

Gruppo multidisciplinare
“Malattie infettive in ostetricia-ginecologia e neonatologia”

AMCLI (Associazione Microbiologi Clinici Italiani), SIGO (Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia), SIMaST (Società Interdisciplinare delle Malattie Sessualmente Trasmissibili), SIMIT (Società Italiana di Malattie Infettive e Tropicali), SIN (Società Italiana di Neonatologia), SIP (Società Italiana di Pediatria).

Percorsi diagnostico-assistenziali
in Ostetricia-Ginecologia e Neonatologia

CITOMEGALOVIRUS

APRILE 2012

PRESENTAZIONE

Nel novembre 2009 si è costituito il Gruppo di lavoro multidisciplinare “*Malattie infettive in ostetricia-ginecologia e neonatologia*” con lo scopo di promuovere e migliorare la salute della donna, del feto, del neonato e dell’adolescente con particolare riguardo alle infezioni a trasmissione verticale e perinatale e alle infezioni sessualmente trasmesse.

I partecipanti al Gruppo sono esperti e rappresentanti autorevoli delle Società Scientifiche Italiane di Microbiologia Clinica (AMCLI), di Ginecologia e Ostetricia (SIGO), di Malattie Infettive e Tropicali (SIMIT), di Neonatologia (SIN), di Pediatria (SIP), e dell’Associazione Interdisciplinare per lo Studio delle Malattie Sessualmente Trasmissibili (SIMAST).

E’ noto come un corretto monitoraggio della gravidanza si traduca in un migliore outcome neonatale. Pertanto uno degli obiettivi che si è posto il Gruppo di lavoro è stato quello di elaborare, implementare (se presenti) e diffondere percorsi diagnostico-assistenziali e di prevenzione per le infezioni a trasmissione verticale e perinatale. A questi riguardi vi sono talvolta prassi disomogenee tra operatori, che possono comportare notevoli discrepanze tra le indicazioni suggerite dalla letteratura, dal Gruppo attentamente revisionata, e ciò che viene in realtà attuato.

L’attività del gruppo multidisciplinare è iniziata con la scelta e l’elaborazione di percorsi dedicati alla gravidanza e al neonato delle infezioni da Citomegalovirus, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum* e *Chlamydia trachomatis*. La scelta di trattare queste quattro specifiche infezioni è nata dall’interesse che esse rivestono sia per loro diffusione, che per le recenti acquisizioni diagnostiche, prognostiche e terapeutiche, ancora ampiamente dibattute.

Le implicazioni connesse ad una corretta esecuzione nei tempi e nei modi ed interpretazione della diagnostica di laboratorio, dettate da linee guida procedurali in epoca prenatale, sono sicuramente di grande importanza per l’ostetrico e/o l’infettivologo che debba fornire “il counselling” alla gravida e monitorarne la gestazione e per l’ostetrico nella programmazione del timing e delle modalità del parto.

Sono d’altronde imprescindibili, per il neonatologo o per il pediatra che operi in Ospedale o fuori da esso, adeguate conoscenze circa i fattori ostetrici condizionanti la trasmissione verticale di queste patologie, “schemi procedurali” utili alla diagnosi nel neonato, al monitoraggio delle possibili conseguenze dell’infezione congenita, alle possibilità terapeutiche ed al corretto follow-up.

E non ultimo, risultano indispensabili al microbiologo clinico conoscenze scientifiche sempre più aggiornate, per favorire la scelta di indagini diagnostiche predittive appropriate e fornire una valida consulenza nell’interpretazione dei risultati.

Referente AMCLI, prof.ssa Tiziana Lazzarotto, Bologna;

Referente SIGO, dott. Fabrizio Taddei, Mantova;

Referente SIMAST, dott.ssa Barbara Suligoj, Roma;

Referente SIMIT, dott. Alberto Matteelli, Brescia;

Referente SIN e SIP, dott. Marcello Lanari, Imola-Bologna.

INTRODUZIONE

Il presente documento è stato elaborato, discusso e validato da una commissione multidisciplinare ed eterogenea composta da esperti e rappresentanti autorevoli di Società Scientifiche con il metodo della conferenza di consenso.

La redazione è stata a cura di:

AMCLI: Tiziana Lazzarotto, Bologna; Pierangelo Clerici, Legnano (MI); Cristina Giraldi, Cosenza; Maria Agnese Latino, Torino; Valeria Meroni, Pavia.

SIGO: Fabrizio Taddei, Mantova; Brunella Guerra, Bologna; Giuseppe Cali, Palermo; Tiziana Frusca, Brescia; Mario Lituania, Genova; Pasquale Martinelli, Napoli; Cecilia Tibaldi, Torino; Elsa Viora, Torino.

SIMaST: Barbara Suligoj, Roma; Marco Cusini, Milano; Antonietta D'Antuono, Bologna; Maria Cristina Salfa, Roma.

SIMIT: Alberto Matteelli, Brescia; Teresa Bini, Milano; Paolo Lanzarini, Pavia; Giuseppina Liuzzi, Roma; Lina Tomasoni, Brescia; Francesca Vichi, Firenze; Antonio Volpi, Roma.

SIN e SIP: Marcello Lanari, Imola (BO); Lina Bollani, Pavia; Maria Grazia Capretti, Bologna; Giuseppina Lombardi, Pavia; Fabio Natale, Roma; Mauro Stronati, Pavia.

Criteria per l'elaborazione dei livelli di evidenza e il grado delle raccomandazioni

Livelli di evidenza	Le informazioni sono	Grado delle raccomandazioni
I	.. derivate da revisioni sistematiche o meta-analisi di TCR	A
II-1derivate da almeno un TCR ben condotto	B
II-2derivate da almeno uno studio clinico prospettico di buona qualità	
II-3derivate da altri tipi di studi prospettici di minor qualità o da studi retrospettivi di buona qualità	
III	...basate unicamente su opinione di esperti	C

Adattata da AHRQ - Agency for Healthcare Research and Quality.

TCR: trial clinico randomizzato

INFEZIONE CONGENITA DA CITOMEGALOVIRUS UMANO

INDICE

EZIOPATOGENESI, ASPETTI CLINICI ED EPIDEMIOLOGIA.....	5
MANAGEMENT PRE-GRAVIDANZA.....	7
MANAGEMENT IN GRAVIDANZA.....	8
Misure di prevenzione.....	8
Diagnosi di infezione primaria da CMV in gravidanza.....	8
MANAGEMENT DEL FETO.....	11
Esami strumentali.....	11
Diagnosi prenatale invasiva.....	12
Cordocentesi.....	14
Strategie di trattamento.....	14
Parto e allattamento.....	14
MANAGEMENT NEL NEONATO.....	15
Diagnosi.....	15
Manifestazioni cliniche.....	17
Valutazione clinico-laboratoristico-strumentale del bambino con infezione congenita da CMV.....	19
Terapia.....	20
Diagnosi tardiva dell'infezione congenita da CMV.....	22
INDICAZIONI AL LABORATORIO.....	22
Test sierologici di screening.....	22
Test virologici.....	23
Referto commentato.....	23
Conservazione dei campioni.....	23
RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI.....	24
ALLEGATO 1: nota informativa sulle misure igienico-sanitarie per la prevenzione dell'infezione primaria da CMV umano nella gestante	32
ALLEGATO 2 : programma per la valutazione clinico-laboratoristico-strumentale del bambino con infezione congenita da CMV.....	33
ALLEGATO 3: indicazioni alla terapia antivirale in neonati con infezione congenita da CMV.....	34
ALLEGATO 4: raccomandazioni per l'infezione da CMV in gravidanza.....	35
Direzioni future.....	36
ALLEGATO 5: raccomandazioni per l'infezione da CMV nel neonato.....	37
Direzioni future.....	38

1. EZIOPATOGENESI, ASPETTI CLINICI ED EPIDEMIOLOGIA

Il Citomegalovirus umano (CMV) è uno degli otto virus, appartenenti alla famiglia *Herpesviridae*, patogeni per la specie umana.

I virioni maturi di CMV hanno forma rotondeggiante con un diametro di circa 200nm e sono formati da un involucro lipoproteico, da un tegumento e da un capsido icosaedrico. CMV è caratterizzato dall'aver uno spettro d'ospite ristretto, dal replicarsi *in vitro* in fibroblasti della specie ospite naturale, dall'aver *in vivo* un ciclo replicativo lento, dall'indurre inclusioni intranucleari e intracitoplasmatiche e dalla capacità di indurre latenza nelle cellule mononucleate del sangue (CD14+) e nei progenitori midollari (CD34+ e CD33+) (1).

Nel corso dell'esistenza dal 40 all'80% degli individui nei Paesi industrializzati e la quasi totalità degli individui nei Paesi in via di sviluppo, va incontro ad infezione da CMV che di norma evolve senza sintomi e si traduce in una infezione latente. In Italia circa il 70-80% della popolazione adulta risulta provvista di anticorpi CMV specifici.

Si ritiene che gli esseri umani siano l'unico reservoir per il CMV umano. La trasmissione avviene per contatto interumano diretto e più raramente indiretto.

Le fonti di infezione includono: secrezioni oro-faringee, urina, secrezioni cervicali e vaginali, sperma, latte materno, lacrime, feci, sangue. La propagazione dell'infezione è favorita dalla eliminazione molto prolungata del virus e dal fatto che la maggior parte delle infezioni decorre in modo asintomatico o paucisintomatico compatibile, quindi, con una normale vita di relazione del soggetto infetto. Nella popolazione adulta, in particolare nelle donne in età feconda, oltre alla via sessuale, il contatto molto stretto e quotidiano con i bambini gioca un ruolo importante per la diffusione dell'infezione (2).

L'infezione da CMV può essere il risultato di un'infezione primaria o non primaria (riattivazione e reinfezione).

CMV è un'importante causa di patologie fetali anche gravi se trasmesso *in utero*, infatti risulta essere la principale causa di infezione congenita nei paesi sviluppati con un'incidenza compresa tra lo 0.3 e il 2.3% di tutti i nati vivi. In Italia l'incidenza è variabile tra lo 0.57 e l'1% (3).

L'incidenza di infezione congenita da CMV è strettamente correlata alla sieroprevalenza materna e al rate di trasmissione che è differente tra infezione materna primaria e non primaria (4). In particolare, dove la sieroprevalenza materna è relativamente bassa, l'incidenza di infezione congenita è variabile tra lo 0.6-0.7% dei nati vivi (1 in ogni 100-150 neonati) (5). Invece nei paesi dove la sieroprevalenza materna è più alta sono riportate percentuali di incidenza variabili tra lo 0.9% e il 2.1% (6-9). Globalmente si stima che oltre il

60% dei bambini con infezione congenita da CMV sono nati da madri con pregressa immunità.

