

Stratégies d'exploration fonctionnelle et de suivi thérapeutique

L'infection congénitale à cytomégalovirus : rôle du laboratoire de virologie

Congenital cytomegalovirus infection: the role of the virology laboratory

M. Bodéus *, B. Kabamba-Mukadi

Département de microbiologie, unité de virologie, université catholique de Louvain, 30, Clos Chapelle aux Champs, UCL 3055, 1200 Bruxelles, Belgique

Reçu le 17 mars 2003 ; accepté le 15 mai 2003

Résumé

L'infection à CMV est l'infection congénitale la plus fréquente, avec une incidence moyenne de 1 %. L'infection peut se transmettre in utero lors d'une primo-infection maternelle ou lors d'une réactivation de l'infection chez une mère séropositive avant grossesse. La fréquence et la gravité de l'infection congénitale sont très différentes suivant le cas et il est donc essentiel de pouvoir faire le diagnostic différentiel entre infection primaire et réactivation. Dans ce contexte, il n'existe aucun test de référence et la présence d'IgM est encore trop souvent considérée comme un critère d'infection récente. Différentes techniques ont été développées afin d'améliorer le diagnostic. Parmi ces nouvelles approches, la plus utilisée est la mesure de l'avidité des IgG qui permet d'exclure une infection récente dans bon nombre de cas. Si le risque est élevé pour le fœtus (séroconversion maternelle ou IgG de faible avidité) le diagnostic de l'infection congénitale est réalisé par la recherche de CMV dans le liquide amniotique en culture et/ou en PCR ; les performances de ces 2 techniques en termes de sensibilité et de spécificité sont comparables. Il faut cependant garder à l'esprit, que si la mise en évidence de virus dans le liquide amniotique signe une infection congénitale, elle ne permet pas d'en évaluer la gravité.

© 2003 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

CMV infection is among the most frequent pregnancy infections, with an average of 1%. Above all, differential diagnosis has to be made between primary infection and reactivation. Among new approaches, a very useful one consists in the measurement of IgG avidity. In case of a high fetal risk, the diagnosis of congenital infection is ascertained by the characterization of CMV in the amniotic fluid using culture and/or PCR.

© 2003 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Cytomégalovirus ; Grossesse ; Infection congénitale ; Avidité**Keywords:** Cytomegalovirus; Pregnancy; Congenital infection; Avidity

La prise de conscience de l'impact des infections virales en cours de grossesse et de leurs conséquences sur l'embryon, le fœtus ou le nouveau-né, remonte à 1941. Cette année là, Norman Gregg, un ophtalmologue australien, observe une épidémie de cataractes congénitales associées à des

malformations cardiaques et à un petit poids de naissance [21]. Il rattache ce syndrome à la survenue d'une rubéole maternelle au cours du premier trimestre de la grossesse. Plus de 50 ans après l'observation fondamentale de Gregg, des dizaines de virus pathogènes pour l'homme ont été identifiés. Presque tous ont été cités, dans des rapports le plus souvent anecdotiques, quand à leurs effets délétères en cours de grossesse. Certains virus cependant ont retenu davantage

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : bodeus@mail.md.ucl.ac.be (M. Bodéus).

l'attention des obstétriciens, des néonatalogues et des virologues. Parmi eux le cytomégalo-virus (CMV) qui est, aujourd'hui, la cause la plus fréquente d'infection congénitale.

1. Le cytomégalo-virus

L'infection par le CMV est ubiquiste et très fréquente. Suivant les régions, la prévalence des anticorps spécifiques influencée par des facteurs socio-économiques, est à l'âge adulte de 40 à 100 %.

