

1 **INFEZIONE CONGENITA DA CITOMEGALOVIRUS UMANO**

2 Coordinatore:

3 *Tiziana Lazzarotto*, U.O. di Microbiologia, Laboratorio di Virologia, Policlinico S. Orsola-
4 Malpighi, Università di Bologna, Bologna (e-mail: tiziana.lazzarotto@aosp.bo.it).

5 *Con la collaborazione di:*

6 *Brunella Guerra* U.O. di Medicina dell'Età Prenatale, Policlinico S. Orsola-Malpighi,
7 Università di Bologna, Bologna

8 *Marcello Lanari*, U.O. di Pediatria e Neonatologia, Ospedale Santa Maria della Scaletta,
9 Imola-Bologna

10

11

12

13 **1. EZIOPATOGENESI, ASPETTI CLINICI ED EPIDEMIOLOGIA**

14 Il Citomegalovirus umano (CMV) è uno degli otto virus, appartenenti alla famiglia
15 *Herpesviridae*, che infetta la specie umana.

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

22 Nel corso dell'esistenza dal 40 all'80% degli individui nei Paesi industrializzati e la quasi
23 totalità degli individui nei Paesi in via di sviluppo, va incontro ad infezione da CMV che di
24 norma evolve senza sintomi morbosi e si traduce in una infezione latente. In Italia circa il 70-
25 80% della popolazione adulta risulta provvista di anticorpi CMV specifici.

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

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

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

37 CMV è un'importante causa di patologie fetali anche gravi se trasmesso *in utero*, infatti
38 risulta essere la principale causa di infezione congenita nei paesi sviluppati con un'incidenza
39 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
40 l'1% (3).

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

47 La trasmissione materno-fetale è legata principalmente all'infezione materna primaria che
48 presenta un rischio di trasmissione variabile tra il 24 e il 75% (valore medio 40%) (4),
49 percentuali più basse sono osservate nel primo trimestre (~36%) e più alte nel terzo trimestre
50 (~78%) (5). Casi di trasmissione materno-fetale conseguenti ad infezioni non primarie sono
51 stati riportati nello 1-2.2% dei casi, con un rischio di trasmissione quindi, molto più basso di
52 quello delle infezioni primarie (4).

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

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

60 La maggior parte delle infezioni da CMV nelle donne gravide sono asintomatiche anche
61 durante la fase acuta; possono comparire sintomi non specifici e spesso molto modesti come
62 la febbre persistente (60.2% dei casi), l'astenia (48.8%), la cefalea (26.6%), e la mialgia
63 (15.1%) (5). Le analisi di laboratorio evidenziano qualche volta la presenza di linfocitosi
64 atipica e modesto rialzo delle transaminasi.

65

66 **MISURE DI PREVENZIONE**

67 Poiché a tutt'oggi non è disponibile un vaccino per l'immunizzazione attiva della donna in età
68 fertile, la prevenzione dell'infezione nella gravida può avvalersi unicamente di alcune norme

69 igienico-comportamentali volte ad evitare le possibili fonti di contagio ovvero il contatto
70 diretto con qualunque materiale organico (6).

71

72 *Nota informativa sulle misure igienico-sanitarie per la prevenzione dell'infezione primaria*
73 *da Citomegalovirus umano nella gestante - Documento elaborato dal gruppo di lavoro*
74 *congiunto AMCLI-SIV "Infezioni da CMV in gravidanza" - M Barbi, A Calvario, T*
75 *Lazzarotto, MG Revello.*

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

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

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

96

97 **2. DIAGNOSI MATERNA**

98 Il Decreto Ministeriale del 10.09.1998 non prevede una partecipazione del SSN ai costi delle
99 prestazioni specialistiche riferibili all'infezione da CMV da eseguire pre e durante la
100 gravidanza. Tuttavia, esiste di fatto uno screening spontaneo e dunque esiste la necessità di
101 impostare un corretto iter procedurale per la gestione delle gravidanze complicate
102 dall'infezione da CMV.

