UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Scuola di Medicina e Chirurgia
Dipartimento di Neuroscienze - DNS

Corso di Laurea in Tecniche Audioprotesiche
Presidente Prof. Gino Marioni

Tesi di laurea

"Le ipoacusie da infezione congenita da Citomegalovirus nel terzo millennio"

Relatore: Elona Cama

Laureanda: Asia Muratori

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

INDICE

ABSTRACT 3

INTRODUZIONE 4

LE IPOACUSIE 4

Le cause infettive di ipoacusia congenita: 7

MATERIALI E METODI 11

RISULTATI 12

DISCUSSIONE 17

CONCLUSIONI 25

BIBLIOGRAFIA 26

RINGRAZIAMENTI 29

ABSTRACT

L'obbiettivo di questa tesi di laurea è stato la revisione della recente letteratura scientifica, a partire dal 2000 ad oggi, sulle sordità da infezione congenita da citomegalovirus (cCMV). L'infezione congenita da cCMV rappresenta la causa più frequente di ipoacusia neurosensoriale non genetica nell'infanzia. La ricerca e la selezione delle pubblicazioni scientifiche sull'argomento è stata eseguita sul database della National Library of Medicine (PubMed) che raccoglie oltre 34 milioni di pubblicazioni di letteratura biomedica, di scienze della vita e di libri online. Su oltre 800 pubblicazioni presenti su questo specifico argomento, ne sono state selezionate quattordici, di cui otto riguardano la descrizione clinica e strumentale di ampie casistiche e sei invece sono review sistematiche della letteratura. Gli studi clinici evidenziano come la perdita uditiva nelle infezioni congenite da citomegalovirus è in circa la metà dei casi ad insorgenza postnatale e/o post-verbale e progressiva, il che rende inefficace lo screening uditivo neonatale e la diagnosi eziologica a distanza molto difficile. D'altro canto, il monitoraggio clinico della gravidanza, comprensivo della sorveglianza delle infezioni contratte e la diagnostica di laboratorio tempestiva nel neonato rappresentano degli strumenti efficaci per una identificazione precoce e follow-up mirato dei casi. In epoca post-natale le campagne di sensibilizzazione di operatori sanitari, educatori, riabilitatori e famiglie, il monitoraggio dell'evoluzione dello sviluppo linguistico e gli screening uditivi prescolari costituiscono un ulteriore misura preventiva e identificativa tempestiva. La diagnosi eziologica, in assenza di dati anamnestici indicativi di una infezione congenita da cCMV, si avvale, nell'ultimo decennio sempre più della diagnostica per immagini e in particolare della Risonanza Magnetica Cerebrale (RMN) e della Tomografia Assiale Computerizzata ad alta risoluzione delle rocche petrose (TAC).

INTRODUZIONE

LE IPOACUSIE

L'ipoacusia rappresenta la disabilità sensoriale più frequente. Secondo le stime dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) è affetta da ipoacusia disabilitante il 5% della popolazione mondiale: circa 432 milioni di adulti e 34 milioni di bambini, e la sua prevalenza aumenta con l'età fino ad interessare il 12,7% dei soggetti 60-enni, e il 58% a soggetti over 90-enni. L'80% delle persone con un'ipoacusia invalidante vive in paesi a basso e medio reddito. (OMS, 2022)
Con "disabilitante" si intende una perdita uditiva superiore a 35 dB nHL nell'orecchio migliore.
Si stima anche che entro il 2050, oltre 700 milioni di persone (1 persona su 10) avranno una perdita dell'udito. (OMS, 2022)

L'ipoacusia infantile è una patologia che, se non identificata e trattata tempestivamente, determina la mancata acquisizione del linguaggio o ad uno sviluppo scarso dello stesso.
Secondo la classificazione nosografica può essere suddivisa in:

- **sede del danno**, come le ipoacusie trasmissive, neurosensoriali o miste;
- **cause** (congenite ed acquisite);
- **periodo d'insorgenza** che comprende l'infanzia (prenatali, perinatali, postnatali), l'età adulta e quella senile.

Secondo altre classificazioni possono essere suddivise in: pre-natali, peri-natali, post-natali, o ancora in: pre-verbali, peri-verbali, post-verbali.
È molto interessante studiare e vedere quelle che possono essere le conseguenze delle ipoacusie infantili sulla qualità di vita del bambino e delle famiglie.

Almeno 1-2 bambini su 1000 alla nascita ne risulta affetto; in oltre il 50% dei casi essa è dovuta a fattori genetici; in circa il 30 % dei casi l'ipoacusia sarà sindromica, mentre nel restante 70 % essa si presenta in forma isolata. (WHO, World report on hearing, 2021)

Il 14% dei casi è dovuta invece, ad un'infezione congenita da CMV, ed è proprio su questa classe di casi che verrà posta l'attenzione in questo elaborato. Nei restanti casi la causa resta sconosciuta. (WHO, World report on hearing, 2021)
Le forme prenatali o congenite costituiscono oltre il 50-60% delle ipoacusie infantili, mentre le forme acquisite sono circa il 25-30%. Solitamente tale distinzione è indipendente dall'eziologia, per cui le forme congenite non sempre hanno come causa l'ereditarietà, cosi come un'ipoacusia post-natale
può essere determinata da alterazioni già presenti in epoca pre-natale come ad esempio nelle ipoacusie ad esordio tardivo, nelle toxoplasmosi e nelle infezioni da citomegalovirus. (Taruscio, D et al, 2022)

Le sordità congenite di natura genetica possono essere trasmesse con modalità recessive, dominanti, possono essere legate al sesso e sindromiche. JCIH (Joint Commettee on Infant Hearing) riconosce inoltre, i seguenti i fattori di rischio per lo sviluppo di una ipoacusia progressiva o ad insorgenza tardiva:

- ritardo nello sviluppo;
- familiarità per ipoacusia permanente;
- terapia intensiva neonatale per più di 5 giorni;
- farmaci ototossici (gentamicina);
- malformazioni cranio-facciali (comprese le malformazioni auricolari);
- particolari sindromi (Usher, Pendred, Alport);
- infezioni postnatali (meningite batterica e virale);
- chemioterapia;
- infezioni intrauterine (CMV, herpes, rosolia, toxoplasmosi, sifilide) (Joint Commetttee on Infant Hering, 2019).

Fattori determinanti possono essere anche le patologie della gravidanza, quali la gestosi e l'insufficienza renale, che possono creare i presupposti per una sofferenza fetale tale da provocare secondariamente un'ipoacusia.

Come spiegato precedentemente, secondo una classificazione basata sulle cause delle ipoacusie, queste possono essere categorizzate in:

- Acquisite
- Congenite

- **Le ipoacusie acquisite:** sono ipoacusie che insorgono dopo la nascita, dovuta a infezioni acquisite nei primi anni di vita del bambino, per esempio meningite, parotite o morbillo o anche con l'uso dei farmaci ototossici

- **Le ipoacusie congenite:**

Le ipoacusie congenite nel 30% circa dei casi sono dovute a mutazioni genetiche, ovvero a difetti del DNA che il bambino eredita da uno o da entrambi i genitori, mentre nel restante 70% sono causate da infezioni trasmesse al bambino durante la gravidanza, il parto o l'allattamento. (Taruscio, D et al, 2022) L'infezione più frequente che causa sordità congenita è quella da Citomegalovirus (cCMV), meno frequentemente invece è quella causata da Rosolia o Toxoplasmosi. Alcune sordità non sono presenti alla nascita ma vengono acquisite subito dopo (1° mese di vita) e sono spesso legate a condizioni di sofferenza perinatale quale: ipossia, ittero o terapie antibiotiche somministrate per via endovenosa, necessarie per trattare gravi infezioni.

