

CMVH, HSV et procréation

Elisabeth DUSSAIX

Laboratoire de Virologie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre

RESUME

Si la présence d'herpès virus simplex et de cytomégalovirus dans le sperme a été décrite depuis longtemps et ne semble pas avoir de retentissement sur la fonction reproductrice, le rôle des spermatozoïdes dans la transmission de ces virus n'est pas encore résolu. A partir de l'adolescence, l'infection à cytomégalovirus est considérée comme acquise essentiellement par voie sexuelle. La fréquence d'isolement du virus à partir du sperme varie de 2,4 % chez des sujets hétérosexuels, non infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), à 20 % chez les sujets homosexuels, atteignant 33 % chez ceux d'entre eux qui sont VIH séropositifs. L'examen en microscopie électronique a démontré la présence de particules virales dans les spermatozoïdes d'hommes mais, à ce jour, aucune contamination de l'œuf par des spermatozoïdes infectés ni aucune induction d'anomalies fœtales par transmission verticale n'ont été observées chez l'homme.

L'herpès virus simplex, notamment le type 2 (HSV-2), a été isolé de prélèvements urétraux, du liquide prostatique et de divers tissus du tractus génital mâle chez des hommes ne présentant aucune lésion génitale et même aucun antécédent d'herpès génitaux. En revanche la plupart des tentatives

d'isolement de ce virus à partir du sperme a été infructueuse. Un cas de transmission de HSV-2 après insémination artificielle a cependant été décrit apportant la preuve que le sperme peut véhiculer le virus et le transmettre à l'occasion de rapports sexuels.

Mots-clés : HSV, CMVH, fertilité, sperme, insémination artificielle.

INTRODUCTION

Deux virus au moins de la famille des Herpétoviridæ, les cytomégalovirus et les herpès simplex virus, peuvent être transmis par voie sexuelle. Si les données épidémiologiques ont permis de démontrer de façon formelle la possibilité, chez l'homme, d'une transmission de ces virus par le sperme, bien des incertitudes persistent quant au rôle des spermatozoïdes en tant que vecteurs. Ce point mériterait d'être définitivement élucidé car il conditionne le choix des donneurs de sperme en cas d'insémination artificielle chez des femmes séronégatives pour l'un ou l'autre de ces virus, que l'insémination soit réalisée à partir ou non des seuls spermatozoïdes. Ces données seraient également utiles pour les fécondations *in vitro*.

CYTOMEGALOVIRUS ET TRANSMISSION SEXUELLE

1. Epidémiologie des infections à CMV

Les cytomégalovirus humains (CMVH) sont des virus mondialement répandus dont

l'homme est le seul réservoir [8]. Ils infectent, le plus souvent de façon totalement asymptomatique, la grande majorité des individus. En France des enquêtes séro-épidémiologiques ont montré que 50 à 60 % des adultes possédaient des anticorps contre ces virus. En fait l'incidence des infections à CMVH est étroitement corrélée aux conditions socio-économiques. C'est ainsi que dans les pays en voie de développement ou dans les classes sociales défavorisées des pays industrialisés, la séroprévalence peut atteindre 90 voire 100 %. La fréquence des infections à CMVH varie également en fonction de l'âge. La transmission de ces virus, qui du fait de leur grande fragilité implique des contacts inter-humains étroits et directs, peut se faire :

- *in utero* par voie transplacentaire : 1 % en moyenne des nouveau-nés sont viruriques à la naissance ;
- au cours de la première année de vie : le risque d'infection à CMVH est alors étroitement lié à la séropositivité de la mère. La transmission peut avoir lieu au moment de l'accouchement, lors de l'allaitement ou à l'occasion des soins de maternage mais aussi au contact d'autres enfants. Douze à 15 % des enfants de 1 an possèdent des anticorps spécifiques.
- A partir de l'adolescence, le pourcentage de jeunes CMVH séropositifs s'élève brusquement pour atteindre 35 à 50 % dans la tranche d'âge des 25-30 ans. Cette élévation brutale du pourcentage de sujets porteurs d'anticorps résulte en grande partie de la transmission sexuelle du virus. Cette dernière rend compte également de la fréquence des infections à CMVH chez les homosexuels et les hétérosexuels à partenaires multiples chez lesquels le taux de séroprévalence peut atteindre de 90 à 100 %.

