

Faculté de Pharmacie

Année 2024

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

Le 23 octobre 2024

Par **Thibaut Lutz**

Évaluation de l'immunoblot *recomLine* CMV® dans le cadre du diagnostic sérologique de l'infection à cytomégalovirus

Thèse dirigée par le Professeur Sébastien Hantz

Examineurs :

Mme. Sylvie Rogez, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Service de Bactériologie, Virologie et Hygiène, CHU de Limoges

Mme. Sophie Alain, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Service de Bactériologie, Virologie et Hygiène, CHU de Limoges

Mme. Marine Dupont, Praticien Hospitalier, Service de Bactériologie, Virologie et Hygiène, CHU de Limoges

Mme. Alexia Damour, Maître de Conférence des Universités, Faculté de Pharmacie de Limoges, INSERM UMR1092

M. Sébastien Hantz, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Service de Bactériologie, Virologie et Hygiène, CHU de Limoges



Faculté de Pharmacie

Année 2024

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

Le 23 octobre 2024

Par Thibaut Lutz

Évaluation de l'immunoblot *recomLine* CMV® dans le cadre du diagnostic sérologique de l'infection à cytomégalovirus

Thèse dirigée par le Professeur Sébastien Hantz

Examineurs :

Mme. Sylvie Rogez, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Service de Bactériologie, Virologie et Hygiène, CHU de Limoges

Mme. Sophie Alain, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Service de Bactériologie, Virologie et Hygiène, CHU de Limoges

Mme. Marine Dupont, Praticien Hospitalier, Service de Bactériologie, Virologie et Hygiène, CHU de Limoges

Mme. Alexia Damour, Maître de Conférence des Universités, Faculté de Pharmacie de Limoges, INSERM UMR1092

M. Sébastien Hantz, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Service de Bactériologie, Virologie et Hygiène, CHU de Limoges



Personnel enseignant de la Faculté de Pharmacie de Limoges

Le 1^{er} janvier 2024

Doyen de la Faculté

Monsieur le Professeur COURTIOUX Bertrand

Vice-doyen de la Faculté

Monsieur LÉGER David, Maître de conférences

Assesseurs de la Faculté

Monsieur le Professeur BATTU Serge, Assesseur pour la Formation Continue

Monsieur le Professeur PICARD Nicolas, Assesseur pour l'Innovation Pédagogique

Professeurs des Universités – Hospitalo-Universitaires

M. BARRAUD Olivier	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. PICARD Nicolas	Pharmacologie
Mme ROGEZ Sylvie	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. SAINT-MARCOUX Franck	Toxicologie

Professeurs des Universités – Universitaires

M. BATTU Serge	Chimie analytique et bromatologie
M. COURTIOUX Bertrand	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. DESMOULIÈRE Alexis	Physiologie
M. DUROUX Jean-Luc	Biophysique et mathématiques
Mme FAGNÈRE Catherine	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
M. LIAGRE Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
Mme MAMBU Lengo	Pharmacognosie

Mme POUGET Christelle Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

M. TROUILLAS Patrick Biophysique et mathématiques

Mme VIANA Marylène Pharmacie galénique

Maitres de Conférences des Universités – Hospitalo-Universitaires

Mme. CHAUZEIX Jasmine Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

Mme DEMIOT Claire-Élise (*) Pharmacologie

M. JOST Jérémy Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

Maitres de Conférences des Universités – Universitaires

Mme AUDITEAU Émilie Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

Mme BEAUBRUN-GIRY Karine Pharmacie galénique

Mme BÉGAUD Gaëlle (*) Chimie analytique et bromatologie

M. BILLET Fabrice Physiologie

Mme BONAUD Amélie Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie

M. CALLISTE Claude Biophysique et mathématiques

M. CHEMIN Guillaume Biochimie et biologie moléculaire

Mme CLÉDAT Dominique Chimie analytique et bromatologie

M. COMBY Francis Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

M. FABRE Gabin Biophysique et mathématiques

M. LABROUSSE Pascal (*) Botanique et cryptogamie

Mme LAVERDET Betty Pharmacie galénique

M. LAWSON Roland Pharmacologie

M. LÉGER David (*) Biochimie et biologie moléculaire

Mme MARRE-FOURNIER Françoise Biochimie et biologie moléculaire

M. MERCIER Aurélien	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
Mme MILLOT Marion (*)	Pharmacognosie
Mme PASCAUD-MATHIEU Patricia	Pharmacie galénique
M. TOUBLET François-Xavier	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
M. VIGNOLES Philippe (*)	Biophysique et mathématiques

(*) Titulaire de l'Habilitation à Diriger des Recherches (HDR)

Professeur associé en service temporaire

M. FOUGÈRE Édouard	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
---------------------------	---

Assistant Hospitalo-Universitaire des disciplines pharmaceutiques

Mme MARCELLAUD Élodie	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
------------------------------	---

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche

M. DELMON Cédric	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
M. HAMION Guillaume	Pharmacognosie, Botanique et Mycologie
Mme SONDA Amar	Chimie analytique et bromatologie

Enseignants d'anglais

M. HEGARTY Andrew	Chargé de cours
Mme VERCELLIN Karen	Professeur certifié

Remerciements

A **Madame la Professeur Sylvie Rogez**, vous me faites l'honneur de juger et de présider ce travail de thèse. Merci de m'avoir soutenu dans mon choix de carrière de biologiste polyvalent et de m'avoir conseillé tout au long de mon internat. Veuillez recevoir l'expression de tout mon respect et de ma profonde reconnaissance.

A **Madame la Professeur Sophie Alain**, je vous remercie de faire partie de ce jury de thèse ainsi que des connaissances de virologie que vous m'avez transmises. J'espère que ce travail pourra vous servir dans vos pratiques futures. Recevez mes sincères remerciements.

A **Madame la Docteur Marine Dupont**, je vous remercie de faire partie de ce jury de thèse ainsi pour les connaissances que vous m'avez transmises, de mes premiers gestes jusqu'à mes premières lectures au microscope. Recevez mes sincères remerciements.

A **Madame la Maître de Conférences Alexia Damour**, je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse, le premier pour vous, un honneur pour moi. Recevez mes sincères remerciements.

A **Monsieur le Professeur Sébastien HANTZ**, directeur de ce travail de thèse, je te remercie de ton encadrement, ton enseignement en virologie qui me servira tout au long de ma carrière, et du temps et la confiance que tu m'as accordé pour ce sujet de thèse.

Au service de Bactériologie, Virologie et Hygiène, en particulier à l'équipe technique de sérologie virale, Aurore, Jessica, Marion, Pauline et Zahra, pour leur gentillesse et leur accompagnement tout au long de ce travail.

Cette thèse est pour moi l'occasion de remercier également mes proches, sans qui ce travail n'aurait probablement jamais vu le jour.

A mes amis, ma team de Cannes, qui a traversée le temps au fil des années.

A Maëlys, la grande sœur que je n'ai pas eue. Merci à toi de partager le sheitan et une passion commune pour le Ricard. Merci pour tout ce que tu m'apporte, ces moments uniques passés ensembles et ton soutien indéfectible au cours de toutes ces années.

A Benjamin, de BF à BF. Merci mon ami pour toutes ces années, tous ces moments, si nombreux qu'on ne pourrait les citer. Tu es l'exemple parfait d'une amitié saine à travers le temps, qui je l'espère ne changera jamais.

A Julien, merci. J'ai été tenté de laisser ce paragraphe comme tel et ça aurait été surement la meilleure des façons de te dire merci, mais pour l'occasion je vais faire un effort. On a traversé ces années de Fac et grandis ensemble. C'est avec un grand honneur que je deviens officiellement ton confrère.

A Gabriel, oui Gabriel, ça y est c'est écrit noir sur blanc et publié, tu n'es plus toléré, tu es parmi nous. Ce bien qu'ayant réussi à presque tout casser dans ma vie : mon appart, mon poisson, le ciel de toit de ma Golf et même ma cheville, c'est par ta maladresse, ta folie et ta gentillesse que je veux te voir continuer à mes côtés.

A mes potes de PACES, qui m'ont permis de survivre à cette superbe année et découvrir qu'on peut décompenser comme il se doit.

A Hadrien, le sang de la veine, avec qui j'ai survécu aux QCM de santé publique en prenant 10 kilos, de Toulouse à Albi et même plus loin j'espère continuer de marcher avec toi.

A Alex, de Bellevue à l'amphi des maraichers, finalement on l'a fait, insouciance.

A Dine, le meilleur des dentistes, au soleil dans les îles mais toujours dans mon cœur, j'attends ton retour le pied ferme.

A mes pharmaciens, avec qui j'ai passé de belles années à Toulouse.

A Adrien, chef de la tontonade et futur ministre de la santé.

A Loïc, pour ces années de fête en ta compagnie et les rideaux que je n'aurais jamais lavé.

A Quentin, mon perchman, aux restes de Noirmoutier, à toi bro.

A Ugo, fidèle compère de pétanque et de rugby bagarreur.

A Jeanne, pour m'avoir soutenu et accompagné durant mon internat.

A mes co-internes qui m'ont accompagné tout au long de ces trois années.

A Lucie, qui mérite sa première place en citation pour m'avoir supporté durant pas moins de 3 semestres, et qui va continuer d'avoir cette chance à nouveau. Merci de savoir me dire la vérité lorsqu'il faut, et d'être là, lorsqu'il le faut aussi.

A Augustin, fidèle successeur à la présidence de l'association, co-interne exemplaire quand il n'a pas trop de travail et bientôt coloc puis co-président de Bioccitanie.

A Sarah, conseillère d'orientation et véritable coach de vie, je te remercie pour toutes ces heures dans ton bural.

A mes compères de baby-foot : à Emilien pour ses cachous et à Tom la merguez. Au Bonzini.

A mes co-internes toulousains Clément et Louis qui m'ont permis de passer le meilleur des semestres dans la ville rose.

Et à tous les autres qui ont été à mes côtés au long de ce périple. De l'hémato avec Inès et Lucas ; de la BVH avec Marwan, Alix, Marie-Sarah et Camille ; de PMA/génétiques avec Maxime (grand interne presque chef) et Benjamin ; et biochimie avec Sami et Charlotte la meilleure des covoit.

A mes colocs, sans qui Limoges n'aurait pas été pareil.

A Marco, dans les bons et moins bons moments, dans le champagne et dans le rire on a appris à se connaître.

A Guillaume qui m'a recueilli à l'internat, m'a donné un toit, et s'est posé en bord de Vienne à mes côtés.

A Natasha, pour ces bons moments passés avec toi, même si tu ne dis toujours pas bonne nuit.

A Antonin, pour ces moments passés au jardin, au bbq et en combinaison de plongée, promis tu survivras à cette purge.

A Maxime, notre fidèle breton,

A Baptiste, et ses sourires.

Et enfin, au père Pouillet sans qui ce paragraphe n'aurait jamais pu s'écrire.

A Marine, qui m'a fait confiance, m'a fait de la place dans sa vie et m'a accompagné tout au long de ce travail. De Limoges à l'Islande, de 3 mois en 3 ans, j'espère avoir la chance de continuer à tes côtés.

A ma famille, une chance rare dont j'ai pleinement conscience.

Mes grands-parents, Monique et Gaston, Josette et François, ce travail vous est dédié.

A mon frère, Martin, qui compte bien plus à mes yeux que ce que je ne peux lui laisser penser. Je suis heureux d'avoir grandi à tes côtés et fier de celui que tu es devenu.

Mes parents, Christel et Pierre, de mes premiers pas à la fin de mes études, vous n'avez cessé de m'accompagner, me soutenir et croire en moi, je vous remercie pour tout.

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Liste des abréviations

ACV : Aciclovir	HSV : Virus Herpès simplex
ADN : Acide désoxyribonucléique	IgG : Immunoglobuline de type G
ARNm : Acide ribonucléique messenger	IgM : Immunoglobuline de type M
CDV : Cidofovir	LA : Liquide amniotique
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité	LCR : Liquide céphalorachidien
CMV : Cytomégalovirus	MBV : Maribavir
CNR : Centre national de référence	MCP : Protéine de capsid majeure
CPA : Cellule présentatrice d'antigène	mCP : Protéine de capsid mineure
EBV : Epstein Barr Virus	mCP-BP : Protéine mineure de liaison à la mCP
FR : Facteur rhumatoïde	NK : <i>Natural Killer</i>
FOS : Foscarnet	pAP : Protéine d'assemblage
GAG : Glycosaminoglycanes à héparane sulfate	PCR : Réaction de polymérisation en chaîne
GCSH : Greffe de Cellules Souches Hématopoïétiques	pPR : Précurseur de la protéase
gB : Glycoprotéine B	SCP : Petite protéine de capsid
gH : Glycoprotéine H	SEN : Sensibilité
gL : Glycoprotéine L	SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquis
gM : Glycoprotéine M	SNC : Système nerveux central
gN : Glycoprotéine N	SPE : Spécificité
GCV : Ganciclovir	TNF α : <i>tumor necrosis facteur alpha</i>
HAS : Haute Autorité de Santé	UA : unité arbitraire
VIH : Virus de l'immunodéficience humain	VACV : Valaciclovir
HSV-1 : Herpès simplexe de type 1	VGCV : Valganciclovir
HSV-2 : Herpès simplexe de type 2	VPP : Valeur prédictive positive
HHV5 : Human Herpes Virus 5	VPN : Valeur prédictive négative
HHV6 : Human Herpes Virus 6	WB : Western Blot
HHV7 : Human Herpes Virus 7	

Table des matières

Introduction.....	17
I. Étude bibliographique.....	18
I.1. Cytomégalovirus humain	18
I.1.1. Taxonomie	18
I.1.2. Historique	18
I.1.3. Épidémiologie.....	18
I.1.4. Génome viral.....	19
I.1.5. Structure.....	20
I.1.5.1. Glycoprotéines d'enveloppe	20
I.1.5.1.1. gH/gL et gH/gL/UL128-131	20
I.1.5.1.2. gB et gM/gN	21
I.1.5.2. Protéines du tégument.....	22
I.1.5.3. pp65.....	22
I.1.5.4. pp150.....	23
I.1.5.5. pp71.....	23
I.1.5.6. pp28.....	23
I.1.5.7. ppUL47 et ppUL48.....	23
I.1.5.8. ppUL44 et pUL57.....	24
I.1.5.9. Protéines de capsid.....	24
I.1.5.10. Protéines matricielles.....	25
I.1.6. Cycle viral.....	25
I.1.7. Réponse immunitaire	26
I.1.7.1. Réponse immunitaire innée	26
I.1.7.2. Réponse immunitaire adaptative	27
I.1.7.3. Mécanismes d'évasion immunitaire.....	27
I.1.8. Thérapeutiques	30
I.1.8.1. Molécules antivirales	30
I.1.8.2. Immunothérapie.....	31
I.1.9. Mesures préventives	32
I.1.9.1. Prévention primaire.....	32
I.1.9.1.1. Mesures hygiéniques	32
I.1.9.1.2. Vaccination.....	32
I.1.9.2. Prévention secondaire.....	34
I.2. Infections à cytomégalovirus	34
I.2.1. Infection à cytomégalovirus de l'immunocompétent	34
I.2.2. Infection à cytomégalovirus de la femme enceinte	34
I.2.2.1. Épidémiologie	35
I.2.2.2. Physiopathologie	35
I.2.2.3. Manifestations cliniques.....	36
I.2.2.4. Traitement de l'infection congénitale à cytomégalovirus	38
I.2.3. Infection à cytomégalovirus de l'immunodéprimé	38
I.2.3.1. Physiopathologie	39
I.2.3.2. Manifestations cliniques.....	39
I.2.3.3. Traitement.....	40
I.3. Diagnostic d'une infection à cytomégalovirus	41



I.3.1. Méthodes directes.....	41
I.3.1.1. Culture cellulaire.....	41
I.3.1.2. Antigénémie.....	41
I.3.1.3. Biologie moléculaire.....	41
I.3.2. Méthodes indirectes.....	42
I.3.2.1. Dosages immunoenzymatiques des immunoglobulines.....	43
I.3.2.2. Mesure de l'avidité.....	44
I.3.2.3. Immunoblot.....	45
I.3.3. Diagnostic d'une infection congénitale à cytomégalovirus.....	46
I.3.4. Diagnostic d'une infection à cytomégalovirus de l'immunodéprimé.....	48
Objectif de l'étude.....	49
II. Matériels et méthodes.....	50
II.1. Matériel.....	50
II.1.1. Échantillons de sérum.....	50
II.1.2. Trousses sérologiques automatisées.....	50
II.1.2.1. CMV LIAISON XL® (DiaSorin).....	51
II.1.2.2. CMV ALINITY® (Abbott).....	52
II.1.2.3. VIDAS® CMV IgG (bioMérieux).....	52
II.1.3. Immunoblot <i>recomLine</i> CMV IgG et IgM ®.....	53
II.2. Protocole expérimental.....	55
II.2.1. Pré-analytique.....	55
II.2.2. Analytique.....	55
II.2.2.1. Protocole.....	55
II.2.2.2. Enregistrement des résultats.....	56
II.2.3. Post analytique.....	56
II.3. Analyse des données.....	57
III. Résultats.....	58
III.1. Évaluation des performances diagnostiques générales.....	58
III.1.1. Immunoblot IgM.....	58
III.1.2. Immunoblot IgG.....	59
III.2. Évaluation de la spécificité des immunoblots IgM en présence d'interférence.....	60
III.2.1. Primo-infection EBV.....	60
III.2.2. Primo-infection parvovirus B19.....	60
III.2.3. Présence d'un facteur rhumatoïde.....	60
III.3. Évaluation des performances diagnostiques des immunoblots IgG sur sérologies équivoques.....	62
III.4. Étude de l'évolution des profils des immunoblots au cours de séroconversions.....	65
Discussion.....	76
Conclusion.....	80
Références bibliographiques.....	81
Serment De Galien.....	94

Table des illustrations

Figure 1 : Niveaux mondiaux de séroprévalence du CMVH et incidence de l'infection congénitale à CMVH [9].....	19
Figure 2 : Schéma du cytomégalovirus humain (CMVH)	20
Figure 3 : Schéma des glycoprotéines de surface et des récepteurs d'entrée du CMVH	21
Figure 4 : Schéma des différentes protéines tégumentaires du CMVH	22
Figure 5 : Schéma de l'assemblage de la capside du CMVH, illustrant la formation des procapsides et leur maturation en capsides complètes avec l'ADN viral, ainsi que la disposition des protéines SCP, pp150, pUL77 et pUL93	25
Figure 6 : Mécanismes viraux d'évasion immunitaire et réponse immunitaire au cours d'une infection à CMVH responsables de la latence et de la réactivation du CMVH	29
Figure 7 : Taux de transmission en fonction de l'âge gestationnel suite à une primo-infection maternelle.....	36
Figure 8 : <i>Évolution de la réponse immunitaire humorale dirigée contre le CMVH en fonction du temps</i>	43
Figure 9 : Algorithme de diagnostic et de prise en charge proposé pour le CMVc.	48
Figure 10 : Schémas de la réaction immunochimique de l'immunoblot, et des positions des différents antigènes du CMVH sur la bandelette.....	54
Figure 11 : Interprétation du test immunoblot recomLine CMV MIKROGEN®.....	57
Figure 12 : Arbre décisionnel pour la datation d'une infection à CMVH chez la femme enceinte.	79

Table des tableaux

Tableau 1 : Synthèse des différentes protéines présentes sur l'immunoblot recomLine CMV MICKROGEN® et de la cinétique d'apparition des IgG spécifiques associés	54
Tableau 2 : Pourcentage de positivité vis-à-vis des différents antigènes de l'immunoblot IgM en cas de primo infection avérée au CMVH (n=8)	58
Tableau 3 : Profil des immunoblots IgM en cas de primo infection avérée au CMVH	58
Tableau 4 : Pourcentage de positivité vis-à-vis des différents antigènes de l'immunoblot IgG en cas d'infection ancienne au CMVH (n=9)	59
Tableau 5 : Profil des immunoblots IgG en cas d'infection ancienne au CMVH.	59
Tableau 6 : Pourcentage de positivité vis-à-vis des différents antigènes de l'immunoblot IgM en cas de primo infection EBV confirmée (n=4)	60
Tableau 7 : Pourcentage de positivité vis-à-vis des différents antigènes de l'immunoblot IgM en cas de primo infection parvovirus B19 confirmée(n=4)	60
Tableau 8 : Pourcentage de positivité vis-à-vis des différents antigènes de l'immunoblot IgM en présence de facteur rhumatoïde (n=2)	60
Tableau 9 : Profils des immunoblots IgM en présence d'interférence (EBV, B19 et FR)	61
Tableau 10 : Tableau de contingence pour l'évaluation des performances diagnostiques des techniques sérologiques LIAISON®, VIDAS®, ALINITY® et de l'immunoblot recomLine CMV® en cas de faible taux d'IgG (< 50 U/mL) (n=30)	62
Tableau 11 : Profil des immunoblots IgG en cas de sérologie à faible taux d'IgG issues du service de gynécologie-obstétrique, chez des patientes enceintes.	63
Tableau 12 : Profil des immunoblots IgG en cas de sérologie à faible taux d'IgG issues du service d'hématologie.	63
Tableau 13 : Profils des immunoblots IgG en cas de sérologie à faible taux d'IgG issues de services de Néphrologie	64
Tableau 14 : Profils des immunoblots de la patiente 59 lors de sa séroconversion CMVH	65
Tableau 15 : Profils des immunoblots de la patiente 60 lors de sa séroconversion CMVH	66
Tableau 16 : Profils des immunoblots de la patiente 61 lors de sa séroconversion CMVH.	67
Tableau 17 : Profils des immunoblots de la patiente 62 lors de sa séroconversion CMVH.	68
Tableau 18 : Profils des immunoblots de la patiente 63 lors de sa séroconversion CMVH.	69
Tableau 19 : Profils des immunoblots de la patiente 64 lors de sa séroconversion CMVH.	70
Tableau 20 : Profils des immunoblots de la patiente 65 lors de sa séroconversion CMVH.	71
Tableau 21 : Profils des immunoblots de la patiente 66 lors de sa suspicion de séroconversion CMVH	72
Tableau 22 : Profils des immunoblots de la patiente 67 de sa suspicion de séroconversion CMVH	73
<i>Tableau 23 : Cinétique de la réponse humorale au cours d'une primo-infection à CMVH et évolution des profils des immunoblots recomLine CMV®</i>	<i>75</i>

Introduction

Le cytomégalo­virus humain (CMVH) est un virus à ADN double brin de la famille des *Herpesviridae*, pathogène pour l'Homme. Chez l'immunocompétent il se traduit par une infection le plus souvent bénigne spontanément résolutive tandis que chez l'immunodéprimé, il est responsable d'infections graves notamment de rétinites ou de pneumopathies. Dans le cadre d'infection congénitale, il est responsable de malformations fœtales parfois sévères responsables d'avortements ou de troubles neurosensoriels irréversibles.

Le diagnostic de cette infection est principalement clinico-biologique, et s'appuie sur des méthodes de diagnostic virologiques comme la biologie moléculaire ou la sérologie.

La biologie moléculaire a supplanté au cours de ces dernières années la culture virale pour la détection du CMVH, et permet de détecter et de quantifier avec une excellente spécificité et une grande sensibilité le génome viral dans diverses matrices (sang, urine, liquide amniotique (LA)) afin d'établir un diagnostic d'infection à CMVH.

La sérologie virale repose sur la détection de la réponse immunitaire humorale de l'hôte infecté par le CMVH via le dosage des immunoglobulines de type M (IgM) et de type G (IgG) à l'aide de techniques immunoenzymatiques. En cas d'infection récente, l'avidité des IgG est mesurée en condition dénaturante et permet une datation approximative de l'infection. De nombreuses trousse­es commerciales sont actuellement disponibles sur le marché et chacune d'entre elles présente ses spécificités. Comme toute technique de dépistage, ces méthodes se doivent de présenter une sensibilité élevée vis-à-vis des différentes souches et variants du CMVH au risque de manquer de spécificité.

Le centre national de référence (CNR) des Herpès­virus du centre hospitalo-universitaire (CHU) de Limoges est fréquemment sollicité pour son activité d'expertise pour des profils sérologiques de CMVH d'interprétations délicate.

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'apport d'un immunoblot comme technique de confirmation dans l'arsenal diagnostique d'un laboratoire expert.

Pour ce faire, nous chercherons à travers une étude rétrospective à évaluer l'immunoblot *recomLine* CMV MIKROGEN® afin de caractériser les profils sérologiques d'interprétation difficile notamment en cas de présence isolée d'IgM ou de faible taux d'IgG, puis à évaluer l'immunoblot *recomLine* CMV MIKROGEN® dans la datation d'une infection à CMVH.

I. Étude bibliographique

I.1. Cytomégalovirus humain

I.1.1. Taxonomie

Le cytomégalovirus humain (CMVH) ou *human cytomegalovirus* ou *Human Herpes Virus 5* (HHV5) est un virus à acide désoxyribonucléique (ADN) de la famille des *Herpesviridae*, sous famille des *Betaherpesviridae*. [1]

Les *Betaherpesviridae* se distinguent par un cycle de reproduction long dans les cellules infectées qui deviennent souvent hypertrophiées (cytomégalie). Ces virus peuvent se maintenir sous forme latente dans les glandes sécrétoires, les cellules lymphoréticulaires, les reins et d'autres tissus. La sous-famille des *Betaherpesvirinae* inclut les genres cytomégalovirus humain, human herpesvirus 6 (HHV-6) et human herpesvirus 7 (HHV-7) infectant l'homme ; de nombreux autres cytomégalovirus pouvant infecter les animaux ; chacun ayant une stricte spécificité d'hôte. [2]

I.1.2. Historique

C'est en 1881 que Ribbert décrit pour la première fois des cellules contenant des inclusions. En 1921, Goodpasture et Talbert sont les premiers à suggérer que la « cytomégalie » pourrait être causée par un agent viral. En 1950, Smith et Vellios ont démontré que l'infection pouvait survenir *in utero*. En 1956, Smith, ainsi que Rowe et ses collègues, ont isolé indépendamment des souches humaines de CMVH, suivi par Weller et al. en 1957. C'est finalement en 1960 que Weller et al. proposent le terme de « cytomégalovirus » et isolent ensuite le CMVH dans l'urine de nourrissons atteints d'une maladie généralisée. [3]

I.1.3. Épidémiologie

La séroprévalence mondiale du CMVH est de 83 % en population générale, de 86 % chez les femmes en âge de procréer et de 86% chez les donneurs de sang ou d'organes. [4]

En France la séroprévalence de l'infection à CMVH pour des individus âgés de 15 à 49 ans est de 41,9 %. Les estimations sont plus élevées chez les femmes que chez les hommes (respectivement 45,6% et 39,3%). Les personnes nées dans un pays non occidental sont plus susceptibles d'être séropositives au CMVH que celles nées en France ou dans un autre pays occidental (93,7% contre 37,7%). Il est à noter qu'en règle générale, les groupes socioéconomiques défavorisés ont une incidence plus élevée d'exposition au CMVH et les pays à ressources limitées ont également des niveaux de séroprévalence plus élevés (de 84 % à 100 %), l'infection étant souvent acquise tôt dans la vie (Figure 1). [5] [6]

Concernant l'incidence du CMV congénital (CMVc), elle a été estimée à 0,37%. Le risque d'accoucher d'un enfant infecté après une primo-infection était accru chez les femmes plus jeunes, nullipares, nées dans des pays à ressources élevées et issues de groupes à revenus plus élevés. Le risque d'accoucher d'un enfant infecté était 4 fois plus élevé chez les femmes séronégatives avant leur grossesse. La prévalence de primo infection est estimée à 0,37%, le taux d'infections congénitales est estimé quant à lui à 0,12 %. [7] [8]

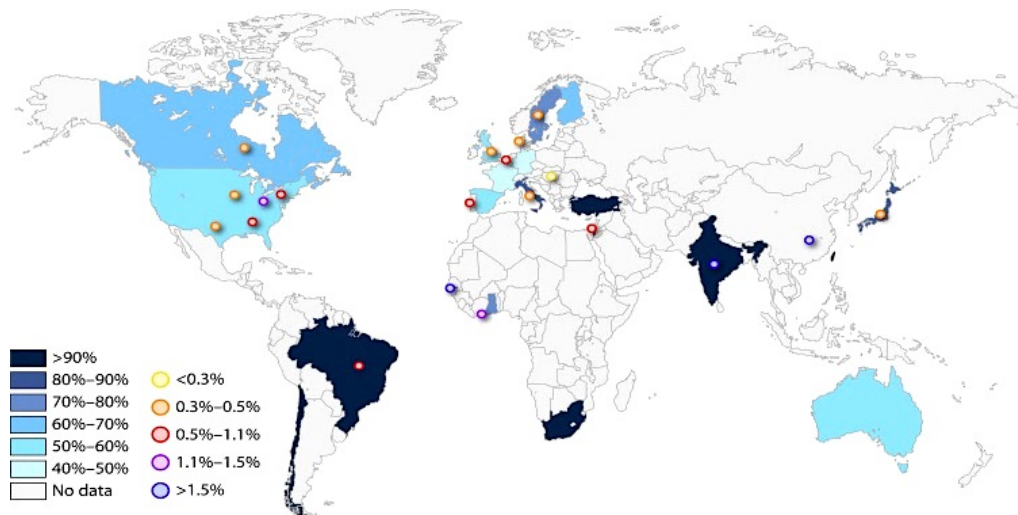


Figure 1 : Niveaux mondiaux de séroprévalence du CMVH et incidence de l'infection congénitale à CMVH [9]

Il est à noter que la prévalence globale de l'excrétion du CMVH est de 51,9 % chez les enfants issus de crèches ce qui témoigne que le jeune enfant est le réservoir principal et une source majeure d'infection. [10]

I.1.4. Génome viral

Le génome est constitué d'une molécule d'acide désoxyribonucléique (ADN) linéaire bicaténaire, enroulée autour d'un noyau protéique appelé « core ». Ce génome constitué de plus de 230kb code plus de 208 gènes. Il s'agit de l'un des plus longs et des plus complexes des *Herpesviridae* connus à ce jour et est organisé en deux segments, long (L) et court (S), chacun d'eux étant flanqués de répétitions inversées (internes : IRL, IRS et terminales TRL et TRS). Il est également connu pour être celui ayant le plus haut niveau de diversité génétique. [1] [11] [12]

Comme pour d'autres Herpèsvirus, l'expression des gènes viraux au cours d'une infection productive se produit dans une cascade temporelle ordonnée, avec une cinétique immédiate-précoce (IE ou α), retardée-précoce (E ou β) et tardive (L ou γ). [1]

L'évolution génomique du CMVH est façonnée par deux processus distincts, une dérive génétique probable se produisant au sein de populations géographiquement distinctes et une sélection équilibrante qui contrecarre la dérive génétique, afin de maintenir une diversité similaire dans des régions multialléliques variables, indépendamment de la situation géographique. [13]

Bien que les génomes des CMVH présentent la plus grande variabilité parmi les herpèsvirus humains, de larges parties du génome restent conservées. Une étude a identifié 74 régions très variables dans le génome du CMVH, chacune avec 2 à 8 allèles, et a révélé deux profils : 32 régions variables montrent une structure de population géographique (regroupement africain ou européen), tandis que 42 régions variables ne présentent pas de structure liée à un regroupement géographique, suggérant une importance fonctionnelle due à leur enrichissement en gènes immunomodulateurs. Ces avancées pourraient fournir des informations précieuses pour le développement de vaccins à l'échelle mondiale et l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques. [13]

I.1.5. Structure

Le CMVH est un virus de grande taille (150-200nm). Il s'agit d'un virus enveloppé, avec une capsidie à géométrie icosaédrique et un génome à ADN double brin linéaire. L'enveloppe est composée d'une bicouche phospholipidique dans laquelle s'insèrent les glycoprotéines. Le génome du CMVH code environ 54 protéines dont au moins 25 glycoprotéines membranaires qui sont présentes dans l'enveloppe du virion. [1] [14] [15]

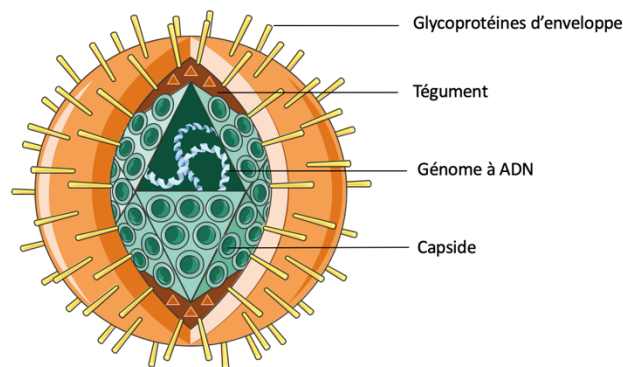


Figure 2 : Schéma du cytomégalovirus humain (CMVH) (Servier medical art)

Outre les virions infectieux, il existe deux autres types de particules virales produites par les cellules infectées par le CMVH : les particules enveloppées non infectieuses et les corps denses. Ces particules sont très similaires aux virions infectieux et contiennent un assortiment essentiellement identique de protéines d'enveloppe, de tégument et de capsidie, mais n'ont pas de génomes viraux emballés dans la capsidie icosaédrique. Les corps denses sont des protéines de tégument enveloppées qui n'ont pas ni capsidie ni génome. Ils sont composés en grande partie de la protéine virale pp65. Actuellement l'importance de ces particules dans les infections par le CMVH n'est pas bien comprise. [16]

I.1.5.1. Glycoprotéines d'enveloppe

Le CMVH possède plus de 25 glycoprotéines membranaires ancrées dans la bicouche phospholipidique. L'entrée dans les cellules nécessite au moins deux glycoprotéines membranaires principales : la glycoprotéine B (gB) et le complexe glycoprotéine H et L (gH/gL) qui forment le mécanisme de fusion primordial et central. Ces deux glycoprotéines forment des complexes stables et préformés dans des virions extracellulaires et sont essentielles à l'entrée du virus et pourraient avoir des implications majeures en termes de conception de vaccins contre le CMVH. [17] [18]

I.1.5.1.1. gH/gL et gH/gL/UL128-131

Il avait d'abord été suggéré que le CMVH utilise différentes formes de gH/gL, un trimère de gH/gL/gO pour former un tétramère à liaison disulfure et un pentamère de gH/gL/UL128-131 pour se lier à des récepteurs distincts et cela favoriserait la fusion d'entrée médiée par gB. [19] [20] Mais d'autres données ont démontré que gO agit comme protéine chaperonne pour promouvoir l'exportation du réticulum endoplasmique et l'incorporation de complexes gH/gL dans l'enveloppe du CMVH. De plus, ces données suggèrent que c'est gH/gL, et non gH/gL/gO, qui est présent dans les virions et qui est nécessaire à l'infection des fibroblastes

et des cellules épithéliales et endothéliales. De plus, gH/gL et gH/gL/UL128-131 sont tous deux nécessaires à l'entrée dans les cellules épithéliales/endothéliales ce qui diffère des modèles d'autres bêta et gamma herpèsvirus qui utilisent l'un des deux complexes pour pénétrer selon le type cellulaire. Combinées aux preuves que les mutants CMVH gO produisaient de petites plaques sur les fibroblastes *in vitro*, les données suggèrent un modèle dans lequel gH/gL/UL128-131 assure l'entrée dans les cellules épithéliales/endothéliales et gH/gL/gO assure l'entrée dans les fibroblastes. gO agit pour favoriser le transport intracellulaire de gH/gL vers les sites d'assemblage du virus, mais se dissocie avant la formation du virus. Sans gO, il y a sensiblement moins de gH/gL dans les particules virales et les particules ne parviennent pas à pénétrer dans les fibroblastes et, également, dans les cellules épithéliales et endothéliales. [21] [22] [23]

En conclusion, gH/gL et gH/gL/UL128-131 sont tous deux nécessaires à l'entrée dans les cellules épithéliales et endothéliales, alors que seul gH/gL est nécessaire à l'entrée dans les fibroblastes.