Nonostante ciò, le infezioni materne primarie hanno un impatto clinico globale molto più importante rispetto alle infezioni non primarie (10,11).

Dei neonati infettati congenitamente solo il 10-15% circa viene alla luce con sintomatologia evidente; in questi pazienti la mortalità perinatale è del 10% ed importanti sequele neurologiche (prevalentemente difetti dello sviluppo psicomotorio e ipoacusia neurosensoriale) si osservano in circa il 70-80% di quanti sopravvivono (12). L'85-90%, invece, pur essendo infetto, non presenta alla nascita alcuna sintomatologia. L'8-15% di questi, però presenterà segni tardivi in particolar modo difetti uditivi (12,13).

La trasmissione materno-fetale è legata principalmente all'infezione materna primaria che presenta un rischio di trasmissione variabile tra il 14.2% e il 52.4% (prevalenza combinata 32.4%) (3), percentuali più basse sono osservate nel primo trimestre (~36%) e più alte nel terzo trimestre (~78%) (14). Casi di trasmissione materno-fetale conseguenti ad infezioni non primarie sono stati riportati nello 1-2.2% dei casi, con un rischio di trasmissione quindi, molto più basso di quello delle infezioni primarie (3,10).

L'entità dei danni feto-neonatali, in particolare le severe compromissioni cerebrali, appaiono correlabili prevalentemente all'epoca gestazionale in cui si verifica la trasmissione verticale: un rischio di prognosi feto-neonatale più grave è principalmente correlabile ad una infezione materna primaria contratta nel primo trimestre di gravidanza (15).

Lo stato sierologico materno e il periodo di gestazione durante il quale viene acquisita l'infezione sono pertanto i fattori che condizionano la possibilità e la severità di infezione congenita da CMV.

La maggior parte delle infezioni da CMV nelle donne gravide sono asintomatiche anche durante la fase acuta; possono comparire sintomi non specifici e spesso molto modesti come la febbre persistente (60.2% dei casi), l'astenia (48.8%), la cefalea (26.6%), e la mialgia (15.1%) (16). Le analisi di laboratorio evidenziano qualche volta la presenza di linfocitosi atipica e modesto rialzo delle transaminasi.

2. MANAGEMENT PRE-GRAVIDANZA

Risultati sierologici per CMV ottenuti in donne controllate in epoca pre-concezionale:

IgG negative e IgM negative: la paziente non immune per CMV deve essere informata sulle misure di prevenzione dell'infezione primaria da CMV da applicare fin da prima del concepimento e in gravidanza.

IgG positive e IgM negative: la presenza nel siero di anticorpi IgG specifici e l'assenza di anticorpi IgM sono indicative di infezione pregressa e non prevedono ulteriori accertamenti in gravidanza. Infatti, anche se non completamente protettiva, l'immunità acquisita mette al riparo dall'infezione primaria in gravidanza che comporta il maggior rischio per il feto, mentre l'eventualità di reinfezione o riattivazione –pur non escludibile– comporterebbe un rischio prospettico di danno fetale non superiore a quello insito nello stato gravidico di per sé (17).

IgG positive, IgM positive, indici di IgG-avidità bassi/moderati: la presenza nel siero di anticorpi IgG ed IgM anti CMV ed indici di avidità delle IgG bassi/moderati sono indicativi di infezione primaria da CMV. Ciò implica che la gravidanza sia procrastinata.

Programmazione di una gravidanza dopo diagnosi di infezione primaria da CMV

In questi casi è opportuno attendere dai 6 ai 12 mesi dalla diagnosi di infezione primaria prima di programmare una gravidanza (18-20). Dopo questo periodo è indicato eseguire esami di laboratorio che testimonino la fine dell'infezione primaria attiva da CMV.

In particolare, se la gravidanza è programmata dopo 6 mesi dall'infezione primaria accertata è appropriato eseguire sia un controllo sierologico che prevede la ricerca delle IgG ed IgM anti CMV e il test di avidità delle IgG anti CMV e sia tre controlli virologici sequenziali, eseguiti a 2/3 settimane l'uno dall'altro, che prevedono la ricerca ematica del DNA virale (18-20). E' opportuno eseguire la ricerca di CMV-DNA nel sangue *in toto* (DNAemia) mediante PCR Real Time in quanto la completa negatività di tre consecutivi prelievi permette di escludere con elevata probabilità la presenza nel sangue, anche intermittente, di tracce del virus e/o dei suoi componenti.

Invece, se la gravidanza è programmata dopo 12 mesi dall'infezione primaria accertata, è sufficiente eseguire solo un controllo sierologico che prevede la ricerca degli anticorpi IgG e IgM anti CMV e il test di avidità delle IgG anti CMV.

In ambedue le situazioni, in caso di risultati discordanti ottenuti dagli esami sierovirologici, è opportuno rivolgersi ad un laboratorio di riferimento.

3. MANAGEMENT IN GRAVIDANZA

Il Decreto Ministeriale DPR 245 del 10.09.1998 attualmente in vigore, non prevede la partecipazione del SSN ai costi delle prestazioni specialistiche riferibili all'infezione da CMV da eseguire pre e durante la gravidanza.

Le linee guida sulla gravidanza fisiologica pubblicate nel novembre 2010 e revisionate a settembre 2011 (Ministero della Salute, Istituto Superiore di Sanità e CeVEAS - http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1436_allegato.pdf), “non prevedono l'offerta dello screening sierologico per CMV a tutte le donne in gravidanza, ma solo a quelle in condizioni di rischio, cioè alle donne che sviluppano una malattia simil-influenzale durante la gravidanza, alle lavoratrici sieronegative che hanno in custodia dei bambini, alle donne in gravidanza che hanno un bambino in asilo nido o dopo il rilevamento dei segni ecografici indicativi di infezione da CMV”.

Tuttavia, esiste di fatto uno “screening” spontaneo e disomogeneo nelle varie realtà regionali che comporta la necessità di impostare un corretto iter procedurale per la gestione delle gravidanze complicate dall'infezione da CMV.

MISURE DI PREVENZIONE

Poiché a tutt'oggi non è disponibile un vaccino per l'immunizzazione attiva della donna in età fertile, la prevenzione dell'infezione nella gravida può avvalersi unicamente di alcune norme igienico-comportamentali volte ad evitare le possibili fonti di contagio ovvero il contatto diretto con qualunque materiale organico (21-23) (*vedi allegato 1*).

DIAGNOSI DI INFEZIONE PRIMARIA DA CMV IN GRAVIDANZA

Donne sieronegative per CMV al primo controllo in gravidanza: la gravida non immune (anticorpi IgG e IgM anti CMV negativi), e perciò a rischio di acquisire l'infezione primaria, deve innanzitutto essere informata relativamente a semplici norme comportamentali ed igieniche che, pur non risolutive, sono in grado di ridurre la possibilità di contagio.

La gravida sieronegativa dovrebbe quindi essere sottoposta ad indagini sierologiche periodiche. Pur non esistendo linee guida al riguardo, sembra ragionevole il controllo mensile fino a 18-20 settimane di età gestazionale per consentire, in caso di sieroconversione, la messa in atto degli accertamenti sul feto. Se la sieronegatività materna persiste, i controlli sierologici possono essere dilazionati o ridotti ad un solo controllo a 35-37 settimane di età gestazionale per consentire, in caso di sieroconversione tardiva, di selezionare i neonati a rischio di infezione congenita.

Donne sieropositive per CMV: la presenza nel siero degli anticorpi IgG specifici (e contemporanea assenza di anticorpi IgM) al primo controllo in gravidanza (entro le 16 settimane di gestazione) è indicativa di infezione pregressa e non prevede ulteriori accertamenti.

Infatti, anche se non completamente protettiva, l'immunità acquisita mette al riparo dall'infezione primaria in gravidanza che comporta il maggior rischio per il feto, mentre l'eventualità di reinfezione o riattivazione –pur non escludibile nel corso della gravidanza stessa- comporterebbe un rischio prospettico di danno fetale non superiore a quello insito nello stato gravidico di per sé.

Donne sieropositive per IgM e sieronegative per IgG anti-CMV: le IgM devono essere confermate con altra metodica avente la stessa sensibilità del test di screening.

E' consigliato ripetere il controllo sierologico nello stesso laboratorio a distanza di 10-15 giorni per valutare una eventuale sieroconversione delle IgG che insieme alla conferma delle IgM è sufficiente alla diagnosi di infezione primaria in atto.

Al contrario, la persistenza di positività delle IgM con IgG negative equivale ad una falsa positività o una reazione crociata ad altre infezioni (Parvovirus, *Toxoplasma gondii*, Virus Epstein-Barr ect) o stimolazioni aspecifiche del sistema immunitario indotte da malattie autoimmuni. In questi casi la paziente risulta essere a rischio di acquisire l'infezione primaria da CMV e quindi deve essere informata relativamente a semplici norme comportamentali ed igieniche che, pur non risolutive, sono in grado di ridurre la possibilità di contagio. Si suggerisce inoltre, di continuare i controlli sierologici periodici (vedi capitolo "*Donne sieronegative per CMV al primo controllo in gravidanza*").

Donne sieropositive per IgG e IgM anti CMV e che non conoscono il loro stato sierologico pre-gravidico: la diagnosi di infezione da CMV in questo gruppo di donne è molto complessa. La maggior parte delle infezioni sono asintomatiche anche durante la fase acuta e quindi, l'unica soluzione per individuare le gravide con infezione primaria è quella di sottoporle durante la gestazione (più precocemente possibile, non oltre le 12-16 settimane di età gestazionale) ad una serie di esami specifici.

Se gli esami sono eseguiti per la prima volta dopo le 18-20 settimane di età gestazionale, i risultati che si ottengono possono non permettere un inquadramento.

Il test per la ricerca delle IgM anti CMV: la presenza o un alto titolo di IgM anti-CMV in una gravida non devono essere usati come "unico metodo" per identificare un'infezione

primaria. Quando vengono ritrovate IgM anti CMV in una donna gravida il problema diagnostico è ancora completamente aperto e rappresenta semplicemente un punto di partenza per una valutazione diagnostica di livello superiore (24-26).

Il test di avidità delle IgG anti-CMV: il grado di avidità degli anticorpi aumenta progressivamente e lentamente nel tempo ed è sinonimo di maturazione della risposta immune. Occorrono in media circa 18-20 settimane dall'inizio dell'infezione primaria da CMV affinché il sistema immunitario produca anticorpi IgG completamente maturi e quindi ad alta avidità (27,28).

