

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE MEDECINE



Année 2007-2008

THESE N° 3133/4



**Excrétion du cytomégalovirus humain chez les
enfants de 3 mois à 6 ans non immunodéprimés :
Epidémiologie clinique**

Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en
médecine

Présentée et soutenue publiquement le 6 octobre 2008

Par

Laurène TRAPES

Née le 12 décembre 1980 à Grenoble

DIRECTEUR DE THESE

Mme le Professeur Alain

EXAMINATEURS DE LA THESE

M. le Professeur Denis	président
Mme. le Professeur Lienhardt-Roussie	juge
M. le Professeur Preux	juge
M. le Docteur Brosset	membre invité

**UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE MEDECINE**

DOYEN DE LA FACULTE:

Monsieur le Professeur VANDROUX Jean-Claude

ASSESEURS:

Monsieur le Professeur LASKAR Marc
Monsieur le Professeur VALLEIX Denis
Monsieur le Professeur PREUX Pierre-Marie

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS:

* C.S = Chef de Service

ACHARD Jean-Michel	PHYSIOLOGIE
ADENIS Jean-Paul * (C.S)	OPHTALMOLOGIE
ALAIN Sophie	BACTERIOLOGIE, VIROLOGIE
ALDIGIER Jean-Claude (C.S)	NEPHROLOGIE
ARCHAMBEAUD-MOUVEROUX Françoise (C.S)	MEDECINE INTERNE
ARNAUD Jean-Paul (C.S)	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
AUBARD Yves (C.S)	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
BEDANE Christophe (C.S)	DERMATOLOGIE-VENEREOLOGIE
BERTIN Philippe FF (C.S)	THERAPEUTIQUE
BESSEDE Jean-Pierre (C.S)	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
BONNAUD François (C.S)	PNEUMOLOGIE
BONNETBLANC Jean-Marie	DERMATOLOGIE-VENEREOLOGIE
BORDESSOULE Dominique (C.S)	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION
CHARISSOUX Jean-Louis	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
CLAVERE Pierre (C.S)	RADIOTHERAPIE
CLEMENT Jean-Pierre (C.S)	PSYCHIATRIE ADULTES
COGNE Michel (C.S)	IMMUNOLOGIE
COLOMBEAU Pierre	UROLOGIE
CORNU Elisabeth	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
COURATIER Philippe	NEUROLOGIE
DANTOINE Thierry	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT
DARDE Marie-Laure (C.S)	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
DAVIET Jean-Christophe	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION
DE LUMLEY WOODYEAR Lionel (C.S)	PEDIATRIE
DENIS François (C.S)	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
DESCOTTES Bernard (C.S)	CHIRURGIE DIGESTIVE
DESSPORT Jean-Claude	NUTRITION
DUDOGNON Pierre (Sunombre 31/08/2009)	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION
DUMAS Jean-Philippe (C.S)	UROLOGIE
DUMONT Daniel (C.S)	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL
ESSIG Marie	NEPHROLOGIE
FEISS Pierre (C.S)	ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE
FEUILLARD Jean (C.S)	HEMATOLOGIE
GAINANT Alain (C.S)	CHIRURGIE DIGESTIVE
GAROUX Roger (C.S)	PEDOPSYCHIATRIE
JACCARD Arnaud	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION
GASTINNE Hervé (C.S)	REANIMATION MEDICALE
JAUBERTEAU-MARCHAN Marie-Odile	IMMUNOLOGIE
LABROUSSE François (C.S)	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUE
LACROIX Philippe	MEDECINE VASCULAIRE
LASKAR Marc (C.S)	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
LIENHARDT-ROUSSIE Anne	PEDIATRIE
MABIT Christian	ANATOMIE
MAGY Laurent	NEUROLOGIE
MARQUET Pierre	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE

MATHONNET Muriel
MAUBON Antoine (C.S)
MELLONI Boris
MERLE Louis (C.S)
MONTEIL Jacques
MOREAU Jean-Jacques (C.S)
MOULIES Dominique (C.S)
MOUNAYER Charbel
NATHAN-DENIZOT Nathalie
PARAF François
PLOY Marie-Cécile
PREUX Pierre-Marie
RIGAUD Michel (Surnombre 31/08/2010) (C.S)
ROBERT Pierre-Yves
SALLE Jean-Yves (C.S)
SAUTEREAU Denis (C.S)
SAUVAGE Jean-Pierre
STURTZ Franck
TEISSIER-CLEMENT Marie-Pierre
TREVES Richard
TUBIANA-MATHIEU Nicole (C.S)
VALLAT Jean-Michel (C.S)
VALLEIX Denis
VANDROUX Jean-Claude (C.S)
VERGNENEGRE Alain (C.S)
VIDAL Elisabeth (C.S)
VIGNON Philippe
VIROT Patrice (C.S)
WEINBRECK Pierre (C.S)
YARDIN Catherine (C.S)

CHIRURGIE DIGESTIVE
 RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
 PNEUMOLOGIE
 PHARMACOLOGIE CLINIQUE
 BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE
 NEUROCHIRURGIE
 CHIRURGIE INFANTILE
 RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
 ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE
 ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUE
 BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
 EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION
 BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
 OPHTALMOLOGIE
 MEDECINE PHYSIQUE ET READAPTATION
 GASTRO-ENTEROLOGIE, HEPATOLOGIE
 OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
 BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
 ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES
 RHUMATOLOGIE
 CANCEROLOGIE
 NEUROLOGIE
 ANATOMIE – CHIRURGIE GENERALE
 BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE
 EPIDEMIOLOGIE-ECONOMIE DE LA SANTE-PREVENTION
 MEDECINE INTERNE
 REANIMATION MEDICALE
 CARDIOLOGIE
 MALADIES INFECTIEUSES
 CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AJZENBERG Daniel	Parasitologie et Mycologie
ANTONINI Marie-Thérèse (CS)	Physiologie
BOURTHOUMIEU Sylvie	Cytologie et Histologie
BOUTEILLE Bernard	Parasitologie - Mycologie
CHABLE Hélène	Biochimie et Biologie Moléculaire
DRUET-CABANAC Michel	Médecine et Santé au Travail
DURAND-FONTANIER Sylvaine	Anatomie – Chirurgie Digestive
ESCLAIRE Françoise	Biologie Cellulaire
FUNALOT Benoît	Biochimie et Biologie Moléculaire
JULIA Annie (Départ le 01/01/2009)	Hématologie
LE GUYADER Alexandre	Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
MOUNIER Marcelle	Bactériologie – Virologie – Hygiène Hospitalière
PETIT Barbara	Anatomie et Cytologie Pathologiques
PICARD Nicolas	Pharmacologie Fondamentale
QUELVEN-BERTIN Isabelle	Biophysique et Médecine Nucléaire
TERRO Faraj	Biologie Cellulaire
VERGNE-SALLE Pascale	Thérapeutique
VINCENT François	Physiologie

PRATICIEN HOSPITALIER UNIVERSITAIRE

CAIRE François	Physiologie
-----------------------	-------------

P.R.A.G.

GAUTIER Sylvie	Anglais
-----------------------	---------

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

BUCHON Daniel	Médecine générale
BUISSON Jean-Gabriel	Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

DUMOITIER Nathalie	Médecine Générale
PREVOST Martine	Médecine Générale

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur François Denis, Professeur des universités de Limoges, biologiste des hôpitaux, Chef de service de bactériologie, virologie, hygiène, qui m'a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse

A Madame le Professeur Sophie Alain, Professeur des universités de Limoges, biologiste des hôpitaux, qui m'a permis de faire ce travail

A madame le Professeur Anne Lienhardt-Roussie, Professeur des universités de Limoges, pédiatre des hôpitaux, chef de service de pédiatrie, qui m'a toujours soutenue

A monsieur le Professeur Pierre-Marie Preux, Professeur des universités de Limoges, praticien hospitalier de santé publique, qui m'a fait l'honneur d'être membre du jury

A Monsieur le Professeur Lionel De Lumley, Professeur des universités de Limoges, pédiatre des hôpitaux, Chef de service de pédiatrie, pour son soutien dans mes décisions

A Monsieur le Docteur Philippe Brosset, pédiatre des hôpitaux, pour son aide tout au long de mon internat

A Monsieur le Docteur Vincent Guigonis, pédiatre des hôpitaux, qui surveille toujours qu'on utilise suffisamment ses neurones

A Madame le Docteur Sophie Ketterer, pédiatre des hôpitaux, qui m'a fait bénéficier de sa compétence

A Mademoiselle le Docteur Séverine Marchand, chef de clinique à la faculté, assistant des hôpitaux, qui est toujours là quand on a besoin

A Monsieur le Docteur Benoit Marin, chef de clinique à la faculté, assistant des hôpitaux, unité de recherche clinique et biostatistique qui m'a permis de réaliser les analyses statistiques

A Monsieur le Docteur Jean-Claude Voultoury, médecin des hôpitaux, qui a essayé de m'apprendre à réfléchir et comprendre

A Jérôme Grosjean sans qui tout cela n'aurait pu être fait

A tout le personnel du service de pédiatrie du CHU de Limoges.

A tout le personnel des différentes crèches et les **pédiatres** de ces crèches pour tout l'appui qu'ils ont apporté à cette étude.

Enfin nous ne pourrions pas terminer sans remercier les parents des enfants et les enfants eux mêmes qui ont accepté de se prêter à l'étude FCrechMV.

AVANT PROPOS

Ce travail portant sur le double aspect clinique et biologique de l'infection à cytomégalovirus chez les enfants de moins de 6 ans, nous avons souhaité organiser une thèse à deux voix entre Mlle Laurène Trapes, Interne en pédiatrie (Faculté de Médecine de Limoges) et M. Jérôme Grosjean, Interne en biologie médicale (Faculté de Pharmacie de Toulouse).

Nous vous remercions encore une fois d'avoir accepté de faire partie de ce jury un peu inhabituel.

Pr. Sophie Alain

Table des matières

	Pages :
Liste des professeurs de l'université de Limoges	4
Remerciements	6
Avant-propos	8
Glossaire	12
Introduction	13
Le cytomegalovirus	15
I. Carte d'identité	15
II. Physiopathologie	17
III. Epidémiologie	18
IV. Mode de transmission	20
V. Manifestations cliniques et biologiques	23
1. Chez l'immunocompétent	23
a. Primo infection de l'adulte et du grand enfant	
❖ Forme classique	
❖ Formes moins typiques	
❖ Complications	
b. Particularités chez l'enfant	
c. Infections post transfusionnelles	
d. Chez la femme enceinte	
e. Chez le nouveau né infecté pendant la grossesse	
f. Chez le prématuré infecté en post natal	
2. Chez l'immunodéprimé	29
a. Chez le patient sidéen	
b. En cas de déficit immunitaire combiné sévère	
c. Chez le patient greffé d'organe solide	
d. Chez le patient greffé de moelle osseuse	

VI. Traitements	30
1. Traitement curatif	30
a. Mode d'administration		
b. Efficacité		
2. Toxicité		
3. Traitement préventif	32
a. Les mesures d'hygiène		
b. Les immunoglobulines		
c. La vaccination		
Objectifs de l'étude	36
I. Objectif principal		
II. Objectifs secondaires		
Bénéfices et risques de l'étude	37
Matériel et méthodes	38
I. Population étudiée	38
1. Critères d'inclusion		
2. Critères d'exclusion		
3. Calcul du nombre de sujets nécessaires		
4. Faisabilité du recrutement		
II. Techniques utilisées	39
1. Le questionnaire		
2. L'examen et le dossier clinique		
3. Le prélèvement salivaire		
III. Critères d'évaluation	42
IV. Durée de l'étude	43
V. Analyse statistique	43

Résultats et discussion	45
I. Faisabilité du prélèvement	45
II. Résultats épidémiologiques et association avec l'excrétion virale.	46
1. Descriptif des variables sociodémographiques et cliniques	
2. Excrétion virale	
3. Recherche d'une association entre l'excrétion et les variables d'intérêt	
4. Comparaison entre les urgences et la crèche	
 Discussion générale	 86
I. Population choisie	
II. Limites de l'étude	
III. Intérêts de l'étude	
IV. Quel éclairage notre étude apporte-t-elle dans la perspective d'une vaccination ?	
 Conclusion et perspectives	 89
 Annexes	 90
I. Synopsis de l'étude	90
II. Notice d'information pour les parents	92
III. Questionnaire (avant rectification)	94
IV. Questionnaire (après rectification)	96
V. Examen clinique en crèche.	98
VI. Techniques de laboratoire	99
 Bibliographie	 101

GLOSSAIRE

Abréviations

Définitions

ADN

Acide désoxyribonucléique

CMV

Cytomégalovirus

fe

Faible excréteur

FE

Fort excréteur

IC

Intervalle de confiance

NR

Non renseigné

OR

odds ratio

PCR

Polymerase Chain Reaction

VM

Valeurs manquantes

INTRODUCTION

Le Cytomégalovirus (CMV), virus de la famille des *Herpesviridae*, sous famille des *betaherpesvirinae* est un virus strictement humain, ubiquitaire, qui infecte plus de 70% de la population mondiale.

Son pouvoir pathogène est généralement limité avec une primo infection inapparente ou pauci symptomatique chez les personnes immunocompétentes suivie d'une persistance à l'état latent dans de nombreux tissus de l'organisme. Cependant ce virus se comporte comme un opportuniste redoutable chez les patients immunodéprimés ou greffés. Le CMV est également la première cause d'infection virale congénitale, touchant près d'un enfant sur 1000 en France. Son passage transplacentaire et sa multiplication chez le fœtus au cours d'une primo-infection maternelle peuvent causer une infection congénitale avec un risque de décès ou de séquelles psychomotrices majeures.

Trois molécules sont actuellement disponibles pour traiter les infections graves à CMV. Mais ces molécules ont une toxicité hématologique et rénale importante. Elles ne peuvent pas être administrées chez la femme enceinte, leur innocuité pendant la grossesse et leur efficacité sur la prévention des séquelles de l'infection congénitale n'étant pas prouvées. La prévention de l'infection congénitale repose donc sur les mesures d'hygiène évitant la contamination des femmes enceintes en attendant la mise au point de vaccins efficaces.

La difficulté à provoquer une réponse immunitaire cellulaire et humorale efficace et les nombreux mécanismes d'échappement immunitaire liés à la latence du virus ont retardé le développement de vaccins efficaces.

Une meilleure connaissance de la prévalence du CMV en France, des facteurs favorisant l'infection, du mode de transmission et des différentes souches circulantes est fondamentale pour déterminer la population à vacciner, évaluer l'efficacité de cette vaccination et son impact.

La prévalence de l'excrétion virale et les caractéristiques des souches circulantes étant mal connues une étude nationale est en préparation. Dans cette étude, la prévalence du CMV sera étudiée dans la salive d'enfants de 3 mois à 6 ans en crèche, la salive étant une source importante de contamination des femmes enceintes. Avant de lancer cette étude de prévalence au niveau national, nous avons réalisé une étude de faisabilité au sein du service des urgences pédiatriques du CHU de Limoges ainsi que sur six crèches pilotes. Cette étude a pour but de valider la

faisabilité de la technique de mesure de la charge virale et de typage moléculaire des souches, d'obtenir une première approche de l'excrétion virale et de rechercher des liens éventuels entre excrétion virale, habitus et signes cliniques. Nous avons pris en charge la partie épidémiologique et clinique de ce travail. La partie virologique est développée dans la thèse de Mr Jérôme Grosjean.

LE CYTOMEGALOVIRUS

I Carte d'identité

(figure 1)

1 Famille

Le CMV ou HHV5 (Human Herpes Virus 5) appartient à la famille des *Herpesviridae*. Il est classé dans la sous-famille des *betaherpesvirinae*. C'est un virus ubiquitaire, strictement humain.

2 Taille

Il mesure 150 à 200 nanomètres.

3 Génome

Le génome du CMV, constitué d'un ADN double brin linéaire d'environ 250 000 paires de bases, est formé de deux segments, l'un court et l'autre long. Ces segments sont flanqués de séquences répétées et inversées, indispensables à l'intégration des génomes dans les capsides néoformées.

Ce génome est le plus long et le plus complexe des génomes des Herpès virus connus à ce jour. Il a la capacité de coder plus de 200 protéines.

Les génomes sont colinéaires et leur polymorphisme est réparti sur l'ensemble de la molécule. Les séquences nucléotidiques des différentes souches de CMV ont une homologie de 80 à 90%.

4 Particule virale (virion)

Elle est constituée de 35 à 40 protéines virales, et contient également des protéines cellulaires, et des ARNs messagers viraux et cellulaires. De l'intérieur vers l'extérieur, on observe le génome, enroulé autour d'un noyau de protéines, la capside, le tégment, substance amorphe contenant des protéines virales et cellulaires, et l'enveloppe.

Deux protéines composent à elles seules 35% de la masse protéique de la particule : la phosphoprotéine pp150 (ppUL32) et la phosphoprotéine pp65 (ppUL83), toutes deux constitutives du tégment.

L'enveloppe porte des glycoprotéines, cibles des anticorps neutralisants.

5 Enveloppe

Issue des membranes cellulaires, elle est en outre composée de glycoprotéines virales dont la principale est la glycoprotéine B. Cette dernière participe à la fixation et à la pénétration du virus sur son récepteur cellulaire. Elle est la cible des anticorps neutralisants, qui ne préviennent pas l'infection, mais en limitent les conséquences pathologiques. La gB permet également de classer les souches de CMV en 4 génotypes principaux (Chou *et al.* 1991). Elle constitue la base des vaccins attendus dans les prochaines années.

L'enveloppe est sensible au pH acide, aux solvants lipidiques et à la chaleur. La fragilité particulière de ce virus implique une transmission par contact étroit, et la nécessité d'un inoculum élevé pour permettre une transmission par des surfaces inertes.

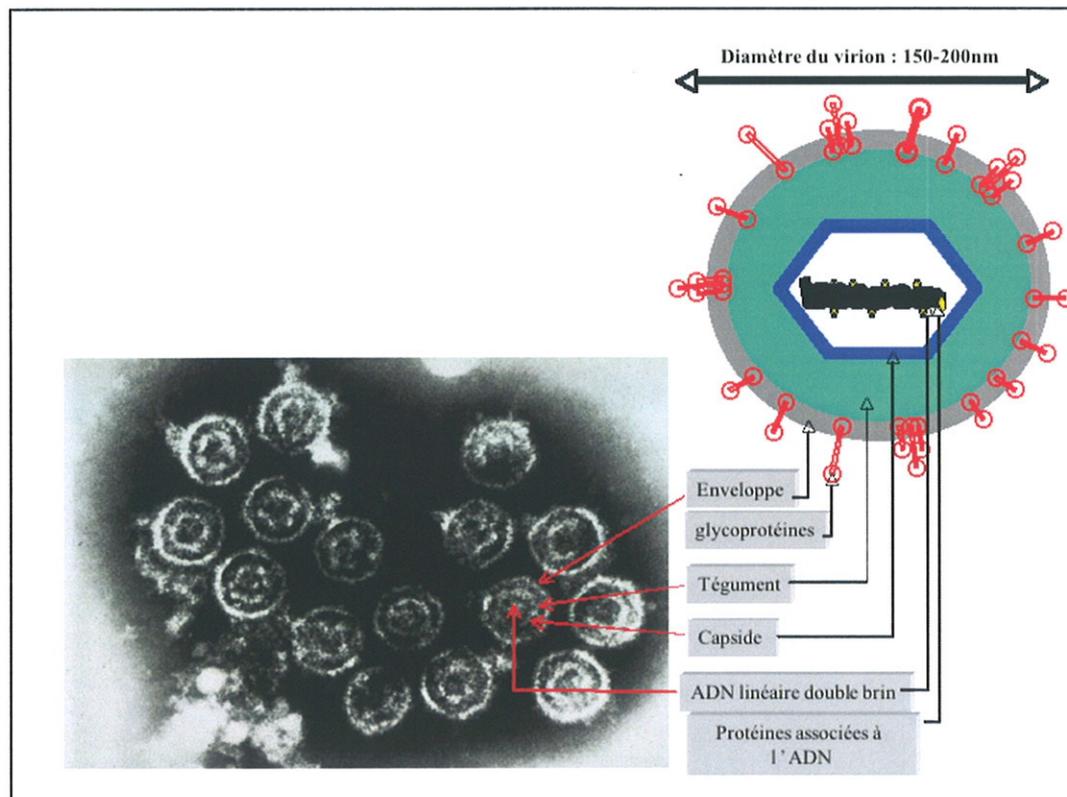


Figure 1 : structure du CMV, d'après Mazon, encyclopédie médico-chirurgicale

II Physiopathologie :

Le CMV Humain est un virus à spécificité d'espèce stricte.

Sa transmission nécessite un contact étroit, le virus perdant rapidement son pouvoir pathogène sur les surfaces inertes. Il se transmet par les larmes, la salive, les urines, les selles, le lait maternel, le sperme et les sécrétions génitales de personnes répliquant activement le virus, mais également par les leucocytes du sang périphérique et les organes ou tissus greffés.

Il existe plusieurs voies de contamination :

- Respiratoire
- Sexuelle
- Sanguine
- Maternofoetale par voie transplacentaire

Après l'infection, la dissémination virale par voie sanguine permet au virus d'atteindre ses différents organes cibles. Quasiment tous les tissus sont infectés avec en particulier une réplication virale au niveau des tissus glandulaires aboutissant à une excrétion prolongée du virus dans les liquides biologiques.

La dissémination au niveau des tissus à partir de la virémie se fait par plusieurs mécanismes :

- Les cellules endothéliales infectées recrutent les polynucléaires par des cytokines et les infectent par contact cellulaire direct.
- Les polynucléaires infectés disséminent l'infection par voie sanguine en infectant d'autres cellules endothéliales
- Les cellules endothéliales avec une forte charge virale se détachent de la paroi vasculaire et disséminent dans la circulation, jusqu'aux organes-cibles auxquels elles transmettent l'infection.
- Les monocytes transmettent également l'infection par voie tissulaire lors de leur transformation en macrophage.

Le virus persiste ensuite à l'état latent dans différents organes comme les cellules endothéliales, les progéniteurs médullaires, les monocytes circulants, les cellules épithéliales, les fibroblastes, les cellules musculaires lisses...

L'excrétion virale peut persister des mois après une primo-infection, voire des années après une infection congénitale, être continue ou intermittente.

Au cours de réactivations et réinfections, lors d'une baisse de l'immunité cellulaire, le virus est excrété soit après une nouvelle virémie, soit en raison d'une réplication localisée, au niveau, du pharynx, des voies génitales, du sperme, et dans les urines. Chez les femmes séropositives en âge de procréer, 3 à 13 % sécrètent du CMV au niveau du col utérin.

L'immunité cellulaire et humorale acquise lors de la primo infection ne supprime pas les réactivations et n'empêche pas les réinfections mais en atténue la sévérité.

III Epidémiologie

Chez les personnes immunocompétentes, l'infection à CMV est inapparente dans 90% des cas ou pauci-symptomatique. Dans tous les cas, une fois infecté, le sujet reste porteur du virus à l'état latent. Les études de prévalence sont donc basées sur la détection des IgG anti-CMV dans le sérum.

Les infections à CMV sont ubiquitaires, endémiques, sans recrudescence saisonnière. Elles sont essentiellement acquises dans la petite enfance, le plus souvent en collectivité et au début de l'âge adulte, objectivant la transmission sexuelle.

Les facteurs de risque d'acquisition de l'infection dans la population générale sont Les conditions socio-économiques précaires et l'insalubrité.

Ainsi en Afrique et en Asie le pourcentage d'adultes ayant des anticorps vis-à-vis du CMV atteint ainsi 90 à 100% (ex 95 % en Inde (Kothari *et al.* 2002) et 97,4 % en Tunisie (Gargouri *et al.* 2000)) alors qu'il est de 50% seulement en France, avec toutefois une prévalence plus élevée au sud (51,6%) qu'au nord du pays, Une étude de l'OMS citée par Embil (référence ?) a retrouvé des anticorps anti CMV dans la moitié des populations de donneurs de sang de la plupart des pays développés.

Chez les femmes enceintes la séroprévalence du CMV est identique à celle de la population générale soit 44,6 % (valeur mesurée sur 19456 femmes enceintes en France) et le taux de séroconversion pendant une grossesse est de 1,4% (Gouarin *et al.* 2001). Ce taux augmente avec l'âge pour les femmes nullipares ou primipares puis stagne chez les femmes ayant eu au moins deux grossesses (Gratacap-Cavallier *et al.* 1998).