2. CMVH et sperme

Le virus est retrouvé, aussi bien chez les hommes que les femmes infectés, dans les sécrétions génitales dans lesquelles il est excrété de façon continue ou intermittente

pendant des mois ou des années après la primo-infection. LANG et ses collaborateurs [10] ont été les premiers à mettre en évidence la persistance, pendant plusieurs mois, d'une excrétion asymptomatique de CMVH dans le sperme d'un jeune homme de 23 ans ayant développé un syndrome mononucléotique à CMVH. Ce dernier y a été retrouvé pendant les 14 mois qui ont suivi l'épisode clinique et, pendant au moins 9 mois, à des titres supérieurs à ceux retrouvés dans les urines. L'examen en microscopie électronique des différents échantillons de sperme a révélé la présence d'agrégats de virus dans le liquide séminal mais aucune particule virale n'a été retrouvée associée aux spermatozoïdes. Une diminution de la motilité de ces derniers ainsi qu'une augmentation du nombre de leucocytes et du pH du liquide séminal ont été observés initialement et de façon transitoire. Il ne semble pas y avoir de corrélation entre les anomalies du spermogramme et la présence du CMVH puisque ces anomalies ont régressé alors que le titre du virus est lui-même resté élevé. MCGOWAN et ses collaborateurs [13] ont observé également une excrétion chronique de CMVH dans le sperme d'un étudiant, donneur régulier de sperme. Cette excrétion de CMVH s'est accompagnée, elle aussi, au début, d'une diminution du nombre des spermatozoïdes et du taux de fructose du liquide séminal ainsi qu'une augmentation du pH et du nombre de leucocytes.

La fréquence d'isolement du CMVH dans le sperme varie selon les études et les populations étudiées (Tableau 1). Elle est plus élevée chez les homosexuels [11], chez lesquels le pourcentage d'isolement peut atteindre 20 %, que chez les hétérosexuels [13] chez lesquels le pourcentage d'isolement ne dépasse pas habituellement 3 %. Elle est également plus élevée chez les sujets infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) [15, 16]. Ces chiffres sont probablement sous-estimés en raison de la toxicité du liquide séminal pour les fibroblastes utilisés pour la culture du virus.

Tableau 1 : Pourcentage d'isolements du CMV dans le sperme.

Auteurs	Populations étudiées	Nbre	Age	Isolt CMVH	
				N° +	%
MCGOWAN et al. 1983	Etudiants	40		1	2,5
	Adultes sains	170		4	2,3
LANGE et al. 1984	Homosexuels VIH -	30		6	20
RINALDO et al. 1986	Homosexuels VIH -	51	33	4	8
	VIH +	13	(18-60)	7	53
RINALDO et al. 1992	Homosexuels VIH -	58	32,3	10	17,2
	VIH +	110	(18-61)	35	32

Cette toxicité oblige, en effet, à diluer les échantillons de sperme et de ce fait diminue les chances d'isoler le virus. Deux études, plus récentes, basées cette fois sur la détection dans le sperme du génome viral par amplification génique (PCR) [17] ou par dot-blot [1] ont donné des résultats très contradictoires avec un pourcentage de résultats positifs respectivement de 32,7 % et de 0 % (Tableau 2). Ces deux études ont été menées chez des sujets sains hétérosexuels consultant pour des problèmes de fertilité de couple. Il est possible d'expliquer cette différence de résultats par :

- la plus grande sensibilité de la PCR par rapport au dot-blot et l'isolement viral.

