

# Diagnòstic retrospectiu d'infecció congènita per citomegalovirus per PCR de prova del taló

Núria Visa, Fernando Paredes, Xavier Bringué, Laura Minguell, Eduard Solé

Servei de Pediatria. Hospital Universitari Arnau de Vilanova. Lleida

## RESUM

**Introducció.** El citomegalovirus (CMV) és el principal agent infeccios causant de morbimortalitat infantil d'origen congènit en els països desenvolupats, amb una prevalença d'entre el 0,3 i el 2,4% dels noutats. La presentació clínica en el nouat és variable, i en la majoria dels casos és asimptomàtic. Quan la sospita diagnòstica es planteja més enllà dels 15 dies de vida cal fer diagnòstic diferencial amb formes postnatales. S'ha assajat la detecció de citomegalovirus mitjançant tècniques de reacció en cadena de la polimerasa (PCR) en la mostra de sang seca en el paper utilitzat per a la prova de detecció precoç dels nadons.

**Cas clínic.** El primer cas és una lactant de 8 mesos amb microcefàlia detectada als 6 mesos de vida, associada a retard psicomotor global i pobre resposta auditiva. El segon cas és una lactant de 4 mesos derivada per estancament del perímetre cranial. En l'exploració destaca un pobre seguiment visual i hipotonia. En totes dues pacients es va practicar RM cerebral i es van detectar troballes compatibles amb infecció congènita per citomegalovirus. Es va sol·licitar la mostra de sang seca per fer la determinació de PCR de citomegalovirus i es va confirmar el diagnòstic.

**Comentaris.** La infecció congènita per CMV continua presentant grans interrogants. A Espanya no es fa cribatge serològic sistemàtic per CMV durant l'embaràs. L'únic mètode per distingir entre infecció congènita o adquirida més enllà de les dues setmanes de vida és la realització de PCR per citomegalovirus en la sang utilitzada per la prova del taló.

**Paraules clau:** Citomegalovirus. Reacció en cadena de la polimerasa. Prova amb sang seca. Microcefàlia. Hipoacusia.

## DIAGNÓSTICO RETROSPECTIVO DE INFECCIÓN CONGÉNITA POR CITOMEGALOVIRUS POR PCR DE PRUEBA DE TALÓN

**Introducción.** El citomegalovirus (CMV) es el principal agente infeccioso causante de morbimortalidad infantil de origen congénito en los países desarrollados, con una prevalencia de entre el 0,3% y el 2,4% de los recién nacidos. La presentación clínica en el recién nacido es variable, y en la mayoría de los casos es asintomático. Cuando la sospecha diagnóstica se plantea más allá de los 15 días

de vida hay que hacer diagnóstico diferencial con formas postnatales. Se ha ensayado la detección de citomegalovirus mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en la muestra de sangre seca en el papel utilizado para la prueba de detección precoz de los recién nacidos.

**Caso clínico.** El primer caso es una lactante de 8 meses con microcefalia detectada a los 6 meses de vida, asociada a retraso psicomotor global y pobre respuesta auditiva. El segundo caso es una lactante de 4 meses derivada por estancamiento del perímetro craneal. En la exploración destaca un pobre seguimiento visual e hipotonía. En ambas pacientes se practicó RM cerebral y se detectaron hallazgos compatibles con infección congénita por citomegalovirus. Se solicitó la muestra de sangre seca para realizar la determinación de PCR de citomegalovirus y se confirmó el diagnóstico.

**Comentarios.** La infección congénita por CMV sigue presentando grandes interrogantes. En España no se realiza cribado serológico sistemático por CMV durante el embarazo. El único método para distinguir entre infección congénita o adquirida más allá de las dos semanas de vida es la realización de PCR por citomegalovirus en la sangre utilizada para la prueba del talón.

**Palabras clave:** Citomegalovirus. Reacción en cadena de la polimerasa. Pruebas con sangre seca. Microcefalia. Hipoacusia.