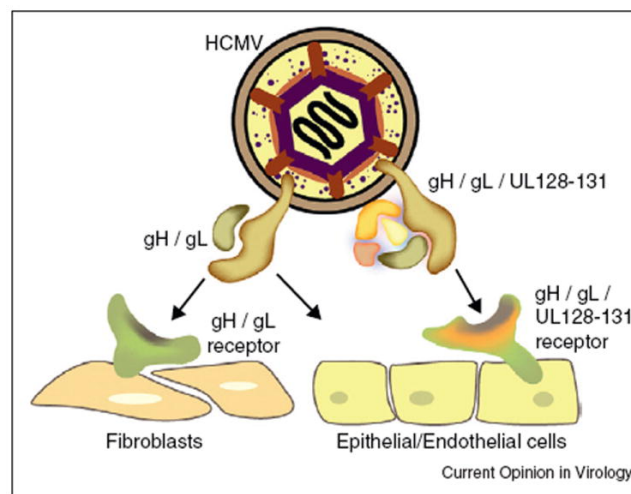


Figure 3 : Schéma des glycoprotéines de surface et récepteurs d'entrée du CMVH [23]

I.1.5.1.2. gB et gM/gN

La glycoprotéine M (gM) forme un hétérodimère à liaison disulfure avec glycoprotéine N (gN). Le complexe de glycoprotéine gM/gN assurent l'adsorption initiale du CMVH sur les glycosaminoglycanes à héparane sulfate (GAG), un processus qui augmente probablement les concentrations du CMVH à la surface cellulaire et favorise d'autres interactions. [24] [25] Des anticorps neutralisants anti-gM et anti-gN ont été décrits [26].

La gB agit en aval de la liaison GAG, c'est-à-dire qu'elle interagit avec les récepteurs cellulaires qui déclenchent la fusion d'entrée. Ces récepteurs comprennent le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR), le récepteur α du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGFR α) et des intégrines. [25] Une analyse de génotype de la glycoprotéine gB du cytomégalovirus a été conduite sur 31 immunodéprimés et a montré une prévalence de 38,70% de gB1, 25,80% de gB2, 16,12% de gB3 et 19,35% de gB4 témoignant de la variabilité génétique de la gB du CMV. [27]

L'expression à la fois de gB et de gH/gL du CMVH est nécessaire à la fusion cellule-cellule impliquant les cellules épithéliales ARPE-19, les cellules endothéliales ombilicales humaines (HUVE) et les fibroblastes MRC-5. Avec ces trois types de cellules, aucune fusion cellule-

cellule spontanée n'a été observée en l'absence de glycoprotéines du CMVH et aucune fusion n'a été observée lorsque gB ou gH/gL était exprimé seul. [28] [29]

Ainsi, il semble que gH/gL, en coopération avec gB, assurent la fusion, et sont définis comme étant la machinerie de fusion minimale du CMVH. Bien que gO soit nécessaire à l'incorporation efficace de gH/gL dans l'enveloppe du virion et que UL128-131 soit nécessaire à une entrée efficace dans les cellules épithéliales et endothéliales.

I.1.5.2. Protéines du tégument

La couche tégumentaire des virions est définie comme l'espace limité par l'enveloppe lipidique et la capsidie protéique. Elle est considérée comme non structurée ou amorphe [30].

Les protéines virales du tégument du CMVH jouent des rôles importants dans l'entrée virale, l'expression génétique, l'évasion immunitaire, l'assemblage et la sortie. Outre les protéines virales, environ 70 protéines cellulaires ont été trouvées dans la couche tégumentaire des virions du CMVH, sans pour autant que leurs rôles spécifiques n'aient été complètement identifiés. [15]

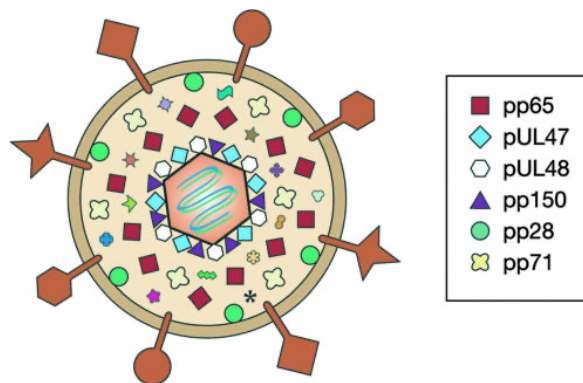


Figure 4 : Schéma des différentes protéines tégumentaires du CMVH [31]

I.1.5.3. pp65

La phosphoprotéine pp65 est une protéine matricielle phosphorylée d'un poids moléculaire apparent de 65kDa. Elle est codée par la partie 5'-terminale d'un acide ribonucléique messager (ARNm) abondant de 4kb, transcrit à partir du gène *UL83*. [32] [33]

pp65 est la protéine tégumentaire majeure du CMVH. [15] Elle est délivrée aux noyaux des cellules permissives tels que les polynucléaires neutrophiles (PNN) au début de l'infection et est retrouvée dans la circulation avant même le début du cycle de réplication viral. [34]

pp65 est impliquée dans la lutte contre la réponse immunitaire innée et adaptative. Elle médie la phosphorylation des protéines virales IE, bloquant leur présentation par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I. [35] Elle est également impliquée dans l'accumulation et la dégradation des molécules de HLA-DR conduisant à une accumulation de CMH de classe II dans les lysosomes. [36] A noter qu'en plus des altérations de l'immunité adaptative, la pp65 protège les cellules infectées de l'immunité innée en inhibant la cytotoxicité des cellules NK par interaction avec le récepteur activateur NKp30. [37]

pp65 possède des propriétés immunogènes et est la cible de l'immunité humorale et cellulaire, en particulier de la réponse T cytotoxique. [38]

L'ensemble des données montre que la pp65 est une protéine majeure du CMVH, impliquée dans la protection de la réponse immunitaire innée et adaptative.

I.1.5.4. pp150

La phosphoprotéine pp150 est une protéine phosphorylée de 150kDa constituée de 1048 acides aminés organisés en multiples feuillet bêta plissés en grappes hydrophiles pouvant expliquer ses capacités immunogènes, codée par le gène *UL32*. [39]

pp150 est la deuxième protéine tégumentaire la plus abondante (après pp65). [15] Des analyses de mutants viraux ont démontré que pp150 est essentielle à la réplication productive du CMVH. [40] Il a été montré que pp150 permet la maturation du virion en jouant un rôle essentiel dans la direction des capsides vers le site d'enveloppement final. [41]

L'ensemble des données montre que pp150 joue un rôle essentiel dans la direction des capsides vers le site d'enveloppement final. Cependant, on ne sait pas encore si ce rôle est limité au compartiment cytoplasmique ou s'il a une composante nucléaire.

I.1.5.5. pp71

La protéine pp71 est une phosphoprotéine de 71kDa codée par le gène *UL82* situé à côté du gène *UL83* codant pour pp65 et partage une homologie avec lui. [16] [33]

Bien que pp71 ne soit pas considérée comme essentielle, elle est nécessaire à une réplication virale efficace. [42] pp71 augmente l'expression des protéines immédiates précoces IE1 et IE2. Elle facilite également l'expression tardive des gènes, la transmission du virus aux cellules adjacentes et la formation de plaques *in vitro*. [43] [44] Cette propriété est due à l'inhibition de la répression de hDaxx sur les gènes *IE* du CMVH. [45]

Un autre rôle de pp71 se trouve dans la régulation du cycle cellulaire de la cellule infectée. En effet la pp71 cible les formes phosphorylées des protéines suppresseurs de tumeurs Rb pour leur dégradation via le protéasome. En dégradant les protéines Rb, pp71 stimule la progression du cycle cellulaire. [46] [47]

I.1.5.6. pp28

La protéine pp28 est une phosphoprotéine hautement immunogène présente dans les virions, les particules enveloppées non infectieuses et les corps denses, exprimée selon une cinétique tardive. [48] Il s'agit d'une phosphoprotéine de 25kDa longue de 190 acides aminés et codée par le gène *UL99*. [49]

Dans les cellules infectées par le CMVH, la pp28 se trouve avec d'autres glycoprotéines tégumentaires et virales au niveau de structures juxta nucléaires probablement dérivées de l'appareil de Golgi qui représentent vraisemblablement le site d'assemblage viral et d'enveloppement final. [50]

Ainsi, la localisation de pp28 au site d'enveloppement final est nécessaire à la production de particules virales.

I.1.5.7. ppUL47 et ppUL48

L'UL48 est une protéase de désubiquitination fonctionnellement compétente inhibant la dégradation protéasomale des protéines virales à leur entrée, leur permettant ainsi d'exercer

leurs effets individuels sur les cellules nouvellement infectées ainsi que d'empêcher leur présentation au système immunitaire. [51]

De son côté ppUL47 est nécessaire à la traduction efficace ou, plus probablement, à la stabilité de ppUL48, et semble faciliter au sein d'un complexe protéique la libération efficace de l'ADN viral de la capside. [52]

UL47 et/ou UL48 jouent probablement un ou plusieurs rôles supplémentaires et encore non caractérisés dans l'infection par le CMVH, peut-être pendant la maturation et/ou la sortie du virus.

I.1.5.8. ppUL44 et pUL57

La phosphoprotéine ppUL44 (également appelée p52) du CMVH est nécessaire à la réplication virale, elle permet à la sous-unité catalytique de l'ADN polymérase pUL54 de se fixer à l'ADN, assurant ainsi son efficacité. [53]

Une protéine recombinante de fusion CM2 a été mise au point, elle contient deux copies de la portion C-terminale de pUL44 (ou p52) et une copie d'un fragment hautement réactif de la principale protéine de liaison à l'ADN, pUL57. [54] [55]

I.1.5.9. Protéines de capside

Les capsides du CMVH sont des structures icosaédriques dans lesquelles la protéine de capside majeure (MCP) est organisée en 150 hexons et 11 sommets formés de pentons. Le douzième sommet est construit par le portail dodécamérique (pUL104) à travers lequel le génome viral est transloqué dans la capside. Les hexons et les pentons sont liés au plancher de la capside par les protéines triplex constituées de deux copies de la protéine de capside mineure (mCP) et d'une copie de la protéine mineure de liaison à la capside mCP (mCP-BP). La petite protéine de capside (SCP) est fixée aux extrémités des molécules de MCP et est la protéine de capside la plus divergente au sein des *Herpesviridae*, à la fois structurellement et fonctionnellement. [56]

Dans le cytoplasme, la MCP interagit avec la SCP et les protéines d'échafaudage (le précurseur de la protéine d'assemblage (pAP) et le précurseur de la protéase (pPR)), ces dernières fournissant un signal de localisation nucléaire (NLS). De plus, le triplex, composé de deux copies de la mCP et d'une copie de la mCP-BP, se forme également dans le cytoplasme. Lors de l'importation nucléaire, les procapsides s'assemblent, puis mûrissent en capsides C contenant l'ADN après l'encapsidation du génome. Le clivage de l'échafaudage (pAP → AP) coïncide avec l'empaquetage du génome et l'angularisation de la capside. Si l'encapsidation du génome est incomplète ou si la stabilisation des capsides contenant l'ADN échoue, cela conduit à la formation de capsides A vides, tandis que l'angularisation spontanée des procapsides produit des capsides B, qui conservent l'échafaudage mais ne contiennent pas d'ADN viral. SCP et pp150 sont en contact étroit avec les hexons et les pentons, et dans environ la moitié des capsides (celles dérivées de virions extracellulaires), quelques molécules pp150 au niveau des pentons sont remplacées par les protéines spécifiques du vertex de la capside, pUL77/pUL93. [57] [58]

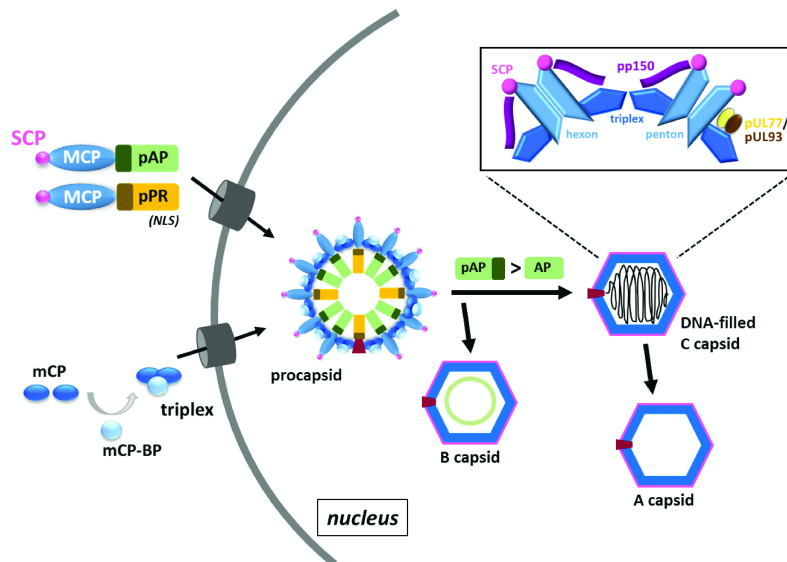


Figure 5 : Schéma de l'assemblage de la capside du CMVH, illustrant la formation des procapsides et leur maturation en capsides complètes avec l'ADN viral, ainsi que la disposition des protéines SCP, pp150, pUL77 et pUL93. [58]

I.1.5.10. Protéines matricielles

La protéine IE1 (*immediate early 1*) de 72 kDa codée par le gène *UL123* du CMVH est un régulateur nucléaire de la transcription virale et cellulaire. IE1 présente deux régions séparables interagissant avec les histones avec des spécificités de liaison différentielles pour H2A-H2B et H3-H4 dans des domaines de fixation de la chromatine. IE1 se lie à la poche acide d'une manière similaire à celle de l'antigène nucléaire associé à la latence d'HHV-8. Il s'agit d'un régulateur viral clé, ancré aux chromosomes humains qui identifie la poche acide nucléosomale comme une cible de latence. [59]

Les deux protéines IE majeures (IE1 p72 et IE2 p86) sont exprimées suite à l'épissage alternatif d'un seul transcrite d'ARNm du locus MIE (*major immediate-early*). IE2 p86 est considérée comme la principale protéine activatrice de la transcription du CMVH et est également responsable de l'autorégulation négative du promoteur majeur *immediate-early* (MIEP). [60]

I.1.6. Cycle viral

Le CMVH est capable d'infecter plusieurs types de cellules, comme les cellules endothéliales, les cellules épithéliales, les cellules musculaires lisses, les fibroblastes, les leucocytes et les cellules dendritiques. [61] [62] [63]

Comme nous avons vu précédemment, le contact initial du virion avec la cellule fait intervenir gM/gN qui se lie à l'héparane-sulfate, à la surface cellulaire. L'attachement du virion à son récepteur, par l'intermédiaire de la gB, est très rapidement suivi de la fusion de l'enveloppe avec la membrane cellulaire, dans laquelle interviennent les glycoprotéines gB et gH. Les protéines du téguement sont libérées dans le cytoplasme. La nucléocapside est immédiatement transportée vers le noyau et l'ADN viral est libéré au niveau des pores nucléaires.

Dès sa pénétration, le virus bloque le cycle cellulaire en inhibant la transcription des cyclines A et E, et séquestre dans le noyau les protéines cellulaires nécessaires à sa réplication. La transcription et la traduction des gènes viraux se déroulent en trois phases coordonnées en

cascade : très précoce ou *immediate early* (IE), précoce ou *early* (E) et tardive ou *late* (L). La phosphoprotéine du téguement ppUL82 apportée par le virion stimule la transcription des gènes *IE*. Cet ensemble de gènes est transcrit dans les quatre heures suivant l'infection. Les régions IE1 et IE2 (80% des gènes IE) sont abondamment transcrites à partir d'un promoteur-activateur puissant (*major immediate early promoter*). Les protéines très précoces majeures, IE86, IE72 et IE55, sont impliquées dans l'activation et la répression des gènes viraux et cellulaires, et régulent leur propre expression. La phase précoce correspond à la synthèse des protéines nécessaires à la réplication du génome, notamment l'ADN polymérase UL54 et sa protéine accessoire UL44 (*antigène CM2*), une hélicase et une DNase. La synthèse de l'ADN viral s'effectue selon le modèle du cercle roulant, à partir d'une origine de réplication unique. Les génomes sont empaquetés dans le noyau. Pendant la phase tardive, qui suit le début de la réplication de l'ADN viral, sont synthétisées les protéines structurales du virion. L'encapsidation a lieu dans le noyau par formation des procapsides et leur maturation en capsides complète contenant l'ADN viral. Les protéines du téguement sont acquises quant à elles dans le cytoplasme. L'enveloppe définitive et les protéines virales de l'enveloppe sont acquises au niveau de l'ergastoplasme et/ou de l'appareil de Golgi et la particule enveloppée sort de la cellule par fusion des membranes des vésicules intracellulaires avec la membrane de la cellule. [1] [58]

Le CMVH peut établir une infection latente en réprimant l'expression des gènes lytiques via le promoteur précoce immédiat majeur (MIEP). Ce mécanisme de latence est régulé par des facteurs cellulaires, notamment la structure de la chromatine et les voies de signalisation spécifiques aux types cellulaires, qui contrôlent l'activité du MIEP. La réactivation ultérieure du virus peut entraîner des pathologies, surtout chez les individus immunodéprimés, où le manque de réponse immunitaire robuste permet une réactivation et une réplication virale incontrôlées. [64]

I.1.7. Réponse immunitaire

I.1.7.1. Réponse immunitaire innée

L'infection primaire par le CMVH débute par une réplication dans l'épithélium muqueux. Ensuite le virus se propage aux cellules monocytaires et les cellules hématopoïétiques CD34⁺, où il établit une infection latente. L'expression des gènes viraux dans ces cellules infectées de manière latente est limitée et nettement différente de l'infection lytique. Les gènes qui sont abondamment exprimés dans l'infection lytique ne sont exprimés que de manière transitoire et faible dans les modèles expérimentaux *in vitro* de latence. [65]

Lorsque le CMVH pénètre dans une cellule, celle-ci active plusieurs mécanismes et voies de la réponse immunitaire innée. Il s'agit notamment des cytokines inflammatoires, de l'IFN de type I et de la régulation positive des molécules costimulatrices qui sont cruciales pour ralentir le pathogène et ensuite amorcer une réponse immunitaire adaptative de haute qualité. [66]

Une autre voie activée au cours de la réponse est celle du *toll like receptor 2* (TLR2) qui reconnaît les gB et gH du CMVH, conduisant à l'activation d'une voie de transduction du signal dépendante de NF- κ B. [67]

Les mécanismes d'évasion immunitaire que le CMVH met en œuvre pour empêcher l'activation des NK indiquent leur importance dans la réponse dirigée contre ce dernier. [68]

I.1.7.2. Réponse immunitaire adaptative

Après l'établissement de l'infection primaire à CMVH, les particules virales ou les corps denses associés au virus sont traitées par des cellules présentatrices d'antigène (CPA), qui stimulent la réponse immunitaire humorale et cellulaire de type 1. [69]

Au cours d'une infection par le CMVH, des anticorps spécifiques de plusieurs protéines du CMVH sont produits chez l'hôte. Ces immunoglobulines produites par les plasmocytes au cours de la réponse humorale sont dirigées contre des protéines structurales du tégument (par exemple, pp65 et pp150), des glycoprotéines d'enveloppe (principalement les complexes multimériques gB et gH et gH/gL) ainsi que des protéines non structurales telles que la protéine IE1. Le rôle de ces anticorps est essentiel afin de limiter la dissémination de la maladie et les manifestations cliniques. [62] [70]

La réponse cellulaire engagée contre le CMVH est une réponse immunitaire de type 1 médiée par des lymphocytes CD4 appelés également *T helper* (Th) régité par l'interféron gamma (IFN) et le *tumor necrosis facteur alpha* (TNF α). Cette signature cytokinique Th1 est permanente pour les cellules T spécifiques du CMVH à la fois aux stades précoces et tardifs. Contrairement à d'autres infections virales, le pool de mémoire ne se contracte pas après l'élimination du virus, mais continue de gonfler et finira par dominer le compartiment mémoire des cellules T. Bien que le phénotype des cellules T CD8 spécifiques du CMVH pendant la latence soit typique de la différenciation terminale, ces cellules peuvent se développer davantage et produire des cytokines Th1 comme si elles étaient des effecteurs au repos pouvant être responsables d'inflammation à bas bruit. [71]

I.1.7.3. Mécanismes d'évasion immunitaire

De nombreuses études ont montré que le CMVH développe des stratégies pour contrer diverses réponses immunitaires.

Ces stratégies lui permettent d'établir des infections latentes et de réinfecter des individus déjà porteurs malgré une réponse immunitaire active, notamment par l'expansion des cellules T spécifiques au CMVH, qui peuvent représenter plus de 10 % des cellules T. Parmi ces mécanismes immunomodulateurs, le CMVH cible la présentation de l'antigène par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I, empêchant ainsi le chargement et la présentation aux cellules T CD8 des antigènes viraux à la surface des cellules infectées. De manière similaire, la présentation des antigènes par le CMH de classe II aux cellules T CD4+ est entravée, notamment par l'expression d'un homologue viral de l'interleukine-10 (IL-10), qui favorise la régulation négative de ces molécules. Enfin, le CMVH imite des cytokines pour influencer les cellules immunitaires et code des protéines qui s'opposent aux réponses immunitaires innées comme les NK qui pourraient autrement détecter la perte du CMH de classe I via le mécanisme du « soi manquant ». Pour ce faire, le virus induit l'expression du récepteur inhibiteur HLA-E et produit plusieurs protéines qui désactivent les récepteurs activateurs des cellules NK tout en régulant à la hausse leurs récepteurs inhibiteurs. Néanmoins, chez les individus immunocompétents, l'infection ou la réactivation du CMVH provoque rarement des maladies graves, ce qui suggère que ces mécanismes d'évasion sont essentiels pour la persistance du virus, mais insuffisants pour contrecarrer totalement la surveillance immunitaire. [72] [73] [74]

La réponse à l'interféron, un élément clé de la défense antivirale, est bloquée à plusieurs étapes du cycle de vie viral. Le CMVH interfère notamment avec les voies de détection de

l'ADN viral, inhibant ainsi l'activation de l'immunité innée. Des protéines virales comme pp65 et US28 bloquent les détecteurs d'ADN IFI16, tandis que d'autres protéines comme UL31 et pp71 inhibent la voie cGAS–STING. De plus, la signalisation de l'interféron est altérée par l'interaction de la protéine virale IE72 avec le facteur de transcription STAT. Le CMVH module également l'activité des cytokines en exprimant des récepteurs de β -chimiokines, qui se lient et séquestrent les cytokines de l'hôte. Il code également plusieurs α -chimiokines qui imitent l'activité des cytokines CXCL1 et CXCL2, influençant ainsi le recrutement et l'activité des cellules immunitaires au site de l'infection. Les cellules T spécifiques du CMVH peuvent reconnaître ces cellules avec réactivation ou les cellules nouvellement infectées disséminées. Les cellules B produisent des anticorps neutralisants ou non neutralisants qui ciblent les antigènes viraux à la surface des cellules en réactivation ou des cellules infectées, favorisant ainsi le recrutement de fonctions effectrices dépendantes des anticorps pour éliminer ces cellules infectées. [75]

On suppose également qu'un deuxième site de persistance virale se trouve dans les cellules endothéliales résidentes dans les tissus, bien qu'il soit difficile de déterminer si ces cellules sont contaminées par des progéniteurs infectés latents ou par une infection directe. Ces cellules endothéliales, une fois activées par un stimulus inconnu, peuvent alors entrer en réactivation virale, être reconnues par les réponses immunitaires médiées par les cellules T et les cellules B. Dans le contexte de l'immunosuppression, les réponses des cellules T préexistantes sont affaiblies, ce qui conduit à un contrôle réduit de la réactivation virale et à une augmentation des manifestations cliniques chez les individus séropositifs. Chez les individus séronégatifs, l'immunosuppression réduit la génération de nouvelles réponses immunitaires T et B, limitant ainsi le contrôle de la réplication virale dans les cellules permissives. L'inflammation, qu'elle soit due à des lymphocytes T allogéniques ou à une co-infection, peut exacerber ces processus, augmentant la réactivation virale chez les individus séropositifs et favorisant la réplication virale chez les individus infectés séronégatifs. [75]

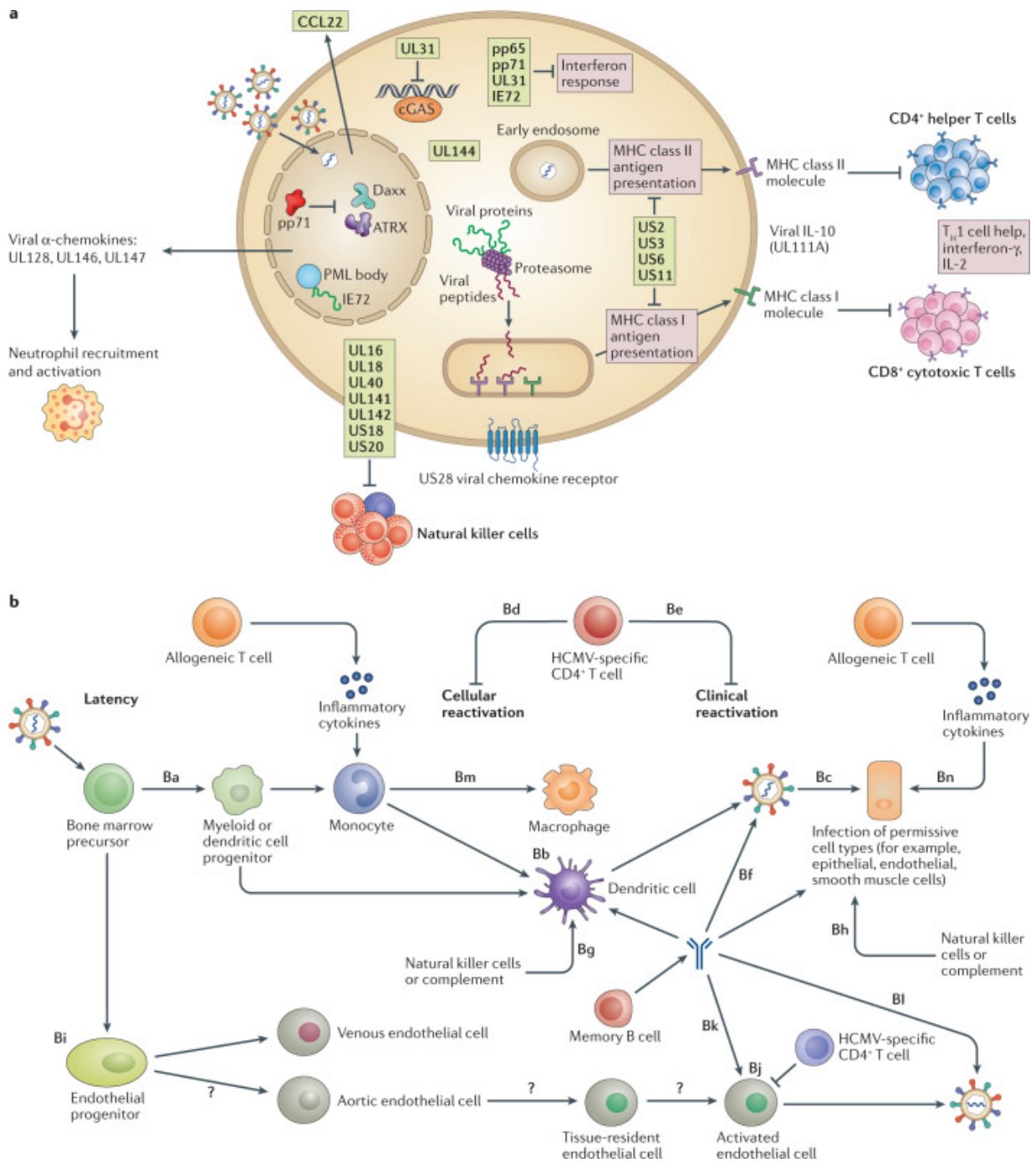


Figure 6 : Mécanismes viraux d'évasion immunitaire (a) et réponse immunitaire (b) au cours d'une infection à CMVH responsables de la latence et de la réactivation du CMVH [75]

I.1.8. Thérapeutiques

I.1.8.1. Molécules antivirales

Le ganciclovir (GCV) est un analogue nucléosidique qui, une fois phosphorylé en ganciclovir triphosphate, inhibe de manière préférentielle la polymérase virale UL54. [76] La première phosphorylation est catalysée par la kinase pUL97 du CMVH, tandis que les phosphorylations ultérieures sont réalisées par des kinases cellulaires. Cette phosphorylation initiale spécifique au CMVH permet une sélectivité du traitement pour les cellules infectées plutôt que pour les cellules non infectées. [77] [78] Un dérivé du GCV, le valganciclovir (VGCV), administré par voie orale, est couramment utilisé en prophylaxie chez les receveurs de greffe d'organes solides et en traitement de l'infection à CMVH. [79] Le traitement par GCV est responsable de toxicité (neutropénie et thrombocytopenie), ainsi que d'effets secondaires graves observés lors d'études animales, tels que l'infertilité temporaire ou permanente. La neutropénie induite par le GCV peut augmenter la morbidité due à des infections bactériennes ou fongiques, et ses effets myélosuppressifs peuvent nuire à la reconstitution du système immunitaire après une greffe de cellules souches hématopoïétiques. De plus sa toxicité fœtale le contre indique ainsi que le VGCV chez la femme enceinte. [80] [81] Des mutations de résistance au GCV et au VGCV apparaissent fréquemment dans les gènes du CMVH codant pour UL97 et UL54 et peuvent être responsables d'échappements thérapeutiques. [82]

Le valaciclovir (VACV) est une prodrogue de l'aciclovir (ACV), un analogue nucléosidique. Une fois absorbé, le valaciclovir est rapidement hydrolysé en aciclovir. L'aciclovir est converti intracellulairement en aciclovir monophosphate par une thymidinekinase (TK) spécifique du virus de l'herpès (virus de l'herpès simplex de type 1 et 2 (HSV-1 et HSV-2) et le virus de la varicelle et du zona (VZV). Le virus d'Epstein-Barr (EBV) a une activité TK minimale, mais reste sensible. Le CMVH ne produit pas de thymidine kinase, mais utilise la kinase pUL97 pour monophosphoryler l'aciclovir. Les kinases cellulaires de l'hôte réalisent les deux phosphorylations restantes pour former l'aciclovir triphosphate, forme active de l'aciclovir. L'aciclovir triphosphate agit comme un substrat pour l'ADN polymérase virale, entrant en compétition avec la 2'-désoxyguanosine endogène, ce qui met fin à la réplication virale. Bien que possédant une activité antivirale contre le CMVH, l'aciclovir reste moins efficace dans le traitement de cette infection, en comparaison aux autres herpèsvirus. En raison de leurs spécificités accrues vis-à-vis des cellules infectées et de l'absence d'effets indésirables majeurs, l'ACV et le VACV ne sont pas contre-indiqués au cours de la grossesse. [83]

Le cidofovir (CDV) est un analogue nucléotidique de la cytosine qui a montré une activité large spectre contre les virus à ADN double brin, et notamment les herpèsvirus. Contrairement au GCV, le CDV est un analogue nucléotidique et ne nécessite donc pas de phosphorylation initiale par une enzyme virale, les 2 phosphorylations étant assurées par des enzymes cellulaires. La forme active du CDV agit comme un inhibiteur compétitif de la polymérase virale de l'ADN et entraîne une terminaison prématurée de la chaîne lors de la synthèse de l'ADN viral. Le CDV est très efficace contre le CMVH et se caractérise par une longue demi-vie intracellulaire, permettant une administration moins fréquente du médicament. Cependant, son utilisation clinique est limitée en raison de son absorption lente, de sa faible biodisponibilité et de sa néphrotoxicité sévère. De plus, le cidofovir est carcinogène et tératogène d'après les études animales, ce qui en fait un traitement de seconde ligne. [84]

Le foscarnet (FOS) est un analogue du pyrophosphate qui se lie directement au site de liaison du pyrophosphate sur la polymérase virale de l'ADN. Il inhibe la réplication de l'ADN en

bloquant la libération du groupe pyrophosphate du nucléoside triphosphate terminal ajouté à la chaîne d'ADN en croissance. Contrairement à d'autres antiviraux, le FOS n'a pas besoin de modifications chimiques intracellulaires pour être actif. Cependant, son principal effet indésirable est l'altération de la fonction rénale. En raison de cette toxicité et du fait qu'il nécessite d'être administré par voie intraveineuse quotidiennement, le FOS est réservé aux traitements de deuxième intention. Malgré cela, il est souvent utilisé comme médicament de recours chez les patients en échec de traitement par le GCV. [85]

Le letermovir une quinazoline qui cible la protéine pUL56 du complexe terminase du CMVH et possède une puissance antivirale supérieure celle du GCV. Toutefois, le letermovir interagit avec les immunosuppresseurs administrés après une greffe de cellules souches hématopoïétiques, comme la ciclosporine A ou le tacrolimus, augmentant leur exposition, et il influence également la pharmacocinétique de la ciclosporine A. Fait important, le letermovir n'a pas montré d'effets antagonistes lorsqu'il est combiné à d'autres antiviraux approuvés contre le CMVH *in vitro*, ouvrant ainsi la possibilité d'utiliser ces combinaisons dans le traitement du CMVH. Cependant, l'insuffisance rénale ou hépatique peut modifier la pharmacocinétique du letermovir, ce qui pourrait affecter son utilisation chez les receveurs de greffes de rein et de foie. Le letermovir a été approuvé pour le traitement prophylactique des infections liées au CMVH chez les receveurs de greffes de cellules souches hématopoïétiques aux États-Unis, au Canada et dans l'Union européenne. Cette approbation fait suite à des essais cliniques de phase III réussis. [86] En France la haute autorité de santé (HAS) a donné un avis favorable au remboursement compte tenu du fait que le letermovir est le seul antiviral indiqué pour la prophylaxie de la réactivation et de la maladie à CMVH chez les adultes CMV-séropositifs recevant une greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques. Le traitement doit commencer dans les 28 jours suivant la greffe et être réévalué après 100 jours en l'absence de bénéfice prouvé au-delà de cette période. [87] Plus récemment, son AMM en prophylaxie de l'infection à CMVH a été étendue aux receveurs d'organes solides. [88]

Le maribavir (MBV), est administré par voie orale et cible la kinase virale UL97, essentielle à la formation du tégument viral et à la libération du virus. [89] Cependant, il ne doit pas être co-administré avec le GCV, car il inhibe l'UL97, nécessaire à l'activation du GCV. L'un des avantages du MBV est sa toxicité réduite sur le système hématologique et rénal par rapport au GCV et au VGCV. [90] Un essai de phase II a montré que le MBV avait une efficacité similaire au VGCV pour la prévention des infections à CMV chez les receveurs de greffes. Toutefois, un essai de phase III n'a montré aucune différence entre le MBV (100 mg/jour) et le placebo dans la prophylaxie post-greffe de cellules souches hématopoïétiques. [91] Le MBV est également en phase d'évaluation comme traitement pour les patients résistants aux antiviraux existants (GCV, CDV, FOS). [92]

I.1.8.2. Immunothérapie

Les immunoglobulines hyperimmunes (HIG) sont des préparations d'immunoglobulines humaines enrichies en IgG anti-CMVH fabriquées à partir de plasma humain provenant de donneurs sains ayant des titres d'anticorps anti-CMVH élevés, et destinées à l'administration intraveineuse. L'utilisation des immunoglobulines hyperimmunes est approuvée par la FDA pour la prophylaxie du CMVH, en combinaison avec le GCV, chez les receveurs de greffes pulmonaires à haut risque. Ce traitement a également montré son efficacité chez les receveurs de greffes cardiothoraciques et peut être particulièrement utile pour les patients présentant des infections compliquées par une résistance aux antiviraux, une faible tolérance au GCV, ou encore une hypogammaglobulinémie. [93]

I.1.9. Mesures préventives

I.1.9.1. Prévention primaire

La prévention primaire consiste en un ensemble d'actes visant à diminuer l'incidence d'une maladie dans une population et donc réduire les risques d'apparition de nouveaux cas. Sont par conséquent pris en compte à ce stade de la prévention les conduites individuelles à risque, comme les risques en terme environnementaux ou sociétaux. Une compréhension approfondie du CMVH et de son mode de transmission est essentielle pour la prévention primaire, permettant aux femmes en âge de procréer et en début de grossesse d'adopter des mesures d'hygiène appropriées pour éviter une primo-infection ou une réinfection par le CMVH. Malgré des progrès en sensibilisation au cours de la dernière décennie, les études récentes révèlent encore des lacunes significatives dans les connaissances des femmes enceintes, ce qui diminue l'efficacité attendue de la prévention primaire. [96]

En parallèle, les avancées continues dans le développement de vaccins contre le CMVH pourraient offrir une solution prometteuse pour prévenir les infections maternelles durant la grossesse dans un avenir proche.