L'infection à CMV est la première cause d'infection congénitale d'origine virale dans le monde. En France, elle touche 0,1 à 0,5% des nouveau-nés, et elle est responsable de 400 à 800 décès ou séquelles graves chaque année (Salamon *et al.* 2004). Dans le monde, 0,64% des nouveaux nés souffrent d'une infection congénitale et 0,07% ont une infection congénitale symptomatique à la naissance (Kenneson *et al.* 2007). Les enfants infectés excrètent du virus dès la naissance dans les urines et dans la salive, et ce pendant plusieurs années. Ils représentent donc une source potentielle d'infection pour l'entourage.

Le virus est transmis au fœtus lors de la virémie maternelle. Il se multiplie chez le fœtus et est excrété par celui-ci dans le liquide amniotique. Le taux de transmission au fœtus varie de 30 à 60% en cas de primo-infection de la mère et de 0,1 à 3% en cas de réinfection (figure 2).

Dans les suites d'une primo-infection maternelle, 90% des enfants infectés naissent asymptomatiques (Stagno *et al.* 1986; Salamon *et al.* 2004), 10% ont des manifestations cliniques de gravité variable. En cas de maladie des inclusions cytomégaliqes un décès précoce est observé dans 30% des cas et des séquelles psychomotrices de gravité variable dans 60% des cas (Stagno *et al.* 1986; Salamon *et al.* 2004); 10% seulement de ces enfants symptomatiques grandiront sans séquelles.

D'autre part 5 à 15% des enfants asymptomatiques auront des séquelles tardives (retard psychomoteur ou surdité).

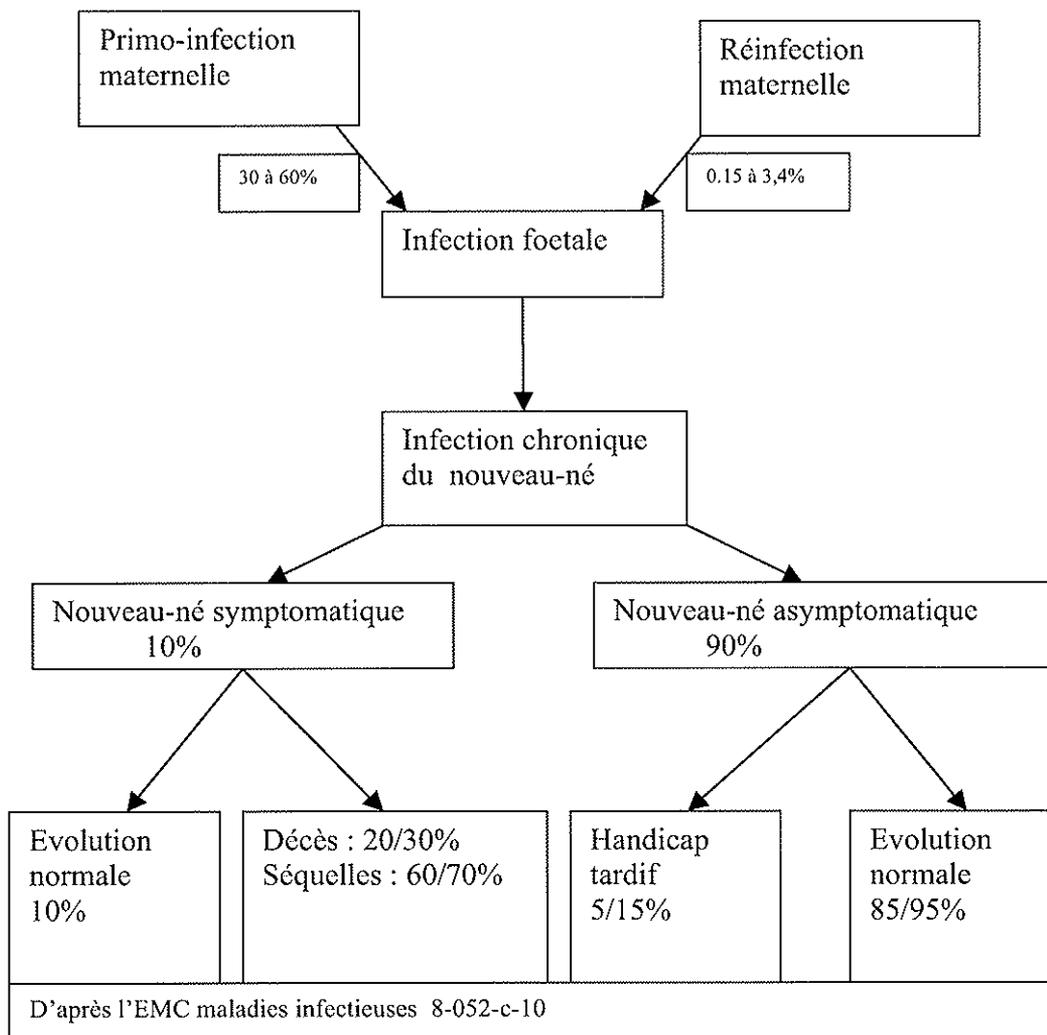


Figure 2 : transmission materno foetale du CMV

IV Mode de transmission dans la population générale et facteurs de risque d'infection

L'enfant est un réservoir majeur de virus. Il excrète le virus en plus grande quantité que l'adulte et pendant plus longtemps (mois voire années).

Il existe plusieurs pics de séroconversion reflétant les modes de transmission (Pass 2006) :

- Chez le nourrisson et petit enfant
- Chez l'adolescent
- Chez l'adulte jeune vivant avec de jeunes enfants

a. Le nourrisson et petit enfant

Dans les populations à bas revenu, à l'âge de 3 ans 80 % des enfants ont été infectés par le CMV (Stagno *et al.* 1986).

La transmission peut se faire à la naissance lors du passage dans les voies génitales, pendant la période post natale par l'allaitement ou durant l'enfance dans les collectivités dont les crèches. Les deux facteurs de transmission majeurs du CMV sont **l'allaitement pendant la première année de vie puis la vie en collectivité.**

L'allaitement est le principal facteur de transmission virale durant la première année de vie. Le génome viral est retrouvé par PCR dans le lait chez plus de 90% des femmes séropositives pour le CMV (Hays 2007). Cette transmission se fait principalement après une semaine d'allaitement, l'excrétion du CMV étant très faible la première semaine : 5% versus 42% dans l'étude de Stagno en 1994. Les mères excrétaient du CMV uniquement dans la salive ou les urines ou dans le lait mais n'allaitant pas ne transmettaient pas le CMV ; 40% des enfants allaités pendant plus d'un mois par des mères excrétrices dans le lait devenaient séropositifs. Le niveau socio économique reflète les modalités d'allaitement et du mode de garde : actuellement dans les milieux défavorisés les enfants sont majoritairement alimentés au biberon et gardés au domicile ce qui favorise une diminution de la transmission du CMV. A l'inverse dans les milieux plus favorisés, la prévalence du CMV s'accroît secondairement à une augmentation de l'allaitement maternel et du mode de garde en crèche. Actuellement aux Etats Unis, les femmes jeunes de niveau socio économique favorisé ont une séroprévalence moindre pour le CMV que dans les milieux moins favorisés. Cependant, l'écart tend à diminuer et la tendance pourrait même s'inverser dans les années à venir selon l'évolution des modalités d'allaitement et de garde (Stagno *et al.* 1994).

Les collectivités constituent un lieu privilégié d'infection : la transmission peut se faire par contact rapproché direct ou par le biais de jouets ou surfaces souillées, le CMV restant contagieux pendant plusieurs heures sur une surface plastique (Stagno and Cloud 1994).

Plusieurs études ont été réalisées dans des crèches.

En France, il n'existe qu'une seule étude sur l'excrétion virale de CMV chez le petit enfant en crèche (Lasry *et al.* 1996). Cette étude (d'une durée de 6 mois et portant sur 93 enfants gardés dans 6 crèches) a montré que dans 5 crèches

circulaient 2 ou 3 souches de CMV et qu'aucune n'était dominante. Elle n'a pas montré de corrélation entre l'excrétion virale et les pratiques d'hygiène des crèches (lavage des dents, déjeuner à la crèche, nombre d'heures de garde...).

Murph JR et al ont montré en 1986 que des clones circulaient suivant la tranche d'âge des enfants. Les enfants jouant ensemble ayant souvent le même âge, ils ont supposé que les contacts entre les enfants influaient sur la transmission des souches (Murph *et al.* 1986).

Daniel E.Noyola et al. au Mexique ont cherché à montrer une corrélation entre les habitudes de vie des enfants (allaitement, fratrie) et le fait qu'ils soient excréteurs. Une seule corrélation a été montrée, celle entre le taux d'excrétion global d'une crèche et sa localisation géographique dans la ville, la localisation étant corrélée au niveau de vie du quartier (Noyola *et al.* 2005).

L'ensemble de ces résultats est intéressant, mais ces études manquent de puissance et ne mesurent pas le niveau d'excrétion virale. Il semblait donc nécessaire de réaliser une étude avec un effectif plus important pour mieux étudier les souches virales et les facteurs de risque de contamination.

b. L'adolescent par transmission sexuelle et salivaire

c. L'adulte jeune

L'âge moyen de séroconversion des femmes est 29-32 ans en Angleterre (Griffiths *et al.* 2001). Les femmes les plus exposées à une séroconversion sont les femmes enceintes séronégatives travaillant en collectivité de jeunes enfants.

En effet, les enfants vivant en communauté contaminent fréquemment leurs mères. C'est ce qu'ont montré Pass R.F. *et al* dans une étude sérologique sur 67 parents séronégatifs faisant garder leur(s) enfant(s) en crèche : 14 d'entre eux ont acquis une séropositivité vis-à-vis du CMV. Aucun parent du groupe contrôle (31 personnes gardant leur enfant chez eux) n'a fait de séroconversion. Tous les parents contaminés avaient un enfant qui excrétaient du CMV dans la salive. Il n'était pas retrouvé de corrélation entre la séroconversion CMV et le statut marital, la situation professionnelle, le sexe, la race, l'âge ou le nombre d'années d'études chez les parents (Pass *et al.* 1986).

IV Manifestations cliniques et biologiques:

La gravité de l'infection dépend du statut immunitaire du sujet.

Pour revue (Sissons *et al.* 2002)

1. Chez l'immunocompétent (Just-Nubling *et al.* 2003; Gandhi *et al.* 2004; Mazon *et al.* 2008):

Peu d'études sont faites sur la symptomatologie des sujets immunocompétents et d'autant moins chez les enfants.

L'infection est **asymptomatique dans 90% des cas**. Les manifestations cliniques (syndrome mononucléosique, fièvre prolongée, céphalées, myalgies) apparaissent après une incubation longue (30 jours). Elles sont observées essentiellement au cours des primo-infections. Les formes graves (pneumopathie, colite) nécessitant un traitement sont exceptionnelles en dehors d'un déficit immunitaire sous-jacent (corticothérapie, maladie inflammatoire, cancer).

a. **Primo-infection de l'adulte et du grand enfant** : (tableau 1)

❖ **Forme classique**

Elle associe une **fièvre prolongée bien tolérée, des céphalées, des myalgies** sans angine après une incubation de 30 jours en moyenne.

La fièvre, souvent élevée et oscillante s'accompagne de myalgies, céphalées avec photophobie et parfois d'arthralgies, nausées, vomissements. La toux est fréquente, de même qu'un rash maculopapuleux transitoire du tronc et des membres (Perol 1982).

En période virémique, une splénomégalie (22%) ou une hépatomégalie peuvent être observées.

L'échographie objective quasi systématiquement une hépatomégalie (Manfredi *et al.* 2006)

Le syndrome mononucléosique est quasi constant mais peut apparaître seulement 1 à 2 semaines après le début de la fièvre et peut persister plusieurs mois après la guérison. Initialement l'hémogramme est normal ou témoigne d'une leucopénie.

Une hépatite infraclinique avec élévation discrète des transaminases est présente dans plus de 90% des affections symptomatiques. Ces anomalies peuvent persister plusieurs mois sans jamais devenir chroniques. La cytolyse dépasse

rarement cinq fois la normale. Il n'y a pas de cholestase associée dans la majorité des cas.

Une anémie ou thrombopénie peuvent s'observer.

Dans 50% des cas, des anomalies immunologiques non spécifiques comme des agglutinines froides, le facteur rhumatoïde, une hypergammagobulinémie polyclonale, des FAN, un Coombs direct positif ou une cryoglobulinémie mixte sont présentes.

Une réactivation EBV biologique est fréquente avec une réascension des IgM. Le tableau de mononucléose infectieuse ne semble pas plus fréquent en cas de réactivation EBV associée (Aalto *et al.* 1998)

❖ Des formes moins typiques peuvent consister en :

- Une fièvre isolée,
- Une pharyngite (30%). Elle est plus fréquemment observée en cas de réactivation EBV associée (Aalto *et al.* 1998),
- Une pneumopathie,
- Des douleurs abdominales (8%) ou diarrhée (2%),
- Des adénopathies,
- Des arthralgies,
- Des adénopathies cervicales et axillaires,
- Un rash maculopapuleux, urticarien, scarlatiniforme dû à la réponse du système immunitaire au virus. Un rash secondaire à une prise d'antibiotique est fréquent également,
- Une rétinite, conjonctivite,
- Une atteinte de l'oreille interne,
- Une atteinte myocardite et péricardite,
- Un purpura thrombopénique discret punctiforme souvent limité aux membres inférieurs,
- Une anémie hémolytique auto immune.

L'évolution est spontanément favorable en 15 jours à 3 semaines avec obtention d'une apyrexie, normalisation des tests hépatiques. La lymphocytose et la splénomégalie peuvent persister des mois ainsi que la virurie.

❖ Complications

Il existe de rares cas de complications pouvant nécessiter un traitement antiviral :

- Hépatite aiguë avec ictère débutant 4 à 6 jours après la fièvre ou rares hépatites granulomateuses sévères et prolongées. Les hépatites fulminantes sont exceptionnelles,
- Rares encéphalites et myélites,
- Syndrome de Guillain-Barré. Une association est retrouvée dans 15% des cas de syndrome de Guillain Barré. 40% des causes de syndrome de Guillain Barré sont dues au CMV et campilobacter. Chez l'enfant, les formes sont moins sévères que chez l'adulte . Les signes sensitifs (20%) , l'ataxie (44%) et une atteinte des paires crâniennes (15%) sont plus fréquemment associés aux signes moteurs. (Orlikowski *et al.* 2006),
 - Pneumopathie interstitielle bilatérale (6%),
 - Colites inflammatoires et ulcérées, entéropathies exsudatives, ulcérations oesophagiennes, gastriques, iléales, anales (association fréquente a des corticoïdes ou à la ciclosporine),
 - Myocardites (6%) avec un risque de bloc de branche persistant ou mortel, d'une défaillance cardiaque majeure,
 - Syndrome hémorragique aigu : épistaxis, rectorragies, ecchymoses liés à une thrombopénie majeure,
 - Granulomes localisés à CMV,
 - Atteinte polyviscérale en cas d'immunodépression transitoire à type de corticothérapie ou traitement par ciclosporine.

Fréquent	Occasionnel	Rare
Asymptomatique	Pharyngite	Hépatite cholestatique
Syndrome mononucléosique	Splénomégalie	Syndrome Guillain Barré
Fièvre	Adénopathies cervicales	Encéphalite
Malaise	Rash aspécifique	Pneumopathie
Odynophagie	Anémie	Myocardite
Céphalées		
Rash aux antibiotiques		
Hyperlymphocytose		
Cytolyse hépatique		

Tableau 1 : Symptômes de la primo-infection à CMV en fonction de leur fréquence

b. Particularités chez l'enfant

Chez le jeune enfant, le tableau peut être dominé par des manifestations hépatiques avec hépatomégalie et splénomégalie sans altération de l'état général (Shibata *et al.* 2005).

Chez l'enfant de moins de 4 ans, l'atteinte pulmonaire domine dans un tableau de bronchite, syndrome coqueluchoïde ou pneumopathie.

En cas d'infection après allaitement maternel, il est décrit chez certains prématurés une cholestase, une leucopénie ou thrombopénie ou un sepsis like syndrome. L'enfant né à terme est le plus souvent asymptomatique (Hamprecht *et al.* 2001; Vollmer *et al.* 2004; Hays 2007).

c. Infections post-transfusionnelles

C'est la cause la plus fréquente de syndrome mononucléosique post-transfusionnel avec 3 à 6 semaines après la transfusion, l'apparition d'un pic fébrile, une splénomégalie et un syndrome mononucléosique. On peut parfois observer une hépatite ictérique ou une anémie hémolytique.

La fièvre est moins prolongée et moins constante que dans l'infection naturelle.

d. Chez la femme enceinte :

Elle est symptomatique dans 4 à 9 % des cas. Le tableau est le même que chez les autres sujets immunocompétents.

e. Chez le nouveau né infecté pendant la grossesse

❖ Pendant la grossesse :

La dissémination chez le fœtus se fait par voie hématogène et toutes les cellules fœtales peuvent être infectées, y compris celles du cerveau. L'échographie peut révéler l'atteinte d'un ou plusieurs organes fœtaux associée ou non à une atteinte systémique.

L'atteinte systémique se manifeste par une hépato-splénomégalie fœtale. La présence d'une ascite reflète l'existence d'une hépatite cholestatique ou d'une insuffisance hépatique. En cas d'association entre une insuffisance hépatique et une anémie d'origine centrale, une anasarque peut apparaître.

Une colite se manifeste par un intestin fœtal hyper-échogène. Une atteinte du rein fœtal peut se révéler par une hyper-échogénicité rénale et un oligohydramnios.

Un retard de croissance intra-utérin peut résulter de l'atteinte fœtale ou de l'atteinte placentaire.

En cas d'infection fœtale prouvée, une atteinte du cerveau fœtal doit être recherchée jusqu'à la fin de la grossesse en associant échographie et IRM. Les signes cérébraux les plus évidents sont une microcéphalie, une dilatation des ventricules cérébraux uni ou bilatérale et la présence de micro calcifications cérébrales. Des anomalies plus subtiles de la myélinisation ou de la gyration du cerveau fœtal doivent être recherchées à l'IRM. La présence d'anomalies cérébrales à l'échographie notamment une microcéphalie est très péjorative avec un risque proche de 100% de séquelles neuro-sensorielles graves. La valeur prédictive des anomalies échographiques extra-cérébrales n'est pas évaluée (Mazeron *et al.* 2008).

L'ensemble de ces symptômes pourraient s'expliquer par une insuffisance placentaire secondaire à une implantation vasculaire anormale dans le myomètre, la réplication virale puis l'inflammation chronique gênant l'angiogénèse. L'ischémie chronique ainsi provoquée favorise l'apparition d'une souffrance fœtale multiviscérale. Cette hypothèse expliquerait la régression des symptômes échographiques après administration de tégélines (Adler *et al.* 2007).

❖ A la naissance

La maladie des inclusions cytomégaliqques se manifeste dans les heures suivant la naissance. Il apparaît un syndrome ictéro hémorragique associé à une hépatosplénomégalie qui s'accompagnent de pétéchies disséminées voire d'hématome, melaena, hématomèse, hématurie. Une hypotonie, une absence de réflexes archaïques, des troubles du rythme respiratoire, des convulsions, une microcéphalie traduisent une atteinte cérébrale. Une pneumopathie interstitielle est fréquente. L'examen du fond d'œil montre une chorioretinite dans 15 % des cas. Les examens biologiques objectivent une anémie, une thrombopénie, une prolifération lymphocytaire, une réaction blastique leucémoïde, une cytolyse, une cholestase, un taux de prothrombine abaissée, des signes de CIVD. Le LCR est souvent hémorragique avec une hyperprotéinorachie avec ou sans réaction cellulaire associée. L'ETF montre des calcifications périventriculaires.

L'évolution est le plus souvent mortelle en quelques jours dans un tableau d'état de mal convulsif ou hémorragique. Lorsque l'enfant survit, une pneumopathie, une atteinte hépatique pouvant évoluer vers la cirrhose et des troubles métaboliques peuvent persister. L'enfant porteur d'une chorioretinite ou de calcifications périventriculaires aura toujours un retard mental.

L'infection congénitale peut se manifester de manière moins bruyante. Elle doit être évoquée devant l'un des quelconques symptômes de la maladie généralisée (hépatite néonatale, encéphalite, thrombose d'une veine rénale, ascite, troubles respiratoires, leucomalacie périventriculaire...).

❖ A distance de la naissance :

Des séquelles tardives peuvent apparaître décrire date de survenue, surdité retard psychomoteur....

f. Chez le prématuré infecté en post natal

L'infection postnatale à CMV est le plus souvent asymptomatique chez les enfants nés a terme car ils sont protégés par les anticorps maternels acquis passivement pendant le dernier trimestre de la grossesse. Les prématurés, surtout ceux qui naissent avant 28 semaines d'aménorrhée ne bénéficient pas de cette protection.

Plusieurs manifestations peuvent apparaître :

- Neutropénie, thrombopénie
- Cytolyse hépatique, cholestase
- Pneumopathie interstitielle
- Syndrome septique comprenant des apnées, bradycardies, un teint gris et un ballonnement abdominal. Une ventilation mécanique peut être nécessaire transitoirement.

Cependant aucune étude n'a mis en évidence de séquelles auditives à long terme et la possibilité de séquelles neurologiques est très controversée. (Croly-Labourdette *et al.* 2006; Hays 2007)

2. Chez l'immunodéprimé :

L'infection est le plus souvent disséminée et peut compromettre le pronostic fonctionnel ou vital en l'absence de traitement.

a. Chez les patients sidéens :

La maladie à CMV apparaît à partir d'un stade d'immunodépression cellulaire avancé, chez des patients ayant moins de 100 lymphocytes CD4+/mm³. La chorioretinite, manifestation la plus fréquente, évolue vers la cécité en l'absence de traitement.

b. En cas de déficit immunitaire combiné sévère :

En cas de déficit immunitaire combiné sévère, les infections à CMV sont précoces (premiers mois de vie), graves voire mortelles.

La greffe de moelle est le traitement chez ces enfants. Mais après greffe de moelle osseuse, les enfants ont les risques des patients greffés (cf. chapitre suivant).

c. Chez les patients greffés d'organe solide :

L'infection survient généralement entre le premier et le quatrième mois après la greffe, lorsque l'immunodépression est maximale. Elle est symptomatique dans 70% des cas de primo-infection, 40% des cas de réinfection et moins de 20% des cas de réactivation. L'atteinte dépend de l'organe greffé. Elle peut se manifester par un « syndrome CMV » à type de fièvre, leuconeutropénie, asthénie, ou par une atteinte d'un ou plusieurs organes (colite, rétinite, pneumopathie...)

Du fait de son rôle immunosuppresseur et athérosclérogène, l'infection à CMV favorise également la survenue d'autres infections opportunistes et le rejet aigu et chronique du greffon.

d. Chez les patients greffés de moelle osseuse :

L'infection symptomatique est très fréquente chez les receveurs séropositifs avant greffe. Elle apparaît environ 50 jours après la greffe et jusqu'à 100 jours après en cas de traitement prophylactique. La pneumopathie hypoxémiante, manifestation la plus fréquente, est souvent mortelle sans traitement.

V Traitement :

1 Traitement curatif :

Les molécules anti-CMV actuellement disponibles sont :

- Le ganciclovir (Cymevean®) et sa prodrogue, le valganciclovir (Rovalcyte®)
- Le foscarnet (Foscavir ®)
- Le cidofovir (Vistide®)
- Le fomirvirsen (Vitravene®)

Cependant ces molécules sont difficiles d'emploi et ont une forte toxicité (deJong *et al.* 1998) :

a. Mode d'administration :

Le foscarnet et le ganciclovir nécessitent d'être administrés par voie intraveineuse pour obtenir des taux sanguins efficaces. Le ganciclovir peut être utilisé sous forme de prodrogue, le valganciclovir, par voie orale mais uniquement en cas de traitement prophylactique chez les patients greffés, ou de la rétinite à CMV chez les sidéens.

Le cidofovir s'administre par voie intraveineuse ou intraoculaire et le fomirvirsen par voie intravitréenne. **Ainsi l'utilisation de ces antiviraux est très contraignante**

L'administration d'un traitement pendant la grossesse est difficile, l'infection étant généralement asymptomatique chez la mère et leur inocuité non prouvée pour le fœtus.

b. Efficacité :

Hormis pour le fomivirsen qui est un ARNantisens complémentaire d'un ARNm, à faible diffusion systémique, leur cible est l'ADN polymérase virale codée par un même gène. Par conséquent, ces trois antiviraux **sont inefficaces en cas d'infection latente.**

Les antiviraux pourraient jouer sur l'organisation neuronale et la myélinisation qui se poursuivent après la naissance. Les cellules nerveuses se développant principalement entre la huitième et vingt-sixième semaine de grossesse, toute lésion constituée pendant le premier et deuxième trimestre de la grossesse n'est pas réversible à priori avec un traitement post natal (de Jong *et al.* 1998). L'efficacité post natale est difficile à évaluer, un recul de plusieurs années étant nécessaire.