L'interpretazione del test di avidità delle IgG richiede molta cautela ed è importante valutare ogni volta con attenzione i valori di riferimento che variano per ogni kit diagnostico (29).

L'efficacia diagnostica del test di avidità per escludere un' infezione primaria nella prima parte della gravidanza è ottimale qualora la determinazione avvenga precocemente, non oltre le 12-16 settimane di età gestazionale (28,30-34), in relazione ai valori di riferimento del saggio utilizzato.

Entro le 12-16 settimane di età gestazionale:

- indici di avidità bassa-moderata delle IgG anti CMV sono da ascrivere ad infezione primaria da CMV (28,30-31,33).
- indici di alta avidità delle IgG anti CMV indicano invece assenza di infezione primaria (31,34).

Dopo le 16 settimane di età gestazionale: il test di avidità delle IgG perde di efficacia diagnostica (28,31) per l'impossibilità di dare un'interpretazione diagnostica agli indici di alta avidità.

N.B.: il ritrovamento nel siero di anticorpi CMV-IgG specifici a bassa-moderata avidità è sempre suggestivo di infezione primaria recente indipendentemente dall'epoca gestazionale.

In casi selezionati per il completamento della diagnosi sierologica, si suggerisce se possibile, di eseguire altri test avanzati quali l'immunoblot (35) e/o il test di neutralizzazione tradizionale (36). Questi esami di secondo livello sono ad appannaggio di laboratori di riferimento.

Diagnosi Virologica

Le procedure virologiche – ricerca del virus e/o dei suoi componenti nel sangue o in altri liquidi biologici - nelle donne in gravidanza rivestono un ruolo secondario per la diagnosi di infezione primaria da CMV (16,37).

Nelle donne in gravidanza con accertata infezione primaria da CMV il virus nel sangue materno può essere ritrovato come non esserlo. In caso di positività nel sangue il risultato conferma la diagnosi di infezione primaria. In caso di negatività il risultato non esclude l'infezione primaria (16,37).

E' importante sottolineare comunque che il ritrovamento del virus nel sangue – mediante test dell'antigenemia e/o Real Time PCR - non correla né con l'andamento clinico dell'infezione, né con un maggior rischio di trasmissione intrauterina e neppure con la severità di compromissione del feto/neonato (16,37).

4. MANAGEMENT DEL FETO

Per lo studio del feto ci si può avvalere della diagnostica prenatale invasiva e dell'esame ecografico (38-39). In relazione al più alto rischio di trasmissione madre-feto e di danno fetale, la diagnosi prenatale invasiva viene proposta alle donne che hanno contratto l'infezione primaria da CMV nella prima metà della gravidanza (documentata da sierconversione anticorpale o da test sierologici avanzati) e in caso di anomalie fetali suggestive di infezione.

ESAMI STRUMENTALI

L'esame ecografico può evidenziare anomalie strutturali (ventricolomegalia, iperecogenità cerebrale, alone ecogeno periventricolare, cisti subependimali, cisti del corno occipitale altresì detta adesione intraventricolare, calcificazioni intracraniche, lissencefalia, ipoplasia cerebellare, microcefalia, intestino iperecogeno, calcificazioni epatiche, oligoidramnios, polidramnios, epatosplenomegalia, ascite e meno frequentemente anomalie cardiache) (40) e/o dell'accrescimento riconducibili all'infezione da CMV, ma a fronte del vantaggio della non invasività ha il limite di una bassa sensibilità anche in mani esperte (31). Ormai è correntemente accettato che l'ecografia, eseguita a 20-21 settimane di età gestazionale, identifichi non più del 20% dei feti infetti (32,41-44).

Un'anomalia strutturale può essere evidenziata tardivamente dopo precedenti controlli negativi e viceversa anomalie strutturali borderline riscontrate precocemente in gravidanza possono essere del tutto transitorie.

Un reperto ecografico normale è certamente rassicurante per la gravida ma non predittivo di normalità alla nascita; un reperto francamente patologico (ad esempio calcificazioni cerebrali multiple, ventricolomegalia, idrocefalia, idrotorace, ascite ect.) correla significativamente con

una prognosi sfavorevole (32,41-44), in particolare quando sia noto lo stato di infezione del feto (41).

Il primo controllo ecografico non dovrebbe essere eseguito prima di 6 settimane dal presunto contagio materno. In generale, per le infezioni del primo trimestre è fondamentale l'ecografia delle 20-21 settimane di età gestazionale, epoca in cui vengono studiate le strutture fetali con particolare attenzione al sistema nervoso centrale, all'apparato gastro-enterico e ad alterazioni del liquido amniotico in quanto sedi delle più frequenti anomalie riferibili all'infezione da CMV (45-47). Oltre al controllo morfologico a 20-21 settimane di età gestazionale sono indicati controlli ecografici successivi (a 27-29 e 30-32 settimane di età gestazionale) per identificare alterazioni dell'accrescimento intrauterino fetale (IUGR) e/o sviluppo tardivo di anomalie strutturali (48-51).

Infine, in caso di sospette anomalie all'ecografia o anomalie di natura od entità non sufficientemente chiara all'ecografia stessa (47), non prima delle 22-23 settimane di età gestazionale può essere proposta alla donna gravida la Risonanza Magnetica Fetale (RMF) al fine di ottenere ulteriori informazioni utili alla diagnosi e al counselling (Linee Guida SIEOG 2010:3. Indicazioni allo studio RMF). L'esecuzione di questo esame è consigliata in casi selezionati e in centri con esperienza in RMF.

DIAGNOSI PRENATALE INVASIVA

La diagnosi prenatale invasiva è effettuata tramite amniocentesi e prevede un prelievo di liquido amniotico sotto controllo ecografico non prima di 20-21 settimane di età gestazionale e ad almeno 6-8 settimane dall'inizio dell'infezione materna (32,43,44,52-56).

In caso di accertata anomalia strutturale fetale la diagnosi prenatale invasiva può essere proposta anche più tardivamente.

Il momento di esecuzione dell'amniocentesi è scelto tenendo conto che :

- CMV è un virus a lenta replicazione e si calcola che occorrono circa 6-8 settimane dopo l'infezione materna affinché il virus infetti la placenta, arrivi al sangue fetale e tramite il sangue invada e si replichi produttivamente negli organi bersaglio (56). Sede elettiva di replicazione è il rene e il virus viene così eliminato con la diuresi fetale nel liquido amniotico;
- dopo le 20 settimane di età gestazionale il feto produce quantità sufficienti di urina tali da permettere di rilevare il virus nel liquido amniotico. Quando la diagnosi prenatale è stata eseguita in epoche gestazionali più precoci, sono stati osservati frequentemente risultati falsi negativi dovuti alla scarsa eliminazione del virus attraverso il rene fetale, a causa proprio della ridotta diuresi (53).

Prelievo di liquido amniotico: prelevare 10 ml di liquido amniotico, raccogliendolo in provetta sterile, inviare il campione molto rapidamente al laboratorio per la buona riuscita della diagnosi. Il trasporto può avvenire a temperatura ambiente se di breve durata (15 minuti) altrimenti a 4-8°C.

Il liquido amniotico è correntemente analizzato mediante:

- isolamento virale per la ricerca diretta del virus infettante (metodo shell vial) e/o
- PCR per la ricerca e quantificazione del genoma virale (PCR Real Time).

Al fine di migliorare l'affidabilità della diagnosi di infezione da CMV nel feto è necessario eseguire almeno due test virologici (isolamento virale e PCR Real Time oppure due format diversi di PCR Real Time) (57).

Poiché la quantità di virus nel liquido amniotico può essere molto bassa, dovrebbe essere processato almeno 1 ml di liquido amniotico sia per l'isolamento virale che per ciascuno dei test molecolari. Il campione non deve essere centrifugato prima dell'uso per analizzare la componente cellulare.

La positività ad uno o più test eseguiti su liquido amniotico indica infezione congenita (valore di predittività positiva=100%) (43,58,59).

La negatività a tutti i test eseguiti non esclude un risultato falso negativo (valore di predittività negativa = 94.2% intervallo) (43,58,59).

Interpretazione dei risultati quantitativi di CMV-DNA nel liquido amniotico

Il ritrovamento nel liquido amniotico -prelevato nei tempi corretti (ad almeno 6-8 settimane dall'inizio dell'infezione materna e tra le 20-21 settimane di età gestazionale)- di tracce di DNA virale cioè al di sotto del limite inferiore del range di linearità (ad esempio quantità inferiori a 500 o 1000 copie/ml di liquido amniotico) permette di escludere con elevata probabilità eventuali compromissioni del neonato alla nascita e/o successive progressioni dell'infezione con comparsa di sequele tardive quali ad esempio deficit a carico dell'udito e/o ritardo dello sviluppo psico-motorio (16,59).

Quantità elevate di virus nel liquido amniotico non associate ad anomalie ecografiche (ad esempio quantità superiori a 10^5 - 10^6 copie/ml) tendenzialmente sono riferibili a feti/neonati affetti da severe infezioni. Questa correlazione però non è assoluta in quanto nel 40-50% dei casi le infezioni congenite risultano asintomatiche alla nascita e durante il follow up neonatale nonostante l'elevato carico virale nel liquido amniotico (43,58,60,61).

Quantità elevate di virus nel liquido amniotico, se associate ad esami ecografici francamente patologici, assumono invece validità prognostica nell'individuare i feti/neonati infetti a rischio di sintomatologia clinica severa (32,41,47).

CORDOCENTESI

Il prelievo di sangue fetale non può essere eseguito a scopi diagnostici ma può essere solo parte di una valutazione prognostica (44,62,63).

I test sierovirologici (CMV-IgM e CMV-DNA) e biochimici (conteggio piastrine, transaminasi e gamma GT) eseguiti sul sangue fetale raggiungono la loro massima sensibilità prognostica se il prelievo di sangue viene eseguito dopo le 30 settimane di gestazione (44,62). Recentemente alcuni dati in letteratura hanno osservato come una valutazione di più parametri sierovirologici, ematologici e biochimici del sangue fetale, prelevato in 20-21 settimane di età gestazionale, acquisisca maggiore predittività prognostica (64). Si ritiene tuttavia, che siano necessarie casistiche più ampie per validare la sensibilità e l'efficacia prognostica di questa particolare valutazione condotta in un precoce periodo gestazionale.

