

Strategimøte 31. oktober 2013

Laboratoriediagnostikk ved cytomegalovirus- infeksjoner

Program

Oppsummering

Abstrakter

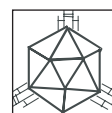
Redaktører:

Halvor Rollag

Svein Arne Nordbø

Garth Tylden

Gunnar Martin Hoddevik



STRATEGIMØTE

LABORATORIEDIAGNOSTIKK VED CYTOMEGALOVIRUS-INFEKSJONER

31. OKTOBER 2013

PROGRAM

OPPSUMMERING

ABSTRAKTER

Redaktører:

Halvor Rollag, Oslo universitetssykehus Rikshospitalet
Svein Arne Nordbø, St Olavs Hospital
Garth Tylden, Universitetssykehuset Nord-Norge
Gunnar Martin Hoddevik, Nasjonalt folkehelseinstitutt

Referansegruppen for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi

ISBN trykt utgave: 978-82-8082-628-2
ISBN elektronisk utgave: 978-82-8082-629-9

INNHALDSFORTEGNELSE

Innhold	3
Forord	5
Program	7
Sammendrag og anbefalinger	9
Foredrag i følge programmet.....	21
CMV- Epidemiologi, biologi, patogenese.....	23
CMV-diagnostikk. Antistofftester.....	31
Erfaring med CMV-IgG aviditetstester	37
Påvisning av CMV med PCR.....	39
Genotypisk resistensbestemmelse	41
Måling av cellemediert immunitet ved CMV-infeksjoner	45
Patologens rolle ved CMV-infeksjon	49
CMV i svangerskap	51
CMV-infeksjon: Normalt immunforsvar og inflammasjonstilstander .	53
Infeksjoner ved organ- og stamcelletransplantasjon	55
CMV ved HIV-infeksjon.....	59
Deltagerliste	62

Forord

I regi av «Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi» ble det holdt strategimøte om laboratoriediagnostikk ved CMV-infeksjoner den 31. oktober 2014 ved Gjestehuset, Lovisenberg sykehus i Oslo.

Det første strategimøtet om CMV ble holdt i 1998. Siden den gang har CMV inngått som en del av programmet ved flere av strategimøtene, men Referansegruppen vurderte at det nå var behov for et eget møte om CMV.

Årets rapport er en videreføring og oppdatering av laboratoriediagnostikken og må sees i sammenheng med rapporten fra strategimøtet i 1998.

Bakgrunnen for at et nytt strategimøte i 2013 ble holdt, var at enkelte analysemetoder er forlatt i praktisk bruk og at det i økende grad har blitt behov for genteknologiske undersøkelser, samt at erfaringen med bruk av disse er større.

Programmet er satt sammen av en programkomite bestående av Svein Arne Nordbø, Garth Tylden og Halvor Rollag (leder).

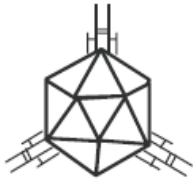
Møteledere var Svein Arne Nordbø (møteleder del I) og Halvor Rollag (møteleder del II).

Programkomiteens medlemmer og møtelederne er også redaktører av rapporten.

Rapporten inneholder oppsummering og anbefalinger slik det kom fram på møtet samt sammendrag av foredragene (manuskriptene) som er gjengitt i sin helhet.

Oslo, mai 2014

Svein Arne Nordbø, Garth Tylden, Halvor Rollag.



”Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi”
inviterer landets mikrobiologiske laboratorier til **strategimøte** om

Laboratoriediagnostikk ved Cytomegalovirus-infeksjoner

Møtedag 31.10.2013 **Møtested:** Gjestehuset, Lovisenberg sykehus, Oslo
Møteledere: Svein Arne Nordbø og Halvor Rollag

Program

Tidspunkt	Tid	Tittel	Foredragsholder
0945-1000	15 min	Frukt og kaffe	
1000-1005	5 min	Velkommen. Innledning ved leder for referansegruppen	Helvi Holm Samdal
1005-1030	20 + 5 min	CMV-epidemiologi, biologi og patogenese	Halvor Rollag
1030-1050	15 + 5 min	Antistofftester for påvisning av CMV-infeksjon	Ellen Holter
1050-1055	5 min	Erfaring med CMV-IgG aviditetstester	Truls Leegaard
1055-11.20	20 + 5 min	Påvisning av CMV ved PCR	Svein Arne Nordbø
1120-1130	10 min	Pause	
1030-1145	10 + 5 min	Genotypisk resistensbestemmelse	Halvor Rollag
1145-1200	10 + 5 min	Måling av cellemediert immunitet CMV- infeksjoner	Fredrik Müller
1200-1220	15 + 5 min	Patologens rolle ved viruspåvisning og karakterisering av CMV-infeksjon	Borghild Roald
1220-1250	40 min	Oppsummering, anbefalinger og diskusjon	Svein Arne Nordbø
1250-1335	45 min	Lunsj	
1335-1405	15 – 5 min	Intrauterine og perinatale infeksjoner (inklusive hørselsskade)	Maria Aurora Hernandez Roset
1405–1435	25 + 5 min	CMV-infeksjon ved normalt infeksjonsforsvar og ved inflammasjonstilstander	Ingvild Nordøy
1435-1505	25 + 5 min	CMV-infeksjon ved allogen organtransplantasjon og ved stamcelletransplantasjon	Anders Hartmann
1505-1515	10 min	Pause	
1515-1535	15 + 5 min	CMV-infeksjon ved HIV-infeksjon	Arne Brantsæter
1535-1600	25 min	Oppsummering, anbefalinger og diskusjon	Halvor Rollag

SAMMENDRAG

OG

ANBEFALINGER

Diagnostikk ved cytomegalovirusinfeksjoner

A. Påvisning av infeksjon

1. Påvisning av spesifikke antistoffer

Indikasjoner for påvisning av antistoffer mot CMV vil være sykdomsutredning og immunstatusundersøkelse.

a. Aktuelle analyser

CMV-IgG og CMV-IgM

Det er flere ulike analyser som er i bruk. De er enten enzyme immunoassays (EIA) eller "chemiluminiscent mikroparticle assays" (CMIA). CMV-IgA antistofftester synes ikke å ha noen betydning i diagnostikk av medfødt CMV-infeksjon da CMV-PCR er et bedre alternativ. På grunn av CMV-IgM-testenes noe lave spesifisitet bør referanselaboratoriet ha to forskjellige CMV-IgM-tester tilgjengelig.

CMV-IgG-aviditetstest.

Det finnes flere kommersielle tester på markedet. Aviditetstestene måler bindingsstyrke mellom CMV-IgG og CMV-antigen. I tidsrommet etter primærinfeksjon vil de B-cellekloner som koder for antistoffer med lav aviditet gradvis bli eliminert slik at de antistoffer som etterhvert blir produsert har høy aviditet. Ved å måle bindingstyrken mellom CMV-IgG og antigen kan en gjøre et estimat av når infeksjonen har funnet sted innenfor de siste 6 måneder.

Immunoblot

Denne testen påviser IgG og IgM mot ulike strukturelle og non-strukturelle antigener hos CMV. Mønsteret endres i løpet av ukene og månedene etter primærinfeksjonen. Testen har liten utbredelse her i Norge.

Alle som bruker disse antistofftestene bør gjøre en egen validering eller verifisering, og delta i internasjonale ringtester (SLPer). Testenes variasjonskoeffisienter må kontinuerlig overvåkes slik at det kan opereres med egendefinerte gråsoner.

b. Indikasjoner og tolking av resultater

CMV-IgG og CMV-IgM

Kombinasjonen IgG og IgM anti-CMV brukes til å diagnostisere primærinfeksjon hos seronegative personer. Serokonversjon for IgM hos immunfriske personer kommer etter 0-2 uker mens IgG antistoffene kan påvises ca en uke senere. Ved immunsuppresjon vil antistoffene gjerne dukke opp noe senere. Hos de fleste organtransplanterte pasienter er CMV-IgG påvisbar innen 50 dager, men i sjeldne tilfelle kan det ta flere måneder før antistoffene er påvisbare.

CMV-IgM kan bli falskt positiv ved EBV-infeksjoner og ved autoimmune sykdommer.

Ved immunstatusundersøkelse hos kandidater for allogen benmarg- eller organtransplantasjon vil lave positive CMV-IgG verdier representere det største problemet da dette kan skyldes passivt tilførte antistoffer etter transfusjoner eller substitusjonsterapi.

For å minimalisere problemet med gråsoneverdi må en anvende en test med lav variasjonskoeffisient. CMV-IgG gråsoneverdier hos benmarg- og organgivere bør betraktes som CMV-IgG positive i donorsammenheng.

CMV aviditetsundersøkelse

CMV-IgG aviditetsundersøkelse er først og fremst indisert ved sykdomsutredning og positiv IgM hos gravide. Hovedregel er at det er lav aviditet de første ukene etter primærinfeksjon, og at høy aviditet kan påvises etter ca. 16-20 uker. Ved bruk av aviditetstest vil høy IgG-aviditet sammen med positiv IgM tilsi at infeksjonen har funnet sted for 3 måneder siden eller mer. Gråsone- og lav aviditet kan være vanskelige å tolke. Ved OUS og Folkehelseinstituttet er det startet et prosjekt som skal vurdere nytteverdien av aviditetsundersøkelsen.

Immunoblotanalyse

Immunoblotanalyse er lite utbredt i Norge, og dokumentasjonen er mangelfull.

2. Påvisning av cytomegalovirus.

a. Påvisning ved dyrkning i cellekultur.

Indikasjon:

For påvisning av spesielle egenskaper ved virus. Det kan f.eks. være fenotypisk resistensbestemmelse av virus for å verifisere betydningen av mulige resistensmutasjoner.

Prøvematerialer:

I prinsippet alle typer prøvematerialer, men vanligst er urin, spytt, bronkialskyllvæske, EDTA-blod og biopsier.

Metode:

Dyrking av virus utføres vanligvis på primære humane fibroblaster eller fibroblastcellelinjen MRC5. Dyrkingen bør foregå i 2-4 uker. CMV-replikasjon i cellene verifiseres med PCR eller immuncytokjemi.

Tolking av resultat:

Dyrking i cellekultur er mindre sensitiv enn PCR og brukes derfor sjelden diagnostisk. Referanselaboratoriet for CMV kan dyrke CMV i cellekultur.

b. Påvisning ved PCR

Indikasjon

Kvantitativ PCR brukes først og fremst for å holde øye med infeksjonsforløpet og for å se effekt av antiviral terapi. Kvantitering av virus DNA i blod har vist seg svært nyttig for tidlig påvisning av systemisk infeksjon slik at en så tidlig som mulig kan starte terapi for å hindre sykdomsutvikling (preemptive therapy).

Kvalitativ PCR kan være indisert ved mistanke om primærinfeksjon eller reaktivering der serologien er inkonklusiv. Kvalitativ PCR brukes også når prøvematerialet ikke er flytende som for eksempel ved biopsier.

Prøvematerialer

Valg av prøvemateriale bestemmes av de kliniske symptomer.

Ved mistanke om medfødt infeksjon er urin, saliva og blod de viktigste prøvematerialer, og prøver bør tas innen to uker etter fødsel. Penselprøve fra området mellom kinn og gumme i overkjeven kan benyttes hvis den tas minst 1 time etter siste amming. På grunn av fare for kontaminering med morsmelk må positivt funn konfirmeres ved påvisning fra urin eller blod. CMV kan utskilles i urin og spytt i lang tid (flere år) hos asymptomatiske barn som er blitt smittet perinatalt.

CMV replikerer i vaskulært endotel. Derfra blir virus frigitt til blod eller tatt opp av granulocytter direkte. Virus kan derfor påvises i EDTA-plasma og EDTA-fullblod. Andre CMV-holdige væsker som fostervann, spinalvæske, bronkialskyllvæske, morsmelk og øyets kammervæske eller corpus vitreum kan være egnede prøvematerialer.

Ved fokale manifestasjoner vil biopsier, ikke minst fra gastrointestinaltrakten, fra placenta, lunger, hjerne og hjerte være egnede prøvematerialer.

PCR-metoder

Real-time PCR er den mest brukte metode til både kvantitative og kvalitative analyser. Resultatet av den kvantitative PCR angis oftest i CMV-DNA-kopier/ml. Både valg av DNA-ekstraksjonsmetode og PCR-metode vil kunne påvirke resultatet. For å standardisere de ulike kvantitative testmetoder anbefales det å angi virusmengde i IU/ml kalibrert etter WHO-standard. Et minimumskrav til laboratorier som utfører CMV-PCR er de deltar i internasjonale SLPer.

Tolking av resultater

Kvantitativ PCR

Ved ulike grunnsykdommer og allogen transplantasjon, vil "preemptive therapy" igangsettes ved forskjellige mengder virus i blod. Innføring av IU/ml vil gjøre det lettere å sammenligne resultater mellom laboratorier.

Da variasjonskoeffisienten ved CMV-PCR kan være relativt høy må det være betydelige endringer for at en skal kunne si at de er signifikante. Vanligvis vil $\frac{1}{2} \log_{10}$ endringer representere signifikante endringer i virusmengde. Dette tilsvarer ca. tre gangers økning eller reduksjon av virusmengden. En skal også være klar over at ved fokale CMV-infeksjoner (f.eks. ved colitt og ved virusutskillelse i urin og morsmelk) er ikke alltid CMV-PCR i blod positiv.