- le faible pourcentage de sujets CMV séropositifs dans l'étude allemande. Mais si on ne peut éliminer formellement l'existence de faux positifs en PCR, il semble peu probable, étant donné ce que l'on sait sur l'excrétion du CMVH dans les sécrétions génitales, que le sperme de sujets sains CMVH séropositifs ne puisse jamais renfermer de CMVH

3. CMVH et fécondation

Bien que la présence de CMVH dans la tête de spermatozoïdes humains [9] ait été rapportée, à ce jour aucun cas de contamination lors de la fécondation ni aucune induction d'anomalies fœtales n'ont été observées

Tableau 2 : Pourcentage de détection du génome de CMVH dans le sperme de sujets sains.

Auteurs	Population étudiée	âge	Patients ayant des anticorps anti-CMVH	Dot-blot	PCR	Isolt CMVH
BANTEL-SCHAAL et al (Allemagne) 1993	Hétérosexuels sains	19-48	30/56 (54%)	0	NF*	0
SHEN et al. (Tawain) 1994	Hétérosexuels sains	25-40	200/217 (92%)	NF	71 (32,7%)	NF

*NF = non fait

chez des enfants nés de père dont les spermatozoïdes étaient susceptibles d'être infectés par du CMVH. Récemment, BASKAR et ses collaborateurs [2] ont injecté des fragments d'ADN de CMV murin (CMVM) dans des œufs de souris fécondés depuis 24 heures. Ces œufs, une fois le stade blastocyste atteint, ont été implantés dans l'utérus de femelles pseudogestantes, CMV séronégatives. Les auteurs ont constaté chez certains fœtus, issus d'œufs micro injectés avec les fragments du génome viral, une mort *in utero* ou un retard de croissance voire même des malformations notamment cérébrales avec une fréquence significativement plus élevée que dans le groupe de fœtus témoin. La séquence de l'ADN de CMVM micro injecté a été retrouvée par PCR chez 70 % des fœtus dont 100 % de ceux malformés. Par hybridation *in situ*, elle a été localisée uniquement dans le cerveau, les glandes salivaires et la peau. Des antigènes de CMVM ont été retrouvés en immunofluorescence indirecte (IFI) dans les mêmes sites mais dans un petit nombre de cas seulement ; en revanche, toutes les tentatives d'isolement du virus par culture des tissus fœtaux ont échoué. Cette approche expérimentale démontre qu'une transmission du CMV ou de son génome par les spermatozoïdes pourrait avoir de graves conséquences sur le développement embryonnaire.

Dans le cadre des inséminations artificielles et compte tenu de la gravité pour le fœtus de certaines infections primaires à CMVH chez la femme enceinte, il semble souhaitable d'inséminer les femmes séronégatives avec le sperme d'un donneur CMVH séronégatif. Il serait en fait plus prudent d'utiliser les spermatozoïdes de donneurs CMVH séronégatifs chez toutes candidates à l'insémination artificielle car on ignore actuellement l'effet sur le fœtus d'une réinfection maternelle par une souche hétérologue. Il est à souligner qu'un décret tout récent datant du 24 mai 1994, qui rend obligatoire la recherche de marqueurs biologiques du CMVH chez tout donneur d'organes, de tissus ou de cellules tendrait à légaliser cette attitude,

laquelle toutefois va certainement poser des problèmes en pratique, en raison du pourcentage élevé de donneurs CMVH séropositifs.