I.1.9.1.1. Mesures hygiéniques

La littérature actuelle montre qu'une amélioration des connaissances et de la sensibilisation au CMVH et de ses modes de transmission chez les femmes enceintes semble efficace pour diminuer les risques d'infection. [95]

A partir des recommandations de 2018 du haut conseil de la santé publique française, il est admis que pour la prévention d'une infection primaire au cours de la grossesse il faut limiter le contact avec les urines, la salive et les larmes des jeunes enfants. Il est également recommandé également d'utiliser un préservatif en cas de changement de partenaires ou si le conjoint est suspect d'infection à CMVH (syndrome grippal, fièvre fatigue et céphalées), non expliqué par une autre infection en cours. Le lavage régulier des mains au savon ou l'utilisation d'une solution hydro-alcoolique sont des mesures complémentaires fortement recommandées. Les mesures d'hygiène restent la stratégie de prévention la plus efficace, réduisant le taux d'infection primaire pendant la grossesse. [96] [97]

Il a été démontré un faible niveau de connaissance de la part des patientes concernant le CMVH. Cependant après avoir reçu une information, les connaissances ont considérablement augmentées, avec des améliorations significatives dans la compréhension des modes de transmission et des mesures préventives. [98]

Ensemble ces données démontrent que les conseils d'hygiène ne sont pas assez promulgués à l'heure actuelle, et peuvent réduire significativement l'infection maternelle au CMVH, en attendant le développement d'un éventuel vaccin.

I.1.9.1.2. Vaccination

Les anticorps semblent essentiels pour empêcher l'acquisition et la transmission du CMVH chez les personnes séronégatives, tandis que les réponses des lymphocytes T sont cruciales pour maîtriser la réactivation du virus chez les personnes séropositives. Le développement de vaccins contre le CMVH a débuté dans les années 1970. Deux souches vaccinales atténuées à partir des souches AD169 et Towne, ont été évaluées dans des essais. [99] [100]

La souche atténuée AD169 a été rapidement abandonnée, mais la souche atténuée Towne a fait l'objet de tests approfondis chez des receveurs de greffes d'organes solides et des volontaires sains de sexe masculin et féminin [101]. Dans une étude multicentrique, les receveurs de greffes de rein ayant reçu le vaccin à base du virus atténué Towne ont montré une protection efficace contre les formes graves de maladie à CMVH et le rejet du greffon. Toutefois, la protection contre l'infection elle-même n'était pas statistiquement significative. [101]

Une avancée majeure a été la purification de la gB. Associée à l'adjuvant MF59, cette glycoprotéine a permis de générer des niveaux élevés d'anticorps neutralisants chez l'homme après trois injections sur une période de six mois. [102] Ce schéma vaccinal a été testé à deux reprises, en comparaison avec un placebo, chez des jeunes femmes naturellement exposées au CMVH. Bien qu'une réduction modérée de l'acquisition ait été observée dans les deux essais, les niveaux d'anticorps et l'efficacité ont rapidement diminué. Une injection de rappel a permis de rétablir des taux d'anticorps supérieurs. Combinée avec l'adjuvant AS01 (activateur du récepteur TLR4), il a été observé des niveaux plus élevés et plus durables d'anticorps anti-gB. Ce vaccin sous-unitaire expérimental gB a montré une protection significative contre les maladies à CMVH chez les patients transplantés d'organes solides, soulignant ainsi l'importance des anticorps dans ce contexte. [103]

En 2000, un tournant majeur a eu lieu avec la publication par l'Institute of Medicine (aujourd'hui National Academy of Medicine) des États-Unis d'un rapport sur les priorités vaccinales. Le CMVH y a été classé en tête de liste des priorités pour le développement de vaccins, ce qui a fortement motivé les fabricants de vaccins et les entreprises de biotechnologie à intensifier leurs efforts dans ce domaine. [104]

En parallèle, une découverte majeure a été réalisée par des chercheurs de l'université de Princeton, qui ont identifié un complexe pentamérique de protéines à la surface du CMVH. Ce complexe, constitué des glycoprotéines H (gH) et L (gL), ainsi que des produits des gènes UL128, UL130 et UL131, induisait une production d'anticorps neutralisants beaucoup plus élevée que celle obtenue avec la glycoprotéine B (gB). [20] Des travaux menés en parallèle ont montré que chez les femmes enceintes infectées par le CMVH, une réponse rapide au complexe pentamérique était associée à une protection contre la transmission au fœtus. [105]

Divers vaccins candidats exploitent des vecteurs contenant des gènes du CMVH, tels que ceux codant la gB et la pp65. Ces vaccins ont démontré à la fois une immunogénicité et une sécurité satisfaisante dans certains essais. Ils sont conçus pour offrir une protection potentielle tant aux patients ayant reçu une greffe qu'aux sujets sains séronégatifs. [106] [107] [108] [109]

Une autre approche intéressante, qui vise à combiner sécurité et immunogénicité, utilise un virus défectueux pour la réplication. Développé par Merck, ce candidat est produit en culture cellulaire à partir d'un CMVH modifié, où deux protéines sont rendues instables par une combinaison chimique mais stabilisées par un composé appelé Shld 1. En l'absence de Shld 1, le virus ne peut pas former de particules infectieuses, mais il exprime toujours des protéines capables d'induire une réponse immunitaire. Lors des essais de phase 1, ce virus défectueux a montré de bonnes réponses immunitaires. [110]

Concernant les vaccins à ADN, actuellement deux sont en phase III d'essais cliniques. Ces vaccins sont constitués de plasmides codant pour des antigènes spécifiques du CMV. Ils ciblent les gènes codant pour la protéine tégumentaire pp65 et/ou l'enveloppe gB. Lors des essais de phase I, l'un de ces vaccins a montré une bonne tolérance et a également induit des

réponses des lymphocytes T spécifiques de l'antigène ainsi que des anticorps neutralisants chez les sujets séronégatifs. [111] [112] Un vaccin est actuellement étudié chez les donneurs et les receveurs de GCSH dans les essais cliniques de phase II et III, mais les résultats à ce jour n'ont pas démontré d'amélioration significative de la survie globale ni de réduction de la maladie à CMVH. [111]

Plus récemment, des vaccins à ARNm, basés sur un ARNm modifié, encapsulé dans des nanoparticules lipidiques ou des liposomes ont été développés. Ils ciblent les gènes codant la protéine tégumentaire pp65, la glycoprotéine gB, et/ou le complexe pentamérique, incitant le système immunitaire à déclencher des réponses spécifiques contre les antigènes correspondants. [113] Deux vaccins à ARNm sont en phase d'essais cliniques. L'ARNm-1647, ciblant gB et le complexe pentamérique, et l'ARNm-1443, ciblant la protéine pp65, ont montré des réponses immunitaires prometteuses. L'ARNm-1647 a généré des anticorps neutralisants six mois après la troisième dose, avec une augmentation notable des titres d'anticorps, surtout contre les cellules épithéliales, chez les participants CMVH séronégatifs et séropositifs. [111]

I.1.9.2. Prévention secondaire

La prévention secondaire se concentre sur la réduction de l'impact des maladies déjà présentes en détectant et traitant le plus tôt possible, afin d'arrêter ou de ralentir leur progression et d'éviter les complications à long terme. [114] Dans le contexte du CMVH, elle cherche à prévenir ou diminuer le risque de transmission de la mère à l'enfant lorsqu'une séroconversion CMVH est confirmée chez la mère. [115] Les efforts en prévention secondaire incluent le dépistage sérologique maternel et les thérapies préventives telles que l'administration d'immunoglobulines hyperimmunes ou la thérapie antivirale que nous aborderons dans le cadre de l'infection à CMVH chez la femme enceinte. [116] [117]

I.2. Infections à cytomégalovirus

I.2.1. Infection à cytomégalovirus de l'immunocompétent

La manifestation clinique la plus courante de l'infection par le CMVH chez l'hôte immunocompétent est un tableau proche de la mononucléose infectieuse causée par l'EBV. La mononucléose due au CMVH est généralement indistinguishable de celle due à l'EBV. La mononucléose à CMVH représente environ 10 % des diagnostics de mononucléose. Les symptômes les plus courants incluent la fièvre, la fatigue, les myalgies, les céphalées et l'asthénie. Quelques patients peuvent présenter une splénomégalie, une hépatomégalie, des adénopathies ou une éruption cutanée (moins fréquemment que lors d'une primo-infection EBV). On observe fréquemment une lymphocytose, des lymphocytes activés hyperbasophiles (syndrome mononucléosidique sanguin) et une fonction hépatique anormale. Des preuves de plus en plus nombreuses suggèrent que l'infection par le CMVH est un agent étiologique ou co-étiologique dans le développement et/ou la gravité des maladies cardiovasculaires inflammatoires. De plus, la relation potentielle entre l'infection par le CMVH et le cancer fait l'objet de débats depuis des décennies. Durant cette période, il a été soutenu que le CMVH est associé à diverses formes de malignités, notamment le glioblastome. [118] [119] [120]

I.2.2. Infection à cytomégalovirus de la femme enceinte

L'infection fœtale à CMVH, ou CMVH congénitale (CMVc), peut se produire non seulement en cas de primo-infection maternelle durant la grossesse, mais également en raison d'une réactivation du virus ou d'une réinfection de la mère par une nouvelle souche.

I.2.2.1. Epidémiologie

L'infection primaire au CMVH touche entre 1 à 2% des grossesses, avec des taux de séroconversion maternelle plus élevés chez les femmes de statut socio-économique inférieur par rapport à celles des groupes socio-économiques supérieurs. [121]

Le CMVc représente un fardeau important, avec une prévalence mondiale de 0,64 % et un risque de 17 à 20 % d'effets graves à long terme chez les enfants. En raison de la prévalence élevée du CMVH avant la conception au niveau mondial, trois quarts des cas d'infection congénitale à CMVH proviendraient d'une réinfection par une nouvelle souche ou de la réactivation d'un virus latent. Tandis qu'en Europe avec une séroprévalence de 50 à 85% chez les femmes enceintes, les études ont montré qu'environ la moitié des infections congénitales surviennent après une primo-infection. [122] [123] [124]

Le CMVc est la principale cause virale de malformations congénitales. [125]

I.2.2.2. Physiopathologie

L'infection primaire durant la grossesse ne diffère pas de celle d'une personne immunocompétente, elle est asymptomatique dans 75 à 95 % des cas, mais peut aussi se manifester par une mononucléose légère ou un syndrome grippal avec fièvre et fatigue persistantes. [121]

Le CMVH peut être transmis de la mère à l'enfant (transmission verticale) pendant la grossesse, lors de l'accouchement ou par l'allaitement. La transmission intra-utérine semble se produire lorsque le virus traverse le placenta et se multiplie ensuite au sein du cytotrophoblaste altérant sa capacité à se différencier et à envahir l'utérus, ce qui pourrait expliquer les complications fœtales observées. [126]

Le risque de transmission *in utero* est plus élevé lorsque la mère est infectée par le CMVH pour la première fois pendant la grossesse, comparé à une infection non primaire. [122] Bien que la gravité des séquelles tende à diminuer à mesure que la grossesse progresse, le risque de transmission augmente au fil des trimestres, étant plus élevé au troisième trimestre en comparaison aux deux premiers. [127] [128]

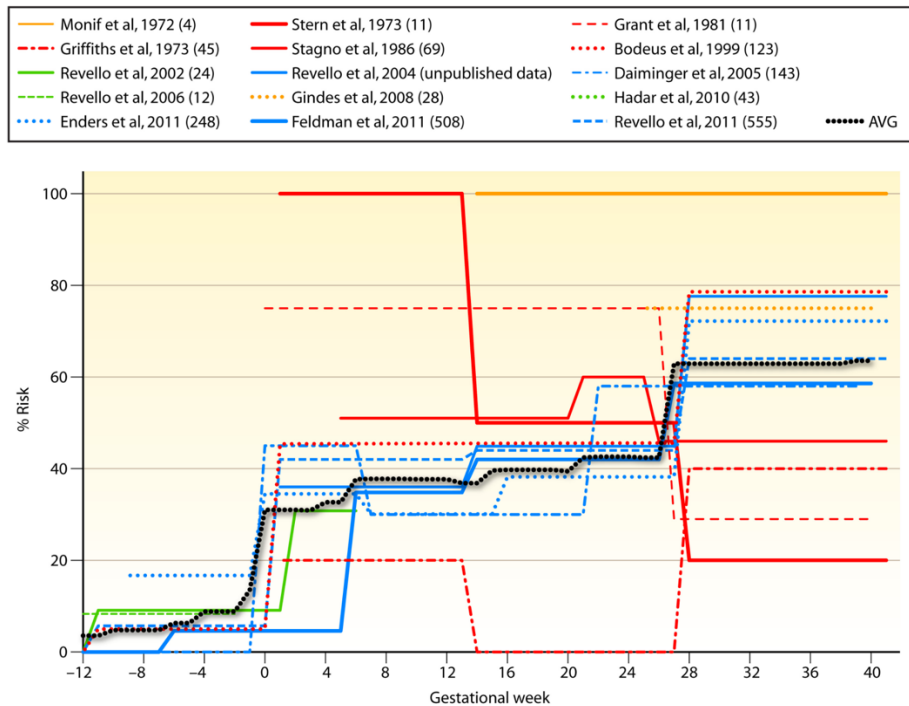


Figure 7 : Taux de transmission en fonction de l'âge gestationnel suite à une primo-infection maternelle, données compilées de 15 études [9]

La ligne pointillée noire représente les données regroupées des 15 études, à l'exception des données non publiées. Dans le cadre supérieur, les études référencées, entre parenthèses le nombre de patientes incluses.

Après la naissance, le CMVH est transmis au nourrisson par le lait maternel, mais aussi par transmission horizontale. [129] Le système immunitaire d'un nourrisson ne se développe pleinement qu'environ six mois après la naissance, ce qui limite sa capacité à répondre efficacement aux agents pathogènes. Cependant, les anticorps maternels transférés via le placenta et le lait maternel protègent généralement les nouveau-nés contre les infections au début de leur vie. Concernant l'infection par le cytomégalovirus (CMVH), les nouveau-nés peuvent être infectés *in utero*, lors de l'accouchement ou par le lait maternel contenant le virus. Environ 10 % des femmes excrètent le CMVH au niveau vaginal ou cervical, et le taux de transmission lors de l'accouchement est d'environ 50 %. Le lait maternel est aussi un moyen courant de transmission du virus de la mère à l'enfant. Environ 40 à 60 % des nourrissons allaités par des mères séropositives au CMVH sont infectés au cours de leur première année. Cela correspond à des études montrant que près de 95 % des échantillons de lait maternel testés contiennent de l'ADN du CMVH. [130] [131] [132]

L'infection postnatale à CMVH dont celles transmises lors de l'accouchement et par l'allaitement sont habituellement sans gravité chez les nouveau-nés en bonne santé nés à terme, mais elles peuvent provoquer des complications et des séquelles durables chez les prématurés. [133]

I.2.2.3. Manifestations cliniques

L'infection primaire durant la grossesse ne diffère pas de celle d'une personne immunocompétente, elle est asymptomatique dans 75 à 95 % des cas, mais peut aussi se manifester par une mononucléose légère ou un syndrome grippal avec fièvre et fatigue

persistantes. En revanche, les infections non primaires présentent moins souvent ces symptômes, avec un syndrome grippal observé dans moins de 10 % des cas. [121] [134]

Au cours d'une infection maternelle durant la grossesse, le CMVH au cours d'une virémie peut infecter le placenta conduisant à l'altération de ses fonctions nutritives et respiratoires, menant parfois à une fausse-couche ou un retard de croissance intra-utérin. [135]

Lorsque le CMVH se propage au fœtus, il infecte divers organes, avec une affinité particulière pour le système réticuloendothélial et le système nerveux central. Le virus provoque des lésions neuropathologiques, surtout dans les régions péri-ventriculaires, en raison de sa diffusion via le liquide céphalorachidien. Les cellules germinales sub-épendymaires, en pleine prolifération, sont particulièrement sensibles à l'infection. Par ailleurs, le CMVH peut interférer avec la migration neuronale, conduisant à des anomalies dans le développement cérébral. [136] [137]

A la naissance, 90% des nouveau-nés infectés sont asymptomatiques. Chez les nourrissons atteints d'un CMVc symptomatique, les principales manifestations cliniques incluent les pétéchies, un ictère néonatal, l'hépatosplénomégalie, et la microcéphalie. La moitié des nourrissons présente un retard de croissance intra-utérin, et 20 % d'entre eux souffrent de chorioretinite ou d'atrophie optique. Sur le plan biologique, les anomalies les plus fréquentes sont une élévation des transaminases, une hyperbilirubinémie conjuguée, et une thrombocytopenie. Près de la moitié des nourrissons symptomatiques présentent un retard de croissance pour leur âge gestationnel, et environ un tiers naissent prématurément. Alors que les premières données estimaient que près de 10 % de ces nourrissons mouraient durant la période néonatale, des données plus récentes indiquent que le taux de mortalité est probablement inférieur à 5 %. [138]

Les nourrissons présentant des symptômes à la naissance dus à un CMVc sont susceptibles de développer des handicaps psychomoteurs et perceptifs, tels que la surdité neurosensorielle, un retard mental avec un QI inférieur à 70, et la microcéphalie. Les signes précoces, comme la microcéphalie, la chorioretinite, et d'autres anomalies neurologiques, sont des indicateurs d'une issue neurologique défavorable. Une étude a identifié les pétéchies et le retard de croissance intra-utérin comme des facteurs prédictifs indépendants de la perte auditive. [138]

Concernant les atteintes auditives, il est à noter que parmi les 90 % de nouveau-nés asymptomatiques à la naissance, environ 10 % développent une surdité, un taux bien plus élevé que les 0,1 à 0,4 % observés dans la population générale. La moitié de ces enfants présentent une surdité bilatérale, dont la gravité peut varier. La perte auditive se manifeste souvent de manière progressive ou tardive, ce qui nécessite un suivi audiolinguistique prolongé pour les enfants infectés. [138] [139] [140] [141]

Les nourrissons atteints d'un CMVc peuvent présenter divers degrés de retard psychomoteur et cognitif, souvent non détectés avant l'âge d'un ou deux ans. Une étude sur des enfants diagnostiqués via un dépistage néonatal universel a montré que 43 % des enfants symptomatiques à la naissance et 5 % des asymptomatiques développent des déficits cognitifs. La déficience visuelle, qui touche environ 6 % des enfants symptomatiques et 3 % des asymptomatiques, peut varier de la cécité à la naissance à une perte partielle de vision détectée plus tard. L'infection congénitale à CMV est donc une cause majeure d'invalidité infantile souvent non diagnostiquée. Un dépistage néonatal pourrait améliorer les évolutions cliniques en permettant une détection précoce et des interventions adaptées, comme les

traitements antiviraux ou la prise en charge précoce des handicaps. La pathogénèse de ces complications reste mal comprise, ce qui souligne la nécessité d'un suivi continu de tous les enfants atteints d'une infection congénitale à CMVH. [138] [142]

I.2.2.4. Traitement de l'infection congénitale à cytomégalovirus

Les immunoglobulines hyper-immunes (HIG) sont des préparations d'immunoglobulines humaines spécifiques du CMVH fabriquées à partir de plasma humain provenant de donneurs sains ayant des titres d'anticorps anti-CMV élevés, et destinées à l'administration intraveineuse. Après avoir montré des résultats encourageants dans des études non randomisées, les HIG ont été évaluées dans deux essais cliniques randomisés en 2014 et 2020 qui n'ont pas objectivé d'efficacité significative de l'administration intraveineuse de 100 UI/kg d'HIG, lorsqu'elles étaient administrées toutes les 4 semaines pour prévenir la transmission verticale du CMVH au cours des premier et deuxième trimestres. [143] [144] La posologie et le rythme d'administration choisis dans ces essais randomisés n'ayant pas permis d'obtenir des résultats satisfaisants, une étude cas-témoins a utilisé des HIG à raison de 200 UI/kg toutes les 2 semaines chez des femmes enceintes présentant une primo-infection avant 14 semaines d'aménorrhée, avec une réduction de 70 % des taux de transmission verticale. [145] Des expérimentations *in vitro* ont également validé la nécessité d'augmenter la fréquence d'administration de ces HIG. [146] On pourrait donc envisager d'administrer le plus tôt possible des HIG à raison de 200 UI/kg toutes les 2 semaines. Néanmoins, cette approche ne fait pas encore l'objet d'un consensus.

Plusieurs études ont objectivé depuis 2020 que le VACV, antiviral déjà utilisé pour le traitement de l'infection par l'HSV en cours de grossesse, permettait de réduire de 70% la transmission verticale du CMVH à la dose de 8g par jour en cas de primo-infection survenant en péri-conceptionnel ou lors du 1^{er} trimestre de la grossesse. [147] Ces données ont été confirmées par une méta-analyse en 2023. [148] Il est recommandé de prendre le traitement en 4 prises de 2g par jour pour améliorer la biodisponibilité et limiter les effets indésirables tel que l'insuffisance rénale aigüe. Par ailleurs, plus le traitement est pris rapidement après la primo-infection, plus il sera efficace, ce qui renforce l'intérêt d'une surveillance sérologique précoce. Une fois initié, le traitement doit être poursuivi jusqu'à la réalisation de l'amniocentèse. En cas de PCR sur LA négative, le traitement est arrêté et un dépistage est réalisé à la naissance chez le nouveau-né. En cas de PCR sur LA positive, le traitement est poursuivi jusqu'au terme de la grossesse et suivi également d'un dépistage chez le nouveau-né. A ce jour, il n'existe pas d'argument pour traiter une femme enceinte en cas de primo-infection au cours du 2^e et du 3^e trimestre de grossesse par valaciclovir.

I.2.3. Infection à cytomégalovirus de l'immunodéprimé

Le CMVH est considéré comme l'un des pathogènes opportunistes les plus courants chez les patients immunodéprimés. Ces patients sont à risque de développer des infections virales en raison d'une infection primaire, d'une réinfection (chez un hôte déjà séropositif) ou d'une réactivation du virus latent. Il a été démontré que plus l'atteinte du système immunitaire est importante, plus le risque de maladies liées au CMVH est élevé. Les patients ayant reçu une greffe de cellules souches allogénique et ceux atteints du syndrome d'immunodéficience acquis (SIDA) présentent les manifestations les plus sévères de la maladie. L'infection et les maladies liées au CMVH sont également observées chez les patients ayant reçu une greffe d'organe solide et chez les patients atteints de cancer ou sous traitement immunosuppresseur.

Les manifestations cliniques chez ces patients peuvent varier d'une maladie fébrile de courte durée à l'atteinte de plusieurs organes.

I.2.3.1. Physiopathologie

Comme nous avons évoqués précédemment, l'immunité adaptative et principalement l'immunité cellulaire est nécessaire dans la surveillance immunitaire permettant de répondre à une infection primaire à CMVH et de contenir cette infection sous forme latente. En cas de déficit de cette dernière, l'infection à CMVH s'emballe, se généralise et en raison du tropisme épithélial du CMVH est responsable d'atteintes systémiques notamment de rétinite et de pneumopathies sévères.

Une étude a également montré qu'un faible nombre de lymphocytes T CD4 ($< 100/\mu\text{L}$) et de lymphocytes T CD8 ($< 50/\mu\text{L}$) à cette période est corrélé à une faible immunité spécifique contre le CMVH. [149] Une autre étude a mis en avant que chez les patients ayant subi une greffe de cellules souches hématopoïétiques (HCT), un faible nombre de lymphocytes, notamment un taux de lymphocytes T CD4+ inférieur à 50 cellules par microlitre trois mois après la transplantation, constitue un facteur de risque important pour le développement d'une maladie à CMVH à apparition tardive. [150]

La réactivation virale est une cause fréquente d'infection systémique par le CMVH chez les patients ayant reçu une greffe d'organe solide ou de cellules souches, le virus étant généralement détecté dans le sang ou les sécrétions 4 à 8 semaines après la transplantation. L'infection primaire par le CMVH chez ces patients entraîne généralement plus de complications que celle résultant de la réactivation d'un virus latent ou d'une réinfection chez une personne séropositive. [151] [152] [153]

Dans l'année suivant la greffe, plus de la moitié des patients greffés présenteront une primo-infection ou une réactivation à CMVH. Dans le cadre d'une greffe, le donneur peut être séropositif pour le CMVH et le transmettre à l'état latent par le biais du greffon transplanté au receveur séronégatif ou séropositif (D+/R- ; D+/R+). Le receveur pourra alors présenter une primo-infection ou une réactivation d'origine exogène. L'infection chez un receveur séropositif peut également provenir d'une réactivation d'une infection antérieure à la greffe en cas de donneur séronégatif. Enfin, les patients greffés (D-/R-) ne développeront d'infection à CMV qu'en cas de primo-infection. [154]

L'infection à CMVH est définie par la présence d'une réplication virale détectable dans le sang. Lorsque des signes cliniques sont présents, il s'agit d'une maladie à CMVH : on parle de syndrome CMV en cas de signes tels que la fièvre accompagnée ou non d'anomalies biologiques et d'infection invasive en cas d'atteinte d'organe.

I.2.3.2. Manifestations cliniques

Chez les patients ayant reçu une greffe d'organe, les symptômes les plus fréquents sont l'hyperthermie, la leucopénie, l'asthénie, des arthralgies et une éruption cutanée maculaire. Des complications plus graves, telles que la pneumopathie, des ulcérations gastro-intestinales, des hépatites, une rétinite, des surinfections fongiques et bactériennes, ainsi qu'un rejet du greffon, sont également décrites. [152]

Chez les patients ayant reçu une greffe de cellules souches, la manifestation la plus courante de l'infection par le CMVH est une pneumonie interstitielle, avec un taux de mortalité élevé

(>50%), même avec un traitement antiviral. D'autres complications, comme une hépatite, une encéphalite et une rétinite, ont aussi été rapportées. [153]

L'infection par le CMVH est considérée comme l'un des principaux pathogènes opportunistes chez les patients atteints du SIDA et a été associée à la progression de l'infection par le VIH. La prévalence sérologique du CMVH dans cette population est élevée, touchant presque tous les adultes et environ la moitié des enfants séropositifs pour le VIH. Avant l'introduction de la trithérapie antirétrovirale, environ 40 % des adultes et 10 % des enfants atteints du SIDA présentaient des manifestations cliniques de la maladie liée au CMVH, telles que la rétinite, l'œsophagite et la colite. Des cas rapportés ont également documenté d'autres manifestations, notamment l'encéphalite, la neuropathie, la polyradiculonévrite, la pneumopathie, la gastrite et des hépatites. [155] [156]

La rétinite à CMVH, peut se manifester par une perte de vision ou par la perception de "corps flottants" dans le champ visuel, bien qu'elle puisse aussi être asymptomatique et n'être détectée que lors d'un examen clinique. Cette affection est causée par une infection lytique du CMVH, comme en témoigne l'amélioration clinique avec un traitement antiviral (GCV associé à du FOS intravitréen en cas de menace immédiate pour la vue). La guérison se fait par fibrose, ce qui expose le patient à un risque accru de décollement de la rétine, une cause majeure de cécité. [157]

La pneumonie à CMVH est la manifestation la plus grave du virus chez les receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques, avec un taux de mortalité de plus de 50 %. Elle se présente souvent par une hyperthermie, une toux non productive, une hypoxie et des infiltrats interstitiels visibles à la radiographie. [153]

I.2.3.3. Traitement

La prophylaxie correspond à la mise en place d'un traitement antiviral chez des patients receveurs et à risque pendant 3 à 12 mois. Le type de prophylaxie est choisi selon le type de greffe ainsi que le statut sérologique du patient. Généralement, le VGCV est utilisé pour prévenir les infections à CMVH chez les greffés d'organe solide. La prophylaxie repose sur l'administration de GCV par voie intraveineuse dans les premiers jours suivant la transplantation, avec un relais par VGCV à dose prophylactique quelques jours plus tard. Chez les patients receveurs de cellules souches hématopoïétiques séropositif pour le CMV, une prophylaxie par letermovir est proposée. Avec cette stratégie thérapeutique, il n'est observé que de très rares cas de réplication virale.

Le traitement préemptif repose sur la quantification hebdomadaire de l'ADN du CMVH présent dans le sang des patients. Lorsque la charge virale augmente de façon significative, un traitement par VGCV est proposé.

Le traitement de référence de l'infection à CMVH, est le traitement par GCV ou VGCV. Le VGCV oral présente une sécurité comparable au GCV IV et a démontré sa non-infériorité pour le traitement de la maladie à cytomégalovirus chez les receveurs de greffes d'organes. Dans le cas d'une pneumopathie à CMV, une association avec les immunoglobulines intraveineuses (IGIV) peut être envisagée. Les études ont montré des taux de survie améliorés par rapport aux cohortes historiques. Il ne semble pas y avoir d'avantage spécifique de l'immunoglobuline spécifique du CMVH (HIG) par rapport au IGIV. La rétinite à CMVH est généralement traitée par voie systémique avec du GCV avec ou sans injections ou implants intraoculaires de GCV. D'autres manifestations de la maladie à CMVH, telles que l'hépatite, la gastrite et l'encéphalite,

sont rares et sont généralement traitées par GCV intraveineux. La durée du traitement de ces manifestations n'a pas été bien établie et doit être adaptée à chaque situation. [153] [158] [159] [160] [161]

En cas de toxicité des antiviraux ou d'émergence de souches résistantes, le FOS était classiquement utilisé en première intention. Le MBV a obtenu son AMM pour la prise en charge des infections à CMVH réfractaires ou résistantes et présente peu d'effets indésirables notamment une absence de néphrotoxicité qui limite l'utilisation du FOS.

I.3. Diagnostic d'une infection à cytomegalovirus

Le diagnostic d'une infection à CMVH est clinico-biologique, reposant comme évoqué précédemment sur des arguments cliniques inconstants, et arguments biologiques. On retrouve fréquemment lors d'une primo-infection à CMVH un syndrome mononucléosique sanguin avec une hyperlymphocytose accompagnée de cellules mononuclées hyperbasophiles, une élévation des marqueurs d'inflammation (protéine C réactive) et d'une cytolysé hépatique révélée par une élévation des transaminases.

Actuellement le diagnostic d'une infection à CMVH repose soit sur la mise en évidence direct du virus soit sur la recherche d'une réponse immunitaire spécifique.