Kvalitativ PCR

I noen slike sammenhenger vil en semikvantitering kunne være av klinisk nytte. En kan da angi CT-verdi og angi at CT-verdi <28 medfører høy virusmengde, CT-verdi 28-35 medfører moderat mengde virus og CT-verdi >35 medfører liten mengde virus.

3. Genotypisk resistensbestemmelse

Indikasjoner

Langvarig terapivikt dvs. minst to uker på terapeutisk dose av ganciclovir/valganciclovir, cidofovir eller foscavir.

Ved genotypisk resistensbestemmelse påvises spesielle mutasjoner (resistensmutasjoner) i UL97 for ganciclovir/valganciclovir og i UL54 for ganciclovir/valganciclovir, cidofovir og foscarnet.

Prøvematerialer

Avhengig av infeksjonens lokalisasjon. Vanligst er EDTA-fullblod eller EDTA-plasma (minst 1000 CMV-DNA-kopier/ml), men også urin, bronkialsyllevæske og biopsier er egnede prøvematerialer. Biopsier inneholder ikke alltid nok virus-DNA.

Metode

PCR-amplifisering og sekvensering av UL97 og UL54.

Ved terapivikt på GCV-terapi starter en med analyse av UL97 genet. Sekvensen av genene sammenlignes med standard basesekvens hos UL97 og UL54 genene hos laboratoriestammen AD169.

Vurdering

Det er sjelden å finne resistensmutasjoner før terapien har vart i seks uker.

En referanse (Lurain and Chou) brukes for å identifisere resistensmutasjoner samt å vurdere grad av resistens.

Svarrapporten bør angi aktuelle resistensmutasjoner og antatt grad av resistens. Man kan eventuelt anbefale doseøkning eller bytte av medikament, se tabell i abstraktet.

4. T-celleimmunitet

Den cellulære immunrespons er av avgjørende betydning for å opprettholde CMV-latens etter primærinfeksjon og forhindre reaktivering av CMV. Den cytotoksiske, CD8⁺ T-cellemedierte responsen har vært tillagt størst betydning, men også CD4⁺ T-cellemediert immunitet bidrar til det samlede T-cellesvaret.

Indikasjoner

Måling av T-celleimmunitet kan være nyttig i overvåkning av CMV-infeksjoner både i forbindelse med organtransplantasjoner og transplantasjon med hematopoietiske stamceller. Den viktigste indikasjon vil være manglende terapirespons ved CMV-infeksjon der en ikke finner resistensmutasjoner. Det viser seg vanskelig å supprimere virusproduksjonen hvis det ikke er noen "T-celle-hjelp".

Prøvemateriale og metoder

Det finnes tre metoder for påvisning T-celler respons etter stimulering med CMV-antigen. Som mål på cellulær aktivering brukes oftest produksjon av interferon- γ . EDTA blod brukes for påvisning av av både CD4⁺ og CD8⁺ -T-cellerespons ved flow cytometri. Dette er en svært arbeidskrevende metode som egner seg best til forskning.

QuantiFERON-CMV er den enkleste metoden som også egner seg for rutinebruk. Ved denne metoden tappes blod rett i tre spesialrør. Ett rør inneholder ingen ligander, ett inneholder phorbolmyristatacetat (PMA) som stimulerer T-celler uspesifikt og ett inneholder en blanding av CMV-peptider som bare stimulerer CMV-spesifikke CD8-T-celler. Frigjort interferon- γ kvantiteres med samme ELISA protokoll som QuantiFERON-TB Gold. Denne metoden er godt belagt med kliniske studier.

Vurdering

Ved lav eller manglende T-cellerespons (både CD4+ og CD8+) ser en økt tendens til reaktivering og økt viremi i begge pasientgrupper.

5. Histopatologisk undersøkelse

Patologens rolle ved mistenkt CMV infeksjon er histopatologisk påvisning av aktivt replikerende virus i biopsier ved mistenkt organmanifestasjon. I tillegg til påvisning av aktivt replikerende virus kan patologen se grad av betennelsesreaksjon og vevsskade knyttet til infeksjonen.

Når det tas biopsi til virologisk CMV-undersøkelse er det viktig at det alltid også sendes en tilsvarende vevsbit til patolog for evt. påvisning av virus og vurdering av grad av vevsskade.

Indikasjoner

Indikasjon vil være påvisning/verifikasjon av CMV i celler i ulike vev.

Prøvematerialer og metoder

Prøvematerialet vil være vevsbiopsi.

I hematoxylin-eosin farget snitt vil en kunne se karakteristiske forandringer i kjernen til de infiserte cellene. Sent i virusreplikasjonen vil cellekjernen ha basofile inklusjonslegemer skilt fra kjernens ordinære DNA med en klar halo (ugleøyne). Verifikasjon av selve viruset gjøres ved hjelp av spesifikke antistoffer eller ved *in situ* DNA-DNA-hybridisering.

Disseminert CMV-infeksjon forårsaker fokale nekroser, ofte med minimal inflammatorisk cellulær respons. Andre ganger fører infeksjon med CMV til en betydelig betennelsesreaksjon.

Vurdering

Morfologisk og immunhistokjemisk er det få feilkilder. PCR kan bli positiv pga. blodkontaminasjon.

Vanligste biopsiprøvemateriale er fra gastrointestinaltraktus, fra lunge (åpen lungebiopsi eller transbronkial biopsi) og vev fra placenta.

Spesielt utfordrende er biopsier fra GI-traktus ved ulike former for inflammatorisk tarmsykdom da CMV ved disse tilstander kan reaktiveres uten å gi sykdom.

Ved intrauterin CMV-infeksjon kan CMV-påvises i placentavev, morfologisk og immunhistokjemisk.

B. CMV-diagnostikk ved ulike kliniske tilstander

1. Intrauterin og perinatal infeksjon

Medfødt CMV-infeksjon er nå den vanligste intrauterine infeksjon. Antagelig fødes det i Norge årlig 200-300 barn med medfødt CMV-infeksjon. Det angis at fra 0.2 til 2,5% av alle nyfødte er CMV-infisert. Infeksjon kan også overføres perinatalt fra mor ved fødsel eller via morsmelk, samt fra nærkontakter via spytt.

Ved primærinfeksjon i svangerskapet infiseres 30-40% av fostrene mens ved reaktivert infeksjon eller reinfeksjon blir omlag 1% av fostrene smittet. Likevel er antall smittet etter reaktivering/reinfeksjon størst fordi det er langt vanligere med reaktivering/reinfeksjon enn med primær infeksjon i svangerskapet. Disse barna vil ikke nødvendigvis ha et mildere forløp.

Omlag 10-20% av de smittede vil ha symptomer ved fødsel. Av disse vil 20-30% dø og opptil 90% av de overlevende vil ha varig skade oftest i form av nedsatt hørsel eller andre sentralnervøse skader.

Av de asymptomatisk infiserte nyfødte vil 5-15% utvikle følgetilstander i form av nedsatt hørsel eller andre CNS-skader senere.

Ved perinatal smitte representerer CMV-infeksjon størst problem ved fødselsvekt under 1200g.

CMV-screeningprogram av gravide er ikke iverksatt pga. manglende behandlingsmuligheter ved intrauterin infeksjon. Bruk av spesifikt hyperimmunglobulin og utvikling av anti-CMV-medikamenter uten teratogene bivirkninger kan endre dette. Behandling av CMV-infeksjonen etter fødsel har vist å kunne bremse hørselstapet.

Indikasjoner

Siden CMV-infeksjoner i svangerskapet ikke overvåkes, vil mistanke om CMV-infeksjon som regel oppstå i to situasjoner. Ved utredning av infeksjonssykdom hos den gravide og ved patologiske ultralydfunn.

Prøvemateriale og metoder

Mistanke om intrauterin infeksjon:

Serum, CMV-IgG og IgM, for påvisning av primær eller reaktivert infeksjon hos mor. Ved positiv CMV-IgM kan det vurderes om det også skal utføres en CMV-IgG aviditetsundersøkelse for å bestemme tidspunkt for infeksjon. Dette er mest nyttig ved prøvetaking innenfor første trimester da bare høy aviditet gir pålitelig informasjon.

Påvisning av infeksjon hos fosteret skjer ved CMV-PCR i amnionvæske. PCR i amnionvæske har best sensitivitet etter uke 20-21 og minst 6-8 uker etter antatt smittetidspunkt.

Diagnostikk av intrauterin infeksjon ved prøvetagning etter fødsel:

Navlestrengblod:

Påvisning av CMV-IgM og påvisning av virus ved PCR.

Navlestrengsblod er ofte kontaminert med maternelt blod og kan derfor gi villedende resultater.

Blod fra den nyfødte:

Påvisning av CMV-IgM og påvisning av virus ved PCR.

Spytt og urin:

Standard metode har vært PCR-påvisning av CMV i urinprøve tatt innen 2 (3) uker etter fødsel.

Spytt (saliva) er et prøvemateriale som er lettere å samle. En pensel legges mellom kinn og overkjeve og settes deretter i virustransportmedium. Prøven må tas minst en time etter siste amming for å hindre kontaminasjon av CMV som skiller ut i morsmelk. CMV-påvises ved PCR. Positiv prøve konfirmeres ved med PCR i urin.

Blodflekker på Guthrie-cards samlet umiddelbart etter fødsel:

DNA elueres fra filterpapiret og CMV påvises ved PCR.

Vurdering

Intrauterin infeksjon:

Diagnostikken vil først og fremst være rettet mot å påvise primærinfeksjon hos den gravide da pålitelige markører for reaktivering og reinfeksjon i svangerskapet ikke finnes. Påvisning av CMV-IgG og IgM kan gi mistanke om primærinfeksjon. Det er bare en aviditetsundersøkelse som kanskje kan tidfeste infeksjonen.

Aviditetsundersøkelse utføres bare når både CMV-IgG og IgM er positive. Som nevnt under avsnittet om påvisning av CMV-antistoffer, er nytteverdien av denne undersøkelsen usikker.

Gullstandard for diagnostikk av intrauterin infeksjon er påvisning av CMV i fostervann ved PCR.

Ved diagnostikk etter fødsel foreligger mulighet for påvisning av CMV-IgM-antistoffer både i navlestrengsblod og i blod fra den nyfødte. Men bare ca. 75% av de intrauterint infiserte danner CMV-IgM-antistoffer. Navlestrengsblod bør ikke være eneste prøvemateriale.

CMV kan påvises ved PCR i navlestrengsblod, men ikke alle infiserte barn har nødvendigvis viremi slik at negativt resultat kan forekomme. CMV i navlestrengsblod kan stamme fra mor.

Påvisning av CMV i urin er den mest pålitelige metode, men prøven må tas innen 2 uker etter fødsel for å kunne skille prenatal og postnatal infeksjon.

Påvisning av CMV i spyttprøve har 99% samsvar med påvisning i urin. Men ved positiv spyttprøve bør en konfirmere diagnosen ved påvisning også i urin.

Påvisning av CMV i blodflekker på Guthrie-cards brukes ved utredning av medfødt hørselsskade. Spesifisiteten er høy (99%), men sensitiviteten ligger på mellom 30 og 40%.

2. CMV infeksjon ved normalt immunforsvar og ved inflammasjonstilstander

Ved CMV-primærinfeksjon hos immunfriske vil bare ca. 10% av infeksjonene være symptomgivende, som regel med et mononukleoselignende sykdomsbilde. Fokale symptomer, hyppigst fra GI-tractus og CNS, kan en sjelden gang sees.

Diagnostikk ved mononukleoselignende sykdomsbilde og annen primærinfeksjon:

Antistoffpåvisning i serum:

CMV-IgG og IgM

Sammenligning av CMV-IgG og IgM-nivåene i to prøver tatt med 2-4 ukers mellomrom kan bidra til å skille primær og reaktivert infeksjon. CMV-IgG-aviditets-testing kan også være til hjelp for tidfesting av infeksjonstidspunkt og å skille primær og reaktivert infeksjon.

Da EBV-infeksjon kan føre til en uspesifikk CMV-IgM-produksjon, vil påvisning av CMV i blod (EDTA-plasma eller EDTA-fullblod) ved PCR være avgjørende.

Påvisning av CMV med PCR:

Ved fokale symptomer kan CMV påvises i biopsier, væsker eller sekreter ved PCR.

Ved systemisk infeksjon med replikasjon av virus i vaskulært endotel kan virus påvises i blod.

Diagnostikk ved reaktivert infeksjon:

Reaktivering av CMV vil forekomme ved ubalanse i immunsystemet med økt produksjon av cytokiner ikke minst TNF- α , IL6 og IL-8, som stimulerer CMV-replikasjonen.

I den senere tid har det vært mye oppmerksomhet rundt CMV-reaktivering ved inflammatorisk tarmsykdom.

Antistoffpåvisning i serum:

Relativt høyt CMV-IgG-nivå og lavt CMV- IgM-nivå (ikke alle danner spesifikke IgM-antistoffer ved reaktivering).

Påvisning av CMV med PCR:

Utføres i biopsier, væsker og sekreter ved symptomer. Påvisning av CMV i munn- eller luftveissekret kan være vanskelig å tolke pga. langvarig utskillelse. Ved inflammatorisk tarmsykdom vil mengde virus i biopsien indikere om CMV har betydning for sykdomsforløpet.