STRATEGIE DI TRATTAMENTO

Per la gravida che acquisisca l'infezione mancano farmaci specifici utilizzabili in epoca prenatale in grado di ridurre il rischio di trasmissione verticale o di curare il feto *in utero* (65). Attualmente sono in corso due trial clinici per la valutazione dell'efficacia e della sicurezza della somministrazione di immunoglobuline iperimmuni CMV-specifiche in donne gravide con infezione primaria in fase acuta da CMV per la prevenzione dell'infezione congenita. In particolare, i) lo studio italiano C.H.I.P. (Congenital HCMV Infection Prevention), studio randomizzato prospettico multicentrico di fase IIB, in doppio cieco, farmaco verso placebo (terminato ottobre 2011) e, ii) lo studio tedesco Biotest®, studio prospettico multicentrico di fase III, braccio singolo in aperto (in corso)(66).

Infine, in Francia è in corso uno studio clinico randomizzato prospettico in doppio cieco, farmaco verso placebo, per valutare l'efficacia di trattamento con il valacyclovir di feti compromessi dall'infezione da CMV (66).

PARTO E ALLATTAMENTO

L'infezione da CMV non è indicazione al parto cesareo e non controindica l'allattamento al seno.

5. MANAGEMENT NEL NEONATO

L'infezione da CMV è la più frequente tra le infezioni congenite nei Paesi industrializzati (3). Nel nostro Paese è stata evidenziata una incidenza di poco meno di un infetto su cento nati vivi. Considerando che ogni anno in Italia nascono più di 550.000 neonati, possiamo ipotizzare di avere oltre 5.000 neonati all'anno con infezione congenita da CMV. L'impatto di questa infezione sulla salute pubblica è considerevole, essendo la prima causa di sordità neurosensoriale non genetica in età pediatrica (si ritiene sia responsabile di circa 1/3 delle sordità infantili) ed un importante fattore di rischio per lo sviluppo di deficit visivi, intellettivi e motori. In Italia, così come nella maggior parte del mondo, non vi sono programmi di screening dell'infezione congenita nei neonati. Tuttavia, in molte aree la sierologia materna per CMV in gravidanza viene consigliata, con conseguenti ricadute diagnostico-assistenziali sui neonati.

In caso di sospetta/accertata infezione da CMV in gravidanza (primaria o non primaria) e/o sospetto clinico neonatale è necessario procedere alle indagini neonatali per la diagnosi di infezione congenita da CMV che, se confermata, deve dar luogo a valutazioni clinico-laboratoristico-strumentali atte a definire il coinvolgimento di organi ed apparati. In base a questi elementi potrà essere espresso un giudizio prognostico, avviato il follow up e, ove indicata, iniziata la terapia.

DIAGNOSI

Diagnosi virologica: il metodo di riferimento per la diagnosi neonatale è l'isolamento del virus eseguito su colture di fibroblasti embrionali umani, in campioni di urina (o eventualmente saliva) raccolti entro le prime 2-3 settimane di vita (67,68). Anche la ricerca del DNA virale mediante PCR Real Time eseguita sugli stessi materiali è un metodo affidabile per diagnosticare l'infezione congenita da CMV (69).

Prelievo di campione di urina: prelevare 2-3 ml di urina, raccogliendo il campione in provetta sterile. E' possibile conservare a 4-8°C il campione fino a 24 ore prima dell'invio al laboratorio. Per la buona riuscita della diagnosi non congelare mai il campione di urina. Il trasporto al laboratorio può avvenire a temperatura ambiente se di breve durata (15 minuti), altrimenti il campione deve essere trasportato mantenendolo a 4-8°C.

Prelievo di campione di saliva: raccogliere la saliva con tampone sterile, inserire il tampone nel terreno di trasporto per virus (ad esempio tamponi UTM Copan), spezzare il bacchetto e lasciare il tampone all'interno della provetta. Il trasporto può avvenire a temperatura ambiente se di breve durata (15 minuti), altrimenti a 4-8°C.

Se la diagnosi è eseguita in tempi successivi alle 3 settimane di vita, le positività dei test possono non essere sicuramente riferibili ad una infezione contratta *in utero*, bensì ipoteticamente riconducibili anche ad infezione contratta durante il passaggio lungo il canale del parto o attraverso il latte materno infetto.

In caso di risultato negativo dell'isolamento virale o della PCR Real Time su urina (o saliva), considerando l'elevata sensibilità di questi test ed il carico virale generalmente elevato e protratto nel tempo, il neonato non è da ritenere infetto e l'esame non merita di essere ripetuto.

Al contrario, in caso di positività dei test, il neonato è da ritenersi infetto e non sono necessarie ulteriori conferme diagnostiche.

Tuttavia, particolare attenzione deve essere posta quando per la diagnosi di infezione congenita (70) si utilizzi solo il campione di saliva, in quanto è possibile il rischio di contaminazione del campione da parte del latte materno potenzialmente infetto. Dunque, nell'eventualità si utilizzi la sola saliva, questa va raccolta lontano dalle poppate con latte materno. E' comunque prudente confermare questa positività entro le prime due/tre settimane di vita con la ricerca del virus su un campione di urina, specie se programmato il trattamento con antivirali.

La diagnosi virologica di infezione congenita da CMV su campione ematico ha una sensibilità diagnostica più bassa (71). Tuttavia, in caso di positività dei test eseguiti su campioni di sangue prelevati entro le prime 2-3 settimane di vita, la diagnosi di infezione congenita è comunque certa (specificità del 100%).

Prelievo di sangue: prelevare 1 ml di sangue, raccoglierlo in provetta Vacutainer con EDTA. E' possibile conservare il campione di sangue a temperatura ambiente fino a 24 ore prima dell'invio al laboratorio. Per la buona riuscita della diagnosi la conservazione e il trasporto del campione di sangue devono essere effettuati a temperatura ambiente. *N.B.: il campione di sangue non deve essere refrigerato e/o congelato.* La valutazione del carico virale su sangue o urina mediante isolamento virale e/o PCR quantitativa Real-Time ha dimostrato di rappresentare un indicatore prognostico e in questa ottica, associata ad altri marker prognostici, può essere dunque eseguito ed interpretato (72-74).

Tuttavia, allo stato attuale non gioca isolatamente un ruolo nella scelta terapeutica.

Ove vi sia l'indicazione per il trattamento con antivirali, la valutazione seriata del carico virale su sangue e urina mediante PCR quantitativa Real-Time (preceduta dalla valutazione prima dell'inizio del trattamento) fornisce indicazioni circa l'efficacia terapeutica.

Diagnosi sierologica: la ricerca sierologica non trova indicazione nella diagnosi di infezione congenita da CMV. Infatti, la presenza di IgG CMV-specifiche su siero neonatale non è indicativa di infezione congenita, per la possibilità del rilievo della quota anticorpale di origine materna, passata attraverso la placenta. Vi è inoltre ampia variabilità nel ritrovamento delle IgM sieriche (20-70% dei neonati infetti), connessa alla risposta immunitaria del neonato, nonché alla tipologia del test sierologico utilizzato (75,76). La presenza di IgM CMV-specifiche in epoca neonatale identifica tuttavia un'infezione congenita (100% di specificità).

MANIFESTAZIONI CLINICHE

Il 10-15% dei neonati che contraggono l'infezione *in utero* è sintomatico alla nascita (73). Meno di un terzo dei bambini con malattia severa alla nascita muore nel periodo perinatale per disfunzione multi-organo, conseguente a grave insufficienza epatica, coagulazione intravasale disseminata, emorragie, importante coinvolgimento neurologico (5,12).

Infezione congenita sintomatica: il quadro clinico nel neonato sintomatico può essere variamente rappresentato da forme pauci-sintomatiche, nelle quali possono essere presenti solo alterazioni laboratoristiche che fanno presupporre il coinvolgimento del sistema reticolo endoteliale (ipertransaminasemia, ittero precoce con bilirubina diretta $\geq 3\text{mg/dl}$, porpora, petecchie/piastrinopenia), o forme più gravi con ulteriore compromissione d'organo quali polmonite, epatosplenomegalia, ascite, anomalie del sistema nervoso centrale (talvolta accompagnate da segni clinici quali ipotonia, difficoltà all'alimentazione, ipereccitabilità e/o convulsioni, anomalie neurosensoriali con ipoacusia e/o deficit visivi). Nel 50% dei casi è presente ritardo di crescita intrauterino e basso peso neonatale, mentre la prematurità riguarda 1/3 dei casi sintomatici (12).

La microcefalia (definita come misura della circonferenza cranica inferiore al 3° percentile secondo l'età) è presente nella metà dei casi sintomatici ed è il fattore predittivo più specifico di ritardo mentale, soprattutto se associata a ritardo di crescita intrauterino (12, 77-79).

Le anomalie del sistema nervoso centrale, rilevabili con le tecniche di neuroimaging, sono rappresentate principalmente da: ventricolomegalia, pseudocisti, calcificazioni, atrofia cerebrale, ipoplasia e calcificazioni cerebellari, alterazioni o riduzione del volume della sostanza bianca, alterazioni della migrazione neuronale (80). Le anomalie cerebrali (soprattutto calcificazioni) sono state riscontrate nel 70% dei bambini sintomatici (81,82).

Il riscontro di anomalie cerebrali entro il primo mese di vita rappresenta l'indicatore più specifico di comparsa di deficit psico-motori a distanza (83) e la loro esclusione, al contrario, è indicatore prognostico favorevole (84).

Sono riportati in associazione anche difetti uditivi e visivi di varia entità. Più del 50% dei nati con infezione sintomatica e circa il 10% degli asintomatici alla nascita svilupperà ipoacusia neurosensoriale, variabile tra forme lievi e profonde, con deterioramento progressivo in circa il 50% dei casi (83).

Anche l'apparato visivo, sebbene meno frequentemente, può essere coinvolto nell'infezione congenita da CMV e manifestarsi come corioretinite con lesioni retiniche a sede centrale, non progressive e riportate nel 14% dei pazienti con infezione sintomatica (12,85), o meno frequentemente come microftalmia, cataratta, strabismo, atrofia ottica.

In alcuni casi di infezione congenita sono state osservate anche anomalie dello smalto dei denti, evidenti solo nella dentizione primaria (86).