I.3.1. Méthodes directes

I.3.1.1. Culture cellulaire

Initialement, la culture cellulaire était la seule méthode de diagnostic direct. Des cellules de lignée humaine sensibles, comme la lignée MRC-5 (fibroblastes de poumon d'embryon humain) étaient inoculées avec des échantillons cliniques (salive, urine...). L'effet cytopathogène observé au microscope optique permettait de conclure à la présence de virus au sein de l'échantillon. Cette méthode non seulement longue (2 à 3 semaines) manquait de sensibilité. [162] [163]

La mise en place d'une centrifugation couplée à la détection antigénique précoce par immunofluorescence a permis de réduire encore le délai de rendu et d'augmenter la spécificité diagnostique. [164] [165]

I.3.1.2. Antigénémie

La détection d'antigène viral au sein d'échantillons biologiques appelé antigénémie, a été mise au point dans les années 80 pour le suivi de l'infection à CMVH chez les patients immunodéprimés. Il permettait de détecter par immunofluorescence la protéine virale pp65 au sein des polynucléaires neutrophiles isolés à partir d'un prélèvement sanguin. [166]

Bien que présentant une spécificité intéressante, ce test manquait globalement de sensibilité et ne permet pas de conclure à l'absence d'infection en cas de négativité. [167]

I.3.1.3. Biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire par polymérisation en chaîne (PCR) ont supplanté les autres méthodes de diagnostic direct. Rapides, reproductibles et hautement sensibles et spécifiques, elles constituent à l'heure actuelle la technique la plus couramment utilisée. Elle est réalisable dans de nombreuses matrices : sang, urine, humeur vitrée... [168] [169]

La PCR quantitative en temps réel (qPCR) permet de déterminer les charges virales (nombre de copies par unité de volume de matrice) grâce à une gamme de quantification. La positivité du liquide amniotique pour le CMVH peut être déterminée par culture virale ou PCR, mais la méthode de référence actuelle est la PCR réalisée après 21 semaines de gestation et au moins 6 à 8 semaines après l'infection maternelle. [168]

Les techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS) permettent une approche globale en permettant le séquençage de plusieurs gènes à la fois avec une plus grande profondeur d'analyse. Ces méthodes génétiques moléculaires modernes permettent de génotyper divers agents pathogènes pour améliorer la surveillance épidémiologique moléculaire. [170] Le NGS ciblé pour tester la résistance au CMVH permet l'analyse simultanée de plusieurs gènes pour identifier les mutations de résistance associées. [171]

Le NGS ne se positionne pas comme une technique diagnostique de l'infection à CMVH mais plutôt du suivi épidémiologique des souches ou bien dans la détermination précoce des résistances aux antiviraux.

I.3.2. Méthodes indirectes

Les méthodes de sérodiagnostic sont dites méthodes indirectes, car elles se basent sur la réponse immunitaire de l'hôte. C'est par la mise en évidence d'immunoglobulines spécifiques du pathogène que l'on peut affirmer ou non un contact plus ou moins récent avec le virus.

Lors d'une infection à CMVH, la réponse immunitaire adaptative se met en place rapidement. Les premiers anticorps produits sont de type IgM dès la première semaine après l'infection. Puis l'apparition d'anticorps de type IgG, signe d'une séroconversion et d'une commutation de classe, se déroule au cours de la 2 à 3^{ème} semaine. A ce stade, ces IgG sont de faible avidité, cette dernière augmente au cours du temps, témoin de la maturation d'affinité des IgG. Les IgM disparaissent progressivement dans le temps, au cours des 3 premiers mois pour la plupart des patients (courbe A), mais peuvent également persister dans le temps (courbe B). La variation relative des niveaux d'IgM, d'IgG et d'avidité des IgG anti-CMV au fil du temps après une infection primaire à CMV est présentée en figure 8. Chez un individu positif aux IgG anti-CMV, un résultat positif aux IgM indique une infection survenue environ 3 mois auparavant si l'individu présente le schéma A des IgM, mais environ 6 mois auparavant si l'individu présente le schéma B des IgM. En utilisant le test d'avidité des IgG anti-CMV, le temps écoulé depuis l'infection peut être déterminé avec plus de précision ; un résultat de faible avidité indique une infection primaire survenue environ 3 mois auparavant, tandis qu'un résultat de forte avidité indique une infection primaire survenue plus de 6 mois auparavant. [172]

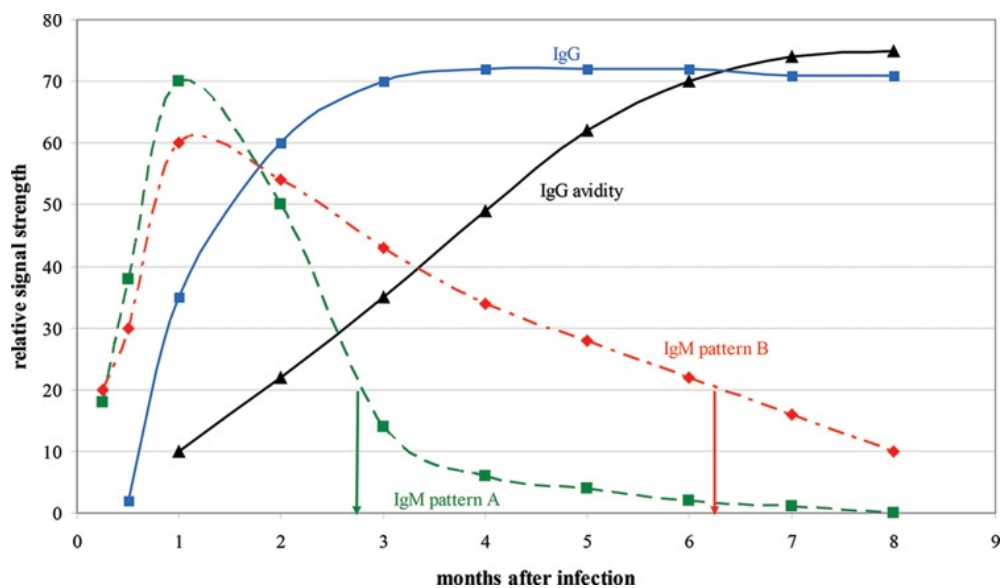


Figure 8 : Évolution de la réponse immunitaire humorale dirigée contre le CMVH en fonction du temps [172]

I.3.2.1. Dosages immunoenzymatiques des immunoglobulines

Les tests sérologiques ont une importance capitale dans le diagnostic de l'infection à CMVH chez les patients à risque. [173] Ils reposent sur des méthodes immunoenzymatiques (ELISA) automatisées, divergeant en fonction du fournisseur. La détection des IgG ou IgM se fait par fixation de ces dernières à un lysat viral de CMVH, révélé en suivant par une immunoglobuline anti-IgG ou anti-IgM couplée à une enzyme. La révélation se fait par ajout d'un substrat. L'utilisation d'une gamme étalon permet de déterminer le taux d'IgG ou IgM présents dans l'échantillon.

Les tests CMV IgG et CMV IgM sont des outils sérodiagnostic rapides et sensibles. Cependant, contrairement au test CMV IgG, la sensibilité et surtout la spécificité des tests CMV IgM sont beaucoup plus variables, notamment en cas d'infection à EBV, de Parvovirus B19 ou bien en cas de présence d'un facteur rhumatoïde (FR). [174] Les tests conventionnels pour détecter les anticorps IgM contre le CMVH souffrent de sensibilité ou de spécificité limitées ; des études ont identifié des protéines virales recombinantes comme antigènes potentiels, notamment des fragments des protéines p52 et pp150, mais ces derniers n'indiquaient pas toujours une infection aiguë. Des analyses récentes ont révélé que le fragment UL57/3 de la protéine pUL57, combiné avec p52 et une version tronquée de pp150, offre une meilleure détection des anticorps IgM. Le test ELISA utilisant cette combinaison a montré une sensibilité et une spécificité supérieures, surpassant les tests commerciaux actuels pour diagnostiquer les infections aiguës par le CMVH. [175] [176] D'autres résultats ont montré que trois polypeptides recombinants spécifiques, couvrant des fragments de p150 et p52, permettent une détection sensible et spécifique des IgM, améliorant ainsi le sérodiagnostic de l'infection aiguë par le CMVH. [177]

Cependant malgré ces avancées en matière de production d'antigènes recombinants pour la mise en place de sérologies plus spécifiques, les trousse automatisées utilisent encore les lysas viraux, probablement pour des raisons économiques.

Une étude récente a montré que les tests automatisés LIAISON® CMV II sont comparables à celles des méthodes de référence, ce qui en fait un outil utile pour le diagnostic des infections à CMVH et pour évaluer le statut immunitaire. [178]

I.3.2.2. Mesure de l'avidité

Plus l'immunoglobuline est avide plus elle est ancienne, cela est due à la maturation d'avidité qui est un processus naturel au cours de la réponse immunitaire, reflétant la maturation des plasmocytes qui produisent des anticorps de plus haute affinité pour l'antigène correspondant (figure 8). [172]

Le dosage de l'avidité des IgG se réalise en comparant deux échantillons de sérum, l'un traité avec un agent dénaturant (urée par exemple) et l'autre sans, en utilisant des tests ELISA. La différence entre les résultats permet d'évaluer l'avidité des IgG, exprimée sous forme d'indice ou de pourcentage. Chaque méthode nécessite des seuils d'interprétation propres. En général, les tests commerciaux définissent un seuil d'avidité élevée, indiquant une infection ancienne (plus de 3 mois), et un seuil d'avidité faible, suggérant une infection récente (moins de 3 mois). Si l'avidité se situe entre ces deux valeurs, elle est qualifiée d'intermédiaire et ne permet pas une datation précise. [179] [172] [180]

L'indice d'avidité des IgG anti-CMV s'est révélé être un test sérologique efficace pour diagnostiquer une infection primaire à CMVH. La détection d'anticorps IgM spécifiques du CMVH couplés à des anticorps IgG de faible avidité est considérée comme un diagnostic d'infection primaire à CMVH. Dans une étude, cet indice était significativement plus faible chez les patients atteints de primo infection à CMVH (35 %) par rapport à ceux ayant un CMVH secondaire (88,3 %). La sensibilité et la spécificité de ce test étaient de 85,7 % et 97,4 %, respectivement, ce qui en fait un outil intéressant pour le diagnostic d'infection primaire à CMVH. [181]

L'utilité diagnostique d'un test d'avidité des IgG anti-CMV réflexe sur des échantillons positifs en IgM anti-CMV provenant de femmes enceintes a été évalué dans une étude. L'utilisation du test CMV IgM, suivi d'un test d'avidité, permettait un diagnostic plus précis de l'infection à CMVH chez les femmes enceintes. [182]

Une étude a montré que le test LIAISON® CMV IgG Avidity atteint plus rapidement un statut d'avidité plus élevé que le test VIDAS® CMV IgG Avidity. Cependant, le test LIAISON® CMV IgG Avidity II, identifie des sérums rares avec des valeurs d'avidité positives élevées dans les séroconversions récentes documentées. Les avantages et les inconvénients de chaque test doivent être connus pour une interprétation correcte des résultats. [183] D'autres données ont permis de suggérer de nouvelles valeurs seuils VIDAS de 0,40 pour une faible avidité et de 0,65 pour une avidité élevée, ce qui augmenterait considérablement les performances du test. [184]

La mesure du delta d'avidité chez les femmes enceintes pourrait être utile pour estimer le risque de transmission du CMVH de la mère au nouveau-né. En effet, une étude s'est intéressée à la variation de l'indice d'avidité chez des femmes au cours de la grossesse. Le delta d'indice d'avidité des femmes atteintes d'une CMVc était significativement plus élevé que celui des femmes non atteintes. L'étude a démontré que l'incidence du CMVc était de 100 % chez les mères avec une variation d'indice d'avidité élevée (>10%), et de 0% en cas de delta d'avidité faible (<5%). [185]

La mesure de l'avidité des anticorps IgG anti-CMV est donc utile pour le diagnostic d'une séroconversion récente en cas de suspicion d'infection primaire à CMV, et l'évaluation des atteintes fœtales au cours d'un CMVc. Elle présente cependant certaines limites. Des index d'avidité faussement bas ou faussement élevés ont été observés lorsque le taux d'IgG est faible ou très élevé, et doit donc être interprété avec précaution. De plus, la variabilité interindividuelle de la maturation des IgG a pour conséquence la persistance d'une avidité basse ou intermédiaire chez certains individus, ce qui peut limiter un diagnostic correct voire générer un diagnostic incorrect. [178] [186] [187] [188]

I.3.2.3. Immunoblot

Les techniques d'immunoempreinte se caractérisent par la séparation des antigènes viraux sur une bandelette de nitrocellulose. Le Western blot a été la première technique développée. Cette technique utilise le principe de migration en gel, sous effet d'un champ électrique, des protéines virales avant transfert sur membrane de nitrocellulose. L'immunoblot ou dot-blot correspond au dépôt d'antigènes purifiés en amont sur la membrane de nitrocellulose. Ces tests permettent de caractériser la réponse immunitaire spécifique à différents antigènes. Ces techniques hautement spécifiques sont utilisées dans la confirmation d'infections virales comme le virus de l'immunodéficience humaine (HIV), bactériennes comme la borréliose de Lyme ou la syphilis, et parasitaire notamment dans le cadre de suspicion de toxoplasmose congénitale. [189] [190] [191]

Au-delà de leurs spécificités, ces techniques permettent de caractériser la réponse humorale en déterminant la spécificité des anticorps. Les anticorps anti-CMV2 (ou anti-p52) sont visualisable précocement au cours du premier mois après une infection primaire, les anti-P150 sont eux retardés jusqu'au deuxième mois. [192] Les anticorps spécifiques des glycoprotéines virales, notamment de la gB, ne deviennent détectables qu'avec un retard considérable par rapport à la séroconversion du CMV. Ainsi, l'évaluation des anticorps spécifiques des glycoprotéines pourrait servir d'indicateur pratique dans la datation d'une infection à CMV. Une étude s'est intéressée à la mise en place d'un ELISA IgG spécifique de la gB et a mis en évidence que ce marqueur était corrélé à une infection ancienne à CMV. [193]

Le Western blot a été la première technique développée pour confirmer le diagnostic du CMV. Concernant la détection des IgM, une étude s'est intéressée aux méthodes pour détecter les IgM spécifiques du CMV via des tests Western Blot (WB). Deux types de WB sont comparés : le test conventionnel utilisant des protéines virales structurales et un nouveau test utilisant des protéines recombinantes (pp150, p52 et p130). Les protéines recombinantes, obtenues et purifiées, montrent une sensibilité de 95,0% et une spécificité de 92,5%, surpassant les performances des tests conventionnels. L'étude concluait que les protéines recombinantes permettent une meilleure détection des IgM spécifiques du CMV, réduisant les réactions croisées et améliorant la fiabilité du diagnostic. [194]

Les immunoblots IgM et IgG ont rapidement pris la place sur le marché, l'utilisation de protéines recombinantes permettant la standardisation de la production, et augmentant la spécificité diagnostique.

Concernant la mesure de l'avidité, une étude a comparé les tests VIDAS® CMV IgG avidity et *recomBlot* CMV IgG avec avidité. Le test VIDAS® a révélé que pour un indice d'avidité (IA) inférieur à 40 %, la sensibilité pour détecter une infection primaire survenue dans les 20 dernières semaines était de 93,4 %, tandis que pour un IA intermédiaire, la spécificité pour exclure une infection survenue dans les 12 dernières semaines était de 88,2 %. Le test

recomBlot, quant à lui, a montré une sensibilité élevée avec une valeur prédictive positive de 96,9 % pour les infections dans les 14 dernières semaines, malgré une difficulté d'interprétation dans 23,4 % des cas. En somme, ces tests d'avidité sont particulièrement efficaces pour dater l'infection primaire lorsqu'ils sont réalisés au premier ou au début du deuxième trimestre de grossesse, offrant ainsi des informations cruciales pour évaluer le risque de maladie congénitale associée à des infections précoces. [195]

Une autre évaluation des performances des tests immunoblot *recomLine* CMV IgG® et IgG Avidité® par rapport au VIDAS CMV IgG Avidité® a montré que la combinaison des tests immunoblots fournissait une interprétation précise dans 83,1 % des cas et offrait une meilleure sensibilité pour détecter les infections survenues dans les 14 semaines, avec une sensibilité de 85,9 % contre 76,9 % pour VIDAS®. En revanche, les tests immunoblots ont donné des résultats incorrects dans 4,5 % des cas et non concluants dans 12,4 %. De plus, pour les échantillons présentant une avidité intermédiaire avec VIDAS®, l'évaluation des immunoblots a permis de fournir des informations supplémentaires sur le moment de l'infection dans 79 % des cas. [196]

Ainsi, les immunoblots IgM semblent présenter un intérêt par une spécificité accrue, de plus la détermination de l'avidité et le profil de l'immunoblot IgG semblent être un outil utile pour la confirmation et la datation plus précise des infections primaires à CMVH.

1.3.3. Diagnostic d'une infection congénitale à cytomégalovirus

Le diagnostic d'une primo-infection à CMVH chez la femme enceinte repose sur la sérologie. Bien que le screening sérologique ne soit pas recommandé de façon systématique, il est fréquemment réalisé au cours du 1er trimestre de la grossesse. [197]

L'infection primaire maternelle à CMVH pendant la grossesse peut être confirmée par la mise en évidence d'une séroconversion (transition d'IgG anti-CMV négatif à positif sur 2 prélèvements successifs) si un échantillon de sérum préconceptionnel ou de la première visite prénatale est disponible. En l'absence de tel échantillon, la présence d'IgG et IgM anti-CMV peut suggérer une infection primaire récente et doit faire réaliser une mesure d'avidité. En effet la détermination de la maturité des IgG anti-CMV permet la datation approximative de l'infection. Les IgG anti-CMV de faible affinité, produits sont progressivement remplacés par des IgG avec une affinité plus élevée au cours de la maturation. Un indice d'avidité élevé des IgG anti-CMV exclut une infection primaire récente et, lorsqu'il est détecté avant 12 à 16 semaines de gestation, indique un risque considérablement réduit d'infection congénitale. À l'inverse, des IgG à faible avidité associés à un IgM anti-CMV réactif étayent fortement le diagnostic d'une infection primaire maternelle au cours des 3 mois précédents. La présence d'IgM anti-CMV réactives, pouvant survenir tant dans les infections primaires que non primaires et persister plusieurs mois après l'infection initiale, n'est pas un indicateur fiable du risque d'infection congénitale. [198] [199] [200] [201]

Le risque élevé de transmission verticale après une infection maternelle primaire rend nécessaire la réalisation d'un test prénatal invasif. La PCR CMV dans le liquide amniotique est le test recommandé pour confirmer une infection fœtale. Étant donné que l'infection fœtale peut être détectée seulement 6 à 8 semaines après l'infection maternelle, l'amniocentèse devrait être effectuée entre 20 et 21 semaines de gestation, soit au moins 7 semaines après l'infection maternelle. La sensibilité de la PCR pour le diagnostic prénatal est supérieure à celle des techniques de culture virale ; lorsqu'elle est effectuée dans les conditions optimales, elle approche les 100 %. [169] [202]

Actuellement, il n'existe pas de méthode fiable pour diagnostiquer les infections non primaires. Dans certains cas, on observe une élévation des IgG, l'apparition d'IgM ou la détection d'une charge virale dans le sang, tandis que dans d'autres cas, ces paramètres restent inchangés. La fréquence de ces variations sérologiques ou moléculaires, ainsi que leur relation avec une réactivation ou une réinfection, demeure incertaine. [203] [204] [205]

Bien que le prélèvement de sang fœtal soit rarement nécessaire pour diagnostiquer un CMVc, la présence d'une thrombocytopénie, d'une anémie hémolytique, d'une élévation des transaminases hépatiques et d'IgM anti-CMV dans le sang fœtal peut indiquer une infection à CMVH du fœtus. [168]

Les premiers signes d'un CMVc peuvent parfois être détectés lors d'une échographie fœtale de routine à 20 semaines de gestation. L'intestin hyperéchogène peut constituer le premier indice d'une infection à CMVH *in utero*. D'autres signes potentiels incluent des anomalies du développement cérébral (comme les calcifications et les ventricules élargis), la microcéphalie, un retard de croissance fœtale, des anomalies du liquide amniotique (oligohydramnios ou polyhydramnios), une hypertrophie du placenta, une hépatosplénomégalie ou des calcifications hépatiques, ainsi que l'ascite. [206]

La confirmation de l'infection du nouveau-né repose sur la réalisation d'une PCR sur urine ou salive dans les 10 jours suivant la naissance. En cas de PCR positive sur salive, une confirmation doit être effectuée par une PCR sur urine car la salive peut être contaminée par une excrétion virale maternelle dans le lait en cas d'allaitement maternel. La valeur de la charge virale n'a pas de valeur pronostic sur l'évolution clinique. [169] [179] [198] [202]

Les examens à réaliser pour les nouveau-nés atteints d'une infection congénitale symptomatique à CMVH doivent inclure une PCR sanguine, une numération globulaire complète, des tests de la fonction hépatique, une audiométrie, un dépistage ophtalmologique et une imagerie cérébrale. [9]

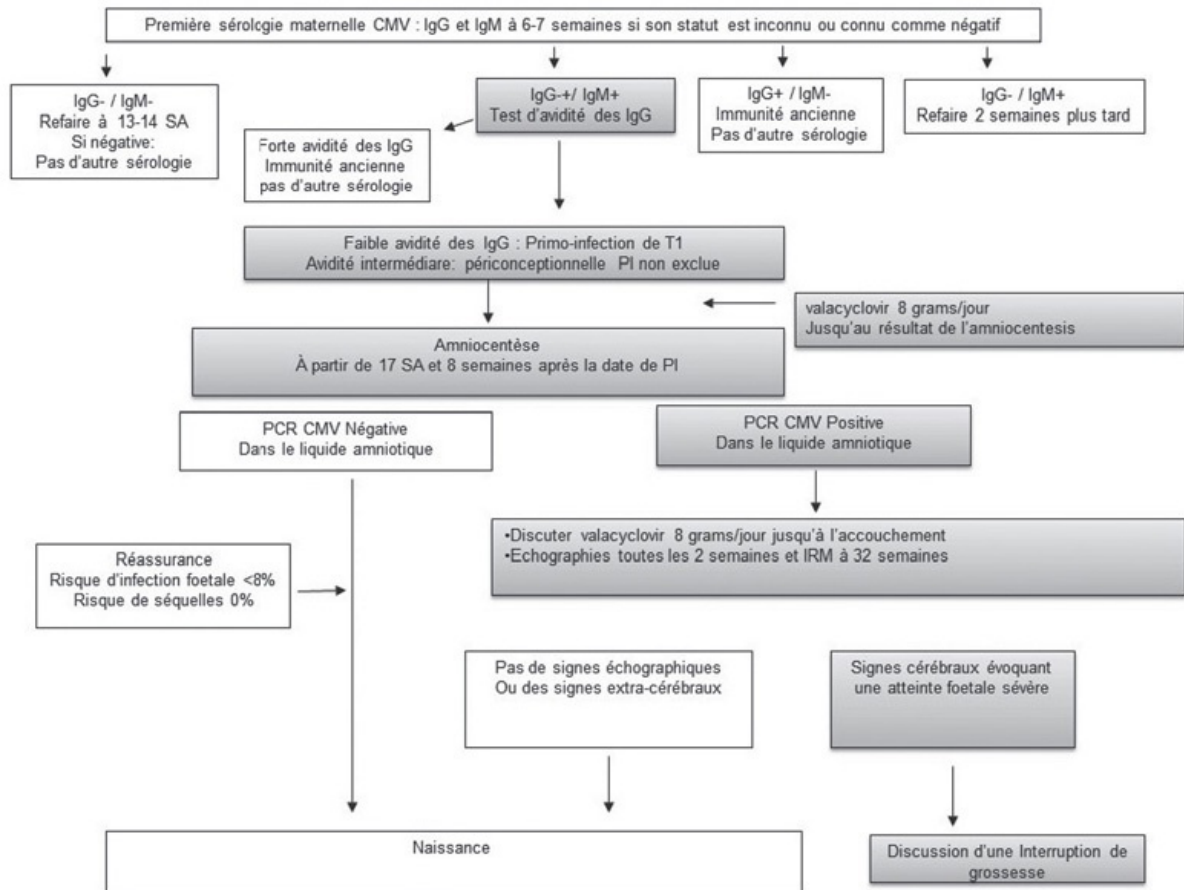


Figure 9 : Algorithme de diagnostic et de prise en charge proposé pour le CMVc. Faure-Bardon et al. « Diagnostic, pronostic et prise en charge de l'infection congénitale à cytomégalovirus (CMV) pendant la grossesse ».

I.3.4. Diagnostic d'une infection à cytomégalovirus de l'immunodéprimé

Le dosage des anticorps spécifiques du CMVH (IgG et IgM) est essentiel pour évaluer le risque d'infection à CMVH après transplantation, mais elle ne peut pas être utilisée pour diagnostiquer une infection ou une maladie liée au CMVH lors des réactivations ou des surinfections.

La culture du CMVH dans des tissus prend plusieurs semaines, rendant cette technique obsolète pour le diagnostic chez les receveurs de greffe.

L'antigénémie pp65 positif est prédictif du développement d'une maladie invasive chez les patients transplantés mais n'est plus utilisée en pratique courante.

La PCR CMV sur sang est la méthode la plus sensible pour détecter le CMVH. La qPCR permet l'amplification et la mesure quantitative de l'ADN du CMVH tout en maintenant une grande spécificité. Elle permet le suivi des patients greffés en post-transplantation. Des niveaux élevés d'ADN dans le sang (sang total ou plasma) sont un bon indicateur de la maladie à CMVH chez les receveurs de greffe. Bien que la PCR ait été utilisée sur les liquides de lavage broncho-alvéolaire (LBA), les seuils de charge virale n'ont pas été définis. Elle peut également être réalisée sur différents tissus et liquides biologiques pour faire le diagnostic de maladie à CMVH. La quantification permet de suivre l'efficacité du traitement antiviral et de suspecter une éventuelle résistance en cas de baisse non significative de la charge virale. [153]

Objectif de l'étude

Au regard de la littérature il apparaît clair que la place de la sérologie dans le diagnostic des infections à CMV chez les femmes enceintes et les patients immunodéprimés joue aujourd'hui encore un rôle prédominant.

La sérologie automatisée, utilisant les techniques immunoenzymatiques, présente d'excellents résultats de sensibilité et de spécificité sur les taux d'immunoglobulines élevés en population générale. Cependant, en cas d'interférences analytiques (infection à EBV ou parvovirus B19, facteur rhumatoïde) ou taux plus faible d'IgG, ces performances diagnostiques semblent plus limitées. D'autre part la datation d'un CMVc peut parfois être délicate. En effet en absence de sérologie de début de grossesse, la découverte d'une double positivité IgM/IgG doit faire suspecter une séroconversion au cours de la grossesse mais des fausses positivités IgM sont fréquentes.

Les immunoblots sont utilisés pour la confirmation de nombreuses autres infections. De plus ils permettent d'évaluer la réponse humorale en déterminant la spécificité des anticorps. Cette évaluation permet selon le profil de préciser la date de l'infection.

L'immunoblot *recomLine* CMV MIKROGEN® se positionne comme technique de sérodiagnostic pour la détection des IgM et IgG, ainsi que la mesure de l'avidité.

L'objectif de ce travail est triple. Premièrement il s'agit d'étudier les performances diagnostiques globales des immunoblots *recomLine* CMV MIKROGEN®. Deuxièmement d'évaluer sa place en technique de confirmation en cas de sérologie douteuse. Et enfin d'évaluer sa place dans la datation rétrospective d'une infection à CMV.

Pour ce faire nous avons réalisé une étude rétrospective à partir de la banque de sérum du laboratoire de virologie du CHU de Limoges. Nous avons sélectionné nos populations d'intérêt puis réalisé les dosages d'immunoglobulines par les trois techniques automatisées disponibles au sein du laboratoire : ALINITY®, LIAISON® et VIDAS® puis en fonction du contexte nous avons réalisé un immunoblot *recomLine* CMV IgG® et/ou un immunoblot *recomLine* CMV IgM®.

II. Matériels et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Échantillons de sérum

Les sérums ont été sélectionnés à partir d'une extraction de données du logiciel informatique du laboratoire (SIL) GLIMS® sur une période de trois ans (2021-2023), concernant toutes les sérologies CMVH réalisées au CHU de Limoges (période correspondant à la durée de conservation de notre sérothèque). Afin d'affiner notre sélection de patients, l'extraction de données comportait le service prescripteur, la date de naissance, le renseignement d'une éventuelle grossesse en cours, les résultats des sérologies CMVH, et éventuellement EBV et parvovirus B19 en cas de disponibilité. Les résultats de PCR CMV sur dossiers contemporains de la réalisation de la sérologie CMV ont également été extraits du SIL.

Cette extraction de données a permis d'obtenir 39097 dossiers comportant a minima une sérologie CMV LIAISON XL® IgG et IgM. A partir de ces données, plusieurs sélections ont été effectués sur Microsoft EXCEL® afin de sélectionner différentes populations d'études :

- des sérologies CMVH positives en IgM avec un seuil supérieur à 22 UI/mL et négatives avec un seuil inférieur à 18 UI/mL) afin de valider les performances diagnostiques en population générale des immunoblots IgM.
- des sérologies CMVH positives avec un seuil supérieur à 14 UI/mL et négatives avec un seuil inférieur à 12 UI/mL, afin de valider les performances diagnostiques en population générale des immunoblots IgG.
- des sérologies négatives en IgG et positives en IgM hors contexte de primo infection à CMVH (PCR négative ou absence de séroconversion dans le temps) et présentant des profils sérologiques de primo-infection à EBV ou parvovirus B19 ou la présence d'un facteur rhumatoïde afin d'évaluer la spécificité de l'immunoblot IgM dans ces conditions analytiques.
- des sérologies IgG CMVH faiblement positives (titre inférieur à 2 fois le seuil de positivité soit < 28 U/mL) ou équivoque (entre 12 et 14 U/mL) de femmes enceintes (UF obstétrique ...), et de patients immunodéprimés (UF d'hématologie et de néphrologie) afin d'évaluer les performances diagnostiques des immunoblots IgG sur des sérologies d'interprétation parfois difficiles.
- des profils de séroconversion au cours de la grossesse pour apprécier les modifications de profil des immunoblots IgG au cours du temps et déterminer si les profils protéiques permettent ou non une datation de l'infection.

Au total 67 patients sont inclus dans notre étude après vérification de la non opposition à l'utilisation de leurs échantillons biologiques résiduels à des fins de recherche, soit 87 échantillons biologiques retenus pour notre évaluation.

II.1.2. Trousses sérologiques automatisées

Afin de pouvoir placer au mieux les immunoblots dans un arbre diagnostique et déterminer leurs performances diagnostiques nous avons décidé de tester les sérums sélectionnés sur les trois sérologies automatisées disponibles au laboratoire de virologie du CHU de Limoges : CMV LIAISON XL® (DiaSorin), CMV ALINITY® (Abbott) et CMV VIDAS® (bioMérieux). Les

avidités des IgG ont été réalisées sur CMV avidité LIAISON® (DiaSorin) et CMV avidité VIDAS® (bioMérieux).

Les séries de tests ont été encadrées par des contrôles fournisseurs (positifs et négatifs). Les automates étaient calibrés selon les recommandations des fournisseurs en fonction des lots de réactifs utilisés.

II.1.2.1. CMV LIAISON XL® (DiaSorin)

Le test LIAISON® CMV II utilise la technologie immunoluminométrique (CLIA) pour la détection quantitative des anticorps spécifiques de classe IgG ou IgM dirigés contre le CMV dans les échantillons de sérum ou plasma humain. L'antigène CMV est utilisé pour revêtir des particules magnétiques (phase solide) et un anticorps monoclonal de souris est lié à un dérivé de l'isoluminol. Lors d'une première incubation, les anticorps anti-CMV se lient à la phase solide, une étape de lavage permet d'éliminer toute immunoglobuline non fixée, puis une seconde incubation avec les anticorps conjugués murins se lient aux Ig anti-CMV liés à la phase solide. Les réactifs starters sont ensuite ajoutés pour déclencher une réaction de chimiluminescence à partir du 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one. Le signal lumineux, proportionnel à la quantité de conjugués anticorps-isoluminol, est mesuré par un photomultiplicateur en unité relative de luminescence (RLU) et est un indicatif de la concentration d'IgG ou IgM anti-CMV présente. Une gamme étalon permet la calibration de l'automate. (Fiche réactif fabricant : LIAISON® CMV IgG II (REF : 310745))

Pour la détection d'IgG, le seuil est fixé à 12 U/mL, les échantillons inférieurs sont considérés comme négatifs. Les échantillons supérieurs à 14 u/mL sont considérés comme positifs. Les échantillons entre 12 et 14 U/mL sont considérés comme équivoques (douteux). Pour la détection d'IgM le seuil de détection est fixé à 18 U/mL, les échantillons inférieurs sont considérés comme négatifs. Les échantillons supérieurs à 22 U/mL sont considérés comme positifs. Les échantillons entre 18 et 22 U/mL sont considérés comme équivoques (douteux). (Fiche réactif fabricant : LIAISON® CMV IgG II (REF : 310745))

Concernant le dosage des IgG, la sensibilité annoncée par le fournisseur a été évaluée à 99,55 %, la spécificité quant à elle à 99,74%. (Fiche réactif fabricant : LIAISON® CMV IgG II (REF : 310745))

La méthode de détermination de l'avidité des IgG anti-CMVH repose sur un test CLIA comme pour la mesure des IgG. Des particules magnétiques, recouvertes d'antigènes CMV, servent de phase solide, tandis qu'un anticorps monoclonal conjugué à un dérivé de l'isoluminol permet la détection. Pour évaluer l'avidité des IgG, on compare les résultats d'un échantillon non traité avec ceux du même échantillon après traitement à l'urée, qui élimine les liaisons faibles. Lors des deux premières incubations, les anticorps anti-CMV se fixent à la phase solide, mais dans l'échantillon traité, seuls les anticorps à forte avidité restent après le lavage. Ensuite, un anticorps conjugué détecte les IgG fixées. Après chaque étape, les éléments non liés sont lavés, et la réaction de chemiluminescence est mesurée en unités de luminescence relative (RLU), proportionnelles à la quantité d'anticorps présents. L'indice d'avidité est déterminé en faisant le rapport entre le signal de l'échantillon traité à l'urée et celui de l'échantillon de référence. (Fiche réactif fabricant : LIAISON® CMV IgG Avidity II (REF : 310765))

Les résultats des échantillons pour les IgG anti-CMVH sont interprétés selon l'indice d'avidité : une valeur inférieure à 0,150 indique une faible avidité, suggérant une infection récente, tandis qu'un indice entre 0,150 et 0,250 reflète une avidité modérée. Un indice supérieur ou

égal à 0,250 correspond à une avidité élevée, suggérant une infection ancienne ou stabilisée. (Fiche réactif fabriquant : LIAISON® CMV IgG Avidity II (REF : 310765))

II.1.2.2. CMV ALINITY® (Abbott)

Le dosage Alinity CMV est un dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) utilisé pour la détection qualitative et la détermination semi-quantitative des anticorps dirigés contre le CMV dans le sérum ou le plasma. Le dosage est réalisé en deux étapes. Après incubation des microparticules paramagnétiques recouvertes de lysat viral de la souche AD169 et du diluant de dosage, les IgG anti-CMV présentes dans l'échantillon se lient aux microparticules. Après une étape de lavage, un anticorps murin conjugué à l'acridinium est ajouté pour former un mélange réactionnel. Après un autre cycle de lavage les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées et la réaction chimioluminescente résultante est mesurée en RLU proportionnelle à la quantité d'IgG dans le milieu testé. Une gamme étalon permet la calibration de l'automate. (Fiche réactif fabriquant : ALINITY® CMV IgG Reagent Kit (REF : 07P4222))

Pour la détection d'IgG, le seuil de détection est fixé à 6 unités arbitraires par mL (UA/mL), les échantillons inférieurs sont considérés comme négatifs. Les échantillons supérieurs ou égal à 6 UA/mL sont considérés comme positifs. Il est cependant recommandé par le fabricant de confirmer les résultats des échantillons présentant des concentrations comprises entre 6.0 AU/mL et 15.0 AU/mL à l'aide d'un dosage CMV IgM ou bien de prélever, dans la mesure du possible, un deuxième échantillon dans un intervalle de temps raisonnable (par exemple dans les deux semaines) et de l'analyser également à l'aide du dosage Alinity i CMV IgG. (Fiche réactif fabriquant : ALINITY® CMV IgG Reagent Kit (REF : 07P4222))

Concernant le dosage des IgG, la sensibilité annoncée par le fournisseur a été évaluée à 99,34 %, la spécificité quant à elle à 98,34%. (Fiche réactif fabriquant : ALINITY® CMV IgG Reagent Kit (REF : 07P4222))

Les interférences potentielles ont été étudiées par le fournisseur. On peut tout d'abord noter les substances endogènes potentiellement interférentes (triglycérides > 3g/dL, protéines < 12 g/L, bilirubine > 20 mg/dL et hémoglobine > 500 mg/dL). Ensuite d'autres situations de perturbation potentielle du dosage ont été étudiées : anticorps antinucléaires, facteur rhumatoïde, infection par HSV 1 et 2, EBV, rougeole, VZV à partir d'une cohorte, la concordance entre les dosages était de 98,46% montrant une réactivité croisée.