Ved systemisk infeksjon med replikasjon av virus i vaskulært endotel kan virus påvises i blod. Men pasientene kan ha alvorlig fokal infeksjon uten å ha systemisk infeksjon.

3. CMV-infeksjon ved organ- og stamcelletransplantasjon

CMV-infeksjon er en av de hyppigste infeksjoner etter organtransplantasjon og hematopoietiske stamcelletransplantasjon. Derfor blir disse pasientene overvåket mhp CMV-infeksjon og noen får også valganciclovir som CMV-profylakse.

Profylakse

Risiko for alvorlig CMV-sykdom avhenger av CMV-IgG serostatus til donor (D) og resipient (R) på transplantasjonsidspunktet. Størst risiko finner en der resipient av et organ er CMV-IgG negativ og donor CMV-IgG-positiv. Disse får valganciclovir-profylakse i 3-12 måneder avhengig av hvilket organ som transplanteres (se tabell for indikasjon, doser og tid). Ved stamcelletransplantasjon er det reaktivering som er det største problemet. Faren for reaktivering er størst når resipienten er CMV-IgG positiv og donor er CMV-IgG negativ. Disse får acyclovir-profylakse hvis de har behov for immunsuppresjon ved behandling av "graft versus host"-reaksjon.

Overvåkning:

Hos immunsupprimerte pasienter vil CMV-infeksjonen nesten alltid bli systemisk slik at viruset kan påvises i blod ved PCR, enten i EDTA-fullblod eller i EDTA-plasma. Alle pasientgrupper overvåkes for CMV-infeksjon ukentlig i minst 3 måneder (kanskje med unntak av serostatus D-/R-). En bør være spesielt oppmerksom på mulighet for CMV-infeksjon og sykdom de første måneder etter avsluttet profylakse.

Preemptiv terapi

Denne terapiformen baserer seg på at en kan påvise CMV ved PCR i blod ca en uke før sykdom opptrer. Det må derfor utføres kvantitativ CMV-PCR i blod som overvåkningsprøve en gang hver uke. Sannsynligheten for å utvikle sykdom er til en viss grad avhengig av mengde virus i blod. Ved de ulike transplantasjoner er det satt empiriske grenser for den mengde virus i blod som skal utløse preemptiv terapi (se tabell). Inntil WHO standarden er innført på alle laboratorier vil grensene uttrykt som DNA-kopier per ml variere mellom laboratoriene. Preemptiv terapi er først og fremst aktuell ved reaktivert infeksjon dvs. resipient CMV-IgG positiv. Behandlingen fortsetter til en har to negative CMV-PCR prøver i blod tatt med en ukes mellomrom.

Diagnostikk

CMV påvises ved PCR i ulike prøvematerialer. Serologiske undersøkelser kan i noen grad støtte opp om diagnostikken. Men PCR kan være positiv før antistoffresponsen er målbar.

CMV syndrom:

Ingen kliniske organmanifestasjoner, men feber, leukopeni og CMV påvist i blod ved PCR.

CMV-sykdom med organmanifestasjoner:

Påvisning av virus i biopsier eller aspirat fra de ulike organer. Der det ikke er mulig eller forsvarlig, vil CMV i blod sammen med biokjemiske eller andre tegn på organskade eller nedsatt funksjon kunne gi en sannsynlighetsdiagnose. Ved organmanifestasjoner påvises ikke alltid virus i blod.

Gastrointestinale ulcera: CMV kan vanligvis påvises i biopsi.

Pneumoni: Åpen lungebiopsi eller transbronkial biopsi. Høye CMV-konsentrasjoner i bronkialskyllvæske er en indikasjon på CMV-pneumoni.

Retinitt: Diagnostiseres oftalmologisk, men virus kan påvises i kammervæske og corpus vitreum.

Encefalitt: Spinalvæske

Guillain-Barré syndrom: Spinalvæske

Hepatitt: Påvisning av CMV i leverbiopsi er optimalt, men diagnosen baseres vanligvis på CMV PCR i blod sammen med biokjemiske tegn på hepatitt.

Behandling av CMV-sykdom

Valganciclovir eller ganciclovir dosert etter nyrefunksjon er førstevalgsmidikamenter. Det er ingen rutinemetode tilgjengelig for påvisning av ganciclovirkonsentrasjonen i serum. Det er vanlig å behandle til en har to negative CMV-prøver i blod med en ukes mellomrom.

Resistensutvikling ser en først og fremst hos pasienter med serostatus D+/R-.

Resistensutvikling sees nesten aldri de to første uker etter terapistart. Vanligvis dukker resistent virus opp etter mer enn 6 ukers behandling.

4. CMV ved HIV-infeksjon

Både primærinfeksjon, reaktivering og reinfeksjon med CMV kan føre til alvorlig sykdom og død hos pasienter med HIV. Personer som er født i utviklingsland og menn som har sex med menn, er nesten alltid seropositive for CMV. For pasienter som står på effektiv antiretroviral behandling er CMV sjelden årsak til sykdom og CMV påvist ved PCR har liten klinisk nytteverdi.

Overvåkning

Alle pasienter som får påvist HIV-infeksjon bør testes for CMV IgG.

Rutinemessig overvåking av CMV viremi er ikke indisert, men kvantitering av CMV DNA i plasma bør utføres hos pasienter med CD4+ T lymfocyt-tall <50-100 celler/mm³ som samtidig har kliniske funn forenlig med CMV sykdom. Påvisning av viremi i en slik situasjon bør føre til oftalmoskopi, endoskopi og histopatologisk undersøkelse av aktuelle organer før man konkluderer med at pasienten har CMV sykdom og igangsetter spesifikk terapi.

Sykdomsutredning

Oftalmoskopi og histopatologisk undersøkelse av biopsier fra affiserte organer er de viktigste diagnostiske verktøy for påvisning av CMV-sykdom, og mikrobiologiske undersøkelser kan støtte diagnosen.

Spinalpunksjon og undersøkelse av cerebrospinalvæske med CMV-PCR bør utføres hos pasienter med symptomer og nevrologiske funn som gir mistanke om CMV-sykdom i sentralnervesystemet.

Abstrakter

CMV- Epidemiologi, biologi, patogenese

I det følgende gis en oversikt over humant cytomegalovirus' (CMV) epidemiologi, sykdommer, biologi, immunrespons, primærinfeksjon, latens, reaktivering og patogenese.

Epidemiologi

CMV overføres fra person til person på mange ulike måter. Det starter intrauterint med overføring av virus fra mor til foster. I de Nordamerikanske og Vesteuropiske land har 0,3 til 0,5% av de nyfødte medfødt CMV-infeksjon (1). Senere smittes spedbarn via morsmelk. Cytomegalovirus skiller ut i spytt, tårevæske, sæd, cervixsekret og finnes også latent i noen hvite blodlegemer. Dette angir også smitteveiene som er direkte og indirekte kontaktsmitte, smitte via blodprodukter og allotransplanterte organer.

I Norge har Skar og Hoddevik utført den mest omfattende prevalensstudien(2). Den viste at ved 20 årsalder er 50% infisert ved 30 års alder 80% og hos dem over 60 år er 90-100% infisert (CMV-IgG-positive). Spesielle grupper som blødere og menn som har sex med menn har en ventelig høyere prevalens (3). Årlig serokonversjonsrate hos voksne mennesker i vår del av verden er 1-2%.

Sykdommer:

Intrauterin infeksjon:

Ingen symptomer

Hepatosplenomegali, CNS affeksjon (hørselstap)

Perinatal smitte ved fødselsvekt under 1200 g:

Hepatosplenomegali, CNS-affeksjon

Immunkompetente personer:

Asymptomatisk

Mononukleose syndrom

Hepatitt, fatigue

Colitt

Immunsupprimerte personer

AIDS-pasienter:

Retinitt/encefalitt

Interstitiell pneumoni

Anemi

Allotransplanterte (organ og stamceller)

CMV-syndrom (feber, leukopeni, fatigue)

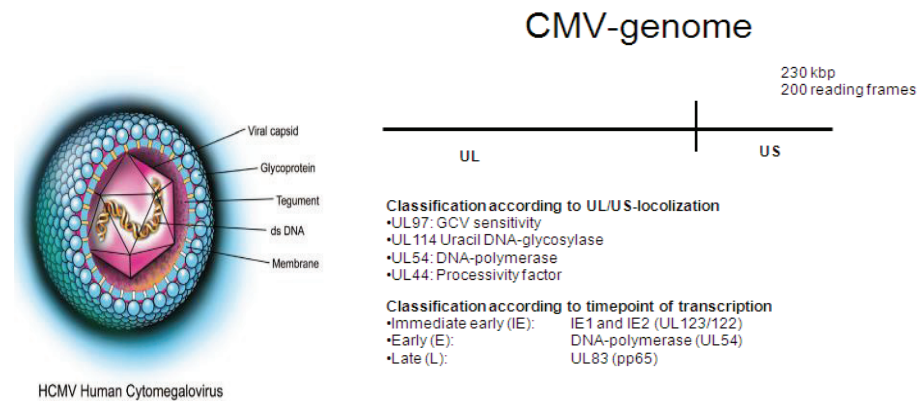
Organmanifestasjoner (hepatitt, pneumoni)

Uavklarte tilstander

CMV- infeksjon ved inflammasjonstilstander som Mb Crohn, ulcerøs colitt

CMV som medvirkende årsak til cancer mammae (4) og glioblastom (5)

Virusstruktur



(Ranneberg-Nilsen, T. Thesis 2012)

CMV har en struktur som de andre herpesvirus. Et 235 kb langt lineært dsDNA. CMV er inndelt i to hoveddeler: unique short (US) og unique long (UL) begge med "inverted terminal repeats". Genomet har minst 160 åpne leserammer og det produseres også flere microRNA transkripter (miRNA). Virusgener blir angitt etter lokalisasjon på genomet, som f.eks. UL55 (gB) eller US11 (degradering av MHC-I molekyler). Virus DNA er omgitt av et icosahedralt kapsid som igjen er omsluttet av en membran. Mellom nukleokapsidet og membranen befinner tegumentet seg. Det består av mer enn 25 ulike virale proteiner, små mengder viralt RNA og cellulære proteiner. Et av de mest studerte proteiner er "lower matrix protein" pp65 som er et viktig antigen for cellulær immunitet og som også blir brukt som antigen i den kvantitative CMV-pp65 antigentesten.

Virusmembranen stammer antagelig fra membranen til endoplasmatisk retikulum og inneholder en rekke forskjellige glykoproteiner som gB, gH, gL og gM/gN. På grunnlag av genetiske variasjoner kan CMV inndeles genotyper. For eksempel finnes fem gB genotyper og fire gN genotyper. Disse glykoproteinene spiller en stor rolle ved binding og opptak av virus i cellen.

Virusreplikasjon

Binding og opptak

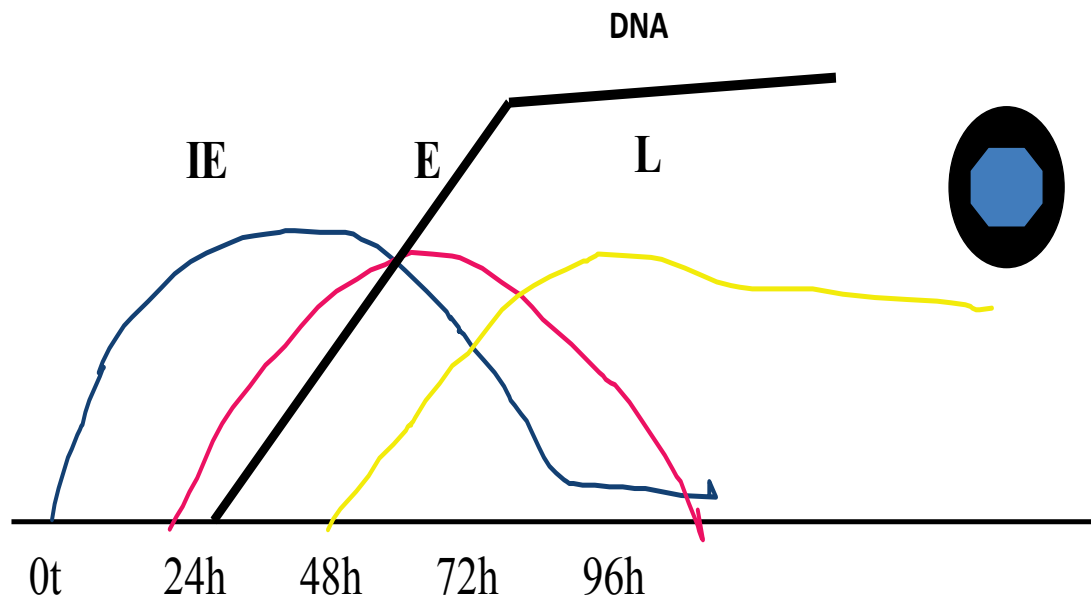
Binding av virus til en celle starter med at gB på viruset binder seg uspesifikt til heparansulfat på overflaten av cellene. Deretter bindes andre virale glykoproteiner (gH/gL/gM/gN) til spesifikke reseptorer som medierer fusjon mellom virusmembran og cellemembran.

