

# Les actualités du diagnostic de l'infection congénitale à cytomégalo virus (CMV)

M. LERUEZ-VILLE

Centre National de Référence du Cytomégalo virus, Laboratoire de Virologie, Hôpital Necker-Enfant-Malades, Université Paris-Descartes, PARIS.

Les outils du diagnostic virologique de l'infection congénitale à CMV sont la sérologie et la détection de l'ADN viral par PCR. Le diagnostic de la primo-infection pendant la grossesse repose sur l'utilisation des outils sérologiques alors que le diagnostic de l'infection fœtale ou de l'infection à la naissance repose sur l'utilisation des outils moléculaires (PCR).

## LE DIAGNOSTIC DE LA PRIMO-INFECTION MATERNELLE

Le diagnostic d'une primo-infection à CMV chez la femme enceinte repose sur la sérologie avec la recherche d'IgG et d'IgM (*fig. 1*). La présence d'IgG spécifiques témoigne d'un contact avec le virus mais sans présager de la date de la primo-infection. Une séroconversion témoigne d'une primo-infection mais est rarement mise en évidence. En pratique, le diagnostic de primo-infection chez la femme enceinte doit être évoqué devant la présence d'IgM spécifiques. Cependant, l'interprétation de la présence d'IgM anti-CMV doit être extrêmement prudente. En effet, la présence d'IgM ne signifie pas toujours une primo-infection récente : les IgM peuvent persister longtemps chez certains individus au décours de la primo-

infection (pendant plusieurs mois), il peut y avoir une réascension du taux d'IgM à l'occasion d'une réactivation ou d'une réinfection à CMV, des IgM peuvent également être détectées en raison de réactions croisées (notamment en cas de primo-infection à EBV). Par ailleurs, la sensibilité des trousses de détection des IgM CMV est variable (de 30 à 100 % selon les tests) [1, 2] et leur concordance est variable (56 à 75 %) [1].

En raison des difficultés d'interprétation des IgM spécifiques, le recours à la mesure de l'avidité des IgG doit être systématique. L'index d'avidité des IgG représente la mesure de la force de liaison entre des antigènes multivalents viraux (contenus dans le réactif) et les anticorps polyclonaux, de classe IgG présents dans le sérum. L'avidité des IgG spécifiques augmente au cours de la réponse immunitaire : en début d'infection, l'indice d'avidité des IgG est faible, et plus on s'éloigne du début de l'infection, plus cet indice est élevé. En présence d'IgM, l'indice d'avidité permet d'exclure ou de confirmer une primo-infection récente de moins de 3 mois dans 80 % des cas. Dans ces cas, si l'échantillon de sérum testé a été prélevé au 1<sup>er</sup> trimestre de la grossesse, il sera donc possible d'exclure ou d'affirmer la survenue d'une primo-infection pendant la grossesse. Dans

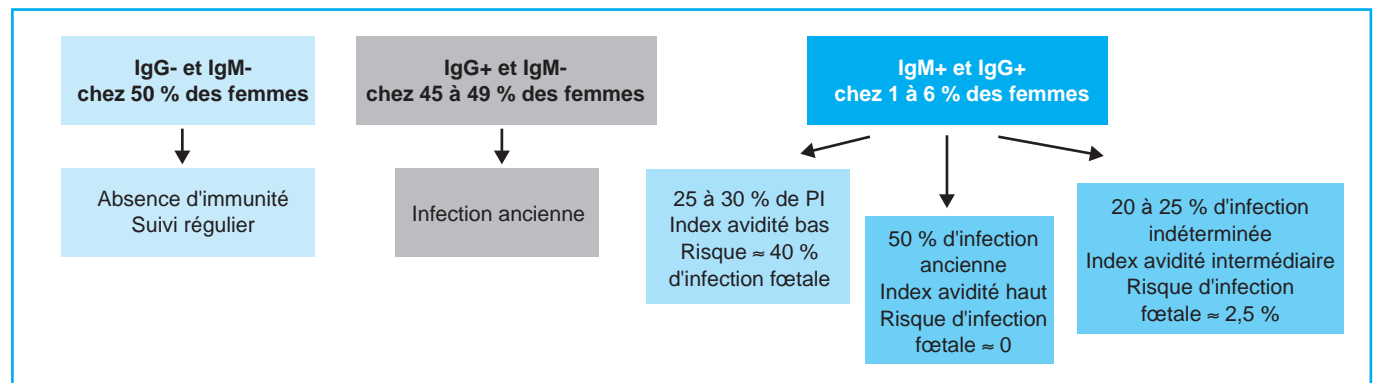


Fig. 1 : Interprétation des sérologies CMV au premier trimestre.