Chez l'individu en bonne santé, l'infection à CMV passe le plus souvent inaperçue. Dans 10 % des cas, la primo-infection est symptomatique et se manifeste alors par un syndrome pseudogrippal (fièvre prolongée, myalgies, céphalées...) parfois accompagné d'un rash maculopapuleux. Les signes cliniques les plus fréquents sont une hépatosplénomégalie et des adénopathies. L'examen biologique peut mettre en évidence un syndrome mononucléosique et une cytolysé hépatique. Chez les patients immunocompétents, les complications de la primo-infection à CMV sont rares (pneumopathie, hépatite, méningo-encéphalite, syndrome de Guillain-Barré...). Après la primo-infection, le CMV, comme tous les *Herpesviridae*, persiste à l'état latent. Différents facteurs favorisants, parmi lesquels la grossesse, pourront conduire à la réactivation de cette infection latente. Ces infections récurrentes restent dans la plupart des cas asymptomatiques.

Chez les patients immunodéprimés, la primo-infection ou la récurrence d'une infection à CMV peuvent se compliquer d'atteintes multiviscérales. Le pronostic de ces infections généralisées est moins sombre depuis le développement de chimiothérapies actives contre ce virus.

Une autre circonstance au cours de laquelle l'infection à CMV peut être lourde de conséquence, est la transmission maternofœtale. La « maladie à inclusions cytomégaloïques » du nouveau-né a été décrite par Ribberth en 1904 [43]. En 1921, Goodpasture et Talbot émettent l'hypothèse de l'origine virale de cette maladie ; cette hypothèse sera confirmée en 1956 par l'isolement du CMV dans des tissus de fœtus atteints [47].

2. Transmission du cytomégalo-virus de la mère à l'enfant

Dans les pays développés, l'infection à CMV est l'infection congénitale la plus fréquente, avec une incidence moyenne de 1 % (0,2 à 2,5 %) des naissances vivantes [39].

L'infection à CMV peut se transmettre de la mère à l'enfant in utero, lors de l'accouchement si la mère excrète du virus au niveau des voies génitales ou, plus tard, lors de l'allaitement (10 % des femmes séropositives excrètent du CMV dans le lait dans la première semaine du postpartum, 30 à 40 % dans les semaines suivantes).

Seules les infections in utero auront parfois des conséquences pour le nouveau-né. Un enfant peut s'infecter in

utero, soit lors d'une primo-infection maternelle, soit lors d'une réinfection ou d'une réactivation de l'infection chez une mère séropositive avant grossesse. La fréquence et la gravité de l'infection seront très différentes suivant le cas.

2.1. Risque d'infection congénitale après une primo-infection maternelle

Parmi les femmes séronégatives, 1 à 4 % suivant les études européennes, feront une primo-infection en cours de grossesse. Dans ces conditions, il y aura transmission de l'infection au fœtus dans 40 à 50 % des cas (25 à 75 % suivant les études) [1,11,22,36,48,51]. Comme dans le modèle de la toxoplasmose, le taux de transmission est d'autant plus important que l'âge de la grossesse est avancé au moment de la séroconversion maternelle, pour atteindre plus de 70 % lors des primo-infections maternelles du troisième trimestre [7].

En cas d'infection fœtale, l'apparition d'une symptomatologie liée au CMV est d'autant plus fréquente et grave que l'infection maternelle survient précocement en cours de grossesse [8,48]. Cependant, les primo-infections maternelles du troisième trimestre peuvent être associées à une pathologie néonatale sévère [38,49].

2.2. Risque d'infection congénitale après une réactivation ou une réinfection maternelle

Les récurrences de l'infection à CMV sont fréquentes en cours de grossesse et augmentent avec l'âge de celle-ci. L'excrétion de CMV dans la salive, les urines ou au niveau du col est rarement retrouvée dans le courant du premier trimestre de la grossesse, mais peut être observée chez 15 à 35 % des femmes dans le courant du troisième trimestre.