II.1.2.3. VIDAS® CMV IgG (bioMérieux)

Le test VIDAS CMV IgG (CMVG) est un immunodosage fluorescent automatisé (ELFA) conçu pour détecter les anticorps IgG anti-CMV. L'échantillon, après une étape de dilution, est traité à l'aide du dispositif SPR®, qui agit à la fois comme phase solide et pipette pour le test. Les anticorps IgG spécifiques au CMV présents dans l'échantillon se lient à l'antigène CMV purifié à l'intérieur du SPR®. Ensuite, un anticorps anti-IgG humain, conjugué à une enzyme alcaline phosphatase, est introduit et se fixe aux IgG anti-CMV liées. Après un lavage pour éliminer les composants non liés, un substrat fluorescent, le 4-méthylumbelliféryle phosphate, est ajouté. L'enzyme liée catalyse la conversion de ce substrat en un produit fluorescent, le 4-méthylumbelliférone, dont l'intensité est mesurée par un scanner optique intégré à l'instrument. Cette intensité est proportionnelle à la quantité d'IgG anti-CMV dans l'échantillon. Les résultats sont interprétés en comparant la fluorescence d'échantillons à une courbe de calibration, avec des seuils définissant les résultats comme négatifs (< 4 UA/mL), équivoques (4 à < 6 UA/mL),

ou positifs (≥ 6 UA/mL) (UA = unité arbitraire). (Fiche réactif fabricant : VIDAS® CMV IgG (REF : 30 204-01))

La sensibilité annoncée par le fournisseur a été évaluée à 99,6%, la spécificité quant à elle à 100%. La valeur prédictive positive est annoncée à 100%, la valeur prédictive négative à 99,8%. (Fiche réactif fabricant : VIDAS® CMV IgG (REF : 30 204-01))

Le principe de ce dosage de l'avidité repose sur une méthode immunoenzymatique en sandwich, réalisée en deux étapes avec une détection finale par fluorescence (ELFA). Un cône à usage unique sert de phase solide et de système de pipetage, tandis que les réactifs sont déjà prêts à l'emploi dans une cartouche. Toutes les étapes du test sont automatisées et impliquent des cycles d'aspiration et de refoulement du milieu réactionnel. Les IgG anti-CMV présentes dans l'échantillon forment des complexes avec l'antigène fixé sur la phase solide. Après un lavage pour éliminer les anticorps non spécifiques, seuls les anticorps spécifiques restent fixés. Lorsqu'un tampon à base d'urée est utilisé, seuls les anticorps de forte avidité restent liés, tandis que ceux de faible avidité sont éliminés. Ensuite, des anticorps anti-IgG humaines couplés à une enzyme (phosphatase alcaline) se fixent aux IgG présentes. Après élimination des anticorps non liés, le substrat fluorescent est ajouté. L'enzyme catalyse l'hydrolyse du substrat en un produit fluorescent, dont l'intensité mesurée est proportionnelle à la quantité d'anticorps dans l'échantillon. À la fin du test, l'indice d'avidité est calculé à partir d'un ratio entre les valeurs de fluorescence obtenues avec et sans tampon urée. (Fiche réactif fabricant : VIDAS® CMV IgG Avidity (REF : 30 203))

II.1.3. Immunoblot *recomLine* CMV IgG et IgM ®

Les tests *recomLine* CMV IgG ou IgM sont des tests de détection qualitative des anticorps IgG ou IgM contre le CMVH dans le sérum ou le plasma humain. Il s'agit d'un immuno-essai en ligne basé sur des antigènes recombinants du CMV.

Contrairement aux test ELISA, les immuno-essais permettent l'identification des anticorps spécifiques des antigènes du CMVH individualisés à savoir : IE1, CM2, p150, p65, gB1 et gB2. Les antigènes recombinants du CMVH sont hautement purifiés et fixés sur des bandelettes en membrane de nitrocellulose.

Les bandelettes sont incubées avec l'échantillon (sérum ou plasma) dilué au centième, les anticorps spécifiques se lient aux antigènes purifiés sur la bandelette du test. Les anticorps non liés sont éliminés par une étape de lavage. Lors d'une deuxième étape, les bandelettes sont incubées avec des anticorps de lapin anti-Ig humaines conjugués à la peroxydase de raifort. Les anticorps conjugués non liés sont éliminés par une autre étape de lavage. Enfin la réaction de coloration est déclenchée en ajoutant le substrat chromogène à base de tétraméthylbenzidine (TMB), une bande sombre apparaît à l'emplacement correspondant si la réaction a lieu, témoin de la présence d'anticorps spécifiques. A noter que le tampon de lavage contient une poudre de protéine de lait permettant de saturer les sites non spécifiques.

La bandelette se présente de la manière suivante : un contrôle de réaction situé sous le numéro de la bandelette doit indiquer une réaction pour chaque échantillon, les contrôles de conjugués permettent de définir quelle classe d'Ig est testée, le contrôle « Cut-off » permet de définir le seuil de positivité du test (Figure 10).

Un réactif supplémentaire permet de déterminer l'avidité des IgG sur l'immunoblot *recomLine* CMV IgG. Malheureusement ce kit n'étant pas commercialisé en France nous n'avons pas pu l'évaluer. En absence de ce test nous utiliserons l'avidité mesurée par VIDAS et/ou LIAISON.

Concernant la détection des IgG, la sensibilité annoncée par le fournisseur a été évaluée à 100 %, la spécificité quant à elle à 98,4%. Concernant la détection des IgM, la sensibilité annoncée par le fournisseur a été évaluée à 100 %, la spécificité quant à elle à 96,9%. (Fiche réactif fabriquant : MIKROGEN® *recomLine* CMV IgG / IgM (REF : 5572, 5573))

Les test *recomLine* CMV IgG et IgM répondent aux normes élevées de la directive CE 98/79/CE sur les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

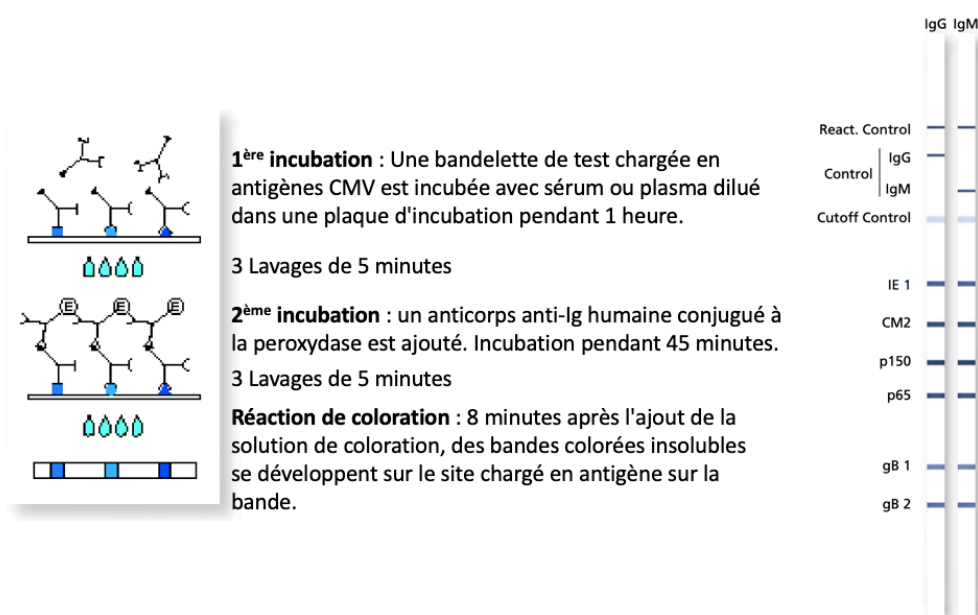


Figure 10 : Schémas de la réaction immuno-chimique de l'immunoblot, et des positions des différents antigènes du CMVH sur la bandelette (à partir de : *recomLine* CMV MIKROGEN® (REF : CE 0483))

Antigène	Gène / Protéine	Fonction	Poids moléculaire	Cinétique IgG
IE1	<i>UL132</i> / IE1	Protéine précoce intermédiaire	53	Très précoce
CM2	<i>UL44, UL57</i> / p52	Fixation à l'ADN / Réplication virale	45	Précoce
p150	<i>UL32</i> / pp150	Protéine du tégument	50	Tardif
p65	<i>UL83</i> / pp65	Protéine du tégument	31	Précoce
gB1	<i>UL55</i> / gB	Glycoprotéine de membrane	25	Très tardif
gB2	<i>UL55</i> / gB	Glycoprotéine de membrane	18	Très tardif

Tableau 1 : Synthèse des différentes protéines présentes sur l'immunoblot *recomLine* CMV MIKROGEN® et de la cinétique d'apparition des IgG spécifiques associés

II.2. Protocole expérimental

II.2.1. Pré-analytique

Le prélèvement biologique est réalisé sur tube sec, puis une centrifugation rapide à 1000rpm pendant 10min est réalisée pour récupérer le sérum à tester.

Le tube est conservé à +4°C jusqu'à réalisation de la sérologie CMVH dans le cadre de l'activité de routine puis les échantillons sont conservés à -20°C pendant 3 ans. A noter qu'il faut éviter de répéter les cycles de congélation décongélation pouvant nuire à la qualité des échantillons. L'échantillon est amené à température ambiante avant d'être testé sur les techniques automatisées complémentaires et en immunoblot le même jour.

II.2.2. Analytique

II.2.2.1. Protocole

1. Mettre les réactifs à température ambiante (18-25°C) pendant au moins 30 min.
2. Placer à l'aide d'une pince les bandelettes du test dans 2mL de tampon de lavage A (prêt à l'emploi) dans leur puit.
3. Incubation des échantillons : à l'aide d'une pipette de 20µL distribuer l'échantillon dans le puit (dilution 1/100). Recouvrir avec le couvercle plastique d'incubation et laisser incuber pendant 1 heure sur plateau rotatif.
4. Lavage :
 - a. Retirer prudemment le couvercle d'incubation
 - b. Aspirer avec précaution le sérum dilué des différents puits
 - c. Pipeter 2mL de tampon de lavage A dans chaque puits, laisser agir pendant 5 min sur plateau rotatif, puis aspirer le tampon de lavage A. Répéter 3 fois le lavage
5. Incubation avec le conjugué : ajouter 2 mL de solution de conjugué prêt à l'emploi, recouvrir avec le couvercle plastique d'incubation, incuber pendant 45 min sur plateau rotatif.
6. Lavage :
 - a. Retirer prudemment le couvercle d'incubation
 - b. Aspirer avec précaution le sérum dilué des différents puits
 - c. Pipeter 2mL de tampon de lavage A dans chaque puits, laisser agir pendant 5 min sur plateau rotatif, puis aspirer le tampon de lavage A. Répéter 3 fois le lavage
7. Réaction du substrat : ajouter 1,5mL de solution de conjugué prête à l'emploi durant 8 min sur plateau rotatif.
8. Arrêt de la réaction : laver au moins 3 fois à l'eau désionisée
9. Séchage : sortir les bandelettes à l'aide d'une pince et laisser sécher les bandelettes pendant 2h entre deux feuilles de papier absorbant

II.2.2.2. Enregistrement des résultats

Les bandelettes sont récupérées une fois séchées et placées sur la feuille de résultats fournis dans la trousse. L'interprétation visuelle est réalisée immédiatement au vu du risque de diminution de coloration dans le temps.

Une fois la lecture effectuée, la feuille de résultat est scannée pour archivage numérique du résultat.

II.2.3. Post analytique

L'interprétation du test est réalisée par l'opérateur, les bandes colorées sont notées de 0 à 3 croix de positivité, 0 étant inférieur au cut-off, 1 étant égal au cut-off et à considérer comme positif, 2 et 3 étant de plus en plus colorées et donc considérées comme positives fortes.

Chaque antigène positif apporte un nombre de points, la somme de ces points permet de déterminer si l'immunoblot est positif ou négatif.

Concernant l'immunoblot recomLine IgM CMV®, l'antigène IE vaut 1 point, l'antigène CM2 vaut 5 point, l'antigène P150 vaut 6 points, l'antigène P65 vaut 1 point, les antigènes gB1 et gB2 valent 1 point chacun. L'immunoblot est rendu négatif si la somme est inférieure ou égale à 2, douteux si la somme est égale à 3 points et positif si la somme est supérieure à 3 points.

Concernant l'immunoblot recomLine IgG CMV®, l'antigène IE vaut 1 point, l'antigène CM2 vaut 3 point, l'antigène P150 vaut 4 points, l'antigène P65 vaut 2 point, les antigènes gB1 et gB2 valent 1 point chacun. L'immunoblot est rendu négatif si la somme est inférieure ou égale à 1, douteux si la somme est entre 2 et 5 points et positif si la somme est supérieure à 6 points.

Le profil des antigènes permet de dater l'infection. Les profils comportant les protéines précoces (IE1, CM2 et p65) en IgG associées à une avidité faible, et des IgM positives sont en faveur d'une infection de moins de 6 à 8 semaines. Les profils comportant les protéines précoces et tardives (p150 et gB) associé à une avidité forte et à des IgM encore positives sont en faveur d'une infection de moins de 14 semaines. Les profils comportant les protéines précoces et tardives associé à une avidité forte et sans IgM détectables sont associés à une infection de plus de 12 semaines. Enfin les profils comportant les protéines tardives uniquement associées à une avidité forte et sans IgM sont en faveur d'une infection ancienne de plus de 24 semaines. (Figure 14)

Il est à noter que les cas de réinfection ou de réactivation virale n'ont pas été décrits par le fournisseur.

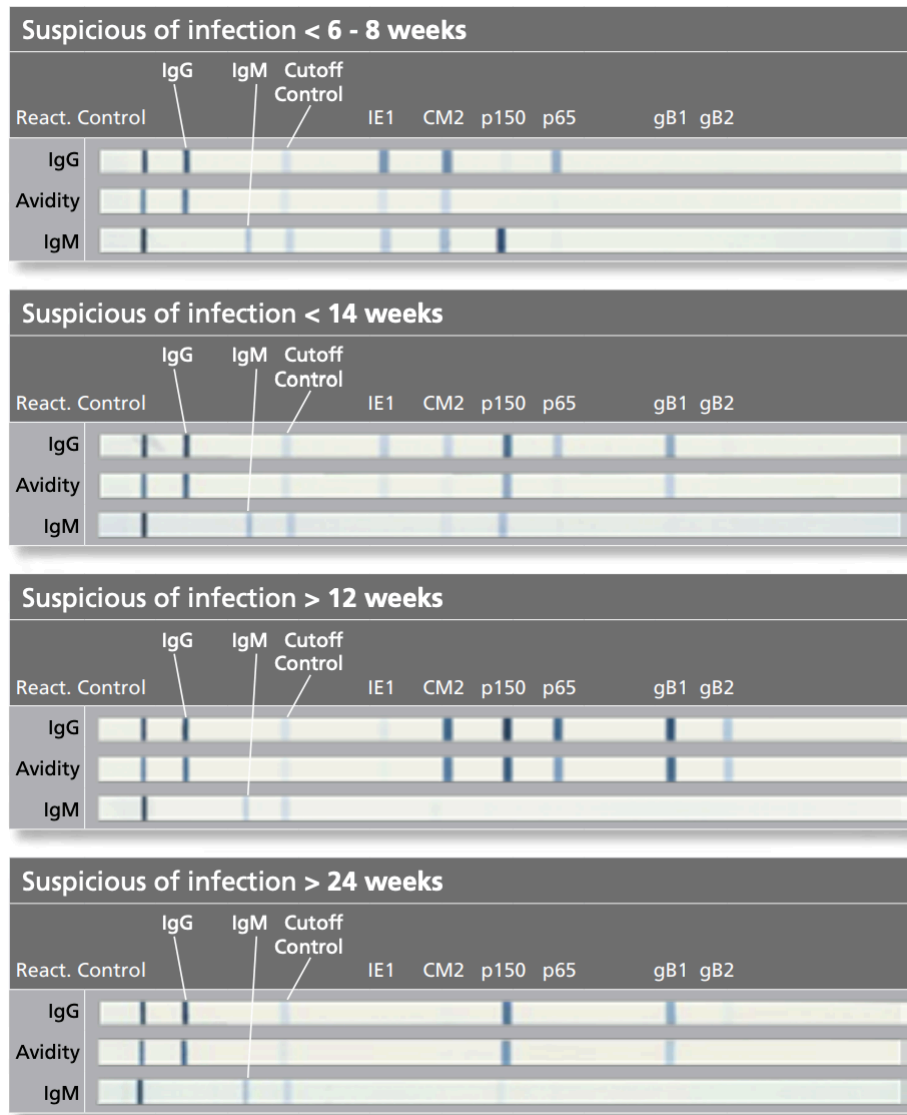


Figure 11 : Interprétation du test immunoblot recomLine CMV MIKROGEN® (à partir de recomLine CMV MIKROGEN® (REF : CE 0483))

II.3. Analyse des données

L'analyse des données est réalisée principalement de manière descriptive, le faible nombre d'échantillons par population d'étude ne permettant pas la réalisation de statistiques conventionnelles.

Une évaluation des performances diagnostiques en cas de sérologies faiblement positives des immunoblots *recomLine* CMV MIKROGEN® sera réalisée. L'échantillonnage de 30 patients nous a permis la détermination de la sensibilité, spécificité des méthodes automatisées et des immunoblots.

III. Résultats

III.1. Évaluation des performances diagnostiques générales

III.1.1. Immunoblot IgM

Les 8 sérums de primo-infection à CMVH (*patient 1 à 8*) ont été sélectionnés à partir d'une présence d'IgM associée à une PCR CMVH positive dans le sang, l'absence d'IgG ou une avidité faible en IgG. Des sérologies de contrôle dans le temps avaient été réalisées et témoignaient d'une séroconversion à CMVH.

Les positivités de la p150 et la CM2 étaient constantes (100%), fréquemment associées à une positivité de la p65 (87,5%). La positivité en IE1 était retrouvée moins fréquemment (25%). Les gB1 et gB2 n'ont pas montré de positivité (0%).

Dans tous les cas, l'immunoblot a conclu à la positivité de l'échantillon test, la sensibilité est donc évaluée à 100%. Les protéines précoces étaient fréquemment positives et les glycoprotéines n'ont pas montré de positivité.

Le contrôle positif du fournisseur a donné un résultat positif sur les antigènes CM2 et p150 de l'immunoblot, en conformité avec ce qui est attendu.

Antigène	IE1	CM2	p150	p65	gB1	gB2
Positivité	25 %	100 %	100 %	87,5 %	0 %	0 %

Tableau 2 : Pourcentage de positivité vis-à-vis des différents antigènes de l'immunoblot IgM en cas de primo infection avérée au CMVH (n=8)

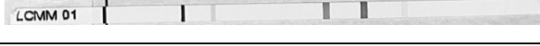






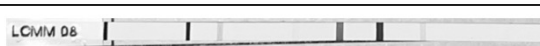
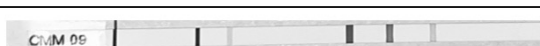
Patient	Age	Sexe	Grossesse	L-IgM	L-IgG	Avidité	PCR CMV	Immunoblot <i>recomLine</i> CMV IgM MIKROGEN®
Ctrl +								
1	32	F	Oui	>140	72,3	0,25	2,97	
2	22	F	Oui	>140	21,4		2,37	
3	23	F	Oui	>140	83,5	0,01	2,06	
4	32	F	Non	>140	14,6	0,07	3,06	
5	45	H	Non	>140	< 12			
6	53	H	Non	65,5	47,7	0,05		
7	23	F	Non	58	12,2			
8	21	F	NR	26,7	< 12			

Tableau 3 : Profil des immunoblots IgM en cas de primo infection avérée au CMVH.
 IgM Liaison (L-IgM) : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL.
 IgG Liaison (L-IgG) : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL.
 Avidité Liaison : faible < 0,150 ; intermédiaire 0,150-0,250 ; forte > 0,250.
 PCR CMV exprimée en Log copie/mL.

III.1.2. Immunoblot IgG

Les 9 sérums (*patients 20 à 28*) d'infection ancienne à CMV ont été sélectionnés sur la base d'une positivité en IgG à titre élevé (> 70 U/mL) depuis plus de 3 mois et en l'absence d'IgM associées.

La positivité de la p150 était constante soit 100%, celle de CM2 et de p65 était de 44%, celle de IE1 était évaluée à 11%. Les gB étaient toujours positives avec une répartition différente, 100% de positivité de la gB1 contre 55% de la gB2.

Dans seulement 5 cas sur 9 l'immunoblot permettait de conclure à la positivité ancienne de l'infection, sans nécessité de réaliser un test d'avidité. Dans tous les cas, l'immunoblot a conclu à la positivité de l'échantillon test, la sensibilité est donc évaluée à 100%.

Le contrôle positif du fournisseur a donné un résultat positif sur chacun des antigènes de l'immunoblot, en conformité avec ce qui est attendu.

Antigène	IE1	CM2	p150	p65	gB1	gB2
Positivité	11 %	44 %	100 %	44 %	100 %	55 %

Tableau 4 : Pourcentage de positivité vis-à-vis des différents antigènes de l'immunoblot IgG en cas d'infection ancienne au CMVH (n=9)

Patient	Age	Sexe	Grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	Immunoblot <i>recomLine</i> CMV IgG MIKROGEN®
Ctrl +						
20	28	F	Oui	< 18	113	
21	40	F	Oui	< 18	111	
22	35	F	Oui	< 18	78	
23	62	H	Non	< 18	111	
24	21	F	Non	< 18	127	
25	29	F	Oui	< 18	122	
26	46	F	Non	< 18	111	
27	34	F	Oui	< 18	140	
28	42	F	Non	< 18	>180	

Tableau 5 : Profil des immunoblots IgG en cas d'infection ancienne au CMVH.
 IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL.
 IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL.

III.2. Évaluation de la spécificité des immunoblots IgM en présence d'interférence

III.2.1. Primo-infection EBV

Les 4 sérums (*patients 10 à 13*) ont été sélectionnés pour leur positivité IgM CMVH et IgM VCA (EBV). La primo-infection à l'EBV a été confirmée par une séroconversion EBV et l'absence de séroconversion CMVH contemporaine.

Les positivités vis- vis de la p150 et CM2 étaient constantes (100%), associées dans la moitié des cas à une positivité de la p65 (50 %). IE1 et les gB1 et gB2 n'ont pas montré de positivité (0%). Dans tous les cas, l'immunoblot a conclu à la positivité de l'échantillon testé.

Antigène	IE1	CM2	p150	p65	gB1	gB2
Positivité	25 %	100 %	100 %	87,5 %	0 %	0 %

Tableau 6 : Pourcentage de positivité vis-à-vis des différents antigènes de l'immunoblot IgM en cas de primo infection EBV confirmée (n=4)

III.2.2. Primo-infection parvovirus B19

Les 4 sérums (*patients 14 à 17*) ont été sélectionnés pour leur positivité en IgM parvovirus B19 et CMVH. La primo-infection au parvovirus a été confirmée par PCR sur sang total.

La positivité à la p150 n'a été observé qu'une fois (25%) et avec une faible intensité. Les antigènes p65, IE1 et les gB1 et gB2 n'ont pas montré de positivité (0%). L'immunoblot a donc conclu à la positivité d'un seul échantillon testé.

Antigène	IE1	CM2	p150	p65	gB1	gB2
Positivité	0 %	0 %	25 %	0 %	0 %	0 %

Tableau 7 : Pourcentage de positivité vis-à-vis des différents antigènes de l'immunoblot IgM en cas de primo infection parvovirus B19 confirmée(n=4)

III.2.3. Présence d'un facteur rhumatoïde

Les 2 sérums (*patient 18 et 19*) ont été sélectionnés pour leur positivité en IgM CMVH sans séroconversion observée et la présence connue d'un facteur rhumatoïde.

La positivité de p150 était constante (100%), associée dans la moitié des cas à une positivité de CM2 et de gB2 (50 %). IE1, p65 et gB1 n'ont pas montré de positivité (0%). Dans tous les cas l'immunoblot a conclu à la positivité de l'échantillon testé.

Antigène	IE1	CM2	p150	p65	gB1	gB2
Positivité	0 %	50 %	100 %	0 %	0 %	50 %

Tableau 8 : Pourcentage de positivité vis-à-vis des différents antigènes de l'immunoblot IgM en présence de facteur rhumatoïde (n=2)

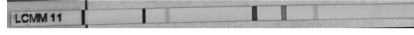
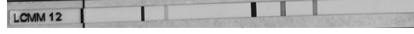








Patient	Age	Sexe	Grossesse	IgM CMV	IgG CMV	IgM VCA	IgG VCA	EBNA	IgM B19	IgG B19	Immunoblot recomLine CMV IgM MIKROGEN®
Sérologies de primo-infection à EBV											
10	5	F	Non	24,9	< 12	>160	0,47	0,01			
11	22	F	Non	52,4	< 12	>160	4,96	0,02			
12	11	F	Non	54,5	< 12	>160	1,01	0,01			
13	16	F	Non	32,6	< 12	>160	1,26	0,01			
Sérologies de primo-infection à parvovirus B19											
14	8	F	Non	36,9	< 12	>160	0,08	0,02	>48	<0,9	
15	14	F	Non	58,6	< 12	>160	6,37	0,05	>48	8,3	
16	37	F	Non	18,5	< 12	139	59,88	16,95	>48	58,5	
17	30	H	Non	38,9	< 12	>160	22,73	12,69	>48	1,6	
Facteur rhumatoïde positif											
18	29	F	Oui	23,8	< 12	97,8	50,69	16,81	>48	66,5	
19	39	F	Non	19,1	84,8	<10	2,38	0,3	<0,1	<0,1	

Tableau 9 : Profils des immunoblots IgM en présence d'interférence (EBV, B19 et FR).

IgM Liaison : négatif < 18 UI/mL ; équivoque 18-22 UI/mL ; positif > 22 UI/mL.

IgG Liaison : négatif < 12 UI/mL ; équivoque 12-14 UI/mL ; positif > 14 UI/mL.

Avidité liaison : faible < 0,150 ; intermédiaire 0,150-0,250 ; forte > 0,250.

IgM VCA : négatif < 1 UI/mL ; positif > 1 UI/mL.

IgG VCA : négatif < 1 UI/mL ; positif > 1 UI/mL.

IgG EBNA : négatif < 1 U/mL ; positif > 1 U/mL.

IgM parvovirus (IgM B19) : négatif < 0,9 UI/mL ; équivoque 0,9-1,1 UI/mL ; positif > 1,1 UI/mL.

IgG parvovirus (IgG B19) : négatif < 0,9 UI/mL ; équivoque 0,9-1,1 UI/mL ; positif > 1,1 UI/mL.

III.3. Évaluation des performances diagnostiques des immunoblots IgG sur sérologies équivoques

Les différents sérums ont été sélectionnés à partir de notre population d'intérêt, à savoir les femmes enceintes et les immunodéprimés, à partir de trois services principaux : la gynécologie, l'hématologie et la néphrologie. Les sérums retenus comportaient un taux faible d'IgG (< 50 U/mL) sur LIAISON XL® et avaient été rendus équivoques ou positifs faibles (*annexe : patients 29 à 58*).

La détermination du statut sérologique de ces patients est réalisée sur les trois techniques automatisées de sérologie, CMV IgG LIAISON XL® (DiaSorin), CMV IgG ALINITY® (Abbott) et VIDAS® CMV IgG (bioMérieux).

Les avidités ne sont pas mesurées car en cas de faible taux d'IgG, elles sont ininterprétables.

La positivité d'un échantillon est déterminée lorsqu'au moins 2 deux techniques automatisées donnent un résultat positif. Les sérums sont alors considérés comme séropositifs ou séronégatifs pour le CMVH. Puis nous évaluons les performances diagnostiques de chacun des tests automatisés et des immunoblots *recomLine* CMV MIKROGEN® pour notre population d'étude (à l'exception du CMV IgG Liaison XL®, les échantillons ayant été sélectionnés exclusivement sur la base d'une positivité par cette technique).

A partir du tableau de contingence obtenu, nous avons déterminé la sensibilité, la spécificité ainsi que les valeurs prédictives positives et valeurs prédictives négative des techniques sérologiques VIDAS®, ALINITY® et de l'immunoblot *recomLine* CMV®.

	Liaison XL®	VIDAS®	Alinity®	Immunoblot <i>recomLine</i> ®
VP	21	14	21	20
FP	9	0	1	0
VN	0	6	8	9
FN	0	10	0	1
SEN	NA	58 %	100 %	95 %
SPE	NA	100 %	88 %	100 %
VPP	NA	100 %	95 %	100 %
VPN	NA	37,5 %	100 %	90 %

Tableau 10 : Tableau de contingence pour l'évaluation des performances diagnostiques des techniques sérologiques LIAISON®, VIDAS®, ALINITY® et de l'immunoblot recomLine CMV® en cas de faible taux d'IgG (< 50 U/mL) (VP : vrai positif, FP : faux positif, VN : vrai négatif, FN : faux négatif, SEN : sensibilité, SPE : spécificité, VPP : valeur prédictive positive, VPN : valeur prédictive négative, NA : Non applicable) (n=30)

Patient	Age	Sexe	Grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	IgG Vidas	IgG Alinity	Immunoblot recomLine CMV IgG MIKROGEN®
29	32	F	Oui	< 18	13,4	< 4	< 6	LCMG 06
30	20	F	Oui	< 18	14,1	< 4	< 6	LCMG 10
31	33	F	Oui	< 18	14,2	< 4	< 6	LCMG 01
32	27	F	Oui	< 18	17,5	< 4	< 6	LCMG 05
33	35	F	Oui	19,4	50	15	137,5	LCMG 09
34	21	F	Oui	< 18	14,4	< 4	2,1	LCMG 01
35	32	F	Oui	< 18	16	< 4	15,1	LCMG 02
36	21	F	Oui	< 18	13,2	< 4	4,1	LCMG 03
37	41	F	Oui	< 18	22,7	10	21,7	LCMG 04
38	32	F	Oui	< 18	21,5	12	21,1	LCMG 05
39	25	F	Oui	< 18	20,1	7	22,3	LCMG 06
40	29	F	Oui	< 18	20,3	< 4	3,3	LCMG 07
41	33	F	Oui	< 18	13,4	< 4	4	LCMG 08
42	29	F	Oui	< 18	24,2	15	29,3	LCMG 09
43	29	F	Oui	< 18	13,8	7	13,8	LCMG 10

Tableau 11 : Profil des immunoblots IgG en cas de sérologie à faible taux d'IgG issues du service de gynécologie-obstétrique, chez des patientes enceintes. IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL. IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL. IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL. IgG Alinity : négatif < 6 U/mL ; positif > 6 U/mL.

Patient	Age	Sexe	Grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	IgG Vidas	IgG Alinity	Immunoblot recomLine CMV IgG MIKROGEN®
43	29	F	Oui	< 18	13,8	7	13,8	LCMG 10
44	31	F	Non	< 18	21	6	14	LCMG 11
45	53	H	Non	< 18	15,5	8	19,9	LCMG 12
46	47	H	Non	< 18	12,9	< 6	14,9	LCMG 13
47	55	M	Non	< 18	26,4	11	15,4	LCMG 14
48	70	H	Non	< 18	32,4	19	22,7	LCMG 15
49	70	H	Non	< 18	25,9	12	71	LCMG 16
50	71	F	Non	< 18	28,9	17	42,4	LCMG 17
51	75	H	Non	< 18	12,7	< 6	9,8	LCMG 18
52	69	H	Non	< 18	32,4	15	19,7	LCMG 19
53	48	F	Non	< 18	24,4	15	32,3	LCMG 20

Tableau 12 : Profil des immunoblots IgG en cas de sérologie à faible taux d'IgG issues du service d'hématologie. IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL. IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL. IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL. IgG Alinity : négatif < 6 U/mL ; positif > 6 U/mL.