environ 20 % des cas, l'indice d'avidité est intermédiaire (ni élevé, ni bas) et il sera alors impossible d'affirmer ou d'infirmer la survenue d'une primo-infection pendant la grossesse. Ainsi, l'interprétation des résultats de l'indice d'avidité n'est pas toujours simple et peut dépendre de l'expérience du biologiste et de la qualité du test utilisé. En effet, la concordance entre les trousseaux proposés dans le commerce n'est pas excellente [3].

Au total, la stratégie qui consiste à dépister une primo-infection maternelle en réalisant une recherche simultanée d'IgG et d'IgM suivie de la mesure de l'index d'avidité en cas d'IgM positives a une sensibilité de 93 à 100 % et une spécificité de 82 à 100 % dans les différentes études [1, 4-6].

---

### LE DIAGNOSTIC DE L'INFECTION FŒTALE A CMV

---

La méthode diagnostique de référence de l'infection fœtale est la détection du CMV dans le liquide amniotique prélevé par amniocentèse. Trois conditions doivent être réunies pour optimiser la sensibilité et la spécificité du diagnostic de l'infection fœtale :

>>> La technique de détection du CMV dans le liquide amniotique la plus performante est la PCR. En effet, une meilleure sensibilité de la PCR par rapport à la culture a clairement été démontrée dans la littérature [7]. Le choix d'un test de PCR CMV sensible amplifiant toutes les souches de CMV et intégrant un contrôle interne afin de détecter d'éventuels inhibiteurs de PCR est crucial pour la sensibilité du diagnostic prénatal. Jusqu'à très récemment, des tests de PCR CMV "maison" étaient utilisés dans la plupart des laboratoires de virologie, que ce soient des tests de PCR "classiques" nichés ou de PCR temps réel. Depuis peu, des trousseaux commerciaux automatisés de PCR CMV avec marquage CE sont disponibles, certaines ont été validées pour une utilisation dans le cadre du diagnostic prénatal [8].

>>> Par ailleurs, il est aussi très important de bien programmer la date de l'amniocentèse; celle-ci doit être faite après 21 semaines d'aménorrhée (terme au-delà duquel la maturation du système urinaire fœtal est acquise) pour ne pas s'exposer à un risque de faux négatif.

>>> Au final, la ponction de liquide amniotique doit être réalisée au moins 7 semaines après la primo-infection maternelle, une ponction trop proche de la séroconversion maternelle expose aussi à un risque de faux négatif [9, 10].

Lorsque les conditions optimales de prélèvement et de technique sont réunies, la spécificité du diagnostic prénatal est proche de 100 % et la sensibilité est supérieure à 90 %. Quelques faux négatifs sont cependant décrits, avec un diagnostic prénatal négatif (PCR négative dans le liquide amniotique) et un diagnostic à la naissance positif (PCR positive dans les urines à la naissance), ces cas sont généralement liés à une transmission tardive du virus de la mère au fœtus, celui-ci n'étant pas encore infecté au moment où le diagnostic prénatal a été réalisé [11].

Par ailleurs, il est recommandé de vérifier que la virémie maternelle est bien négative avant de pratiquer l'amniocentèse. En effet, il existe un risque théorique de contamination iatrogène du fœtus lors de la ponction en cas de présence de virus dans le sang maternel, même si une étude récente montre que ce risque est probablement exceptionnel [11]. La technique de choix pour éliminer l'existence d'une virémie maternelle est la PCR sur un échantillon de sang. En effet, la technique d'antigénémie pp65 est nettement moins sensible que la PCR et des faux négatifs sont possibles en cas de faible virémie si le test d'antigénémie pp65 est utilisé [12].

La charge virale dans le liquide amniotique ne semble pas prédictive de la sévérité de l'infection parce que notamment l'ADN viral s'accumule dans le liquide amniotique au cours du temps [13]. Lorsque le diagnostic d'infection fœtale est assuré par une PCR positive dans le liquide amniotique, certaines équipes pratiquent une ponction de sang fœtal qui permet de mesurer l'ADNémie fœtale par PCR quantitative et le taux de plaquettes fœtales. Si la valeur pronostique de la thrombopénie fœtale semble maintenant établie [14], celle de la charge virale sanguine fœtale n'est pas actuellement démontrée.