103 **DIAGNOSI SIEROLOGICA PRE-GRAVIDANZA**

104 Donne controllate per CMV in epoca pre-concezionale (Figura 1): in caso di assenza di
105 anticorpi CMV-specifici (IgG neg e IgM neg), si suggerisce di commentare il referto
106 aggiungendo la seguente nota “*Soggetto suscettibile all’infezione primaria. In previsione di*
107 *una gravidanza consulti il suo medico per maggiori informazioni sulla prevenzione*
108 *dell’infezione da Citomegalovirus*”. (Questa iniziativa può favorire una ricaduta clinica del
109 risultato di laboratorio ed informare/educare la donna in età fertile per prevenire l’infezione
110 primaria da CMV in gravidanza - Documento elaborato dal gruppo di lavoro congiunto
111 AMCLI-SIV “Infezioni da CMV in gravidanza” - M Barbi, A Calvario, T Lazzarotto, MG
112 Revello).

113 La presenza nel siero di anticorpi IgG specifici e l’assenza di anticorpi IgM sono indicative di
114 infezione pregressa e non prevedono ulteriori accertamenti.

115 **DIAGNOSI SIEROLOGICA IN GRAVIDANZA**

116 Donne sieronegative per CMV almeno 6 mesi prima del concepimento (Figura2): la gravida
117 non immune (anticorpi IgG e IgM anti CMV negativi), e perciò a rischio di acquisire
118 l’infezione primaria, deve innanzitutto essere informata relativamente a semplici norme
119 comportamentali ed igieniche che, pur non risolutive, sono in grado di ridurre la possibilità di
120 contagio.

121 La gravida sieronegativa deve quindi essere sottoposta ad indagini sierologiche periodiche.
122 Pur non esistendo linee guida al riguardo, sembra ragionevole il controllo mensile fino alla
123 18^a-20^a settimana di gestazione per consentire, in caso di sieroconversione, la messa in atto
124 degli accertamenti sul feto. Se la sieronegatività materna persiste, i controlli sierologici
125 possono essere dilazionati o ridotti ad un solo controllo a 35-37 settimane per consentire, in
126 caso di sieroconversione tardiva, di selezionare i neonati a rischio di infezione congenita.

127 Donne sieropositive per CMV prima del concepimento (Figura 3): la presenza nel siero degli
128 anticorpi IgG specifici (e contemporanea assenza di anticorpi IgM) al primo controllo in
129 gravidanza (entro le prime settimane di gestazione) è indicativa di infezione pregressa e non
130 prevede ulteriori accertamenti.

131 Donne sieropositive per IgM e sieronegative per IgG anti-CMV (Figura 4): le IgM devono
132 essere confermate con altra metodica avente la stessa sensibilità del test di screening. Ripetere
133 il controllo sierologico nello stesso laboratorio a distanza di 10-15 giorni per valutare una
134 eventuale sieroconversione delle IgG che insieme alla conferma delle IgM è sufficiente alla
135 diagnosi di infezione recente. Al contrario, la persistenza delle IgM con IgG negative equivale
136 ad una falsa positività o una reazione crociata ad altre infezioni (Parvovirus, *Toxoplasma*

137 *gondii*, Virus Epstein-Barr ect). In questi casi la paziente risulta a rischio di acquisire
138 l'infezione primaria e quindi si suggerisce di continuare i controlli sierologici mensili.

139 *Donne sieropositive per IgG e IgM anti CMV e che non conoscono il loro stato sierologico*
140 *pre-gravidico (Figura 5):* la diagnosi di infezione da CMV in questo gruppo di donne è molto
141 complessa. La maggior parte delle infezioni sono asintomatiche anche durante la fase acuta e
142 quindi, l'unica soluzione per individuare le gravide con infezione primaria è quella di
143 sottoporle durante la gestazione (più precocemente possibile) ad una serie di esami specifici.

144 *Il test per la ricerca delle IgM anti CMV:* la presenza o un alto titolo di IgM anti-CMV in
145 una gravida non devono essere usati come "unico metodo" per identificare un'infezione
146 primaria. Quando vengono ritrovate IgM anti CMV in una donna gravida il problema
147 diagnostico è ancora completamente aperto e rappresenta semplicemente un punto di partenza
148 per una valutazione diagnostica di livello superiore (Figura 6).

149 *Il test di avidità delle IgG anti-CMV:* il grado di avidità degli anticorpi aumenta
150 progressivamente e lentamente nel tempo ed è sinonimo di maturazione della risposta
151 immune. L'interpretazione di questo test richiede molta cautela ed è importante valutare ogni
152 volta con attenzione i valori di riferimento che variano per ogni kit diagnostico.

153 L'efficacia diagnostica del test di avidità che consente di individuare le donne gravide con
154 infezione primaria e quindi ad alto rischio di trasmissione del virus al feto, è ottimale qualora
155 la determinazione avvenga precocemente, non oltre la 16^a settimana di gestazione.