Le ipoacusie congenite ereditarie sono causate principalmente da sindromi quali: Sindrome di Down, Sindrome di Usher, Sindrome di Treacher Collins, Sindrome di Crouzon, Sindrome di Alport, Sindrome di Waardenburg.

Quelle non ereditarie possono avere diverse cause:

- Infezioni della madre: rosolia, citomegalovirus o herpes simplex;
- Prematurità e basso peso alla nascita;
- Lesioni durante il parto;
- Tossine assunte dalla madre durante la gravidanza, tra cui droghe e alcool, ma anche farmaci ototossici;
- Complicanze associate al fattore Rh nel sangue, che provocano itterizia;

- Iperbilirubinemia;
- Diabete gestazionale.

Le cause infettive di ipoacusia congenita:

Rosolia

È una malattia infettiva acuta causata da un virus a Rna del genere Rubivirius della famiglia dei Togaviridae. Le ipoacusie dovute al virus della rosolia nel 1970 costituivano il 18% e nel 1995 il 6.8% delle cause prenatali, ma di recente l'incidenza si è ridotta enormemente grazie alla prevenzione data dalla vaccinoterapia (rischio fino a 5-6 mesi dall'inoculazione).
La modalità di trasmissione principale è quella per via placentare: la donna contrae l'infezione durante la gravidanza o poco prima del concepimento e infetta la placenta. Il virus della rosolia è in grado di provocare malformazioni embrio-fetali, e può provocare una sintomatologia varia tra cui sordità, difetti oculari e anomalie cardiache (triade di Gregg), ma anche microcefalia, ritardo mentale e motorio, epatomegalia, fragilità delle ossa lunghe, polmoniti interstiziali, alterazioni dentarie, infiammazione del tessuto cerebrale.
Il rischio di malformazioni si presenta entro le 8-10 settimane di gravidanza al 90%, ma una sordità isolata può essere riscontrata anche per infezioni alla 12-13esima settimana nel 10% dei casi. Se l'infezione è contratta dopo la ventesima settimana l'infezione provoca raramente malformazioni congenite.
La sordità è spesso severa, asimmetrica pantonale e a carattere progressivo; sono inoltre presenti alterazioni del canale cocleare e del sacculo. E si stima sia il 12-19% una perdita uditiva a causa dell'infezione della rosolia. (WHO, World report on hearing, 2021)
Generalmente la diagnosi si basa sugli esami sierologici in cui si valuta la presenza di anticorpi IgM rosolia-specifici presenti nelle prime settimane post-natali. (Filia, 2019)

Toxoplasmosi

È una zoonosi causata dal Toxoplasma gondii, un microrganismo che compie il suo ciclo vitale, estremamente complesso e diverso a seconda dell'ospite, solo all'interno delle cellule. Il parassita può infettare moltissimi animali (dai mammiferi agli uccelli, dai rettili ai molluschi) e può trasmettersi da un'animale all'altro attraverso l'ingestione di carne infetta. Il Toxoplasma condii non si trova solo nella carne, ma anche nelle feci di gatto e nel terreno in cui abbia defecato un gatto o un altro animale infetto.
È suddivisa in due forme: una acquisita ed una congenita.
Dal momento che l'infezione da toxoplasma di una donna in età fertile potrebbe essere totalmente asintomatica è necessario una verifica dello stato anticorpale all'inizio della stessa, l'adozione di misure di prevenzione dell'infezione e successivo monitoraggio mirato. È necessario eseguire dei test perché si tratta di una malattia asintomatica e quindi di difficile individuazione.
In gravidanza i sintomi della toxoplasmosi congenita variano a seconda di quando la madre si infetta; solitamente i sintomi sono più gravi se l'infezione avviene all'inizio della gravidanza entro la 27-esima settimana di gestazione e può causare i seguenti problemi al feto: danni cerebrali, epilessia, sordità, cecità, problemi di crescita infezioni al fegato.
La diagnosi si basa sui test sierologici, sull'istopatologia o sulla PCR (Polymerase Chain Reaction), e dal momento che non esistono vaccini efficaci, la prevenzione riveste un ruolo fondamentale. (SANITA', s.d.)

Cmv

- *Generalità e trasmissione*:

Il Citomegalovirus (cCMV) è un virus appartenente alla famiglia degli Herpesvirus ed è estremamente diffuso a livello globale. La trasmissione può avvenire in diverse modalità: sia attraverso il contatto con liquidi biologici (sangue, saliva, urina, lacrime, secrezioni vaginali) che per via sessuale. Tuttavia, la trasmissione più frequente avviene da madre a figlio durante la gravidanza (infezione prenatale). Il virus può essere trasmesso dalla madre al neonato anche durante il parto (infezione

perinatale) oppure attraverso l'allattamento (infezione postnatale). In genere, la trasmissione perinatale o postnatale non risulta essere associata alla comparsa di un'infezione di tipo sintomatico o di complicazioni tardive neurologiche, se non in rare eccezioni.

L'aspetto più importante è rappresentato dalle infezioni congenite. Un'infezione contratta dalla madre durante la gravidanza e poi trasmessa al feto può, infatti, creare al bambino danni permanenti anche gravi.

Il cCMV 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.

L'infezione materna può essere classificata in primaria o non primaria. È definita primaria l'infezione che contrae la madre per la prima volta durante la gravidanza, mentre non primaria è definita la condizione di riattivazione del virus che precedentemente si trovava in fase latente oppure la reinfezione con un nuovo ceppo di cCMV in una donna che aveva già contratto l'infezione.

Il rischio di trasmissione al feto varia in base alla tipologia di infezione materna: per l'infezione primaria varia tra il 30% e il 40% nei primi due trimestri di gravidanza e tra il 40% e il 70% nel terzo trimestre. Nel 10% dei casi il bambino è destinato a sviluppare gravi lesioni permanenti. Il rischio di trasmissione a seguito di infezione non primaria è invece molto più basso (1-2%). Il feto corre un maggior rischio di complicanze, malformazioni congenite o di esiti a distanza, quando si verifica un'infezione primaria durante il primo trimestre della gravidanza. Questo potrebbe causare parto prematuro, aborto spontaneo e morte fetale.

L'85-90% dei neonati con infezione congenita è asintomatico mentre il restante circa 10-15 % è sintomatico alla nascita. In epoca successiva una quota degli asintomatici, circa il 10% di questi potrebbe svilupperà delle complicanze tardive, tra cui nel 5% dei casi un deficit uditivo neurosensoriale più o meno grave, presente alla nascita in solo l'1% circa dei casi di cCMV. La

sordità può essere monolaterale o bilaterale (asimmetrica o simmetrica); in circa la metà dei casi presenta un decorso progressivo o ad esordio peri-verbale, di entità variabile da lieve a profonda. Tuttavia, nella maggior parte dei casi si presenta come bilaterale e di grado variabile.