Les femmes séropositives avant grossesse transmettent l'infection in utero avec une fréquence relativement élevée de 0,2 à 3,4 % [18,19,45] ; des taux de transmission de 10 % ont été rapportés pour des populations vivant dans des conditions socio-économiques précaires [18]. Des études récentes ont démontré que 45 à 52 % des nouveau-nés présentant une infection congénitale à CMV sont nés d'une mère immunisée avant grossesse [3,9]. Si la présence d'anticorps maternels avant la grossesse ne prévient pas toujours l'infection fœtale, elle prévient cependant le plus souvent l'apparition d'une symptomatologie grave. Les conséquences pour le nouveau-né, protégé par les anticorps maternels, sont en effet plus rares et moins graves qu'en cas de primo-infection ; 3 à 8 % des enfants infectés dans ces conditions développeront des séquelles neurosensorielles tardives. Cependant, des rapports de plus en plus fréquents décrivent des formes graves d'infection congénitale chez des nouveau-nés de mère pré-immunisée [2,10,28,37,44,50].

3. Symptomatologie de l'infection congénitale à cytomégalo-virus

La symptomatologie observée chez les nouveau-nés est différente, en fréquence et en gravité, si l'infection congéni-

talement fait suite à une séroconversion maternelle ou à une réactivation de l'infection chez une femme immunisée avant la grossesse.

3.1. Symptomatologie de l'infection congénitale après une primo-infection maternelle

Les atteintes les plus graves du nouveau-né sont associées à des primo-infections maternelles du premier trimestre. Cependant, certaines infections du troisième trimestre ont également été associées à des complications sérieuses [19,49]. À la naissance, 10 % des nouveau-nés infectés lors d'une primo-infection maternelle, présenteront une symptomatologie plus ou moins grave tandis que 90 % ne présenteront aucun signe d'infection. Parmi les nouveau-nés asymptomatiques à la naissance, 10 % développeront des séquelles tardives. Enfin, 80 % des nouveau-nés infectés auront un développement normal. Lorsqu'elle est symptomatique à la naissance, l'infection congénitale à CMV peut avoir des expressions cliniques très différentes.

La forme la plus grave mais aussi la plus rare est « la maladie à inclusions cytomégalytiques » [43]. Son incidence est estimée à 1–5 cas/10 000 naissances. Ces nouveau-nés présentent un retard de croissance et développent rapidement un syndrome ictérohémorragique. Les anomalies neurologiques sont fréquentes (microcéphalie, calcifications intracrâniennes, dilatation ventriculaire, etc.). Cette atteinte disséminée est rapidement mortelle dans 20 % des cas et la majorité des nouveau-nés survivants garderont des séquelles neurosensorielles sévères associées à un retard psychomoteur.

Chez les nouveau-nés paucisymptomatiques à la naissance, les symptômes rencontrés, seuls ou en association, sont souvent atypiques et peuvent être présents lors de n'importe quelle infection fœtale (hépatosplénomégalie, ictère, pétéchies, retard de croissance, chorio-rétinite, etc.). Certains signes sont plus caractéristiques de l'infection à CMV, bien qu'ils puissent être observés dans d'autres circonstances (microcéphalie, calcifications cérébrales et hépatiques, troubles de l'audition).

Le suivi à long terme des enfants infectés mais non symptomatiques à la naissance, révèle que 10 % d'entre eux présenteront au cours des premières années différentes anomalies du développement. Le déficit isolé le plus fréquent est une surdité unilatérale ou bilatérale [40] dont le suivi audiométrique montre l'aggravation même au-delà de la deuxième année.

3.2. Symptomatologie de l'infection congénitale après une réactivation ou une réinfection maternelle

Les réactivations et les réinfections maternelles sont beaucoup moins graves que la primo-infection. Cependant, l'incidence réelle de l'infection congénitale symptomatique dans ces conditions reste incertaine et pourrait varier suivant les populations étudiées. Dans ce contexte de rares cas de « maladies à inclusions cytomégalytiques » ont été décrits et quelques publications récentes ont fait état de symptomatologies

sévères dès la naissance. Mais, dans la majorité des cas les enfants infectés dans ces conditions sont asymptomatiques à la naissance. Un suivi à long terme permet cependant de mettre en évidence chez 3 à 8 % d'entre eux des anomalies du développement, principalement des troubles de l'audition et plus rarement des manifestations neurologiques (retard mental, microcéphalie, etc.).