156 *Entro le 14-16 settimane di gestazione (Figura 7):* indici di avidità bassa-moderata delle IgG
157 anti CMV sono da ascrivere ad infezione primaria da CMV.

158 Indici di avidità alta delle IgG anti CMV indicano invece assenza di infezione primaria (7,8).

159 *Dopo le 16-18 settimane di gestazione:* il test di avidità delle IgG perde di efficacia
160 diagnostica.

161 Per il completamento della diagnosi sierologica, si suggerisce se possibile, di eseguire altri
162 test avanzati quali l'immunoblot e/o il test di neutralizzazione.

163

164 **DIAGNOSI VIROLOGICA**

165 Le procedure virologiche – ricerca del virus e/o dei suoi componenti nel sangue o in altri
166 liquidi biologici - nelle donne in gravidanza rivestono un ruolo secondario per la diagnosi di
167 infezione primaria da CMV (5,9) (Figura 8).

168 Nelle donne in gravidanza con accertata infezione primaria da CMV il virus nel sangue
169 materno può essere ritrovato come non esserlo, ma in caso di positività il risultato conferma la
170 diagnosi di infezione primaria. E' importante sottolineare comunque che il ritrovamento del

171 virus nel sangue – mediante test dell’antigenemia e/o PCR - non correla né con l’andamento
172 clinico dell’infezione, né con un maggior rischio di trasmissione intrauterina e neppure con la
173 severità di compromissione del feto/neonato

174

175 **3. DIAGNOSI NEL FETO**

176 Per lo studio del compartimento fetale ci si può avvalere della diagnostica prenatale invasiva e
177 dell’esame ecografico (10). In relazione al più alto rischio di trasmissione madre-feto e di
178 danno fetale, la diagnosi prenatale viene proposta alle donne che hanno contratto l’infezione
179 primaria da CMV nella prima metà della gravidanza (documentata da sierconversione
180 anticorpale o da test sierologici avanzati) e in caso di anomalie fetali suggestive di infezione
181 (Figura 9).

182

183 **AMNIOCENTESI**

184 La diagnosi prenatale invasiva viene effettuata tramite amniocentesi e prevede un prelievo di
185 liquido amniotico sotto controllo ecografico tra la 20^a-21^a settimana di gestazione (8) (Figura
186 9).

187 E’ stato scelto questo periodo, tenendo conto che :

188 -CMV è un virus a lenta replicazione e si calcola che occorrono circa 6-9 settimane dopo
189 l’infezione materna affinché il virus infetti la placenta , arrivi al sangue fetale e tramite il
190 sangue invada e si replichi produttivamente negli organi bersaglio. Sede elettiva di
191 replicazione è il rene e il virus viene così eliminato con la diuresi fetale nel liquido amniotico
192 - solo dopo la 20^a settimana di gestazione il feto produce quantità sufficienti di urina tali da
193 permettere di rilevare il virus nel liquido amniotico. Quando la diagnosi prenatale è stata
194 eseguita in epoche gestazionali più precoci, sono stati osservati frequentemente risultati falsi
195 negativi dovuti alla scarsa eliminazione del virus attraverso il rene fetale, a causa proprio della
196 ridotta diuresi.

197 Sul campione di liquido amniotico vengono effettuate:

- 198 • ricerca diretta del virus infettante mediante esame colturale (metodo shell vial)
- 199 • ricerca e quantificazione del genoma virale mediante PCR-Real Time.

200 È necessario eseguire almeno due test virologici (isolamento virale e PCR Real Time oppure
201 due format diversi di PCR Real Time oppure PCR qualitativa nested e quantitativa Real
202 Time) per migliorare l’affidabilità della diagnosi di infezione da CMV nel feto (Documento
203 elaborato dal gruppo di lavoro congiunto AMCLI-SIV “Infezioni da CMV in gravidanza” - M
204 Barbi, A Calvario, T Lazzarotto, MG Revello).

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

208 La positività ad uno o più test eseguiti su liquido amniotico indica infezione congenita, ma
209 non è mai possibile escludere un risultato falso negativo (valore di predittività negativa =
210 94.2%).

211

212 **CORDOCENTESI**

213 Il prelievo di sangue fetale non può essere eseguito a scopi diagnostici ma può essere solo parte di
214 una valutazione prognostica.