Cellereseptorene er ikke klarlagt, men epidermal growth factor receptor og noen α - og β -integriner er gode kandidater. Antagelig er det flere co-reseptorer på cellene som deltar i binding og opptak og reseptortype kan variere fra celletype til celletype.

Ved opptak blir nukleokapsid og tegumentinnhold tømte i cytoplasma. Noen av tegumentproteinene kan bidra til å stoppe cellyklus i G0/G1 og blokkere apoptose. Nukleokapsidet blir fraktet til kjernemembranen der det blir avkledd og virus-DNA blir translokert til cellekjernen. Etter opptak i kjernen blir virus-DNA sirkularisert og helt eller delvis pakket inn i histonproteiner. Det medfører at transkripsjon av gener og replikasjon av DNA skjer på samme måte som for cellulært DNA. Da CMV selv koder for mange av de nødvendige enzymer skjer det et samarbeid mellom virale og cellulære faktorer om transkripsjon og replikasjon.

Produksjon av komplett virus i en celle starter 2-3 døgn etter infeksjon og maksimal virusproduksjon som oppnås etter ca. 4 døgn, varer i mange dager.

Transkripsjon av CMV-DNA forløper i 3 definerte faser: "immediate early" (IE), "early" (E) og "late" (L). IE starter umiddelbart etter infeksjon og blir stimulert av ulike tegumentproteiner. I denne fasen dannes regulatoriske proteiner som orkestrerer den videre transkripsjon av cellulære og virale gener. Det viktigste genet er IE1 (UL122)/IE2 (UL123) som har sterk genregulatorisk aktivitet. Disse genene reguleres av major immediate early promoter enhancer (MIEP) som er en av de sterkeste promoter/enhancere vi kjenner. Aktivering av MIEP er helt sentral i virus replikasjonsaktivitet og i reaktivering av latent virus. I E-fasen som starter ca. 6 timer etter infeksjonen dannes en rekke av de enzymer og proteiner som er nødvendige for virus-DNA-replikasjon, dannelsen av kapsid, regulering av cellyklus og antiapoptose. L-fasen starter ca. 24 timer etter infeksjonen. Her dannes proteiner som er viktige for nukleokapsiddannelsen og egress fra cellen. Når virus DNA pakkes inn i kapsidet fjernes kromatinet fra virus DNA. Når nukleokapsidet er ferdig, frigjøres det fra cellekjernen til cytosol ved knoppskyting fra indre kjernemembran. Deretter blir denne midlertidige membran fjernet, Den nye og endelige membranen får viruset i endoplasmatiske retikulum. Viruset frigjøres ved eksocytose. (Oversikt (6))



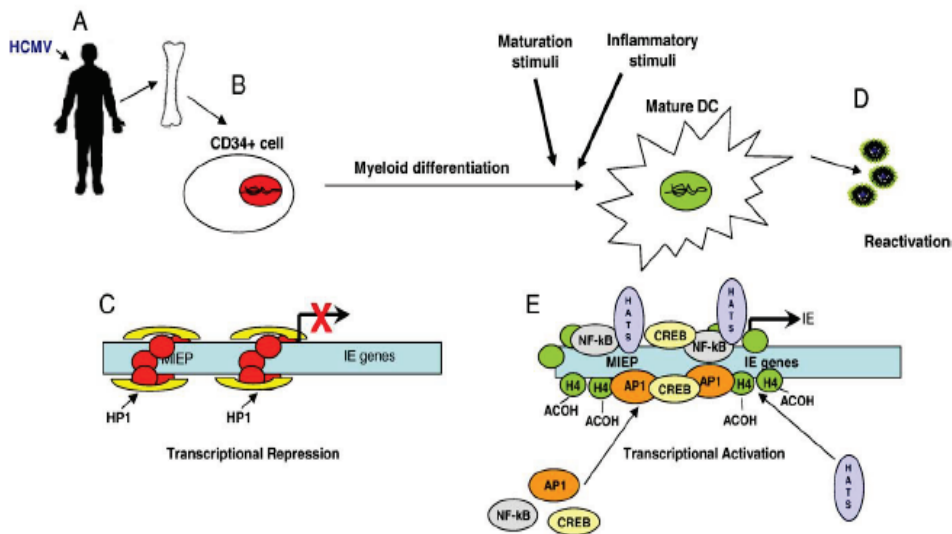
Permissive celler

In vitro kan det være vanskelig å få CMV til å replikere i annet enn fibroblaster og endotelceller, men in vivo kan en påvise CMV-replikasjon i svært mange celletyper. Virus replikasjon er påvist i fibroblaster i de fleste organer, i epitelceller i de fleste kjertler og i epitel i GI-tractus, glatt-muskelceller, vaskulært endotel og neuroner i retina og i CNS. Hos pasienter med nedsatt T-celleimmunitet vil den betydeligste CMV-replikasjonen ofte finne sted i vaskulært endotel.

I noen celler som lymfocytter og granulocytter er virusreplikasjonen semipermissiv. Det vil si at replikasjonen stopper opp et sted før det dannes viruspartikler, ofte i IE-fasen. Semipermissiv infeksjon kan ha betydelige effekt på cellefunksjon.

Latens og reaktivering

J. Sinclair / Biochimica et Biophysica Acta xxx (2009) xxx-xxx



(6,7)

Som de andre virus i herpesgruppen blir CMV etter primærinfeksjon værende latent i kroppen og kan senere reaktiveres.

De eneste celler som man med sikkerhet vet kan inneholde latent CMV er hematopoietiske, CD34+, stamceller. Disse celler har antagelig et overskudd av faktorer som blokker åpning av kromatininnpakkingen av promoter/enhancer til IE1/2 genene (MIEP). Derved blir ikke IE1/2 proteinene produsert og videre aktivering av gener er blokkert. Noen få latensassosierte transkripter blir dannet (7).

CMV-DNA innpakket i kromatin blir værende i den myeloide cellerekke under differensiering og er å finne i dendritiske celler og monocytter. Når disse cellene er endelig differensiert blir en rekke histonaktiverende enzymer produsert, bl. a. histonacetylase. Disse modifierer kromatinet på MIEP slik at det blir tilgjengelig for transkripsjonsfaktorer og IE1/2 proteiner dannet. Noen inflammasjonscytokiner som IL6, IL8 og TNF- α og kan aktivere signalveier i makrofager og dendritiske celler som fører til aktivering av MIEP. Siden makrofager og dendritiske celler finnes i alle organer betyr det et hvert organ kan får en reaktivert CMV-infeksjon (8).

Immunitet mot CMV

Både det medfødte og det ervervede infeksjonsforsvar deltar i kontrollen av CMV-replikasjon.

Interferon- α/β og NK-celler deltar i den tidlige bekjempelse, men spesifikk cellemediert immunrespons overtar etterhvert. Både antallet og aktiviteten til både CD4+ og CD8+ T-celler er viktige for å supprimere infeksjonen(9). Antistoffer mot virusmembranens glykoproteiner gir en viss, men ufullstendig immunitet. Virus kan stadig bli reaktivert, men sykdom er vanligvis mildere enn ved primærinfeksjon. Det gjelder også for immunosupprimerte. Antistoffer mot glykoproteinene gir antagelig en stammespesifikk immunitet. Både hos gravide og hos organtransplanterte har en funnet at svært mange personer er infisert med flere forskjellige CMV-genotyper (10).

Unnvikelse av immunrespons

CMV har en rekke forskjellige strategier for å unnvike både den medfødte og ervervede immunrespons. CMV er vist å kunne blokkere signalveier som induseres når interferon

binder seg til sin reseptor på celleoverflaten. Derved reduseres produksjon av de antivirale proteiner.

CMV har også en strategi for å hindre NK-celle-mediert drap av den infiserte celle.

NK-celler dreper celler som mangler eller har nedregulert MHC-I molekyler på celleoverflaten. CMV hemmer transporten av MHC molekyler til celleoverflaten og skulle derfor være mottagelig for NK-celledrap. Men CMV koder for og produserer noen proteiner (UL18-UL40) som i denne sammenheng fungerer som MHC-I molekyler og hindrer NK-celledrap (9).

CMV kan påvirke antigen presentasjon både via MHC-I og -II.

US3 kan redusere presentasjon av peptider i MHC-II hos antigenpresenterende celler. Videre koder CMV for en rekke proteiner som hindrer dannelsen av MHC-I molekyler, eventuelt lading av peptider i gropa eller transport av MCH-I til membranoverflaten. I sum fører det til at de infiserte cellene til en viss grad er beskyttet mot cytotoxiske CD8+ T-lymfocytter (9). I tillegg produserer CMV en rekke cytokinhomologer og cytokinreseptorer som bidrar til å modulere immunresponsen slik at immununvikelsesmekanismene forsterkes (11).

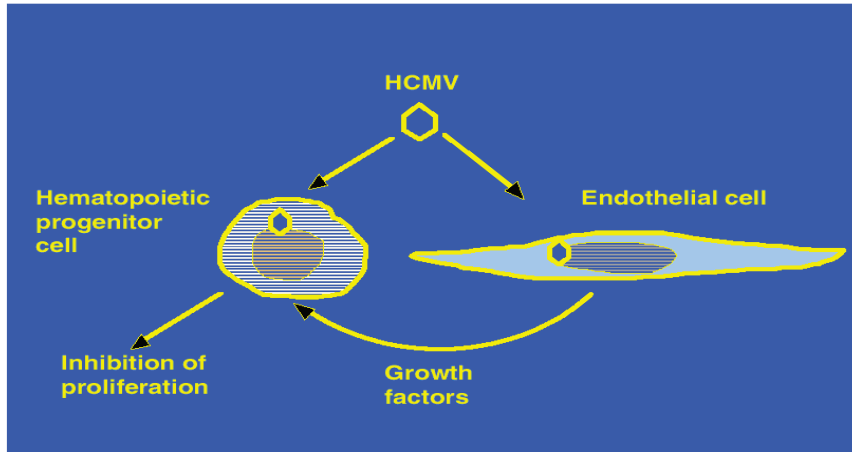
Patogenese

CMV-indusert sykdom er forårsaket av at celler som replikerer virus etterhvert dør, av betennelsesreaksjon og av immunrespons. I den akutte fasen med organmanifestasjoner er virusreplikasjon med celledød som følge, den viktigste patogenetiske faktor. Den umiddelbare respons på antiviral terapi med ganciclovir og korrelasjon mellom mengde virus i blod og sykdom indikerer dette. Videre er det holdepunkter for at mange av de organskader en ser ved intrauterin infeksjon skyldes virusreplikasjon og celledrap.

Infeksjon med CMV fører til en betydelig betennelsesreaksjon. Mange typer celler er infisert og omfatter parenchymceller, fibroblaster og vaskulært endotel. Ved histologisk undersøkelse av infisert vev kan en se ødem, infiltrasjon, betennelsesceller og intravaskulær vaskulitt. Dette kan føre til trombose av små kar som bidrar til nekrose som ved CMV-betingede gastrointestinale ulcerasjoner.

CMV-molekyler reagerer med en rekke reseptorer i det medfødte infeksjonsforsvaret. Blant disse er Toll-like receptors (TLR). Dette fører til produksjon av interferon- α/β og en rekke inflammatoriske chemokiner og cytokiner som inkluderer TNF- α , IL1, IL6, IL8, IL12 og IL18. Disse orkestrerer betennelsesreaksjonen. Det er en korrelasjon mellom en betennelsesmarkør som CRP og grad av CMV-aktivitet. Serumnivå av pentraxin 3, en slektning av CRP, som produseres lokalt i inflammet vev er signifikant økt ved organmanifestasjoner sammenlignet med CMV-syndrom (12).

CMV-infeksjoner er alltid ledsaget av leukopeni og etterhvert en anemi. Dette kan skyldes to mekanismer. 1. CMV-infiserer hematopoietiske stamceller og fører til at disse får en lavere delingshastighet. 2. CMV infiserer og fører til cytolyse av fibroblastlignende støttceller i benmargen. Dermed faller en viktig produsent av hematopoietiske vekstfaktorer bort.



(Sindre, H. Thesis 2000)

Den langsiktige effekten av CMV er mer uforklarlig. Primærinfeksjon hos immunfriske pasienter kan føre til langvarig fatigue. Hos nyretransplanterte pasienter kan konsekvensene av en CMV-infeksjon (primær eller reaktivert) vedvare i mange år. I lang tid etter Tx har slike pasienter økt risiko for tap av nyre, økt risiko for diabetes og økt mortalitet (13).

Et spesielt problem utgjør CMV hos svært gamle personer. Det har vist seg at CMV-IgG positive personer over 65 år har signifikant kortere levetid enn CMV-IgG negative. Økt forekomst av kardiovaskulær sykdom hos CMV-IgG positive kan være en av faktorene. CMV-betinget lavgradig inflammasjon kan være en mekanisme. Hos eldre mennesker kan mer enn 10% av hukommelses-T-cellene være rettet mot et CMV-antigen (14).