HERPES ET PROCREATION

1. Epidémiologie des herpès génitaux

Les herpès virus simplex (HSV) sont eux aussi mondialement répandus et l'homme en est le seul réservoir [3]. L'HSV-2 est responsable aux USA et en France de 90 % des herpès génitaux. En revanche, l'HSV-1 rend compte de 50 % et 35 % d'entre eux respectivement en Angleterre et au Japon. La primo-infection à HSV-2 survient habituellement à partir de la puberté. La mise au point de tests sérologiques spécifiques de l'HSV-1 et de l'HSV-2 ont permis de mieux préciser l'épidémiologie de chacun des sérotypes. Comme pour les CMVH, la séoprévalence des anticorps anti-herpès est corrélée aux conditions socio-économiques. Dans les classes sociales favorisées, 22 à 54 % des adultes jeunes ont des anticorps anti-HSV-2 ; dans les milieux sociaux aux conditions d'hygiène précaires, la séoprévalence des anti-HSV-2 dépasse 60 % pouvant atteindre 75 voire 98 %. L'incidence de l'herpès génital a brusquement augmentée ces dix dernières années. C'est actuellement l'une des maladies sexuellement transmissibles (MST) les plus fréquentes. Il est à noter que plus de la moitié des sujets ayant des anticorps anti-HSV-2 nie avoir des antécédents d'herpès génitaux et que plus d'un 1/3 des nouveaux cas serait contracté auprès de porteurs asymptomatiques.

2. HSV et tractus génital mâle

En l'absence de lésion génitale, de l'HSV-2 a été isolé des prélèvements urétraux de 3 % des hommes fréquentant une consultation de MST. Il a été retrouvé (Tableau 3) dans 10 % environ de biopsie post-mortem de testicules ou de vésicules séminales d'hommes ne présentant aucun antécédent d'herpès génitaux [5]. Lors d'une étude prospective [4], menée chez des hommes de 15 à 85 ans hospitalisés dans

Tableau 3 : Fréquence d'isolement de l'HSV du tractus génital mâle chez des patients sans lésion ni antécédent d'infection herpétique.

Auteurs	Population étudiée	Localisations	N° de patients	Isolt CMVH	
				N° +	%
DETURE et al. (1976)	Prélèvements post-mortem chez sujets sans antécédents d'HSV	Testicules	10	1	10
		V. séminales		1	10
		Prostate		0	
DEARDOURFF et al (1974)	Patients sans antécédents d'HSV	Urètre	144	11	7,6
		L. prostatique	17	5	29,4
		Prostate	36	7	19,4
		Déférents	50	13	26
HAID et al. (1984)	Statut HSV non connu	Prostate	60	15*	25

* *détection d'antigènes du CMVH en IFI*

une clinique d'Urologie et ne présentant aucun antécédent d'herpès génitaux, l'HSV-2 a été isolé chez 7,6 % d'entre eux au niveau de l'urètre, chez presque 30 % d'entre eux au niveau du liquide prostatique, chez 20 % de biopsie de la prostate et chez 26 % de sections de canaux déférents. HAID et al. [7] ont quant à eux retrouvé des antigènes d'HSV-2 en IFI sur 25 % des coupes de prostate qu'ils ont examinées. L'existence d'un réservoir de virus au niveau du tractus génital mâle a été confirmée par les données expérimentale [18]. Il a été montré que l'inoculation d'HSV-2 dans la cuisse de cobayes mâles s'accompagnait de l'apparition de vésicules au point d'inoculation avec une extension des lésions dans la sphère génitale. Ces manifestations locales ont été suivies d'une dissémination du virus qui a pu être retrouvé, entre autres, au niveau des tissus du tractus génital (vésicules séminales, testicules, urètre, prostate). Durant les 60 jours d'observations, des récurrences symptomatiques ont pu être observées chez les survivants avec présence de virus au niveau des vésicules séminales et des testicules.

3. HSV et sperme

La plupart des tentatives d'isolement du virus à partir du sperme humain (Tableau 4), que celui-ci provienne de sujets porteurs