215 I test siero-virologici e biochimici eseguiti sul sangue fetale raggiungono la massima
216 sensibilità prognostica se il prelievo di sangue viene eseguito dopo la 30^a settimana di
217 gestazione (11).

218

219 REFERTAZIONE E COUNSELLING

220 I tempi di refertazione e counselling devono essere contenuti entro 3-4 giorni dal prelievo per
221 la diagnosi sierologica e entro 2-3 giorni per la diagnosi prenatale.

222

223 STRATEGIE DI TRATTAMENTO

224 Per la gravida che acquisisca l'infezione mancano farmaci specifici utilizzabili in epoca
225 prenatale in grado di ridurre il rischio di trasmissione verticale o di curare il feto *in utero*.

226

227 In Figura 10 è presentata una flow chart per la gestione dell'infezione da CMV in epoca
228 prenatale.

229

230 **4. DIAGNOSI NEL NEONATO**

231 **Manifestazioni cliniche ed esiti:** nei neonati infetti che presentano sintomi alla nascita, il
232 quadro clinico può essere rappresentato da gravi sindromi polivisceritiche caratterizzate da
233 ittero (con quota rilevante di bilirubina diretta), porpora trombocitopenica,
234 epatosplenomegalia, polmonite ed encefalite. Le forme clinicamente più attenuate includono
235 di solito manifestazioni epatiche con epatosplenomegalia (60% dei casi) ed ittero,
236 trombocitopenia (53-77% dei casi), e circa nel 50% dei casi è presente ritardo di crescita
237 intrauterino, con basso peso neonatale (4).

238 Le anomalie strutturali riguardano principalmente il sistema nervoso centrale
239 (ventricolomegalia, calcificazioni intracraniche, atrofia cerebrale, ipoplasia cerebellare,
240 microcefalia), meno frequentemente gli altri apparati. Sono riportati in associazione anche
241 difetti visivi e uditivi di varia entità. CMV è la più importante causa non genetica di sordità
242 nell'infanzia: più del 50% dei nati con infezione sintomatica e circa il 10% degli asintomatici
243 alla nascita svilupperà sordità neurosensoriale variabile tra forme lievi e profonde, con
244 deterioramento progressivo in circa il 50% dei casi (12).

245 **Diagnosi virologica:** il metodo di riferimento per la diagnosi di infezione congenita da CMV
246 nel neonato è l'isolamento del virus eseguito su colture di fibroblasti embrionali umani
247 oppure la ricerca del DNA virale mediante PCR Real Time, ambedue eseguiti in campioni di
248 urina raccolti entro le prime 2 settimane di vita (Figura 11).

249 Particolare attenzione deve essere posta se per la diagnosi di infezione congenita viene
250 utilizzato un campione di saliva al posto di quello delle urine in quanto elevato è il rischio di
251 contaminazione da parte del latte materno potenzialmente infetto.

252 **Diagnosi sierologica:** la presenza di IgM CMV-specifiche su siero neonatale identifica
253 un'infezione congenita però si deve sottolineare che le IgM vengono ritrovate solo nel 20-
254 70% dei neonati infetti in relazione proprio al test sierologico utilizzato (5).

255 In caso di risultato negativo sull'urine dell'isolamento virale o della PCR Real Time,
256 considerando l'elevata sensibilità di questi test ed il carico virale generalmente elevato e
257 protratto nel tempo, il paziente non è da ritenere infetto e l'esame non merita di essere
258 ripetuto.

259 Al contrario, in caso di positività dell'isolamento virale o della PCR Real Time, il neonato
260 deve essere sottoposto ad accurata valutazione clinica, nonché ad una serie di accertamenti
261 diagnostici strumentali e laboratoristici per definire se è sintomatico o asintomatico,
262 condizioni con implicazioni terapeutiche e valenza prognostica notevolmente differenti. Per
263 queste ragioni tutti i neonati infetti (anche se asintomatici) meritano di essere sottoposti a
264 follow-up con controlli seriati e variamente modulati a seconda delle problematiche del caso
265 indicativamente a 1, 3, 6, 12 mesi di vita, e poi annualmente e comunque fino all'età scolare.
266 Questi controlli prevedono valutazioni clinico-auxologiche, audiometriche e dello sviluppo
267 psicomotorio, *fundus oculi*, prelievi ematici per alcuni esami di laboratorio (transaminasi,
268 emocromo con formula e piastrine, bilirubina totale e frazionata, PCR Real Time per CMV)
269 ed eventualmente raccolte di campioni di urina per la determinazione e quantificazione di
270 CMV mediante isolamento virale e PCR Real Time, indispensabili in caso di terapia (13)
271 (Figura 12).