## RETROSPECTIVE DIAGNOSIS OF CONGENITAL CYTOMEGALOVIRUS INFECTION

**Introduction.** Cytomegalovirus (CMV) is the leading infectious agent causing congenital infant morbidity and mortality in developed countries, with an estimated prevalence of 0.3% to 2.4% of newborns. The clinical presentation in the newborn is variable, although it is asymptomatic in most cases. When the diagnosis is suspected beyond 15 days of life it is necessary to consider a differential diagnosis with postnatal forms. Detection of CMV DNA by polymerase chain reaction (PCR) of dry blood spots collected for routine neonatal screening from all newborns has been proposed for congenital CMV infection screening.

**Case report.** The first case is an eight months old infant with microcephaly detected at 6 months of life associated with poor auditory response and psychomotor retardation. The second case is a 4 months old infant with stagnation of head circumference. Examination revealed poor visual tracking and hypotonia. In both patients brain MRI disclosed typical alterations associated with congenital CMV infection. Dried blood sample obtained from heel stick at birth was used for determination of CMV infection by PCR.

Aquest treball ha estat presentat al IX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Neurología Pediátrica (Palma, juny 2014).

Correspondència: Núria Visa Reñé  
Servei de Pediatria. Hospital Universitari Arnau de Vilanova  
Av. Rovira Roure, 80. 25198 Lleida  
nuriavisa87@gmail.com

Treball rebut: 29.09.2016  
Treball acceptat: 09.02.2017

Visa N, Paredes F, Bringué X, Minguell L, Solé E.  
Diagnòstic retrospectiu d'infecció congènita per citomegalovirus per PCR de prova del taló.  
Pediatr Catalana. 2017;77(3):100-4.

**Comments.** Congenital CMV infection continues to present major challenges. In Spain no systematic serological screening of CMV is performed during pregnancy. The only method for distinguishing between congenital or acquired infection beyond the two weeks of life is the PCR test using dry blood obtained for newborn screening.

**Key words:** Cytomegalovirus. Polymerase chain reaction. Dried blood spot testing. Microcephaly. Hearing loss.

## Introducció

La causa més freqüent d'infecció congènita en els països desenvolupats és la infecció per citomegalovirus (CMV), que apareix entre el 0,3% i el 0,6% dels nous nats a Europa<sup>1</sup>. Com que la majoria de pacients neixen asimptomàtics, es tracta d'una infecció probablement infradiagnosticada.

Igual que altres herpes virus, el CMV té les propietats de latència i de reactivació. El CMV congènit es produeix per la transmissió transplacentària del virus durant la gestació. Això pot tenir lloc després de la primoinfecció materna en mares seronegatives, després de la reactivació d'un virus latent endogen o després de la reinfecció viral per una soca diferent en gestants prèviament immunes<sup>2</sup>. La transmissió al fetus depèn del moment de l'embaràs en què s'adquireix la infecció; és més freqüent en el tercer trimestre, però més greu en el primer.

El CMV és la principal infecció viral congènita causant de lesions neurològiques que comporta trastorns en el neurodesenvolupament i, sobretot, pèrdua d'audició. Entre el 15% i el 20% de les sordeses neurosensorials en infants s'han atribuït a la infecció per CMV, i a vegades no han pogut ser detectades en el cribratge auditiu neonatal. Entre altres seqüeles, poden aparèixer retard mental, alteracions visuals, trastorns de l'aprenentatge o alteracions motores. Dues tercers parts del total de les seqüeles es produeixen en infants asimptomàtics al naixement, i es poden manifestar mesos o anys després del naixement; això fa que en aquests casos el diagnòstic sigui complex.

Es presenten dos casos, una nena de 8 mesos i una altra de 4 mesos amb microcefàlia i hipoacusia neurosensorial, amb confirmació diagnòstica de CMV congènit mitjançant la detecció de l'ADN per PCR (de l'anglès *polymerase chain reaction*) en la sang del paper de filtre (Guthrie cards) de la prova del taló<sup>3</sup>.