Infezione congenita asintomatica: circa l'85-90% dei neonati infetti non presenta segni clinici di malattia in epoca neonatale, con sostanziale buona prognosi neurologica a distanza. Tuttavia il 10-15% di questi neonati ha nei primi 2 anni di vita un rischio aumentato di insorgenza di deficit di sviluppo motorio come diplegia o quadriplegia spastica, ritardo mentale, microcefalia, corioretinite. Tra i sintomi neurosensoriali (talvolta ad insorgenza tardiva) il più frequente è l'ipoacusia: circa il 7% dei bambini asintomatici alla nascita sviluppa deficit uditivo neurosensoriale, che nel 50% dei casi è bilaterale e nel 50% dei casi è di tipo progressivo, con un primo peggioramento della funzione uditiva riscontrato tra 2 e 70 mesi di età. Inoltre il 18% di essi presenterà il primo riscontro di ipoacusia tardivamente (25-62 mesi di vita) e nel 22% dei casi l'ipoacusia sarà di tipo "fluttuante" in valutazioni successive, verosimilmente in relazione alla replicazione/riattivazione del virus e alla risposta infiammatoria locale (83). Queste osservazioni possono far sorgere dubbi sull'efficacia dello screening uditivo alla nascita, che sarebbe in grado di evidenziare meno della metà di tutti i casi di ipoacusia legati all'infezione congenita da CMV: alcuni autori, pertanto auspicano, data la rilevanza del problema, l'associazione dello screening uditivo neonatale con lo screening per infezione congenita da CMV (87,88).

Il 2-7% dei neonati asintomatici sviluppa nei primi 2 anni di vita microcefalia associata a vari gradi di ritardo mentale e difetti neuromotori. Non vi sono dati conclusivi riguardo a disturbi dell'apprendimento scolastico o comportamentali minori correlabili all'infezione congenita da CMV (89), seppur ipotizzabili.

VALUTAZIONE CLINICO-LABORATORISTICO-STRUMENTALE DEL BAMBINO CON INFEZIONE CONGENITA DA CMV

Il neonato in cui è stata documentata l'infezione congenita da CMV deve essere sottoposto a valutazioni clinico-laboratoristico-strumentali per definire il quadro complessivo che condiziona la prognosi, il follow up e le scelte terapeutiche.

Pertanto il neonato deve essere sottoposto ad attento **esame clinico** con associata **valutazione dei parametri auxologici** (in particolare valutare la circonferenza cranica e correlare il peso all'età gestazionale per evidenziare un eventuale ritardo di crescita intrauterino).

Va sottoposto inoltre ad **esami di laboratorio** per monitorare la funzionalità del sistema ematopoietico (emocromo con formula leucocitaria e piastrine) ed epatobiliare (transaminasi, bilirubinemia totale e diretta, gamma GT, fosfatasi alcalina, PT-PTT). La valutazione del carico virale su sangue/urina mediante PCR quantitativa è indicata, poiché, associata ad altri marker prognostici, può contribuire ad una migliore definizione della prognosi (72-74,89,90). Inoltre, la sua determinazione, in caso di scelta di trattamento con antivirali può ben monitorare la risposta terapeutica.

Gli **esami strumentali** necessari per stabilire l'entità del quadro clinico in caso di infezione congenita da CMV, che pertanto vanno eseguiti più precocemente possibile (entro il primo mese di vita), sono:

- **esame oftalmoscopico indiretto** in cicloplegia da eseguire precocemente (raccomandato entro il primo mese di vita) e successivamente al 3° mese. Se presente danno all'apparato visivo, il follow up sarà concordato con l'oculista, con valutazioni presumibilmente più ravvicinate e prolungate nel tempo, considerando eventuali terapie riabilitative/correttive. La valutazione oculistica è consigliabile sia ripetuta a 1, 2 e 6 anni di vita (*vedi allegato 2*).

- valutazione della funzione uditiva mediante **ricerca di soglia uditiva (Auditory Brainstem Response, ABR)**: la diagnosi di sordità neurosensoriale si basa sul riscontro di soglia uditiva > 30 dB in due o più test audiologici successivi ravvicinati, in assenza di alterazioni della conduzione dell'orecchio medio, escluse con timpanometria (77,91). L'ipoacusia neurosensoriale è il risultato di un danno della coclea e/o del nervo uditivo e pertanto il test ABR va eseguito e preferito rispetto al test delle otoemissioni acustiche: infatti quest'ultimo, indagando soltanto l'apparato cocleare, può dare risultati falsamente negativi. Alla luce delle recenti indicazioni per la presa in carico precoce in caso di sordità infantile (92,93), è auspicabile che l'identificazione di ipoacusia, ove presente, avvenga entro il 3° mese di vita per poter attuare un pronto programma riabilitativo. Si sottolinea la importanza di ripetere la valutazione della funzione uditiva a 6, 12 e 18 mesi e poi annualmente fino all'età scolare

(vedi allegato 2), per evidenziare la possibile comparsa tardiva di ipoacusia e/o per monitorare un possibile peggioramento del danno uditivo. Se presente ipoacusia, il follow up audiometrico sarà concordato con l'audiologo, con valutazioni presumibilmente più ravvicinate e prolungate nel tempo, considerando eventuali terapie riabilitative/correttive.

- **ecografia addominale** che può evidenziare epatosplenomegalia, versamento ascitico, intestino iperecogeno.

- **ecografia cerebrale** che permette di evidenziare presenza di calcificazioni, ventricolomegalia, atrofia cerebrale, aree cistiche periventricolari, vasculopatia lenticolostriatale, anomalie cerebellari, completata da **Risonanza Magnetica Cerebrale**, che meglio evidenzia le anomalie cerebellari e della sostanza bianca (in particolare polimicrogiria) ed alterazioni nella migrazione neuronale, per orientare eventuali scelte terapeutiche. L'uso di TC **cerebrale** (assolutamente non routinario) andrebbe riservato a pochissimi casi nei quali sussista il dubbio ecografico circa la presenza isolata di calcificazioni cerebrali. La valutazione del Sistema Nervoso Centrale (SNC) mediante gli esami di neuroimaging ha un'elevata valenza dal punto di vista prognostico e nell'identificare il bambino che deve essere sottoposto a trattamento antivirale: è pertanto raccomandato eseguire queste indagini, possibilmente entro il primo mese di vita.

Va segnalato che il riscontro ecografico isolato di iperecogenicità lenticolostriatali, pur considerando esperienze isolate (89), essendo aspecifico e comune anche ad altre condizioni patologiche e non, non sembra avere valore prognostico, né si ritiene, fino a evidenze ulteriori, elemento per il quale iniziare la terapia antivirale.

La registrazione **EEG** può completare le indagini diagnostiche in caso di coinvolgimento del SNC.

Il follow up dei nati con infezione congenita da CMV (anche se asintomatici), dopo il primo mese di vita, deve essere condotto a 3, 6, 12, 18, 24 mesi di vita e poi annualmente fino all'età scolare (vedi allegato 2). La valutazione deve comprendere l'esame clinico, la rilevazione e registrazione dei parametri auxologici (in particolare la circonferenza cranica), la valutazione neurologica e psicomotoria, la valutazione uditiva mediante test adeguato all'età, la valutazione della funzionalità visiva. Il riscontro o l'insorgere di elementi patologici condiziona i controlli clinici successivi (vedi allegato 2), in accordo con gli specialisti indicati.

TERAPIA

Il management del bambino con infezione congenita da CMV si basa su una corretta e precoce diagnosi di infezione e sulla definizione dell'estensione della malattia (*vedi allegato 3*). In base a questi dati viene valutata l'opportunità di intraprendere il trattamento antivirale dopo adeguata informazione della famiglia, che conduca alla raccolta di un consenso informato scritto ed alla pianificazione del follow-up.

Ad oggi non vi è indicazione al trattamento terapeutico in caso di infezione congenita da CMV asintomatica.

Nel 2003 uno studio di fase III randomizzato e controllato (94) ha dimostrato che il trattamento ev con ganciclovir (GCV) (Cymevene® iv Fl+F 500mg/10ml RECORDATI, Citovirax iv FL 500mg/10ml, ROCHE) per 6 settimane delle infezioni congenite sintomatiche con coinvolgimento del SNC (microcefalia, calcificazioni intracraniche, anomalie del liquido cefalo-rachidiano, corioretinite e/o deficit uditivi) previene il deterioramento della funzione uditiva e psico-motoria dei bambini infetti. La terapia antivirale, inoltre, ha dimostrato migliorare anche l'outcome neurologico a distanza (95).

In questi casi, il trattamento deve essere iniziato precocemente e possibilmente entro il primo mese di vita. Attualmente non vi sono dati derivabili da trial clinici randomizzati circa il trattamento iniziato dopo il mese di vita in caso di infezione congenita, con sintomi (tipicamente l'ipoacusia) insorti dopo questa età o con diagnosi retrospettiva. Vi sono tuttavia a riguardo singole esperienze positive (96-97).

Nel trattamento dell'infezione congenita sintomatica sono stati usati al momento il GCV ev (6 mg/Kg ogni 12 ore per 6 settimane) e il suo pro farmaco Valganciclovir (V-GCV) per os (16 mg/kg ogni 12 ore per 6 settimane) sotto forma di sciroppo (Valcyte os polv fl 12g 50mg/ml, ROCHE); entrambi i farmaci agiscono inibendo la replicazione del virus *in vitro* ed *in vivo*. La somministrazione del V-GCV in prossimità dei pasti ne aumenta l'assorbimento.

In modelli animali il GCV (e quindi il V-GCV) è risultato mutageno, teratogeno e carcinogeno con la potenzialità di causare malformazioni alla nascita o neoplasie; al momento attuale non si conoscono segnalazioni nell'uomo (APP, Reedbook 2009, <http://aapredbook.aappublications.org/>). In corso di terapia con GCV o V-GCV sono stati segnalati vari effetti collaterali (comparsa di leucopenia, neutropenia, anemia, trombocitopenia, pancitopenia). Durante il trattamento antivirale con GCV o V-GCV è necessario monitorare ogni una-due settimane gli eventuali effetti collaterali della terapia, mediante valutazione della funzionalità epatica, renale e della crasi ematica. In caso di

comparsa di neutropenia grave (valore di neutrofili al di sotto di 500/mmc, la terapia va temporaneamente interrotta).

Il carico virale va rilevato su sangue e urine prima di intraprendere la terapia e monitorato in un periodo intermedio ed alla sospensione della stessa.

Alcuni esperti hanno opinioni divergenti sul fatto di considerare la sola ipoacusia come espressione del coinvolgimento del SNC (APP, Reedbook 2009, <http://aapredbook.aappublications.org/>). Tuttavia sono riportate esperienze significative e molto incoraggianti (Ref. Kimberlin), di trattamento antivirale in bambini con infezione congenita da CMV che hanno manifestato clinicamente ipoacusia isolata (95,96,98): dunque, in questi casi vi è l'indicazione al trattamento con antivirali.