4. Diagnostic de l'infection à cytomégalo-virus chez la femme enceinte

Il n'y a actuellement aucun consensus concernant l'indication d'un suivi systématique de la sérologie CMV en cours de grossesse, et ce pour différentes raisons [24]. L'une d'elles est que les tests sérologiques disponibles sont délicats à interpréter et souvent le diagnostic de primo-infection maternelle ne peut pas être posé avec certitude.

4.1. La sérologie classique

Le diagnostic de routine de l'infection à CMV est réalisé par la recherche des IgG et des IgM spécifiques anti-CMV. Différentes situations peuvent être rencontrées :

- en l'absence d'IgG spécifiques détectables, la femme est considérée comme séronégative. Un suivi sérologique (dont le rythme idéal reste à définir...) peut être réalisé pour mettre en évidence une éventuelle séroconversion ;
- en présence d'IgG et en l'absence d'IgM, l'infection à CMV est considérée comme ancienne. Aucun suivi particulier de la grossesse n'est conseillé sauf en cas de signes échographiques suggérant une infection in utero à CMV ;
- la situation la plus complexe est celle où, sur une première sérologie en cours de grossesse, chez une femme dont les antécédents sérologiques sont inconnus, des IgG et des IgM sont mises en évidence simultanément. En effet la présence d'IgM est encore souvent considérée comme un critère d'infection récente. Cependant, les IgM peuvent persister des mois après la primo-infection [29] et réapparaître lors des réactivations (favorisées par la grossesse) ou lors d'infections intercurrentes [27,34]. La seule preuve formelle de primo-infection est l'observation d'une séroconversion. La présence d'IgM sur un sérum ponctuel ne peut en aucun cas être interprétée comme un marqueur d'infection récente.

Il n'existe aucun test de référence, aucun « gold standard » pour faire le diagnostic d'une primo-infection à CMV. Différentes techniques ont été développées ces dernières années afin d'améliorer le diagnostic différentiel entre infection primaire et réactivation d'une infection à CMV : la recherche des anticorps neutralisants [14,15], le Western-blot [30,31], la mesure de l'avidité des IgG spécifiques [5,20] et plus récemment, la recherche des anticorps dirigés contre la glycoprotéine gB du CMV [16,46]. Parmi ces approches, la plus largement utilisée actuellement est la mesure de l'avidité des IgG.

4.2. L'avidité des IgG

Il a été démontré dans différents modèles que la mesure de l'avidité des IgG permettait de différencier une infection récente (IgG de faible avidité), d'une infection ancienne (IgG de haute avidité) [26]. Dans le modèle du CMV c'est principalement dans le cadre de la surveillance de la grossesse que la mesure de l'avidité des IgG est utilisée. Des techniques *in house* ont tout d'abord été développées par différentes équipes [5,13]. Actuellement, la mesure de l'avidité des IgG anti-CMV est commercialisée par différentes firmes sous forme de kit (Biomérieux, Dade-Behring, DiaSorin). Suivant la technique utilisée les critères d'interprétations sont très différents et il faut éviter de comparer des index d'avidité calculés par des techniques différentes. Dans tous les cas, la mesure de l'avidité doit être utilisée comme un critère d'exclusion d'une infection récente et non comme un critère de confirmation : si une avidité élevée permet d'exclure une primo-infection dans le courant des 3 mois précédents, une avidité faible ne permet pas d'y conclure. En effet, la cinétique de maturation de l'avidité des IgG est très variable d'une patiente à l'autre, certaines gardent une avidité faible plus de 6 mois après la séroconversion. Enfin, un index d'avidité élevé ne doit être interprété comme rassurant que si l'âge de la grossesse au moment de la sérologie est ≤ 12 semaines.