Konklusjon

CMV tilhører herpesvirusfamilien og vil som de andre herpesvirus bli latent i kroppen etter primærinfeksjon. Stedet for latens er de hematopoietiske stamceller. Genomet er på ca 235 kb og består av en lang unik del (UL) og en kort unik del (US). Genene får betegnelse etter hvor på genomet de sitter (eks UL82, US3) Immuniteten mot CMV er dårlig slik at det ikke er uvanlig at personer er bærere av flere stammer. Patogenesen er knyttet til virusmediert celledrap, betennelsesreaksjon og sannsynligvis immunbetinget celledrap. CMV gir alvorlig sykdom først og fremst ved infeksjon i forsterlivet og ved infeksjon hos immunsupprimerte pasienter.

Reference List

1. 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: 443-457.
2. Skar AG, Hoddevik G. Prevalence of cytomegalovirus antibodies in Norwegian kidney-transplant recipients and their living donors. A comparative study of two different methods. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand B 1984;92: 1-5.
3. Rollag H, Petersen G, Aars H, Siebke JC. [Venereal diseases in homosexual men]. Tidsskr Nor Laegeforen 1984;104: 2083-2086.
4. Cox B, Richardson A, Graham P, Gislefoss RE, Jellum E, Rollag H. Breast cancer, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus: a nested case-control study. Br J Cancer 2010;102: 1665-1669.

5. Soderberg-Naucler C, Rahbar A, Stragliotto G. Survival in patients with glioblastoma receiving valganciclovir. *N Engl J Med* 2013;369: 985-986.
6. Tandon R, Mocarski ES. Viral and host control of cytomegalovirus maturation. *Trends Microbiol* 2012;20: 392-401.
7. Sinclair J. Chromatin structure regulates human cytomegalovirus gene expression during latency, reactivation and lytic infection. *Biochim Biophys Acta* 2009.
8. Reeves M, Sinclair J. Aspects of human cytomegalovirus latency and reactivation. *Curr Top Microbiol Immunol* 2008;325: 297-313.
9. Noriega V, Redmann V, Gardner T, Tortorella D. Diverse immune evasion strategies by human cytomegalovirus. *Immunol Res* 2012;54: 140-151.
10. Manuel O, Asberg A, Pang X et al. Impact of genetic polymorphisms in cytomegalovirus glycoprotein B on outcomes in solid-organ transplant recipients with cytomegalovirus disease. *Clin Infect Dis* 2009;49: 1160-1166.
11. McSharry BP, Avdic S, Slobedman B. Human cytomegalovirus encoded homologs of cytokines, chemokines and their receptors: roles in immunomodulation. *Viruses* 2012;4: 2448-2470.
12. Rollag H, Asberg A, Ueland T et al. Treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients: markers of inflammation as predictors of outcome. *Transplantation* 2012;94: 1060-1065.
13. Sagedal S, Hartmann A, Nordal KP et al. Impact of early cytomegalovirus infection and disease on long-term recipient and kidney graft survival. *Kidney Int* 2004;66: 329-337.
14. Pawelec G, McElhaney JE, Aiello AE, Derhovanessian E. The impact of CMV infection on survival in older humans. *Curr Opin Immunol* 2012;24: 507-511.

CMV-diagnostikk. Antistofftester

Når er antistoffpåvisning indisert?

Immunstatus

Sykdomsdiagnostikk

Aktuelle analyser

IgG, IgG aviditetsmåling, IgG immunoblot, IgM

IgG- og IgM-tester :

Følgende brukes i Norge:

Architect CMV IgG, CMV IgM

VIDAS CMV IgG, CMV IgM

AxSYM CMV IgG, CMV IgM

Enzygnost Anti-CMV/IgG, Anti-CMV/IgM

CMV IgM, ELA Test (Medac)

CMV IgG (Novatech)

CMV IgG (Immulate 2000), CMV IgM (Immulate 2000) (1)

Andre tilgjengelige IgG- og IgM-tester:

Biotest recomb CMV IgG

CMV IgG Roche Elecsys, CMV IgM Roche Elecsys

ETI-CYTOK-M, ETI-CYTOK-G

Liaison CMV IgG, CMV IgM

Hvilke antigener brukes i IgG/IgM-testene?

Virus lysat, rensset antigen, rekombinant antigen, blanding av disse. Mest brukt er stamme AD 169 for lysat og rensset antigen

To studier vedrørende sammenligning av tester: En studie sammenlignet Abbott Architect chemiluminescent mikropartikkel immunoassay (CMIA) med Biotest enzymimmunoassay (EIA), og fant at CMIA hadde høyere sensitivitet, spesifisitet, negativ og positiv prediktiv verdi enn EIA (2). En annen studie sammenlignet Roche Elecsys CMV IgG og IgM med en rekke andre CMIA- og EIA-tester, og fant god overensstemmelse, og at Elecsys hadde høyere spesifisitet i sin IgM-test i prøver med kryssreagerende faktorer og prøver med persisterende IgM (3)

Aviditet = IgG-antistoffenes bindingsstyrke/"modenhet". Brukes til tidfesting av infeksjonen. Hovedregel er at gamle antistoffer er modne antistoffer. Gamle, modne antistoffer har høy bindingsstyrke, dvs. høy aviditet. Nye, umodne antistoffer har lav aviditet. Vanligst brukt er ureabehandling for å teste bindingsstyrken i antigen-antistoff komplekset. Prinsipp: Hver serumprøve tilsettes i to parallelle brønner. Etter binding av antistoff til antigen på brønnveggen vaskes den ene brønningen med urea, den andre med buffer. Urea vil løse opp de lav-avide antistoffbindingene. Mengden gjenværende bundet antistoff i de to brønnene sammenlignes. Ved lav aviditet er det lite bundet antistoff igjen i den ureabehandlede brønningen. Aviditetsindeks er forholdet mellom gjenværende antistoffmengde i de to brønnene. Angis i prosent eller som index-verdi. De ulike testene kan angi ulike verdier for hva som er

lav og høy aviditet. Det finnes også tester som benytter CMV-antigen i løsning for å nøytralisere de høy-avide antistoffene (4)

Tilgjengelige tester:

Vidas BioMérieux

Radim Pomezia

Euroimmun

Platelia BioRad

Architect

Liaison

Lagrou et al har sammenlignet den nye aviditetstesten fra Architect med VIDAS og Enzygnost, og fant Architect-testen meget tilfredsstillende, og de fant ingen prøver med falskt høy aviditet første tre måneder etter infeksjon (4) Lav aviditet = ”positiv prøve”. I sin vurdering av testen vektlegger de: ingen prøver med falskt høy aviditet, dvs. høy positiv prediktiv verdi (PPV).

Vauloup-Fellous et al har sammenlignet VIDAS, Liaison og Architect, og konkluderer med at VIDAS er den best egnede testen uten noen falskt høy aviditet (i motsetning til Liaison og Architect i deres studie), og som mest nøyaktig speiler IgG modningsmønsteret. De anbefaler også bruk av andre cut off-verdier med mindre gråsoner enn hva produsenten angir, for å redusere antall prøver i gråsonen (5) Lav aviditet = ”positiv prøve”. Høy aviditet = ”negativ prøve”. De vektlegger: ingen prøver (i VIDAS) har falskt høy aviditet, altså høy PPV. De vektlegger også IgG modningsmønster, og at Architect her har flere falskt ”negative prøver”, dvs. lav negativ prediktiv verdi (NPV).

Leruez-Ville et al sammenligner Liaison og VIDAS i en retrospektiv studie med endepunkt smitte til fosteret, og finner at Liaison er den beste testen for å utelukke infeksjon siste tre måneder ved positiv IgM hos gravide (6). Hos gravide med lav eller grenseverdi aviditet synes begge tester likeverdige (6). Her vektlegges høy NPV

Jeg synes særlig et av V-F’s materialer er tillitvekkende: 135 prøver fra 31 voksne personer, hvorav 12 menn, 10 gravide kvinner, og 9 ikke-gravide kvinner. Prøvene var primær- og oppfølgingsprøver ved sikker CMV-infeksjon med IgG serokonversjon. Men laboratorier som ønsker å utføre aviditetstesting, anbefales å evaluere testen selv (8).

Immunoblot differensierer IgG mot ulike strukturelle og non-strukturelle antigener. Mønsteret endres i løpet av ukene/månedene etter primærinfeksjon, og brukes til tidfesting av infeksjonen

Tilgjengelige tester:

RecomBlot Microgen

Påviser antistoffer mot IE1, p150, CM2, p65, gB1, gB2

Gråsoner: Verdier som rapporteres til rekvirent som gråsoneverdi angir at resultatet befinner seg i usikkerhetsområdet på hver side av cut off-verdi, og ikke kan tolkes som verken positivt eller negativt analysesvar. Størrelsen på dette området gjenspeiles av analysens variasjonskoeffisient (VK %). Det benyttes enten sertifisert referansemateriale eller annet kit-uavhengig kontrollmateriale som gir et mål på størrelsen av usikkerhetsområdet.

Referansematerialet analyseres vanligvis 30 ganger i ulike oppsett, og VK % regnes ut ved hjelp av en formel. Det anbefales å bruke en test med høy presisjon, dvs lav VK %.

Indikasjoner for analysene

IgG/M ved sykdomsutredning hos seronegative immunkompetente personer. Pga. sen serokonversjon uegnet som eneste diagnostikk hos immunkompromitterte. Tilleggsanalyse PCR hos immunkompromitterte nødvendig.

IgG immunstatus hos givere og mottakere av organer og benmarg, og før immunsupprimerende behandling.

Aviditet for å skille mellom tidligere eller ny infeksjon.

IgG immunoblot for å skille mellom tidligere eller ny infeksjon.

Aviditet og immunoblot anses indisert særlig ved sykdomsutredning i graviditet. (7), (8)

Screening av gravide uten symptomer er foreløpig ikke anbefalt hverken i Europa eller USA. Det pågår studier for å undersøke om tilførsel av spesifikt immunglobulin til mor kan hindre intrauterin smitte (8).

Tolkning av resultatene

Tabell med kombinasjoner av IgG og IgM og tolkning. Alle resultater må tolkes i sammenheng med kliniske opplysninger

IgG	IgM	Tolkning
+	+	Sannsynlig aktuell eller nylig gjennomgått primærinfeksjon eller reaktivering Mulig uspesifikk IgM-reaksjon
+	-	Tidligere gjennomgått infeksjon
-	+	Mulig primærinfeksjon i tidlig fase Mulig uspesifikk reaksjon Innhent ny prøve
-	-	Ikke tidligere infisert Mottagelig for infeksjon Utelukker ikke infeksjon i inkubasjonsfase eller infeksjon før serokonversjon kan påvises

Når kan serokonversjon påvises? Hos immunkompetente sees IgM-respons alene etter 0-2 uker, IgM og IgG-respons etter 1-3 uker (8). Etter transplantasjon (tx) og påfølgende primærinfeksjon kan det gå mange uker før serokonversjon kan påvises, beskrevet opptil 131 dager for IgG. De fleste tx-pasienter serokonverterer innen 50 dager etter infeksjonen (9).

Tolkning av aviditetsresultater: Hovedregel er at det er lav aviditet de første ukene etter primærinfeksjon, og at høy aviditet kan påvises etter ca. 112-140 dager (16-20 uker). (10). Ved bruk av aviditetstest vil høy IgG-aviditet sammen med positiv IgM tilsa at infeksjonen har funnet sted for 3 måneder siden eller mer. Gråsone- og lav aviditet kan være vanskelige å tolke.

Enders et al undersøkte gravide, og angir PPV 98.2 % for at aviditet <20 % betyr infeksjon siste 12 uker, og intermediær aviditet (40-55 %) utelukket primærinfeksjon siste 12 uker med NPV 88.2 %. Mulig at gravide oftere enn andre viser forsinket modning av antistoffene: de fant at 20-40 uker etter primærinfeksjon hadde (kun) 57.1 % av seraene høy aviditet. Andelen sera med høy aviditet økte til 91 % ved testing etter mer enn 40 uker. Sensitivitet og

spesifisitet varierer mellom de ulike testene, og hver lab som anvender aviditetstesting anbefales å evaluere testen selv (8).

Betydelig forsinket utvikling av høy aviditet sees også ofte etter tx. Etter lunge-tx hadde 7 av 14 pasienter fremdeles lav aviditet på dag 1000, og det ble beskrevet lav aviditet hos noen i 5 år (9)

Og ikke bare hos immunkompromitterte: persisterende lav aviditet i flere år kan forekomme også hos immunkompetente (7), (11).

Det frarådes aviditetsmåling ved negativ IgM (7).

Tolkning av immunoblot: Immunoblotanalyse angis å ha PPV på 100 % for primærinfeksjon siste 6-8 uker, og 96.9 % siste 14 uker. Men analysen kan være upålitelig og mangle

”karakteristisk mønster” selv om prøve er tatt mer enn 24 uker etter primærinfeksjon (8)

Antistoffer mot gB er nøytraliserende antistoffer (12), (11) Antistoffer mot gB2 kan vanligvis påvises fra 42-56 dager etter primærinfeksjonen, men kan hos såkalte gB non respondere være fraværende i lang tid (8)

Eksempler på antistoffmønstre hos fjorten friske blodgivere med primærinfeksjon, intervall mellom seronegativ og første seropositive prøve 46 dager – 273 dager:

Hvor lenge er IgM positiv? Fremdeles 84 – 356 dager etter første seropositive prøve

Hvor lenge er det lav aviditet? I det samme materialet 70 – 212 dager etter første seropositive prøve

IgG mot pp65 og p52 ble påvist hos alle i første seropositive blodprøve

IgG mot membran glykoprotein gB2 ble påvist sent i forløpet, gjennomsnittlig 67.2 dager etter første seropositive prøve

IgG kan være positiv før IgM

DNA-nivå i blod avtok signifikant til lave nivåer *samtidig med* at IgG mot gB kunne påvises

DNA i hvite blodlegemer (WBC) ikke påvisbart når IgM ble negativ og aviditeten ble høy

Hos ett individ med høy aviditet og negativ IgM påvist meget lavt nivå DNA i plasma

Bør blodgivere ha karantene ca ett år etter primær CMV-infeksjon?