Plusieurs études sur le ganciclovir ont été réalisées. A forte dose (12mg/Kg/jr), pendant 6 semaines, une toxicité à type de neutropénie (19% des cas), une élévation modérée de la créatininémie (32% des cas), et une cytolyse hépatique à environ 4 fois la normale (dans 36% des cas) est observée (Whitley *et al.* 1997). Ces effets indésirables sont acceptables à condition d'une surveillance rapprochée. Cependant une toxicité sur la spermatogénèse ainsi qu'un effet tératogène sur les animaux ont été décrits (Adler *et al.* 2007).

Une efficacité de ce traitement sur la surdité a été prouvée en cas de manifestation neurologique associée : à un an, 21% des enfants traités ont des anomalies auditives versus 68% dans le groupe non traité (Kimberlin *et al.* 2003).

Le valganciclovir, prodrogue orale du ganciclovir, représente une nouvelle possibilité thérapeutique : en effet des concentrations sanguines similaires en ganciclovir ont été obtenues après administration de ganciclovir IV ou valganciclovir po (Kimberlin *et al.* 2008).

Il est à noter que la virémie peut réapparaître à l'arrêt du traitement. Les conséquences de cette réapparition ne sont pas connues (de Jong *et al.* 1998)

D'autres études pour vraiment évaluer l'efficacité sur les troubles neurologiques et l'absence d'effets indésirables à distance du traitement sont nécessaires.

c. Résistance :

En cas d'immunodépression sévère, le traitement de la maladie à CMV nécessite l'administration prolongée des antiviraux, souvent à demi-dose, du fait de leur toxicité. Dans ce contexte, **l'émergence de souches de CMV résistantes à**

l'un ou plusieurs de ces antiviraux peut compromettre l'efficacité thérapeutique.

d. Toxicité

Il existe une **toxicité importante** : (Sissons and Carmichael 2002)

- hématologique et gonadique avec le ganciclovir (pancytopénie),
- rénale avec le foscarnet et le cidofovir.

Leur innocuité chez la femme enceinte n'ayant jamais été étudiée, les antiviraux ne peuvent pas être utilisés dans cette indication.

Ainsi, ces médicaments sont toxiques, leur efficacité n'est pas prouvée en post natal et peuvent difficilement être administrés pendant la grossesse. D'où l'intérêt d'une vaccination dans le but de prévenir les infections materno fœtales.

2 Traitement préventif :

a Les mesures d'hygiène :

L'importance de la transmission du CMV à un âge où les femmes procréent, et la gravité potentielle de l'infection congénitale justifient des mesures de prévention des séroconversions maternelles.

Stuart P. et al. ont montré qu'avec des mesures de prévention quotidiennes (lavage des mains, ports de gants et évitement des contacts intimes avec les petits enfants), les femmes séronégatives enceintes peuvent éviter une séroconversion. Toutefois les femmes essayant d'avoir un enfant suivent difficilement ces mesures contraignantes. En effet sur 24 femmes vivant avec un jeune enfant excréant du cytomégalovirus et essayant d'avoir un enfant à l'inclusion dans l'étude, 10 sur 24 sont devenues infectées. En comparaison seulement 1 femme sur 17 a eu une séroconversion dans le groupe des femmes déjà enceintes à l'inclusion et vivant avec un enfant excréant du CMV (Adler *et al.* 2004).

Ces mesures d'hygiène sont donc efficaces mais trop contraignantes pour avoir un réel impact sur la prévention des infections à CMV.

b Les immunoglobulines :

L'administration d'immunoglobulines anti-CMV pendant la grossesse diminuerait le risque d'infection fœtale et permettrait de traiter les fœtus infectés. Dans l'étude de Nigro et al., 3% des fœtus infectés et traités par des perfusions

intraveineuses mensuelles de 200UI/Kg d'immunoglobulines pendant la grossesse sont symptomatiques à la naissance versus 50% dans le groupe non traité. De même dans le cas d'un traitement préventif consécutif à une primo infection maternelle, 16% des enfants sont infectés à la naissance versus 40% en cas d'absence de traitement (Nigro *et al.* 2005). Les résultats de cette étude non randomisée doivent cependant être considérés avec prudence.

c La vaccination :

L'infection materno-fœtale à CMV est fréquente, grave, coûteuse et sans traitement efficace d'où l'intérêt d'une vaccination.

De grandes difficultés ont considérablement retardé le développement de vaccins efficaces. Il faut citer, entre autre, la nécessité pour juguler l'infection de provoquer une réponse immunitaire cellulaire et humorale. Par ailleurs, la capacité du virus à rester latent dans l'organisme repose sur de nombreux mécanismes d'échappement immunitaires difficiles à contrecarrer (homologues de la protéine G, du complexe majeur d'histocompatibilité de type 1, du TNF...). Enfin, comme précédemment observé pour d'autres herpès virus tels que le VZV, la vaccination n'empêche pas l'infection, mais en prévient les conséquences cliniques.

Les anticorps neutralisants sont principalement dirigés contre des glycoprotéines d'enveloppe et en particulier la glycoprotéine B (70%). L'immunité cellulaire est dirigée contre plus d'une centaine d'antigènes dont un des principaux est la protéine pp65. Approximativement 10% de l'ensemble des lymphocytes T mémoires de l'organisme sont dirigés contre le CMV (Schleiss 2006).

Schématiquement, ces vaccins reposent donc, soit sur des souches virales modifiées, recombinantes et atténuées dans leur pouvoir pathogène, soit sur des combinaisons de glycoprotéines virales, dont la principale reste la glycoprotéine B, associée ou non à la pp65, introduite dans différents vecteurs supposés stimuler à la fois le système immunitaire humoral et cellulaire.

Actuellement deux principaux vaccins sont en cours d'étude :

- Un vaccin vivant atténué recombiné : ce vaccin est composé du génome atténué de la souche Towne auquel ont été ajoutées des séquences non atténuées du génome Toledo, la souche towne atténuée seule n'ayant pas permis de protéger les femmes enceintes d'une primo infection à CMV malgré l'apparition d'anticorps

neutralisants et une réponse cellulaire. Les études de phase I ont été concluantes avec une bonne tolérance et une réponse immunitaire intéressante (Schleiss 2006).

▪ Une glycoprotéine B recombinée purifiée (associée à l'adjuvant MF59) et plus ou moins associée à la phosphoprotéine du tégument pp65 selon les cas est à l'étude. Ce vaccin semble bien toléré et induit une réponse immunitaire avec un taux d'immunoglobulines supérieur aux personnes ayant une immunité naturelle après trois injections à 0, 1 et 6 mois. Une étude de phase III est actuellement en cours sur des jeunes femmes séronégatives en post partum. (Schleiss 2006)

Tous ces vaccins semblent bien tolérés et sûrs, y compris les vaccins atténués, aucune manifestation clinique d'infection à CMV n'ayant été rapportée dans les suites d'une vaccination par un vaccin vivant atténué (Sissons 2002).

D'un point de vue épidémiologique le principal problème est le manque de consensus sur la population cible optimale. Trois approches peuvent être évoquées :

1. Vacciner les adolescentes séronégatives juste avant l'entrée dans l'âge adulte.
2. Vacciner uniquement les femmes séronégatives désirant un enfant.
3. Vacciner de manière universelle tous les enfants.

Une modélisation mathématique (Griffiths *et al.* 2001) suggère qu'une vaccination précoce pendant l'enfance pourrait être une approche viable à la fois économiquement et dans une optique de couverture vaccinale optimale à condition de ne pas décaler le pic de primo infection à la femme adulte en âge de procréer. Cette étude montre que l'âge moyen de la primo-infection à CMV en Angleterre est de 29 -32 ans chez les femmes séronégatives, pic plus tardif que l'âge moyen de grossesse. Un décalage dans l'âge de la primo-infection ne peut donc être que bénéfique pour éviter les infections materno fœtales. Un taux de couverture vaccinal de 66-75% suffirait d'après les auteurs.

Dans cette optique de vaccination universelle, la connaissance de l'épidémiologie des souches de CMV, et des facteurs d'acquisition dans nos populations, est particulièrement intéressante.

Ainsi l'infection à CMV chez le fœtus est fréquente, potentiellement grave, onéreuse et sans aucun traitement curatif. Des vaccins sont en développement.

En France, il n'existe actuellement aucune étude multicentrique d'ampleur suffisante pour montrer l'excrétion virale du CMV et/ou la séroprévalence chez les enfants en bas âge.

La connaissance de la prévalence, des facteurs favorisant l'infection et des différents génotypes permettrait de déterminer la population à vacciner. L'étude des génotypes permettra également d'étudier l'efficacité et l'impact de la vaccination sur les différentes souches virales circulantes.

OBJECTIFS

I. Objectif principal.

Afin de préparer une étude nationale, nous avons souhaité évaluer la faisabilité d'un prélèvement salivaire dans 6 crèches situées à Limoges, Toulouse, Dijon et Strasbourg sur une semaine donnée et aux urgences de l'hôpital mère-enfants du CHU de Limoges pendant 3 mois dans le but de rechercher la présence de CMV par PCR, en culture et la présence d'anticorps anti-CMV.

II. Objectifs secondaires

Évaluer la proportion d'enfants excréant le CMV parmi les enfants admis aux urgences et en crèche.

Étudier les symptômes cliniques corrélés à l'infection par le CMV.

Analyser les facteurs de risque épidémiologiques favorisant une infection par le CMV.

Valider le transport, et l'analyse du prélèvement salivaire.

Valider la chaîne analytique de la réception du prélèvement à l'interprétation du résultat.

Étudier les différentes souches circulantes.

BENEFICES ET RISQUES

I. Bénéfices :

Le bénéfice de cette étude de faisabilité est de mettre en place ultérieurement, dans de bonnes conditions, une étude à l'échelle nationale pour évaluer la prévalence de l'infection à CMV chez l'enfant et discuter la population à vacciner contre le CMV en vue de la prévention des infections maternofoetales.

Elle répond aux objectifs fixés par l'Institut National de Veille Sanitaire.

Les résultats ne sont pas rendus aux parents, afin de ne pas les alarmer en cas d'excrétion virale chez leur enfant. En effet les infections post-natales sont sans conséquences cliniques, et il est impossible d'attribuer à une infection congénitale une excrétion virale survenant plus de dix jours après la naissance.

II. Risques :

Ce sont ceux inhérents au prélèvement salivaire, réalisé à l'aide d'écouvillons dans la cavité buccale à la face interne de la joue. Ils sont donc extrêmement faibles.

Ce type de prélèvement a été choisi pour sa capacité à permettre la recherche de virus en culture, par biologie moléculaire, et la recherche d'anticorps anti-CMV . Ce type de prélèvement a été utilisé dans d'autres enquêtes épidémiologiques. Il a paru acceptable aux pédiatres libéraux interrogés (annexe VI).

MATERIELS ET METHODES

I Population étudiée :

1. Critères d'inclusion

- Enfants entre 3 mois et 6 ans dans les six crèches retenues.
- Enfants tout venant entre 3 mois et 6 ans consultant aux urgences médicales ou chirurgicales de l'Hôpital Mère-Enfant du CHU de Limoges, ces enfants représentant la population générale.

2. Consentement

Une information générale sur l'étude est proposée aux parents sur le site internet du CNR Cytomegalovirus (cnr-cytomegalovirus.fr).

Dans le cas des crèches le médecin investigateur informe les parents lors d'une réunion d'information préalable. Lors de cette réunion, un questionnaire (annexe 3) et la notice d'information (annexe 2), sont remis aux parents.

Si les parents acceptent l'inclusion de leur enfant dans l'étude, l'enfant est revu en consultation par le pédiatre investigateur afin que celui-ci procède au recueil salivaire à l'aide du kit de prélèvement suivant la méthode décrite (annexe 4) et à la palpation des adénopathies.

En institution hospitalière le médecin investigateur informe les parents lors de la consultation aux urgences et procède ensuite à l'examen clinique et au prélèvement de salive après accord des parents.

En cas changement d'avis à distance du prélèvement, les parents ont 15 jours pour renvoyer une feuille demandant d'exclure leur enfant de l'étude (étude avec notification de refus).

3. Critères de non inclusion

- Refus des parents,
- Refus de l'enfant en fonction de sa capacité de compréhension.

4. Calcul du nombre de sujets nécessaires

a. Recrutement en crèche :

Nous faisons l'hypothèse d'une acceptabilité de 50% et souhaitons estimer la proportion d'acceptabilité dans la population en crèche avec une précision de 10%.

Il existe un effet grappe puisque les enfants ne sont pas tirés au sort au sein des crèches mais que tous les enfants d'une crèche sont potentiellement incluables dans l'étude. Ainsi le nombre d'enfants à recruter en crèche est au minimum de 195 enfants.

b. Recrutement hospitalier :

Nous faisons l'hypothèse d'une excrétion virale de l'ordre de 5%. En effet dans la littérature, la séroprévalence dans cette tranche d'âge est de l'ordre de 40% avec une excrétion virale de l'ordre de 10%. Toutefois, d'après notre expérience et les données de notre laboratoire cette prévalence nous semble surestimée.

Nous souhaitons estimer cette séroprévalence avec une précision de 2%. Ainsi le nombre d'enfants à recruter est au minimum de 460.

5. Faisabilité du recrutement

Les 6 crèches sont situées à Dijon, Strasbourg et Toulouse pour tester les prélèvements éloignés du CNR et à Limoges pour observer les éventuelles difficultés concernant :

- La validation de nos notices explicatives et de nos réunions d'information.
- La réalisation, le transport et l'exploitation des prélèvements

Aux urgences hospitalières le nombre de passage dans cette tranche d'âge en 3 mois est de 3044 entrées (entre janvier et avril 2007). Prélever 495 enfants semble ainsi réalisable sur une période qui s'étend du 15 juillet au 15 octobre 2008.

II Techniques utilisées :

1. Le questionnaire (annexe III et IV)

Un questionnaire anonyme est distribué aux parents après acceptation du protocole afin d'évaluer les facteurs favorisant éventuels de l'infection à CMV.

Dans ce questionnaire sont regroupés différentes informations concernant :

- L'origine géographique de l'enfant,
- Le niveau socio culturel des parents,
- La fratrie,
- Les antécédents de l'enfant,
- Le mode de garde,
- Le type d'alimentation,
- L'utilisation d'objets « à risque » pour la contamination du CMV tels qu'une brosse à dents, un doudou, une sucette.

La profession des parents est regroupée secondairement en 3 groupes au lieu des 10 proposés pour obtenir un effectif suffisant dans chaque groupe:

- type 1 : agriculteur, ouvrier, employé.
- type 2 : professions libérales, cadres.
- type 3 : inactifs.

La profession la plus « favorisée » d'un point de vue socioprofessionnel entre les deux parents sera retenue. En cas de valeur manquante d'un des deux parents, la valeur de la catégorie socioprofessionnelle de l'autre parent est utilisée.

Un allaitement est considéré comme effectif à partir de 15 jours, la transmission du CMV étant quasiment nulle pour des durées d'allaitement inférieures (Stagno and Cloud 1994).

2. L'examen et le dossier clinique (annexe V)

Pour les patients inclus aux urgences, des données du dossier clinique sont utilisées :

- Le motif de consultation,
- Les données concernant l'existence d'une asthénie, anorexie, fièvre,
- L'examen clinique,
- Les examens biologiques.

Le motif de consultation est regroupé en :

- Virose,
- Petite chirurgie,

- Dermatoses d'origine non bactériennes (exclusion des panaris, cellulite, fasciite),
- Troubles digestifs,
- Autre :
 - Infections bactériennes probables ou prouvées,
 - Pneumopathie,
 - Asthme,
 - Otite, varicelle,
 - Troubles neurologiques, céphalées,
 - Adénopathie,
 - Autre.

Les consultations pour virose sont détaillées selon les critères suivants :

- Gastro-entérite,
- Rhinopharyngite,
- Angine,
- Bronchite,
- Laryngite,
- Méningite virale.

Sont considérés comme asymptomatiques les enfants consultant pour un problème traumatologique ou de petite chirurgie. Ils constituent un groupe témoin.

Une consultation pour « cause infectieuse » signifie que l'enfant est venu consulter pour un motif relié à de la fièvre.

3. Le prélèvement salivaire

a. Matériel utilisé

Pour cette étude, les investigateurs utiliseront un kit de prélèvement qui est composé de 5 écouvillons en éponge et de 3 milieux de transport.

Ce kit est commercialisé par la société ORAGENE® et se nomme « Saliva Kit for Young Children ». (annexe VI).

La société Oragene™ a développé ces kits pour une utilisation chez le jeune enfant.

Un des milieux de transport utilisé pour la détection par les techniques de biologie moléculaire est développé par la même société, les deux autres milieux, utilisés pour la culture virale et pour la recherche d'anticorps sont fournis par le CNR.

L'investigateur effectue cinq prélèvements de salive à la face interne de la joue à l'aide de plusieurs écouvillons :

- 3 écouvillons pour la recherche d'ADN viral,
- 1 écouvillon en milieu transport du virus en vue d'une mise en culture,
- 1 écouvillon en tampon salin pour la recherche d'anticorps anti-CMV.

Les échantillons une fois déposés dans les milieux de transport sont acheminés jusqu'au laboratoire de Virologie du CHU de Limoges.

Les milieux de transport pour la recherche d'ADN viral et pour la recherche d'anticorps se conservent à température ambiante. Le milieu de transport virus doit être conservé au réfrigérateur.

b. Techniques d'étude virologique

La PCR en temps réel utilisée pour quantifier le génome viral est celle développée par Mengelle et al. (Mengelle *et al.* 2003). Cette PCR est utilisée en routine diagnostique au laboratoire de virologie de Limoges selon les recommandations du Guide de bonne exécution des analyses (G.B.E.A.).

L'isolement viral est réalisé par culture sur cellules MRC5 après transport de l'échantillon dans un milieu de transport virus suivant les protocoles du laboratoire de virologie de Limoges. Les fibroblastes embryonnaires humains sont fournis par la société Biomérieux.

La recherche d'anticorps est réalisée à l'aide d'une trousse commerciale de la société Dade Behring.

III Critères d'évaluation :

1. Critère principal

Faisabilité du prélèvement :

Nombre de prélèvements acceptés par rapport au nombre de prélèvements proposés

Réalisation du prélèvement

Recueil des questions posées par les parents

2. Critère secondaire

Clarté du questionnaire

Réalisation de l'examen clinique

Faisabilité de l'analyse de l'échantillon biologique :

Nombre de prélèvements positifs.

Valider la technique de recherche d'ADN viral, d'anticorps et la culture virale sur la salive prélevée avec ce kit.

IV Durée de l'étude :

Durée de l'étude : 6 mois.

Date de début de l'étude : 16 juillet 2007

En crèche, les prélèvements s'effectuent sur une semaine donnée.

Aux urgences, les prélèvements ont été effectués du 16 juillet au 16 octobre 2007.

La durée totale de participation à l'étude pour le patient dure le temps du prélèvement de salive.

V Analyses statistiques :

Les variables quantitatives ont été décrites par la moyenne (et écart-type) ou par la médiane (et intervalle interquartile). Les variables qualitatives ont été décrites par les effectifs et pourcentages.

La recherche des variables associées avec la positivité de la PCR a été menée par régression logistique univariée (dans le cadre des crèches, l'analyse est directement ajustée sur le centre).

La recherche des variables associées avec le niveau de positivité de la PCR (en log copies/ml) a été menée par régression logistique multinomiale univariée (dans le cadre des crèches, l'analyse est directement ajustée sur le centre).

Les comparaisons de pourcentages ont été réalisées par le test du Chi2 et les comparaisons de 2 moyennes par le test T de Student. Les comparaisons de plus de 2 moyennes entre elles ont été réalisées par le test de Kruskal Wallis. Les corrélations entre variables quantitatives ont été réalisées par calcul puis test par rapport à 0 du coefficient de Pearson ou de Spearman en cas de faibles effectifs.

Le seuil de significativité retenu pour l'ensemble des analyses réalisées était de 0,05.

Les analyses ont été réalisées au moyen du logiciel SAS V9.1 (SAS institute, Cary, NC).

RESULTATS ET DISCUSSION

Il est important de noter la présence de nombreuses valeurs manquantes au niveau du questionnaire.

625 enfants ont été prélevés dont 369 aux urgences et 256 en crèche.

Dans les crèches, nous avons prélevé :

- 40 enfants à la crèche du CHU de Limoges (centre n°2),
- 26 enfants à la crèche de Bosmie à Limoges (centre n°3),
- 9 à la crèche de Verneuil sur Vienne à Limoges (centre n°4),
- 79 à la crèche du CHU de Toulouse (centre n°5),
- 23 à la crèche de Dijon (centre n°6),
- 79 à la crèche de Strasbourg répartis dans 5 sites différents (centre n°7).

Il était initialement prévu de prélever 460 enfants aux urgences mais devant une prévalence du CMV supérieure à celle attendue, un échantillon de 369 enfants s'est révélé suffisant.

I. Faisabilité du prélèvement

L'acceptabilité de l'étude était bonne avec seulement 20% de refus aux urgences et en crèche.

Aux urgences, les refus ont été motivés par la peur d'ennuyer l'enfant ou en cas de pleurs avant la réalisation du prélèvement.

Les parents posaient des questions sur l'anonymat du prélèvement et du questionnaire, sur la possibilité d'obtenir les résultats, sur l'innocuité du prélèvement et sur la non-utilisation de ce prélèvement.

Le questionnaire a dû être modifié devant le manque de clarté de certaines questions (ex : nombre d'enfants vivant au domicile). Des questions sur d'éventuelles plaintes fonctionnelles présentées par l'enfant dans les 7 jours précédents le prélèvement, ont d'autre part été rajoutées pour pallier à certaines informations manquantes dans les observations cliniques. Après modification du questionnaire, les parents ont répondu à toutes les questions (annexes III et IV). Ce questionnaire sera cependant probablement remodifié avant l'étude à l'échelle nationale afin

d'enlever des questions inutiles ou ininterprétables devant le manque de fiabilité dans la réponse des parents (ex : allergies, antécédents personnels).

L'acceptabilité du prélèvement était bonne. Il était principalement facile à réaliser chez les enfants de moins de 9 mois. Il était plus délicat chez les enfants de 2 à 3 ans qui sont plus soupçonneux et donc plus opposants.

Pour une bonne imprégnation salivaire, le prélèvement devait durer entre 30 à 45 secondes. Deux prélèvements étaient suffisants en donnant simultanément à l'enfant 3 puis 2 écouvillons.

Il n'y a pas eu de complication lors de la réalisation des prélèvements.

La durée nécessaire pour donner l'information aux parents et réaliser le questionnaire était de 5 à 10 minutes. La durée du prélèvement était inférieure à dix minutes.

Le transport n'a pas détérioré les prélèvements qui ont tous pu être exploités même ceux provenant de centre éloignés du CHU de Limoges. Les prélèvements collectés étaient transportés à +4°C, le jour même, vers le laboratoire de virologie de Limoges et prétraités le jour même ou le lendemain de leur arrivée au laboratoire (vérification, aliquotage et congélation à -80°C).

L'exploitation des prélèvements virologiques pour la quantification par PCR s'est faite sans difficulté, à l'aide d'extraction automatisée (EZ1 Qiagen) couplée à une PCR en temps réel. La mesure des anticorps salivaires est en cours de mise au point.

Parmi les prélèvements positifs pour la détection du génome, certains sont encore en cours de culture. Seuls les résultats de quantification du génome du CMV seront donc pris en compte dans l'étude statistique.

II. Résultats épidémiologiques et associations avec l'excrétion virale

1. Descriptif des variables sociodémographiques et cliniques :

Les crèches et les urgences ont été analysées séparément étant donné les différences de recrutement entre ces deux structures.

a. Description des données obtenues aux urgences

❖ Données sociodémographiques des enfants consultant aux urgences

56% des patients sont de sexe masculin (2 VM).

L'âge moyen des enfants consultant aux urgences est de 30,45 mois \pm 19,41 (médiane 28,01 IQR [12,85-45,70]).

La répartition des catégories socioprofessionnelles est la suivante (17 VM):

- Profession libérale + cadres : 56,30% (n=198)
- Employé + ouvrier + agriculteur : 28,70% (n=101)
- Inactifs : 15,0% (n=53)

Ces résultats vont à l'encontre de l'idée selon laquelle les personnes qui consultent aux urgences proviennent d'un milieu plutôt défavorisé.