4.3. Les anticorps anti-gB du CMV

Un test immuno-enzymatique fondé sur la recherche des anticorps dirigés contre la glycoprotéine gB du CMV a récemment été développé [16]. Cette protéine gB (ou gpUL55) joue un rôle important dans la pénétration du virus dans la cellule ; elle est la cible des anticorps neutralisants qui participent à la limitation de la dissémination du virus. La réponse immunitaire humorale dirigée contre cette protéine est tardive et les premiers anticorps détectables n'apparaissent que 2 à 3 mois après l'infection. La présence d'anticorps anti-gB permet donc d'exclure une primo-infection récente.

Il a été décrit que la combinaison de la mesure de l'avidité des IgG et de la recherche des anticorps anti-gB permettait de rassurer un nombre plus grand de patientes. En effet certaines patientes gardant une avidité faible longtemps après la séroconversion développent des anticorps anti-gB et réciproquement, certaines patientes développant tardivement des anticorps anti-gB mûrent correctement leur avidité [46].

5. Diagnostic de l'infection congénitale in utero

La recherche des IgM spécifiques dans le sang de cordon se révèle souvent négative et n'est pas utile au diagnostic de l'infection congénitale.

La technique de référence pour confirmer l'infection in utero est la recherche du CMV dans le liquide amniotique. Deux approches peuvent être utilisées : la recherche du virus en culture [35] ou la recherche du génome viral par PCR. La sensibilité de ces 2 techniques est très semblable et dépend

étroitement des conditions du prélèvement. Pour obtenir une sensibilité maximum, 2 facteurs sont déterminants. Le plus important est le délai entre la séroconversion et la ponction amniotique, le délai idéal à respecter étant de 6 à 8 semaines. L'âge de la grossesse (idéalement > 21 semaines) au moment de la ponction amniotique peut également influencer la sensibilité de la détection. Suivant les conditions du prélèvement la sensibilité de la culture et de la PCR varie entre 30 % et > 95 % [6,12,32,41].

Dans des liquides amniotiques négatifs en culture, de faibles quantités d'ADN ont parfois été mises en évidence [17,33,41]. Le risque d'infection congénitale a été estimé à 33 % lorsqu'un liquide amniotique est positif en PCR et négatif en culture [42]. Cela signifie donc que si la PCR est un peu plus sensible que la culture, elle est aussi moins spécifique. En PCR quantitative, il a été suggéré qu'au-delà de 10^3 génomes/ml de liquide amniotique, l'infection congénitale était certaine [23]. Enfin, 2 cas viennent d'être récemment décrits ou, malgré la mise en évidence de CMV dans le liquide amniotique en culture et en PCR, les nouveau-nés n'étaient pas infectés. Cette observation pourrait suggérer la possibilité d'infections in utero autolimitées et transitoires [33].

Si la mise en évidence de CMV dans le liquide amniotique permet d'affirmer, dans la majorité des cas, qu'il y a bien une infection fœtale, elle ne permet cependant pas de présager de la gravité de cette infection. Il a été suggéré que la quantité de virus détectés dans le liquide amniotique pourrait être un reflet de la gravité de l'infection ; un résultat $\geq 10^5$ génomes/ml permettrait de prédire une infection symptomatique [23]. Cette observation demande à être confirmée ; d'autres facteurs influencent en effet de façon importante la quantité de virus détectée, en particulier le délai entre la séroconversion et la ponction amniotique.

6. Diagnostic de l'infection congénitale après la naissance

La technique de référence pour confirmer l'infection in utero après la naissance est la recherche du CMV dans les urines du nouveau-né. Ces urines doivent être prélevées le plus tôt possible. Un résultat positif obtenu sur des urines prélevées plus de 2 semaines après la naissance, ne permet pas de conclure formellement à une infection congénitale ; il pourra en effet s'agir dans ce cas, d'une infection au moment ou peu après l'accouchement.