---

### LE DIAGNOSTIC DE L'INFECTION CONGÉNITALE A CMV CHEZ LES NOUVEAU-NÉS

---

La méthode de référence du diagnostic de l'infection congénitale chez le nouveau-né consiste à détecter le virus par culture ou l'ADN viral par PCR dans les urines prélevées dans les 15 premiers jours de vie [15]. La recherche de l'ADN viral dans la salive prélevée dans les premiers jours de vie a été proposée comme alternative au prélèvement d'urine qui est fastidieux, mais il y a peu de données actuellement dans la littérature concernant la sensibilité et la spécificité de cette technique [16]. La détection de l'ADNémie permettrait de dépister 80 % des nouveau-nés infectés congénitalement [17]. Cependant, la mesure de la charge

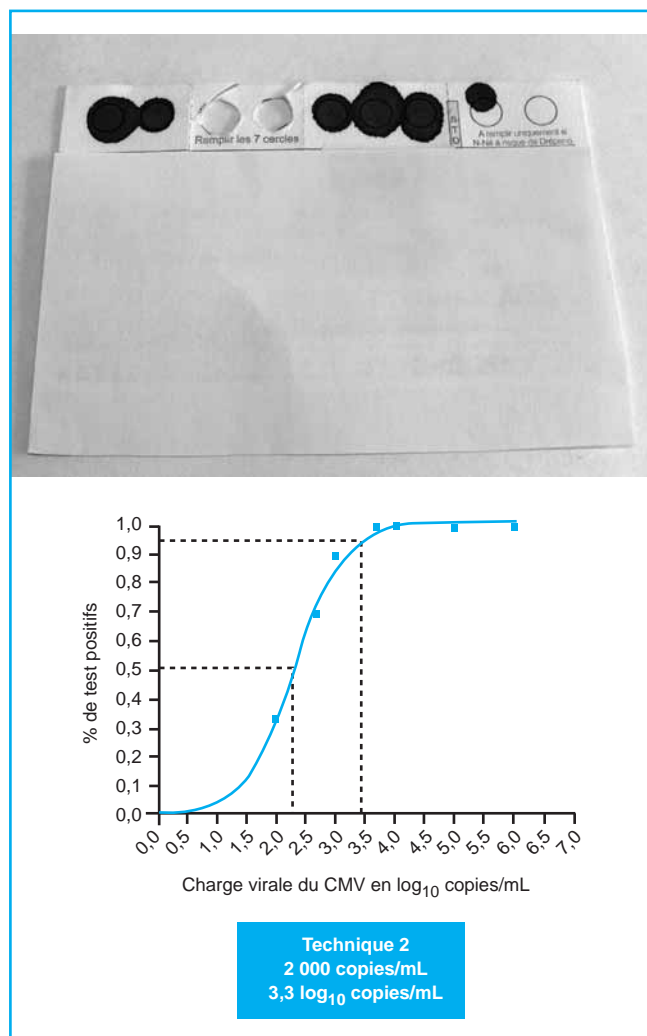


Fig. 2: Prélèvement sur buvard (carton de Guthrie) pour un dépistage néonatal systématique de l'infection congénitale à CMV.

virale sanguine à la naissance pourrait avoir un intérêt pronostique puisqu'il a été montré que parmi les nouveau-nés asymptomatiques ceux qui avaient une charge virale sanguine élevée était à plus haut risque de développer une surdité [17, 18] (fig. 2).

### LE DIAGNOSTIC RETROSPECTIF DE L'INFECTION CONGENITALE A CMV CHEZ L'ENFANT

Lorsque le diagnostic néonatal n'a pas été pratiqué et qu'un jeune enfant présente des signes cliniques compatibles avec une infection congénitale à CMV (signes neurologiques ou surdité), le seul moyen de faire le diagnostic rétrospectif de l'infection congénitale à CMV est de tester le sang séché conservé sur les cartes de Guthrie [19, 20].