Les enfants sont d'origine française dans 98,9% des cas (n=347 ; VM 18) et du Limousin dans 85,6% des cas (n=298 ; VM=21).

Le nombre d'enfants de moins de 3 ans vivant à domicile est de (VM=39):

- 0 dans 23,9% des cas (n=79),
- 1 dans 65,8% des cas (n=217)
- 2 dans 9,1% des cas (n=30)
- 3 dans 1,2% des cas (n=4)

La fratrie est de (VM=35):

- 1 enfant dans 41,6% cas (n=139)
- 2 enfants dans 41,9% cas (n=140)
- 3 enfants dans 10,7% cas (n=36)
- 4 enfants ou plus dans 5,6% cas (n=19)

❖ Pratiques et comportements des enfants consultant aux urgences

50,75% des enfants ont été allaités (n=180) (VM=15).

Chez les enfants qui ont été allaités et pour lesquels la durée d'allaitement est mentionnée (n=172), la durée moyenne d'allaitement est de $5,93 \pm 2,27$ mois, médiane de 3,5 mois IQR [2-6].

60,1 % des enfants sont actuellement alimentés au biberon (n=205) (VM=28)

75,4 % (n= 263) des enfants ont un doudou (VM=20),

28,1 % (n=97) sucent leur pouce (VM=24),

34,1 % (n=57) ont une sucette (VM=205). Il est à noter l'existence de nombreuses valeurs manquantes sur l'utilisation d'une sucette du fait que cette variable n'avait pas été incluse dans le questionnaire initial et rajoutée dans un second temps.

8,5 % (n=29) se rongent les ongles, (VM=30)

27,5 % (n=93) lèchent leurs lèvres, (VM=31)

57,0 % (n=199) se brossent les dents (VM=20).

- Moins de 1 brossage par jour : 45,84% (n=154)
- Entre 1 et 2 brossages par jour : 30,4% (n=102)
- Au moins 2 brossages par jour : 23,8% (n=80)

15,1 % des enfants qui se brossent les dents (n=52) ont un verre commun avec les autres membres de la famille (VM=25).

❖ Mode de garde des enfants consultant aux urgences

Le lieu de garde des enfants est (VM=29) :

- Dans 57,6 % des cas le domicile (n=196)
- Dans 21,7 % des cas une assistante maternelle (n=74)
- Dans 9,4 % des cas la garderie (n=32)
- Dans 11,2 % des cas une crèche (n=38)

Concernant la fréquentation des crèches (VM=30):

- 82,9 % (n=281) n'ont fréquenté aucune crèche
- 16,5 % (n=56) ont fréquenté une crèche
- 0,6 % (n=2) d'entre eux ont fréquenté deux crèches ou plus

Sur 56 enfants gardés en crèche (VM=2), le temps passé en crèche par semaine est en moyenne de $25,17 \pm 16,62$ heures avec une médiane de 24,5 heures IQR [8-36,5].

En ce qui concerne le nombre de mois passés en crèche au moment de l'étude, la médiane est de 11,5 mois IQR [4-20] (VM=1) (figure 3).

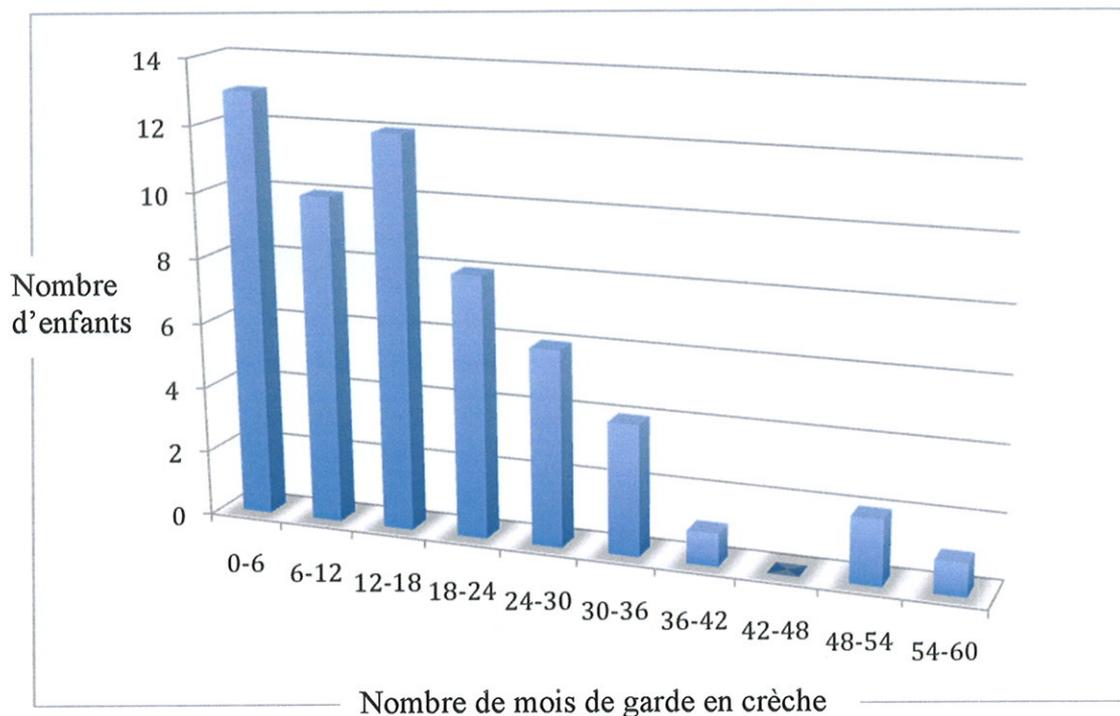


Figure 3 : durée de garde en crèche en mois chez les enfants consultant aux urgences

❖ Données cliniques

Le diagnostic principal de la consultation pour les 358 enfants était (VM=11) (figure 4) :

- Virose dans 34,1 % des cas (n=122),
- Petite chirurgie dans 33,2 % des cas (n=119),
- Dermatoses d'origine non bactérienne dans 8,4% des cas (n=30),
- Troubles digestifs dans 8,1 % des cas (n=29),
- Autres causes dans 16,2 % des cas.

Parmi les 122 enfants qui présentaient une virose (VM=29), la virose était principalement du type (figure 5) :

- Gastro-entérite dans 43 % des cas (n=40),
- Rhinopharyngite 31,2 % des cas (n=29),
- Angine 10,7 %(n=10),
- Bronchite 10,7 %(n=10),

- Laryngite dans 3,2% des cas (n=3),
- Méningite virale dans 1% des cas (n=1).

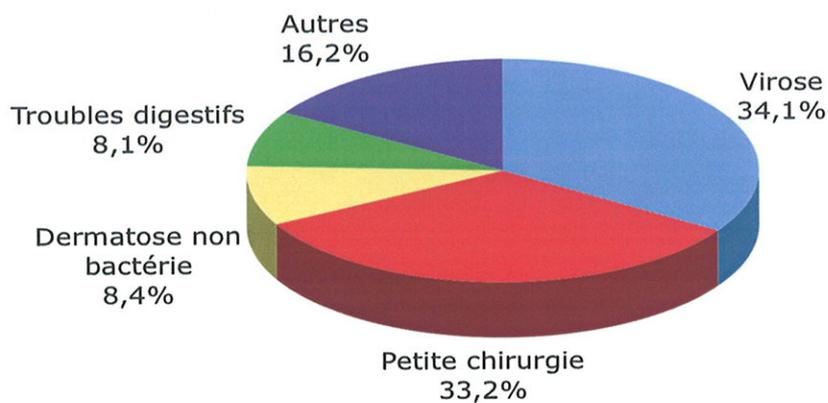


Figure 4 : principaux motifs de consultation aux urgences

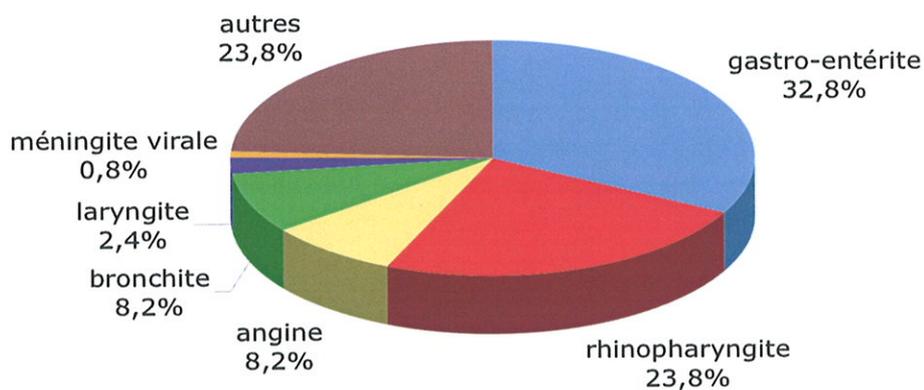


Figure 5 : différents types de virose aux urgences

41,9 % (n=150) d'entre eux sont venus pour un problème infectieux soit 150 enfants(VM=11).

8 % des enfants présentaient une éruption cutanée non systématisée (n=27 ; VM=33)

17,9% des enfants présentaient une diarrhée (n=61 ;VM=29).

22,3% des enfants présentaient des vomissements (n=76 ; VM=29).

18,9% des enfants se plaignaient de douleurs abdominales (n=64 ; VM=30).

37,2% des enfants présentaient une rhinorrhée (n=125 ;VM=33).

28,8% des enfants venaient pour un problème traumatologique et étaient considérés comme « asymptomatiques » (n=104 ;VM=8).

Concernant l'existence d'une fièvre, asthénie, anorexie de nombreuses données sont manquantes. En effet, ces variables sont rarement précisées dans le dossier clinique et n'étaient pas initialement demandées dans le questionnaire (plus de 100 valeurs manquantes pour chaque variable). D'autre part la prise de la température n'est pas systématique chez les enfants consultant aux urgences chirurgicales pédiatriques.

En supposant que les valeurs manquantes aux urgences pour la variable fièvre correspondent en fait à des enfants qui ne présentaient pas de fièvre, on obtient une absence de fièvre dans 61,8% des cas (n= 228) et une présence de fièvre dans 38,2% des cas (n=141).

La variable adénopathie présentait également de nombreuses valeurs manquantes dues au manque de renseignement dans le dossier clinique sur leur présence.

❖ Positivité de la PCR et données biologiques des enfants consultant aux urgences

Chez les 65 enfants qui ont eu une numération des leucocytes, le nombre médian est de 9600 cellules IQR [7300-13200] (n=36 avec < 10 000 cellules soit 55,4%). Le nombre de lymphocyte médian chez les 63 enfants pour lesquels il a été mesuré est de 3200 cellules IQR [2050-4730] (n=55 avec < 7000 cellules soit

87,3%). Pour les neutrophiles, chez 63 enfants, la médiane est de 4640 cellules IQR [2620-8340] (n=39 <6000 cellules soit 62%).

La CRP est augmentée pour 31 enfants soit 51,7%.

La PCR est positive dans 21,7% des cas (n=80) (VM=0).

Parmi les enfants positifs,

- 48,7% (n=39) ont un nombre de copies inférieures à 5 log,
- 23,7 % (n=19) ont un nombre de copies compris entre 5 et 7 log
- 27,5% (n=22) ont un nombre de copies supérieur à 7 log.

Le nombre de log copies/mL moyen chez les enfants qui ont une positivité de la PCR est de $5,65 \pm 1,95$. La médiane de l'excrétion est de 5,04 log copies/ml IQR [4,11-7,24].

b. Description des données sociodémographiques dans les crèches

❖ Données sociodémographiques

52,7% des patients sont de sexe masculin (VM=45).

L'âge moyen des enfants est de 20,3 mois \pm 9,6mois. La médiane est de 20,5 mois IQR [12-28].

La répartition des catégories socioprofessionnelles est la suivante (VM=17):

- Profession libérale et cadres : 52% (n=123)
- Employé, ouvrier, agriculteur : 45,5% (n=107)
- Inactifs 2% (n=5)

Comme la dernière catégorie comporte peu de sujets, il est décidé de regrouper les inactifs avec les employés, ouvriers, agriculteurs.

Les catégories constituées sont donc les suivantes :

- Professions privilégiées (52,3%),
- Professions intermédiaires (47,7%).

Ces données sont en accord avec la littérature (Stagno and Cloud 1994) qui note une tendance des milieux favorisés à mettre leur enfant en crèche par rapport aux milieux plus défavorisés.

Les enfants sont d'origine française dans 97,8% des cas (n= 229 ; VM 22). Ils n'ont jamais déménagé dans 89,7% des cas (n=208 ; VM=24).

Le nombre d'enfants vivant à domicile de moins de 3 ans est de (VM=27):

- 0 dans 5,2 % des cas (n=12),
- 1 dans 78,6 % des cas (n=180),
- ≥ 2 dans 16,2 % des cas (n=37).

Pour des raisons d'effectif, il est décidé de regrouper la catégorie 0 et 1 formant ainsi deux groupes :

- 192 enfants avec 0 ou 1 enfant de moins de trois ans : 83,8 %,
- 37 enfants avec 2 enfants de moins de trois ans : 16,2 %.

La fratrie est de (VM=25):

- 1 enfant dans 49,3 % cas (n=114),
- 2 enfants dans 39,8 % cas (n=92),
- ≥ 3 enfants ou plus dans 10,8 % cas (n=25).

❖ **Pratiques et comportements dans les crèches**

67,95% des enfants ont été allaités (n=159) (VM=22).

Chez les enfants qui ont été allaités et pour lesquels la durée d'allaitement est mentionnée (n= 158), la durée moyenne d'allaitement est de 4,5 mois \pm 3,5 mois, la médiane de 3,5 mois IQR [2-6].

80,7% des enfants sont actuellement alimentés au biberon (n=184) (VM=26)

35,4% des enfants (n=80) prennent leur biberon au domicile et en crèche (VM=30).

90,2% (n= 210) des enfants ont un doudou (VM=23),

23,5% (n=55) sucent leur pouce (VM=22),

57,7% (n=135) ont une sucette (VM=22),

3% (n=7) se rongent les ongles (VM=24)

40,8% (n=47) lèchent leurs lèvres, (VM=23)

44% (n=234) se brossent les dents (VM=22).

6,5% des enfants qui se brossent les dents (n=15) ont un verre commun avec les autres membres de la famille (VM=24).

- Moins de 1 brossage par jour : 57,8% (n=134)
- Entre 1 et 2 brossages par jour (2 non inclu) : 30,7% (n=71)
- 2 brossages et plus : 11,5% (n=27)

❖ Mode de garde en crèche

Concernant la fréquentation des crèches (VM=23):

- 89,7% (n=209) ont fréquenté une crèche,
- 10,3% (n=24) d'entre eux ont fréquenté deux crèches ou plus.

Le temps passé en crèche par semaine est en moyenne de $33,2 \pm 12,6$ heures avec une médiane de 35 heures IQR [26-40]. La variable est catégorisée en 4 groupes (valeurs manquantes =30):

- 0 à 15 heures par semaine (n=29),
- 15 à 30 heures par semaine (n=56),
- 30 à 45 heures par semaine (n=103),
- 45 à plus (n=38).

En ce qui concerne le nombre de mois passés en crèche au moment de l'étude, la médiane est de 11 mois IQR [4-20] (extrêmes 0,5 – 48), VM=28 (figure 6).

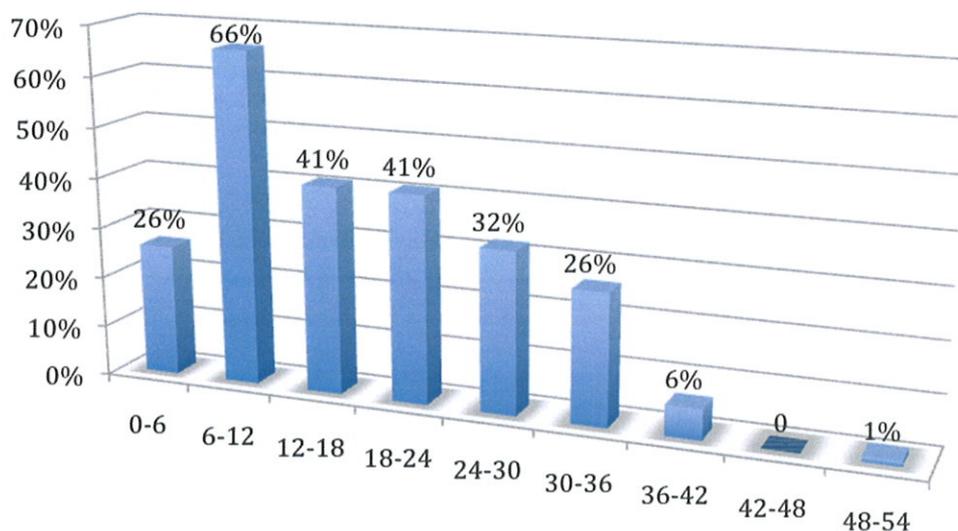


Figure 6 : Prévalence relative de l'excrétion du CMV dans la salive des enfants en fonction du nombre de mois de garde en collectivité. Les enfants se contaminent majoritairement avant 1 an de garde en crèche.

La variable nombre de mois de garde dans la dernière crèche a pour médiane 11 mois IQR [4-19]. Elle est catégorisée en trois parties (VM=29) :

- 0 à 6 mois (n=76),
- 6 à 18 mois (n=94),
- 18 et plus (n=57).

❖ **Données cliniques des enfants en crèche**

Plusieurs données sont manquantes dans la crèche du CHU de Limoges, le questionnaire n'ayant été modifié qu'après la réalisation des prélèvements dans cette crèche.

25,1 % (n=53) des enfants ont des troubles de l'appétit depuis quelques jours (VM=45)

32,2 % (n=69) sont fatigués depuis quelques jours (VM=42)

16,5 % (n=35) ont de la diarrhée (VM=44)

34,3 % (n=80) des enfants ont des adénopathies cervicales ou axillaires (VM=23).

En supposant que les valeurs manquantes pour la variable fièvre dans la crèche du CHU de Limoges correspondent en fait à des enfants qui ne présentaient pas de fièvre (VM=45 sur l'ensemble des crèches et 39 pour la crèche du CHU de Limoges), on obtient pour l'ensemble des crèches : absence de fièvre dans 80,4% des cas (n=201) (VM=6).

En supposant que les valeurs manquantes pour la variable éruption dans la crèche du CHU de Limoges correspondent en fait à des enfants qui ne présentaient pas d'éruption (VM=41 en tout et 20 pour le CHU de Limoges), on obtient une absence d'éruption dans 95,3% des cas (n=224) (VM=21).

En supposant que les valeurs manquantes pour la variable vomissement dans la crèche du CHU de Limoges correspondent en fait à des enfants qui ne présentaient pas de vomissement (VM=44 en tout et 39 pour le CHU de Limoges), on obtient une absence de vomissement dans 92,4% des cas (n=232) (VM= 5).

❖ **Positivité de la PCR en crèche**

La PCR est positive dans 52 % des cas (n=133) (VM=0).

Parmi les enfants positifs,

- 36 % (n=48) ont un nombre de copies inférieures à 5 log,
- 49,6 % (n=66) ont un nombre de copies compris entre 5 et 7 log,
- 14,3 % (n=19) ont un nombre de copies supérieur à 7 log.

Le nombre de log copies/ml moyen chez les enfants qui ont une positivité de la PCR est de $5,56 \pm 1,42$. La médiane de l'excrétion est de 5,4 log copies/ml IQR [4,6-6,37].

2. Excrétion virale :

a. Selon le type de structure

La comparaison du nombre d'enfants excréteurs de CMV en fonction du type de structure est statistiquement significative (21,7% des cas aux urgences versus 51,9% dans les crèches considérées globalement) ($p < 0,0001$) (test du χ^2 de Pearson). La crèche est un facteur majeur d'excrétion virale (figures 7 et 8).

Cette différence persiste lors de l'analyse des niveaux d'excrétion en fonction du centre de prélèvement ($p < 0,0001$).

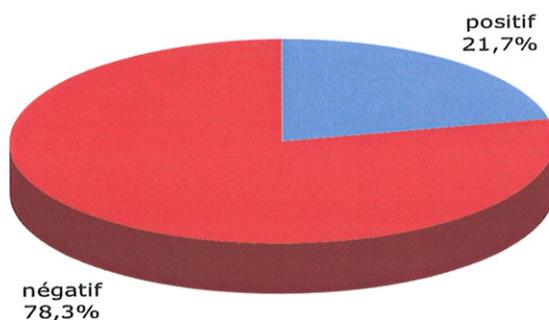


Figure 7 : positivité de la PCR aux urgences

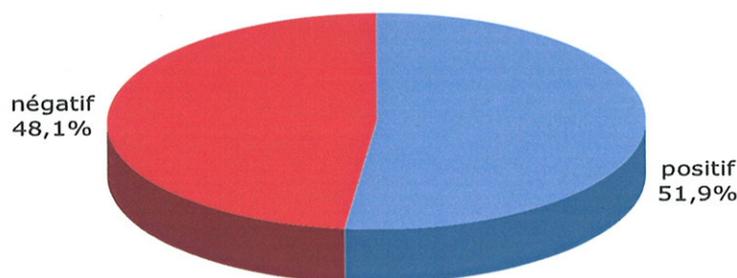


Figure 8 : positivité de la PCR en crèche

La moyenne du niveau d'excrétion chez les enfants aux urgences avec une PCR positive ($n=80$) était de $5,65 \pm 1,95$ log copies/ml versus $5,56 \pm 1,42$ pour les

enfants positifs en crèche. Le test t de Student ne montre pas de différence significative entre ces deux niveaux d'expression, ($p=0,74$).

Ainsi la crèche est un facteur favorisant majeur d'excrétion virale. Ceci confirme le niveau d'exposition élevé des femmes séronégatives fréquentant les crèches ou ayant un enfant en crèche. Par contre quel que soit le lieu, crèche ou urgences, la quantité moyenne de virus excrété est la même.

b. Comparaison de l'excrétion dans les différentes crèches :

Les PCR positives dans les 6 crèches sont respectivement de 22,5%; 7,7% ; 0% ; 74,7 %; 34,8% ; 69,6% (statistiquement significatif, $p<0,0001$) (figure 9).

Il est à noter qu'il n'y avait aucune expression positive dans la crèche 4.

La comparaison du niveau d'excrétion (chez les enfants positifs) entre les différentes crèches (la crèche 4 ne participant pas étant donné qu'aucun enfant n'avait de PCR positive) réalisée au moyen du test de Kruskal Wallis ne met pas en évidence de différence du niveau moyen d'excrétion. L'excrétion moyenne est de 5,6 log dans la crèche 2, de 5,43 dans la crèche 3, de 5,41 dans la crèche 5, de 5,54 dans la crèche 6 et 5,73 dans la crèche 7.

On observe donc un effet centre majeur, avec des fréquences d'excrétion virale très différentes d'une crèche à l'autre.

Le niveau moyen d'excrétion virale est là encore totalement indépendant du lieu de la contamination.

