riportate in una percentuale significativa di pazienti, con un importante impatto sullo sviluppo uditivo, linguistico, e sociale, sulla salute generale e sulla qualità della vita dei pazienti. Poiché il cCMV, essendo un'infezione ad alta prevalenza nella popolazione generale con un notevole impatto sanitario e sociale, soddisfa alcuni criteri per l'inclusione nel pannello di screening neonatale, sono necessari ulteriori studi per sviluppare metodi e protocolli di screening appropriati che possano essere applicati su larga scala, con l'obiettivo di migliorare le linee guida per la terapia e il follow-up, e di valutare il rapporto costo-beneficio e costo-efficacia dello screening. Il presente studio ha l'obiettivo di descrivere le sequele a lungo termine del cCMV in una popolazione di pazienti identificati tramite screening, e di sottolineare l'importanza

di un follow-up completo e multidisciplinare (audiologico, oftalmologico, neuropsichiatrico e neuroradiologico) nei bambini affetti da cCMV.

**Conflitti di interesse:** Gli autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse.

**Finanziamento:** Non è stato ricevuto alcun supporto economico per lo svolgimento di

questa ricerca, la stesura e/o la pubblicazione di questo articolo.

**Considerazioni etiche:** La ricerca è stata condotta eticamente, con tutte le procedure di studio eseguite in conformità con i requisiti della Dichiarazione di Helsinki. Il consenso informato scritto è stato ottenuto dai tutori di ogni partecipante/paziente per la partecipazione allo studio e la pubblicazione dei dati.

## Bibliografia:

- Akiva, M. H., Hyde De Souza, H., Lamarre, V., Boucoiran, I., Gantt, S., Renaud, C., and Kakkar, F. (2023) 'Identifying Clinical Criteria for an Expanded Targeted Approach to Screening for Congenital Cytomegalovirus Infection-A Retrospective Study', *Int J Neonatal Screen*, 9(40).
- Aldè, M., Caputo, E., Di Berardino, F., Ambrosetti, U., Barozzi, S., Piatti, G., Zanetti, D., Pignataro, L., and Cantarella, G. (2023) 'Hearing outcomes in children with congenital cytomegalovirus infection: From management controversies to lack of parents' knowledge', *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 164, 111420.
- Antonov, N. K., Ruzal-Shapiro, C. B., Morel, K. D., Millar, W. S., Kashya, S., Lauren, C. T., and Garzon, M. C. (2017) 'Feed and Wrap MRI Technique in Infants', *ClinPediatr (Phila)*, 56(1095-1103).
- Archbold, S., Lutman, M. E., Marshall, D. H. (1995) 'Categories of Auditory Performance', *Ann OtolRhinolLaryngolSuppl*, 166(312-4).
- Barbi, M., Binda, S., Caroppo, S., Calvario, A., Germinario, C., Bozzi, A., Tanzi, M. L., Veronesi, L., Mura, I., Piana, A., Solinas, G., Pugni, L., Bevilacqua, G., and Mosca, F. (2006) 'Multicity Italian study of congenital cytomegalovirus infection', *The Pediatric infectious disease journal*, 25(156-159).
- Bates, E., O'Connell, B., Shore, C. (1987). 'Language and communication in infancy', In: J. D. Osofsky (Ed.), 'Handbook of infant development' (2nd ed., 149-203). John Wiley & Sons.
- Berrettini, S., Ghirri, P., Lazzerini, F., Lenzi, G., and Forli, F. (2017) 'Newborn hearing screening protocol in tuscany region', *Italian journal of pediatrics*, 43(82).
- Blázquez-Gamero, D., Soriano-Ramos, M., Martínez de Aragón, A., Baquero-Artigao, F., and Frick, M. A. (2019) 'Role of Magnetic Resonance Imaging and Cranial Ultrasonography in Congenital Cytomegalovirus Infection', *Pediatr Infect Dis J*, 38(1131-1137).
- Boppana, S. B., Fowler, K. B., Pass, R. F., Rivera, L. B., Bradford, R. D., Lakeman, F. D., and Britt, W. J. (2005) 'Congenital cytomegalovirus infection: association between virus burden in infancy and hearing loss', *The Journal of pediatrics*, 146(817-823).
- Boppana, S. B., Ross, S. A., Novak, Z., Shimamura, M., Tolan, R. W. Jr., Palmer, A. L., Ahmed, A., Michaels, M. G., Sánchez, P. J., Bernstein, D. I., Britt, W. J., Fowler, K. B., and National Institute on Deafness and Other Communication Disorders CMV and Hearing Multicenter Screening (CHIMES) Study (2010) 'Dried blood spot real-time polymerase chain reaction assays to screen newborns for congenital cytomegalovirus infection', *JAMA*, 303(14), 1375-1382. <https://doi.org/10.1001/jama.2010.423>
- Bradford, R. D., Cloud, G., Lakeman, A. D., Boppana, S., Kimberlin, D. W., Jacobs, R., Demmler, G., Sanchez, P., Britt, W., Soong, S. J., Whitley, R. J., and National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group (2005) 'Detection of cytomegalovirus (CMV) DNA by polymerase chain reaction is associated with hearing loss in newborns with symptomatic congenital CMV infection involving the central nervous system', *The Journal of infectious diseases*, 191(227-233). <https://doi.org/10.1086/426456>
- Cannon, M. J., Schmid, D. S., and Hyde, T. B. (2010) 'Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection', *Reviews in medical virology*, 20(202-213).