Si un diagnostic rétrospectif est souhaité chez un enfant de plus de 2 semaines, il est alors possible de réaliser une PCR sur la carte de Guthrie [4,25].

7. Conclusion

L'infection à CMV est l'infection congénitale la plus fréquente, avec une incidence moyenne de 1 %. Cependant, il n'y a actuellement aucun consensus concernant l'indication

d'un suivi systématique de la sérologie CMV en cours de grossesse, et ce pour différentes raisons. L'une d'elles est que les tests sérologiques, malgré les nouvelles approches développées récemment (mesure de l'avidité des IgG, recherche des anticorps anti-gB, etc.), restent délicats à interpréter et le diagnostic de primo-infection maternelle ne peut pas toujours être posé avec certitude. Les incertitudes sérologiques ne sont pas les seules. On sait en effet que parmi les enfants infectés in utero, 80 % n'auront aucune séquelle. Cependant, dans la plupart des cas, le suivi anténatal ne permet pas d'évaluer la gravité de l'atteinte fœtale. Enfin, actuellement aucune mesure thérapeutique efficace ne peut être proposée. En cas d'infection fœtale et compte tenu de l'impossibilité d'en prédire de façon fiable les conséquences, l'indication d'une interruption de la grossesse doit être discutée.

Références

- [1] Adler SP. Cytomegalovirus and pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1992;4:670–5.
- [2] Ahlfors K, Ivarsson SA, Harris S. Report on a long-term study of maternal and congenital cytomegalovirus infection in Sweden. Review of prospective studies available in the literature. *Scand J Infect Dis* 1999;31:443–57.
- [3] Ahlfors K, Ivarsson SA, Harris S. Secondary maternal cytomegalovirus infection-A significant cause of congenital disease. *Pediatrics* 2001;107:1227–8.
- [4] Barbi M, Binda S, Caroppo S, Ambrosetti U, Corbetta C, Sergi P. A wider role for congenital infection in sensorineural hearing loss. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:39–42.
- [5] Bodéus M, Feyder S, Goubau P. Avidity of IgG antibodies distinguishes primary from non-primary cytomegalovirus infection in pregnant women. *Clin Diagn Virol* 1998;9:9–16.
- [6] Bodéus M, Hubinont C, Bernard P, Bouckaert A, Thomas K, Goubau P. Prenatal diagnosis of human cytomegalovirus by culture and polymerase chain reaction: 98 pregnancies leading to congenital infection. *Prenat Diagn* 1999;19:314–7.
- [7] Bodéus M, Hubinont C, Goubau P. Increased risk of human cytomegalovirus transmission in utero in late gestation. *Obstet Gynecol* 1999;93:658–60.
- [8] Boppana SB, Pass RF, Britt WS, Stagno S, Alford CA. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection: neonatal morbidity and mortality. *Pediatr Infect Dis* 1992;11:93–9.
- [9] Boppana SB, Rivera LB, Fowler KB, Mach B, Britt WJ. Intra-uterine transmission of cytomegalovirus to infants of women with preconceptual immunity. *N Engl J Med* 2001;344:1366–71.
- [10] Casteels A, Naessens A, Gordts F, De Catte L, Bougatef A, Foulon W. Neonatal screening for congenital cytomegalovirus infection. *J Perinat Med* 1999;27:116–21.
- [11] Demmler GJ. Summary of a workshop on surveillance for congenital cytomegalovirus disease. *Rev Infect Dis* 1991;13:315–29.
- [12] Donner C, Liesnard C, Brancart F, Rodesch F. Accuracy of amniotic fluid testing before 21 weeks' gestation in prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *Prenat Diagn* 1994;14:1055–9.
- [13] Dussaix E, Chantot S, Harzic M, Grangeot-Keros L. CMV-IgG avidity and CMV-IgM concentration in both immunocompromised and immunocompetent patients. *Pathol Biol* 1996;44:405–10.
- [14] Eggers M, Bader U, Enders G. Combination of microneutralization and avidity assays: improved diagnosis of recent primary human cytomegalovirus infection in single serum sample of second trimester pregnancy. *J Med Virol* 2000;60:324–30.