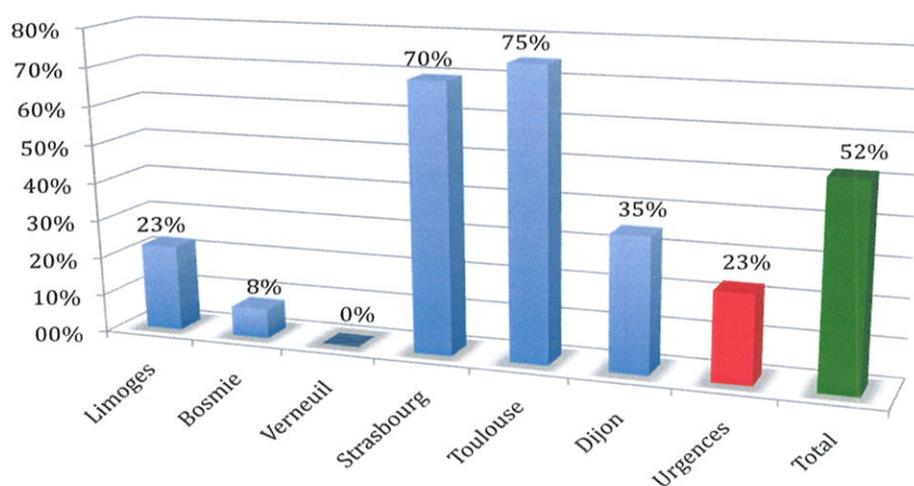


Figure 9 : positivité de la PCR dans les différentes crèches

c. Distribution de l'excrétion en crèche et aux urgences:

Nous avons d'abord regardé la distribution globale des charges virales dans chaque population :

Aux urgences, la distribution du niveau d'excrétion virale se répartit en 3 groupes :

(figure 10)

- L'effectif important d'enfants négatifs
- L'effectif d'enfants positifs avec une distribution bimodale :
 - Le premier mode, majoritaire, proche de 4 log soit faible excréteur
 - Le second mode proche de 8 log soit fort excréteur

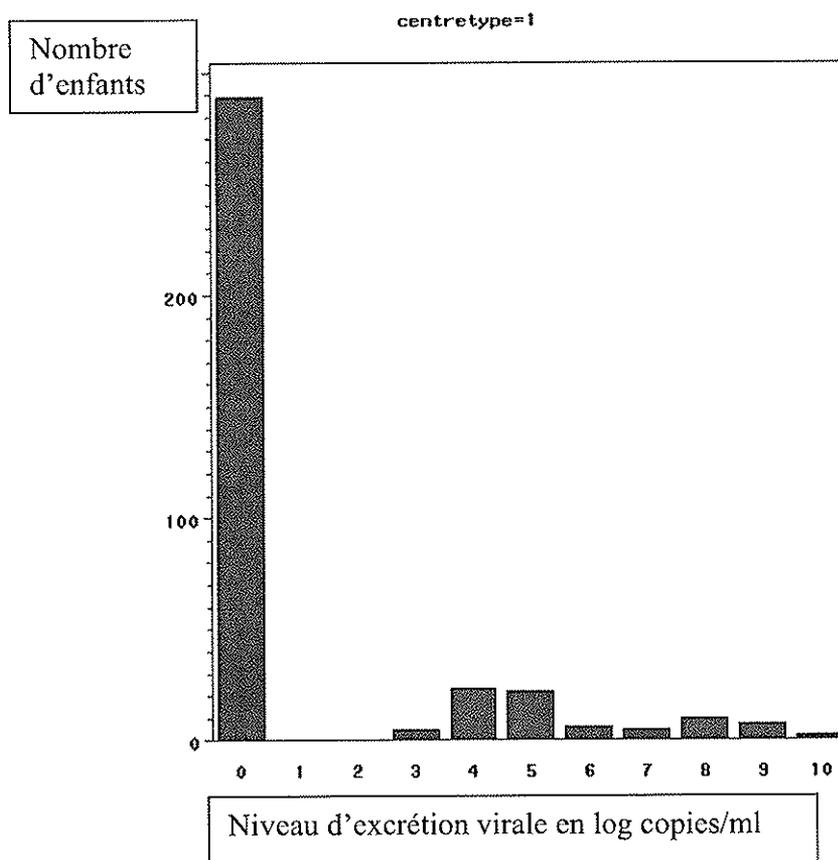


Figure 10 : Distribution des enfants selon leur niveau d'excrétion virale aux urgences

En crèche la répartition du niveau d'excrétion est d'allure unimodale (figure 11).

- Un mode correspondant aux enfants non excréteurs
- Un mode autour de 5 log

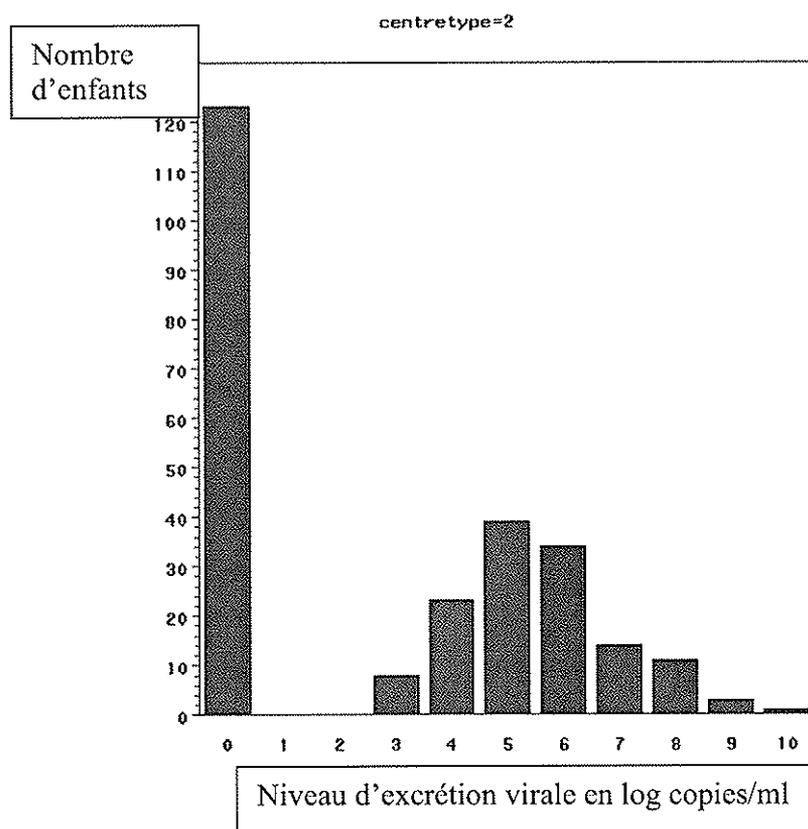


Figure 11 : distribution du niveau d'excrétion virale en log copies /ml en crèche

Devant cette différence de répartition de l'excrétion virale entre les urgences et les crèches, nous avons classé les charges virales en fonction de l'âge (figures 12 et 13).

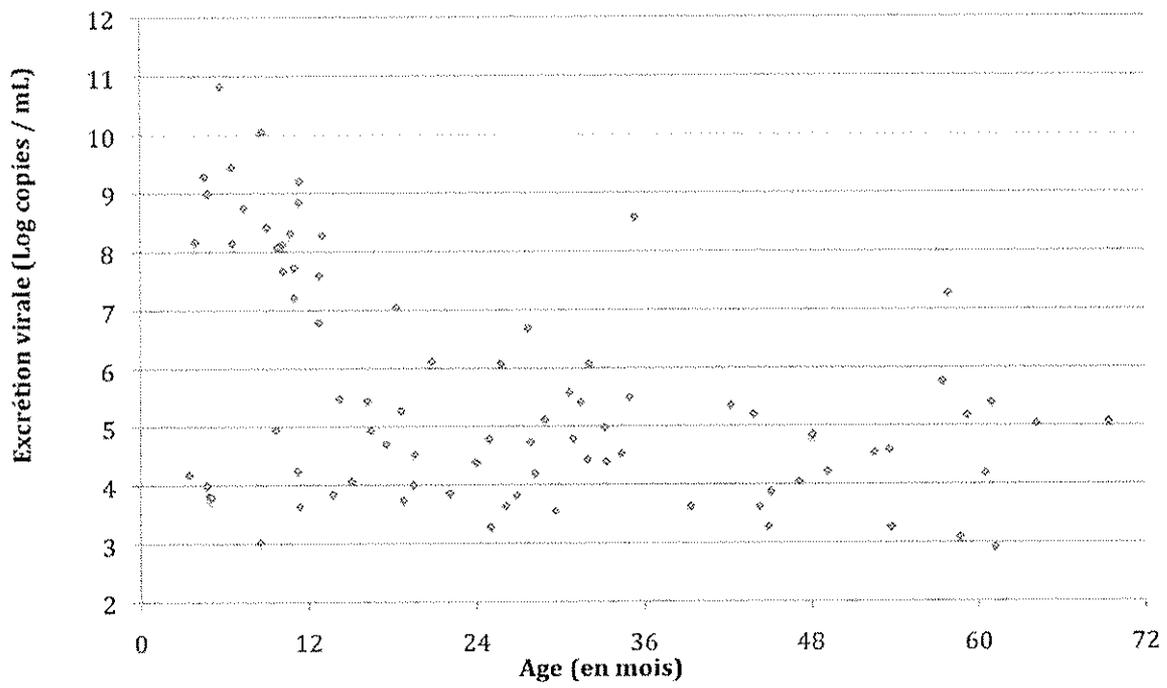


Figure 12 : Niveau d'excrétion virale aux urgences en fonction de l'âge

Excrétion en fonction de l'âge (crèche)



Figure 13 : Niveau d'excrétion virale en fonction de l'âge en crèche

La différence apparente dans la distribution de l'excrétion en fonction de l'âge, peut s'expliquer par le faible nombre d'enfants de plus de 36 mois en crèche.

Cependant, lorsque l'on considère la population des enfants de moins de 36 mois, la distribution semble différente.

Nous avons donc regardé les différents paramètres pouvant influencer l'excrétion virale.

3. Recherche d'une association entre l'excrétion virale et les variables d'intérêt :

Pour les mêmes raisons que précédemment, les résultats sont présentés en fonction du type de structure de prélèvement.

a. Aux urgences

❖ Variables associées à l'excrétion virale

Toutes les associations en analyse univariée entre l'excrétion et les variables d'intérêt ont été déterminées par le modèle logistique après réalisation d'un test de χ^2 .

Les variables présentant un $p < 0,20$ en analyse univariée sont présentées ci dessous (tableau 2) auxquelles on a associé l'âge (pour 1 an de plus), le sexe et l'allaitement.

Les autres variables présentent un $p < 0,20$, elles ne sont donc pas associées à la positivité de la PCR.

La prévalence de l'excrétion du CMV est de 21,7 % ($n=80$). Ces résultats corroborent ceux retrouvés par Kashiwagi au Japon (Kashiwagi *et al.* 2001)

Le fait de vieillir d'**un an** est associé significativement au fait de moins souvent excréter le CMV avec un Odds ratio d'excréter le CMV de 0,82 ($p=0,019$). C'est à dire que pour un âge donné, il y a moins d'enfants qui excrètent par rapport à ceux qui ont un an de moins de moins.

Le fait d'avoir au moins deux **enfants de moins de 3 ans** au domicile versus 0 et 1 enfant est associé significativement à l'excrétion de CMV avec un Odds ratio d'avoir une PCR positive de 2.24 ($p=0,04$).

Une consultation aux urgences pour un **problème infectieux** est associée à une excrétion de CMV avec un Odds ratio de 1,7 ($p=0,03$).

Une durée **d'allaitement de plus de 6 mois** est significativement associée à un odds ratio de 2 d'avoir une PCR positive (IC95% 1,02-3,96). Il n'est par contre par trouvé de corrélation avec l'allaitement.

À l'inverse, une consultation pour une raison de petite traumatologie, équivalent d'**asymptomatique** est associé à un odds ratio de 0,55 (p=0,051).

La présence d'une rhinorrhée n'est pas statistiquement significative mais il apparaît une tendance à l'augmentation de la rhinorrhée en cas d'excrétion de CMV (OR 1,6 IC95% 0,95-2,7).

En supposant que les valeurs manquantes de la variable fièvre chez les enfants consultant au CHU de Limoges correspondent en fait à fièvre=0 (n=76), le modèle logistique univarié identifie une association significative entre une PCR positive et la présence de **fièvre** : OR=1,99 IC95% [1,20-3,28] p=0,007.

VARIABLE	MODALITES	ODDS RATIO	IC 95 %	P	VALEURS MANQUANTES
Age	A chaque année gagnée	0,82	0,70 – 0,97	0,02	0
Nombre d'enfants de moins de 3 ans à domicile	2 et/ou 3 vs 0 et/ou 1	2,24	1,05 – 4,78	0,04	39
Durée d'allaitement	≥ 6 mois vs 0	2	1,02 – 3,96	0,16	28
	3-6 mois vs > 0	1,19	0,58 – 2,46		
	0-3 mois vs 0	0,84	0,38 – 1,83		
L'enfant possède-t-il un doudou ?	Oui vs non	0,69	0,39 – 1,21	0,20	20
Est-il venu aux urgences pour une cause infectieuse ?	Oui vs non	1,70	1,06 – 2,87	0,03	11
Allergie	Oui vs non	0,52	0,23 – 1,15	0,10	14
Est-il venu aux urgences sans présenter le moindre symptôme en dehors de la traumatologie ?	Oui vs non	0,55	0,30 – 1,002	0,05	8
Présence de rhinorrhée	Oui vs non	1,60	0,95 – 2,7	0,08	33
Présence de fièvre	Oui vs non	1,99	1,20 – 3,28	0,007	0*

* sous l'hypothèse valeur non renseignée équivaut à absence de fièvre

Tableau 2 : liste des variables présentant un $p < 0,2$ en analyse univariée +âge, sexe, allaitement

Ainsi, sont significativement associés à l'excrétion virale :

- L'âge
- Le nombre d'enfants en bas âge
- L'existence d'un allaitement de plus de 6 mois
- L'existence d'une fièvre, cause infectieuse ou l'absence de plainte fonctionnelle hors traumatologie (asymptomatique).

Il ne sera pas réalisé d'analyse multivariée devant la nécessité d'exclure trop d'éléments de l'échantillon (l'analyse réalisée sur un sous échantillon des patients sans valeur manquante met en évidence la cause infectieuse comme significativement associée à l'excrétion ($p=0,045$, $AUC = 0,57$)).

❖ Résultats selon le niveau de l'excrétion virale

Après avoir étudié les variables corrélées à la présence d'une excrétion virale, il est intéressant de regarder s'il existe un lien, voire un gradient avec le niveau d'excrétion virale.

Les analyses sont réalisées pour les variables significatives ou avec un $p < 0,2$ et une tendance intéressante dans les analyses précédentes (tableau 3).

Les variables sont étudiées soit en fonction d'une quantité d'excrétion virale linéaire (âge, allaitement, durée allaitement et les variables biologiques) soit en fonction d'une excrétion virale catégorisée en quatre parties :

- 0 copies : 78,3 % (n=289),
- 0-5 \log_{10} copies/ml : 10,6 % (n=39),
- 5-7 \log_{10} copies/ml : 5,1 % (n=19),
- > 7 \log_{10} copies/ml : 6 % (n=22).

Pour des raisons de faisabilité des calculs, il a été nécessaire de regrouper les catégories d'excrétion 5-7 \log_{10} et 7 \log_{10} . On obtient ainsi 3 groupes :

- Non excréteur qui correspond au groupe de référence : 78,3 % (n=289)
- Faible excréteur : 10,6 % (n=39),
- Fort excréteur : 11,1 % (n=41).

Un modèle logistique multinomial a été utilisé. Il permet de déterminer l'Odds Ratio de présenter une catégorie de classe de PCR plus haute par rapport à une classe de niveau de PCR inférieure. Cependant l'effectif par catégorie étant faible, la puissance de ces analyses par niveau d'excrétion est limitée.

Il n'a pas été réalisé d'analyse multivariée, compte tenu de la nécessité d'exclure trop d'éléments de l'échantillon.

L'âge est significativement et **inversement corrélé** au niveau d'excrétion virale ($p=0,0078$ si l'on prend tous les enfants ($n=369$) et $P=0,002$ si l'on prend uniquement les enfants excréteurs de CMV ($n=80$)) (figure12). **L'excrétion virale est maximale entre 3 et 15 mois.**

De même, **le fait de vieillir d'un an** est significativement et inversement corrélé au niveau d'excrétion virale ($p=0,04$). Ainsi, les enfants, avec l'âge, excrètent moins souvent et en plus faible quantité le CMV.

Ces résultats font discuter une corrélation entre fort excréteur et primo infection. Les faibles excréteurs pourraient être des réactivations ou une persistance d'excrétion virale à distance de la primo-infection. Une datation de l'infection à partir des sérologies nous aiderait à étayer cette hypothèse dans l'étude nationale.

Le fait d'avoir au moins deux **enfants de moins de trois ans** au domicile est significativement associé à une faible excrétion du CMV avec un odds ratio de 2,61(IC95% 1,03-6,64). Les résultats ne sont pas significatifs dans la catégorie des forts excréteurs mais l'étude d'une tranche d'âge de trois ans est trop vaste. Le niveau d'excrétion diminuant avec l'âge, l'étude globale de l'excrétion sur une durée de trois ans manque de précision.

Le fait d'allaiter n'était pas corrélé au nombre de PCR positives dans les analyses précédentes. De même lorsque l'on regarde le niveau d'excrétion virale, ces résultats ne sont pas significatifs. Cependant il existe une tendance à être fort excréteur plutôt que faible en cas d'allaitement (fort excréteur : OR 1,4 ; IC95% 0,71-2,79 ; faible excréteur : OR 1,19 ; IC95% 0,61-2,33).

Au contraire, une durée d'allaitement de plus de six mois était associée significativement au nombre de PCR positives dans les analyses précédentes. Par contre il n'est pas retrouvé de corrélation entre la durée d'allaitement et le niveau d'excrétion ($p=0,31$) (modèle multinomial). Il en est de même en cas d'analyse linéaire (test de corrélation de Spearman) ($p=0,78$).

La présence d'un **doudou** est associée à une forte excrétion de CMV avec un OR de 0,39 ($p=0,02$) mais ces résultats ne sont pas pris en compte étant donné qu'ils n'étaient pas significatifs dans les analyses précédentes. Ces résultats sont d'autre part difficilement explicables.

En supposant que les valeurs manquantes de la variable **fièvre** chez les enfants consultant au CHU de Limoges correspondent en fait à l'absence de fièvre (n=76), le modèle logistique multinomial ordonné identifie une association significative entre le niveau d'excrétion virale et la présence de fièvre : OR=2,01 IC95% [1,23-3,31] p=0,0056 et une absence de rejet de l'hypothèse de proportionnalité p=0,81 (L'analyse multivariée réalisée après exclusion des enfants présentant des valeurs manquantes confirme ce résultat (p=0,045)). Il existe cependant un biais : les enfants ont été prélevés aux urgences et donc beaucoup consultaient pour fièvre, et une constatation : le taux de réplication virale du CMV augmente son taux de réplication virale en présence de fièvre, ce qui va dans le sens d'une réactivation chez les enfants fébriles.

La présence d'une **cause infectieuse** est significativement associée à une forte excrétion de CMV avec un OR de 2 (IC95% 1,04-3,9). Ainsi en contexte infectieux, les enfants excrètent plus souvent et surtout en forte quantité le CMV. Cette forte excrétion peut correspondre à une primo-infection ou à une réactivation en contexte infectieux de l'excrétion virale. Une étude sérologique associée permettrait de différencier ces deux hypothèses. Ceci est prévu dans l'étude nationale.

Au contraire les enfants qui consultent pour un problème de petite traumatologie (« **asymptomatique** »), excrètent moins de CMV et surtout en faible quantité lorsqu'ils excrétaient (fort excréteur : OR 0,3 ; IC95% 0,11-0,8, faible excréteur OR 0,86 ; IC95% 0,41-1,81 ; P=0,054)

La présence d'une **rhinorrhée** est significativement associée à une forte excrétion de CMV avec un OR de 2 (IC95% 1,005-3,89).

Il n'existe pas de corrélation entre le niveau d'excrétion virale (n=369) et les variables biologiques étudiées (Test des rank de Spearman) :

- Leucocytes : p=0,35 (n=65),
- Lymphocyte : p=0,59 (n=63),
- Polynucléaires neutrophiles : P=0,33 (n=63),
- CRP : p=0,77 (n=58),
- Procalcitonine : p=0,93 (n=25).

Ainsi aux urgences :

- **Avec l'âge, les enfants** excrètent moins souvent et en plus faible quantité le CMV.
- **La présence d'au moins deux enfants de moins de trois au domicile** augmente le risque d'excréter le CMV.
- **Un allaitement de plus de 6 mois** augmente le risque d'excréter le CMV mais sans corrélation avec le niveau d'excrétion virale.
- **Un problème infectieux, de la fièvre, une rhinorrhée sont associés à une excrétion plus fréquente et en forte quantité de CMV**, ceci faisant suspecter un lien avec les symptômes d'une primo-infection ou une augmentation de la réplication de virions latents en contexte infectieux.

VARIABLE	MODALITES	NIVEAU D'EXCRETION	ODDS RATIO	IC 95 %	P
Age	A chaque année gagnée	fe FE	0,89 0,75	0,72-1,11 0,60-0,95	0,04
sexe	Fille vs garçon	fe FE	1,66 0,62	0,85-3,27 0,31-1,25	0,10
Nombre d'enfants de moins de 3 ans à domicile	2 et/ou 3 vs 0 et/ou 1	fe FE	2,61 1,86	1,03-6,64 0,66-5,30	0,096
allaitement	Oui vs non	fe FE	1,19 1,40	0,61-2,33 0,71-2,79	0,57
Durée d'allaitement	≥ 6 mois vs 0	fe FE	0,44 1,38	0,12-1,54 0,53-3,64	0,31
	3-6 mois vs > 0	fe FE	0,95 1,51	0,36-2,54 0,57-3,97	
	0-3 mois vs 0	fe FE	1,93 2,10	0,83-4,52 0,82-5,39	
L'enfant possède-t-il un doudou ?	Oui vs non	fe FE	1,37 0,39	0,58-3,26 0,19-0,80	0,020
Est-il venu aux urgences pour une cause infectieuse ?	Oui vs non	fe FE	1,49 2,01	0,76-2,93 1,04-3,90	0,08
Allergie	Oui vs non	fe FE	0,67 0,38	0,25-1,79 0,11-1,28	0,23
Est-il venu aux urgences sans présenter le moindre symptôme en dehors de la traumatologie ?	Oui vs non	fe FE	0,86 0,30	0,41-1,81 0,11-0,80	0,054
Présence de rhinorrhée	Oui vs non	fe FE	1,25 1,98	0,61-2,58 1,005-3,89	0,13

FE : fort excréteur ; fe : faible excréteur

Tableau 3 : résultats des analyses univariées pour les variables ayant un p<0,20 en fonction du niveau d'excrétion aux urgences

b. En crèche

❖ variables associées à l'excrétion virale

En raison de l'absence de PCR positives dans la crèche 4, de leur proximité géographique et de leur taille similaire, nous avons regroupé les crèches 3 et 4.

Les associations univariées entre l'excrétion virale et les variables étudiées sont déterminées par un modèle logistique ajusté d'emblée sur le centre de prélèvement, le centre de prélèvement étant un facteur associé à la positivité de la PCR.

Certaines variables n'ont pas été interprétées soit à cause d'un nombre trop important de valeurs manquantes soit à cause d'un manque de pertinence de cette variable :

- sexe : la variable sexe présente 47 valeurs manquantes dont 34 dans le centre de prélèvement 4. Cette variable est exclue de l'analyse bien que $p < 0,20$ lors de l'analyse univariée.

- Les variables cliniques sur la présence d'une éruption, de vomissements, de diarrhée, d'une anorexie, asthénie ou de l'absence de plaintes fonctionnelles sont aussi exclues devant l'importance des valeurs manquantes pour la crèche de Limoges (le questionnaire a été modifié après la réalisation des prélèvements dans cette crèche).

- La variable fièvre doit être interprétée avec précaution devant l'importance de valeurs manquantes (39 valeurs manquantes, 2 valeurs manquantes pour la crèches 3, 3 pour la crèche 5, 1 pour la crèche 6, 0 pour la crèche 7).

- les variables concernant la fratrie, la place de l'enfant dans le foyer, sa place dans la fratrie et le nombre d'enfants vivant à domicile de moins de 3ans étant corrélées, on décide d'analyser uniquement la fratrie et le nombre d'enfants vivant à domicile de moins de 3 ans.

- La variable origine ethnique n'est pas testée devant le trop faible effectif d'origine étrangère.

- Les variables concernant le lieu de la prise du biberon, du brossage de dents, de rangement des brosses à dents, ne sont pas testées devant le manque de pertinence de ces informations (redondance de la même information, trop peu d'enfants ne prenant pas de biberon en collectivité).

Le nombre d'enfants prélevés est de 256. Parmi ces enfants, 133 ont une PCR positive.

Les variables présentant un $p < 0,20$ en univarié (notées en gras) ainsi que certaines variables nécessitant des précisions sont présentées ci-dessous :

- Le **centre de prélèvement** : Le centre est fortement associé avec l'excrétion : par rapport au centre 2, le risque est 10 fois plus important de sécréter le CMV dans le centre 5 et 8 fois plus important dans le centre 7. Ces résultats traduisent l'importance du facteur « milieu » dans lequel les enfants évoluent. $P < 0,0001$ (VM=0)

- Variable **migration** : OR =0,52 ; $p=0,16$ (VM=24)

- Profession des parents : Il n'est pas retrouvé de relation significative entre le milieu socio-professionnel et l'excrétion virale en analyse univariée ($p=0,90$).