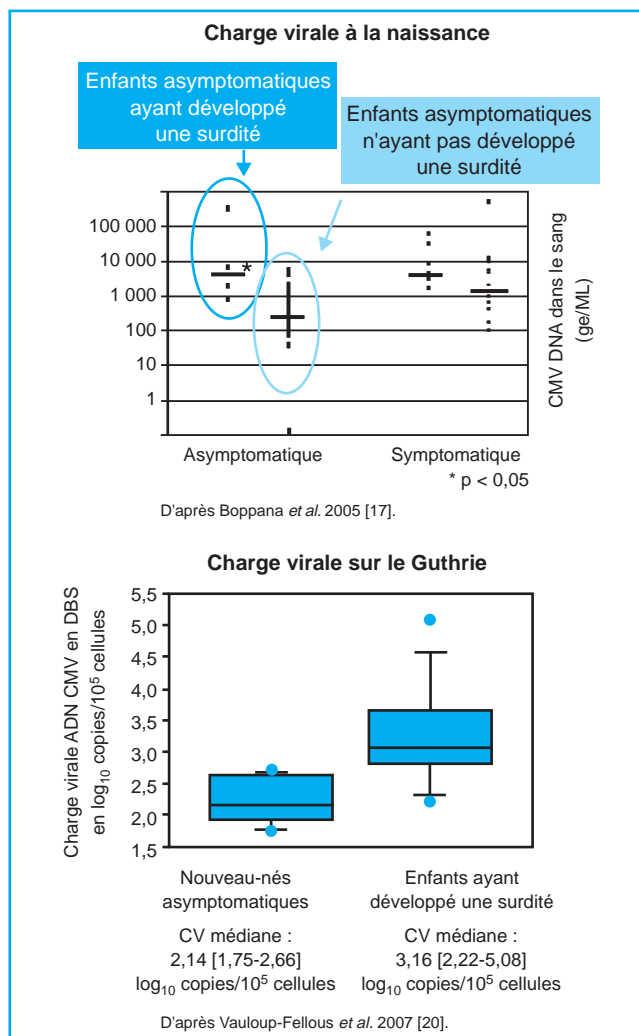


Fig. 3: Lien entre charge virale sanguine à la naissance et développement de la surdité.

Deux laboratoires français ont développé chacun une technique de détection du CMV dans les cartons de Guthrie (fig. 3): notre laboratoire dans le cadre des activités du Centre National de Référence du Cytomégalo virus et le Laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital Antoine Bécclère. Les seuils de détection des deux techniques ont été étudiés *in vitro* et sont respectivement de 4000 copies/mL et de 2000 copies/mL [20]. Ces seuils de détection sont équivalents à ceux décrits par une équipe italienne et par une équipe américaine qui ont aussi développé des techniques de PCR CMV dans le Guthrie [21, 22]. Les sensibilités et spécificités cliniques de nos deux techniques ont été étudiées en les comparant à la technique de référence, c'est-à-dire à la recherche de CMV dans l'urine à la naissance. Cette étude est en cours avec la collaboration des pédiatres des maternités Necker-Brune, Poissy et Antoine Bécclère. Les résultats préliminaires portant sur 194 enfants, dont 40 avaient une

détection de CMV positive dans les urines, montrent une sensibilité de 100 % (40/40) et une spécificité de 97 % (149/153) pour la technique 1 ainsi qu'une sensibilité de 95 % (36/38) et une spécificité de 98 % (149/152) pour la technique 2. Ces résultats valident la technique qui peut donc être utilisée pour le diagnostic rétrospectif de l'infection.

## CONCLUSION

Le diagnostic de primo-infection maternelle à CMV reste un diagnostic délicat qui nécessite l'utilisation de trousse­ sérologiques sensibles et spécifiques et une interprétation par un biologiste entraîné. Le diagnostic d'infection foétale lorsqu'il est réalisé dans les conditions optimales décrites précédemment a une excellente valeur prédictive et négative. La méthode de référence du diagnostic de l'infection congénitale à la naissance reste la détection du virus dans les urines, cependant, la détection du virus par PCR dans la salive et dans le sang séché prélevé sur buvard est une technique prometteuse. □