Altre patologie o problematiche correlate all'infezione da cCMV sono: malformazioni e/o danni neurologici (microcefalia, idrocefalo, calcificazioni endocraniche, corioretinite, ecc.), patologie del sistema gastro-intestinale quali l'epatite a cui segue la cirrosi epatica, dell'apparato emopoietico quali l'anemia eritroblastica. (Salfa & Suligoi, 2020)

- *Diagnosi*:

Per la diagnosi di infezione da cCMV è necessario eseguire le analisi del sangue, visto che l'infezione non comporta una sintomatologia specifica che ne renda possibile l'identificazione con una semplice visita medica. Dalle analisi del sangue si andrà poi ad effettuare l'isolamento del virus o la rilevazione di anticorpi anti-cCMV (IgM nel caso di infezione in corso, IgG nel caso di infezione pregressa). Per le donne in gravidanza, gli esami di laboratorio (virologia e sierologia) sono il mezzo migliore per stabilire la diagnosi dell'infezione.
Le IgM-cmv sono un buon indicatore della presenza o meno dell'infezione, e permettono di valutare se essa sia recente o passata. Si possono riscontrare bassi indici di avidità entro le 18-20 settimane di gravidanza, mentre successivamente la sensibilità risulta essere ridotta.

Tuttavia, un'infezione materna non necessariamente significa infezione fetale. Per determinare l'eventuale trasmissione al feto bisogna effettuare l'amniocentesi (almeno 7 settimane dopo la data presunta dell'infezione materna), e l'analisi del sangue fetale, anche se risultano essere esami più invasivi. È inoltre importante sapere che di per sé la diagnosi di infezione fetale non è un indicatore di malattia. L'infezione congenita può essere diagnosticata identificando il DNA del virus mediante PCR (Polymerase chain reaction) nelle urine, nella saliva o in altri liquidi biologici prelevati entro le prime 2-3 settimane di vita. Trascorse le prime 3 settimane di vita, la presenza del virus nei liquidi biologici non permette di differenziare tra un'infezione avvenuta in epoca prenatale da quella post-natale. Considerando che l'outcome clinico a distanza di un'infezione congenita è diverso da quello di un'infezione acquisita post-nascita e che nel primo caso la terapia antivirale tempestiva modifica l'evoluzione della malattia, è di fondamentale

importanza che la diagnosi venga effettuata entro il primo mese di vita. (LAZZAROTTO, 2007)

MATERIALI E METODI

Nella presente review della letteratura sono stati selezionati articoli peer-reviewed pubblicati e reperibili in PubMed, in lingua inglese. I criteri di selezione sono stati i seguenti:

1. data di pubblicazione successiva al 1gennaio 2000;
2. studio clinico e neuroradiologico mediante Risonanza Magnetica Nucleare (RMN) di casistiche pediatriche con diagnosi certa di infezione congenita da cCMV;
3. descrizione di outcome audiologico;
4. disponibilità del full text;

Sono state escluse pubblicazioni antecedenti il 2000, quelle in cui la diagnosi di infezione congenita da citomegalovirus era dubbia o non chiaramente ricavabile dalle informazioni contenute nell'abstract e/o nell'articolo e quelle in cui la descrizione del quadro audiologico era incompleto e/o il follow-up non riportato. Sono stati altresì escluse le pubblicazioni in cui lo studio neuroradiologico cerebrale e delle vie uditive centrali non è stato riportato.

La scelta di limitare agli ultimi 20 anni la ricerca bibliografica è legata alla più diffusa disponibilità di diagnostica strumentale per l'identificazione dell'infezione congenita (test salivari, test di urine e di genetica molecolare), così come dello studio RMN nell'identificazione e il monitoraggio delle lesioni cerebrali da cCMV congenito.

Le parole chiave utilizzate sono state le seguenti: ipoacusia neurosensoriale, citomegalovirus congenito, cCMV, in combinazione con ipoacusia infantile, ipoacusia congenita, ipoacusia progressiva, per poter identificare e selezionare gli articoli che riportano casistiche di pazienti con ipoacusia ad esordio nella prima infanzia.

RISULTATI

La ricerca bibliografica utilizzando le parole chiave: ipoacusia, citomegalovirus congenito, cCMV, in combinazione con ipoacusia congenita, ipoacusia progressiva, fino al 3 ottobre 2022, ha portato alla selezione di 735 articoli. Tra questi sono stati esclusi 627 perché non comprensivi di studio radiologico per immagini. Dei 108 rimanenti sono stati esclusi altri 42 perché lo studio radiologico non comprendeva la RMN. Infine, ulteriori 52 articoli sono stati esclusi perché: la definizione eziologica della perdita uditiva nella popolazione esaminata non risultava certamente dovuta al cCMV, la descrizione del fenotipo e/o il follow-up audiologico non era sufficientemente dettagliato, il full text non era disponibile o perché l'articolo era pubblicato in una lingua diversa dall'inglese.

Pertanto, gli articoli che soddisfacevano i criteri di selezione sono stati 14. Nella tabella I seguente vengono riassunti i dati salienti dei singoli lavori considerati in questa review.

Tabella I - La tabella riporta i dati salienti dei 14 articoli oggetto della review

Nr.	AUTORE, ANNO	CONTESTO	NUMEROSITA' CASISTICA	ETA' MEDIA	BREVE DESCRIZIONE Outcome audiologico
1	MADDEN et al., 2005	CINCINNATI CHILDREN'S HOSPITAL MEDICAL CENTER - USA	21 BAMBINI CMV CONGENITO SINTOMATICO	12 AA	IPOACUSIE: 25% MONOLATERALI, 43% PROGRESSIVE. CORRELAZIONE GRAVITA' PTA INIZIALE CON LA PROGRESSIONE E LA PARALISI CEREBRALE INFANTILE.
2	AMIR et al., 2010	SCHNEIDER CHILDREN'S MEDICAL CENTER OF ISRAE- ISR	23 BAMBINI AFFETTI DI CMV CONGENITO SINTOMATICO	2-3 AA	ESITI DI TRATTAMENTO ANTIVIRALE PROLUNGATO NEL CMV CONGENITO SINTOMATICO.
3	AVETTAND-FENOEL et al., 2013	PARIS - FRA	100 BAMBINI CON IPOACUSIA BILATERALE	<3 AA	CMV È LA SECONDA CAUSA PIU' FREQUENTE DI IPOASCUSIA BILATERALE.
4	WILLIAMS et al., 2014	GREAT NORTH CHILDRENS HOSPITAL ROYAL VICTORIA HOSPITAL - UK	411 BAMBINI	<22 GG	FATTIBILITA' DELLO SCREENING SALIVARE DEL CMV DEI BAMBINI IPOACUSICI A RISCHIO.
5	KIMBERLIN et al., 2015	NATIONAL INSTITUTE OF ALERGY AND INFECTIONS DISEASES - USA	109 PAZIENTI CON CMV CONGENITO SINTOMATICO	0-28 GG	TRATTAMENTO CMV CON GANCICLOVIR PER VIA ENDOVENOSA PER 6 SETTIMANE MIGLIORA ESITI AUDIOLOGICI A 6 MESI.
6	PETERSON et al., 2020	INSTITUTIONAL REVIEW BOARD OF THE UNIVERSITY IOWA - USA	4284 BAMBINI	0-28 GG	INDIVIDUARE BAMBINI POSITIVI AL CMV CON PERDITA UDITIVA ATTRAVERSO TEST GENETICI.
7	LO et al., 2022	DEPARTAMENT OF OTOLARYNGOLOGY , NATIONAL TAIWAN UNIVERSITY HOSPITAL - TWN	39 BAMBINI	1-2 AA	FATTORI PROGNOSTCI DEGLI ESITI UDITIVI NEI BAMBINI INFETTI DAL CMV
8	PUHAKKA et al., 2022	HELSINKI - FIN	32 BAMBINI	3-4 AA	ESITI UDITIVI IN BAMBINI CON INFEZIONE CMV, RISULTATI DEL FOLLOW UP DOPO I 3 AA DI ETA'
9	LAZZAROTTO et al, 2007	BOLOGNA, ITALY			DIAGNOSI PRENATALE
10	BOPPANA et al, 2013	UNIVERSITY OF ALABAMA AT BIRMINGHAM			INFEZIONE CONGENITA DA CMV DAL PUNTO DI VISTA CLINICO
11	GODERIS et al, 2014	DEPARTMENT OF OTORHINOLARYNG OLOGY, BELGIUM			CMV COM CAUSADI PERDITA UDITIVA NEUROSENSORIALE NELL'INFANZIA
12	AVERILL et al, 2015	DEPARTMENT OF MEDICAL IMAGING NEMOURS			RMN CEREBRALE OTTIMO STRUMENTO PER DIAGNOSI DI INFEZIONE CONGENITA SINTOMATICA DA CMV
13	PROSSER, et al 2021	AUGUSTA, USA			CMV PER L'OTORINOLARINGOIATRIA PEDIATRICA
14	PINNINTI, BOPPANA	UNIVERSITY OF ALABAMA AT BIRMINGHAM			DIAGNOSTICA DELLE INFEZIONI CONGENITE DA CMV