Alle disse: (11)

Falskt positiv IgM:

IgM ved EBV primærinfeksjon – skyldes IgM reaktivering eller polyklonal B-cellestimulering Miendje et al mener både og (13)

IgM falskt positiv hos pasienter med autoimmune tilstander: mulige forklaringer er uspesifikk polyklonal B-cellestimulering pga. dysregulering av immunsystemet, og/eller tilstedeværelse av autoantistoffer som interfererer i testene (14)

IgM falskt positiv hos gravide med autoimmune tilstander korrelerer med utfall av graviditet, som prematur fødsel, intrauterin vekstretardasjon og lavere fødselsvekt. Positiv IgM ble vurdert som falskt positiv når CMV dyrkning og PCR i urin, vaginalprøver, halsprøver og amnionvæske samtidig var negativ (14)

Reaktivering:

Reaktivering kan skje i kjølvannet av annen sykdom.

Reaktivering kan skje med eller uten IgM (15).

Tolkning av IgG-resultater i donor- og resipientssammenheng – hvordan tolkes svakt positive og gråsone IgG? Aktuell merknad til donorprøve: Som donor bør vedkommende betraktes som IgG positiv. Aktuelle merknader til resipientprøve: Kan dette være passivt tilført? Som resipient bør vedkommende betraktes som IgG negativ.

Anbefalinger:

CMV IgG for immunstatus. Gråsoneverdier og svakt positive tolkes forskjellig hos donor og resipient.

CMV IgG og IgM for sykdomsdiagnostikk hos immunkompetente med mistenkt eller antatt primærinfeksjon.

CMV IgG aviditetsmåling anbefales først og fremst for tidfesting av infeksjon ved sykdomsutredning og positiv IgM hos gravide.

Laboratorier som utfører aviditetsmåling anbefales å evaluere testen de vil bruke, og å delta i sammenlignende laboratorieprøving (SLP, ringtester).

Screening av gravide mhp. CMV serostatus anbefales ikke.

Referanselaboratorium bør ha to CMV IgM-tester.

Referanser:

1. Metodekatalog. Juli 2013. <http://mikrobiologi.fhi.no> (mikinfo)
2. Juhl et al Comparison of the two fully automated anti-HCMV IgG assays: Abbott Architect CMV IgG assay and Biotest anti-HCMV recombinant IgG ELISA Transfus Med 2013
3. Revello et al Clinical evaluation of new automated cytomegalovirus IgM and IgG assays for the Elecsys analyser platform Eur J Microbiol Infect Dis 2012
4. Lagrou et al Evaluation of the new Architect cytomegalovirus immunoglobuline M (IgM), IgG, and IgG avidity assays J Clin Microbiol 2009
5. Vauloup-Fellous et al Re-evaluation of the VIDAS cytomegalovirus (CMV) avidity assay: Determination of new cut-off values based on the study of kinetics of CMV IgG maturation J Clin Virol 2013
6. Leruez-Ville et al Prediction of fetal infection in cases with cytomegalovirus immunoglobulin M in the first trimester of pregnancy: A retrospective cohort Clin Inf Dis 2013
7. Maine et al Kinetics of CMV seroconversion in a Swiss pregnant women population Diagn Microbiol Infect Dis 2012
8. Enders et al The value of CMV IgG avidity and immunoblot for timing the onset of primary CMV infection in pregnancy J Clin Virol 2013
9. Kerschner et al Seroconversion and avidity maturation of cytomegalovirus-specific IgG in D+/R- lung transplant patients receiving different prophylactic anti-viral regimens J Heart Lung Transplant 2012
10. Richman, Whitley, Hayden Clinical Virology Second Edition
11. Ziemann et al The natural course of primary cytomegalovirus infection in blood donors Vox Sang 2010
12. Pass et al Vaccine prevention of maternal cytomegalovirus infection N Engl J Med 2009
13. Miendje et al False-positive IgM antibody tests for cytomegalovirus in patients with acute Epstein-Barr virus infection Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000
14. Carolis et al False-positive IgM for CMV in pregnant women with autoimmune disease: a novel prognostic factor for poor pregnancy outcome Lupus 2010
15. Pass et al Antibody response to cytomegalovirus after renal transplantation comparison of patients with primary and recurrent infections J Inf Dis 1983

Erfaring med CMV-IgG aviditetstester

Indikasjoner

CMV aviditetsanalyse er en tilleggsanalyse ved positiv anti-CMV-IgM og anti-CMV IgG. Hensikten med analysen er å skille infeksjoner forårsaket av nysmitte fra reaktiveringer. Dette kan være av betydning rent diagnostisk hos immunsvekkede og i svangerskap.

Bakgrunn

60-85% av 18-åringer har gjennomgått en CMV-infeksjon, de fleste i førskolealder. Mange gjennomgår en asymptomatisk infeksjon. Etter primærinfeksjonen ligger viruset latent i kroppen. Ny CMV-sykdom kan oppstå enten ved ny smitte med en ny CMV-stamme eller ved ny aktivitet av "eget", latent virus. CMV-infeksjon kjennetegnes av langtrukken feber, tretthet, sår hals og økte leverenzymer.

Ved CMV-infeksjon hos gravide kan infeksjonen overføres til foster med risiko for fosterskade (kongenitt CMV-infeksjon). Fosterskade kan oppstå selv ved symptomfri infeksjon hos mor. Fosterskaden er størst ved en primær CMV-infeksjon tidlig i svangerskapet. De fleste fostrene (80%) får ingen skader. De øvrige kan få psykisk eller fysisk funksjonshemning, nedsatt hørsel, kronisk leversykdom eller dør av alvorlige defekter. Dersom CMV IgM er positiv under graviditet, skal kvinnen henvises til sykehus. CMV er følsom for enkelte antivirale midler.

CMV kan gi alvorlig infeksjon ved svekket immunforsvar (som ved HIV-infeksjon, cellegiftbehandling eller organtransplantasjon). En rekke organer kan rammes: lunger, øyne, mage, tarm og lever. CMV-diagnostikk ved denne problemstillingen utføres ved spesiallaboratorium. Alvorlig CMV-infeksjon behandles med antivirale midler.

Tolkning

CMV-IgM	CMV-IgG	CMV-IgG aviditet	Klinisk situasjon
Negativ	Negativ		Ikke tidligere CMV-infeksjon. Ikke beskyttet mot primærinfeksjon.
Positiv	Negativ		Tidlig primær CMV-infeksjon eller uspesifikk reaktiv CMV-IgM. Evt. kontrollprøve.
Positiv	Positiv	Negativ	Aktuell/nylig sekundær CMV-infeksjon er mulig. Funnet må samholdes med annen klinisk informasjon.
Positiv	Positiv	Positiv	Aktuell/nylig primær CMV-infeksjon.
Negativ	Positiv		Tidligere gjennomgått CMV-infeksjon.

CMV-IgM:

Positiv CMV-IgM ses ved:

1. Aktuell eller nylig primær CMV-infeksjon.
2. Reaktivering av latent CMV-virus. Gir ikke alltid sykdom.
3. Aktuell eller nylig CMV-infeksjon med en annen CMV-stamme.
4. Falskt positiv test. F.eks. er Epstein-Barr virus (EBV) en potent B-cellestimulator. EBV-infeksjoner kan derfor gi falskt positiv CMV-IgM.

CMV-IgG:

Positiv CMV-IgG forteller at pasienten tidligere har vært infisert med CMV men tidspunktet kan ikke fastsettes.

CMV-IgG aviditet:

Analysen måler IgG-antistoffenes modenhet. Når en person blir infisert med CMV for første gang, produserer kroppen IgG med lav aviditet (bindingsevne). Etter 2-4 måneder lages IgG med høy aviditet. Lav CMV-IgG aviditet (positiv test) ses derfor ved en primær CMV-infeksjon. Positive funn er usikre hos personer som har fått blod- eller blodprodukter siste måneder.

Erfaringer fra AHUS

CMV aviditetsanalyser har vært utført på AHUS siden tidlig 1990-tallet. Det utføres nå i 2013 4-5 CMV-aviditetsanalyser pr. uke på vårt laboratorium. Prøver mottas fra hele landet. Vidas CMV-IgG aviditetstest ble brukt.

Påvisning av cytomegalovirus ved PCR

Cytomegalovirus (CMV) infeksjoner hos immunkompetente personer medfører sjelden alvorlig sykdom, men kan gi livstruende infeksjoner hos pasienter som er immunsupprimert eller har nedsatt immunforsvar av annen årsak.

Prøvemateriale

Valg av prøvemateriale vil i stor grad være bestemt ut fra kliniske symptomer. Hos nyfødte med mistanke om medfødt infeksjon er det først og fremst blod og urin som er de viktigste prøvematerialene. Det er utviklet tester for påvisning av CMV-DNA på filterpapir, men EDTA-blod og urin fra samlepose er å foretrekke på grunn av varierende sensitivitet med ekstraksjon av DNA fra filterpapir (1). Halsprøver fra nyfødte er upålitelige da de ofte er kontaminert med CMV fra morens brystmelk.

For å påvise en viremi er EDTA-blod å foretrekke. Man kan enten ekstrahere fra helblod, plasma eller fra hvite blodlegemer. Det siste alternativet er ressurskrevende hvis man skal gjøre kvantitative målinger og er lite brukt i rutinediagnostikken. De fleste benytter helblod eller plasma for kvantitative målinger. Ekstraksjon fra helblod gir litt høyere sensitivitet enn plasma uten at det er vist å gi signifikante kliniske gevinster (2).

Annet prøvemateriale som kan være aktuelt er fostervann, placenta, øyekammervæske, nasofarynksprøver, bronkialaspirat, spinalvæske og biopsier fra forskjellige organer. Noen forfattere hevder at kvantitative undersøkelser av CMV-DNA i fæcesprøver kan være et godt non-invasivt alternativ til colonbiopsier ved mistenkt CMV-kolitt, men mangel på standardisering og varierende erfaringer taler mot bruk av denne metoden i rutinediagnostikken (3).

DNA-ekstraksjon

De fleste rutinelaboratoriene bruker automatisert DNA-ekstraksjon av prøvene som skal til CMV-PCR. Det finnes flere kommersielle systemer til denne type ekstraksjoner, og effektiviteten kan variere noe mellom ulike systemer (1). Det er også ulike protokoller for forbehandlingen av noen av prøvematerialene (f.eks. biopsier) som kan ha innflytelse på effektiviteten. I tillegg vil ekstraksjonsvolum og elueringsvolum ha innvirkning på sensitiviteten. Også valg av oligonukleotider, polymerase og PCR-miks kan ha innvirkning på sensitiviteten.

PCR-metoder

Real-time PCR er den mest brukte metoden til både kvalitative og kvantitative analyser. De fleste kommersielle og egenproduserte testene benytter TaqMan prober, men FRET-prober og andre deteksjonsmetoder er også i bruk. Real-time PCR er meget velegnet til kvantitative analyser da den er rask, enkel å utføre, krever bare en fortykning og har et meget stort dynamisk måleområde (4). Virusmengden angis oftest i kopier eller genekvivalenter/ml eller i internasjonale enheter (IU)/ ml. For å standardisere ulike kvantitative testmetoder anbefales det å angi virusmengden i IU/ml kalibrert etter WHO-standarden (5).

Indikasjoner og tolkning av resultater

Kvalitativ PCR kan være indisert ved mistanke om primærinfeksjoner der serologien er inkonklusiv. Dette gjelder også for diagnostikk av reaktiverede infeksjoner hvor antistofftestene ofte kommer til kort.

Kvantitative analyser er først og fremst indisert for å følge forløpet av systemiske infeksjoner hos immunsupprimerte pasienter, og eventuell behandlingseffekt (6). Resultatene må imidlertid vurderes over tid og med forsiktighet da presisjonen og den biologiske variasjonen i virusmengde kan medføre tolkningsproblemer. Det anbefales å bruke samme test og prøvemateriale til oppfølging av kvantitative analyser hos pasienten over tid.

Sekvensering av PCR-produkter fra egnede genområder brukes også til påvisning av kjente mutasjoner som gir nedsatt følsomhet for antivirale midler (6).

Aktuelle problemstillinger

Man kan ha en aktiv CMV-produksjon i ulike organer (f.eks. nyrer og lunger) uten at CMV-DNA er påvisbart i blod. Ved mistanke om intrauterin infeksjon er fostervann å foretrekke for påvisning av CMV (7). Barn med medfødt CMV-infeksjon kan være asymptomatiske og skille ut CMV i urinen i flere år uten å være behandlingstrengende. De fleste seropositive mødre skiller ut CMV i morsmelken etter fødselen uten at CMV kan påvises i verken blod eller urin. Premature barn er spesielt utsatt for alvorlige CMV-infeksjoner. Enkelte forskere anbefaler derfor varmebehandling av morsmelk fra seropositive mødre som har født lenge før termin for å forhindre smitteoverføring (8). Organer fra seropositive donorer kan gi alvorlige CMV-infeksjoner hos mottakere, spesielt hvis de i utgangspunktet er seronegative (6).