## Cas clínic

El primer cas es tracta d'una lactant de 4 mesos remesa a consultes de neuropediatria per microcefàlia amb estancament del perímetre cranial. Correspon a una segona gestació a terme, sense incidències, amb pes al naixement de 3.060 g (p25), talla de 48 cm (p15) i perímetre cranial de 32 cm (p3). No hi ha antecedents familiars d'interès. Es fan potencials auditius evocats als

3 mesos, que són absents en totes dues orelles. En l'exploració física destaca un pes i una talla en el p50 i un perímetre cefàlic per sota de 3DE. No manté control cefàlic, té una nul·la resposta a estímuls auditius, no té control oculomaneu, no gira ni fa prensió d'objectes. La resta de l'exploració neurològica i sistèmica és normal. Davant d'aquestes troballes es decideix fer una resonància magnètica (RM) cerebral, que mostra una afectació de la substància blanca amb calcificacions periventriculars i patró giral polimicrogíric a nivell temporal i parietal bilateral, juntament amb un sistema ventricular dismòrfic associant cos callós disgenètic, suggerint d'infecció congènita per citomegalovirus (Fig. 1). Es fa una anàlisi clínica als 8 mesos de vida que presenta anticossos IgM CMV negatius i anticossos IgG positius. La detecció de PCR CMV en orina resulta positiva, mentre que en sang és negativa.

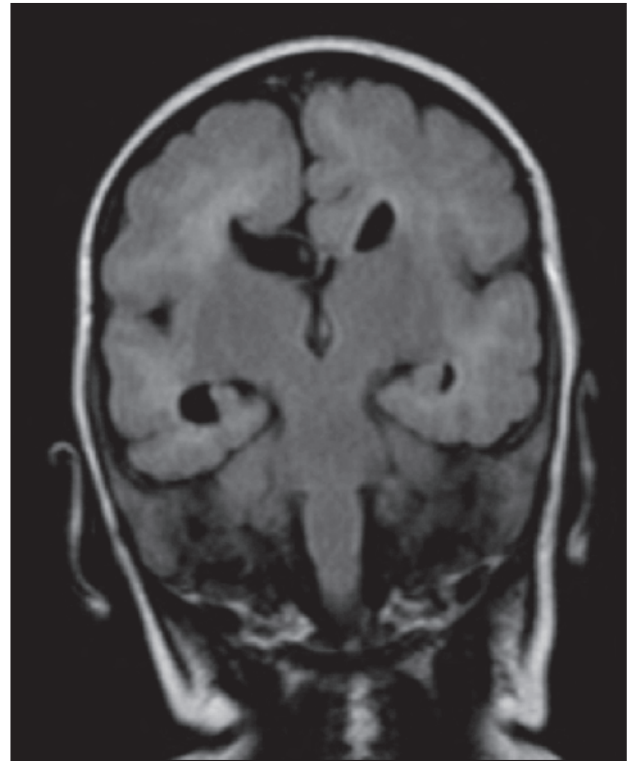
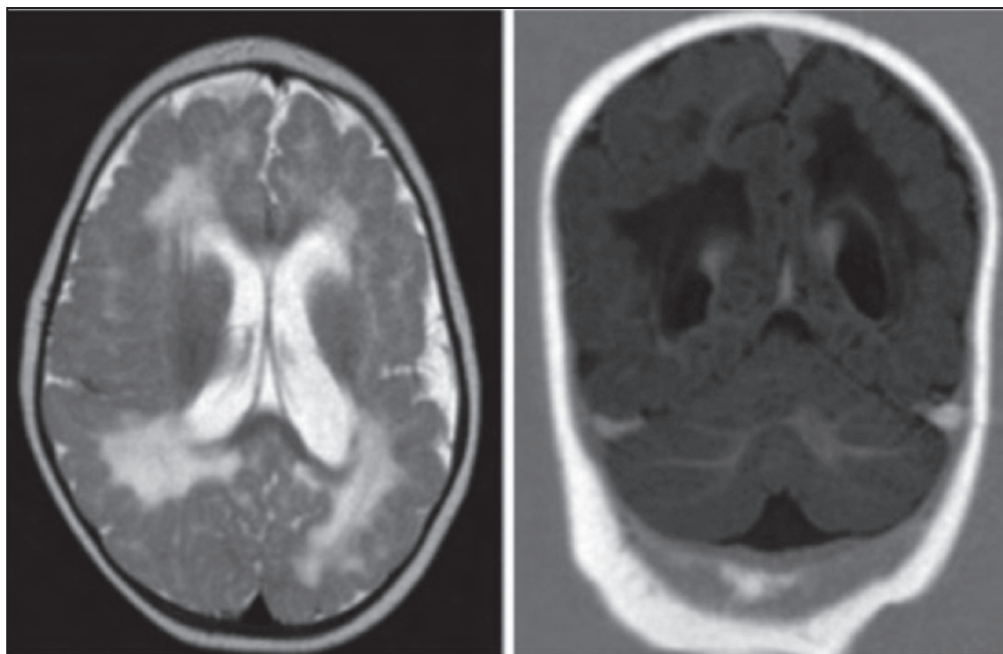