ou non de lésions herpétiques, qu'ils soient VIH séronégatifs ou VIH séropositifs, ont été infructueuses. La toxicité du liquide séminal pour les cellules explique peut être en partie ces échecs, d'autant qu'un cas de transmission d'HSV-2 après insémination artificielle a été décrit [3]. La même souche d'HSV-2 a été isolée des prélèvements cervicaux de la femme inséminée et du sperme du donneur chez lequel aucune lésion évocatrice ni aucun antécédent d'herpès génitaux n'ont été retrouvés. Les enquêtes sérologiques ont démontré le caractère primaire de l'infection chez la patiente et l'existence d'une séroconversion récente vis à vis de l'HSV-2 également chez le donneur. L'interrogatoire de ce dernier a permis de retrouver la notion d'un herpès génital récurrent chez sa partenaire. Bien que ce cas de transmission soit le seul qui ait été rapporté dans la littérature, il apporte la preuve formelle que le HSV peut être véhiculé par le sperme et peut donc être transmis à l'occasion de rapport sexuel avec le risque d'infection primaire chez les partenaires séronégatives, risque particulièrement redouté chez la femme enceinte. La crainte d'une transmission à l'occasion d'une insémination artificielle, à l'époque encore non documentée, avait incité MASCOLA et GUINAN [12] en 1986 à

Tableau 4 : Essais d'isolement de l'HSV à partir du sperme.

Auteurs	Populations	Nbre de spermés testés	Isolement HSV
DETURE et al. (1978)	Etudiants avec antécédents d'herpès génital récurrent	30	0
COREY et al. (1983)	Primo-infection à HSV récente	47	0
MCGOWAN et al. (1983)	Sujets sains sans lésions	210	0
RINALDO et al. (1986)	Homosexuels		
	HIV -	44	0
	HIV +	13	0
DOUGLAS et al. (1988)	Patients avec antécédents d'herpès génital	695	0
	Patients avec lésions herpétiques génitales	131	0
RINALDO et al. (1992)	Homosexuels		
	HIV -	58	0
	HIV +	110	0

écarter du don du sperme tout donneur ayant soit lui-même, soit sa partenaire, des antécédents d'herpès génitaux. La fréquence croissante des infections asymptomatiques pourrait conduire, à l'avenir, à une détermination systématique et répétée du statut sérologique vis à vis de l'HSV-2, à la fois du donneur de sperme et des candidates à l'insémination.

REFERENCES

1. BANTEL-SCHAAL U, NEUMANN-HAEFELIN D., SCHIEFERSTEIN G. : Cytomegalovirus is absent from semen of a population of men seeking fertility evaluation. *J. Infect. Dis.*, 1993, 168 : 518-519.
2. BASKAR J.F., FURNARI B., HUANG E-S. : Demonstration of developmental anomalies in mouse fetuses by transfer of murine cytomegalovirus DNA-injected eggs to surrogate mothers. *J. Infect. Dis.*, 1993, 167 (6) : 1288-1295.
3. COREY L. : Herpes simplex virus infections during the decade since the licensure of acyclovir. *J. Med. Virol.*, 1993, 1 (S) : 7-12.
4. DEARDOURFF S.L., DETURE F.A., DRYLIE D.M., CENTIFANO Y, KAUFMAN H. : Association between herpes hominis type 2 and the male genitourinary tract. *J. Urol.*, 1974, 112 : 126-127.
5. DETURE F.A., DRYLIE DM, KAUFFMAN H.E., CENTIFANTO Y.M. : Herpes virus type 2 : isolation from seminal vesicle and testes. *Urology*, 1976, VII (5) : 541-544.
6. DETURE F.A., DRYLIE DM, KAUFFMAN H.E., CENTIFANTO Y.M. : Herpes virus type 2 = study of semen in male subjects with recurrent infectious. *J. Urol.*, 1978, 120 : 449-451.
7. HAID M., SHARON N. : Immunofluorescent evidence of prior herpes simplex virus type 2 infection in prostate carcinoma. *Urology*, 1984, XXIV (6) : 623-625.
8. HO M. : Epidemiology of cytomegalovirus infections. *J. Infect. Dis.*, 1990, 12 (Sup. 7) : 701-710.
9. HUANG E-S, DAVIS M.G., BASKAR J.F., HUONG S-M. : Molecular epidemiology and oncogenicity of human cytomegalovirus. In : Harris CC, ed. *Biochemical and Molecular Epidemiology of Cancer*. Alan R. Liss, Inc., New York, 1986 : 323-344.
10. LANG D.J., KUMMER J.F., HARTLEY D.P. : Cytomegalovirus in semen. Persistence and Démonstration in Extracellular Fluids. *N. Engl. J. Med.*, 1974, 291 : 121-123