Nonostante effettuare la diagnosi di infezione congenita da cCMV risulti essere ancora complessa, il monitoraggio sempre più attento e serrato dello stato infettivo delle donne in gravidanza negli ultimi anni si conferma quale strategia più diffusa. Lo screening durante la gravidanza e in più momenti permette di stimare il rischio di trasmissione del virus in caso di positività.

D'altra parte, il metodo più efficace per stabilire l'infezione fetale è la ricerca di DNA virale nel liquido amniotico prelevato in corso di amniocentesi; questa procedura viene eseguita tra la 16a e la 22a settimana di gestazione. Questa tecnica si è rivelata la più appropriata, sebbene sia più invasiva e comporti un rischio due volte maggiore per il feto. (Lazzarotto, 2007)
A prescindere dai risultati dei test eseguiti durante la gravidanza, nella donna, gli esami che riguardano il neonato (0-28gg) permettono di fare la diagnosi certa di infezione cCMV e programmare di conseguenza tempestivamente l'eventuale trattamento antivirale e il follow-up personalizzato. (Williams, 2014) evidenzia l'importanza dei test salivari e delle urine che permettono di diagnosticare un'infezione congenita. Su 411 casi esaminati, sono stati identificati 6 bambini con cCMV, tutti risultati positivi al test salivare; di questi 5 sono risultati positivi all'esame delle urine, mentre il DBS (Dried Blood Spots su Guthrie card) era positivo solamente in 2 casi, a conferma del fatto che quest' ultimo test non sia sufficientemente sensibile nel rilevare l'infezione congenita. Di questi 6 bambini, 3 hanno sviluppato, come conseguenza dell'infezione alla nascita, una perdita uditiva neurosensoriale bilaterale. Di seguito la tabella II riassuntiva di tali dati:

CASE	SALIVCMV PCR	URINE CMV PCR	DBS	HEARING
1	POSITIVE DAY 15	NEGATIVE POSITIVE DAY 43	NEGATIVE	NORMALE
2	POSITIVE DAY 1	POSITIV DAY 11	NEGATIVE	NORMAL
3	POSITIVE DAY 6	POSITIVE DAY 23	POSITIVE	PROFOUND UNILATERAL SNHL
4	POSITIVE DAY 0	POSITIVE DAY 8	NEGATIVE	NORMAL
5	POSITIVE DAY 0	POSITIVE DAY 13	NEGATIVE	PROFOUND UNILATERAL SNHL
6	POSITIVE DAY 3	POSITIVE DAY 10		MODERATE UNILATERAL SNHL

Tabella II – screening, diagnostic and clinical assesment results on infants identified with cmv. - (Williams, 2014)

Ancora più di recente, viene evidenziata l'importanza di combinare lo studio genetico molecolare alla ricerca di infezione congenita da cCMV nei pazienti con ipoacusia. Peterson et al., in uno studio del 2020, hanno studiato 661 bambini con ipoacusia congenita bilaterale, 14 dei quali sono risultati positivi al cCMV. In due di questi bambini, affetti da ipoacusia grave-profonda simmetrica, lo studio genetico molecolare ha identificato la presenza di mutazioni patogene nei geni *GJB2 e CDH23*, che sono già noti come causa di ipoacusia. (Peterson, Nishimura, & Smith, 2020)

Autori francesi riportano una prevalenza dell'infezione dell'8% dell'infezione congenita da cCMV su 100 bambini con ipoacusia bilaterale esaminati. La percentuale sale al 15,4% se si considera il sottogruppo di bambini con ipoacusia profonda (Avettand-Fenoel, 2013). In 6 di questi otto bambini l'infezione da cCMV è stata diagnosticata solo in occasione dello studio citato.

Un altro strumento che viene utilizzato per diagnosticare l'infezione da cCMV è la risonanza magnetica nucleare (RMN) cerebrale eseguita sul feto, che ha una sensibilità nettamente maggiore rispetto ad una semplice ecografia prenatale nella diagnosi dell'infezione congenita da citomegalovirus sintomatica (Averill, 2015).

Madden et al. (2005), hanno studiato 21 bambini con ipoacusia congenita da cCMV: 5 presentano una sordità monolaterale e 16 bilaterale; 9 bambini hanno avuto una

perdita uditiva progressiva. Tendenzialmente sui bambini infetti alla nascita vengono effettuati accertamenti fino ai 6 anni di età, ma questo articolo, in cui il follow-up medio è stato di oltre 8 anni, suggerisce di effettuare dei follow up per un tempo maggiore, proprio per permettere di effettuare anche diagnosi tardive. (Madden, 2005)

Lo et al., (2022), dimostrano che 26 su 39 bambini affetti da cCMV hanno superato l'NHS (screening uditivo neonatale) alla nascita e solo 13 non lo hanno superato. Nei pazienti che non hanno superato l'NHS è stata confermata la diagnosi di SNHL (perdita auditiva neurosensoriale) in seguito ad ulteriori esami audiologici diagnostici. Dieci pazienti su 39 sono stati classificati come sintomatici alla nascita, 9 presentavano una perdita uditiva isolata e i restanti 20 erano asintomatici con udito normale. Ad un totale di 16 pazienti hanno diagnosticato la SNHL di cui 6 con ipoacusia monolaterale e 10 bilaterale. Tra questi 16 pazienti, 3 risultavano essere tra coloro che avevano superato l'NHS e la perdita uditiva è stata riscontrata nel corso delle valutazioni di follow-up, suggerendo quindi una SNHL a esordio tardivo. (Lo, 2022)