- [15] Eggers M, Metzger C, Enders G. Differentiation between acute primary and recurrent human cytomegalovirus infection in pregnancy, using a microneutralisation assay. *J Med Virol* 1998;56:352–8.
- [16] Eggers M, Radsak K, Enders G, Reschke M. Use of recombinant glycoprotein antigens gB and gH for diagnosis of primary human cytomegalovirus infection during pregnancy. *J Med Virol* 2001;63:135–42.
- [17] Enders G, Bader U, Lindemann L, Schalasta G, Daiminger A. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection in 189 pregnancies with known outcome. *Prenat Diagn* 2001;21:362–77.
- [18] Fowler KB, Stagno S, Pass RF. Maternal age and congenital cytomegalovirus infection: screening of 2 diverse newborn populations, 1980–1990. *J Infect Dis* 1993;168:552–6.
- [19] Fowler KB, Stagno S, Pass RF, Britt WJ, Boll TJ, Alford CA. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. *N Engl J Med* 1992;326:663–7.
- [20] Grangeot-Keros L, Mayaux MJ, Lebon P, et al. Value of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity index for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women. *J Infect Dis* 1997;175:944–6.
- [21] Gregg NM. Congenital cataract following German measles in the mother. *Tr Ophtal Soc Aust* 1941;3:34–46.
- [22] Griffiths PD, Baboonian C. A prospective study of primary cytomegalovirus infection during pregnancy: final report. *Br J Obstet Gynecol* 1984;91:307–15.
- [23] Guerra B, Lazzarotto T, Quarta S, et al. Prenatal diagnosis of symptomatic cytomegalovirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:476–82.
- [24] Hagay ZJ, Biran G, Ornoy A, Reece EA. Congenital cytomegalovirus infection: a long-standing problem seeking a solution. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:241–5.
- [25] Haginoya K, Ohura T, Kon K, et al. Abnormal white matter lesions with sensorineural hearing loss caused by congenital cytomegalovirus infection: retrospective diagnosis by PCR using Guthrie cards. *Brain Dev* 2002;24:710–4.
- [26] Hedman K, Rousseau SA. Measurement of avidity of specific IgG for verification of recent primary rubella. *J Med Virol* 1989;27:288–92.
- [27] Hekker AC, Brand-Saathof B, Vis J, Meijers RC. Indirect immunofluorescence test for detection of IgM antibodies to cytomegalovirus. *J Infect Dis* 1979;140:596–600.
- [28] Henrich W, Meckies J, Dudenhausen JM, Vogel M, Enders G. Recurrent cytomegalovirus infection during pregnancy: ultrasonographic diagnosis and fetal outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002;19:608–11.
- [29] Kangro HO, Griffiths PD, Huber TJ, Heath RB. Specific IgM class antibody production following infection with cytomegalovirus. *J Med Virol* 1982;10:203–12.
- [30] Lazzarotto T, Brojanac S, Maine GT, Landini MP. Search for cytomegalovirus-specific immunoglobulin M: comparison between a new Western blot, conventional Western blot, and 9 commercially available assays. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997;4:483–6.
- [31] Lazzarotto T, Maine GT, Dal Monte P, Frush H, Shi K, Landini MP. Detection of serum immunoglobulin M to human cytomegalovirus by Western blotting correlates better with virological data than detection by conventional enzyme immunoassay. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996;3:597–600.
- [32] Liesnard C, Donner C, Brancart F, Gosselin F, Delforge ML, Rodesch F. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection: prospective study of 237 pregnancies at risk. *Obstet Gynecol* 2000;95:881–8.
- [33] Lipitz S, Achiron R, Zalel Y, Mendelson E, Tepperberg M, Gamzu R. Outcome of pregnancies with vertical transmission of primary cytomegalovirus infection. *Obstet Gynecol* 2002;100:428–33.
- [34] Miendje Deyi Y, Goubau P, Bodéus M. False-positive IgM antibody for cytomegalovirus in patients with acute Epstein-Barr virus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:557–60.