- Cannon, M. J., Griffiths, P. D., Aston, V., and Rawlinson, W. D. (2014) 'Universal newborn screening for congenital CMV infection: what is the evidence of potential benefit?', *Reviews in medical virology*, 24(291-307).
- Cheeran, M. C., Lokensgard, J. R., and Schleiss, M. R. (2009) 'Neuropathogenesis of congenital cytomegalovirus infection: disease mechanisms and prospects for intervention', *Clinical microbiology reviews*, 22(99-126).
- Chung, P. K., Schornagel, F., Oudesluys-Murphy, A. M., de Vries, L. S., Soede, W., van Zwet, E., and Vossen, A. (2023) 'Targeted screening for congenital cytomegalovirus infection: clinical, audiological and neuroimaging findings', *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 108(302-308). doi: 10.1136/archdischild-2022-324699. PMID: 36549893; PMCID: PMC10176415.
- Coats, D. K., Demmler, G. J., Paysse, E. A., Du, L. T., and Libby, C. (2000) 'Ophthalmologic findings in children with congenital cytomegalovirus infection', *Journal of AAPOS : the official publication of the American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus*, 4(110-116).
- Crowle, C., Jackman, M., and Morgan, C. (2023) 'The General Movements Motor Optimality Score in High-Risk Infants: A Systematic Scoping Review', *PediatrPhysTher*, 35(2-26).
- Datta, G., Odell, A., Durbin, K. (2010). 'Nottingham auditory milestones: a profile to monitor the growth of active listening, understanding, auditory memory, and sequencing in babies and young children in the first three years after receiving cochlear implants', *Cochlear implants international*, 11 (282-285).
- De Cuyper, E., Acke, F., Keymeulen, A., De Leenheer, E. M.R., Van Hoecke, H., Padalko, E., Boudewyns, A., Gilles, A., Muylle, M., Kuhweide, R., Royackers, L., Desloovere, C., Verstreken, M., Schatteman, I., and Dhooge, I. (2023) 'Risk Factors for Hearing Loss at Birth in Newborns With Congenital Cytomegalovirus Infection', *JAMA otolaryngology-- head & neck surgery*, 149(122-130).
- Dollard, S. C., Grosse, S. D., and Ross, D. S. (2007) 'New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection', *Reviews in medical virology*, 17(355-363).
- Dreher, A. M., Arora, N., Fowler, K. B., Novak, Z., Britt, W. J., Boppana, S. B., and Ross, S. A. (2014) 'Spectrum of disease and outcome in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection', *The Journal of pediatrics*, 164(855-859).
- Enders, G., Daiminger, A., Bäder, U., Exler, S., and Enders, M. (2011) 'Intrauterine transmission and clinical outcome of 248 pregnancies with primary cytomegalovirus infection in relation to gestational age', *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 52(244-246).
- Istituto Superiore di Sanità, (2023) 'EpiCentro Citomegalovirus', Istituto Superiore di Sanità. Available online: <https://www.epicentro.iss.it/citomegalovirus/> (accessed on 31 August 2023).
- Fink, K. R., Thapa, M. M., Ishak, G. E., and Pruthi, S. (2010) 'Neuroimaging of pediatric central nervous system cytomegalovirus infection', *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*, 30(1779-1796).
- Forli, F., Lazzerini, F., Canelli, R., Lorenzoni, F., Franciosi, B., Berrettini, S., and Bruschini, L. (2021) 'Extended-hearing targeted screening for congenital cytomegalovirus infection', *Minerva pediatrics*, Advance online publication. <https://doi.org/10.23736/S2724-5276.21.06287-X>.
- Foulon, I., Vleurinck, L., Kerkhofs, K., and Gordts, F. (2015) 'Hearing configuration in children with cCMV infection and proposal of a flow chart for hearing evaluation', *International journal of audiology*, 54(714-719). <https://doi.org/10.3109/14992027.2015.1046506>
- Fowler, K. B., McCollister, F. P., Dahle, A. J., Boppana, S., Britt, W. J., and Pass, R. F. (1997) 'Progressive and fluctuating sensorineural hearing loss in children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection', *The Journal of pediatrics*, 130(624-630).
- Fowler, K. B., and Boppana, S. B. (2006) 'Congenital cytomegalovirus (CMV) infection and hearing deficit', *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 35(226-231).