Uno studio finlandese, di recentissima pubblicazione, riporta i dati di una casistica di 32 bambini che sono risultati positivi all'infezione da cCMV alla nascita e che hanno superato l'NHS e rivalutati in seguito a distanza di 3-4 anni. Cinque di loro hanno sviluppato una perdita uditiva monolaterale, ma nessuno una forma bilaterale. Di questi 5, uno risultava sintomatico alla nascita, mentre gli altri 4 erano asintomatici. La perdita dell'udito si è verificata in 3 bambini su 15 nati da madri con infezione da cCMV secondaria durante la gravidanza e in 2 bambini su 10 la cui madre aveva avuto un'infezione primaria da cCMV durante il 2- 3 trimestre. (Puhakka, 2022)

Due lavori, dimostrano che trattare la perdita uditiva associata al cCMV è possibile, ma è necessario intervenire precocemente e nel momento opportuno. (Amir, Treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection with intravenous ganciclovir followed by long-term oral valganciclovir, 2010) (Kimberlin, 2015)

Nello specifico, nel lavoro di Amir et al. (2010) 23 bambini sintomatici alla nascita, avevano un'età maggiore ≥1anno al momento dello studio di cui 4 sottoposti al

trattamento per via endovenosa con ganciclovir, mentre agli altri 19 è stata somministrata per via orale il valganciclovir. Entrambe le terapie sono state somministrate per un tempo medio di 9,7 ± 0,5 mesi. (Amir, Treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection with intravenous ganciclovir followed by long-term oral valganciclovir, 2010)

Kimberlin et al (2015) invece, dei 96 pazienti con cCMV e sintomatici (età media da 0-28gg), 49 sono stati trattati con ganciclovir per via endovenosa per la durata di 6 settimane, mentre i restanti 47 sono stati trattati con valganciclovir per via orale per la durata di 6 mesi. I risultati ottenuti da questi 96 pazienti trattati farmacologicamente, con preparati e durata diversa, sono stati confrontati con quelli ottenuti su un gruppo di controllo ai quali non sono stati somministrati farmaci (Kimberlin, 2015). La valutazione dei pazienti è stata effettuata con esami audiometrici ed esame ABR (ABR- Auditory Brainstem Response, potenziali evocati uditivi del tronco encefalico).

In quanto alle caratteristiche audiologiche della perdita uditiva da cCMV, esse sono state oggetto di diverse review che sottolineano la variabilità clinica dell'ipoacusia cCMV - correlata. Essa può presentarsi nei neonati con infezione sintomatica come bilaterale, mentre nei neonati con cCMV asintomatici spesso la sordità risulta essere monolaterale, progressiva o ad esordio tardivo, post-natale. (Goderis, 2014) , (Boppana & Ross, 2013)

DISCUSSIONE

Questa revisione di letteratura ha avuto l'obiettivo di riassumere l'attuale stato dell'arte

sulle ipoacusie infantili causate dall'infezione congenita da citomegalovirus, le principali tecniche

diagnostiche e le opzioni terapeutiche in grado di modificare l'outcome a medio-lungo termine.

Numerosi studi sottolineano e concordano sull'importanza dei frequenti test di screening durante la

gravidanza e nel periodo prenatale (Lazzarotto, 2007) e (Pinninti & Boppana, 2022). D'altronde l'identificazione precoce di eventuale infezione congenita ha come obiettivo e permette ai neonati infetti l'accesso ad un trattamento antivirale precoce e tempestivo, oltre ad una più mirata programmazione del follow-up. (Amir, Treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection with intravenous ganciclovir followed by long-term oral valganciclovir, 2010) (Kimberlin, 2015)

Un altro momento di screening per la ricerca dell'infezione congenita da cCMV è il periodo postnatale precoce, nel corso delle prime 2-3 settimane di vita. In questi casi, la ricerca di antigeni virali va effettuata sul sangue e/o le urine del neonato. (Williams, 2014)

È stato dimostrato che la maggior parte dei bambini con cCMV nasce da donne con sieropositività preesistente per il cCMV (infezione materna non primaria/secondaria); dal momento che non sempre risulta possibile differenziare mediante test sierologici il tipo di infezione in gravidanza mediante test di screening per ricerca di anticorpi anti-cCMV, questi test vengono riservati alle donne di cui si sospetta un'infezione da cCMV in atto. Pertanto, spesso sfuggono alla diagnosi precoce quei bambini che si infettano per una riattivazione del virus nella madre, impedendo agli stessi di ricevere un trattamento tempestivo adeguato.

Qualora si sospettasse un'infezione durante la gravidanza, la diagnosi di passaggio del virus nel feto può essere verificata attraverso la ricerca del DNA nel liquido amniotico. A tal proposito va ricordato che è fondamentale che l'amniocentesi venga eseguita dopo il compimento della 21-esima settimana di gestazione, a causa dell'insufficiente sensibilità della PCR nel rilevare il DNA del virus prima di allora. (Pinninti & Boppana, 2022)

Per quanto riguarda la diagnosi neonatale, invece, lo strumento più utile fino al 2014 risultava essere lo screening effettuato su campioni salivari e urinari, con una preferenza per i primi per una maggior semplicità di esecuzione. Grazie a vari studi però, questi esami sono stati sostituiti perché essi prevedevano delle tempistiche troppo lunghe; infatti, per finalizzare i risultati sono necessarie diverse settimane. Al loro posto, al giorno d'oggi, si predilige un metodo basato su centrifugazione e successivo utilizzo di anticorpi monoclonali in un terreno di coltura in grado di

riconoscere antigeni prodotti precocemente dal cCMV, al fine di arrivare ad una diagnosi più rapidamente. Questo test ha di fatto tempi di esecuzione e attesa più brevi (ca. 24h) e risulta essere meno costoso (Pinninti & Boppana, 2022) (Prosser, 2021); può inoltre essere accompagnato da un altro strumento estremamente sensibile, la PCR. Per diagnosticare l'infezione da cCMV congenita, la PCR deve essere eseguita entro le prime 2-3 settimane di vita, perché altrimenti aumenta il rischio di ottenere dei falsi-positivi dovuti alla presenza del virus nel latte materno, e che potrebbero contaminare la saliva del neonato se il test viene eseguito troppo vicino all'allattamento. In questo caso la presenza del virus non è associata ad anomalie dello sviluppo o alla perdita dell'udito, in quanto l'infezione non è congenita, ma acquisita. (Prosser, 2021)

Di recente è stato dimostrato che i test genetici (Peterson, Nishimura, & Smith, 2020) effettuati nei neonati (0-28gg) possono risultare più informativi soprattutto per quanto riguarda le infezioni asintomatiche. Questo perché spesso chi ha una perdita uditiva bilaterale, che viene identificata attraverso lo screening uditivo neonatale, ha una maggior probabilità di avere un'ipoacusia di natura genetica, piuttosto che da cCMV. Lo et al (2022), sottolineano infatti che chi non supera l'NHS (screening uditivo neonatale) è maggiormente a rischio di sviluppare una perdita uditiva. È stato inoltre rilevato che la carica virale alla nascita dei neonati sintomatici è più alta di quella dei neonati asintomatici. Solitamente gli asintomatici tendono ad avere elevate possibilità di passare l'NHS e una probabilità minore rispetto ai sintomatici di sviluppare la SNHL. Pur non essendo in grado di predire se il bambino presenterà un'ipoacusia monolaterale o bilaterale, gli autori suggeriscono che la presenza di sintomi alla nascita, il "fail/refer" allo screening uditivo neonatale e l'entità della carica virale ematica potrebbero essere dei fattori pronostici per lo sviluppo di una SNHL. (Lo, 2022)

Tutto questo è di fondamentale importanza al fine di stabilire una diagnosi il più completa e appropriata possibile, così da poter prendere una decisione precoce sul trattamento da effettuare.