- Fratrie : il n'est pas retrouvé de corrélation :

- 2 enfants versus 1 enfant : OR 1,73 ; IC95%(0,88-3,42)

- plus de 3 enfants versus 1 : OR 0,93 ; IC95%(0,33-2,61)

- **Le nombre d'enfants à domicile de moins de 3 ans** est associé à l'excrétion du CMV avec un OR=2,23 ; $p=0,08$

- **L'allaitement** ainsi que la **durée d'allaitement** ne sont globalement pas corrélés à l'excrétion virale avec un OR de 1,004 , $p=0,92$ (VM=23) pour la durée d'allaitement.

Mais si l'on étudie l'excrétion virale chez les enfants de moins d'un an en fonction de l'allaitement maternel, on obtient un odds ratio non ajusté au centre de 6,35 [1,52-26,4] ($n=55$, $P=0,01$). L'allaitement influence donc nettement l'excrétion virale chez les enfants de moins d'un an en crèche. Après un an, le rôle de

l'allaitement n'est plus significatif probablement à cause de l'importance des autres facteurs favorisant l'infection tels que la vie en collectivité qui rendent négligeable l'effet de l'allaitement.

De même, avant un an, la durée d'allaitement est significativement corrélée à l'existence d'une excréation avec une augmentation de la proportion d'enfants excréteurs avec la durée d'allaitement ($p=0,0177$).

- Le **nombre de crèches** (avec regroupement des crèches 2 et 3 car 2 enfants avaient 3 crèches) : OR 2 ou 3 crèches vs 1 = 0,41, $p=0,13$ (VM=23)

- Concernant la durée de garde en collectivité (en mois), 3 catégories ont été définies :

- Moins de 12 mois ($n=123$)
- 12 à 18 mois ($n=42$)
- Plus de 18 mois ($n=63$)

L'odds ratio est de 1,01 lorsque l'on compare plus de 18 mois à moins de 12 mois et de 2,59 lorsque l'on compare 12 à 18 mois contre 12 mois ($p=0,11$; VM=28).

- La variable nombre de mois de garde dans la dernière crèche (VM=29) :

- OR + de 18 mois vs 0-6 mois = 1,08
 - OR 6-8 mois vs 0-6 mois = 1,70
- $p=0,33$

- **Ongles** : les enfants qui se rongent les ongles ont un odds ratio de 5,74 de sécréter du CMV par rapport aux autres enfants ;($p=0,12$;VM=24)

- Le **nombre de brossage de dents par jour** $p=0,17$ (VM=24)

- OR au moins 2 brossages quotidien versus 0 : OR=0,31
- 1 brossage quotidien versus 0 : OR= 0,96 ;

L'absence de corrélation avec le brossage de dents en crèche à la différence des urgences renforce l'hypothèse selon laquelle l'âge est un facteur confondant. En effet, la médiane d'âge est plus élevée aux urgences par rapport à la crèche (28,01 versus 20,5 mois respectivement). Parallèlement, en crèche les enfants se lavent majoritairement les dents moins d'une fois par jour alors qu'aux urgences les

résultats sont plus équilibrés (57,8% versus 45,8% respectivement pour un brossage de dent moins d'une fois par jour) .

- En supposant que les valeurs manquantes de la variable fièvre chez les enfants de la crèche du CHU de Limoges correspondent en fait à l'absence de fièvre (39 cas sur les 45 VM), le modèle logistique univarié n'identifie pas d'association significative entre une PCR positive et la présence de fièvre :

OR=1,51 IC95% [1,69-3,33] p=0,30.

- La **rhinorrhée** est significativement corrélée à l'excrétion de CMV avec un OR de 2,26, p=0,029 (VM=6)

- Variable **adénopathie** : OR = 0,58 ; p=0,09, (VM=23). Ces résultats sont en accord avec la littérature (Perol 1982).

- En supposant que les valeurs manquantes de la variable **éruption** chez les enfants de la crèche du CHU de Limoges correspondent en fait à l'absence d'éruption (20 cas sur les 41 VM), le modèle logistique univarié identifie une association significative entre une PCR positive et la présence d'une éruption : OR=0,13 IC95% [0,03-0,71] p=0,018.

- En supposant que les valeurs manquantes de la variable vomissement chez les enfants de la crèche du CHU de Limoges correspondent en fait à l'absence de vomissement (39 cas sur les 44 VM), le modèle logistique univarié n'identifie pas d'association significative entre une PCR positive et la présence de vomissement : OR=2,22 IC95% [0,62-7,90] p=0,21. Dans la littérature, il n'est pas retrouvé non plus de lien avec les vomissements (Gandhi 2004 , Mazeron 2001).

Les résultats détaillés des analyses univariées pour les variables présentant un $p < 0,20$ (+ age, sexe, allaitement) sont présentés dans le tableau ci-dessous.

VARIABLE	MODALITES	ODDS RATIO	IC 95%	P	VALEURS MANQUANTES
Centre de prélèvement	Strasbourg vs Limoges	7,89	3,26 – 19,1	< 0,0001	0
	Dijon vs Limoges	1,83	0,59 – 5,71		
	Toulouse vs Limoges	10,16	4,14 – 24,96		
	Val de vienne vs Limoges	0,21	0,04 – 1,04		
Migration de l'enfant (entre sa ville de naissance et la localisation de la crèche)	Oui vs non	0,52	0,21 – 1,30	0,16	24
Nombre de crèches que l'enfant a déjà fréquenté	2 et/ou 3 vs 1	0,45	0,12 – 1,28	0,13	23
Nombre de mois de garde en collectivité	Plus de 18 mois vs moins de 12 mois	1,01	0,48 – 2,12	0,11	28
	12-18 mois vs moins de 12 mois	2,59	1,03 – 6,51		
L'enfant se suce-t-il les doigts ?	Oui vs non	5,74	0,62 – 52,84	0,12	24
Nombre d'enfants de moins de 3 ans à domicile	2 et/ou 3 vs 0 et/ou 1	2,23	0,91 – 5,46	0,08	27
Nombre de brossage de dents quotidien	2 vs 0	0,32	0,11 – 0,90	0,09	24
	1 vs 0	0,96	0,48 – 1,91		
Présence d'au moins une adénopathie	Oui vs non	0,58	0,30 – 1,10	0,094	23
Rhinorrhée	Oui vs non	2,26	1,09 – 4,72	0,029	6

Tableau 4 : résultats des analyses univariées en crèche

Les autres variables présentaient un $p > 0,20$, elles n'étaient donc pas associées à la positivité de la PCR ni susceptibles d'entrer dans un éventuel modèle multivarié.

Pour les autres variables, listées ci-dessus, il existe des valeurs manquantes dont la répartition peut être variable selon les centres.

Ainsi à l'issue de l'analyse univariée, les variables ayant un $p < 0,2$:

- **Le centre de prélèvement**
- L'existence d'un changement de département (migration)
- Le nombre de crèches fréquentées par enfants,
- **La durée de garde** en collectivité par enfant
- **L'allaitement** et la **durée d'allaitement** avant un an
- Le nombre d'enfants vivant au domicile de moins de trois ans,
- Le fait de se ronger les ongles
- Le nombre de **brossage de dents** quotidien par enfant
- L'absence d'adénopathie,
- L'existence d'une **rhinorrhée**
- L'existence d'une éruption sous réserve de l'importance des données manquantes

Les résultats marqués en gras sont ceux qui sont statistiquement significatifs

Pour réaliser le modèle multivarié envisagé, il faut constituer un sous échantillon pour lequel aucune variable pertinente ne présente de valeur manquante (193 observations). Il a été décidé de ne pas présenter ces résultats en raison du nombre trop important d'enfants exclus.

❖ **Résultats en fonction du niveau d'excrétion virale :**

Après avoir étudié les variables corrélées à la présence d'une excrétion virale, il est intéressant de regarder s'il existe un lien, voire un gradient avec le niveau d'excrétion virale.

Les analyses sont réalisées pour les variables significatives ou avec un $p < 0,2$ et une tendance intéressante dans les analyses précédentes.

Les variables sont étudiées soit en fonction d'une quantité d'excrétion virale linéaire (âge, allaitement, durée allaitement) soit en fonction d'une excrétion virale catégorisée en quatre parties :

- 0 copies : 48,5 % (n=123),
- 0-5 log₁₀ copies/ml : 18,75 % (n=48),
- 5-7 log₁₀ copies/ml : 25,8 % (n=66),
- > 7 log₁₀ copies/ml : 7,4 % (n=19).

Pour des raisons de faisabilité des calculs, il a été nécessaire de regrouper les catégories d'excrétion 5-7 log₁₀ et 7 log₁₀. On obtient ainsi 3 groupes :

- Non excréteur qui correspond au groupe de référence : 48,5% (n=123)
- Faible excréteur : 18,75% (n=48)
- Fort excréteur : 33,2% (n=85)

De plus à cause d'un effectif trop faible, il a été nécessaire de grouper les centres 2, 3 et 4 correspondant aux différentes crèches de Limoges.

Un modèle logistique multinomial est utilisé. Il permet de déterminer l'Odds Ratio de présenter une catégorie de classe de PCR plus haute par rapport à une classe de niveau de PCR inférieure.

Cependant le nombre d'effectif par catégorie étant faible, la puissance de ces analyses par niveau d'excrétion est limitée.

Il n'a pas été réalisé d'analyse multivariée, compte tenu du peu d'effectif dans les différentes catégories.

VARIABLE	MODALITES	NIVEAU D'EXCRETION	ODDS RATIO	IC 95 %	P
Centre de prélèvement	Strasbourg vs Limoges	fe	12,67	3,91-41,06	<0,0001
		FE	13,71	5,38-34,96	
	Dijon vs Limoges	fe	3,2	0,65-15,84	
		FE	3,05	0,85-10,94	
	Toulouse vs Limoges	fe	17,6	5,42-57,15	
		FE	16,91	6,53-43,79	
Age	A chaque année gagnée	fe	1,16	0,73-1,86	0,40
		FE	0,85	0,57-1,28	
sexe	Fille vs garçon	fe	0,65	0,28-1,48	0,50
		FE	0,7	0,34-1,43	
Migration	oui vs non	fe	0,51	0,16-1,68	0,38
		FE	0,53	0,19-1,45	
Nombre d'enfants de moins de 3 ans à domicile	2 et/ou 3 vs 0 ou 1	fe	2,39	0,82-7,01	0,15
		FE	2,45	0,93-6,46	
Allaitement	Oui vs non	fe	0,99	0,44-2,23	0,32
		FE	1,67	0,78-3,58	
Nombre de crèches fréquentées	Au moins 2 vs 1	fe	0,44	0,11-1,74	0,28
		FE	0,43	0,13-1,41	
Nombre de mois de garde en crèche	Au moins 18 mois vs moins de 12 mois	fe	1,55	0,54-4,47	0,25
		FE	2,59	1,05-6,39	
	Entre 12 et 18 mois vs moins de 12 mois	fe	1,31	0,53-3,22	
		FE	1,07	0,47-2,45	
Nombre de brossage de dents par jour	une fois vs 0	fe	0,92	0,39-2,16	0,18
		FE	0,93	0,44-1,98	
	Deux fois ou plus vs 0	fe	0,53	0,16-1,75	
		FE	0,17	0,04-0,71	
L'enfant se ronge t-il les ongles ?	Oui vs non	fe	2,56	0,19-34,26	0,31
		FE	5,19	0,62-43,31	
Présence de rhinorrhée	Oui vs non	fe	1,25	0,51-3,04	0,23
		FE	2,02	0,9-4,54	
Présence d'adénopathie	oui vs non	fe	0,65	0,29-1,44	0,21
		FE	0,53	0,26-1,09	

FE : Fort excréteur ; fe : faible excréteur

Tableau 5 : analyses univariées en fonction du taux d'excrétion virale en logcopies/ml en crèche

Il ressort de l'ensemble des résultats obtenus en crèche que le facteur majeur d'excrétion du CMV est le **centre de prélèvement**. La promiscuité entre enfants sécrétant du CMV est le principal facteur de risque de contagiosité.

Le risque de se contaminer était plus grand lorsque l'enfant était en **crèche depuis 12 à 18 mois** par rapport à ceux qui y allaient depuis moins d'un an d'après les analyses précédentes (OR 2,59 ;IC95% 1,03-6,51). Curieusement ces résultats ne se confirmaient pas chez les enfants qui allaient en crèche depuis plus de 18 mois. Mais, lorsque l'on regarde le niveau d'excrétion virale, il y a significativement plus d'enfants forts excréteurs chez ceux gardés en crèche depuis **plus de 18 mois** par rapport à ceux gardés depuis moins d'un an (OR 2,69 ;IC95% 1,05-6,39). Pour les autres calculs, non significatifs, la tendance est en faveur d'un niveau d'excrétion qui augmente avec la durée de garde en crèche. L'ensemble de ces résultats non significatifs s'expliquent aisément par un manque d'effectif dans chaque catégorie. Ainsi, plus un enfant est gardé en crèche depuis longtemps, plus il a de risque d'excréter du CMV et principalement à forte dose. Ces résultats sont en faveur, d'une primo infection correspondant à des fortes excrétions de CMV.

Une tendance dans le même sens se dégage lorsque l'on regarde le nombre d'enfants vivant à domicile de moins de 3 ans : la présence d'au moins deux enfants de moins de trois au domicile était associée à une augmentation du risque d'excréter le CMV avec un OR de 2,23 (p=0,08). Cette tendance se confirme lorsque l'on regarde le niveau d'excrétion virale : plus il y a d'enfants au domicile de moins de 3 ans, plus il y a d'enfants qui excrètent mais il n'y a cependant pas plus de forts excréteurs par rapports aux faibles excréteurs (fort excréteur : OR 2,45 ;IC95% 0,93-6,46 ; faible excréteur : OR 2,39 ;IC95% 0,82-7,01 ;p=0,15). Cette absence de différence entre forts et faibles excréteurs provient probablement du fait que la tranche d'âge de 3 ans est trop grande : le niveau d'excrétion semblant diminuer avec l'âge, il doit exister plus d'enfants forts excréteurs à un an qu'à 3 ans et inversement pour les faibles excréteurs. En étudiant la tranche des 3 mois 3 ans globalement, les résultats sont moyennés et donc les différences s'atténuent.

Le nombre de PCR positives en fonction de l'âge avait une tendance inversement corrélée à l'**âge** (OR 0,83 ; p=0,24). Ceci se confirme avec l'étude du

niveau d'excrétion : l'odds ratio est de 0,85 d'être fort excréteur lorsqu'on a un an de plus (IC95% 0,57-1,28 ;p=0,40) mais par contre de 1,16 pour les faibles excréteurs (IC95%0,73-1,86 ;p=0,4). Ainsi, avec l'âge la tendance est d'excréter moins souvent et majoritairement en faible quantité. Ceci est confirmé par l'analyse statistique linéaire où l'âge est significativement et inversement corrélé au niveau d'excrétion virale (n=133 ; p=0,035). Ces résultats confirment ceux obtenus aux urgences en faveur d'une primo-infection très précoce puis d'une persistance d'une excrétion virale diminuant avec le temps avec des possibilités de réactivation (figure 13).

Les résultats sur l'âge aident à interpréter le facteur « protecteur » de se laver les dents deux fois par jour par rapport à l'absence d'un **brossage de dents** (OR 0,32 ;IC95% 0,11-0,9). Le niveau d'excrétion virale est significativement plus bas en cas de brossage de dents deux fois par jour (OR 0,17 ;IC95% 0,04-0,71). On s'attendrait à ce que le lavage de dents, avec le risque de mélange des brosses à dents ou du verre à dents favorise l'infection. Les résultats obtenus, à l'opposé de ceux qui sont attendus, peuvent s'expliquer par l'âge plus élevé des enfants qui se lavent les dents deux fois par jour, l'excrétion du CMV diminuant avec l'âge (cf résultats précédents) . Cette question, avec une réponse biaisée, sera supprimée du questionnaire de l'étude nationale.

En ce qui concerne l'**allaitement** et la **durée de cet allaitement**, les analyses chez les enfants de **moins d'un an** étaient statistiquement significatives en faveur d'une augmentation du nombre d'enfants excréteurs de CMV en cas d'allaitement et d'autant plus en cas d'allaitement prolongé (OR=6,35, p=0,01 et p=0,0177 respectivement). De plus, le niveau d'excrétion augmente significativement avec la durée de l'allaitement chez les enfants de moins d'un an (p=0,021). Ces résultats sont en accord avec la littérature qui retient le facteur de risque majeur de l'allaitement dans la transmission du CMV (Stagno and Cloud 1994). La perte de significativité après un an peut s'expliquer par le fait qu'une fois en crèche depuis un temps suffisant (l'excrétion étant corrélée avec la durée de garde en crèche d'après les résultats précédents), le facteur crèche étant un facteur prépondérant de contamination, tous les autres facteurs de risques deviennent négligeables. D'autre part, la transmission virale par l'allaitement se fait précocement : 40% des enfants allaités pendant plus d'un mois par des mères excrétrices dans le lait deviennent

séropositifs (Stagno and Cloud 1994). Ainsi, après un an il n'y a quasiment plus de contamination, la contamination ayant déjà été faite dans les premiers mois de vie.

L'analyse du niveau d'excrétion virale en fonction de l'allaitement manque de puissance mais il se dégage une tendance à être fort excréteur en cas d'allaitement (OR 1,67, IC95% 0,78-3,58) et non faible excréteur (OR 0,99 ; IC95% 0,44-2,23 ; p=0,32). En accord avec la littérature, l'allaitement semble donc être un facteur fort de primo infection avant un an.

Cliniquement, la présence d'une **rhinorrhée** était statistiquement corrélée à l'excrétion du CMV. Lorsqu'on étudie le niveau d'excrétion, les résultats ne sont pas significatifs, mais la tendance est en faveur d'une augmentation du niveau d'excrétion, avec plus de forts que de faibles excréteurs en cas de rhinorrhée (fort excréteur : OR 2,02 ; IC95% 0,9-4,54 ; faible excréteur OR 1,25 ; IC95% 0,51-3,04 ; p=0,23). Un manque de puissance est vraisemblable. Les mêmes hypothèses que précédemment peuvent être élaborées : soit la rhinorrhée est un symptôme de primo-infection à CMV, soit en cas de virose l'excrétion du CMV est transitoirement augmentée.

La tendance était en faveur d'une d'excrétion moins fréquente du CMV en cas d'adénopathie et sans différence entre la proportion de faible et fort excréteurs (fort excréteur : OR 0,53 ; IC95% 0,26-1,09 ; faible excréteur : OR 1,25, IC95% 0,51-3,04 ; p=0,21). L'absence de corrélation avec la présence d'adénopathie est en accord avec la littérature (Perol 1982).

Ainsi en crèche,

- La fréquence de l'excrétion du CMV est inversement corrélée à l'**âge** avec de plus, une tendance à excréter en quantité plus faible en vieillissant.
- L'excrétion du CMV est plus importante qu'aux urgences, les urgences étant considérées comme la population témoin. Ceci confirme les données selon lesquelles la **crèche** est un facteur de risque majeur de contamination pour le CMV. De plus, l'excrétion de CMV est plus fréquente et de plus forte quantité avec l'augmentation de la **durée de garde en crèche** (principalement à partir d' un an de garde en crèche).
- L'**allaitement** est un facteur de risque d'excrétion avant un an avec une excrétion plus fréquente et plus importante avec l'augmentation de la **durée d'allaitement**.
- La **rhinorrhée** est significativement associée à la présence du CMV avec une tendance à être fort excréteur dans ce cas, ceci faisant supposer un lien entre rhinorrhée et primo infection à CMV ou rhinorrhée et augmentation de la réplication de virions latents.

L'ensemble de ces résultats est globalement en accord avec ceux obtenus aux urgences.

En définitive, les facteurs de risque d'infection retrouvés dans notre étude sont les mêmes que ceux décrits dans la littérature avec en plus, la confirmation que l'allaitement est un facteur de risque d'infection majeur avant un an et la vie en collectivité le principal facteur de risque après un an.

Deux populations de patients forts et faibles excréteurs ont été décrites. Chez les patients forts excréteurs, on observe une corrélation significative avec la fièvre, une rhinopharyngite, aux urgences et en crèche. Si l'hypothèse selon laquelle les forts excréteurs correspondent aux primo infections est démontrée secondairement par l'étude des anticorps anti-CMV, on pourra en conclure que ce sont des symptômes révélateurs de la primo infection à CMV chez le nourrisson. On pourra de même en déduire que la primo infection est très précoce, les enfants forts excréteurs ayant principalement entre 3 mois et 15 mois.

Chez les patients faibles excréteurs, il n'est pas retrouvé de corrélation avec des symptômes. Ces patients peuvent avoir soit une réactivation du CMV dans un contexte viral ou autre, soit une persistance prolongée de l'excrétion virale.

Les résultats sur la symptomatologie clinique sont en accord avec ceux obtenus dans la littérature.

❖ Comparaisons entre les crèches

Pour essayer de comprendre les différences d'excrétion virale dans les différentes crèches, la taille, le taux d'allaitement et le niveau socio économique moyen de chaque crèche ont été étudiés.

L'étude de l'excrétion virale en fonction de la taille de la crèche par une corrélation de Spearman n'est pas significative ($p=0,006$). Cependant il existe un net manque de puissance. La tendance statistique est en faveur d'une augmentation du risque d'infection à CMV proportionnel à la taille de la crèche (figure 14).

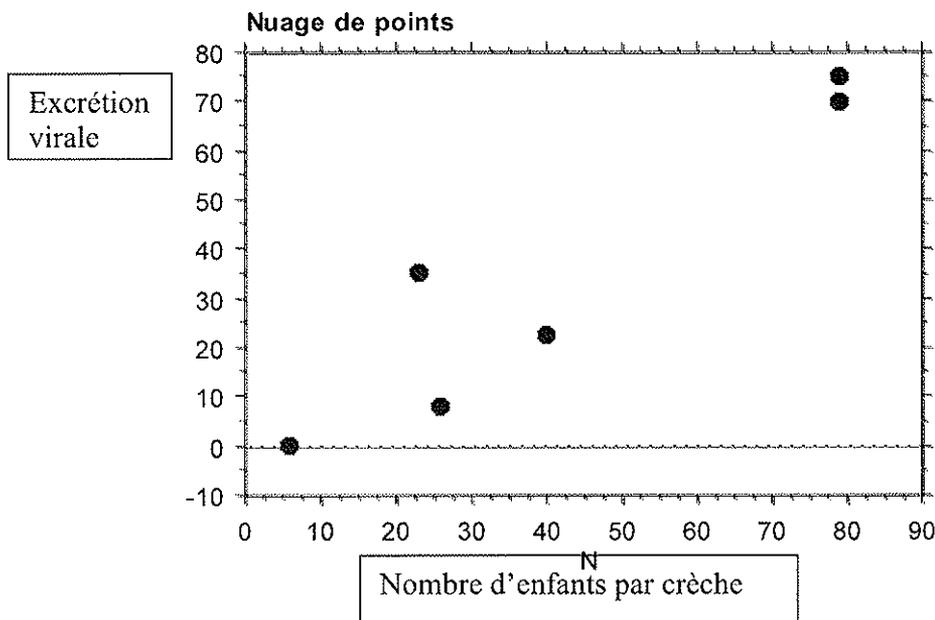


Figure 14 : excrétion virale en fonction de la taille de la crèche

En ce qui concerne l'allaitement, le taux est variable d'une crèche à l'autre avec respectivement un taux de 44%, 73%, 66%, 64%, 58%, 80% ($p=0,01$). Ce taux n'est cependant pas corrélé aux variations de l'excrétion virale d'une crèche à l'autre.

L'étude de l'excrétion virale en fonction du niveau socioprofessionnel de chaque crèche est intéressante : la différence de niveau socio professionnel moyen pour chaque crèche est statistiquement significative ($p < 0,0001$). Cependant, à la différence de nombreux articles dans la littérature, les crèches fréquentées par les enfants provenant de milieux moins favorisés n'ont pas d'excrétion plus fréquente du CMV. Au contraire, la crèche avec une majorité d'enfants provenant de milieux plus favorisés a la deuxième prévalence la plus importante pour le CMV (tableau 6). Il n'est donc pas retrouvé de corrélation entre le milieu socio professionnel et la prévalence du CMV dans notre étude.

	Limoges et agglomération	Toulouse	Dijon	Strasbourg
Agriculteur, ouvrier, employé (%)	52,46	58,23	58,82	24,36
Cadre, profession libérale (%)	45,90	41,77	29,41	73,08
Inactif (%)	1,64	0,00	11,76	2,56
Excrétion virale (%)	10,06	74,7	34,8	69,6

Tableau 6 : niveau socio professionnel et excrétion virale pour chaque crèche

Le niveau socio économique est-il directement un facteur de risque pour l'excrétion virale ou n'est-il que le reflet de l'allaitement maternel et du mode de garde qui varient en fonction du niveau socioprofessionnel ?