11. LANGE M., KLEIN E.B., KORNFIELD H. ET AL. : Cytomegalovirus isolation from healthy homosexual men. *Jama*, 1984, 252 : 1908-1910.
12. MASCOLA L., GUINAN M.E. : Screening to reduce transmission of sexually transmitted diseases in semen used for artificial insemination. *N. Engl. J. Med.*, 1986, 314 : 1354-1359.
13. MCGOWAN A.P., HAYES K., KOVACS G.T., LEYDON J.A. : Prévalence of cytomegalovirus and herpes simplex virus in human semen. *Int J Androl* 1983, 6 : 331-336.
14. MOORE D.E., ASHLEY R.L., ZARUTSKIE P.W. et al. : Transmission of genital herpes by donor insemination. *Jama*, 1989, 23 : 3441-3443.
15. RINALDO CR, KINGSLEY L.A., LYTER DW ET AL. : Excretion of cytomegalovirus in semen associated with HTLV-III seropositivity in asymptomatic homosexual men. *J. Med. Virol.* 1986, 20 : 17-22.
16. RINALDO CR, KINGSLEY L.A., HO M., ARMSTRONG J.A., ZHOU S.Y.J. : Enhanced shedding of cytomegalovirus in semen of human immunodeficiency virus-seropositive homosexual men. *J. Clin. Microbiol.*, 1992, 30 : 1148-1155.
17. SHEN C-Y, CHANG S-F, YANG S-L ET AL. : Cytomegalovirus is present in semen from a population of men seeking fertility evaluation. *J. Infect. Dis.*, 1994, 169 : 22-223.
18. STEPHANOPOULOS D.E., MYERS M.G., BERNSTEIN D.I. : Genital infections due to herpes simplex virus type 2 in male Guinea pigs. *J. Infect. Dis.*, 1989, 159 : 89-95.

ABSTRACT

HCMV, HSV and procreation

Elisabeth DUSSAIX

At least two members of the herpesviridae family, the human cytomegaloviruses (HCMV) and the herpes simplex viruses (HSV) can be found in human semen ; but the role of the germ cells in the sexual transmission of these viruses is not clear. In teenagers and the adult population, sexual contact is considered to be a common mode of HCMV acquisition. HCMV was isolated from semen specimens of 33 % of HIV infected homosexual men, 20 % of HIV

uninfected homosexual men and only of 2,4 % of healthy heterosexual men. Virus particles could be demonstrated by electron microscopy examination inside the sperm head as well as in the seminal liquid but at present, there is no direct evidence either for HCMV transmission via fertilization or for induction of fetal anomalies by vertical transmission. Transmission via donor semen is undoubtedly possible although not yet described and it may be safer to employ HCMV seronegative donor for all recipients, regardless of the recipient's serologic status.

The development of serologic assays that differentiate the two serotypes of HSV demonstrated the worldwide distribution of genital HSV-2 which has been increasing in many developed countries throughout the last two decades. In several studies, HSV-2 has been recovered from the male reproductive tract, specifically the prostate, seminal vesicles, vasa and testes, in the absence of active lesions. In contrast, tissue cultures of semen sampled during lesion-free periods had been uniformly negative for HSV. However recently, one report documents transmission of HSV-2 via therapeutic donor insemination and illustres the fact that semen might be a vehicle of transmission of HSV. At present, it is adequate to recommend that men, with a history of a recurrent genital herpes or who have a sexual partner with such a history, are excluded as potential semen donors. Further, in the near future, with the increase of asymptomatic viral shedding from the genital tract, the presence of HSV-2 antibody could be added as an exclusion criterion.

Key Words : human spermatozoa, CMV, HSV, artificial insemination.