Patient	Age	Sexe	Grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	IgG Vidas	IgG Alinity	Immunoblot recomLine CMV IgG MIKROGEN®
54	27	H	Non	< 18	15,4	< 6	13	
55	64	H	Non	< 18	12	< 6	7,1	
56	66	H	Non	< 18	13,5	< 6	7	
57	61	H	Non	< 18	16,8	< 6	13,2	
58	68	F	Non	< 18	12,6	< 6	13	

Tableau 13 : Profils des immunoblots IgG en cas de sérologie à faible taux d'IgG issues de services de Néphrologie. IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL. IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL. IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL. IgG Alinity : négatif < 6 U/mL ; positif > 6 U/mL.

III.4. Étude de l'évolution des profils des immunoblots au cours de séroconversions

Différents patients ont été sélectionnés sur des profils de séroconversion afin d'évaluer l'évolution du profil des immunoblots au cours du temps et de déterminer si ces profils sont bien en lien avec la cinétique de l'infection, à savoir : une réponse immunitaire précoce dirigée contre IE1, CM2 et p65 puis une réponse plus tardive dirigée contre p150, gB1 et gB2.

III.4.1. Profil 1

Une patiente enceinte de 28 ans (*patiente 59*), présente un premier prélèvement réalisé dans le cadre d'un suivi, à 2 mois de grossesse. La présence d'IgM à 68,3 U/mL et d'IgG à 57,8 U/mL associé à une avidité forte en LIAISON® mais intermédiaire en VIDAS®. Le profil de l'immunoblot IgM révèle la présence d'anti-CM2, d'anti-p150 et d'anti-p65. Le profil de l'immunoblot IgG révèle la présence d'anti-CM2 et d'anti-p65. Ces profils sont en faveur d'une infection de moins de 6 à 8 semaines.

La sérologie suivante réalisée 3 mois plus tard, montre la diminution des IgM à 21,9 U/mL avec une augmentation du taux d'IgG à 95,3 U/mL, de forte avidité sur les deux techniques. Le profil de l'immunoblot IgM révèle la présence d'anti-CM2, d'anti-p150. Le profil de l'immunoblot IgG révèle la présence d'anti-IE1, d'anti-CM2, d'anti-p150 et d'anti-p65. Ces profils sont en faveur d'une infection de plus de 12 semaines.

Enfin la dernière sérologie réalisée à 8 mois de grossesse, montre la disparition des IgM, inférieures à 18 U/mL et la persistance des IgG à 101 U/mL, de forte avidité. L'immunoblot réalisé révèle la persistance d'anti-IE1, d'anti-CM2, d'anti-p150 et d'anti-p65, toujours en faveur d'une infection de plus de 12 semaines.

Ensemble ces profils permettent d'évaluer la primo-infection aux alentours du premier mois de grossesse, confirmant la séroconversion au cours de la grossesse.

Patient	Age	Sexe	Date de grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	Avidité Liaison	IgG Vidas	Avidité Vidas	IgG Alinity	Immunoblot <i>recomLine</i> CMV MIKROGEN®	
59	28	F	2 mois	68,3	57,8	0,38	11	0,64	109,6	IgM	
				IgG							
			5 mois	21,9	95,3	0,37	30	0,83	202,7	IgM	
				IgG							
			8 mois	< 18	101	0,34	25	0,87	183,8	IgM	
				IgG							

Tableau 14 : Profils des immunoblots de la patiente 59 lors de sa séroconversion CMVH.

IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL.

IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL.

Avidité liaison : faible < 0,150 ; intermédiaire 0,150-0,250 ; forte > 0,250.

IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL.

Avidité VIDAS : faible < 0,4 ; intermédiaire 0,4-0,6 ; forte > 0,6.

IgG Alinity : négatif < 6 UA/mL ; positif > 6 UA/mL.

III.4.2. Profil 2

Une patiente enceinte de 38 ans (*patiente 60*), présente un échantillon avant le début de sa grossesse négatif pour le CMVH, dans les trois techniques immunoenzymatiques et en immunoblot IgG.

Un an plus tard, un échantillon de suivi de grossesse à 4 mois, témoigne d'une séroconversion vis-à-vis du CMVH avec des IgM à 49,9 U/mL associés à des IgG à 70,6 U/mL d'avidité forte sur LIAISON® et intermédiaire sur VIDAS®. Le profil de l'immunoblot IgM révèle la présence d'anti-CM2, d'anti-p150 et d'anti-p65. Le profil de l'immunoblot IgG révèle la présence d'anti-IE1, d'anti-CM2, d'anti-p150, d'anti-p65 et d'anti-gB1. Ces profils sont en faveur d'une infection de moins de 14 semaines.

Un dernier prélèvement 5 mois plus tard, montre une persistance de la positivité des IgM, malgré une avidité élevée cette fois ci dans les deux techniques LIAISON® et VIDAS®. Le profil de l'immunoblot évolue avec perte des anti-IE1 et apparition des anti-gB2 en faveur d'une infection de plus de 12 semaines. Ces profils sont en faveur d'une infection de plus de 12 semaines.

Ensemble ces profils permettent d'évaluer la primo-infection aux alentours du début de grossesse, sans pour autant nous permettre de déterminer si celle-ci a eu lieu avant ou pendant. Dans l'absolu, une séroconversion au cours de la grossesse ne peut être exclue.

Patient	Age	Sexe	Date de grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	Avidité Liaison	IgG Vidas	Avidité Vidas	IgG Alinity	Immunoblot <i>recomLine</i> CMV MIKROGEN®	
										IgM	IgG
60	38	F		< 18	< 12		< 4		1,5	IgM	
				IgG							
			4 mois	49,9	70,6	0,31	38	0,57	125,7	IgM	
				IgG							
			9 mois	33,8	41,4	0,57	16	0,84	100,7	IgM	
				IgG							

Tableau 15 : Profils des immunoblots de la patiente 60 lors de sa séroconversion CMVH.

IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL.

IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL.

Avidité liaison : faible < 0,150 ; intermédiaire 0,150-0,250 ; forte > 0,250.

IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL.

Avidité VIDAS : faible < 0,4 ; intermédiaire 0,4-0,6 ; forte > 0,6.

IgG Alinity : négatif < 6 UA/mL ; positif > 6 UA/mL.

III.4.3. Profil 3

Une patiente enceinte de 33 ans (*patiente 61*), présente un échantillon de suivi de grossesse à 7 mois, positif pour le CMVH en IgM à 64,3 U/mL mais négatif dans les trois techniques et en immunoblots pour les IgG. Le profil de l'immunoblot IgM révèle la présence d'anti-p150 et d'anti-p65. Ce profil est en faveur d'une infection dans les 3 dernière semaines.

Un mois plus tard, un nouvel échantillon confirme la séroconversion vis-à-vis du CMVH par la présence d'IgM à 73,3 U/mL associées à des IgG à 22,2 U/mL d'avidité faible sur les deux techniques et associé à une virémie (PCR CMV positive). Le profil de l'immunoblot IgM révèle la présence d'anti-CM2, d'anti-p150 et d'anti-p65. Le profil de l'immunoblot IgG révèle la présence d'anti-IE1, d'anti-CM2, d'anti-p150, d'anti-p65 avec prédominance des anti-CM2 et des anti-p65 en faveur d'une infection récente, de moins de 14 semaines.

Ensemble ces profils permettent d'évaluer la primo-infection aux cours du 6^{ème} mois, confirmant la séroconversion au cours de la grossesse.





Patient	Age	Sexe	Date de grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	Avidité Liaison	IgG Vidas	Avidité Vidas	IgG Alinity	Immunoblot <i>recomLine</i> CMV MIKROGEN®	
61	33	F	7 mois	64,3	< 12		< 4		1,5	IgM	
										IgG	
			8 mois	73,3	22,2	0,11	9	0,13	35,5	IgM	
										IgG	

Tableau 16 : Profils des immunoblots de la patiente 61 lors de sa séroconversion CMVH.

IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL.
IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL.
Avidité liaison : faible < 0,150 ; intermédiaire 0,150-0,250 ; forte > 0,250.
IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL.
Avidité VIDAS : faible < 0,4 ; intermédiaire 0,4-0,6 ; forte > 0,6.
IgG Alinity : négatif < 6 UA/mL ; positif > 6 UA/mL.

III.4.4. Profil 4

Une patiente enceinte de 26 ans (*patiente 62*), présente un échantillon avant le début de sa grossesse négatif pour le CMVH dans les trois techniques immunoenzymatiques et en immunoblot IgG.

Deux ans plus tard, un échantillon de suivi de grossesse à 7 mois, montre une séroconversion vis-à-vis du CMVH avec présence d'IgM à 50,3 U/mL associées à des IgG à 29,1 U/mL d'avidité faible en LIAISON® et intermédiaire en VIDAS®. Le profil de l'immunoblot IgM révèle la présence d'anti-CM2, d'anti-p150. Le profil de l'immunoblot IgG révèle la présence d'anti-IE1, d'anti-CM2, d'anti-p150, d'anti-p65 et d'anti-gB1. Ce profil est en faveur d'une infection de moins de 14 semaines.

L'échantillon suivant à 8,5 mois de grossesse, ne montre pas d'évolution de profil des immunoblots, avec une avidité intermédiaire sur les deux techniques. Ce profil est toujours en faveur d'une infection de moins de 14 semaines.

Ensemble ces profils permettent d'évaluer la primo-infection aux cours du 4^{ème} mois, confirmant la séroconversion au cours de la grossesse.


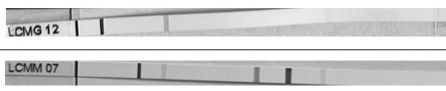

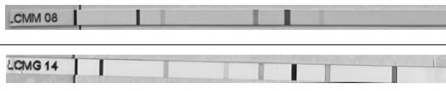
Patient	Age	Sexe	Date de grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	Avidité Liaison	IgG Vidas	Avidité Vidas	IgG Alinity	Immunoblot recomLine CMV MIKROGEN®	
										IgM	IgG
62	26	F	7 mois	50,3	29,1	0,14	8	0,41	81,4	IgM	
										IgG	
			8,5 mois	51,4	76,3	0,18	32	0,42	156,7	IgM	
										IgG	

Tableau 17 : Profils des immunoblots de la patiente 62 lors de sa séroconversion CMVH.

*IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL.
 IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL.
 Avidité liaison : faible < 0,150 ; intermédiaire 0,150-0,250 ; forte > 0,250.
 IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL.
 Avidité VIDAS : faible < 0,4 ; intermédiaire 0,4-0,6 ; forte > 0,6.
 IgG Alinity : négatif < 6 UA/mL ; positif > 6 UA/mL.*

III.4.5. Profil 5

Une patiente enceinte de 29 ans (*patiente 63*), présente un échantillon de suivi au cours de la grossesse à 7 mois, témoin d'une séroconversion pour le CMVH avec présence d'IgM à 51,4 U/mL et des IgG à 76,3 U/mL d'avidité intermédiaire en LIAISON® et en VIDAS®. Le profil de l'immunoblot IgM révèle la présence d'anti-CM2, d'anti-P150 et d'anti-p65. Le profil de l'immunoblot IgG révèle la présence d'anti-IE1, d'anti-CM2, d'anti-p150 et d'anti-p65. Ce profil est en faveur d'une infection de moins de 12 semaines.

Deux mois plus tard, un échantillon montre la présence d'IgM à 44,2 U/mL et des IgG à 70,4 U/mL d'avidité faible en LIAISON® et intermédiaire en VIDAS®. Le profil de l'immunoblot IgM révèle la présence d'anti-CM2 et d'anti-p150. Le profil de l'immunoblot IgG révèle la présence d'anti-IE1, d'anti-CM2, d'anti-p150, d'anti-p65 et d'anti-gB1. Ce profil est en faveur d'une infection de moins de 14 semaines.

Ensemble ces profils permettent d'évaluer la primo-infection aux cours du 5^{ème} mois, confirmant la séroconversion au cours de la grossesse.





Patient	Age	Sexe	Date de grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	Avidité Liaison	IgG Vidas	Avidité Vidas	IgG Alinity	Immunoblot <i>recomLine</i> CMV MIKROGEN®	
63	29	F	7 mois	51,4	76,3	0,16	32	0,26	156,7	IgM	
										IgG	
			9 mois	44,2	70,4	0,12	23	0,42	161	IgM	
										IgG	

Tableau 18 : Profils des immunoblots de la patiente 63 lors de sa séroconversion CMVH.

IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL.

IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL.

Avidité liaison : faible < 0,150 ; intermédiaire 0,150-0,250 ; forte > 0,250.

IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL.

Avidité VIDAS : faible < 0,4 ; intermédiaire 0,4-0,6 ; forte > 0,6.

IgG Alinity : négatif < 6 UA/mL ; positif > 6 UA/mL.

III.4.6. Profil 6

Une patiente enceinte de 22 ans (*patiente 64*), présente un échantillon avant le début de sa grossesse négatif pour le CMVH, dans les trois techniques immunoenzymatiques et en immunoblot IgG.

Un an plus tard, un échantillon à 2 mois de grossesse objective une séroconversion vis-à-vis du CMVH avec présence d'IgM à 81,7 U/mL associées à des IgG à 105 U/mL d'avidité forte en LIAISON® et en VIDAS®. Le profil de l'immunoblot IgM révèle la présence d'anti-CM2 et d'anti-p150. Le profil de l'immunoblot IgG révèle la présence d'anti-IE1, d'anti-CM2, d'anti-p150, d'anti-p65 et d'anti-gB1. Ce profil est en faveur d'une infection de plus de 12 semaines.

Les échantillons suivants montrent la disparition progressive des IgM ainsi que des IgG spécifiques des protéines précoces avec une augmentation de l'avidité.

Ensemble ces profils permettent d'évaluer la primo-infection avant le début de la grossesse, permettant d'exclure une séroconversion au cours de la grossesse.

Patient	Age	Sexe	Date de grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	Avidité Liaison	IgG Vidas	Avidité Vidas	IgG Alinity	Immunoblot recomLine CMV MIKROGEN®	
										IgM	IgG
64	22	F		< 18	< 12		< 4			IgM	
										IgG	
			2 mois	81,7	105	0,24	42	0,58	143	IgM	
										IgG	
			3 mois	35,1	117	0,34	52	0,69	204,2	IgM	
										IgG	
			8 mois	< 18	113	0,56	39	0,80	>250	IgM	
										IgG	

Tableau 19 : Profils des immunoblots de la patiente 64 lors de sa séroconversion CMVH.

IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL.

IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL.

Avidité liaison : faible < 0,150 ; intermédiaire 0,150-0,250 ; forte > 0,250.

IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL.

Avidité VIDAS : faible < 0,4 ; intermédiaire 0,4-0,6 ; forte > 0,6.

IgG Alinity : négatif < 6 UA/mL ; positif > 6 UA/mL.

III.4.7. Profil 7

Une patiente enceinte de 28 ans (*patiente 65*), présente un échantillon avant le début de sa grossesse négatif pour le CMVH, dans les trois techniques immunoenzymatiques et en immunoblot IgG.

L'échantillon suivant montre une séroconversion apparente vis-à-vis du CMVH en IgM à faible taux sans séroconversion en IgG sur LIAISON® mais sur VIDAS® et ALINITY®. Cette potentielle séroconversion avec de faible taux d'IgM LIAISON® et IgG ALINITY® ou VIDAS® a été adressée au CNR de Limoges pour expertise, et plusieurs prélèvements sur une période de 8 mois vont présenter ce même profil.

L'absence d'évolution de profil au cours de plusieurs mois est en faveur d'une fausse positivité des IgM et IgG sur les techniques immunoenzymatiques. Cette fausse positivité est confirmée en immunoblot IgM et IgG.

Cependant, au 9^{ème} mois de grossesse, la présence d'IgM à > 140 UI/ml et d'IgG à 100 UI/mL avec une faible avidité sur les deux méthodes est observée. Le profil de l'immunoblot IgG révèle la présence d'anti-IE1, d'anti-CM2, d'anti-p150 et d'anti-p65. Ce profil est en faveur d'une infection de moins de 14 semaines.

Ensemble ces profils permettent d'évaluer la primo-infection aux cours du 8^{ème} mois, confirmant la séroconversion au cours de la grossesse.

Patient	Age	Sexe	Date de grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	Avidité Liaison	IgG Vidas	Avidité Vidas	IgG Alinity	Immunoblot recomLine CMV MIKROGEN®		
65	28	F		< 12	< 18					IgM		
											IgG	
			1 mois	14,5	< 18		<4		9,7	IgM		
											IgG	
			3 mois	23,3	< 18		6		17	IgM		
											IgG	
			5 mois	23,5	< 18		5		15,5	IgM		
											IgG	
			7 mois	24,5	< 18		6		20,4	IgM		
											IgG	
9 mois	140	100	0,1	36	0,08	>250	IgM					
								IgG				

Tableau 20 : Profils des immunoblots de la patiente 65 lors de sa séroconversion CMVH.

IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL.

IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL.

Avidité liaison : faible < 0,150 ; intermédiaire 0,150-0,250 ; forte > 0,250.

IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL.

Avidité VIDAS : faible < 0,4 ; intermédiaire 0,4-0,6 ; forte > 0,6.

IgG Alinity : négatif < 6 UA/mL ; positif > 6 UA/mL.

III.4.8. Profil 8

Une patiente enceinte de 22 ans (*patiente 66*), présente une suspicion de séroconversion à 7 mois de grossesse, avec une présence d'IgM à 23,4 U/mL et des IgG à 141 U/mL associés à une forte avidité. Le profil de l'immunoblot IgM n'est pas positif malgré une faible accroche sur p150. Le profil de l'immunoblot IgG révèle la présence d'anti-IE1, d'anti-CM2, d'anti-p150, et d'anti-gB1 et d'anti-gB2. Ce profil est en faveur d'une infection de plus de 12 semaines.

Conjointement, ces profils ne permettent pas d'exclure une primo-infection au cours de la grossesse. Cependant l'absence de positivité de l'immunoblot IgM associé à un marquage fort de p150, gB1 et gB2 sont en faveur d'une infection ancienne.

Patient	Age	Sexe	Date de grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	Avidité Liaison	IgG Vidas	Avidité Vidas	IgG Alinity	Immunoblot <i>recomLine</i> CMV MIKROGEN®	
										IgM	IgG
66	22	F	7 mois	23,4	141	0,9	39	0,8	>250	IgM	
										IgG	
			9 mois	< 18	156	36	>250	IgM			
								IgG			

Tableau 21 : Profils des immunoblots de la patiente 66 lors de sa suspicion de séroconversion CMVH.

IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL.
IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL.
Avidité liaison : faible < 0,150 ; intermédiaire 0,150-0,250 ; forte > 0,250.
IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL.
Avidité VIDAS : faible < 0,4 ; intermédiaire 0,4-0,6 ; forte > 0,6.
IgG Alinity : négatif < 6 UA/mL ; positif > 6 UA/mL.

III.4.9. Profil 9

Une patiente enceinte de 36 ans (*patiente 67*), présente une suspicion de séroconversion au premier mois de grossesse avec la présence d'IgM à 18 U/mL et des IgG à 97 U/mL associées à une avidité forte. Le profil de l'immunoblot IgM révèle la présence, d'anti-p150. Le profil de l'immunoblot IgG révèle la présence d'anti-IE1, d'anti-CM2, d'anti-p150, et d'anti-gB1 et d'anti-gB2. Ce profil est en faveur d'une infection de plus de 12 semaines.

Conjointement ces profils permettent d'exclure une séroconversion au cours de la grossesse mais la disparition progressive des anti-IE1, anti-CM2, et anti-p65 au 7 et 8^{ème} mois de grossesse sont en faveur d'une primo-infection ayant probablement eu lieu dans les 3-4 mois précédant la grossesse.

Patient	Age	Sexe	Date de grossesse	IgM CMV Liaison	IgG CMV Liaison	Avidité Liaison	IgG Vidas	Avidité Vidas	IgG Alinity	Immunoblot <i>recomLine</i> CMV MIKROGEN®	
67	36	F	1 mois	18	97	0,49	66	0,83	158,6	IgM	
										IgG	
			7 mois	22,4	95,5	0,56	39	0,9	175,3	IgM	
										IgG	
			8 mois	28,6	85,7	0,45	43	0,97	195,4	IgM	
										IgG	

Tableau 22 : Profils des immunoblots de la patiente 67 de sa suspicion de séroconversion CMVH.

IgM Liaison : négatif < 18 U/mL ; équivoque 18-22 U/mL ; positif > 22 U/mL.
 IgG Liaison : négatif < 12 U/mL ; équivoque 12-14 U/mL ; positif > 14 U/mL.
 Avidité liaison : faible < 0,150 ; intermédiaire 0,150-0,250 ; forte > 0,250.
 IgG VIDAS : négatif < 6 UA/mL ; équivoque 6-12 UA/mL ; positif > 12 UA/mL.
 Avidité VIDAS : faible < 0,4 ; intermédiaire 0,4-0,6 ; forte > 0,6.
 IgG Alinity : négatif < 6 UA/mL ; positif > 6 UA/mL.

III.4.10. Synthèse des profils de séroconversions

A partir de l'étude bibliographique réalisée, et de l'évaluation des cinétiques des séroconversions que nous avons pu tester, avec les immunoblots *recomLine* CMV MIKROGEN®, nous proposons un récapitulatif de la cinétique de la réponse immunitaire humorale au cours d'une séroconversion à CMVH. Elle prendra en compte la mesure du taux des IgM, des IgG, de l'avidité des IgG ainsi que les profils des immunoblots IgM et IgG.

Lors d'une primo-infection, **au cours des 3 premières semaines** on observe une apparition d'IgM associée à une absence d'IgG. L'immunoblot IgM révèle la présence d'IgM anti-CM2 et anti-p150 associé ou non à des IgM anti-IE1 et anti-p65. L'immunoblot IgG est négatif.

Entre la **3 et la 8^{ème} semaine**, on note l'apparition d'IgG de faible avidité. Les immunoblots IgM révèlent la présence d'IgM anti-CM2 et anti-p150. Les immunoblots IgG révèlent la présence d'IgG anti-CM2 et anti-p65 associés à une faible avidité.

A partir de la **8^{ème} semaine**, il y a une persistance des IgM et des IgG d'avidité faible ou intermédiaire et on note l'apparition d'IgG anti-p150. Les immunoblots IgM révèlent la présence d'IgM anti-CM2 et anti-p150. Les immunoblots IgG révèlent la présence d'IgG anti-CM2, anti-p150 et anti-p65 associés à une avidité faible à intermédiaire.

A partir de la **12^{ème} semaine**, les IgM disparaissent chez la plupart des individus et les IgG sont d'avidité intermédiaire à élevée. C'est à ce moment-là que l'on observe l'apparition des IgG anti-gB1. Les immunoblots IgM se négativent chez la plupart des patients, en cas de persistance des IgM, on peut observer la présence d'IgM anti-p150. Les immunoblots IgG révèlent la présence d'IgG anti-CM2, anti-p150, anti-p65 et anti-gB, associés à une avidité intermédiaire à élevée. Au cours de cette période l'intensité de positivité des anti-p150 dépasse celle des anti-CM2 et anti-p65.

Au-delà de la **24^{ème} semaine**, il n'y a plus d'IgM chez la totalité des patients, et il y a persistance des IgG d'avidité élevée. Les immunoblots IgM sont négatifs. Les immunoblots IgG révèlent la présence d'anti-p150 et d'anti-gB.

Profil	IgM	IgG	Avidité IgG	Immunoblot <i>recomLine</i> CMV MIKROGEN®						IE1	CM2	P150	P65	gB1	gB2
Négatif	-	-		IgM		-	-	-	-	-	-	-	-	-	
				IgG		-	-	-	-	-	-	-	-		
< 3 Semaines	+	-		IgM		-/+	+	++	-/+	-	-	-	-		
				IgG		-	-	-	-	-	-	-			
6 – 8 Semaines	+	+	Faible	IgM		-	+	+	+	-	-	-	-		
				IgG		-/+	+	-	++	-	-				
8-12 Semaines	+	+	Faible / Intermédiaire	IgM		-	+	+	+	-	-	-	-		
				IgG		-/+	++	+	++	-	-				
	-/+	+	Faible / Intermédiaire	IgM		-	+	+	-/+	-	-	-	-		
				IgG		-/+	++	++	++	-	-				
12-24 Semaines	-	+	Intermédiaire / Forte	IgM		-	-	-	-	-	-	-	-		
				IgG		-/+	+	+++	+	++	++				
	-	+	Intermédiaire / Forte	IgM		-	-	-	-	-	-	-	-		
				IgG		-/+	-/+	+++	-/+	++	+				
> 24 Semaines	-	+	Forte	IgM		-	-	-	-	-	-	-	-		
				IgG		-	-	+++	-	+	-/+				

Tableau 23 : Cinétique de la réponse humorale au cours d'une primo-infection à CMVH et évolution des profils des immunoblots *recomLine* CMV®

Discussion

L'infection congénitale à CMVH est aujourd'hui la première cause de surdité non génétique et une cause importante de retard mentaux à la naissance. Son impact au niveau de la santé publique est important et est sujet à de nombreuses questions et débats. Le dépistage sérologique systématique n'est toujours pas recommandé au cours de la grossesse et ne possède pas le remboursement en France hors contexte de primo-infection (Nomenclature des Actes de Biologie Médicale). Les évolutions vaccinales récentes ainsi que les nouvelles thérapeutiques disponibles dans cette indication comme les HIG ou le VACV, rendent d'autant plus pertinentes la réalisation de sérologie pré-conceptionnelles et au cours de la grossesse afin de dépister les femmes séronégatives et celles en cours de primo-infection. Cependant, la sérologie CMVH dans un contexte de grossesse est un examen de plus en plus prescrit, notamment en cas de suspicion d'infection récente.

Le CMVH est considéré comme l'un des pathogènes opportunistes les plus courants chez les patients immunodéprimés, après une infection primaire, une réinfection ou une réactivation du virus latent. Il a été démontré que plus la suppression du système immunitaire est forte, plus le risque de maladies liées au CMVH est élevé. Les patients ayant reçu une greffe de cellules souches allogénique et ceux atteints du syndrome d'immunodéficience humaine acquise (SIDA) présentent les manifestations les plus sévères de la maladie. L'infection et les maladies liées au CMVH sont également observées chez les patients ayant reçu une greffe d'organe solide et chez les patients atteints de cancer sous traitement immunosuppresseur. Les manifestations cliniques chez ces patients peuvent varier d'une maladie fébrile de courte durée à l'atteinte de plusieurs systèmes d'organes parfois mortelles. Afin de prévenir l'infection et la maladie à CMVH, des traitements prophylactiques peuvent être mis en place en post-transplantation. Cependant, le choix de la stratégie va dépendre du statut sérologique CMV du donneur et du receveur. Il est donc essentiel de disposer d'outils diagnostiques performants.

Dans la majorité des cas, les sérologies sont simples d'interprétation et ne posent pas de difficultés. Deux profils majoritaires se dégagent, les profils naïfs de toute infection (IgM et IgG négatifs) ou les profils d'infection ancienne (IgM négatives et IgG positives). Cependant il n'est pas rare que des profils plus délicats d'interprétation, notamment en cas de profil d'infection très récente (IgM positives et IgG négatives) ou récente (IgM positives et IgG positives), nécessitent l'expertise du biologiste et que des examens complémentaires puissent trouver leur intérêt.

Après analyse de la littérature, il apparaît clair que les sérologies automatisées présentent d'excellents résultats en matière de sensibilité et spécificité sur la détection des IgG mais manque de spécificité sur les IgM. Dans ce cadre, nous avons cherché à évaluer la place des immunoblots *recomLine* CMV MIKROGEN® en technique de confirmation. Les objectifs étaient d'évaluer leur performances diagnostiques en population générale et de les comparer aux données de la littérature, puis de s'intéresser aux populations cibles dans des contextes d'interprétation délicate.

En population générale, les immunoblots *recomLine* CMV MIKROGEN® ont montré une sensibilité de 100 % en IgM et IgG. Ces résultats bien qu'évalués sur un faible échantillonnage permettent de confirmer les données de la littérature et les données fournisseurs.

Concernant les **profils de primo-infection des immunoblots recomLine CMV IgM®**, les IgM étaient principalement dirigées contre les protéines tégumentaires et matricielles : IE1, CM2, et p150. Aucune IgM dirigée contre les glycoprotéines d'enveloppe n'a été retrouvée (Tableau 2). La réponse immunitaire humorale précoce induit donc une production d'IgM anti-p150 et anti-CM2 principalement, pouvant être associée à des IgM anti-IE1 et des IgM anti-p65, mais pas d'IgM anti-gB. Ces observations rejoignent ce qui a précédemment été décrit dans la littérature. [55] [194]

Concernant la **spécificité des immunoblots recomLine CMV IgM®** en présence d'interférences analytiques, les profils de positivité sont variés et différent en fonction du type d'interférence potentielle (infection à un autre herpèsvirus ou présence d'un facteur rhumatoïde). Dans le cadre des primo-infections à EBV, on note une réactivité croisée marquée sur tous les antigènes tégumentaires et matriciels mais pas ceux de l'enveloppe (Tableau 6). Bien que CM2 soit plus marqué que les autres, notamment que la p150, ce profil se retrouve en cas de primo-infection à CMVH et ne peut être discriminant. Dans le cadre d'un facteur rhumatoïde, une réactivité croisée est également mise en évidence et s'observe sur p150 et CM2 (tableau 8). En revanche les immunoblots ont montré une meilleure spécificité en cas de primo-infection à parvovirus B19 avec seulement un marquage sur p150 (Tableau 7). Finalement dans ces deux derniers cas, on pourrait être tenté de les considérer comme négatif car ils présentent une faible positivité et on note une absence de marquage p65 qui est constamment présent sur les profils de primo-infection à CMVH. La *patiente 9* s'intègre également dans ce cadre-là : il s'agit d'une patiente enceinte présentant des IgM faiblement positifs isolés, dont le sérum a été adressé au CNR pour expertise. L'immunoblot révèle une faible positivité en CM2 et p150 sans p65 associée ce qui oriente vers une fausse positivité chez cette patiente. De même les patientes 65 et 66 ont été évaluées pour suspicion de primo-infection car elles présentaient des IgM. La réalisation d'un immunoblot IgM a permis de conclure à une fausse positivité. Le faible nombre d'échantillons testés ne permet qu'une estimation limitée de la spécificité des immunoblots *recomLine CMV IgM*. Cependant cet examen semble présenter une bonne valeur prédictive négative sur les échantillons testés.

Les **profils d'infections anciennes des immunoblots recomLine CMV IgG®** en population générale (*patient 20 à 28*), ont montré des profils variés. La positivité de la p150 et des gB était constante mais était fréquemment associée à une positivité des anticorps dirigés contre des protéines précoces comme CM2 et p65 et plus rarement IE1 (Tableau 4). L'étude de ces profils permettait la conclusion dans seulement 55% des cas à une infection ancienne. Plusieurs hypothèses peuvent être faites, la première serait une persistance des IgG dirigées contre les protéines précoces, la deuxième est une infection ancienne entre 12 et 24 semaines, et enfin une réinfection avec une autre souche ou réactivation virale. Dans tous les cas, l'association de ces profils avec une avidité élevée conduirait à classer les infections comme infections anciennes de plus de 12 semaines. Afin de pouvoir explorer le potentiel de ces immunoblots dans le cadre de réactivation/réinfection, il faudrait pouvoir disposer en parallèle de résultats de biologie moléculaire en faveur d'une réplication virale avec typage des souches pour différencier la réinfection de la réactivation ou d'une sérologie discriminante permettant de différencier les réponses en fonction de souches impliquées.

Concernant la **spécificité des immunoblots recomLine CMV IgG®**, nous avons souhaité évaluer celle-ci chez les patients (femmes enceintes et patients immunodéprimés des services d'hématologie ou de néphrologie) présentant un faible taux d'IgG (< 50 UI/mL). La sensibilité mesurée à 95% en raison de la fausse négativité du *patient 44* est satisfaisante et comparable aux trousse sérologiques évaluées. En revanche la spécificité mesurée à 100% est

supérieure à celle des différentes trousse sérologiques. L'immunoblot *recomLine* CMV IgG® semble donc présenter un intérêt comme technique hautement spécifique dans la confirmation d'une infection à CMVH en cas de sérologie équivoque ou faiblement positive dans les contextes cliniques à risque notamment chez l'immunodéprimé en hématologie pour la prévention de la réactivation virale par letermovir chez les receveurs séropositifs pour le CMVH ou en greffe d'organe pour la détermination du statut immunitaire donneur/receveur et ainsi mettre en place la prophylaxie adaptée. Dans le cadre du dépistage de l'infection maternelle au cours de la grossesse, il est également essentiel de pouvoir disposer d'un test de confirmation spécifique pour caractériser le statut sérologique négatif ou positif des patientes sachant que les femmes séronégatives sont exposées à un risque de primo-infection au cours du premier trimestre de la grossesse.

Concernant la place des immunoblots *recomLine* CMV MIKROGEN® dans la datation d'une infection à CMVH, nous avons étudié la cinétique de 9 séroconversions en cours de grossesse. Nous avons déterminé que l'immunoblot permet de déterminer efficacement la datation de l'infection. Les profils comportant des IgM associés à des IgG anti-CM2 et anti-p65 et de faible avidité étaient en faveur d'infections récentes de moins de 6-8 semaines. Les profils avec des IgG anti-CM2, anti-p150, anti-p65 associés à une faible avidité en IgG et la présence plus ou moins constante d'IgM étaient en faveur d'infections récentes de moins de 12 semaines. Les profils avec CM2, p150, p65 et gB1, une forte avidité et sans IgM associée, étaient en faveur d'infection de plus de 12 semaines. Les profils avec IgG anti-p150 associés à des IgG anti-gB d'avidité fortes sont en faveur d'une infection de plus de 24 semaines. Les IgG présents initialement et spécifiques des antigènes précoces disparaissent progressivement au profit des IgG spécifiques des antigènes tardifs (Tableau 17). Il est à noter que les IgG anti-IE1 n'étaient pas toujours présents, et pouvaient se retrouver dans plusieurs profils différents, notamment en persistant au cours du temps. Ils ne semblent donc pas présenter d'intérêt dans la détermination de la cinétique. Il est intéressant de noter à nouveau que le *patient 61* a présenté un signal faible bien qu'inférieur au cut-off sur les antigènes CM2, p150 et p65 dans un contexte de primo-infection avec IgM positives et IgG négatives, ce qui laisse à penser que l'immunoblot IgG pourrait se positiver plus précocement que les sérologies automatisées standards. L'évaluation de la cinétique des IgM n'a pas apporté d'information supplémentaire pour la datation, mais a permis d'infirmer certaines sérologies IgM faussement positives. L'ensemble des résultats observés pour ces cinétiques est en accord avec ce qui avait été précédemment décrit dans la littérature. [192] [193] [194] [196]

Concernant les résultats d'avidité des IgG observés dans notre étude, le test LIAISON® CMV IgG Avidity atteint plus rapidement un statut d'avidité élevée que le test VIDAS® CMV IgG Avidity. En effet, le test LIAISON® CMV IgG Avidity II, identifie parfois des sérums (ex : *patient 60*) avec des valeurs d'avidité élevées dans les séroconversions récentes documentées. [183]

L'immunoblot *recomLine* CMV MIKROGEN® présente des caractéristiques diagnostiques fortes et supérieures aux sérologies automatisées ce qui en fait un outil fiable dans la détermination du statut sérologique.