272 In Figura 13 è presentata una flow chart per la gestione dell'infezione da CMV in epoca
273 neonatale.

274 DIAGNOSI TARDIVA DELL'INFEZIONE CONGENITA DA CMV

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

279 Per quanto riguarda la diagnosi di laboratorio risultati interessanti sono emersi dalla ricerca
280 qualitativa del genoma virale su sangue adsorbito sulle Guthrie card, collezionate alla nascita
281 per gli screening neonatali (14). Queste indagini virologiche vengono ritenute tuttavia molto
282 delicate, in quanto è estremamente complessa la fase di estrazione e purificazione del DNA
283 virale (15). Questo dato di complessità operativa di esecuzione del test, unitamente a valori di
284 sensibilità variabili (49.5-100%) non rendono questo esame adatto, a nostro avviso, all'uso
285 routinario bensì ad una ricerca eziologica retrospettiva in presenza di un quadro clinico
286 sospetto che non è comunque alla portata di tutti i laboratori.

287

288 **5. RACCOMANDAZIONI**

- 289 o misure di prevenzione
- 290 o screening donne sieronegative
- 291 o screening prenatale
- 292 o screening neonatale

293

294 **6. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI**

- 295 1. Mocarski ES, Shenk T et al. Cytomegalovirus. Pag. 2701-72. Vol. 2. In Fields Virology,
296 DM Knipe, PM Howley eds., 5th, 2007, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- 297 2. Marshall BC, Adler SP. The frequency of pregnancy and exposure to cytomegalovirus
298 infections among women with a young child in day care. Am J Obstet Gynecol 2009;
299 200:163.e1-5.
- 300 3. Kenneson A, and Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of
301 congenital cytomegalovirus (CMV) infection. Rev Med Virol 2007; 17: 253-76.
- 302 4. Fowler KB, Stagno S et al. The outcome of congenital cytomegalovirus in relation to
303 maternal antibody status. N Engl J Med 1992; 326:663-7.

- 304 5. Revello MG and Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus
305 infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15:680-
306 715.
- 307 6. Adler SP, Finney JW et al. Prevention of child-to-mother transmission of
308 cytomegalovirus by changing behaviors: a randomized controlled trial. *Pediatric Infect*
309 *Dis J* 1996; 15:240-6.
- 310 7. Macé M, Sissoeff L et al. A serological testing algorithm for the diagnosis of primary
311 CMV infection in pregnant women. *Prenat Diagn.* 2004; 24:861-3.
- 312 8. Lazzarotto T, Guerra B et al. New advances in the diagnosis of congenital
313 cytomegalovirus infection. *J Clin Virol* 2008; 41:192-7.
- 314 9. Lazzarotto T, Gabrielli L et al. Congenital cytomegalovirus infection: recent advances in
315 the diagnosis of maternal infection. *Hum Immunol* 2004; 65: 410-5.
- 316 10. Guerra B, Simonazzi G et al. Ultrasound prediction of symptomatic congenital
317 cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198: 380.e1-380.e7.
- 318 11. Benoist G, Salomon LJ et al. The prognostic value of ultrasound abnormalities and
319 biological parameters in blood of fetuses infected with cytomegalovirus. *BJOG* 2008;
320 115:823-9.
- 321 12. Dahle AJ, Fowler KB et al. Longitudinal investigation of hearing disorders in children
322 with congenital cytomegalovirus. *J Am Acad Audiol* 2000;11: 283-90.
- 323 13. Lanari M, Lazzarotto T et al. Neonatal cytomegalovirus blood load and risk of sequele
324 in symptomatic and asymptomatic congenitally infected newborns. *Pediatrics* 2006;
325 117:e76-83.
- 326 14. Barbi M, Binda S et al. Diagnosis of congenital CMV infection via dried blood spots.
327 *Rev Med Virol* 2006; 16: 385-92.
- 328 15. Soetens O, Vauloup-Fellous C et al. Evaluation of different cytomegalovirus (CMV)
329 DNA PCR protocols for analysis of dried blood spots from consecutive cases of
330 neonates with congenital CMV infections. *J Clin Microbiol* 2008; 46:943-6.