- Ghekiere, S., Allegaert, K., Cossey, V., Van Ranst, M., Cassiman, C., and Casteels, I. (2012) 'Ophthalmological findings in congenital cytomegalovirus infection: when to screen, when to treat?', *Journal of pediatric ophthalmology and strabismus*, 49(274-282).
- Ghirri, P., Liumbruno, A., Lunardi, S., Forli, F., Boldrini, A., Baggiani, A., and Berrettini, S. (2011) 'Universal neonatal audiological screening: experience of the University Hospital of Pisa', *Italian journal of pediatrics*, 37(16).
- Giannattasio, A., Di Costanzo, P., De Matteis, A., Milite, P., De Martino, D., Bucci, L., Augurio, M. R., Bravaccio, C., Ferrara, T., Capasso, L., and Raimondi, F. (2017) 'Outcomes of congenital cytomegalovirus disease following maternal primary and non-primary infection', *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 96(32-36).
- Goderis, J., De Leenheer, E., Smets, K., Van Hoecke, H., Keymeulen, A., and Dhooge, I. (2014) 'Hearing loss and congenital CMV infection: a systematic review', *Pediatrics*, 134(972-982).
- Hranilovich, J. A., Park, A. H., Knackstedt, E. D., Ostrander, B. E., Hedlund, G. L., Shi, K., and Bale, J. F. Jr. (2020) 'Brain Magnetic Resonance Imaging in Congenital Cytomegalovirus With Failed Newborn Hearing Screen', *PediatrNeurol*, 110(55-58).
- Kabani, N., and Ross, S. A. (2020) 'Congenital Cytomegalovirus Infection', *The Journal of infectious diseases*, 221(S9-S14).
- Kawada, J., Torii, Y., Kawano, Y., Suzuki, M., Kamiya, Y., Kotani, T., Kikkawa, F., Kimura, H., and Ito, Y. (2015) 'Viral load in children with congenital cytomegalovirus infection identified on newborn hearing screening', *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 65(41-45).
- Kettler, M., Shoup, A., Moats, S., Steuerwald, W., Jones, S., Stiell, S. C., and Chappetto, J. (2023) 'American Academy of Audiology Position Statement on Early Identification of Cytomegalovirus in Newborns', *Journal of the American Academy of Audiology*, Advance online publication. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1768036>.
- Kimberlin, D. W., Jester, P. M., Sánchez, P. J., Ahmed, A., Arav-Boger, R., Michaels, M. G., Ashouri, N., Englund, J. A., Estrada, B., Jacobs, R. F., Romero, J. R., Sood, S. K., Whitworth, M. S., Abzug, M. J., Caserta, M. T., Fowler, S., Lujan-Zilbermann, J., Storch, G. A., DeBiasi, R. L., Han, J. Y., ... National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group (2015) 'Valganciclovir for symptomatic congenital cytomegalovirus disease', *The New England journal of medicine*, 372(933-943).
- Kobas, M., Bickle Graz, M., Truttman, A. C., Giannoni, E., Meylan, P., and Asner, S. A. (2018) 'Clinical characteristics, audiological and neurodevelopmental outcomes of newborns with congenital cytomegalovirus infection', *Swiss medical weekly*, 148(w14627).
- Lanari, M., Lazzarotto, T., Venturi, V., Papa, I., Gabrielli, L., Guerra, B., Landini, M. P., and Faldella, G. (2006) 'Neonatal cytomegalovirus blood load and risk of sequelae in symptomatic and asymptomatic congenitally infected newborns', *Pediatrics*, 117(1), e76-83.
- Lanzieri, T. M., Chung, W., Flores, M., Blum, P., Caviness, A. C., Bialek, S. R., Grosse, S. D., Miller, J. A., Demmler-Harrison, G., and Congenital Cytomegalovirus Longitudinal Study Group (2017) 'Hearing Loss in Children With Asymptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection', *Pediatrics*, 139(e20162610).
- Lanzieri, T. M., Caviness, A. C., Blum, P., Demmler-Harrison, G., and Congenital Cytomegalovirus Longitudinal Study Group (2022) 'Progressive, Long-Term Hearing Loss in Congenital CMV Disease After Ganciclovir Therapy', *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 11(16-23).
- Lanzieri, T. M., Pesch, M. H., and Grosse, S. D. (2023) 'Considering Antiviral Treatment to Preserve Hearing in Congenital CMV', *Pediatrics*, 151(e2022059895).
- Lorenzoni, F., Lunardi, S., Liumbruno, A., Ferri, G., Madrigali, V., Fiorentini, E., Forli, F., Berrettini, S., Boldrini, A., and Ghirri, P. (2014) 'Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection in preterm and small for gestational age infants', *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine*,