De nombreuses études considèrent le niveau socio économique comme un facteur de risque d'infection à CMV (Gratacap-Cavallier *et al.* 1998; Kenneson and Cannon 2007). Cependant, une revue de la littérature réalisée par Kenneson sur la prévalence du CMV dans différents pays du monde est dans le sens des résultats obtenus dans notre étude : la prévalence du CMV était variable à l'intérieur d'un même pays et d'un pays à l'autre, sans corrélation réelle avec le niveau socio-économique. De plus, d'après Stagno, l'excrétion virale dépend des modalités d'allaitement et de garde en collectivité : dans les pays dits « développés », où les femmes des milieux moyens et favorisés allaitent plus fréquemment (même si ce n'est pas le cas dans notre étude : $p = 0,52$ en crèche et $0,24$ aux urgences) et font plus souvent garder leurs enfants en collectivité par rapport aux femmes de milieux moins favorisés, la séroprévalence du CMV augmente progressivement chez leur enfant. Il est constaté le phénomène inverse dans les milieux plus défavorisés. Il

existe donc une possibilité que la séroprévalence du CMV devienne plus importante dans quelques années, dans les milieux moyens et favorisés par rapport aux milieux défavorisés (stagno 1994).

La faible séroprévalence au CMV des femmes jeunes et l'augmentation de la séroprévalence au CMV des enfants en bas âge, impliquent une potentielle augmentation des primo infections maternelles et donc des infections congénitales à CMV dans ces milieux favorisés dans les années à venir.

Le niveau socio économique n'influencerait donc pas directement la séroprévalence pour le CMV.

Il faut cependant considérer nos résultats avec prudence. Un biais possible pourrait être dû à l'effet centre qui masquerait l'effet des différences socio économiques. On observe toutefois des différences notables entre des crèches ou groupes de crèches de même niveau socio économique. Seule une analyse multivariée pourrait permettre de préciser ces données.

4. Comparaisons entre les urgences et les crèches (tableau 7)

	urgences	crèches
Garçons	56%	52,7%
Age (médiane en mois)	28,01	20,5
Au moins 2 enfants de moins de 3 ans	10,3%	16,2%
Niveau socioéconomique favorisé	56,3%	52%
Allaitement	50,75%	67,95%
Durée allaitement (médiane en mois)	3,5	3,5
Durée de garde en crèche /mois (médiane)	11,5	11
Nombre d'heures de garde / semaine en crèche (médiane)	24,5	33,2
Brossage de dents	57%	44%
Prévalence CMV	21,7%	51,9%

Tableau 7: Comparaison des valeurs sociodémographiques aux urgences et en crèche

La prévalence du CMV entre les urgences et les crèches est significativement différente en faveur des crèches (21,7% versus 51,9% respectivement ; $p < 0,0001$). Or, il est intéressant de remarquer la similitude des deux populations en crèche et aux urgences quant au sexe, à l'âge, au niveau socio économique.

D'après les résultats obtenus précédemment, plusieurs données peuvent expliquer cette différence de prévalence entre ces deux structures :

a. L'âge

Les enfants consultant aux urgences sont plus âgés que ceux gardés en crèche (médiane de 28,01 versus 20,5 mois). Or les résultats de l'étude montrent une diminution de la fréquence et du niveau d'excrétion virale avec l'âge.

b. Le mode de garde

Seulement 57,6% des enfants consultant aux urgences sont gardés en crèche. Or la crèche est un facteur majeur de contamination virale.

Cependant la prévalence du CMV des enfants consultant aux urgences et normalement gardés en crèche est seulement de 23,7% (25%, 14,8%, 18,75% pour ceux gardés respectivement au domicile, chez une assistante maternelle, en garderie) et il n'est pas retrouvé de corrélation entre le lieu de garde et l'existence d'une excrétion virale ($p=0,66$).

Lorsque l'on compare le groupe des enfants gardés en crèche consultant aux urgences à celui des enfants prélevés en crèche, on observe que la médiane des mois passés en crèche est similaire (11,5 mois versus 11 mois respectivement). Par contre, le temps passé en crèche par semaine est inférieur chez les enfants prélevés aux urgences par rapport aux autres (25,2 heures versus 33,2 heures respectivement). Cependant, pour pouvoir vraiment comparer ces deux groupes de population, il manque des informations concernant la proportion d'enfants allaités par crèche, le niveau socio économique, la taille moyenne des crèches.

c. L'allaitement

68% des enfants prélevés en crèche ont été allaités versus 50,7% aux urgences. Ces données sont en accord avec l'augmentation du risque d'excrétion virale liée à l'allaitement observée dans cette étude.

La comparaison entre les urgences et les crèches peut donc s'expliquer, en partie, par les différences concernant l'allaitement, l'âge et le mode de garde des enfants.

Le fait d'obtenir des résultats en accord avec nos analyses statistiques précédentes, renforce leur valeur.

DISCUSSION GENERALE

I Choix de la population

Nous avons décidé de prélever les enfants aux urgences pour estimer la prévalence du CMV dans la population générale, la population des urgences s'approchant de cette dernière. La représentativité de la population n'a cependant pas encore été vérifiée statistiquement. D'autre part, la grande affluence d'enfants aux urgences permettait de valider la réalisation, le transport et l'analyse des prélèvements plus facilement qu'en crèche.

La population des crèches n'est quant à elle pas représentative de la population générale. En effet, sont mis en crèche les enfants dont les parents travaillent et donc d'un niveau socio-économique globalement plus élevé. Cependant, la fréquentation d'une crèche étant un facteur majeur de contamination par le CMV, il était important d'évaluer les modes de contamination dans ces dernières.

II Intérêts de l'étude par rapport aux données de la littérature.

A la différence des études de séroprévalence habituelles, notre étude est la première à analyser l'excrétion virale du CMV. Nous avons ainsi pu identifier les enfants excréteurs de CMV et donc les enfants contagieux dans un milieu donné (les crèches, les urgences). Ce virus a d'ailleurs été isolé en culture cellulaire dans le travail de J Grosjean, ce qui confirme la viabilité des virions excrétés.

Cette étude est également la première qui mesure le niveau d'excrétion virale, et donc la quantité de virus potentiellement contaminant dans la salive des enfants. A Cela nous laisse envisager une histoire naturelle de l'infection à CMV avec une primo infection entre 3 mois et 15 mois puis une persistance prolongée de l'excrétion virale et des épisodes de réactivations au cours de virose ou autre. Il faudra confirmer cette hypothèse lors de l'étude nationale. Cette primo infection serait donc plus précoce que ce qui est annoncé dans la littérature (primo infection avant 3 ans dans la littérature).

L'étude des niveaux d'excrétion a d'autre part permis d'affiner la connaissance des facteurs de risque de contamination par le CMV. Ainsi les enfants se contamineraient principalement au cours de l'allaitement entre 3 et 12 mois et en crèche après 6 à 12 mois de garde.

III Limites de l'étude

Le principal biais de cette étude est un biais de sélection. Les crèches ont été choisies arbitrairement. Aux urgences, les enfants étaient principalement inclus la journée et lors de périodes d'accalmies. Même si la population des urgences peut être considérée comme un reflet de la population générale, les enfants ont été choisis arbitrairement. Les résultats épidémiologiques devront donc être interprétés avec précaution et être confirmés par l'étude nationale.

La deuxième limitation est un manque de puissance statistique due à des effectifs trop faibles dans plusieurs catégories. Certaines corrélations ne peuvent donc pas être détectées.

L'étude à l'échelle nationale permettra d'éviter ces deux biais.

3. Quel éclairage notre étude apporte-t-elle dans la perspective d'une vaccination ?

Comme il l'a été présenté dans l'introduction, la primo infection à CMV est ubiquitaire, difficile à diagnostiquer, à prévenir et traiter avec des conséquences potentiellement graves en cas d'infection congénitale ou d'immunodépression.

Par ailleurs, la prévalence des infections congénitales secondaires à des primo infections, et donc de pronostic plus péjoratif, tend à augmenter à cause de l'importance des mères séronégatives (Stagno 1994). Malgré l'absence de données prospectives récentes, le raisonnement de cet auteur reste valable, compte tenu de la progression du niveau socio économique de nombreux pays.

De ce fait la vaccination est une alternative intéressante. Mais quelle population vacciner ? Comment peut-on préciser le réservoir de virus avec l'aide de notre étude ?

Devant la faible séroprévalence du CMV chez les femmes enceintes en France (44,6% d'après Gouarin 2001) et le risque non négligeable de primo infection

pendant la grossesse (1,4% d'après Gouarin 2001), une vaccination des femmes avant leur première grossesse semble judicieuse. Cependant, une vaccination avant une grossesse peut sembler difficile : les femmes sont souvent peu médicalisées dans cette tranche d'âge et consultent rarement en ce sens avant de débiter une grossesse. Une **vaccination des adolescentes séronégatives** semble plus facile à réaliser : les adolescentes ont encore un suivi médical régulier qui permettrait une vaccination concomitante à celle du papillomavirus ou à un rappel du DTP. Cette vaccination aurait un effet de rattrapage des femmes non infectées naturellement dans la petite enfance.

Une vaccination de rattrapage, tenant compte du risque accru d'acquisition du CMV en fonction du nombre de grossesses et du nombre d'enfants serait de vacciner les jeunes femmes primigestes séronégatives à leur sortie de maternité, après un test sérologique.

Cependant, dans le but de protéger également les personnes immunodéprimées, une vaccination systématique des nourrissons pourrait être proposée. Nos résultats confirment que les enfants de moins de trois ans sont un réservoir de virus, avec dans nos résultats une prévalence d'excrétion virale de 21% aux urgences et une excrétion maximale entre 3 mois et 15 mois. C'est donc l'enfant de moins de six mois qui représenterait une cible vaccinale potentielle pour vacciner. Ceci implique la création de nouveaux vaccins combinés compte tenu du nombre de vaccins déjà administré à ces enfants. Une possibilité d'association au vaccin contre l'hémophilus ou l'hépatite B est séduisante.

Malheureusement les enfants infectés pendant la grossesse et en périnatale par l'allaitement resteront contagieux malgré la mise en place d'un programme de vaccination.

En définitive, il nous semble préférable, dans le but de réduire les infections congénitales à CMV, de travailler sur les adolescentes séronégatives et de mettre en place, en parallèle, une vaccination des nourrissons avant 6 mois pour obtenir une protection plus large de la population générale.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le but de cette étude était d'évaluer la faisabilité de prélèvements salivaires, le transport et le traitement de ces prélèvements, ainsi que l'acceptabilité d'un questionnaire. Les résultats sont très encourageants avec 80 % d'acceptabilité du questionnaire et du prélèvement. Le prélèvement, le transport et le traitement de ce dernier étaient parfaitement réalisables. L'étude à échelle nationale est donc envisageable. Elle permettra de confirmer nos résultats statistiques, en évitant le biais de sélection, ainsi que la réalisation d'analyses multivariées grâce à un échantillon de patients plus conséquent.

L'importance de la prévalence de l'excrétion du CMV chez des enfants de moins de 15 mois pose la question d'une vaccination des adolescentes séronégatives. Pour obtenir également une protection des personnes immunodéprimées, une vaccination précoce, avant 6 mois pourrait être mise en place.

ANNEXE I - SYNOPSIS DE L'ETUDE

Titre du protocole :

Étude de faisabilité de la recherche en institution du Cytomégalo­virus humain dans la salive des enfants de 3 mois à 6 ans

Promoteur :

CHU de Limoges
2, Avenue M Luther-King
87 042 Limoges Cedex

Investigateur Coordonnateur Dr. Sophie Alain

Indication :

Étude de faisabilité avant une étude de la prévalence de l'excrétion du CMV chez les enfants de 3 mois à 6 ans au niveau national

Objectifs :

Objectif principal : Evaluer la faisabilité du prélèvement salivaire en crèche sur une semaine donnée pour étudier l'excrétion du CMV.

Objectifs secondaires :

Évaluer la proportion d'enfant excré­tant le CMV parmi les enfants admis aux urgences.

Valider la chaîne analytique de la réception du prélèvement à l'interprétation du résultat.

Méthodologie de l'essai

Recueil salivaire avec recherche directe d'ADN, isolement viral et recherche d'anticorps

1. chez les enfants en crèche sur une période d'une semaine

2. chez les enfants consultant aux urgences hospitalières sur une période de trois mois.

Prélèvements effectués par le pédiatre, la puéricultrice ou les investigateurs de l'étude.

Nombre prévu de patients

Au minimum 195 enfants en crèche

Au minimum 460 enfants à l'HME

Nombre de centres : Au maximum 6 crèches et HME : 7 centres

Critères de sélection :

Critères d'inclusion :

- Enfants des crèches retenues
- Enfants consultant aux urgences pédiatriques.
- Age compris entre 3 mois et 6 ans

Critères de non - inclusion :

- Refus des parents
- Refus de l'enfant en fonction de sa capacité de compréhension

Traitements associés : Aucun

Critères d'Evaluation :

Critères principaux : Acceptabilité du prélèvement, Praticabilité du circuit de l'échantillon, Faisabilité des analyses biologiques

Description succincte des produits et déroulement de l'essai :

Kit de prélèvement salivaire (Ecouillons en éponge).

Prélèvement de salive à la face interne de la joue. Trois écouillons pour la recherche d'ADN viral, un écouillon en milieu de transport virus, un écouillon en tampon salin pour recherche d'anticorps.

Données recueillies :

À la visite d'inclusion : Age, mode de garde, allaitement, transfusions, prématurité, Et en institution hospitalière présentation clinique (fièvre, adénopathies), numération et CRP si pratiquées.

Durée de l'essai :

Durée de la période d'inclusion :

1. Une semaine donnée pour chaque crèche
2. Trois mois pour les urgences

Durée de la participation de chaque patient : Un seul prélèvement de 5 minutes.

Durée totale de l'essai: 6 mois y compris l'analyse des données

ANNEXE II -NOTICE D'INFORMATION

Promoteur : CHU de LIMOGES
2 avenue Martin Luther King
87042 LIMOGES Cedex

Investigateur principal : Docteur S. Alain, service de Bactériologie – Virologie -
Hygiène du CHU de
Limoges

N° d'enregistrement de l'étude : 2007-A00567-46

Titre de l'étude : Étude de faisabilité de la recherche en institution du
Cytomégalovirus humain dans la salive des enfants de 3 mois à 6 ans.
Étude de faisabilité de l'étude CrechMV.

Nous vous proposons que votre enfant participe à un protocole de recherche biomédicale.

Avant de donner votre consentement, nous vous demandons de lire avec attention les informations suivantes et de poser toutes les questions qui vous viennent à l'esprit.

Ce document vous appartient et nous vous invitons à en discuter avec votre médecin et vos proches.

□ Contexte de l'étude

Le cytomégalovirus (CMV) est un virus très répandu, responsable d'infections de la petite enfance, le plus souvent sans conséquences cliniques. Ce virus persiste dans l'organisme de façon silencieuse pendant toute la vie après la première rencontre. Les anticorps acquis lors de la première infection protègent l'organisme contre les manifestations cliniques de la maladie. Les personnes infectées, surtout les enfants, éliminent le virus dans leurs urines ou dans leur salive, permettant ainsi la diffusion du virus dans la population.

Dans certains cas, cependant, ce virus peut être responsable d'infections graves : lorsque l'infection survient chez une personne immunodéprimée, comme après une transplantation par exemple, ou au cours du sida, le virus peut atteindre des organes vitaux. De même lorsque l'infection survient chez une femme enceinte n'ayant jamais rencontré le CMV et n'ayant donc pas de protection, celle-ci peut le transmettre à son fœtus dans un cas sur trois. Les enfants infectés ne sont pas tous malades, mais le CMV peut être responsable de surdité ou de retard psychomoteur chez 5 à 10% d'entre eux.

Des vaccins sont en cours de développement, et devrait voir le jour d'ici quelques années. En conséquence il est nécessaire de définir le taux de portage du virus dans les populations cibles et d'identifier la variété des souches circulantes.

□ Objectif de l'étude

Evaluer la faisabilité d'une étude permettant de mesurer le taux de portage (prévalence) du CMV et des anticorps spécifiques anti-CMV (Séroprévalence) chez les enfants fréquentant les crèches en France.

Avant de lancer cette étude au niveau national il est nécessaire d'en apprécier la faisabilité technique.

Nous vous demandons donc de bien vouloir accepter la participation de votre enfant afin que dans un futur proche nous puissions lancer une grande étude permettant de faire reculer cette maladie.

Déroulement de l'étude

Le prélèvement est simple et indolore. Il s'agit de recueillir la salive de votre enfant sur de petites éponges. Ce prélèvement dure au maximum 5 minutes.

De plus, nous vous demandons de bien vouloir remplir un questionnaire.

Risques encourus

Les risques encourus sont les risques inhérents à ce type de prélèvement. Ils sont très faibles.

Les éponges sont attachées à des tiges à la manière d'un coton-tige afin d'éviter que votre enfant ne l'avale.

Bénéfices attendus

Aucun bénéfice direct pour votre enfant. Nous attendons un bénéfice globale en terme de santé publique.

Informations complémentaires

Vous avez le droit de refuser que votre enfant participe à cette recherche sans avoir à vous justifier et le droit de retirer votre consentement à tout moment.

L'équipe soignante sera à votre disposition pour répondre à toutes vos questions avant, pendant et après l'étude.

Enfin sachez que, en acceptant ou en refusant de participer à cette étude, la prise en charge de votre enfant pour la suite de son séjour sera identique à n'importe quel autre enfant.

De plus nous vous garantissons que toute information nouvelle survenant pendant sa participation qui pourrait éventuellement modifier votre décision de participation vous sera donnée.

Aspects légaux

Toutes les données collectées au cours de cette étude feront l'objet d'un traitement informatisé.

Ces données demeureront strictement confidentielles, conformément à la loi " Informatique et Liberté ". Si des résultats de cette étude devaient être présentés dans des communications et / ou des publications scientifiques ou médicales, l'identité des participants n'apparaîtrait d'aucune façon. Vous bénéficiez, en outre, d'un droit d'accès et de rectification aux données vous concernant (article 40) ; celui-ci s'exerçant à tout moment auprès du médecin de votre choix. Vous pouvez demander à être informé des résultats globaux de l'étude.

Conformément à la loi (Code de la Santé Publique, Livre premier, Titre II, Recherches Biomédicales), une assurance a été souscrite, garantissant la responsabilité civile du CHU de LIMOGES.

Ce projet a été soumis au Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outremer IV qui a émis un avis favorable en date du

Conformément à la Loi du 4 mars 2002, le promoteur et l'investigateur communiqueront sur demande aux participants les résultats de la recherche.

ANNEXE III- QUESTIONNAIRE : Protocole FCrechMV (avant rectification)

Titre de l'étude : Étude de faisabilité de la recherche en institution du Cytomégalo virus humain dans la salive des enfants de 3 mois à 6 ans.

Date de remplissage	_ _	_ _
_ _ _ _		
Nom: (Mettre les 3 premières lettres)	_ _	
Prénom : (Mettre les 2 premières lettres)	_ _	
Date de naissance	_ _	_ _
_ _ _ _		
(A remplir par l'Infirmière)		

Etiquette Laboratoire

Vos professions :

Mère :

- Agriculteur exploitant
- Artisan, commerçant et chef d'entreprise
- Cadre et profession intellectuelle
- Profession intermédiaire
- Employé
- Ouvrier
- Etudiant
- Sans Emploi
- Retraité
- Inactif

Père :

- Agriculteur exploitant
- Artisan, commerçant et chef d'entreprise
- Cadre et profession intellectuelle
- Profession intermédiaire
- Employé
- Ouvrier
- Etudiant
- Sans Emploi
- Retraité
- Inactif

Est-ce que votre enfant souffre d'une maladie chronique : Oui Non

Si oui laquelle : _____

Allergies:

Aux médicaments _____

Aliments _____

Autres _____

Est ce que votre enfant suit un traitement ? Oui Non

Lequel : _____

Les souches du CMV diffèrent suivant les pays ainsi nous souhaiterions savoir :

Le lieu de naissance de l'enfant : Pays _____ Région _____

Si l'enfant a déménagé en changeant de région depuis sa naissance, merci d'indiquer les lieux de résidence successifs de l'enfant :

Pays _____ Région _____

Pays _____ Région _____

Est ce que votre enfant a été ou est nourri au sein ? Oui Non

Si oui depuis ou pendant combien de mois : _____

Est ce que votre enfant est actuellement nourri au biberon ? Oui Non

A son domicile : Oui Non A la crèche : Oui Non

Est ce que votre enfant a un "doudou" ? Oui Non

Suce t-il son pouce ? Oui Non

Se lèche t'il les lèvres ? _____

Se ronge t-il les ongles ? _____

Est ce que votre enfant se lave les dents ? Oui Non

Combien de fois par jour ? _____

Se lave t'il les dents à la crèche ? : Oui Non

Où est ce que les brosses à dents sont gardées ? A la maison A la crèche

Est ce que le verre pour se rincer les dents est utilisé :

Que par votre enfant : Oui Non

Plusieurs enfants : Oui Non

Ne sait pas

Date d'entrée de votre enfant dans la crèche : ____ / ____ / 20__

Combien d'heures votre enfant reste t'il à la crèche par semaine ?

Est ce la première crèche de votre enfant ? Oui Non

Si non combien de crèches avant celle ci ? ____

Pendant combien de mois en tout ? ____

Combien de grossesses menées à terme a eu la mère de l'enfant ?

Est ce que votre enfant vit avec d'autres enfants ? Oui Non

Si oui combien ? _____ dont ____ dont l'âge est inférieur à 3 ans.

Quelle est la place de votre enfant dans la fratrie ou parmi les enfants vivant à votre foyer ? (1(aîné), 2, 3, etc.)? _____

Si la réponse est différente, quelle est la place de votre enfant parmi les enfants de la même mère ? (1(aîné), 2, 3, etc.)? _____

ANNEXE IV- QUESTIONNAIRE : Protocole FCrechMV (après rectification)

Titre de l'étude : Étude de faisabilité de la recherche en institution du Cytomégalo virus humain dans la salive des enfants de 3 mois à 6 ans.

Date de remplissage	_ _	_ _
_ _ _ _		
Nom: (Mettre les 3 premières lettres)	_ _	_ _
Prénom : (Mettre les 2 premières lettres)	_ _	_ _
Date de naissance	_ _	_ _
_ _ _ _		

(A remplir par l'Infirmière)

Etiquette Laboratoire

Vos professions :

Mère :

- Agriculteur exploitant
- Artisan, commerçant et chef d'entreprise
- Cadre et profession intellectuelle
- Profession intermédiaire
- Employé
- Ouvrier
- Etudiant
- Sans Emploi
- Retraité
- Inactif

Père :

- Agriculteur exploitant
- Artisan, commerçant et chef d'entreprise
- Cadre et profession intellectuelle
- Profession intermédiaire
- Employé
- Ouvrier
- Etudiant
- Sans emploi
- Retraité
- Inactif

Est-ce que votre enfant souffre d'une maladie chronique Oui Non

Si oui laquelle : _____

Allergies: Oui Non

Aux médicaments _____

Aliments _____

Autres (dont végétaux) _____

Est ce que votre enfant suit un traitement ? Oui Non

Lequel : _____

Est-ce que votre enfant a présenté un ou plusieurs des symptômes suivants durant ces 7 derniers jours :

- | | | | | | |
|--------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Fièvre : | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | Diarrhée : | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Fatigue : | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | Nez qui coule : | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Manque d'appétit : | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | Vomissements : | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
| Eruption cutanée : | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> non | Douleurs abdominales : | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non |
- Autre :

Les souches du Cytomégalo virus diffèrent suivant les pays ainsi nous souhaiterions savoir :

Le lieu de naissance de votre enfant : Pays _____ Région _____

Votre enfant a-t-il vécu dans différentes régions? Oui Non

Si oui, merci d'indiquer ses lieux de résidence successifs :

Pays _____ Région _____

Pays _____ Région _____

Est ce que votre enfant a été ou est nourri au sein ? Oui Non

Si oui, depuis ou pendant combien de mois : _____

Est ce que votre enfant est nourri au biberon ?