DIAGNOSI TARDIVA DELL'INFEZIONE CONGENITA DA CMV

Dopo tre settimane di vita le indagini virologiche e sierologiche possono non essere in grado di distinguere un'infezione pre- da una perinatale, potenzialmente contratta durante il parto o con il latte materno; la diagnosi di infezione congenita può allora essere ipotizzata solo in base alla clinica.

Risultati interessanti sono emersi dalla ricerca del genoma virale su sangue adsorbito sulle Guthrie card, collezionate alla nascita per gli screening neonatali (99). Queste indagini virologiche vengono ritenute non eseguibili in tutti i laboratori, in quanto sono estremamente complesse la fasi di estrazione e purificazione del DNA virale (100). Ciò, unitamente a valori di sensibilità variabili tra 49.5 e il 100% (101), non rendono questo esame adatto all'uso routinario, bensì ad una ricerca eziologica retrospettiva in presenza di un quadro clinico fortemente sospetto.

6. INDICAZIONI AL LABORATORIO

La corretta esecuzione e refertazione della diagnostica di laboratorio è sicuramente di grande importanza per il clinico che deve fornire "il counselling" ai pazienti. In questo capitolo sono proposte al laboratorio alcune indicazioni al fine di migliorare ed implementare la qualità e la trasmissibilità ai clinici dei risultati delle indagini diagnostiche correlate alla problematica in oggetto.

TEST SIEROLOGICI DI SCREENING

- I test sierologici di screening impiegati devono avere caratteristiche di elevata sensibilità (>>95%) e specificità (>>95%) e la performance analitica del sistema in uso deve essere verificata da adeguati programmi di qualità interni ed esterni (CQI e VEQ).

I test sierologici di screening devono essere eseguiti su piattaforme automatizzate con trasmissione diretta dei risultati al sistema informatico del laboratorio.

Sul referto devono essere sempre indicati il risultato numerico, la metodica utilizzata, le unità di misura ed i valori di riferimento per l'interpretazione dei risultati.

TEST VIROLOGICI

- Gli isolamenti virali devono essere eseguiti con procedura rapida (metodo shell vial).
- I test molecolari di PCR (reazione polimerasica a catena) impiegati devono essere nel format Real Time, devono avere caratteristiche di elevata sensibilità e specificità e la performance analitica del sistema in uso deve essere verificata da adeguati programmi di qualità interni ed esterni (CQI e VEQ).

Preferenzialmente le procedure di estrazione, amplificazione e rilevazione devono essere basate su piattaforme automatizzate.

Si devono utilizzare kit di PCR Real Time marchiati CE che preferenzialmente devono esprimere i risultati anche in Unità Internazionali (Standard Internazionale HCMV-DNA codice NIBSC 09/162).

Sul referto devono essere sempre indicati il risultato numerico, la metodica utilizzata e le unità di misura.

REFERTO COMMENTATO

L'unico commento consentito è nel caso di assenza di anticorpi CMV-specifici (IgG neg e IgM neg) in cui si suggerisce al laboratorio di inserire la seguente nota *“Soggetto suscettibile all'infezione primaria. Se in gravidanza o in previsione di una gravidanza consulti il suo medico per maggiori informazioni sulla prevenzione dell'infezione da Citomegalovirus”*. Questa iniziativa può favorire una ricaduta clinica del risultato di laboratorio ed informare/educare i professionisti sanitari e la donna in età fertile per prevenire l'infezione primaria da CMV in gravidanza (57).

Si raccomanda di evitare altre tipologie di commenti che possono indurre a difficili/scorrette interpretazioni dei risultati.

CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Si raccomanda di conservare per almeno un anno a -20°C i campioni di siero provenienti da donne in gravidanza che sono risultati positivi alla ricerca degli anticorpi specifici IgG e IgM anti CMV. Nei casi di difficile interpretazione la loro conservazione permette retrospettivamente l'esecuzione di esami di secondo livello presso laboratori di riferimento.

7. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Mocarski ES, Shenk T et al. Cytomegalovirus. In Fields Virology, DM Knipe, PM Howley eds., 5th, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 2007; 2:2701-72.
2. Marshall BC, Adler SP. The frequency of pregnancy and exposure to cytomegalovirus infections among women with a young child in day care. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200:163.e1-5.
3. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Rev Med Virol* 2007; 17:253-76.
4. Rahav G, Gabbay R et al. Primary versus nonprimary cytomegalovirus infection during pregnancy, Israel. *Emerg Infect Dis* 2007, 13:1791-3.
5. Dollard SC, Grosse SD et al. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection. *Rev Med Virol* 2007;17:355-63.
6. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY et al. Birth prevalence and natural history of congenital cytomegalovirus infection in a highly seroimmune population. *Clin Infect Dis* 2009; 49:522-28.
7. van der Sande MA, Kaye S et al. Risk factors for and clinical outcome of congenital cytomegalovirus infection in a peri-urban West-African birth cohort. *PLoS One* 2007; 2:e492.
8. Kouri V, Correa C et al. Diagnosis and screening for cytomegalovirus infection in pregnant women in Cuba as prognostic markers of congenital infection in newborns: 2007-2008. *Ped Infect Dis J* 2010; 29:1105-10.
9. Fang FQ, Fan AS et al. Incidence of cytomegalovirus infection in Shanghai, China. *Clin Vaccine Immunol* 2009; 16:1700-3.
10. Fowler KB, Stagno S et al. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. *N Engl J Med* 1992; 326:663-7.
11. Ross SA, Fowler KB et al. Hearing loss in children with congenital cytomegalovirus infection born to mothers with preexisting immunity. *J Pediatr*. 2006; 148:332-6.
12. Boppana SB, Pass RF et al. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection: neonatal and mortality. *Pediatr Infect Dis* 1992; 11:93-9.
13. Peckham CS. Cytomegalovirus infection: congenital and neonatal disease. *Scand J Infect Suppl* 1991; 78:82-7.
14. Bodéus M, Beulné D et al. Ability of three IgG avidity assays to exclude recent cytomegalovirus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;20:248-52.

15. Pass RF, Fowler KB et al. Congenital cytomegalovirus infection following first trimester maternal infection: symptoms at birth and outcome. *J Clin Virol* 2006; 35:216-20.
16. Revello MG, Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15:680-715.
17. Fowler KB, Stagno S et al. Maternal immunity and prevention of congenital cytomegalovirus infection. *JAMA* 2003; 289:1008-11.
18. Revello MG, Zavattoni M et al. Human cytomegalovirus in blood of immunocompetent persons during primary infection: prognostic implications for pregnancy. *J Infect Dis* 1998;177:1170-5.
19. Ziemann M, Unmack A et al. The natural course of primary cytomegalovirus infection in blood donors. *Vox Sang* 2010; 99: 24-33.
20. Fowler KB, Stagno S et al. Interval between births and risk of congenital cytomegalovirus infection. *Clin Infect Dis* 2004; 38:1035-7.
21. Adler SP, Finney JW et al. Prevention of child-to-mother transmission of cytomegalovirus by changing behaviors: a randomized controlled trial. *Pediatric Infect Dis J* 1996; 15:240-6.
22. Adler SP, Finney JW et al. Prevention of child-to-mother transmission of cytomegalovirus among pregnant women. *J Pediatr* 2004; 145: 485-491.
23. Vauloup-Fellous C, Picone O et al. Does hygiene counselling have an impact on the rate of CMV primary infection during pregnancy? Results of a 3-year prospective study in a French hospital. *J Clin Virol* 2009; 46S: S49-S53.
24. De Paschale M, Agrappi C et al. Positive predictive value of anti-HCMV IgM as an index of primary infection. *J Virol Methods* 2010; 168: 121-5.
25. Lazzarotto T, Brojanac S et al. Search for cytomegalovirus-specific immunoglobulin M: comparison between a new western blot, conventional western blot, and nine commercially available assays. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4: 483-6.
26. De Carolis S, Santucci S et al. False-positive IgM for CMV in pregnant women with autoimmune disease: a novel prognostic factor for poor pregnancy outcome. *Lupus* 2010; 19: 844-9.

27. Lazzarotto T, Spezzacatena P et al. Avidity of immunoglobulin G directed against human cytomegalovirus during primary and secondary infections in immunocompetent and immunocompromised subjects. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4:469-73.
28. Grangeot-Keros L, Mayaux MJ et al. Value of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity index for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women. *J Infect Dis* 1997; 175:944-6.
29. Revello MG, Genini E et al. Comparative evaluation of eight commercial human cytomegalovirus IgG avidity assays. *J Clin Virol* 2010; 48: 255-9.
30. Macé M, Sissoeff L et al. A serological testing algorithm for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women. *Prenat Diagn* 2004; 24: 861-3.
31. Lazzarotto T, Varani S et al. Maternal IgG avidity and IgM detected by blot as diagnostic tools to identify pregnant women at risk of transmitting cytomegalovirus. *Viral Immunol* 2000; 13: 137-141.
32. Enders G, Bäder U et al. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection in 189 pregnancies with known outcome. *Prenat Diagn* 2001; 21: 362-77.
33. Guisasola ME, Ramos B et al. Comparison of IgG avidity assays in the confirmation of the diagnosis of cytomegalovirus primary infection. *APMIS* 2010; 118: 991-93.
34. Kanengisser-Pines B, Hazan Y et al. High cytomegalovirus IgG avidity is a reliable indicator of past infection in patients with positive IgM detected during the first trimester of pregnancy. *J Perinat Med* 2009; 37: 15-8.
35. Lazzarotto T, Ripalti A et al. Development of a new cytomegalovirus (CMV) immunoglobulin M (IgM) immunoblot for detection of CMV-specific IgM. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3337-41.
36. Eggers M, Bader U et al. Combination of microneutralization and avidity assays: improved diagnosis of recent primary human cytomegalovirus infection in single serum sample of second trimester pregnancy. *J Med Virol* 2000; 60: 324-30.
37. Lazzarotto T, Gabrielli L et al. Congenital cytomegalovirus infection: recent advances in the diagnosis of maternal infection. *Hum Immunol* 2004; 65: 410-5.
38. Revello MG, Fabbri E et al. Role of prenatal diagnosis and counselling in the management of 735 pregnancies complicated by primary human cytomegalovirus infection: a 20-year experience. *J Clin Virol* 2011; 50:303-7.