- the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians, 27(1589-1593).
- Lopez, A. S., Lanzieri, T. M., Claussen, A. H., Vinson, S. S., Turcich, M. R., Iovino, I. R., Voigt, R. G., Caviness, A. C., Miller, J. A., Williamson, W. D., Hales, C. M., Bialek, S. R., Demmler-Harrison, G., and Congenital Cytomegalovirus Longitudinal Study Group (2017) 'Intelligence and Academic Achievement With Asymptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection', *Pediatrics*, 140(e20171517).
- Lucignani, G., Rossi Espagnet, M. C., Napolitano, A., Figà Talamanca, L., Calò Carducci, F. I., Auriti, C., and Longo, D. (2021) 'A new MRI severity score to predict long-term adverse neurologic outcomes in children with congenital Cytomegalovirus infection', *J Matern Fetal Neonatal Med*, 34(6), 859-866.
- Luck, S. E., Wieringa, J. W., Blázquez-Gamero, D., Henneke, P., Schuster, K., Butler, K., Capretti, M. G., Cilleruelo, M. J., Curtis, N., Garofoli, F., Heath, P., Iosifidis, E., Klein, N., Lombardi, G., Lyall, H., Nieminen, T., Pajkrt, D., Papaevangelou, V., Posfay-Barbe, K., Puhakka, L., ... ESPID Congenital CMV Group Meeting, Leipzig 2015 (2017) 'Congenital Cytomegalovirus: A European Expert Consensus Statement on Diagnosis and Management', *The Pediatric infectious disease journal*, 36(1205-1213).
- Lunardi, S., Lorenzoni, F., and Ghirri, P. (2020) 'Universal Screening for Congenital CMV Infection', in: R. M. Barría (Ed.), *Update on Critical Issues on Infant and Neonatal Care*, IntechOpen.
- Marsico, C., and Kimberlin, D. W. (2017) 'Congenital Cytomegalovirus infection: advances and challenges in diagnosis, prevention and treatment', *Italian journal of pediatrics*, 43(38).
- Nijman, J., van Loon, A. M., de Vries, L. S., Koopman-Esseboom, C., Groenendaal, F., Uiterwaal, C. S., and Verboon-Macielek, M. A. (2012) 'Urine viral load and correlation with disease severity in infants with congenital or postnatal cytomegalovirus infection', *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 54(121-124).
- Novak, I., Morgan, C., Adde, L., Blackman, J., Boyd, R. N., Brunstrom-Hernandez, J., et al. (2017) 'Early, Accurate Diagnosis and Early Intervention in Cerebral Palsy: Advances in Diagnosis and Treatment', *JAMA Pediatr*, 171(897-907). doi: 10.1001/jamapediatrics.2017.1689. Erratum in: *JAMA Pediatr*, 171(919).
- Novelli, M., Natale, F., Di Norcia, A., Boiani, A., Temofonte, S., Calandriello, F., Zitarelli, C., and Caravale, B. (2022) 'Early neurodevelopmental outcomes in children with asymptomatic congenital CMV infection', *Ital J Pediatr*, 48(203).
- Pass, K., and Harris, C. (2014) 'Neonatal screening: concepts and technology', *Adv Clin Chem*, 43(215-252). doi: 10.1016/s0065-2423(06)43006-1. PMID: 17147939.
- Pereira, L., Pettit, M., and Tabata, T. (2013) 'Cytomegalovirus infection and antibody protection of the developing placenta', *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 57(S174-S177).
- Philips, B., Maes, L. K., Keppler, H., and Dhooge, I. (2014) 'Cochlear implants in children deafened by congenital cytomegalovirus and matched Connexin 26 peers', *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 78(410-415).
- Pinninti, S., and Boppana, S. (2022) 'Congenital cytomegalovirus infection diagnostics and management', *Current opinion in infectious diseases*, 35(436-441).
- Rawlinson, W. D., Boppana, S. B., Fowler, K. B., Kimberlin, D. W., Lazzarotto, T., Alain, S., Daly, K., Doutré, S., Gibson, L., Giles, M. L., Greenlee, J., Hamilton, S. T., Harrison, G. J., Hui, L., Jones, C. A., Palasanthiran, P., Schleiss, M. R., Shand, A. W., and van Zuylen, W. J. (2017) 'Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy and the neonate: consensus recommendations for prevention, diagnosis, and therapy', *The Lancet. Infectious diseases*, 17(e177-e188).
- Rosenthal, L. S., Fowler, K. B., Boppana, S. B., Britt, W. J., Pass, R. F., Schmid, S. D., Stagno, S., and Cannon, M. J. (2009) 'Cytomegalovirus shedding and delayed sensorineural hearing loss: results from longitudinal follow-up of children with congenital infection', *The Pediatric infectious disease journal*, 28(515-520).