Fig. 1. RM. Sistema ventricular dismòrfic. Patró giral polimicrogíric a nivell temporal i parietal bilateral.

El segon cas és una lactant de 8 mesos remesa per microcefàlia amb regressió del perímetre cefàlic. No presenta antecedents familiars ni neonatals d'interès. Es tracta d'una gestació ben controlada, amb un pes de 3.500 g (p75), talla de 51 cm (p75) i perímetre cefàlic de 33 cm (p15) al néixer. En l'exploració física presenta un perímetre cefàlic de 39 cm (<-3DE), s'objectiva sedestació de forma intermitent, mal control oculomaneu, hipotonia global i asimetria en la mobilitat de les extremitats. Presenta una pobre resposta auditiva bilateral. La resta d'exploració física normal. Es fa una RM cerebral en què s'observa un hemisferi cerebral esquerre de menys grandària comparat amb el contralateral, amb un còrtex polimicrogí-



*Fig. 2. RM. Hemisferi cerebral esquerre de mida més petita, amb un còrtex polimicrogíric, i alteració de la substància blanca amb retard en la mielinització. Imatges pseudoquístiques als atris ventriculars i les banyes temporals.*

ric, extensa alteració de la substància blanca i retard en la mielinització. També associa ventriculomegàlia i peduncle cerebral esquerre de menor grandària (Fig. 2). Totes les alteracions descrites suggereixen un procés de tipus infeccions connatal, amb el citomegalovirus com a primera opció. Se sol·liciten potencials auditius de tronc, en què presenta una afectació greu amb absència de resposta al costat dret. En l'anàlisi feta als 11 mesos de vida presenta una càrrega viral per CMV en sèrum de 421 còpies/mL i en la serologia destaquen anticossos IgM negatius i anticossos IgG positius. En controls analítics posteriors, la càrrega viral en sang es negativitza i persisteix positiva en les determinacions d'orina.

En tots dos casos, davant la sospita d'infecció congènita per citomegalovirus, es decideix sol·licitar la sang seca obtinguda de la prova del taló feta a les 48 hores de vida. Se sol·licita el consentiment informat als pares i es demanen les mostres al centre de referència on estan emmagatzemades.

Es realitza la detecció de PCR en la sang obtinguda del taló, que en tots dos casos és positiva per citomegalovirus; així es confirma que es tracta d'una infecció congènita per citomegalovirus i no de causa adquirida.

En el segon cas la pacient fa un tractament amb valganciclovir durant 6 mesos, que s'inicia als 8 mesos de vida, però no s'objectiva millora de la funció auditiva.

## Discussió

El CMV o herpes virus 5 forma part de la família de *Herpesviridae*. Es tracta d'un patògen universal que té l'ésser humà com a únic reservori conegut.