Un altro strumento importante è la risonanza magnetica cerebrale fetale che fornisce delle immagini di qualità superiore e consente di avere una valutazione più

dettagliata rispetto ad un'ecografia prenatale e può mostrare la presenza di ventricolo-megalia, microcefalia o anomalie del lobo temporale anteriore o lesioni della sostanza bianca che assumono un valore predittivo.

Da un punto di vista audiologico la maggior parte dei bambini sintomatici ha una perdita dell'udito bilaterale, mentre gli asintomatici hanno una perdita monolaterale che spesso viene diagnosticata in età scolare a causa della mancanza di sintomi da infezione congenita da cCMV. La perdita uditiva causata dall'infezione da cCMV è tipicamente neurosensoriale e varia da media, a grave o profonda.

Molti studi inoltre, evidenziano che l'ipoacusia da cCMV può risultare progressiva e fluttuante e, spesso ad esordio tardivo, a sua volta dovuto a diversi possibili fattori: mancanza di programmi di screening uditivo neonatale o un esito negativo oppure ancora dubbio che talvolta rende necessario effettuare follow-up audiologici per un lungo periodo. Madden at al (2005), sottolineano che i bambini con ipoacusia neurosensoriale da cCMV sintomatico presentano un fenotipo audiologico ampiamente variabile: nel 43% dei casi progressiva, anche tra quelli il cui PTA (Pure Tone Average) iniziale era indicativo una perdita uditiva medio-grave, per poi progredire a grave o profondo. Pur non avendo individuato le cause che portano alla progressione della perdita uditiva, gli autori ipotizzano che la storia naturale di una ipoacusia da cCMV è di fatto caratterizzata dalla progressione e, una soglia uditiva migliore alla nascita è più facilmente testabile successivamente e quindi permette di identificare una possibile progressione rispetto a chi ha già all'inizio una perdita uditiva profonda. Questi riscontri portano ad un follow-up a lungo termine dei bambini affetti da cCMV per individuare una progressione della perdita uditiva. (Madden, 2005) (Puhakka, 2022)

È importante che la diagnosi eziologica venga effettuata entro il primo mese di vita in modo da poter intervenire utilizzando la terapia antivirale che si avvale dell'utilizzo di ganciclovir e valganciclovir.

La terapia consiste in un trattamento di 6 settimane con ganciclovir per via endovenosa o, per evitare effetti collaterali (quale neutropenia), può essere accompagnato dal pro-farmaco orale chiamato valganciclovir, un trattamento a lungo termine (6 mesi). I dati dimostrano che il trattamento antivirale di 6 mesi

permette di migliorare leggermente l'udito a lungo termine così come lo sviluppo psicomotorio a distanza, cosa che non avviene con sole 6 settimane di trattamento con ganciclovir (Kimberlin, 2015), (Amir, Treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection with intravenous ganciclovir followed by long-term oral valganciclovir, 2010). Inoltre, il ganciclovir mostra degli effetti cancerogeni nell'animale da esperimento. Nonostante ciò non sia stato osservato nei tessuti umani, rimane comunque un dato da tenere presente e da discutere con la famiglia al momento della scelta del trattamento. La terapia antivirale, non applicata inizialmente ai bambini con infezione congenita da cCMV asintomatica, è negli ultimi anni, riportata come efficace nell'arrestare la progressione o persino portare ad un miglioramento o normalizzazione della soglia uditiva. (Amir, Treatment of late-onset hearing loss in infants with congenital cytomegalovirus infection, 2014) (Dorfman, 2020)

La vaccinazione rappresenta la soluzione più efficace per prevenire le eventuali complicanze dovute al cCMV. Attualmente sono in corso studi clinici per ridurre l'incidenza dell'infezione primaria da cCMV attraverso l'utilizzo del vaccino che si basa sulla glicoproteina gB dell'involucro del cCMV i cui risultati preliminari sono promettenti. Tuttavia, ad oggi non è disponibile alcun vaccino, anche per la difficoltà nel comprendere i meccanismi della risposta immunitaria necessaria per garantire una protezione dalle infezioni da cCMV. (Prosser, 2021)

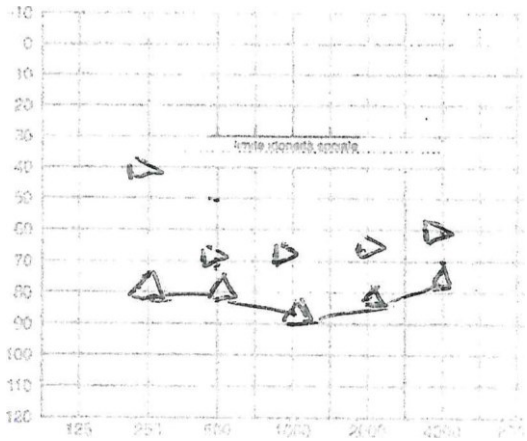
Caso clinico

Di seguito viene descritto il caso di una giovane paziente la cui diagnosi di ipoacusia da possibile infezione congenita da cCMV è stata fatta solo all'età di 23 anni grazie alla diagnostica per immagini (TC e RMN). Nata a termine e da gravidanza normodecorsa, le veniva posta la diagnosi di ipoacusia medio-grave bilaterale intorno ai 5 anni di età. Gli specialisti a cui si era rivolta non erano stati in grado di darle delle risposte e non hanno mai avviato o indicato un iter diagnostico genetico, radiologico, immunologico prima di allora. Negli anni vi è stato un deterioramento della soglia audiometrica a destra fino all'attuale anacusia, mentre nell'orecchio sinistro la condizione, valutata mediante esami audiometrici periodici, è stabilizzata in un'ipoacusia neurosensoriale media. Nel corso di ulteriori controlli, dopo 4 anni,

si evidenzia nuovamente una progressione a sinistra, lato in cui attualmente si configura un'ipoacusia mista medio-grave, a destra rimane anacusica. Come riportato nelle seguenti (Figure 1,2,3)