- [35] Mulongo KN, Lamy ME, Van Lierde M. Requirements for diagnosis of prenatal cytomegalovirus infection by amniotic fluid culture. *Clin Diagn Virol* 1995;4:231–8.
- [36] Nankervis GA, Kumar ML, Cox FE, Gold E. A prospective study of maternal cytomegalovirus infection and its effect on the fetus. *A J Obstet Gynecol* 1984;149:435–40.
- [37] Nigro G, La Torre R, Mazzocco M, et al. Multi-system cytomegalovirus fetopathy by recurrent infection in a pregnant woman with hepatitis B. *Prenat Diagn* 1999;19:1070–2.
- [38] Pass RF, Fowler KB, Stagno S, Britt WJ, Boppana SB, Alford CA. Gestational age at time of maternal infection and outcome of congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Res* 1994;35:191A.
- [39] Peckham CS. Cytomegalovirus infection: congenital and neonatal disease. *Scand J Infect Dis* 1991;78:82–7.
- [40] Peckham CS, Stark O, Dudgeon JA, Martin JAM, Hawkins G. Congenital cytomegalovirus infection: a cause of sensorineural hearing loss. *Arch Dis Child* 1987;62:1233–7.
- [41] Revello MG, Sarasini A, Zavattoni M, Baldanti F, Gerna G. Improved prenatal diagnosis of congenital human cytomegalovirus infection by a modified nested polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1998;56:99–103.
- [42] Revello MG, Zavattoni M, Furione M, Baldanti F, Gerna G. Quantification of human cytomegalovirus DNA in amniotic fluid of mothers of congenitally infected fetuses. *J Clin Microbiol* 1999;37:3350–2.
- [43] Ribberth H. Über protozoenartigen zellen in der reeines syphilitischen neugeboren und in der parotis von kindrea. *Zentralbl Allg Pathol* 1904;15:945–8.
- [44] Rousseau T, Douvier S, Reynaud I, et al. Severe fetal cytomegalic inclusion disease after documented maternal reactivation of cytomegalovirus infection during pregnancy. *Prenat Diagn* 2000;20:333–6.
- [45] Schopfer K, Lauber E, Krech U. Congenital cytomegalovirus infection in newborn infants of mothers infected before pregnancy. *Arch Dis Child* 1978;53:536–9.
- [46] Sipewa MJ, Goubau P, Bodéus M. Evaluation of a cytomegalovirus glycoprotein B recombinant enzyme immunoassay to discriminate between a recent and a past infection. *J Clin Microbiol* 2002;40:3689–93.
- [47] Smith MG. Propagation in tissue cultures of a cytopathogenic virus from human salivary gland virus (SGV) disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956;92:424–30.
- [48] Stagno S, Pass RF, Cloud G, et al. Primary cytomegalovirus infection in pregnancy. Incidence, transmission to the fetus and clinical outcome. *JAMA* 1986;256:1904–8.
- [49] Steinlin MI, Nadal D, Eich GF, Martin E, Boltshauer EJ. Late intra-uterine cytomegalovirus infection: clinical and neuro-imaging findings. *Pediatr Neurol* 1996;15:249–53.
- [50] Watt-Morse ML, Laifer SA, Hill LM. The natural history of fetal cytomegalovirus infection as assessed by serial ultrasound and fetal blood sampling: a case report. *Prenat Diagn* 1999;15:567–70.
- [51] Yow MD, Williamson DW, Leeds LJ, et al. Epidemiologic characteristics of cytomegalovirus infection in mothers and their infants. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:1189–95.