La infecció congènita per CMV és la infecció connatal més prevalent en el nostre medi. Actualment continua presentant grans interrogants i l'impacte del citomegalovirus congènita està mal definit, ja que la majoria d'infants es troben asimptomàtics al naixement i no es fa cribratge neonatal de forma sistemàtica. Hi ha molts casos de sospita de CMV congènita sense confirmació diagnòstica.

La seroprevalença d'infecció en dones en edat fèrtil entre 15 i 24 anys és del 60% i en més grans de 36 anys és del 95%. Aquesta seroprevalença materna depèn de l'edat, el nivell socioeconòmic, la paritat i l'exposició ocupacional. La infecció es produeix pel contacte amb fluids corporals de persones infectades. Els infants d'entre 1 i 2 anys són la principal font d'infecció en dones en edat reproductiva.

Tant la primoinfecció materna, que té lloc entre l'1% i el 4% de les gestants, com la reactivació durant l'embaràs poden ser causants de la infecció en el fetus. Dels nounats amb primoinfecció materna, el 40% està infectat i el 10% presenta símptomes al naixement. D'aquests últims, el 50% presentarà seqüeles permanents, igual que el 13% dels asimptomàtics. La taxa de mortalitat és inferior al 5%. Si es produeix una reactivació o una reinfecció, tan sols entre l'1% i el 2% dels fetus estan infectats i la majoria (>90%) estan asimptomàtics al naixement, dels quals entre el 10% i el 15% presentaran seqüeles a llarg termini.

Són escassos els estudis de la història natural basats en la població que puguin estimar amb exactitud la prevalença de la malaltia i la càrrega de la morbiditat.

La infecció congènita per CMV és la principal causa d'hipoacusia neurosensorial en els països desenvolupats de causa no hereditària<sup>4</sup>. El primer article que

es va publicar en què s'associava la pèrdua auditiva deguda a infecció congènita per CMV va ser el de Medearis et al., l'any 1964.

Els programes de cribratge auditiu han permès identificar molts d'aquests infants asimptomàtics al naixement. Tot i així, la pèrdua auditiva pot aparèixer temps després, mesos o fins i tot anys, amb una àmplia gamma de varietat i gravetat, per la qual cosa és necessari repetir les proves per al diagnòstic. És important tenir determinacions sobre la prevalença de la pèrdua d'audició per CMV per tal d'augmentar el nivell d'alerta entre els sanitaris davant d'aquesta patologia. S'ha descrit que entre el 30% i el 65% dels infants simptomàtics al néixer presenten hipoacúsia neurosensorial i sol ser bilateral, mentre que apareix entre el 7% i el 15% dels asimptomàtics; en la majoria de casos és de caràcter unilateral.

Els mecanismes de la patogènesi de la sordesa neurosensorial causada per la infecció per CMV encara no estan clars. A través del coneixement del funcionament de les estructures de l'orella interna s'ha estudiat com la infecció de les cèl·lules d'aquest aparell poden comportar la sordesa<sup>5</sup>. S'ha descrit que la infecció per CMV afecta l'estria vascular, s'altera la composició iònica de l'endolimfa i dona lloc a la degeneració de les estructures sensorials. Altres autors han atribuït la pèrdua d'audició a l'efecte citopàtic del virus i a la resposta immunitària de l'hoste en les estructures de l'orella interna.

El 10% dels nounats infectats presenta símptomes al naixement, amb manifestacions com exantema petequíal generalitzat, hepatoesplenomegàlia i icterícia. El 90% estan asimptomàtics, i és important tenir en compte les seqüeles que poden presentar a llarg termini, a més a més de la sordesa neurosensorial, com ara retard psicomotor, paràlisi cerebral, hipotonia, parèsia, epilèpsia, alteracions visuals o retard en l'aprenentatge.