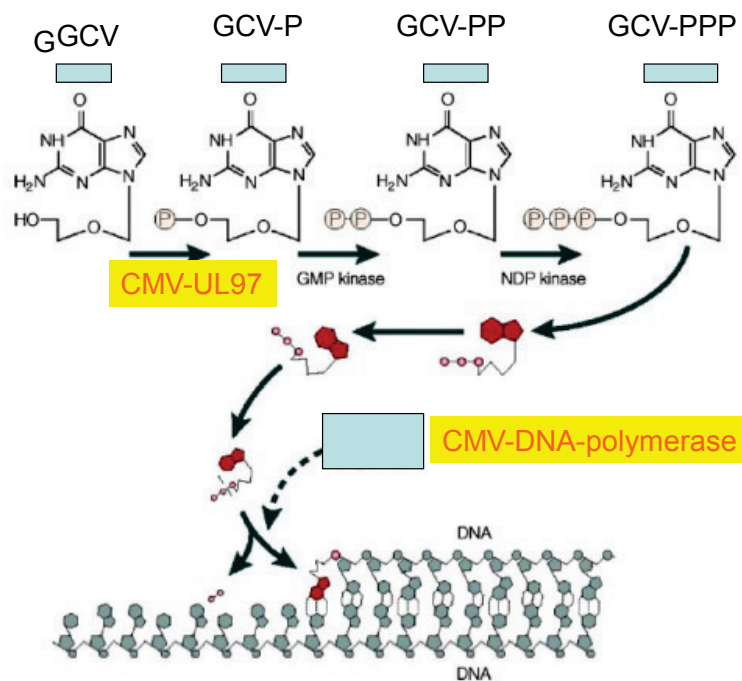
Referanser:

1. de Vries JJC, Claas ECJ, Kroes ACM, Vossen Gulley ACTM. Evaluation of DNA extraction methods for dried blood spots in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Virol* 2009; 46S: S37–S42.
2. Lisboa LF, Åsberg A, Kumar D, Pang X, Hartmann A, Preiksaitis JK, Pescovitz MD, Rollag H, Jardine AG, Humar A. The clinical utility of whole blood versus plasma cytomegalovirus viral load assays for monitoring therapeutic response. *Transplantation*. 2011; 91: 231-6.
3. Herfarth HH, Long MD, Rubinas TC, Sandridge M, Miller MB. Evaluation of a non-invasive method to detect cytomegalovirus (CMV)-DNA in stool samples of patients with inflammatory bowel disease (IBD): a pilot study. *Dig Dis Sci*. 2010; 55: 1053-8
4. Pang XL, Chui L, Fenton J, LeBlanc B, Preiksaitis JK. Comparison of LightCycler-Based PCR, COBAS Amplicor CMV Monitor, and pp65 Antigenemia Assays for Quantitative measurement of Cytomegalovirus Viral Load in Peripheral Blood Specimens from Patients after Solid Organ Transplantation. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3167–3174.
5. Razonable RR, Åsberg A, Rollag H, Duncan J, Boisvert D, Yao JD, Caliendo AM, Humar A, Do TD. Virologic Suppression Measured by a Cytomegalovirus (CMV) DNA Test Calibrated to the World Health Organization International Standard Is Predictive of CMV Disease Resolution in Transplant Recipients. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 1546-53.
6. Drew WL. Laboratory diagnosis of cytomegalovirus infection and disease in immunocompromised patients. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20:408–411.
7. Lazzarotto T, Guerra B, Lanari M, Gabrielli L, Landini MP. New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Virol* 2008; 41. 192–197.
8. Hamprecht K, Maschmann J, Jahna G, Poets CF, Goelz R. Cytomegalovirus transmission to preterm infants during lactation. *J Clin Virol* 2008; 41: 198–205.

Resistesbestemmelse av cytomegalovirus.

Aktuelle midler

Ganciclovir (GCV) er det mest brukte antivirale middel ved behandling av CMV-infeksjoner og -sykdom. GCV må gis som infusjon. Det finnes også som en valinester, ”prodrug”, valganciclovir”, som kan gis peroralt. Like etter opptak fra tarmen blir valinsyren spaltet fra og GCV blir frigjort slik at biotilgjengeligheten er 60-70 %. GCV er en guaninanalogue og fungerer som en DNA-kjedeterminator. GCV blir aktivert i CMV-infiserte celler ved at CMV-UL97-proteinet monofosforylerer GCV. Deretter skjer di- og tri-fosforylering ved hjelp av cellulære enzymer. CMV har en egen DNA-polymerase (UL54) som aksepterer GCV-trifosfat og setter det inn i den voksende virus-DNA-kjeden. Resistens kan oppstå ved mutasjoner i CMV-UL97 og i CMV-UL54. Hyppigst sees mutasjoner i UL97 (90%).



Foscavir (FOS) er et relativt bredspekteret, antiviralt middel som også hemmer replikasjonen av CMV. Middelet må gis som infusjon. Den antivirale aktiviteten er knyttet til stoffets binding til og hemming av CMV-DNA-polymerase (UL54). Det er liten grad av kryssresistens mellom FOS og GCV/CDV.

Cidefovir (CDV) er en cytidinanalogue som har en fosforsyregruppe (nukleotidanalogue). CDV skal derfor ikke fosforyleres av UL97. CDV er indisert ved behandling av GCV-resistens som skyldes mutasjoner i UL97. Når det gjelder resistensmutasjoner i UL54 (DNA-polymerasen), er det komplett kryssresistens mellom GCV og CDV (For oversikt se referanse (1)).

Genotypisk resistensbestemmelse

Resistensbestemmelse utføres nå genotypisk, dvs. ved PCR-amplifisering og sekvensering av UL97 og UL54 genene direkte fra prøvemateriale. Det kan også gjøres en fenotypisk (plaque reduksjons assay) resistensbestemmelse. Men dette er en svært arbeidskrevende metode som bare brukes for å verifisere om en nyoppdaget multasjon fører til resistensutvikling eventuelt også grad av resistens.

Det forekommer også at en finner blandede populasjoner av følsomme og resistent virus eller to stammer med ulike resistensmutasjoner. Ved blandingsinfeksjoner kreves det at en stamme utgjør minst 20-30 % av samlet CMV-DNA i prøven. Videre er det vist at CMV isolert fra to ulike lokalisasjoner som f. eks blod og tarmbiopsi, ikke behøver å ha likt resistensmønster.

Faktorer som disponerer for resistensutvikling er høy grad av immunsuppresjon slik som tidlig etter organ-Tx, behandling av graft versus-host-reaksjon etter stamcelle-Tx og AIDS. Lav dosering av medikamentet er en viktig risikofaktor for resistensutvikling (2).

Ikke alle resistensmutasjoner fører til samme grad av resistens (Se figurer) (1). Ved mutasjoner som fører til <5x økning i hemmende konsentrasjon kan en øke GCV-dosen til det dobbelte. Ved UL97 mutasjoner som gir >5 økning i hemmende konsentrasjon for GCV bør en skifte til FOS eller CDV.

UL97-resistensmutasjoner

TABLE 8. Ganciclovir resistance levels associated with UL97 genotypes by Fold change in ganciclovir EC50^a

Genotype frequency	5–15×	2–5×	<2×
Most common	M460V/I, H520Q, A594V, L595S, C603W	C592G	
Less common at codons 460, 590–607	M460T, A594G, 595del, ^b 596del, L595F/W, K599T, C603R, C607Y, del(≥3) ^c	A594E/T, E596G, C603S, 600del2, ^b C607F	A591V, N597D, K599E/R, L600I, 600del, ^b T601M, D605E ^d

^a Moderate resistance (5–15×), low-grade resistance (2–5×), or insignificant resistance (<2×).

^b del=in-frame deletion of single codon; del2=deletion of two codons.

^c In-frame deletion of ≥3 codons in the 590–607 range can be assumed to confer moderate ganciclovir resistance, although only a few examples have been phenotyped. Deletion of less than 3 codons may confer varying degrees of ganciclovir resistance.

^d D605E is a baseline sequence polymorphism common in east Asia, unrelated to drug resistance.

UL54 resistensmutasjoner

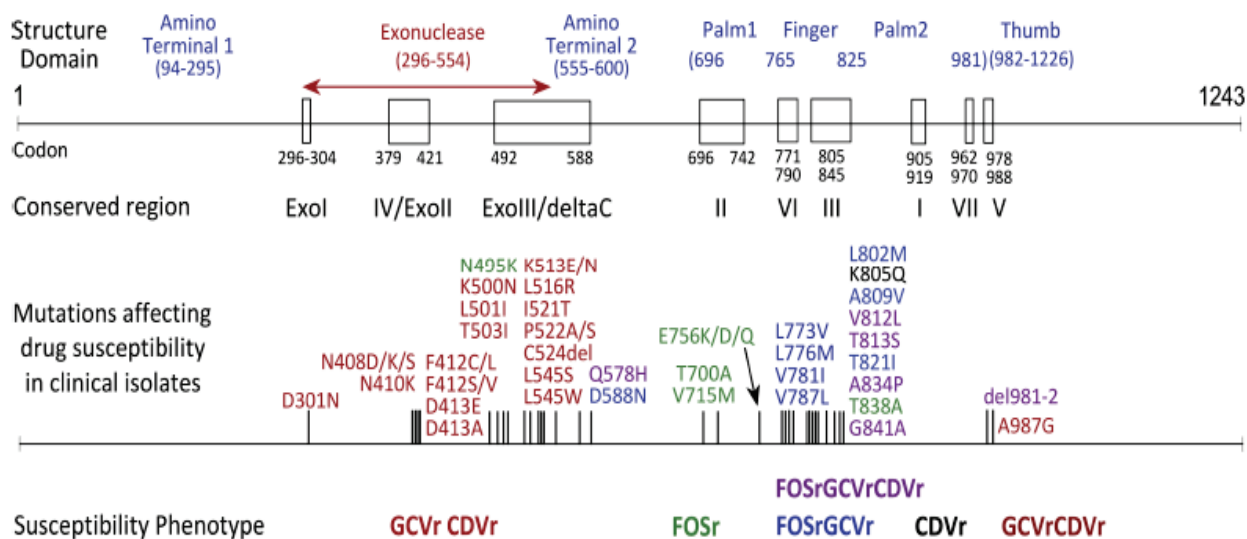


FIGURE 1. CMV UL54 DNA polymerase gene mutation map. Structure domains and regions of amino acid sequence conservation in herpes virus polymerases, where resistance mutations are clustered. Adapted and updated from prior publications (187).

Tabell 8 og Fig 1 (Kotton CN, Transplantation 96:1,2013)(3)

Anbefalinger

Indikasjon for resistensbestemmelse

Langvarig terapivikt dvs. minst to uker på terapeutisk dose av GCV, FOS eller CDV.

Prøvemateriale

Avhengig av infeksjonens lokalisasjon. Vanligst er EDTA-fullblod eller -EDTA-plasma (minst 1000 CMV-DNA-kopier/ml), men urin, bronkialskyllvæske og biopsier er også egnede prøvematerialer. Biopsier inneholder imidlertid ikke alltid nok virus-DNA.

Metode

Det utføres PCR-amplifisering og sekvensering av CMV-UL97 og -UL54. Ved terapivikt på GCV-terapi starter en med analyse av UL97 genet. Sekvensen av genene sammenlignes med standard basesekvens hos UL97 og UL54 genene hos laboratoriestammen CMV-AD169.

Vurdering

Referanse (Lurain and Chou) (1) brukes for å identifisere resistensmutasjoner samt å vurdere grad av resistens.

Rapportering

Resistensmutasjon og antatt grad av resistens angis. Kan eventuelt anbefale doseøkning eller bytte av medikament.

Referanser:

- (1) Lurain NS, Chou S. Antiviral drug resistance of human cytomegalovirus
Clin Microbiol Rev 2010 Oct;23(4):689-712.
- (2) Myhre HA, Haug DD, Kristiansen KI, Rollag H, Leivestad T, Asberg A, et al. Incidence and outcomes of ganciclovir-resistant cytomegalovirus infections in 1244 kidney transplant recipients
Transplantation 2011 Jul 27;92(2):217-23.
- (3) Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, nziger-Isakov L, et al. Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplantation
Transplantation 2013 Jul 31.

Måling av cellemediert immunitet ved CMV-infeksjoner

Betydningen av cellemediert immunitet ved CMV-infeksjoner

Den cellulære immunrespons er av avgjørende betydning for å opprettholde CMV-latens etter primærinfeksjon og forhindre reaktivering av CMV (1). Den cytotoksiske, CD8⁺ T-cellemedierte responsen har vært tillagt størst betydning, men også CD4⁺ T-cellemediert immunitet bidrar til det samlede T-cellesvaret (1). Forsvaret mot CMV-infeksjon hos friske, CMV-seropositive individer legger beslag på en betydelig del av T-celleforsvaret. Ca 10 % av hukommelses T-lymfocytene i blod er rettet mot CMV (2).