39. Guerra B, Simonazzi G et al. Impact of diagnostic and confirmatory tests and prenatal counseling on the rate of pregnancy termination among women with positive cytomegalovirus immunoglobulin M antibody titers. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:221.e1-6.
40. Malinger G, Lev D et al. Fetal cytomegalovirus infection of the brain: the spectrum of sonographic findings. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003; 24: 28-32.
41. Guerra B, Simonazzi G et al. Ultrasound prediction of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198: 380.e1-380.e7.
42. Guerra B, Lazzarotto T et al. Prenatal diagnosis of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 476-482.
43. Liesnard C, Donner C. et al. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection: prospective study of 237 pregnancies at risk. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 881-8.
44. Azam AZ, Vial Y et al. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *Ostet Gynecol* 2001; 97: 443-8.
45. La Torre R, Nigro G et al. Placental enlargement in women with primary maternal cytomegalovirus infection is associated with fetal and neonatal disease. *Clin Infect Dis* 2006; 43:994-1000.
46. Guibaud L, Attia-Sobol J et al. Focal sonographic periventricular pattern associated with mild ventriculomegaly in foetal cytomegalic infection revealing cytomegalic encephalitis in the third trimester of pregnancy. *Prenatal Diagn* 2004; 24:727-32.
47. Benoist G, Salomon LJ et al. Cytomegalovirus-related fetal brain lesions: comparison between targeted ultrasound examination and magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 32:900-5.
48. Lipitz S, Achiron R et al. Outcome pregnancies with vertical transmission of primary cytomegalovirus infection. *Obstet Gynecol* 2002; 100:428-33.
49. Ville Y. The megalovirus. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 12:159-63.
50. Ornoy A, Diav-Citrin O. Fetal effects of primary and secondary cytomegalovirus infection in pregnancy. *Reprod Toxicol* 2006; 21:399-409.
51. Malinger G, Lerman-Sage T et al. A normal second-trimester ultrasound does not exclude intracranial structural pathology. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; 20:51-6.
52. Lipitz S, Yagel S et al. Prenatal diagnosis of fetal primary cytomegalovirus infection. *Ostet Gynecol* 1997; 89: 763-7.

53. Donner C, Liesnard C et al. Accuracy of amniotic fluid testing before 21 weeks' gestation in prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *Prenat Diagn* 1994;14: 1055–9.
54. Revello MG, Sarasini A et al. Improved prenatal diagnosis of congenital human cytomegalovirus infection by modified nested polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1998; 56: 99–103.
55. Lazzarotto T, Varani S et al. Prenatal indicators of congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 2000;137: 90–5.
56. Ruellan-Eugene G, Barjot P et al. Evaluation of virological procedures to detect fetal human cytomegalovirus infection: avidity of IgG antibodies, virus detection in amniotic fluid and maternal serum. *J Med Virol* 1996; 50: 9–15.
57. Barbi M, Calvario A et al. Documento elaborato dal gruppo di lavoro AMCLI-SIV “Infezioni da CMV in gravidanza” 2007, <http://www.amcli.it> & <http://www.siv-virologia.it/>.
58. Goegebuer T, Van Meensel B et al. Clinical predictive value of real-time PCR quantification of human cytomegalovirus DNA in amniotic fluid samples. *J Clin Microbiol.* 2009; 47: 660-5.
59. Lazzarotto T, Guerra B et al. New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Virol* 2008; 41:192-7.
60. Lazzarotto T, Gabrielli G et al. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection and outcome in 598 pregnant women undergoing a primary CMV infection. OR#10.2 In abstracts of the 12th International CMV/BetaHerpesvirus Workshop. May 10-14 2009, Boston-USA.
61. Gouarin S, Gault E et al. Real-Time PCR quantification of human cytomegalovirus DNA in amniotic fluid samples from mothers with primary infection. *J Clin Microbiol* 2002; 40:1767-72.
62. Benoist G, Salomon LJ et al. The prognostic value of ultrasound abnormalities and biological parameters in blood of fetuses infected with cytomegalovirus. *BJOG* 2008; 115:823-9.
63. Romanelli RM, Magny JF et al. Prognostic markers of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Braz J Infect Dis* 2008; 12: 38-43.
64. Fabbri E, Revello MG et al. Prognostic markers of symptomatic congenital human cytomegalovirus infection in fetal blood. *BJOG* 2011; 118: 448-456.

65. McCarthy FP, Giles ML et al. Antenatal interventions for preventing the transmission of cytomegalovirus (CMV) from the mother to fetus during pregnancy and adverse outcomes in the congenitally infected infant (Review). The Cochrane Library 2011, Issue 3.
66. Lazzarotto T, Guerra B et al. Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17:1285-93.
67. Boppana SB, Smith RJ et al. Evaluation of a microtiter plate fluorescent antibody assay for rapid detection of human cytomegalovirus infections. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 721-3.
68. Balcarek KB, Warren W et al. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection by detection of virus in saliva. *J Infect Dis* 1993; 167: 1433-6.
69. Yamamoto AY, Mussi-Pinhata MM et al. Usefulness of blood and urine samples collected on filter paper in detecting cytomegalovirus by the polymerase chain reaction technique. *J Virol Methods* 2001;97: 159-64.
70. Boppana SB, Ross SA et al. Saliva polymerase-chain reaction assay for cytomegalovirus screening in newborns. *N Engl J Med* 2001; 364: 2111-8.
71. Pass RF. Dried blood spots and universal newborn screening for congenital cytomegalovirus infection. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 582-4.
72. Lanari M, Lazzarotto T et al. Neonatal cytomegalovirus blood load and risk of sequelae in symptomatic and asymptomatic congenitally infected newborns. *Pediatrics* 2006;117:e76-83.
73. Boppana SB, Fowler KB et al. Congenital cytomegalovirus infection: association between virus burden in infancy and hearing loss. *J Pediatr* 2005; 146:817-23.
74. Bradford RD, Cloud G et al. 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. *J Infect Dis* 2005; 19: 227-33.
75. Revello MG, Zavattoni M et al. Diagnostic and prognostic value of human cytomegalovirus load and IgM antibody in blood of congenitally infected newborns. *J Clin Virol* 1999; 14:57-66.
76. Nelson CT, Ista AS et al. PCR detection of cytomegalovirus DNA in serum as a diagnostic test for congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Microbiol* 1995; 33:3317-8.

77. Kylat RI, Kelly EN et al. Clinical findings and adverse outcome in neonates with asymptomatic congenital cytomegalovirus (SCCMV) infection. *Eur J Pediatr* 2006; 165: 773-8.
78. Noyola DE, Demmler GJ et al. Early predictors of neurodevelopmental outcome in symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 2001; 138: 325-31.
79. Rivera LB, Boppana SB et al. Predictors of hearing loss in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Pediatrics* 2002; 110:762-7.
80. Boppana SB, Fowler Kb et al. Neuroradiographic findings in the newborn period and long term outcome in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Pediatrics* 1997; 99: 404-14.
81. Bale JF, Bray PF et al. Neuroradiographic abnormalities in congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Neurol* 1985; 1: 42-7.
82. Perlman JM, Argyle C. Lethal cytomegalovirus infection in preterm infants: clinical, radiological and neuropathological findings. *Ann Neurol* 1992; 31:64-8.
83. Fowler KB, McCollister FP et al. Progressive and fluctuating sensorineural hearing loss in children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 1997; 130: 624-630.
84. Ancora G, Lanari M et al. Cranial ultrasound scanning and prediction of outcome in newborns with congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 2007; 150: 157-161.
85. Anderson KS, Amos CS et al. Ocular abnormalities in congenital cytomegalovirus infection. *J Am Optom Assoc* 1996; 67: 273-8.
86. Stagno S, Pass RF et al. Defects of tooth structure in congenital cytomegalovirus infection. *Pediatrics* 1982; 69:646-648.
87. Demmler-Harrison GJ. Congenital cytomegalovirus: public health action towards awareness, prevention, and treatment. *J Clin Virology* 2009; 46S:S1-S5
88. Fowler K, Dahle A et al. Newborn hearing screening: will children with hearing loss caused by cytomegalovirus infection be missed? *J Pediatr* 1999; 135: 60-4.
89. Conboy TI, Pass RF et al. Intellectual development in school aged children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infections: *Pediatric* 1986; 77: 801-6.
90. Noyola DE, Demmler GJ et al. Cytomegalovirus urinary excretion and long term outcome in children with congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Infect Dis* 2000; 19:505-10.

91. Grosse SD, Ross DS et al. Congenital cytomegalovirus (CMV) infection as a cause of permanent bilateral hearing loss: a quantitative assessment. *J Clin Virology* 2008; 41: 57-62.
92. Ghirri P, Liunbruno A et al. Universal neonatal audiological screening: experience of the University Hospital of Pisa. *Ital J Pediatr* 2011; 37:16.
93. White KR, Forsman I et al. The evolution of early hearing detection and intervention programs in the United States. *Semin Perinatol* 2010; 34:170-179
94. Kimberlin DW, Lin CY et al. Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system: a randomized, controlled trial *J. Pediatr* 2003; 143: 16-25.
95. Amir J, Wolf DJ et al. Treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection with intravenous ganciclovir followed by long term oral valganciclovir; *Eur J Pediatr* 2010; 169:1061-7.
96. Hilgendorff a, Daiminger A et al. Oral valganciclovir treatment in a CMV congenital infected infant with sensorineural hearing loss (SNHL) first detected at 4 months of age. *Klin Padiatr* 2009; 221:448-9.
97. Lombardi G, Garofoli F et al. Oral valganciclovir treatment in newborns with symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *European J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28:1465-70.
98. Acosta EP, Brundage RC et al. Ganciclovir population pharmacokinetics in neonates following intravenous administration of ganciclovir and oral administration of a liquid valganciclovir formulation. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 81:867-72.
99. Barbi M, Binda S et al. Diagnosis of congenital CMV infection via dried blood spots. *Rev Med Virol* 2006; 16: 385-92.
100. Soetens O, Vauloup-Fellous C et al. Evaluation of different cytomegalovirus (CMV) DNA PCR protocols for analysis of dried blood spots from consecutive cases of neonates with congenital CMV infections. *J Clin Microbiol* 2008; 46:943-6.
101. Boppana SB, Ross et al. Dried blood spot real-time polymerase chain reaction assays to screen newborns for congenital cytomegalovirus infection. *JAMA*. 2010; 303: 1375-82.

Nota informativa sulle misure igienico-sanitarie per la prevenzione dell'infezione primaria da Citomegalovirus umano nella gestante.