Hi ha múltiples alteracions en les proves d'imatge que també són suggestives d'infecció congènita per CMV, com ara ventriculomegàlia, calcificacions intracranials, lesions en la substància blanca (sobretot zona temporal anterior i parietal profunda), quists a la regió de la matriu germinal periventricular, alteracions en la migració neuronal, quists periventriculars i calcificació de les artèries talamoestriades, entre altres.

Pel que fa a les lesions oculars, s'han descrit associades a la infecció congènita per CMV la corioretinitis, l'atròfia òptica i el dèficit visual cortical. Menys sovint es presenta estrabisme.

El diagnòstic en el nounat es fa mitjançant l'aïllament del virus per cultiu cel·lular o mitjançant la detecció del genoma viral per PCR en mostres de sang, orina, saliva o líquid cefalorraquidi en els primers 15 dies de vida. També es diagnòstica la detecció d'antígens o anticor-

sos IgM enfront del CMV, encara que amb una sensibilitat inferior.

Està indicada la realització de PCR a CMV en orina o en qualsevol altre líquid estèril en el nounat en els casos següents: infecció materna o fetal demostrada durant la gestació, troballes ecogràfiques prenatales suggestives de CMV congènita, clínica suggestiva en el nounat, fills de mare VIH, prematurs de <32 setmanes gestacionals i/o <1.500 g i nounats amb retard de creixement intraúter. En aquests casos en què hi pot haver alta sospita diagnòstica, és útil disposar d'una mostra neonatal i no haver de dependre de la sang seca de taló.

A partir de les 2 setmanes de vida, davant la sospita d'infecció congènita per CMV, cal tenir en compte com a diagnòstic diferencial la infecció adquirida postnatal. Per això, disposar d'una mostra biològica del període neonatal immediat és de gran utilitat per fer el diagnòstic. S'ha assajat la detecció de PCR per citomegalovirus de les mostres de sang seca del paper de filtre (*Guthrie card*) que s'utilitza per a la prova de detecció precoç neonatal (prova del taló) que es fa a tots els nounats.

És important conèixer que aquesta tècnica ha demostrat en diversos treballs europeus una sensibilitat d'entre el 71% i el 100%, depenent dels mètodes d'extracció d'ADN i d'amplificació utilitzats, i una especificitat d'entre el 99% i el 100% enfront del cultiu d'orina fet de forma neonatal. Però la sensibilitat pot disminuir en infants que presenten càrregues virals baixes al naixement, tal com demostren altres treballs. Per tant, un resultat negatiu no pot ser exclouent d'infecció congènita, ja que depèn del tipus de tècnica utilitzada i de la seva possibilitat de detecció de diferents llindars de virèmia, de la sensibilitat de cada tècnica i del volum de la mostra analitzada. Així doncs, es podria dir que si la determinació de PCR per CMV en prova del taló és positiva pot ajudar-nos a diagnosticar de forma retrospectiva pacients amb CMV congènita, però que no és conclouent si és negativa, de manera que en molts casos no es pot confirmar el diagnòstic<sup>6</sup>.

S'han assajat altres tècniques, no utilitzades al nostre país, però que comparteixen la base de realitzar la detecció en una mostra de sang neonatal. Al Japó es tracta d'una pràctica habitual el fet de guardar el cordó umbilical de forma neta i seca com a símbol del vincle maternofamiliar i han demostrat la seva utilitat per fer el diagnòstic retrospectiu d'infecció congènita per CMV<sup>7</sup>.

Altres anàlisis que s'utilitzen per diferenciar entre infecció congènita o postnatal és la realització de serologia a la mare, de manera que si la IgG és negativa es tractaria d'una infecció postnatal.

La infecció adquirida es transmet en molts casos a través de la llet materna en dones seropositives que presenten una reactivació durant la lactància, amb un pic d'excreció màxim al voltant de la tercera setmana. Sol tractar-se d'una infecció asimptomàtica en els nounats

a terme, tenint en compte la transferència transplacentària d'immunoglobulines durant el tercer trimestre de la gestació i per la presència d'un sistema immunitari madur, però pot tenir conseqüències importants en els pretermes i nounats de baix pes. En els nadons de més de 15 dies de vida amb sospita d'infecció per citomegalovirus que presenten negativitat en la detecció de PCR en la sang seca de taló i positivitat en PCR de CMV de llet materna suggereix infecció postnatal.