Une datation de l'infection par l'immunoblot *recomLine* CMV MIKROGEN® est réalisable au vu des cinétiques évaluées. Elle serait encore plus aisée avec la commercialisation du réactif d'avidité qui n'est actuellement pas disponible en France. En l'absence de ce réactif, une alternative peut consister en la détermination de l'avidité par les trousse automatisées LIAISON® ou VIDAS®. A l'issue de cette évaluation, nous pouvons proposer un arbre

décisionnel pour le sérodiagnostic en cas de suspicion de primo-infection chez la femme enceinte (figure 12). En raison du coût élevé de cet examen mais également du temps technique nécessaire à la réalisation d'un immunoblot, cet examen n'a pas de vocation à être utilisé en routine pour la détermination du statut immunitaire des patients mais il présente un intérêt dans la confirmation et l'expertise de sérologies délicates d'interprétation. Dans ce cadre-là, il pourrait permettre de diminuer la répétition des sérologies, la réalisation d'examen de biologie moléculaire sur liquide amniotique, coûteux et non dénués de risque pour le fœtus afin de mieux évaluer le risque de transmission fœtale.

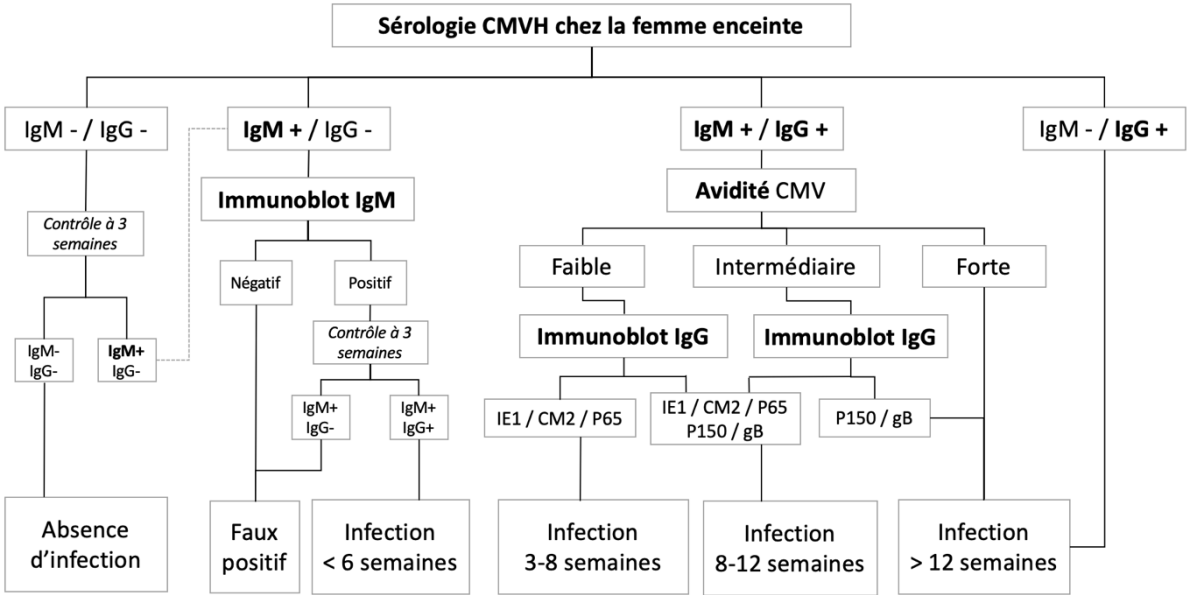


Figure 12 : Arbre décisionnel pour la datation d'une infection à CMVH chez la femme enceinte

Conclusion

Cette étude rétrospective portant sur 67 sérums de patients issus de la banque de sérums du CHU de Limoges nous a permis de mieux définir la place de l'immunoblot CMV dans différentes situations diagnostiques.

Les immunoblots *recomLine* CMV IgM® ont montré une valeur prédictive négative supérieure à la méthode immunoenzymatique LIAISON XL IgM®, malgré certains faux positifs en cas d'infection à EBV ou de facteur rhumatoïde.

Les immunoblots *recomLine* CMV IgG® présentent une sensibilité (95%) et une spécificité (100%) supérieures aux sérologies automatisées en cas de faible taux d'IgG (<50UI/ml) (n=30).

Les immunoblots *recomLine* CMV® ont également montré un intérêt dans la datation d'une infection à CMV au cours de la grossesse.

Ces données suggèrent que les immunoblots *recomLine* CMV® IgM et IgG de MIKROGEN® ont leur place dans l'arsenal diagnostique du CNR des Herpèsvirus du CHU de Limoges.

Références bibliographiques

- [1] *Traité de virologie médicale. = 2e édition.* Société française de microbiologie. Paris, 2019.
- [2] B. Roizman et J. Baines, « The diversity and unity of *herpesviridae* », *Comp. Immunol. Microbiol. Infect.*, janv. 1991, doi: 10.1016/0147-9571(91)90122-T.
- [3] M. Ho, « The history of cytomegalovirus and its diseases », *Med. Microbiol. Immunol. (Berl.)*, vol. 197, n° 2, p. 65-73, juin 2008, doi: 10.1007/s00430-007-0066-x.
- [4] M. Zuhair *et al.*, « Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: A systematic review and meta-analysis », *Rev. Med. Virol.*, vol. 29, n° 3, p. e2034, mai 2019, doi: 10.1002/rmv.2034.
- [5] D. Antona *et al.*, « Seroprevalence of cytomegalovirus infection in France in 2010 », *Epidemiol. Infect.*, vol. 145, n° 7, p. 1471-1478, mai 2017, doi: 10.1017/S0950268817000103.
- [6] T. M. Lanzieri, S. C. Dollard, S. R. Bialek, et S. D. Grosse, « Systematic review of the birth prevalence of congenital cytomegalovirus infection in developing countries », *Int. J. Infect. Dis. IJID Off. Publ. Int. Soc. Infect. Dis.*, vol. 22, p. 44-48, mai 2014, doi: 10.1016/j.ijid.2013.12.010.
- [7] M. Leruez-Ville *et al.*, « Risk Factors for Congenital Cytomegalovirus Infection Following Primary and Nonprimary Maternal Infection: A Prospective Neonatal Screening Study Using Polymerase Chain Reaction in Saliva », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 65, n° 3, p. 398-404, août 2017, doi: 10.1093/cid/cix337.
- [8] P. Coste-Mazeau, M. Hamon, É. Ribot, S. Hantz, et S. Alain, « Implementation of screening for cytomegalovirus congenital infection in a French type 3 maternity », *Gynecol. Obstet. Fertil. Senol.*, p. S2468-7189(24)00014-X, janv. 2024, doi: 10.1016/j.gofs.2024.01.010.
- [9] S. Manicklal, V. C. Emery, T. Lazzarotto, S. B. Boppana, et R. K. Gupta, « The “silent” global burden of congenital cytomegalovirus », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 26, n° 1, p. 86-102, janv. 2013, doi: 10.1128/CMR.00062-12.
- [10] J. Grosjean *et al.*, « Human cytomegalovirus quantification in toddlers saliva from day care centers and emergency unit : a feasibility study », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 61, n° 3, p. 371-377, nov. 2014, doi: 10.1016/j.jcv.2014.07.020.
- [11] A. Dolan *et al.*, « Genetic content of wild-type human cytomegalovirus », *J. Gen. Virol.*, vol. 85, n° Pt 5, p. 1301-1312, mai 2004, doi: 10.1099/vir.0.79888-0.
- [12] J. Cudini *et al.*, « Human cytomegalovirus haplotype reconstruction reveals high diversity due to superinfection and evidence of within-host recombination », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 116, n° 12, p. 5693-5698, mars 2019, doi: 10.1073/pnas.1818130116.
- [13] O. J. Charles *et al.*, « Genomic and geographical structure of human cytomegalovirus », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 120, n° 30, p. e2221797120, juill. 2023, doi: 10.1073/pnas.2221797120.
- [14] A. T. Bankier *et al.*, « The DNA sequence of the human cytomegalovirus genome », *DNA Seq. J. DNA Seq. Mapp.*, vol. 2, n° 1, p. 1-12, 1991, doi: 10.3109/10425179109008433.
- [15] S. M. Varnum *et al.*, « Identification of proteins in human cytomegalovirus (HCMV) particles: the HCMV proteome », *J. Virol.*, vol. 78, n° 20, p. 10960-10966, oct. 2004, doi: 10.1128/JVI.78.20.10960-10966.2004.
- [16] A. Irmiere et W. Gibson, « Isolation and characterization of a noninfectious virion-like particle released from cells infected with human strains of cytomegalovirus », *Virology*, vol. 130, n° 1, p. 118-133, oct. 1983, doi: 10.1016/0042-6822(83)90122-8.
- [17] M. K. Isaacson et T. Compton, « Human cytomegalovirus glycoprotein B is required for virus entry and cell-to-cell spread but not for virion attachment, assembly, or egress », *J. Virol.*, vol. 83, n° 8, p. 3891-3903, avr. 2009, doi: 10.1128/JVI.01251-08.
- [18] A. L. Vanarsdall, P. W. Howard, T. W. Wisner, et D. C. Johnson, « Human Cytomegalovirus gH/gL Forms a Stable Complex with the Fusion Protein gB in Virions »,

- PLoS Pathog.*, vol. 12, n° 4, p. e1005564, avr. 2016, doi: 10.1371/journal.ppat.1005564.
- [19] M. T. Huber et T. Compton, « The human cytomegalovirus UL74 gene encodes the third component of the glycoprotein H-glycoprotein L-containing envelope complex », *J. Virol.*, vol. 72, n° 10, p. 8191-8197, oct. 1998, doi: 10.1128/JVI.72.10.8191-8197.1998.
- [20] D. Wang et T. Shenk, « Human cytomegalovirus virion protein complex required for epithelial and endothelial cell tropism », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 102, n° 50, p. 18153-18158, déc. 2005, doi: 10.1073/pnas.0509201102.
- [21] P. T. Wille, A. J. Knoche, J. A. Nelson, M. A. Jarvis, et D. C. Johnson, « A human cytomegalovirus gO-null mutant fails to incorporate gH/gL into the virion envelope and is unable to enter fibroblasts and epithelial and endothelial cells », *J. Virol.*, vol. 84, n° 5, p. 2585-2596, mars 2010, doi: 10.1128/JVI.02249-09.
- [22] B. J. Ryckman, M. C. Chase, et D. C. Johnson, « Human cytomegalovirus TR strain glycoprotein O acts as a chaperone promoting gH/gL incorporation into virions but is not present in virions », *J. Virol.*, vol. 84, n° 5, p. 2597-2609, mars 2010, doi: 10.1128/JVI.02256-09.
- [23] A. L. Vanarsdall et D. C. Johnson, « Human cytomegalovirus entry into cells », *Curr. Opin. Virol.*, vol. 2, n° 1, p. 37-42, févr. 2012, doi: 10.1016/j.coviro.2012.01.001.
- [24] M. Mach, B. Kropff, P. Dal Monte, et W. Britt, « Complex formation by human cytomegalovirus glycoproteins M (gpUL100) and N (gpUL73) », *J. Virol.*, vol. 74, n° 24, p. 11881-11892, déc. 2000, doi: 10.1128/jvi.74.24.11881-11892.2000.
- [25] K. A. Boyle et T. Compton, « Receptor-binding properties of a soluble form of human cytomegalovirus glycoprotein B », *J. Virol.*, vol. 72, n° 3, p. 1826-1833, mars 1998, doi: 10.1128/JVI.72.3.1826-1833.1998.
- [26] M. Shimamura, M. Mach, et W. J. Britt, « Human cytomegalovirus infection elicits a glycoprotein M (gM)/gN-specific virus-neutralizing antibody response », *J. Virol.*, vol. 80, n° 9, p. 4591-4600, mai 2006, doi: 10.1128/JVI.80.9.4591-4600.2006.
- [27] L. Mhiri, J.-F. Meritet, P. Lebon, et A. Slim, « Different human cytomegalovirus glycoprotein B (gB) genotype distribution », *Pathol. Biol. (Paris)*, vol. 56, n° 1, p. 39-42, févr. 2008, doi: 10.1016/j.patbio.2007.02.001.
- [28] A. L. Vanarsdall, M. C. Chase, et D. C. Johnson, « Human cytomegalovirus glycoprotein gO complexes with gH/gL, promoting interference with viral entry into human fibroblasts but not entry into epithelial cells », *J. Virol.*, vol. 85, n° 22, p. 11638-11645, nov. 2011, doi: 10.1128/JVI.05659-11.
- [29] A. L. Vanarsdall, B. J. Ryckman, M. C. Chase, et D. C. Johnson, « Human cytomegalovirus glycoproteins gB and gH/gL mediate epithelial cell-cell fusion when expressed either in cis or in trans », *J. Virol.*, vol. 82, n° 23, p. 11837-11850, déc. 2008, doi: 10.1128/JVI.01623-08.
- [30] D. H. Chen, H. Jiang, M. Lee, F. Liu, et Z. H. Zhou, « Three-dimensional visualization of tegument/capsid interactions in the intact human cytomegalovirus », *Virology*, vol. 260, n° 1, p. 10-16, juill. 1999, doi: 10.1006/viro.1999.9791.
- [31] R. F. Kalejta, « Tegument Proteins of Human Cytomegalovirus », *Microbiol. Mol. Biol. Rev. MMBR*, vol. 72, n° 2, p. 249-265, juin 2008, doi: 10.1128/MMBR.00040-07.
- [32] B. Rüger *et al.*, « Primary structure and transcription of the genes coding for the two virion phosphoproteins pp65 and pp71 of human cytomegalovirus », *J. Virol.*, vol. 61, n° 2, p. 446-453, févr. 1987, doi: 10.1128/JVI.61.2.446-453.1987.
- [33] B. Nowak, A. Gmeiner, P. Sarnow, A. J. Levine, et B. Fleckenstein, « Physical mapping of human cytomegalovirus genes: identification of DNA sequences coding for a virion phosphoprotein of 71 kDa and a viral 65-kDa polypeptide », *Virology*, vol. 134, n° 1, p. 91-102, avr. 1984, doi: 10.1016/0042-6822(84)90275-7.
- [34] M. G. Revello, E. Percivalle, A. Di Matteo, F. Morini, et G. Gerna, « Nuclear expression of the lower matrix protein of human cytomegalovirus in peripheral blood leukocytes of immunocompromised viraemic patients », *J. Gen. Virol.*, vol. 73 (Pt 2), p. 437-442, févr. 1992, doi: 10.1099/0022-1317-73-2-437.
- [35] M. J. Gilbert, S. R. Riddell, B. Plachter, et P. D. Greenberg, « Cytomegalovirus

- selectively blocks antigen processing and presentation of its immediate-early gene product », *Nature*, vol. 383, n° 6602, p. 720-722, oct. 1996, doi: 10.1038/383720a0.
- [36] J. Odeberg, B. Plachter, L. Brandén, et C. Söderberg-Nauclér, « Human cytomegalovirus protein pp65 mediates accumulation of HLA-DR in lysosomes and destruction of the HLA-DR alpha-chain », *Blood*, vol. 101, n° 12, p. 4870-4877, juin 2003, doi: 10.1182/blood-2002-05-1504.
- [37] T. I. Arnon *et al.*, « Inhibition of the NKp30 activating receptor by pp65 of human cytomegalovirus », *Nat. Immunol.*, vol. 6, n° 5, p. 515-523, mai 2005, doi: 10.1038/ni1190.
- [38] M. R. Wills *et al.*, « The human cytotoxic T-lymphocyte (CTL) response to cytomegalovirus is dominated by structural protein pp65: frequency, specificity, and T-cell receptor usage of pp65-specific CTL », *J. Virol.*, vol. 70, n° 11, p. 7569-7579, nov. 1996, doi: 10.1128/JVI.70.11.7569-7579.1996.
- [39] G. Jahn *et al.*, « Map position and nucleotide sequence of the gene for the large structural phosphoprotein of human cytomegalovirus », *J. Virol.*, vol. 61, n° 5, p. 1358-1367, mai 1987, doi: 10.1128/JVI.61.5.1358-1367.1987.
- [40] D. Yu, M. C. Silva, et T. Shenk, « Functional map of human cytomegalovirus AD169 defined by global mutational analysis », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 100, n° 21, p. 12396-12401, oct. 2003, doi: 10.1073/pnas.1635160100.
- [41] D. P. AuCoin, G. B. Smith, C. D. Meiering, et E. S. Mocarski, « Betaherpesvirus-conserved cytomegalovirus tegument protein ppUL32 (pp150) controls cytoplasmic events during virion maturation », *J. Virol.*, vol. 80, n° 16, p. 8199-8210, août 2006, doi: 10.1128/JVI.00457-06.
- [42] P. Dal Monte *et al.*, « Stably expressed antisense RNA to cytomegalovirus UL83 inhibits viral replication », *J. Virol.*, vol. 70, n° 4, p. 2086-2094, avr. 1996, doi: 10.1128/JVI.70.4.2086-2094.1996.
- [43] C. J. Baldick, A. Marchini, C. E. Patterson, et T. Shenk, « Human cytomegalovirus tegument protein pp71 (ppUL82) enhances the infectivity of viral DNA and accelerates the infectious cycle. », *J. Virol.*, vol. 71, n° 6, p. 4400-4408, juin 1997.
- [44] W. A. Bresnahan et T. E. Shenk, « UL82 virion protein activates expression of immediate early viral genes in human cytomegalovirus-infected cells », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 97, n° 26, p. 14506-14511, déc. 2000, doi: 10.1073/pnas.97.26.14506.
- [45] S. R. Cantrell et W. A. Bresnahan, « Human cytomegalovirus (HCMV) UL82 gene product (pp71) relieves hDaxx-mediated repression of HCMV replication », *J. Virol.*, vol. 80, n° 12, p. 6188-6191, juin 2006, doi: 10.1128/JVI.02676-05.
- [46] R. F. Kalejta, J. T. Bechtel, et T. Shenk, « Human cytomegalovirus pp71 stimulates cell cycle progression by inducing the proteasome-dependent degradation of the retinoblastoma family of tumor suppressors », *Mol. Cell. Biol.*, vol. 23, n° 6, p. 1885-1895, mars 2003, doi: 10.1128/MCB.23.6.1885-1895.2003.
- [47] R. F. Kalejta et T. Shenk, « The human cytomegalovirus UL82 gene product (pp71) accelerates progression through the G1 phase of the cell cycle », *J. Virol.*, vol. 77, n° 6, p. 3451-3459, mars 2003, doi: 10.1128/jvi.77.6.3451-3459.2003.
- [48] H. Meyer *et al.*, « Identification and procaryotic expression of the gene coding for the highly immunogenic 28-kilodalton structural phosphoprotein (pp28) of human cytomegalovirus », *J. Virol.*, vol. 62, n° 7, p. 2243-2250, juill. 1988, doi: 10.1128/JVI.62.7.2243-2250.1988.
- [49] J. Martinez, R. S. Lahijani, et S. C. St Jeor, « Analysis of a region of the human cytomegalovirus (AD169) genome coding for a 25-kilodalton virion protein », *J. Virol.*, vol. 63, n° 1, p. 233-241, janv. 1989, doi: 10.1128/JVI.63.1.233-241.1989.
- [50] M. P. Landini, B. Severi, G. Furlini, et L. Badiali De Giorgi, « Human cytomegalovirus structural components: intracellular and intraviral localization of p28 and p65-69 by immunoelectron microscopy », *Virus Res.*, vol. 8, n° 1, p. 15-23, juill. 1987, doi: 10.1016/0168-1702(87)90036-0.
- [51] J. Wang, A. N. Loveland, L. M. Kattenhorn, H. L. Ploegh, et W. Gibson, « High-molecular-weight protein (pUL48) of human cytomegalovirus is a competent deubiquitinating

- protease: mutant viruses altered in its active-site cysteine or histidine are viable », *J. Virol.*, vol. 80, n° 12, p. 6003-6012, juin 2006, doi: 10.1128/JVI.00401-06.
- [52] J. T. Bechtel et T. Shenk, « Human cytomegalovirus UL47 tegument protein functions after entry and before immediate-early gene expression », *J. Virol.*, vol. 76, n° 3, p. 1043-1050, févr. 2002, doi: 10.1128/jvi.76.3.1043-1050.2002.
- [53] G. Alvisi *et al.*, « The Flexible Loop of the Human Cytomegalovirus DNA Polymerase Processivity Factor ppUL44 Is Required for Efficient DNA Binding and Replication in Cells », *J. Virol.*, vol. 83, n° 18, p. 9567-9576, sept. 2009, doi: 10.1128/JVI.00669-09.
- [54] A. E. Greijer, J. M. van de Crommert, S. J. Stevens, et J. M. Middeldorp, « Molecular fine-specificity analysis of antibody responses to human cytomegalovirus and design of novel synthetic-peptide-based serodiagnostic assays », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 37, n° 1, p. 179-188, janv. 1999, doi: 10.1128/JCM.37.1.179-188.1999.
- [55] R. Vornhagen *et al.*, « The DNA-binding protein pUL57 of human cytomegalovirus is a major target antigen for the immunoglobulin M antibody response during acute infection », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 33, n° 7, p. 1927-1930, juill. 1995, doi: 10.1128/jcm.33.7.1927-1930.1995.
- [56] W. L. Close, A. N. Anderson, et P. E. Pellett, « Betaherpesvirus Virion Assembly and Egress », *Adv. Exp. Med. Biol.*, vol. 1045, p. 167-207, 2018, doi: 10.1007/978-981-10-7230-7_9.
- [57] C. Muller, S. Alain, T. F. Baumert, G. Ligat, et S. Hantz, « Structures and Divergent Mechanisms in Capsid Maturation and Stabilization Following Genome Packaging of Human Cytomegalovirus and Herpesviruses », *Life Basel Switz.*, vol. 11, n° 2, p. 150, févr. 2021, doi: 10.3390/life11020150.
- [58] E. M. Borst *et al.*, « A Unique Role of the Human Cytomegalovirus Small Capsid Protein in Capsid Assembly », *mBio*, vol. 13, n° 5, p. e01007-22, doi: 10.1128/mbio.01007-22.
- [59] K. Mücke *et al.*, « Human Cytomegalovirus Major Immediate Early 1 Protein Targets Host Chromosomes by Docking to the Acidic Pocket on the Nucleosome Surface », *J. Virol.*, vol. 88, n° 2, p. 1228-1248, janv. 2014, doi: 10.1128/JVI.02606-13.
- [60] E. S. Mocarski, G. W. Kemble, J. M. Lyle, et R. F. Greaves, « A deletion mutant in the human cytomegalovirus gene encoding IE1(491aa) is replication defective due to a failure in autoregulation », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 93, n° 21, p. 11321-11326, oct. 1996, doi: 10.1073/pnas.93.21.11321.
- [61] C. Sinzger, A. Grefte, B. Plachter, A. S. Gouw, T. H. The, et G. Jahn, « Fibroblasts, epithelial cells, endothelial cells and smooth muscle cells are major targets of human cytomegalovirus infection in lung and gastrointestinal tissues », *J. Gen. Virol.*, vol. 76 (Pt 4), p. 741-750, avr. 1995, doi: 10.1099/0022-1317-76-4-741.
- [62] L. Scrivano, C. Sinzger, H. Nitschko, U. H. Koszinowski, et B. Adler, « HCMV spread and cell tropism are determined by distinct virus populations », *PLoS Pathog.*, vol. 7, n° 1, p. e1001256, janv. 2011, doi: 10.1371/journal.ppat.1001256.
- [63] C. Sinzger, M. Digel, et G. Jahn, « Cytomegalovirus cell tropism », *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, vol. 325, p. 63-83, 2008, doi: 10.1007/978-3-540-77349-8_4.
- [64] P. Griffiths, I. Baraniak, et M. Reeves, « The pathogenesis of human cytomegalovirus », *J. Pathol.*, vol. 235, n° 2, p. 288-297, 2015, doi: 10.1002/path.4437.
- [65] A. K. L. Cheung, A. Abendroth, A. L. Cunningham, et B. Slobedman, « Viral gene expression during the establishment of human cytomegalovirus latent infection in myeloid progenitor cells », *Blood*, vol. 108, n° 12, p. 3691-3699, déc. 2006, doi: 10.1182/blood-2005-12-026682.
- [66] M. K. Isaacson, L. K. Juckem, et T. Compton, « Virus entry and innate immune activation », *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, vol. 325, p. 85-100, 2008, doi: 10.1007/978-3-540-77349-8_5.
- [67] K. W. Boehme, M. Guerrero, et T. Compton, « Human cytomegalovirus envelope glycoproteins B and H are necessary for TLR2 activation in permissive cells », *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 177, n° 10, p. 7094-7102, nov. 2006, doi:

10.4049/jimmunol.177.10.7094.

- [68] G. W. G. Wilkinson *et al.*, « Modulation of natural killer cells by human cytomegalovirus », *J. Clin. Virol. Off.*, vol. 41, n° 3, p. 206-212, mars 2008, doi: 10.1016/j.jcv.2007.10.027.
- [69] P. J. van de Berg *et al.*, « Human cytomegalovirus induces systemic immune activation characterized by a type 1 cytokine signature », *J. Infect. Dis.*, vol. 202, n° 5, p. 690-699, sept. 2010, doi: 10.1086/655472.
- [70] G. Gerna *et al.*, « Human cytomegalovirus serum neutralizing antibodies block virus infection of endothelial/epithelial cells, but not fibroblasts, early during primary infection », *J. Gen. Virol.*, vol. 89, n° Pt 4, p. 853-865, avr. 2008, doi: 10.1099/vir.0.83523-0.
- [71] P. J. E. J. van de Berg, A. van Stijn, I. J. M. Ten Berge, et R. A. W. van Lier, « A fingerprint left by cytomegalovirus infection in the human T cell compartment », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 41, n° 3, p. 213-217, mars 2008, doi: 10.1016/j.jcv.2007.10.016.
- [72] C. A. Fielding *et al.*, « Control of immune ligands by members of a cytomegalovirus gene expansion suppresses natural killer cell activation », *eLife*, vol. 6, p. e22206, févr. 2017, doi: 10.7554/eLife.22206.
- [73] R. Berry, G. M. Watson, S. Jonjic, M. A. Degli-Esposti, et J. Rossjohn, « Modulation of innate and adaptive immunity by cytomegaloviruses », *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 20, n° 2, p. 113-127, févr. 2020, doi: 10.1038/s41577-019-0225-5.
- [74] S. E. Jackson, G. X. Sedikides, G. Okecha, E. L. Poole, J. H. Sinclair, et M. R. Wills, « Latent Cytomegalovirus (CMV) Infection Does Not Detrimentally Alter T Cell Responses in the Healthy Old, But Increased Latent CMV Carriage Is Related to Expanded CMV-Specific T Cells », *Front. Immunol.*, vol. 8, p. 733, 2017, doi: 10.3389/fimmu.2017.00733.
- [75] P. Griffiths et M. Reeves, « Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host », *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 19, n° 12, p. 759-773, déc. 2021, doi: 10.1038/s41579-021-00582-z.
- [76] H. Wiltshire *et al.*, « Pharmacodynamics of oral ganciclovir and valganciclovir in solid organ transplant recipients », *Transplantation*, vol. 79, n° 11, p. 1477-1483, juin 2005, doi: 10.1097/01.tp.0000164512.99703.ad.
- [77] E. Littler, A. D. Stuart, et M. S. Chee, « Human cytomegalovirus UL97 open reading frame encodes a protein that phosphorylates the antiviral nucleoside analogue ganciclovir », *Nature*, vol. 358, n° 6382, p. 160-162, juill. 1992, doi: 10.1038/358160a0.
- [78] V. Sullivan, C. L. Talarico, S. C. Stanat, M. Davis, D. M. Coen, et K. K. Biron, « A protein kinase homologue controls phosphorylation of ganciclovir in human cytomegalovirus-infected cells », *Nature*, vol. 358, n° 6382, p. 162-164, juill. 1992, doi: 10.1038/358162a0.
- [79] H. Wiltshire *et al.*, « Pharmacokinetic profile of ganciclovir after its oral administration and from its prodrug, valganciclovir, in solid organ transplant recipients », *Clin. Pharmacokinet.*, vol. 44, n° 5, p. 495-507, 2005, doi: 10.2165/00003088-200544050-00003.
- [80] W. G. Nichols, L. Corey, T. Gooley, C. Davis, et M. Boeckh, « High risk of death due to bacterial and fungal infection among cytomegalovirus (CMV)-seronegative recipients of stem cell transplants from seropositive donors: evidence for indirect effects of primary CMV infection », *J. Infect. Dis.*, vol. 185, n° 3, p. 273-282, févr. 2002, doi: 10.1086/338624.
- [81] M. Battiwalla *et al.*, « Ganciclovir inhibits lymphocyte proliferation by impairing DNA synthesis », *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.*, vol. 13, n° 7, p. 765-770, juill. 2007, doi: 10.1016/j.bbmt.2007.03.009.
- [82] C. Steininger, « Novel therapies for cytomegalovirus disease », *Recent Patents Anti-Infect. Drug Disc.*, vol. 2, n° 1, p. 53-72, janv. 2007, doi: 10.2174/157489107779561634.
- [83] E. P. Acosta et C. V. Fletcher, « Valacyclovir », *Ann. Pharmacother.*, vol. 31, n° 2, p. 185-191, févr. 1997, doi: 10.1177/106002809703100211.
- [84] E. De Clercq et A. Holý, « Acyclic nucleoside phosphonates: a key class of antiviral drugs », *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 4, n° 11, p. 928-940, nov. 2005, doi: 10.1038/nrd1877.
- [85] A. J. Wagstaff et H. M. Bryson, « Foscarnet. A reappraisal of its antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use in immunocompromised patients with viral

- infections », *Drugs*, vol. 48, n° 2, p. 199-226, août 1994, doi: 10.2165/00003495-199448020-00007.
- [86] G. Ligat, R. Cazal, S. Hantz, et S. Alain, « The human cytomegalovirus terminase complex as an antiviral target: a close-up view », *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 42, n° 2, p. 137-145, mars 2018, doi: 10.1093/femsre/fuy004.
- [87] « Commission de transparence, Letermovir (5 septembre 2018) ». Consulté le: 8 septembre 2024. [En ligne]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-16715_PREVYMIS_PIC_INS_Avis3_CT16715.pdf
- [88] A. P. Limaye *et al.*, « Letermovir vs Valganciclovir for Prophylaxis of Cytomegalovirus in High-Risk Kidney Transplant Recipients: A Randomized Clinical Trial », *JAMA*, vol. 330, n° 1, p. 33-42, juill. 2023, doi: 10.1001/jama.2023.9106.
- [89] K. K. Biron *et al.*, « Potent and selective inhibition of human cytomegalovirus replication by 1263W94, a benzimidazole L-riboside with a unique mode of action », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 46, n° 8, p. 2365-2372, août 2002, doi: 10.1128/AAC.46.8.2365-2372.2002.
- [90] S. Chou et G. I. Marousek, « Maribavir antagonizes the antiviral action of ganciclovir on human cytomegalovirus », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 50, n° 10, p. 3470-3472, oct. 2006, doi: 10.1128/AAC.00577-06.
- [91] F. M. Marty *et al.*, « Maribavir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus disease in recipients of allogeneic stem-cell transplants: a phase 3, double-blind, placebo-controlled, randomised trial », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 11, n° 4, p. 284-292, avr. 2011, doi: 10.1016/S1473-3099(11)70024-X.
- [92] R. K. Avery *et al.*, « Maribavir for Refractory Cytomegalovirus Infections With or Without Resistance Post-Transplant: Results From a Phase 3 Randomized Clinical Trial », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 75, n° 4, p. 690-701, sept. 2022, doi: 10.1093/cid/ciab988.
- [93] U. Schulz *et al.*, « CMV Immunoglobulins for the Treatment of CMV Infections in Thoracic Transplant Recipients », *Transplantation*, vol. 100 Suppl 3, n° Suppl 3, p. S5-10, mars 2016, doi: 10.1097/TP.0000000000001097.
- [94] T. Fellah *et al.*, « Evolution of awareness and knowledge of congenital cytomegalovirus infection among health care providers in France between 2011 and 2018 », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 129, p. 104335, août 2020, doi: 10.1016/j.jcv.2020.104335.
- [95] F. Vena *et al.*, « Pregnant women's knowledge and behaviour to prevent cytomegalovirus infection: an observational study », *J. Perinat. Med.*, vol. 49, n° 3, p. 327-332, mars 2021, doi: 10.1515/jpm-2020-0301.
- [96] C. Vauloup-Fellous *et al.*, « Does hygiene counseling have an impact on the rate of CMV primary infection during pregnancy? Results of a 3-year prospective study in a French hospital », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 46 Suppl 4, p. S49-53, déc. 2009, doi: 10.1016/j.jcv.2009.09.003.
- [97] M. G. Revello *et al.*, « Prevention of Primary Cytomegalovirus Infection in Pregnancy », *EBioMedicine*, vol. 2, n° 9, p. 1205-1210, sept. 2015, doi: 10.1016/j.ebiom.2015.08.003.
- [98] A. Lazzaro *et al.*, « Knowledge of congenital cytomegalovirus (CMV) in pregnant women in Australia is low, and improved with education », *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.*, vol. 59, n° 6, p. 843-849, déc. 2019, doi: 10.1111/ajo.12978.
- [99] S. D. Elek et H. Stern, « Development of a vaccine against mental retardation caused by cytomegalovirus infection in utero », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 1, n° 7845, p. 1-5, janv. 1974, doi: 10.1016/s0140-6736(74)92997-3.
- [100] S. A. Plotkin, T. Furukawa, N. Zygraich, et C. Huygelen, « Candidate cytomegalovirus strain for human vaccination », *Infect. Immun.*, vol. 43, n° 3, p. 521-527, sept. 1975, doi: 10.1128/iai.43.3.521-527.1975.
- [101] S. A. Plotkin *et al.*, « Multicenter trial of Towne strain attenuated virus vaccine in seronegative renal transplant recipients », *Transplantation*, vol. 58, n° 11, p. 1176-1178, déc.