- Ross, S. A., Novak, Z., Fowler, K. B., Arora, N., Britt, W. J., and Boppana, S. B. (2009) 'Cytomegalovirus blood viral load and hearing loss in young children with congenital infection', *The Pediatric infectious disease journal*, 28(588-592).
- Ross, S. A., and Kimberlin, D. (2021) 'Clinical outcome and the role of antivirals in congenital cytomegalovirus infection', *Antiviral research*, 191(105083).
- Rubinacci, V., Fumagalli, M., Meraviglia, G., Gianolio, L., Sala, A., Stracuzzi, M., Dighera, A., Zuccotti, G. V., and Giacomet, V. (2022) 'Congenital CMV, Lights and Shadows on Its Management: The Experience of a Reference Center in Northern Italy', *Children*, 9(655).
- Salomè, S., Giannattasio, A., Malesci, R., Marciano, E., Dolce, P., Portella, G., Continisio, G. I., Di Costanzo, P., Capone, E., Coppola, C., Capasso, L., and Raimondi, F. (2020) 'The Natural History of Hearing Disorders in Asymptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection', *Frontiers in pediatrics*, 8(217).
- Suarez, D., Nielson, C., McVicar, S. B., Sidesinger, M., Ostrander, B., O'Brien, E., Ampofo, K., Ling, C. Y., Miner, L. J., and Park, A. H. (2023) 'Analysis of an Expanded Targeted Early Cytomegalovirus Testing Program', *Otolaryngol Head Neck Surg*, 169(679-686).
- Torrecillas, V., Allen, C. M., Greene, T., Park, A., Chung, W., Lanzieri, T. M., and Demmler-Harrison, G. (2020) 'Should You Follow the Better-Hearing Ear for Congenital Cytomegalovirus Infection and Isolated Sensorineural Hearing Loss?', *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 162(114-120).
- Townsend, C. L., Forsgren, M., Ahlfors, K., Ivarsson, S. A., Tookey, P. A., and Peckham, C. S. (2013) 'Long-term outcomes of congenital cytomegalovirus infection in Sweden and the United Kingdom', *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 56(1232-1239).
- Uusitalo, P., Haataja, L., Nyman, A., Lehtonen, T., and Setänen, S. (2021) 'Hammersmith Infant Neurological Examination and long-term cognitive outcome in children born very preterm', *Dev Med Child Neurol*, 63(947-953).
- Wu, P. H., Lee, C. Y., Huang, J. Y., Yang, S. F., and Shih, C. P. (2022) 'The correlation between neonatal parameters and late-onset inner ear disorders in congenital cytomegalovirus infection: a 10-year population-based cohort study', *Clinical otolaryngology: official journal of ENT-UK; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery*, 47(1), 107-114. <https://doi.org/10.1111/coa.13864>
- Zavattoni, M., Lombardi, G., Rognoni, V., Furione, M., Klersy, C., Stronati, M., and Baldanti, F. (2014) 'Maternal, fetal, and neonatal parameters for prognosis and counseling of HCMV congenital infection', *Journal of medical virology*, 86(2163-2170).