Figura 1° Esame audiometrico del 03-2004

Orecchio destro **Orecchio sinistro**



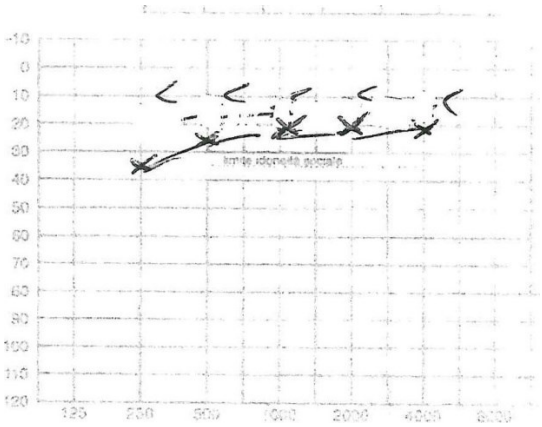


Figura 2° Esame audiometrico del 03-2005

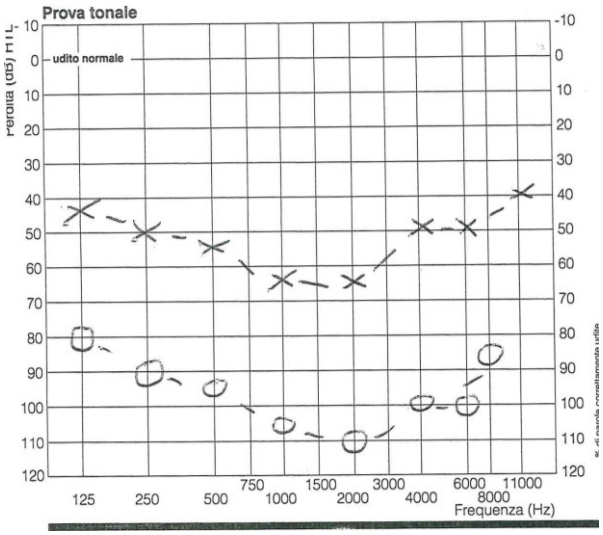
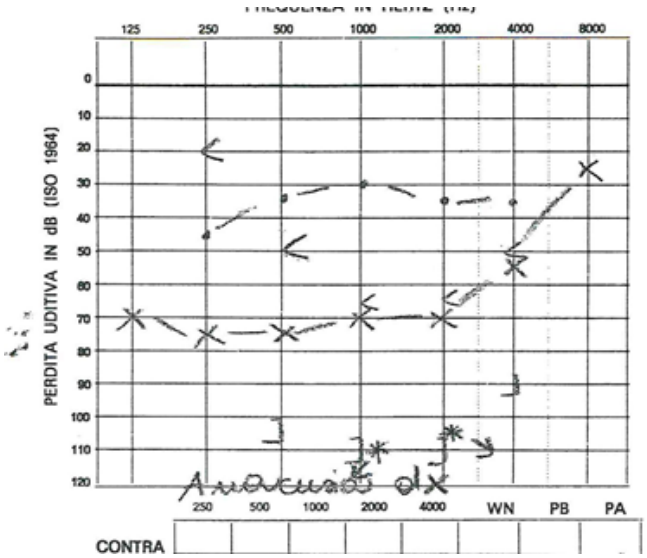


Figura 3° Esame audiometrico del 08-2009



Da bambina è stata quindi protesizzata nell'orecchio sinistro con un retro-auricolare che ha utilizzato in maniera continuativa fino al periodo adolescenziale. Successivamente, intorno ai 15 anni di età, questo è stato sostituito con un apparecchio acustico endoauricolare di potenza per motivi estetici e sportivi.

L'associazione di questa ipoacusia all'infezione da cCMV è emersa in occasione dello studio neuroradiologico attraverso TC e RMN eseguiti con il duplice obiettivo: indagare eventuali malformazioni della capsula otica e delle vie uditive centrali e in previsione dell'applicazione di un impianto cocleare nell'orecchio anacusico. Mi preme sottolineare che la mancanza, troppo a lungo, di una diagnosi non ha consentito né alla paziente, né alla famiglia la comprensione della malattia, né di affrontare tempestivamente le ripercussioni che la sua perdita uditiva ha avuto sugli apprendimenti scolastici, sullo sviluppo regolare di una vita sociale e relazionale e la programmazione degli obiettivi accademici e lavorativi (non so se può andare in questa forma).

La ricerca, la selezione e lo studio d numerose pubblicazioni scientifiche sulle ipoacusie da cCMV, la maggior parte dei quali hanno risvolti multidisciplinari, mi hanno consentito di inserire tale eziologia tra le ipotesi diagnostiche per il caso in questione.

È infine evidente che in presenza di una ipoacusia da cCMV il rischio di ricorrenza della sordità è radicalmente differente rispetto ad una forma genetica. Di seguito le immagini della RMN del caso clinico preso in esame: (Figura 4,5,6)

Figura 4°

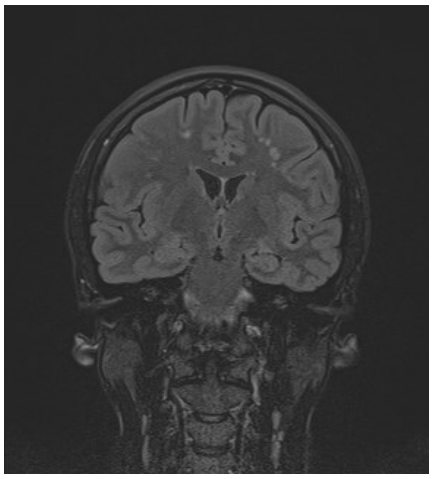


Figura 5°

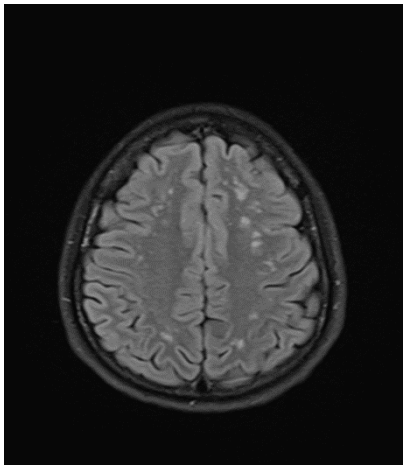
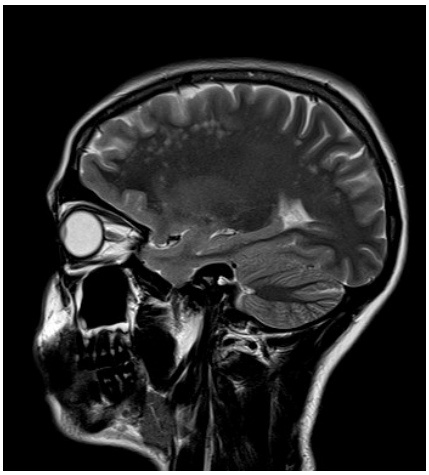


Figura 6°



CONCLUSIONI

La scelta di inserire questo caso clinico è data dal fatto che derivando da un'infezione virale, l'ipoacusia di questa ragazza era potenzialmente evitabile. Serve ad avvalorare quindi le conclusioni di questa tesi, andando a sensibilizzare ulteriormente sulla necessità di effettuare maggiormente test/esami di screening durante la gravidanza e alla nascita, che potrebbero migliorare, se non addirittura evitare le ipoacusie e tutte le problematiche che ne derivano a questi bambini.

Questa revisione conferma la rilevanza dell'infezione congenita da cCMV nell'infanzia associata alla perdita uditiva neurosensoriale.