Per limitare il rischio di infezione da CMV in gravidanza è consigliabile da parte della gestante sieronegativa (ovvero priva di anticorpi virus-specifici) mettere in pratica alcune misure preventive particolarmente nei confronti di bambini piccoli (principale fonte di contagio), specialmente se frequentano l'asilo nido o la scuola materna. Esse sono le seguenti:

- *non condividere con il bimbo stoviglie* (es. tazze, piatti, bicchieri, posate), *cibo* (es. non assaggiare la sua pappa con lo stesso cucchiaino), *biancheria* (es. asciugamani, tovaglioli), *strumenti per l'igiene* (es. spazzolino da denti);
- *non portare alla bocca* succhiotti o ciò che il bimbo possa aver messo in bocca;
- *non baciare il bambino* sulla bocca o sulle guance;
- *lavarsi accuratamente le mani* con acqua e sapone dopo un contatto diretto con qualunque materiale organico (es. pulito il naso e la bocca del bambino, cambio del pannolino, maneggiato la biancheria sporca e i giocattoli ect.);
- *lavare frequentemente giocattoli e superfici varie* (es seggiolone, box, passeggino) con acqua e sapone.

I bambini che contraggono una infezione perinatale o postnatale da CMV *eliminano il virus per parecchi mesi sia con la saliva che con le urine.* Da ciò consegue che la trasmissione da bambino a bambino o da bambino ad adulto può avvenire con relativa facilità in tutte quelle occasioni in cui si verificano contatti stretti e prolungati con secrezioni infette (asili nido, scuole materne o in famiglia).

Documento elaborato dal gruppo di lavoro congiunto AMCLI-SIV "Infezioni da CMV in gravidanza" - M Barbi, A Calvario, T Lazzarotto, MG Revello (57).

Programma per la valutazione clinico-laboratoristico-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-auxologica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
esami ematici*§	X	X								
PCR-RT su sangue e urina§	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 crasi 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.

Indicazioni alla terapia antivirale in neonati con infezione congenita da citomegalovirus

- Anomalie neurologiche clinicamente evidenti: convulsioni, circonferenza cranica $< 3^{\circ}$ pc
anomalie del tono muscolare e della reattività
- Anomalie del SNC rilevabili al neuroimaging : ventricolomegalia,
pseudocisti,
calcificazioni endocraniche
atrofia cerebrale
ipoplasia del cervelletto
calcificazioni cerebellari
alterazioni della sostanza bianca
riduzione di volume della sostanza
bianca
alterazioni della migrazione neuronale
- Deficit dell'udito (mono o bilaterale)
- Deficit visivi (corioretinite, microftalmia, cataratta, atrofia ottica)

La vasculopatia lenticolo-striatale isolata e le cisti germinolitiche isolate non sono considerate anomalie neurologiche specifiche dell'infezione congenita da CMV e quindi, se non associate ad altre anomalie al neuroimaging, non rappresentano, allo stato attuale, indicazione al trattamento antivirale.

Raccomandazioni: infezione da Citomegalovirus in gravidanza

1. In caso di diagnosi certa di infezione primaria da CMV in donne in età feconda è opportuno rimandare di almeno 6 mesi la programmazione di una gravidanza (II-2,B).
2. La donna sieronegativa per CMV che pianifichi una gravidanza o è in gravidanza deve essere informata circa i rischi di contrarre l'infezione e di trasmetterla al feto. Le devono essere illustrate in maniera comprensibile le norme igienico-comportamentali per prevenire l'infezione primaria (II-2,B). Ginecologi, ostetrici, infettivologi, microbiologi, medici di medicina generale e pediatri/neonatologi sono le figure professionali preposte alla prevenzione primaria (III,C).
3. La donna gravida di cui non si conosce lo stato immunitario o risultata sieronegativa ad accertamenti preconcezionali dovrebbe essere messa al corrente della possibilità di sottoporsi spontaneamente ad indagini di screening per l'infezione da CMV, nonostante lo screening non sia previsto né dal DM del 1998 né dalle Linee Guida della gravidanza fisiologica del 2010.
Ciò prevede specifiche informazioni sulle conseguenze feto-neonatali dell'infezione contratta in gravidanza e sui limiti della gestione prenatale (III,C).
4. Ove i test sierologici vengano attuati la tempistica corretta prevede la loro esecuzione entro le 16 settimane di gestazione (II-2,B).
5. Un risultato di positività delle IgG virus specifiche e negatività delle IgM al primo controllo in gravidanza (entro le 16 settimane di gestazione) è indicativo di infezione pregressa e non prevede ulteriori accertamenti (II-2,B).
6. La presenza di IgM virus specifiche in una gravida deve consigliare l'avvio di ulteriori accertamenti sierologici di secondo livello per definire se si tratta di un'infezione primaria (II-2,B).
7. Per escludere un'infezione primaria in atto o recente in gravidanza il test di avidità delle IgG deve essere eseguito non oltre le 12-16 settimane di gestazione (II-2,B).
8. La ricerca del virus e/o dei suoi componenti nel sangue o in altri liquidi biologici in donne in gravidanza non è utile nella diagnosi di infezione primaria (II-3,B).
9. La diagnosi prenatale invasiva va effettuata tramite amniocentesi non prima di 6 settimane dal presunto contagio materno e comunque dopo le 20 settimane di gestazione (II-2,B).

10. Sul liquido amniotico è necessario eseguire almeno due test virologici (*III,C*). L'esecuzione di ciascun esame virologico sul liquido amniotico richiede la processazione di almeno 1 ml di liquido *in toto* (*III,C; II-3,B*).
11. Il prelievo di sangue fetale non offre informazioni aggiuntive per la diagnosi ma può concorrere ad una valutazione prognostica (*II-2,B*).
12. L'ecografia prenatale deve avvalersi di valutazioni da parte di esperti (*II-2,B; II-3,B; III,C*). La eventuale comparsa di segni ecografici di infezione avviene dopo almeno 6 settimane dalla infezione materna (*III,C*). Il monitoraggio ecografico prevede un'ecografia a 20-21 settimane di gestazione per le infezioni contratte nel primo trimestre e controlli successivi a cadenza periodica (*III,C*).
13. L'infezione da CMV non costituisce un'indicazione al parto cesareo e non controindica l'allattamento al seno nel neonato a termine (*III,C*).
14. I test sierologici di screening impiegati devono avere caratteristiche di elevata sensibilità e specificità (*III,C*). In caso di risultati sierologici negativi è consigliato riportare il commento sul referto in quanto ciò può agevolare un corretto percorso diagnostico-assistenziale ed informare/educare i professionisti sanitari e la donna in età fertile per prevenire l'infezione primaria (*III,C*).
I test di PCR impiegati devono essere nel format Real Time devono avere caratteristiche di elevata sensibilità e specificità (*III,C*).

DIREZIONI FUTURE

Numerose domande in questo campo rimangono senza risposte sostenute da robusti studi clinici. Studi futuri sono necessari per:

- approfondire il significato diagnostico dell'avidità moderata delle IgG virus specifiche durante la gravidanza;
- identificare dei marcatori prognostici nel liquido amniotico;
- approfondire il significato prognostico di marcatori noti del sangue fetale;
- identificare nuovi marcatori prognostici nel sangue fetale;
- valutare l'efficacia del trattamento delle gravide con infezione primaria da CMV eseguito con la somministrazione di immunoglobuline specifiche purificate ai fini di prevenzione della trasmissione materno-fetale;
- valutare l'efficacia del trattamento terapeutico dei feti infetti e compromessi eseguito con la somministrazione di immunoglobuline specifiche purificate.

Raccomandazioni: infezione da Citomegalovirus nel neonato

1. Il metodo di riferimento per la diagnosi neonatale è l'isolamento virale in campioni di urina e/o saliva raccolti entro le prime 2/3 settimane di vita (II-2,B). Anche la ricerca del DNA virale mediante PCR Real Time eseguita sugli stessi materiali e negli stessi tempi è un metodo di diagnosi affidabile (II-2,B).
2. Particolare attenzione deve essere posta quando per la diagnosi di infezione congenita si utilizza la PCR sul campione di saliva, in quanto è possibile il rischio di contaminazione del campione da parte del latte materno potenzialmente infetto (II-2,B). Comunque, ogni positività rilevata con la saliva è prudente che sia confermata entro le prime 2/3 settimane di vita con la ricerca del virus su un campione di urina (II-2,B).
3. La ricerca sierologica degli anticorpi IgG e IgM virus specifici nel sangue del neonato non trova indicazione nella diagnosi di infezione congenita da CMV (II-3,B).
4. Il neonato con infezione congenita da CMV deve essere sottoposto entro il primo mese di vita a valutazioni clinico-laboratoristico-strumentali per definire il quadro complessivo che condiziona la prognosi, il follow-up e le scelte terapeutiche (I,A).
5. Nell'ambito delle valutazioni strumentali neonatali e nei primi uno-due anni di vita vanno considerati gli ABR (Auditory Brainstem Response) come unico test per individuare la ipoacusia neurosensoriale (II-2,B; II-3,B).
6. L'esplorazione dell'encefalo neonatale deve avvalersi di valutazioni neonatali precoci e ripetute mediante ultrasuoni da parte di esperti e completata da RMI (Risonanza Magnetica Cerebrale) possibilmente entro il primo mese di vita (III,C).
7. La terapia dell'infezione congenita da CMV si avvale dell'utilizzo del GCV (ganciclovir) somministrato ev per 6 settimane ad una posologia di 6 mg/kg/dose ogni 12 ore (I). Durante tale periodo monitorare periodicamente (ogni una-due settimane) i possibili effetti collaterali e la risposta terapeutica (I,A).
8. In alternativa all'utilizzo di GCV ev è possibile utilizzare il suo pro-farmaco V-GCV (valganciclovir) somministrato per os per 6 settimane ad una posologia di 16 mg/kg/dose ogni 12 ore (II-3). Durante tale periodo monitorare periodicamente (ogni una-due settimane) i possibili effetti collaterali e la risposta terapeutica (I,A).
9. Il trattamento non è indicato negli asintomatici e va riservato ai soli neonati con coinvolgimento neurologico evidenziato da segni clinici e/o da neuroimaging patologico (I,A). L'ipoacusia isolata è condizione per la quale intraprendere il trattamento (I,A).

Deficit visivi (corioretinite, microftalmia, cataratta, atrofia ottica) rappresentano un'ulteriore indicazioni al trattamento (III,C).

DIREZIONI FUTURE

Numerose domande in questo campo rimangono senza risposte sostenute da robusti studi clinici. Studi futuri sono necessari per definire:

- indicazioni per intraprendere la terapia dopo il primo mese di vita;
- vantaggi nell'intraprendere la terapia durante il primo mese di vita se presente solo il coinvolgimento del sistema reticolo-endoteliale;
- efficacia della terapia per os per un periodo superiore alle 6 settimane.

APRILE 2012