Actualment, a causa de l'absència de vacuna i de tractaments específics, a Espanya no es fa cribratge serològic en les gestants. Per aquest motiu, és freqüent que s'obviï el diagnòstic de citomegalovirus congènit especialment en el nounat asimptomàtic, ja que sovint les seqüeles apareixen a llarg termini.

És important plantejar-se fer un estudi retrospectiu d'infecció congènita per CMV davant la presència d'associació de variables com retard de creixement intrauterí, microcefàlia, hipoacúsia neurosensorial, coriorretinitis, retard mental, problemes de conducta o alteracions indicatives en les proves d'imatge.

Per això cal disposar d'una tècnica validada i sensible, d'ús en els laboratoris del nostre país, i ampliar el coneixement dels clínics que sol·liciten la prova sobre la seva sensibilitat per interpretar correctament els resultats. El desenvolupament de més estudis i de forma més àmplia, com el liderat des de la Unitat de Patologia Infecciosa i Immunodeficiències de Pediatria de Vall d'Hebron, pot ajudar a dilucidar el paper diagnòstic de la PCR en mostres de sang seca de taló.

És una malaltia diagnosticable i abordable; una confirmació d'infecció congènita per CMV permet evitar estudis extensos i costosos en la cerca de diagnòstics i permet iniciar tractaments als nadons amb infecció simptomàtica per prevenir el retard psicomotor i per evitar l'evolució de la sordesa neurosensorial.

## Bibliografia

1. Baquero-Artigao F, Grupo de estudio de la infección congénita por citomegalovirus de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica. Documento de consenso de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP) sobre el diagnóstico y el tratamiento de la infección congénita por citomegalovirus. *An Pediatr (Barc)*. 2009;71(6):535-47.
2. Frick MA, Céspedes Domínguez MC, Suy Franch A, Sánchez Duran MA, Codina Grau G, Martín Begué N, Pumarola Segura F, et al. Infección congénita por citomegalovirus. 2016. Accessible a la xarxa [data de consulta 01-08-2016]. Disponible a: [http://www.upiip.com/sites/upiip.com/files/Protocolo%20CMV%20conge%CC%81nito%20DEFINITIVO.pdf\\_0.pdf](http://www.upiip.com/sites/upiip.com/files/Protocolo%20CMV%20conge%CC%81nito%20DEFINITIVO.pdf_0.pdf).
3. López-Pisón J, Rubio-Rubio R, Ureña-Hornos T, Omeñaca-Teres M, Sans A, Cabrerizo de Diago R, et al. Diagnóstico retrospectivo de infección congénita por citomegalovirus en un caso clínico infantil. *Rev Neurol*. 2005;40(12):733-6.
4. Goderis J, De Leenheer E, Smets K, Van Hoecke H, Keymeulen A, Dhooge I. Hearing loss and congenital CMV infection: a systematic review. *Pediatrics*. 2014;134(5):972-82.
5. Gabrielli L, Bonasoni MP, Santini D, Piccirilli G, Chierighin A, Guerra B, et al. Human fetal inner ear involvement in congenital cytomegalovirus infection. *Acta Neuropathol Commun*. 2013;1:63.
6. Vives-Oñós I, Soler-Palacín P, Codina-Grau MG, Martín-Nalda A, López-Galera RM, Marín-Sorira JL, et al. ¿Podemos descartar infección congénita por citomegalovirus cuando la reacción en cadena de la polimerasa viral es negativa en la prueba del talón?. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32(9):570-3.
7. Tagawa M, Tanaka H, Moriuchi M, Moriuchi H. Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection at a school for the deaf by using preserved dried umbilical cord. *J Pediatr*. 2009;155(5):749-51.