L'obiettivo è quello di stimolare ad effettuare test di screening per cCMV sia in gravidanza che neonatali, più frequentemente di quanto non avvenga ora. La diagnosi e il trattamento tempestivo condizioneranno significativamente lo sviluppo delle abilità cognitivo-linguistiche e quindi l'intera vita dell'individuo, ma anche quella della sua famiglia. Come numerosi studi oramai riportano, alcuni citati ampiamente in questo lavoro, la diagnosi precoce di un'infezione congenita da cCMV permetterebbe l'accesso tempestivo alle terapie antivirali già disponibili e potenzialmente preservare l'udito o arrestarne la progressione. I benefici che ne deriverebbero da un trattamento precoce ed efficace andrebbero ben oltre alla sola prevenzione o cura della sordità.

BIBLIOGRAFIA

Amir, J. e. (2010). Treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection with intravenous ganciclovir followed by long-term oral valganciclovir. *https://link.springer.com/journal/431, 169*.

Amir, J. e. (2014, May;). Treatment of late-onset hearing loss in infants with congenital cytomegalovirus infection. *Clin Pediatr (Phila), 53*(5), 444-8.

Averill, L. e. (2015). Fetal Brain Magnetic Resonance Imaging Findings In Congenital Cytomegalovirus Infection With Postnatal Imaging Correlation. *Seminars in Ultrasound, CT and MRI, 36*, 476-486.

Avettand-Fenoel, V. e. (2013). Congenital Cytomegalovirus Is the Second Most Frequent Cause of Bilateral Hearing Loss in Young French Children. *The Journal of Pediatrics, 162*. Tratto da https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.08.009

Boppana, S., & Ross, S. (2013). Congenital Cytomegalovirus Infection: Clinical Outcome. *JOURNAL ARTICLE*, 178-181. Tratto da https://doi.org/10.1093/cid/cit629

Dorfman, L. e. (2020, May). Treatment of congenital cytomegalovirus beyond the neonatal period: an observational study. *Eur J Pediatr, 179*(5), 807-812.

Filia. (2019). *ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'*. Tratto da ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA': https://www.epicentro.iss.it/rosolia/

Goderis, J. e. (2014). Hearing Loss and Congenital CMV Infection: A Systematic Review. Pediatrics (2014), 972-982. Tratto da https://doi.org/10.1542/peds.2014-1173

Joint Commetttee on Infant Hering. (2019). Year 2019 Position Statement: Principles and Guidelines for Early Hearing Detection and Intervention Programs. *The Journal of Early Hearing Detection and Intervention, 4*(2), 1-44.

Kimberlin, D. e. (2015). Valganciclovir for symptomatic congenital cytomegalovirus disease. *N Engl J Med*, 933-943. Tratto da 10.1056/NEJMoa1404599

Lazzarotto, T. e. (2007). New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *Journal of Clinical Virology, 41*, 192-197.

Lo, T. e. (2022). Prognostic determinants of hearing outcomes in children with congenital cytomegalovirus infection. *Scientific Reports volume 12, Article number: 5219 (2022), 12*.

Madden, C. e. (2005). Audiometric, clinical and educational outcomes in a pediatric symptomatic congenital cytomegalovirus (CMV) population with sensorineural hearing loss. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology, 69*, 1191-1198.

OMS. (2022, 10). Tratto da https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/deafness-and-hearing-loss

Peterson, J., Nishimura, C., & Smith, R. (2020). Genetic Testing for Congenital Bilateral Hearing Loss in the Context of Targeted Cytomegalovirus Screening. *Laryngoscope*, 2714-2718. Tratto da https://doi.org/10.1002/lary.28536

Pinninti, S., & Boppana, S. (2022, OCTOBER). CONGENITAL CYTOMEGALOVIRUS INFECTION DIAGNOSTICS AND MANAGEMENT. *https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35984001/#:~:text=Curr%20Opin%20Infect,doi%3A%2010.1097, 35*.

Prosser, J. e. (2021). Congenital cytomegalovirus (CMV) for the pediatric otolaryngologist. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology, 148*.

Puhakka, L. e. (2022). Hearing outcome in congenitally CMV infected children in Finland – Results from follow-up after three years age. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology, 156*.

Salfa, & Suligoi. (2020). *ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'*. Tratto da CITOMEGALOVIRUS: https://www.epicentro.iss.it/citomegalovirus/

SANITA', I. S. (s.d.). *ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'*. Tratto da EPIDEMOLOGIA TOXOPLASMOSI: https://www.epicentro.iss.it/toxoplasmosi/

TARUSCIO. (2022). *Screening neonatale uditivo e visivo: raccomandazioni.* Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore di Sanità, Roma: EPIDEMOLOGIA E SANITA' PUBBLICA.

Taruscio, D et al. (2022). *Screening neonatale uditivo e visivo: raccomandazioni.* Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore di Sanità, Roma: EPIDEMOLOGIA E SANITA' PUBBLICA.

WHO. (2021). *World report on hearing.* Geneva 27: world health organization.

WHO. (2021). *World report on hearing.* geneva, 27: world health organization
.

Williams, E. e. (2014). Feasibility and acceptability of targeted screening for congenital CMV-related hearing loss. *Original article*. Tratto da http://dx.doi.org/10.1136/archdischild-2013-305276

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio la Pro.ssa Cama per avermi guidato e supportato nella fase più importante del mio percorso accademico, ma soprattutto per avermi dato la possibilità di scoprire la causa della mia sordità che da anni non trovavo risposte.
Ai miei genitori, a loro che hanno creduto in me, sin dall'inizio del mio percorso scolastico, con la convinzione che potevo farcela anche da sola, senza nessun sostegno. Al loro costante sostegno ed ai loro insegnamenti senza i quali oggi non sarei ciò che sono. Senza di voi, questo non sarebbe stato possibile.
A mio fratello, il mio piccolo fratellone, sempre pronto ad ascoltarmi e a darmi consigli e a cercare in ogni occasione di farmi sentire al sicuro.
Grazie ai miei nonni per l'affetto che non mi hanno mai fatto mancare, per essere sempre stati orgogliosi di me, per avermi ascoltata, ma soprattutto per la vostra presenza che non è mai mancata. Grazie per avermi fatto sentire la vostra " Dottoressa" anche quando questa avventura era appena iniziata.
A mio nonno Gualtiero, che oggi non può essere qui con me, ma so che mi guardi da lassù e che sei orgoglioso di me e della donna che son diventata.
Questa tesi la dedico a voi che siete la mia famiglia, il mio più grande sostegno e la mia guida.
Voglio ringraziare una persona unica e speciale, Virginia, la mia ragazza, la mia migliore amica, la mia spalla su cui piangere. Abbiamo affrontato insieme questo cammino, passo dopo passo, giorno dopo giorno, superando tante le difficoltà.
Grazie per il tuo supporto costante durante il componimento della tesi e per l'aiuto materiale in fase di ricerca e stesura. Grazie per essere stata sempre al mio fianco in ogni momento e anche oggi, in questo giorno importante, sei qui con me a festeggiare questo mio traguardo, questa mia vittoria che non è non solo mia, ma la nostra!
Grazie a mia zia Patty che ad ogni occasione sa sempre come stapparmi un sorriso, e per esserci stata anche in silenzio.
Grazie a tutte le mie amiche per essere stati presenti, ognuno a suo modo, in questo percorso intenso ed entusiasmante e per avermi sostenuto nei momenti di difficoltà e soprattutto per avermi regalato momenti di spensieratezza e di divertimento.