1994.

- [102] D. I. Bernstein *et al.*, « Safety and efficacy of a cytomegalovirus glycoprotein B (gB) vaccine in adolescent girls: A randomized clinical trial », *Vaccine*, vol. 34, n° 3, p. 313-319, janv. 2016, doi: 10.1016/j.vaccine.2015.11.056.
- [103] P. D. Griffiths *et al.*, « Cytomegalovirus glycoprotein-B vaccine with MF59 adjuvant in transplant recipients: a phase 2 randomised placebo-controlled trial », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 377, n° 9773, p. 1256-1263, avr. 2011, doi: 10.1016/S0140-6736(11)60136-0.
- [104] Institute of Medicine (US) Committee to Study Priorities for Vaccine Development, *Vaccines for the 21st Century: A Tool for Decisionmaking*. in The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health. Washington (DC): National Academies Press (US), 2000. Consulté le: 5 septembre 2024. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK233313/>
- [105] D. Lilleri et G. Gerna, « Maternal immune correlates of protection from human cytomegalovirus transmission to the fetus after primary infection in pregnancy », *Rev. Med. Virol.*, vol. 27, n° 2, mars 2017, doi: 10.1002/rmv.1921.
- [106] M. R. Schleiss *et al.*, « Preconceptual administration of an alphavirus replicon UL83 (pp65 homolog) vaccine induces humoral and cellular immunity and improves pregnancy outcome in the guinea pig model of congenital cytomegalovirus infection », *J. Infect. Dis.*, vol. 195, n° 6, p. 789-798, mars 2007, doi: 10.1086/511982.
- [107] M. Kirchmeier *et al.*, « Enveloped virus-like particle expression of human cytomegalovirus glycoprotein B antigen induces antibodies with potent and broad neutralizing activity », *Clin. Vaccine Immunol. CVI*, vol. 21, n° 2, p. 174-180, févr. 2014, doi: 10.1128/CVI.00662-13.
- [108] D. I. Bernstein *et al.*, « Randomized, double-blind, Phase 1 trial of an alphavirus replicon vaccine for cytomegalovirus in CMV seronegative adult volunteers », *Vaccine*, vol. 28, n° 2, p. 484-493, déc. 2009, doi: 10.1016/j.vaccine.2009.09.135.
- [109] J. Zhong et R. Khanna, « Delineating the role of CD4+ T cells in the activation of human cytomegalovirus-specific immune responses following immunization with Ad-gBCMVpoly vaccine: implications for vaccination of immunocompromised individuals », *J. Gen. Virol.*, vol. 91, n° Pt 12, p. 2994-3001, déc. 2010, doi: 10.1099/vir.0.025742-0.
- [110] T.-M. Fu, Z. An, et D. Wang, « Progress on pursuit of human cytomegalovirus vaccines for prevention of congenital infection and disease », *Vaccine*, vol. 32, n° 22, p. 2525-2533, mai 2014, doi: 10.1016/j.vaccine.2014.03.057.
- [111] X. Hu, H.-Y. Wang, C. E. Otero, J. A. Jenks, et S. R. Permar, « Lessons from Acquired Natural Immunity and Clinical Trials to Inform Next-Generation Human Cytomegalovirus Vaccine Development », *Annu. Rev. Virol.*, vol. 9, n° 1, p. 491-520, sept. 2022, doi: 10.1146/annurev-virology-100220-010653.
- [112] G. Gerna et D. Lilleri, « Human cytomegalovirus (HCMV) infection/re-infection: development of a protective HCMV vaccine », *New Microbiol.*, vol. 42, n° 1, p. 1-20, janv. 2019.
- [113] S. Scarpini, F. Morigi, L. Betti, A. Dondi, C. Biagi, et M. Lanari, « Development of a Vaccine against Human Cytomegalovirus: Advances, Barriers, and Implications for the Clinical Practice », *Vaccines*, vol. 9, n° 6, p. 551, mai 2021, doi: 10.3390/vaccines9060551.
- [114] L. A. Kisling et J. M. Das, « Prevention Strategies », in *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024. Consulté le: 5 septembre 2024. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537222/>
- [115] S. T. Hamilton *et al.*, « Prevention of congenital cytomegalovirus complications by maternal and neonatal treatments: a systematic review », *Rev. Med. Virol.*, vol. 24, n° 6, p. 420-433, nov. 2014, doi: 10.1002/rmv.1814.
- [116] V. Seror, M. Leruez-Ville, A. Özek, et Y. Ville, « Leaning towards Cytomegalovirus serological screening in pregnancy to prevent congenital infection: a cost-effectiveness perspective », *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.*, vol. 129, n° 2, p. 301-312, janv. 2022, doi: 10.1111/1471-0528.16966.
- [117] K. O. Kagan *et al.*, « Outcome of pregnancies with recent primary cytomegalovirus

- infection in first trimester treated with hyperimmunoglobulin: observational study », *Ultrasound Obstet. Gynecol. Off. J. Int. Soc. Ultrasound Obstet. Gynecol.*, vol. 57, n° 4, p. 560-567, avr. 2021, doi: 10.1002/uog.23596.
- [118] H. L. Fulkerson, M. T. Nogalski, D. Collins-McMillen, et A. D. Yurochko, « Overview of Human Cytomegalovirus Pathogenesis », *Methods Mol. Biol. Clifton NJ*, vol. 2244, p. 1-18, 2021, doi: 10.1007/978-1-0716-1111-1_1.
- [119] T. Bravender, « Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and infectious mononucleosis », *Adolesc. Med. State Art Rev.*, vol. 21, n° 2, p. 251-264, ix, août 2010.
- [120] M. Michaelis, H. W. Doerr, et J. Cinatl, « The story of human cytomegalovirus and cancer: increasing evidence and open questions », *Neoplasia N. Y. N.*, vol. 11, n° 1, p. 1-9, janv. 2009, doi: 10.1593/neo.81178.
- [121] G. Nigro, « Maternal-fetal cytomegalovirus infection: from diagnosis to therapy », *J. Matern.-Fetal Neonatal Med. Off. J. Eur. Assoc. Perinat. Med. Fed. Asia Ocean. Perinat. Soc. Int. Soc. Perinat. Obstet.*, vol. 22, n° 2, p. 169-174, févr. 2009, doi: 10.1080/14767050802609767.
- [122] A. Kenneson et M. J. Cannon, « Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection », *Rev. Med. Virol.*, vol. 17, n° 4, p. 253-276, 2007, doi: 10.1002/rmv.535.
- [123] M. Leruez-Ville *et al.*, « Consensus recommendation for prenatal, neonatal and postnatal management of congenital cytomegalovirus infection from the European congenital infection initiative (ECCI) », *Lancet Reg. Health Eur.*, vol. 40, p. 100892, mai 2024, doi: 10.1016/j.lanepe.2024.100892.
- [124] C. Wang, X. Zhang, S. Bialek, et M. J. Cannon, « Attribution of congenital cytomegalovirus infection to primary versus non-primary maternal infection », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 52, n° 2, p. e11-13, janv. 2011, doi: 10.1093/cid/ciq085.
- [125] C. Steininger, « Clinical relevance of cytomegalovirus infection in patients with disorders of the immune system », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 13, n° 10, p. 953-963, oct. 2007, doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01781.x.
- [126] S. Fisher, O. Genbacev, E. Maidji, et L. Pereira, « Human cytomegalovirus infection of placental cytotrophoblasts in vitro and in utero: implications for transmission and pathogenesis », *J. Virol.*, vol. 74, n° 15, p. 6808-6820, août 2000, doi: 10.1128/jvi.74.15.6808-6820.2000.
- [127] O. Picone *et al.*, « A series of 238 cytomegalovirus primary infections during pregnancy: description and outcome », *Prenat. Diagn.*, vol. 33, n° 8, p. 751-758, août 2013, doi: 10.1002/pd.4118.
- [128] M. G. Revello *et al.*, « Role of prenatal diagnosis and counseling in the management of 735 pregnancies complicated by primary human cytomegalovirus infection: a 20-year experience », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 50, n° 4, p. 303-307, avr. 2011, doi: 10.1016/j.jcv.2010.12.012.
- [129] T. S. Chang *et al.*, « Effect of cytomegalovirus infection on breastfeeding transmission of HIV and on the health of infants born to HIV-infected mothers », *AIDS Lond. Engl.*, vol. 29, n° 7, p. 831-836, avr. 2015, doi: 10.1097/QAD.0000000000000617.
- [130] L. Nassetta, D. Kimberlin, et R. Whitley, « Treatment of congenital cytomegalovirus infection: implications for future therapeutic strategies », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 63, n° 5, p. 862-867, mai 2009, doi: 10.1093/jac/dkp083.
- [131] M. J. Cannon, T. B. Hyde, et D. S. Schmid, « Review of cytomegalovirus shedding in bodily fluids and relevance to congenital cytomegalovirus infection », *Rev. Med. Virol.*, vol. 21, n° 4, p. 240-255, juill. 2011, doi: 10.1002/rmv.695.
- [132] W.-T. Jim *et al.*, « Transmission of cytomegalovirus from mothers to preterm infants by breast milk », *Pediatr. Infect. Dis. J.*, vol. 23, n° 9, p. 848-851, sept. 2004, doi: 10.1097/01.inf.0000137571.35541.55.
- [133] M. Hamele, R. Flanagan, C. A. Loomis, T. Stevens, et M. P. Fairchok, « Severe morbidity and mortality with breast milk associated cytomegalovirus infection », *Pediatr.*

- Infect. Dis. J.*, vol. 29, n° 1, p. 84-86, janv. 2010, doi: 10.1097/INF.0b013e3181b6dbb5.
- [134] G. Nigro, M. M. Anceschi, E. V. Cosmi, et Congenital Cytomegalic Disease Collaborating Group, « Clinical manifestations and abnormal laboratory findings in pregnant women with primary cytomegalovirus infection », *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.*, vol. 110, n° 6, p. 572-577, juin 2003.
- [135] L. Pereira, T. Tabata, M. Pettitt, et J. Fang-Hoover, « Congenital cytomegalovirus infection undermines early development and functions of the human placenta », *Placenta*, vol. 59 Suppl 1, p. S8-S16, nov. 2017, doi: 10.1016/j.placenta.2017.04.020.
- [136] M. C.-J. Cheeran, J. R. Lokensgard, et M. R. Schleiss, « Neuropathogenesis of congenital cytomegalovirus infection: disease mechanisms and prospects for intervention », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 22, n° 1, p. 99-126, Table of Contents, janv. 2009, doi: 10.1128/CMR.00023-08.
- [137] H. Kawasaki, I. Kosugi, S. Meguro, et T. Iwashita, « Pathogenesis of developmental anomalies of the central nervous system induced by congenital cytomegalovirus infection », *Pathol. Int.*, vol. 67, n° 2, p. 72-82, févr. 2017, doi: 10.1111/pin.12502.
- [138] S. B. Boppana, S. A. Ross, et K. B. Fowler, « Congenital cytomegalovirus infection: clinical outcome », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 57 Suppl 4, n° Suppl 4, p. S178-181, déc. 2013, doi: 10.1093/cid/cit629.
- [139] A. W. Bartlett, B. McMullan, W. D. Rawlinson, et P. Palasanthiran, « Hearing and neurodevelopmental outcomes for children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection: A systematic review », *Rev. Med. Virol.*, sept. 2017, doi: 10.1002/rmv.1938.
- [140] J. Goderis, E. De Leenheer, K. Smets, H. Van Hoecke, A. Keymeulen, et I. Dhooge, « Hearing loss and congenital CMV infection: a systematic review », *Pediatrics*, vol. 134, n° 5, p. 972-982, nov. 2014, doi: 10.1542/peds.2014-1173.
- [141] S. C. Dollard, S. D. Grosse, et D. S. Ross, « New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection », *Rev. Med. Virol.*, vol. 17, n° 5, p. 355-363, 2007, doi: 10.1002/rmv.544.
- [142] M. J. Cannon, P. D. Griffiths, V. Aston, et W. D. Rawlinson, « Universal newborn screening for congenital CMV infection: what is the evidence of potential benefit? », *Rev. Med. Virol.*, vol. 24, n° 5, p. 291-307, sept. 2014, doi: 10.1002/rmv.1790.
- [143] M. G. Revello *et al.*, « A randomized trial of hyperimmune globulin to prevent congenital cytomegalovirus », *N. Engl. J. Med.*, vol. 370, n° 14, p. 1316-1326, avr. 2014, doi: 10.1056/NEJMoa1310214.
- [144] B. L. Hughes *et al.*, « A Trial of Hyperimmune Globulin to Prevent Congenital Cytomegalovirus Infection », *N. Engl. J. Med.*, vol. 385, n° 5, p. 436-444, juill. 2021, doi: 10.1056/NEJMoa1913569.
- [145] K. O. Kagan *et al.*, « Prevention of maternal-fetal transmission of cytomegalovirus after primary maternal infection in the first trimester by biweekly hyperimmunoglobulin administration », *Ultrasound Obstet. Gynecol. Off. J. Int. Soc. Ultrasound Obstet. Gynecol.*, vol. 53, n° 3, p. 383-389, mars 2019, doi: 10.1002/uog.19164.
- [146] P. Coste Mazeau *et al.*, « New therapeutic perspective in the prevention of congenital cytomegalovirus infection », *Antiviral Res.*, vol. 216, p. 105661, août 2023, doi: 10.1016/j.antiviral.2023.105661.
- [147] K. Shahar-Nissan *et al.*, « Valaciclovir to prevent vertical transmission of cytomegalovirus after maternal primary infection during pregnancy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 396, n° 10253, p. 779-785, sept. 2020, doi: 10.1016/S0140-6736(20)31868-7.
- [148] C. Chatzakis *et al.*, « The effect of valacyclovir on secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection, following primary maternal infection acquired periconceptionally or in the first trimester of pregnancy. An individual patient data meta-analysis », *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 230, n° 2, p. 109-117.e2, févr. 2024, doi: 10.1016/j.ajog.2023.07.022.
- [149] M. Hakki *et al.*, « Immune reconstitution to cytomegalovirus after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: impact of host factors, drug therapy, and subclinical reactivation », *Blood*, vol. 102, n° 8, p. 3060-3067, oct. 2003, doi: 10.1182/blood-2002-11-

3472.

- [150] M. Boeckh, T. A. Gooley, D. Myerson, T. Cunningham, G. Schoch, et R. A. Bowden, « Cytomegalovirus pp65 antigenemia-guided early treatment with ganciclovir versus ganciclovir at engraftment after allogeneic marrow transplantation: a randomized double-blind study », *Blood*, vol. 88, n° 10, p. 4063-4071, nov. 1996.
- [151] S. Kowalsky, R. Arnon, et R. Posada, « Prevention of cytomegalovirus following solid organ transplantation: a literature review », *Pediatr. Transplant.*, vol. 17, n° 6, p. 499-509, sept. 2013, doi: 10.1111/petr.12118.
- [152] A. J. Eid et R. R. Razonable, « New developments in the management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation », *Drugs*, vol. 70, n° 8, p. 965-981, mai 2010, doi: 10.2165/10898540-000000000-00000.
- [153] P. Ljungman, M. Hakki, et M. Boeckh, « Cytomegalovirus in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients », *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, vol. 25, n° 1, p. 151-169, févr. 2011, doi: 10.1016/j.hoc.2010.11.011.
- [154] C. N. Kotton *et al.*, « The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation », *Transplantation*, vol. 102, n° 6, p. 900-931, juin 2018, doi: 10.1097/TP.0000000000002191.
- [155] P. A. Barry, E. Pratt-Lowe, B. M. Peterlin, et P. A. Luciw, « Cytomegalovirus activates transcription directed by the long terminal repeat of human immunodeficiency virus type 1 », *J. Virol.*, vol. 64, n° 6, p. 2932-2940, juin 1990, doi: 10.1128/JVI.64.6.2932-2940.1990.
- [156] P. D. Griffiths, « CMV as a cofactor enhancing progression of AIDS », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 35, n° 4, p. 489-492, avr. 2006, doi: 10.1016/j.jcv.2005.10.016.
- [157] G. N. Holland, « Immune recovery uveitis », *Ocul. Immunol. Inflamm.*, vol. 7, n° 3-4, p. 215-221, déc. 1999, doi: 10.1076/ocii.7.3.215.4010.
- [158] P. Reusser *et al.*, « Randomized multicenter trial of foscarnet versus ganciclovir for preemptive therapy of cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation », *Blood*, vol. 99, n° 4, p. 1159-1164, févr. 2002, doi: 10.1182/blood.v99.4.1159.
- [159] A. Humar *et al.*, « The efficacy and safety of 200 days valganciclovir cytomegalovirus prophylaxis in high-risk kidney transplant recipients », *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.*, vol. 10, n° 5, p. 1228-1237, mai 2010, doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03074.x.
- [160] K. Mumtaz, N. Faisal, S. Husain, A. Morillo, E. L. Renner, et P. S. Shah, « Universal prophylaxis or preemptive strategy for cytomegalovirus disease after liver transplantation: a systematic review and meta-analysis », *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.*, vol. 15, n° 2, p. 472-481, févr. 2015, doi: 10.1111/ajt.13044.
- [161] A. Asberg *et al.*, « Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients », *Am. J. Transplant. Off. J. Am. Soc. Transplant. Am. Soc. Transpl. Surg.*, vol. 7, n° 9, p. 2106-2113, sept. 2007, doi: 10.1111/j.1600-6143.2007.01910.x.
- [162] W. W. Gregory et M. A. Menegus, « Practical protocol for cytomegalovirus isolation: use of MRC-5 cell monolayers incubated for 2 weeks. », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 17, n° 4, p. 605-609, avr. 1983.
- [163] H. M. Friedman et C. Koropchak, « Comparison of WI-38, MRC-5, and IMR-90 cell strains for isolation of viruses from clinical specimens », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 7, n° 4, p. 368-371, avr. 1978, doi: 10.1128/jcm.7.4.368-371.1978.
- [164] C. A. Gleaves, T. F. Smith, E. A. Shuster, et G. R. Pearson, « Comparison of standard tube and shell vial cell culture techniques for the detection of cytomegalovirus in clinical specimens », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 21, n° 2, p. 217-221, févr. 1985, doi: 10.1128/jcm.21.2.217-221.1985.
- [165] C. A. Gleaves et J. D. Meyers, « Comparison of MRC-5 and HFF cells for the identification of cytomegalovirus in centrifugation culture », *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 6, n° 2, p. 179-182, févr. 1987, doi: 10.1016/0732-8893(87)90105-2.
- [166] A. Ehrnst *et al.*, « Detection of CMV-matrix pp65 antigen in leucocytes by

- immunofluorescence as a marker of CMV disease », *J. Med. Virol.*, vol. 39, n° 2, p. 118-124, févr. 1993, doi: 10.1002/jmv.1890390207.
- [167] H. Eguchi *et al.*, « Diagnostic test accuracy of antigenaemia assay for PCR-proven cytomegalovirus infection-systematic review and meta-analysis », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 23, n° 12, p. 907-915, déc. 2017, doi: 10.1016/j.cmi.2017.05.009.
- [168] B. L. Hughes, et C. Gyamfi-Bannerman, « Diagnosis and antenatal management of congenital cytomegalovirus infection », *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 214, n° 6, p. B5-B11, juin 2016, doi: 10.1016/j.ajog.2016.02.042.
- [169] M. G. Revello et G. Gerna, « Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 15, n° 4, p. 680-715, oct. 2002, doi: 10.1128/CMR.15.4.680-715.2002.
- [170] O. E. Vankova, N. F. Brusnigina, et N. A. Novikova, « NGS Technology in Monitoring the Genetic Diversity of Cytomegalovirus Strains », *Sovrem. Tekhnologii V Meditsine*, vol. 15, n° 2, p. 41-46, 2023, doi: 10.17691/stm2023.15.2.04.
- [171] M. A. Mallory *et al.*, « Development and validation of a next-generation sequencing assay with open-access analysis software for detecting resistance-associated mutations in CMV », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 61, n° 12, p. e0082923, déc. 2023, doi: 10.1128/jcm.00829-23.
- [172] H. E. Prince et M. Lapé-Nixon, « Role of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity testing in diagnosing primary CMV infection during pregnancy », *Clin. Vaccine Immunol. CVI*, vol. 21, n° 10, p. 1377-1384, oct. 2014, doi: 10.1128/CVI.00487-14.
- [173] W. Van Der Bij et R. Speich, « Management of Cytomegalovirus Infection and Disease after Solid-Organ Transplantation », *clin. infect. dis.*, Jul. 2001, doi: 10.1086/320902.
- [174] B. Genser, M. Truschnig-Wilders, D. Stünzner, M. P. Landini, et G. Halwachs-Baumann, « Evaluation of Five Commercial Enzyme Immunoassays for the Detection of Human Cytomegalovirus-Specific IgM Antibodies in the Absence of a Commercially Available Gold Standard », *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 39, n° 1, janv. 2001, doi: 10.1515/CCLM.2001.014.
- [175] J. Müller, J. Flindt, M. Pollmann, S. Saschenbrecker, V. Borchardt-Lohölter, et J. M. Warnecke, « Efficiency of CMV serodiagnosis during pregnancy in daily laboratory routine », *J. Virol. Methods*, vol. 314, p. 114685, avr. 2023, doi: 10.1016/j.jviromet.2023.114685.
- [176] R. Vornhagen *et al.*, « IgM-specific serodiagnosis of acute human cytomegalovirus infection using recombinant autologous fusion proteins », *J. Virol. Methods*, vol. 60, n° 1, p. 73-80, juin 1996, doi: 10.1016/0166-0934(96)02047-2.
- [177] R. Vornhagen *et al.*, « Early serodiagnosis of acute human cytomegalovirus infection by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant antigens », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 32, n° 4, p. 981-986, avr. 1994, doi: 10.1128/jcm.32.4.981-986.1994.
- [178] M. L. Delforge, L. Desomberg, et I. Montesinos, « Evaluation of the new LIAISON(®) CMV IgG, IgM and IgG Avidity II assays », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 72, p. 42-45, nov. 2015, doi: 10.1016/j.jcv.2015.09.002.
- [179] T. Lazzarotto, S. Varani, B. Guerra, A. Nicolosi, M. Lanari, et M. P. Landini, « Prenatal indicators of congenital cytomegalovirus infection », *J. Pediatr.*, vol. 137, n° 1, p. 90-95, juill. 2000, doi: 10.1067/mpd.2000.107110.
- [180] A. Saldan, G. Forner, C. Mengoli, N. Gussetti, G. Palù, et D. Abate, « Testing for Cytomegalovirus in Pregnancy », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 55, n° 3, p. 693-702, mars 2017, doi: 10.1128/JCM.01868-16.
- [181] B. Lafarga, F. J. Noguera, M. Bolanos, M. C. Pérez, et H. Rodríguez, « Performance of the IgG avidity test in patients with cytomegalovirus disease », *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 15, n° 4, p. 190-195, avr. 1997.
- [182] T. Lazzarotto *et al.*, « Evaluation of the Abbott AxSYM cytomegalovirus (CMV) immunoglobulin M (IgM) assay in conjunction with other CMV IgM tests and a CMV IgG avidity assay », *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, vol. 8, n° 1, p. 196-198, janv. 2001, doi: 10.1128/CDLI.8.1.196-198.2001.

- [183] Y. Sellier, T. Guillemot, Y. Ville, et M. Leruez-Ville, « Comparison of the LIAISON(®) CMV IgG Avidity II and the VIDAS(®) CMV IgG Avidity II assays for the diagnosis of primary infection in pregnant women », *J. Clin. Virol.*, vol. 72, p. 46-48, nov. 2015, doi: 10.1016/j.jcv.2015.08.018.
- [184] C. Vauloup-Fellous, M. Berth, F. Heskia, J.-M. Dugua, et L. Grangeot-Keros, « Re-evaluation of the VIDAS® cytomegalovirus (CMV) IgG avidity assay: Determination of new cut-off values based on the study of kinetics of CMV-IgG maturation », *J. Clin. Virol.*, vol. 56, n° 2, p. 118-123, févr. 2013, doi: 10.1016/j.jcv.2012.10.017.
- [185] Y. Ebina *et al.*, « Rapid increase in the serum Cytomegalovirus IgG avidity index in women with a congenitally infected fetus », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 66, p. 44-47, mai 2015, doi: 10.1016/j.jcv.2015.03.002.
- [186] M. Berth, L. Grangeot-Keros, F. Heskia, J.-M. Dugua, et C. Vauloup-Fellous, « Analytical issues possibly affecting the performance of commercial human cytomegalovirus IgG avidity assays », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.*, vol. 33, n° 9, p. 1579-1584, sept. 2014, doi: 10.1007/s10096-014-2109-8.
- [187] Y. Sellier, T. Guillemot, Y. Ville, et M. Leruez-Ville, « Comparison of the LIAISON(®) CMV IgG Avidity II and the VIDAS(®) CMV IgG Avidity II assays for the diagnosis of primary infection in pregnant women », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 72, p. 46-48, nov. 2015, doi: 10.1016/j.jcv.2015.08.018.
- [188] V. Dangel, U. Bäder, et G. Enders, « Improvement of cytomegalovirus avidity testing by adjusting the concentration of CMV-specific IgG in test samples », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 35, n° 3, p. 303-309, mars 2006, doi: 10.1016/j.jcv.2005.09.011.
- [189] T. Sudha, V. Lakshmi, et V. D. Teja, « Western blot profile in HIV infection », *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.*, vol. 72, n° 5, p. 357-360, 2006, doi: 10.4103/0378-6323.27752.
- [190] E. Talagrand-Reboul, A. Raffetin, P. Zachary, B. Jaulhac, et C. Eldin, « Immunoserological Diagnosis of Human Borrelioses: Current Knowledge and Perspectives », *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 10, p. 241, 2020, doi: 10.3389/fcimb.2020.00241.
- [191] B. Magi et L. Migliorini, « Western blotting for the diagnosis of congenital toxoplasmosis », *New Microbiol.*, vol. 34, n° 1, p. 93-95, janv. 2011.
- [192] A. Daiminger, U. Bäder, et G. Enders, « An enzyme linked immunoassay using recombinant antigens for differentiation of primary from secondary or past CMV infections in pregnancy », *J. Clin. Virol.*, vol. 11, n° 2, p. 93-102, août 1998, doi: 10.1016/S1386-6532(98)00052-X.
- [193] M. Rothe *et al.*, « An antigen fragment encompassing the AD2 domains of glycoprotein B from two different strains is sufficient for differentiation of primary vs. recurrent human cytomegalovirus infection by ELISA », *J. Med. Virol.*, vol. 65, n° 4, p. 719-729, déc. 2001, doi: 10.1002/jmv.2096.
- [194] T. Lazzarotto, S. Brojanac, G. T. Maine, et M. P. Landini, « Search for cytomegalovirus-specific immunoglobulin M: comparison between a new western blot, conventional western blot, and nine commercially available assays. », *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, vol. 4, n° 4, p. 483-486, juill. 1997.
- [195] G. Enders, A. Daiminger, U. Bäder, S. Exler, Y. Schimpf, et M. Enders, « The value of CMV IgG avidity and immunoblot for timing the onset of primary CMV infection in pregnancy », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 56, n° 2, p. 102-107, févr. 2013, doi: 10.1016/j.jcv.2012.09.015.
- [196] M.-L. Delforge, J. Eykmans, D. Steensels, E. Costa, C. Donner, et I. Montesinos, « Combination of line immunoassays Mikrogen recomLine CMV IgG and recomLine CMV IgG Avidity helps to date the onset of CMV primary infection », *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 93, n° 3, p. 208-212, mars 2019, doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2018.09.013.
- [197] W. D. Rawlinson *et al.*, « Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy and the neonate: consensus recommendations for prevention, diagnosis, and therapy », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 17, n° 6, p. e177-e188, juin 2017, doi: 10.1016/S1473-3099(17)30143-3.

- [198] T. Lazzarotto *et al.*, « Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 36, n° 12, p. 3540-3544, déc. 1998, doi: 10.1128/JCM.36.12.3540-3544.1998.
- [199] S. Stagno, M. K. Tinker, C. Elrod, D. A. Fuccillo, G. Cloud, et A. J. O'Beirne, « Immunoglobulin M antibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay and radioimmunoassay in the diagnosis of cytomegalovirus infections in pregnant women and newborn infants », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 21, n° 6, p. 930-935, juin 1985, doi: 10.1128/jcm.21.6.930-935.1985.
- [200] L. Grangeot-Keros *et al.*, « Value of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity index for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women », *J. Infect. Dis.*, vol. 175, n° 4, p. 944-946, avr. 1997, doi: 10.1086/513996.
- [201] T. Lazzarotto *et al.*, « Maternal IgG avidity and IgM detected by blot as diagnostic tools to identify pregnant women at risk of transmitting cytomegalovirus », *Viral Immunol.*, vol. 13, n° 1, p. 137-141, 2000, doi: 10.1089/vim.2000.13.137.
- [202] M. Bodéus, C. Hubinont, P. Bernard, A. Bouckaert, K. Thomas, et P. Goubau, « Prenatal diagnosis of human cytomegalovirus by culture and polymerase chain reaction: 98 pregnancies leading to congenital infection », *Prenat. Diagn.*, vol. 19, n° 4, p. 314-317, avr. 1999, doi: 10.1002/(sici)1097-0223(199904)19:4<314::aid-pd542>3.0.co;2-h.
- [203] O. Picone *et al.*, « Cytomegalovirus non-primary infection during pregnancy. Can serology help with diagnosis? », *J. Matern.-Fetal Neonatal Med. Off. J. Eur. Assoc. Perinat. Med. Fed. Asia Ocean. Perinat. Soc. Int. Soc. Perinat. Obstet.*, vol. 30, n° 2, p. 224-227, janv. 2017, doi: 10.3109/14767058.2016.1169521.
- [204] T. Lazzarotto, B. Guerra, L. Gabrielli, M. Lanari, et M. P. Landini, « Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 17, n° 9, p. 1285-1293, sept. 2011, doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03564.x.
- [205] G. Simonazzi *et al.*, « Perinatal Outcomes of Non-Primary Maternal Cytomegalovirus Infection: A 15-Year Experience », *Fetal Diagn. Ther.*, vol. 43, n° 2, p. 138-142, 2018, doi: 10.1159/000477168.
- [206] B. Guerra *et al.*, « Ultrasound prediction of symptomatic congenital cytomegalovirus infection », *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 198, n° 4, p. 380.e1-7, avr. 2008, doi: 10.1016/j.ajog.2007.09.052.

Serment De Galien

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.



Évaluation de l'immunoblot recomLine CMV® dans le cadre du diagnostic sérologique du cytomegalovirus

Le cytomegalovirus humain (CMVH) est responsable d'infections sévères chez les sujets immunodéprimés. Au cours de la grossesse il peut être responsable d'infections congénitales graves pouvant conduire au décès *in utero* ou bien à de sévères atteintes neurosensorielles. Actuellement, la détermination du statut immunitaire des patients à risque de réactivation de CMVH et le diagnostic d'une infection congénitale à CMVH sont réalisés par sérologie. Les méthodes immunoenzymatiques automatisées présentent un avantage en termes de coût et de rapidité mais peuvent manquer de spécificité, en particulier pour la détection d'IgM et en cas de faible taux d'IgG. De plus, ces méthodes ne permettent pas toujours de dater une infection à CMVH en l'absence d'antériorité. Dans ce contexte, nous avons cherché à évaluer les performances diagnostiques d'une méthode de confirmation : les immunoblots *recomLine* CMV IgM/IgG MIKROGEN®. Nous avons comparé, dans une étude rétrospective, les résultats de trois méthodes immunoenzymatiques automatisées (LIAISON XL®, VIDAS® et ALINITY®) avec les immunoblots *recomLine* CMV IgM/IgG® pour la détermination du statut sérologique de 67 patients. Les immunoblots *recomLine* CMV IgM® ont montré une valeur prédictive négative supérieure à la méthode immunoenzymatique LIAISON XL IgM®, malgré certains faux positifs en cas d'infection à EBV ou de facteur rhumatoïde. Les immunoblots *recomLine* CMV IgG® présentent une sensibilité (95%) et une spécificité (100%) supérieures aux sérologies automatisées en cas de faibles taux d'IgG (<50UI/ml) (n=30 sérums). Les immunoblots *recomLine* CMV® ont également montré un intérêt dans la datation d'une infection à CMVH au cours de la grossesse. Ces données suggèrent que les immunoblots *recomLine* CMV® ont leur place dans l'arsenal diagnostique du centre national de référence des Herpèsvirus.

Mots-clés : Cytomegalovirus, Immunoblot, recomLine, MIKROGEN®

Evaluation of recomLine CMV® immunoblot for serological diagnosis of cytomegalovirus

Human cytomegalovirus (HCMV) is responsible for severe infections in immunocompromised hosts. During pregnancy, it could be responsible for serious congenital infections that can lead to death *in utero* or severe neurosensory damages. Currently, serology is used to determine the immune status of patients at risk of CMVH reactivation, and to diagnose congenital CMVH infection. Automated enzyme-linked immunosorbent assays (EIAs) offer advantages in terms of cost and speed, but may lack specificity, particularly for IgM detection and in cases of low IgG levels. Moreover, these methods don't always make it possible to date a CMVH infection in the absence of history. In this context, we set out to assess the diagnostic performance of a confirmatory method, MIKROGEN®'s *RecomLine* CMV IgM/IgG® immunoblots. In a retrospective study, we compared the results of three automated enzyme-linked immunosorbent assays (LIAISON XL®, VIDAS® and ALINITY®) with *RecomLine* CMV IgM/IgG® immunoblots to determine the serological status of 67 patients. *RecomLine* CMV IgM® immunoblots have shown superior negative predictive value to the LIAISON XL IgM® enzyme immunoassay, despite some false positives in cases of EBV infection or rheumatoid factor. *RecomLine* CMV IgG® immunoblots have a higher sensitivity (95%) and specificity (100%) than automated serologies in cases of low IgG levels (<50IU/ml) (n=30 sera). *RecomLine* CMV® immunoblots have also proved useful for dating CMVH infection during pregnancy. These data suggest that *RecomLine* CMV® immunoblots have a place in the diagnostic arsenal of National Herpesvirus Reference Center.

Keywords : Cytomegalovirus, Immunoblot, *recomLine* CMV MIKROGEN®