## BIBLIOGRAPHIE

- LAZZAROTTO T, BROJANAC S, MAINE GT, LANDINI MP. 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.
- BUSSE C, STRUBEL A, SCHNITZLER P. Combination of native and recombinant cytomegalovirus antigens in a new ELISA for detection of CMV-specific antibodies. *J Clin Virol*, 2008; 43: 137-41.
- REVELLO MG. Comparative evaluation of 8 commercial kits for IgG avidity determination to human cytomegalovirus. In: Congenital Cytomegalovirus Conference. Atlanta November, 5-7, 2008.
- BACCARD-LONGERE M, FREYMUTH F, COINTE D, SEIGNEURIN JM, GRANGEOT-KEROS L. Multicenter evaluation of a rapid and convenient method for determination of cytomegalovirus immunoglobulin G avidity. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2001; 8: 429-31.
- BODEUS M, BEULNE D, GOUBAU P. Ability of three IgG-avidity assays to exclude recent cytomegalovirus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2001; 20: 248-52.
- REVELLO MG, GORINI G, GERNA G. Clinical evaluation of a chemiluminescence immunoassay for determination of immunoglobulin g avidity to human cytomegalovirus. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2004; 11: 801-5.
- REVELLO MG, SARASINI A, ZAVATTONI M, BALDANTI F, GERNA G. Improved prenatal diagnosis of congenital human cytomegalovirus infection by a modified nested polymerase chain reaction. *J Med Virol*, 1998; 56: 99-103.
- DUKROUX A, CHERID S, BENACHI A, VILLE Y, LERUEZ-VILLE M. Evaluation of new commercial real-time PCR quantification assay for prenatal diagnosis of cytomegalovirus congenital infection. *J Clin Microbiol*, 2008; 46: 2078-80.
- BODEUS M, HUBINONT C, BERNARD P, BOUCKAERT A, THOMAS K, GOUBAU P. Prenatal diagnosis of human cytomegalovirus by culture and polymerase chain reaction: 98 pregnancies leading to congenital infection. *Prenat Diagn*, 1999; 19: 314-7.
- ENDERS G, BADER U, LINDEMANN L, SCHALASTA G, DAIMINGER A. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection in 189 pregnancies with known outcome. *Prenat Diagn*, 2001; 21: 362-77.
- REVELLO MG, FURIONE M, ZAVATTONI M *et al*. Human cytomegalovirus (HCMV) DNAemia in the mother at amniocentesis as a risk factor for iatrogenic HCMV infection of the fetus. *J Infect Dis*, 2008; 197: 593-6.
- LERUEZ-VILLE M, OUACHEE M, DELARUE R *et al*. Monitoring cytomegalovirus infection in adult and pediatric bone marrow transplant recipients by a real-time PCR assay performed with blood plasma. *J Clin Microbiol*, 2003; 41: 2040-6.
- PICONE O, COSTA JM, LERUEZ-VILLE M, ERNAULT P, OLIVI M, VILLE Y. Cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B genotype and CMV DNA load in the amniotic fluid of infected fetuses. *Prenat Diagn*, 2004; 24: 1001-6.
- BENOIST G, SALOMON LJ, JACQUEMARD F, DAFFOS F, VILLE Y. The prognostic value of ultrasound abnormalities and biological parameters in blood of fetuses infected with cytomegalovirus. *BJOG*, 2008; 115: 823-9.
- DEMMLER GJ, BUFFONE GJ, SCHIMBOR CM, MAY RA. Detection of cytomegalovirus in urine from newborns by using polymerase chain reaction DNA amplification. *J Infect Dis*, 1988; 158: 1177-84.
- WARREN WP, BALCAREK K, SMITH R, PASS RF. Comparison of rapid methods of detection of cytomegalovirus in saliva with virus isolation in tissue culture. *J Clin Microbiol*, 1992; 30: 786-9.
- BOPANA SB, FOWLER KB, PASS RF *et al*. Congenital cytomegalovirus infection: association between virus burden in infancy and hearing loss. *J Pediatr*, 2005; 146: 817-23.
- LANARI M, LAZZAROTTO T, VENTURI V *et al*. Neonatal cytomegalovirus blood load and risk of sequelae in symptomatic and asymptomatic congenitally infected newborns. *Pediatrics*, 2006; 117: e76-83.
- BARBI M, BINDA S, PRIMACHE V *et al*. Cytomegalovirus DNA detection in Guthrie cards: a powerful tool for diagnosing congenital infection. *J Clin Virol*, 2000; 17: 159-65.
- VAULOUPELLOUS C, DUCROUX A, COULOIGNER V *et al*. Evaluation of cytomegalovirus (CMV) DNA quantification in dried blood spots: retrospective study of CMV congenital infection. *J Clin Microbiol*, 2007; 45: 3804-6.
- BINDA S, CAROPPO S, DIDO P *et al*. Modification of CMV DNA detection from dried blood spots for diagnosing congenital CMV infection. *J Clin Virol*, 2004; 30: 276-9.
- SCANGA L, CHAING S, POWELL C *et al*. Diagnosis of human congenital cytomegalovirus infection by amplification of viral DNA from dried blood spots on perinatal cards. *J Mol Diagn*, 2006; 8: 240-5.

L'auteur a déclaré ne pas avoir de conflit d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.