A son domicile : Oui Non

En collectivité : Oui Non

Chez une assistante maternelle ou autre personne gardant l'enfant : Oui Non

Est ce que votre enfant a un "doudou" ? Oui Non

Suce t-il son pouce ? Oui Non

A-t-il une sucette ? Oui Non

Se lèche t'il les lèvres ? Oui Non

Se ronge t-il les ongles ? Oui Non

Est ce que votre enfant se lave les dents ? Oui Non

Si oui, combien de fois par jour ? _____

Se lave t'il les dents ailleurs qu'à son domicile ? Oui Non

Les brosses à dents sont gardées (plusieurs réponses possibles) A la maison Ailleurs

Est ce que le verre pour se rincer les dents est utilisé :

Que par votre enfant Oui Non

Plusieurs personnes Oui Non

Il n'y a pas de verre : oui

Quel est le lieu de garde de votre enfant (hors école) ? :

Domicile ou famille Halte garderie

Assistante maternelle Crèche

Si votre enfant est gardé en crèche ou halte garderie :

Date d'entrée de votre enfant : ___ / ___ / 20__

Combien d'heures, votre enfant reste t'il à la crèche par semaine ? _____ Heures

Est ce la première crèche de votre enfant ? Oui Non

Si non combien de crèches avant celle ci ? _____

Quand (date) a-t-il intégré sa première crèche ou halte garderie ? _____

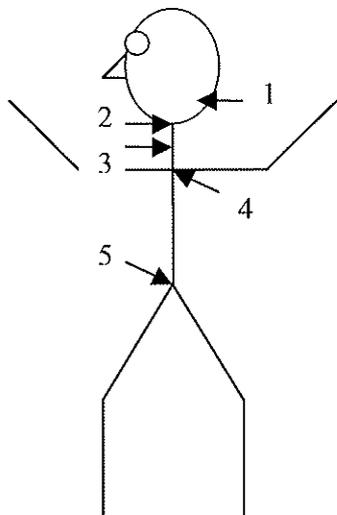
Combien d'accouchements avez-vous eu ? _____

Prénom et âge de vos enfants : _____ **prénom et âge d'autres enfants vivants au domicile**

.....
.....
.....
.....

ANNEXE V : (feuille à remplir en crèche pour l'examen clinique de l'enfant)
Examen clinique

Fièvre	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> NR	
Asthénie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> NR	
Anorexie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> NR	
Diarrhée	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> NR	
Vomissement	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> NR	
Eruption cutanée	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> NR	si oui précisez :
...				
Rhinorrhée	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> NR	
Adénopathies	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> NR	si oui :



Zone 1 : Présence Absence Non Fait

Taille <1cm >1cm

Inflammatoire Oui Non

Zone 2 : Présence Absence Non Fait

Taille <1cm >1cm

Inflammatoire Oui Non

Zone 3 : Présence Absence Non Fait

Taille <1cm >1cm

Inflammatoire Oui Non

Zone 4 : Présence Absence Non Fait

Taille <1cm >1cm

Inflammatoire Oui Non

Zone 5 : Présence Absence Non Fait

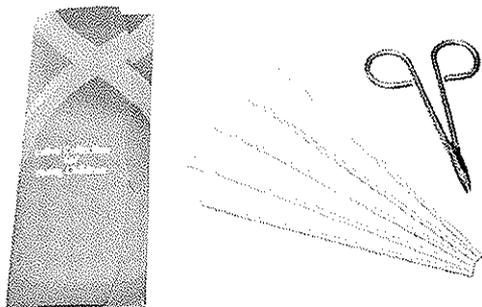
Taille <1cm >1cm

Inflammatoire Oui Non

Commentaires :

ANNEXE VI- TECHNIQUES DE LABORATOIRE

Description du kit de Prélèvement ORAGENE :



Using Saliva Sponges to Collect DNA Samples from Infants & Young Children

When using sponges to collect DNA please use the following instructions and disregard the instructions in the container packaging.

Introduction

Saliva can be collected from most adult donors and children by following the user instructions for spitting into the Oragene™ DNA Self-Collection Kit. However, infants and young children are unable to spit the required 1-2 mL of saliva. DNA Genotek has developed a collection procedure for infants and young children that uses saliva

sponges and the Oragene DNA Self Collection kit to collect a sample. DNA yield is proportional to saliva volume. The saliva sponges included in the kit are ideal for collecting the relatively large amount of saliva present in the cheek pouches of young children. More DNA can be collected by taking several saliva sponge samples from each child over a period of time.

Preparing for Saliva Collection

- Caution should always be used when inserting anything into a child's mouth. Do not leave the child unattended when using the sponges. We recommend that you only use the sponges provided and that you do not substitute with other sponges or swabs.
- Although not required, the child may drink water or brush teeth with water before the collection. After rinsing or brushing, wait 10 minutes before collecting a saliva sample. If the child is nursing, wait 15-20 min after feeding before collecting a saliva sample.
- Some children find that the saliva sponge tickles their gums. Depending on the age of the child, it may be helpful to explain ahead of time that the collection will be a fun experience that will not take long and that the sponge may tickle.
- Try not to rub directly on the child's teeth to minimize the amount of bacteria transferred to the sponge.
- If a donor can provide some saliva, but not the full amount, through spitting, it is perfectly acceptable to combine saliva from spitting together with saliva sponges in the same Oragene kit.
- If the donor is unable to provide sufficient saliva within the recommended 10-15 min, the following procedure can be tried. Securely cap the Oragene vial after 15 min – this will release the Oragene fluid. Mix the contents of the vial gently by inversion 5 times. When a second collection is to be attempted (this can be days later if convenient), place the vial on a flat surface and carefully open the vial, taking care to avoid spilling any of the liquid. Place the cap on a flat surface with the inside facing upwards. Proceed with further collection of saliva using the remaining sponges. Extra care should be taken when cutting of f the sponge from the handle to avoid spillage. A maximum of 5 sponges should be used per Oragene vial.

Collecting Saliva

1. Place the saliva sponge into the child's mouth in the *cheek pouch* (the space between the gums and the inner cheek). Gently move the saliva sponge around the upper and lower cheek pouches on both sides of the mouth to soak up as much saliva as possible. There is no need to 'scrape' the inner cheek with saliva sponges – simply collect as much saliva as possible from the cheek pouches. The sponge will absorb more saliva if it is left in the child's mouth for a longer time (up to 60 seconds).
2. Once collected, cut the sponge into the blue base of the Oragene kit as follows. Place the sponge firmly against the bottom of the kit between the tooth and the kit wall (see picture below). This action will ensure that the sponge tip remains in the container during the cutting action. Using the scissors provided, cut the narrow part of the handle just above the sponge. Recycle/discard the plastic handle. If only one saliva sponge sample is to be collected, proceed to step 4.
3. For the collection of up to 5 saliva sponge samples from the same child, repeat steps 1 and 2. Follow the sequence shown in the diagram below. A rest period of about 5 min between each collection of 2 sponges is helpful. To prevent the saliva samples from drying out, cap the vial (see step 4) within 15 min of the first collection. If you have not had a chance to collect all 5 sponges within 15 minutes, you may carefully reopen

the kit. If you remove the cap be sure that the inside is facing upwards when putting it on any surface. Do not spill the contents. Follow these steps for collecting multiple sponges:

4. Carefully cap the kit and tighten it firmly. Once the Oragene liquid is released from the cap, it will preserve the DNA collected by the sponge(s).
5. Invert gently 5 times to mix the sample.
6. If the scissors are to be re-used, they should be rinsed with tap water and wiped dry between donors.

Stabilité ADN avec Kit de prélèvement ORAGENE :

Storage of specimens by refrigeration or freezing can add significant costs to a project. Oragene eliminates these costs by allowing saliva specimens to be stored for years at room temperature without DNA degradation.

Introduction

Large population-based studies, involving hundreds to thousands of subjects, are frequently used to investigate the genetic determinants of complex diseases. Saliva is a convenient source of genomic DNA because it can be collected in a painless and non-invasive manner. For logistic reasons, samples often need to be stored prior to the extraction of DNA. Common storage methods, such as refrigeration and freezing, can add significant costs and inconvenience to a genetic study. In addition, these methods may be of limited effectiveness. For example, Ng et al. (2004) observed as much as a 30% decrease in PCR product yield from saliva samples that had been stored at -70°C for 1 month.

An ideal protocol would allow saliva samples to be stored at room temperature for long periods of time with no DNA degradation. Oragene is a kit that collects and preserves DNA from saliva. This technical bulletin reports the ability of Oragene to stabilize and preserve DNA in saliva at temperatures up to 50°C.

Materials and Methods

Oragene/saliva samples were collected and stored at room temperature (24°C), 37°C, and 50°C for up to 187 days. At various time intervals, aliquots were removed and processed by the standard Oragene protocol. 200 ng of DNA from each sample was analyzed by agarose gel electrophoresis with ethidium bromide staining. The molecular weight of the extracted DNA was determined by comparison with a Lambda-Hind III digest ladder. DNA yield was determined by the highly specific *Fluorescence/DNase* method (ref. 2, 3). The F/D method quantitates DNA using SYBR Green I™ dye (Molecular Probes, Inc.) and DNase treatment.

Results

DNA from Oragene/saliva samples stored at 24°C and 37°C had a molecular weight > 23,000 bp and showed no evidence of degradation at various time points (Figure 1). Samples stored at 50°C showed minimal degradation at 187 days. There was no change in the yield of DNA at 24°C, 37°C and 50°C as determined by the F/D method.

Discussion and Conclusions

The rate of a typical chemical reaction decreases by half for every 10°C decrease in temperature. Thus, it is expected that the degradation rate at 24°C should be 5-fold less than the degradation rate at 50°C. Since Oragene saliva samples remain stable for 187 days at 50°C, they are expected to remain stable for 5 times as long at 24°C (935 days or 30 months). After 187 days at 50°C, most of the DNA extracted from Oragene / saliva samples had a molecular weight > 23,000 bp. Since PCR is effective with DNA templates much smaller than 23,000 bp, it should take significantly longer than 30 months at room temperature for the DNA in Oragene samples to degrade to an unusable size. In summary, Oragene/saliva samples are expected to be stable at room temperature for many years.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 Aalto, S. M., K. Linnavuori, H. Peltola, E. Vuori, B. Weissbrich, J. Schubert, L. Hedman and K. Hedman (1998). "*Immunoreactivation of Epstein-Barr virus due to cytomegalovirus primary infection.*" J Med Virol **56**(3): 186-191.
- 2 Adler, S. P., J. W. Finney, A. M. Manganello and A. M. Best (2004). "*Prevention of child-to-mother transmission of cytomegalovirus among pregnant women.*" J pediatr **145**(4): 485-491.
- 3 Adler, S. P., G. Nigro and L. Pereira (2007). "*Recent advances in the prevention and treatment of congenital cytomegalovirus infections.*" Semin Perinatol **31**(1): 10-18.
- 4 Balcarek, K. B., W. Warren, R. J. Smith, M. D. Lyon and R. F. Pass (1993). "*Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection by detection of virus in saliva.*" J Infect Dis **167**(6): 1433-1436.
- 5 Chou, S. W. and K. M. Dennison (1991). "*Analysis of interstrain variation in cytomegalovirus glycoprotein B sequences encoding neutralization-related epitopes.*" J Infect Dis **163**(6): 1229-1234.
- 6 Croly-Labourdette, S., S. Vallet, A. Gagneur, G. Gremmo-Feger, M. C. Legrand-Quillien, H. Ansquer, L. Jacquemot, V. Narbonne, J. Lintanf, N. Collet and J. Sizun (2006). "*[Pilot epidemiologic study of transmission of cytomegalovirus from mother to preterm infant by breastfeeding].*" Arch Pediatr **13**(7): 1015-1021.
- 7 de Jong, M. D., G. J. Galasso, B. Gazzard, P. D. Griffiths, D. A. Jabs, E. R. Kern and S. A. Spector (1998). "*Summary of the II International Symposium on Cytomegalovirus.*" Antiviral Res **39**(3): 141-162.
- 8 Demmler, G. J., G. J. Buffone, C. M. Schimbor and R. A. May (1988). "*Detection of cytomegalovirus in urine from newborns by using polymerase chain reaction DNA amplification.*" J Infect Dis **158**(6): 1177-1184.
- 9 Gandhi, M. K. and R. Khanna (2004). "*Human cytomegalovirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging treatments.*" Lancet Infect Dis **4**(12): 725-738.
- 10 Gargouri, J., H. Elleuch, H. Karray, H. Rekik and A. Hammami (2000). "*[Prevalence of anti-CMV antibodies in blood donors in the Sfax region (value in blood transfusion)].*" Tunis Med **78**(8-9): 512-517.
- 11 Gouarin, S., P. Palmer, D. Cointe, S. Rogez, A. Vabret, F. Rozenberg, F. Denis, F. Freymuth, P. Lebon and L. Grangeot-Keros (2001). "*Congenital HCMV infection: a collaborative and comparative study of virus detection in amniotic fluid by culture and by PCR.*" J Clin Virol **21**(1): 47-55.
- 12 Gratacap-Cavallier, B., J. L. Bosson, P. Morand, N. Dutertre, B. Chanzy, P. S. Jouk, C. Vandekerckhove, P. Cart-Lamy and J. M. Seigneurin (1998). "*Cytomegalovirus seroprevalence in French pregnant women: parity and place of birth as major predictive factors.*" Eur J epidemiol **14**(2): 147-152.

- 13 Griffiths, P. D., A. McLean and V. C. Emery (2001). "Encouraging prospects for immunisation against primary cytomegalovirus infection." *Vaccine* **19**(11-12): 1356-1362.
- 14 Hamprecht, K., J. Maschmann, M. Vochem, K. Dietz, C. P. Speer and G. Jahn (2001). "Epidemiology of transmission of cytomegalovirus from mother to preterm infant by breastfeeding." *Lancet* **357**(9255): 513-518.
- 15 Hays, S. (2007). "[Cytomegalovirus, breast feeding and prematurity]." *Arch Pediatr* **14 Suppl 1**: S2-4.
- 16 Just-Nubling, G., S. Korn, B. Ludwig, C. Stephan, H. W. Doerr and W. Preiser (2003). "Primary cytomegalovirus infection in an outpatient setting--laboratory markers and clinical aspects." *Infection* **31**(5): 318-323.
- 17 Kashiwagi, Y., S. Nemoto, Hisashi, Kawashima, K. Takekuma, T. Matsuno, A. Hoshika and J. Nozaki-Renard (2001). "Cytomegalovirus DNA among children attending two day-care centers in Tokyo." *Pediatr Int* **43**(5): 493-495.
- 18 Kenneson, A. and M. J. Cannon (2007). "Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection." *Rev Med virol* **17**(4): 253-276.
- 19 Kimberlin, D. W., E. P. Acosta, P. J. Sanchez, S. Sood, V. Agrawal, J. Homans, R. F. Jacobs, D. Lang, J. R. Romero, J. Griffin, G. A. Cloud, F. D. Lakeman and R. J. Whitley (2008). "Pharmacokinetic and pharmacodynamic assessment of oral valganciclovir in the treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus disease." *J Infect Dis* **197**(6): 836-845.
- 20 Kimberlin, D. W., C. Y. Lin, P. J. Sanchez, G. J. Demmler, W. Dankner, M. Shelton, R. F. Jacobs, W. Vaudry, R. F. Pass, J. M. Kiell, S. J. Soong and R. J. Whitley (2003). "Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system: a randomized, controlled trial." *J pediatr* **143**(1): 16-25.
- 21 Kothari, A., V. G. Ramachandran, P. Gupta, B. Singh and V. Talwar (2002). "Seroprevalence of cytomegalovirus among voluntary blood donors in Delhi, India." *J Health Popul Nutr* **20**(4): 348-351.
- 22 Lasry, S., P. Deny, C. Asselot, M. Rauzy, J. Boucher, C. Guyot, M. C. Leroux, A. Livartowski, P. Reinert and J. C. Nicolas (1996). "Interstrain variations in the cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B gene sequence among CMV-infected children attending six day care centers." *J Infect Dis* **174**(3): 606-609.
- 23 Manfredi, R., L. Calza and F. Chiodo (2006). "Primary cytomegalovirus infection in otherwise healthy adults with Fever of unknown origin: a 3-year prospective survey." *Infection* **34**(2): 87-90.
- 24 Mazon, M.-C., S. Alain, M. Leruez-Ville and N. Schnepf (2008). *Infections à cytomégalovirus. encyclopédie médico chirurgicale*. Elsevier. Paris, Elsevier. **In press**.

- 25 Mengelle, C., K. Sandres-Saune, C. Pasquier, L. Rostaing, J. M. Mansuy, M. Marty, I. Da Silva, M. Attal, P. Massip and J. Izopet (2003). "Automated extraction and quantification of human cytomegalovirus DNA in whole blood by real-time PCR assay." J Clin Microbiol **41**(8): 3840-3845.
- 26 Murph, J. R., J. F. Bale, Jr., J. C. Murray, M. F. Stinski and S. Perlman (1986). "Cytomegalovirus transmission in a Midwest day care center: possible relationship to child care practices." J pediatr **109**(1): 35-39.
- 27 Nigro, G., S. P. Adler, R. La Torre and A. M. Best (2005). "Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection." N Engl J Med **353**(13): 1350-1362.
- 28 Noyola, D. E., B. H. Valdez-Lopez, A. E. Hernandez-Salinas, M. A. Santos-Diaz, M. A. Noyola-Frias, J. F. Reyes-Macias and L. G. Martinez-Martinez (2005). "Cytomegalovirus excretion in children attending day-care centers." Arch Med Res **36**(5): 590-593.
- 29 Orlikowski, D., S. Quijano-Roy, V. Sivadon-Tardy, J. C. Raphael and J. L. Gaillard (2006). "[*Campylobacter jejuni* and cytomegalovirus (CMV) infections in patients with the Guillain-Barre syndrome]." Arch Pediatr **13**(12): 1561-1565.
- 30 Pass, R. F. (2006). *CMV. Fields virology*. D. M. Knipe, P. M. Howley, D. E. Griffin, R. A. Lamb and M. A. Martin, Lippincott Williams & Wilkins. 5ème édition: 2675-2705.
- 31 Pass, R. F., C. Hutto, R. Ricks and G. A. Cloud (1986). "Increased rate of cytomegalovirus infection among parents of children attending day-care centers." N Engl J Med **314**(22): 1414-1418.
- 32 Perol (1982). "Les infections à CMV." EMC **8052 C10**: 1-15.
- 33 Salamon, R., C. Moty and V. Leroy (2004). *Évaluation de l'intérêt du dépistage de l'infection à Cytomégalovirus chez la femme enceinte en France*. Paris, ANAES.
- 34 Schleiss, M. R. (2006). "Why do we not have a vaccine against congenital cytomegalovirus (CMV) infection?" Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies **3**(2): 7.
- 35 Shibata, Y., N. Kitajima, J. Kawada, N. Sugaya, K. Nishikawa, T. Morishima and H. Kimura (2005). "Association of cytomegalovirus with infantile hepatitis." Microbiol Immunol **49**(8): 771-777.
- 36 Sissons (2002). "Clinical aspects and management of cytomegalovirus infection." Journal of infection **44**: 78-83.
- 37 Sissons, J. G. and A. J. Carmichael (2002). "Clinical aspects and management of cytomegalovirus infection." J Infect **44**(2): 78-83.
- 38 Stagno (1994). "Working parents : The impact of day care and breast-feeding on cytomegalovirus infections in offspring " Proc Natl Acad Sci **91**: 2384-2389.

- 39 Stagno, S. and G. A. Cloud (1994). "*Working parents: the impact of day care and breast-feeding on cytomegalovirus infections in offspring.*" Proc Natl Acad Sci U S A **91**(7): 2384-2389.
- 40 Stagno, S., R. F. Pass, G. Cloud, W. J. Britt, R. E. Henderson, P. D. Walton, D. A. Veren, F. Page and C. A. Alford (1986). "*Primary cytomegalovirus infection in pregnancy. Incidence, transmission to fetus, and clinical outcome.*" JAMA **256**(14): 1904-1908.
- 41 Vollmer, B., K. Seibold-Weiger, C. Schmitz-Salue, K. Hamprecht, R. Goelz, I. Krageloh-Mann and C. P. Speer (2004). "*Postnatally acquired cytomegalovirus infection via breast milk: effects on hearing and development in preterm infants.*" Pediatr Infect Dis J **23**(4): 322-327.
- 42 Wang, J. B. and S. P. Adler (1996). "*Salivary antibodies to cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B accurately predict CMV infections among preschool children.*" J Clin Microbiol **34**(10): 2632-2634.
- 43 Whitley, R. J., G. Cloud, W. Gruber, G. A. Storch, G. J. Demmler, R. F. Jacobs, W. Dankner, S. A. Spector, S. Starr, R. F. Pass, S. Stagno, W. J. Britt, C. Alford, Jr., S. Soong, X. J. Zhou, L. Sherrill, J. M. FitzGerald and J. P. Sommadossi (1997). "*Ganciclovir treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection: results of a phase II study. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group.*" J Infect Dis **175**(5): 1080-1086.
- 44 Yamamoto, A. Y., M. M. Mussi-Pinhata, L. J. Marin, R. M. Brito, P. F. Oliveira and T. B. Coelho (2006). "*Is saliva as reliable as urine for detection of cytomegalovirus DNA for neonatal screening of congenital CMV infection?*" J Clin Virol **36**(3): 228-230.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puisse-je avoir un sort contraire.

BON A IMPRIMER N° 3133

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

RESUME :

But de l'étude : L'infection à CMV est la première cause d'infection virale congénitale en France avec un risque de séquelles neurologiques et sensorielles majeur. Faute de traitement efficace, un vaccin est en cours de développement. L'élaboration d'une stratégie vaccinale nécessite de connaître la prévalence du CMV en France chez les enfants (réservoirs du virus), les souches circulantes, et les facteurs favorisant l'infection. Avant de lancer une étude nationale de prévalence en crèche, nous avons réalisé une étude de faisabilité aux urgences du CHU de Limoges et sur 6 crèches.

Protocole : Remplissage d'un questionnaire et réalisation de prélèvements salivaires chez 625 enfants de 3 mois à 6 ans à la recherche d'une excrétion virale.

Critère principal : Etude de la faisabilité du prélèvement, de son transport et analyse.

Critères secondaires : Evaluation de la prévalence des CMV, des facteurs de risques de contamination et des manifestations cliniques en cas d'excrétion virale active.

Résultats : L'acceptabilité du questionnaire et du prélèvement était excellente (80%) ainsi que le transport et l'analyse des prélèvements (100%).

La prévalence de l'excrétion du CMV était de 21,7% aux urgences et 51,9% en crèche. Un lien entre primo infection et forte excrétion virale était évoqué devant l'existence d'une population de fort et faible excréteur. La fièvre et une rhinorrhée étaient corrélées à une forte excrétion virale.

L'âge, la vie en collectivité, l'allaitement maternel et le nombre d'enfants en bas âge au domicile influençaient le risque d'excrétion virale.

Conclusion : L'étude nationale est réalisable. Une vaccination des enfants en bas âge associée à une vaccination des adolescentes séronégatives, en l'attente de l'obtention d'une couverture vaccinale suffisante, est à débattre.

Human CMV excretion in three months to six years old non immunocompromised children: clinical epidemiology

Aim of the study: Congenital CMV infection is a major cause of neurological and sensory disabilities in newborns. Due to the lack of effective treatment, CMV vaccines are in development. French CMV prevalence, circulating viral strains and risk factors have to be specified in order to elaborate a vaccination program. Before proceeding a national prevalence study in day-care centers, our study evaluates the feasibility of salivary swabs in children in the emergency department of the university hospital of Limoges and in 6 day-care centres.

Protocole: Answering a questionnaire and realisation of salivary swabs in 625 3 months to 6 years old children to study salivary CMV excretion.

Primary end point: study of the salivary swabs feasibility, transport and analysis.

Secondary end point: evaluation of CMV prevalence, risk factors and clinical signs

Results: the questionnaire and swab were well accepted (80%). The transport and analysis of the swab were successful. CMV prevalence was 21,7% in the emergency ward and 51,9% in day-care centres. Two populations of children were found, one with a high CMV excretion level and another one with a low level of excretion. A correlation between a high excretion level and primary infection is suspected.

Fever and rhinorrhea were correlated with a high viral excretion level. Young age, day-care centers, breastfeeding and number of infants living at home seems to be CMV risk factors.

Conclusion: The feasibility of the salivary swabs seems to be reliable. Our results point out two kinds of population that could help in define the indication of a CMV vaccination program.

DISCIPLINE : Médecine

MOTS CLES : Cytomégalovirus, CMV, Clinique, Enfants, Epidémiologie, facteurs de risque, Immunocompétents, Quantification

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR :

Laboratoire de Bactériologie Virologie Hygiène
CHU Limoges
2 avenue Martin Luther King
87042 Limoges