Tilstander som fører til svekket cellulær immunitet, som HIV-infeksjon, transplantasjon eller immunosuppressiv behandling, vil ofte føre til reaktivering av CMV – enten i form av asymptomatisk CMV-infeksjon eller CMV-sykdom (3).

Metoder for å måle CMV-spesifikk cellemediert immunitet

Måling av CMV-spesifikk celle-mediert immunitet baserer seg på stimulering av pasientens T-celler med ett eller flere CMV-antigener i cellekultur og påfølgende påvisning av cytokinproduksjon fra de antigen-stimulerte T-cellene (4). Det er påvist en lang rekke immunodominante CMV-epitoper som både CD4⁺- og CD8⁺ T-celler responderer på (2,5).

En del av de viktigste CD8⁺-spesifikke immunodominante epitopene finnes innen virusproteinene UL 83 (pp65; tegumentprotein), UL48 (kapsidprotein), UL32 (pp150; tegumentprotein), UL44 (pp50; DNA polymerase aksessorisk protein), UL55 (gB; membran glykoprotein), UL122 (IE-2; immediate-early protein 2) og UL123 (IE-1; immediate-early protein 1). Disse epitopene presenteres for de CD8⁺ T-cellene av målcellens HLA klasse I molekyler. CMV-spesifikke CD4⁺ T-celler responderer særlig på immunodominante antigener innen UL 83 (pp65), UL55 (gB), UL86 (kapsidprotein), UL75 (gH) og UL122 (IE-2) som presenteres av HLA klasse II molekyler på antigenpresenterende celler.

Siden T-celleresponsen overfor CMV vil være avhengig av individets HLA type, er det en fordel å stimulere med en blanding av immunodominante CMV-peptider som til sammen dekker et bredt utvalg av HLA typer. Peptidene vil bli prosessert og presentert sammen med HLA-molekyler på cellenes overflate. Alternativt kan en bruke CMV-antigener som allerede er koblet til HLA-molekyler (HLA multimere) der disse kompleksene binder seg direkte til T-cellenes reseptorer. Ved denne metoden må en kjenne pasientens HLA type for å stimulere med riktig type HLA multimere (4, 6).

Det finnes ulike teknikker for påvisning av aktiverte T-celler etter CMV antigenstimulering i kultur. De vanligste metodene er flow cytometri med intracellulær cytokinfarging, måling av cytokin(er) i supernatant fra cellekultur eller farging av antigen-stimulerte celler med påfølgende telling av celler i mikroskop eller på annen måte (ELISpot) (4). Som mål på cellulær aktivering påvises oftest interferon-gamma (IFN- γ), men tumornekrosefaktor-alfa (TNF- α) og interleukin-2 (IL-2) har også vært anvendt. Flow cytometri anvendes mye i forskningssammenheng, men metoden er krevende å anvende og standardisere for diagnostisk bruk.

Det foreligger en rekke publikasjoner som viser at bruk av flow cytometri for måling av cellulær CMV-immunitet hos organtransplanterte kan predikere senere CMV-viremi og CMV-sykdom, se referanser i (4).

I løpet av de siste årene er det kommet flere kommersielle, CE-merkede metoder på markedet som er betydelig enklere enn flow cytometri for bruk i diagnostikk. Den best etablerte metoden er QuantiFERON-CMV som leveres av Cellestis, Qiagen (7, 8, 9). Den baserer seg

på stimulering av CD8⁺ T-celler i fullblod med en blanding av CMV peptider (fra pp65, pp50; gB og IE-1) i 16-24 timer med påfølgende måling av IFN- γ i plasma. Flere studier har vist at CMV Quantiferon testen har prognostisk verdi hos transplanterte pasienter mhp. CMV-sykdom etter avsluttet periode med anti-CMV profylakse/behandling (8, 10, 11, 12). En studie gir holdepunkter for at negativ Quantiferon CMV test hos CMV-seropositiv pasient (resipient) før transplantasjon gir betydelig høyere risiko for CMV-viremi etter transplantasjon (13). Monitorering av cellulær immunrespons med Quantiferon CMV testen etter transplantasjon kan også gi informasjon om risiko for CMV-viremi (14).

Det finnes også en ELISpot-metode der mononukleære celler fra blod inkuberes med CMV peptider (fra pp65 og IE-1), T-Track CMV fra Lophius Biosciences, Regensburg, Tyskland (15). De aktiverte T-cellene bindes til en membran via immobilisert anti-IFN- γ antistoff og visualiseres ved hjelp av enzymimmunteknikk slik at cellene kan telles i mikroskop eller på annen måte. Det foreligger ikke publikasjoner som har undersøkt T-Track CMV metoden.

Indikasjoner

Som angitt er det gode data som støtter bruk av måling av cellemediert CMV-immunitet i oppfølging av organtransplanterte pasienter. I en nylig publisert oversiktsartikkel går Kotton og medarbeidere (6) bla. gjennom indikasjon for måling av cellemediert CMV-immunitet ved organtransplantasjon og angir at "Immunologic monitoring can be used as an adjunct tool to predict risk of viremia and disease in the postprophylaxis and preemptive setting".

Det er gjort betydelig færre studier ved stamcelletransplantasjon, men i en publikasjon konkluderes det med at monitorering av cellulær CMV-immunitet kan være nyttig for å predikere reaktivering av CMV (16).

En annen viktig indikasjon er terapivikt ved behandling av CMV-sykdom da bare en mindre andel av disse skyldes resistensutvikling.

For øvrig kan måling av cellulær CMV-immunitet være nyttig der det er vanskelig å avgjøre serologisk CMV-status på grunn av maternelle (17) eller andre passivt overførte antistoffer (18).

Anbefalinger

Måling av cellemediert immunitet ved CMV-infeksjon kan være nyttig i oppfølging av transplanterte pasienter for å predikere CMV-infeksjon og/eller CMV-sykdom og ved terapivikt ved behandling av CMV-sykdom hos transplanterte.

Quantiferon CMV testen er enkel i diagnostisk bruk og er relativt godt dokumentert.

Referanser

1. Jackson,S.E., Mason,G.M., and Wills,M.R. 2011. Human cytomegalovirus immunity and immune evasion. *Virus Res.* **157**:151-160.
2. Sylwester,A.W., Mitchell,B.L., Edgar,J.B., Taormina,C., Pelte,C., Ruchti,F., Sleath,P.R., Grabstein,K.H., Hosken,N.A., Kern,F. et al 2005. Broadly targeted human cytomegalovirus-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cells dominate the memory compartments of exposed subjects. *J. Exp. Med.* **202**:673-685.
3. Britt,W. 2008. Manifestations of Human Cytomegalovirus Infection: Proposed Mechanisms of Acute and Chronic Disease. In *Human Cytomegalovirus*. T.Shenk, and Stinski,M.F., editors. Springer. Heidelberg. 417-470.
4. Egli,A., Humar,A., and Kumar,D. 2012. State-of-the-art monitoring of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity after organ transplant: a primer for the clinician. *Clin. Infect. Dis.* **55**:1678-1689.

5. Wills, M.R., Carmichael A.J., and Sissons J.G.P. 2006. Adaptive Cellular Immunity to Human Cytomegalovirus. In *Cytomegaloviruses. Molecular Biology and Immunology*. Reddehase M.J., editor. Caister Academic Press. 341-365.
6. Kotton, C.N., Kumar, D., Caliendo, A.M., Asberg, A., Chou, S., nziger-Isakov, L., and Humar, A. 2013. Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplantation. *Transplantation*.
7. 2013. Quantiferon-CMV: http://www.cellestis.com/IRM/content/aust/qftproducts_cmv.html.
8. Walker, S., Fazou, C., Crough, T., Holdsworth, R., Kiely, P., Veale, M., Bell, S., Gailbraith, A., McNeil, K., Jones, S. et al 2007. Ex vivo monitoring of human cytomegalovirus-specific CD8⁺ T-cell responses using QuantiFERON-CMV. *Transpl. Infect. Dis.* **9**:165-170.
9. Giulieri, S., and Manuel, O. 2011. QuantiFERON(R)-CMV assay for the assessment of cytomegalovirus cell-mediated immunity. *Expert. Rev. Mol. Diagn.* **11**:17-25.
10. Westall, G.P., Mifsud, N.A., and Kotsimbos, T. 2008. Linking CMV serostatus to episodes of CMV reactivation following lung transplantation by measuring CMV-specific CD8⁺ T-cell immunity. *Am. J. Transplant.* **8**:1749-1754.
11. Manuel, O., Husain, S., Kumar, D., Zayas, C., Mawhorter, S., Levi, M.E., Kalpoe, J., Lisboa, L., Ely, L., Kaul, D.R. et al 2013. Assessment of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity for the prediction of cytomegalovirus disease in high-risk solid-organ transplant recipients: a multicenter cohort study. *Clin. Infect. Dis.* **56**:817-824.
12. Kumar, D., Chernenko, S., Moussa, G., Cobos, I., Manuel, O., Preiksaitis, J., Venkataraman, S., and Humar, A. 2009. Cell-mediated immunity to predict cytomegalovirus disease in high-risk solid organ transplant recipients. *Am. J. Transplant.* **9**:1214-1222.
13. Cantisan, S., Lara, R., Montejo, M., Redel, J., Rodriguez-Benot, A., Gutierrez-Aroca, J., Gonzalez-Padilla, M., Bueno, L., Rivero, A., Solana, R. et al 2013. Pretransplant interferon-gamma secretion by CMV-specific CD8⁺ T cells informs the risk of CMV replication after transplantation. *Am. J. Transplant.* **13**:738-745.
14. Weseslindtner, L., Kerschner, H., Steinacher, D., Nachbagauer, R., Kundi, M., Jaksch, P., Simon, B., Hatos-Agyi, L., Scheed, A., Klepetko, W. et al 2012. Prospective analysis of human cytomegalovirus DNAemia and specific CD8⁺ T cell responses in lung transplant recipients. *Am. J. Transplant.* **12**:2172-2180.
15. 2013. T-Track CMV: <http://www.lophius.de/en/technologies-products/t-track-cmv.php>.
16. Gratama, J.W., Brooimans, R.A., van der, H.B., Sintnicolaas, K., van, D.G., Niesters, H.G., Lowenberg, B., and Cornelissen, J.J. 2008. Monitoring cytomegalovirus IE-1 and pp65-specific CD4⁺ and CD8⁺ T-cell responses after allogeneic stem cell transplantation may identify patients at risk for recurrent CMV reactivations. *Cytometry B Clin. Cytom.* **74**:211-220.

17. Ritter,M., Schmidt,T., Dirks,J., Hennes,P., Juhasz-Boss,I., Solomayer,E.F., Gortner,L., Gartner,B., Rohrer,T., Sester,U. et al 2013. Cytomegalovirus-specific T cells are detectable in early childhood and allow assignment of the infection status in children with passive maternal antibodies. *Eur. J. Immunol.* **43**:1099-1108.
18. Schmidt,T., Ritter,M., Dirks,J., Gartner,B.C., Sester,U., and Sester,M. 2012. Cytomegalovirus-specific T-cell immunity to assign the infection status in individuals with passive immunity: a proof of principle. *J. Clin. Virol.* **54**:272-275.

Patologens rolle ved viruspåvisning og karakterisering av CMV-infeksjon

Innledning

Aktivt replikerende virus kan sees i histologiske snitt, både morfologisk (i Hematoxylin-Eosin fargede snitt) og immunhistokjemisk (ved hjelp av antistoffer mot det angjeldende virus). Patologens rolle er vevs-identifisering eller verifisering av en eventuell virusinfeksjon. CMV-infeksjoner er spesielt klinisk alvorlige i fosterlivet og hos immunkompromitterte pasienter. Transkripsjon av CMV-DNA forløper i 3 definerte faser: ”immediate early” (IE), ”early” (E) og ”late” (L). Fasene kan til en viss grad følges morfologisk i celler infisert med CMV der cellene i L-fasen blir karakteristisk forstørrede med en fremtredende intranukleær basofil inklusjon som inntar ca. halvdelen av kjernediameteren, skilt fra kjernemembranen med en klar halo (”ugle-øyne”). I disse cellenes cytoplasma, men også i IE- og E-fasen før de distinkte kjerneforandringene er synlige, kan små basofile CMV inklusjoner sees i cellenes cytoplasma. Immunhistokjemisk identifiseres CMV både i kjerne og cytoplasma ved positiv immunreaksjon. De affiserte cellene er markant forstørrede, ofte med en diameter på 40µm, og der sees både cellulær og nukleær pleomorfisme.

Disseminert CMV-infeksjon forårsaker fokale nekroser, ofte med minimal inflammatorisk cellulær respons. Andre ganger fører infeksjon med CMV til en betydelig betennelsesreaksjon, med ødem, infiltrasjon av lymfocytter og plasmaceller og vaskulitt. Cellene som oftest infiseres er epiteliale celler i parenchymatøse organer og endokrint vev, nevroner i hjernevev, tubulært epitel og glomerulære endotelceller i nyrer og alveolære makrofager samt epiteliale og endoteliale celler i lungene.

CMV infeksjon i graviditeten

CMV infeksjoner hos mor i graviditeten kan ha ulikt klinisk forløp for fosteret. I 95 % av tilfellene er infeksjonen asymptomatisk. Dersom mor primærinfiseres (og følgelig ikke har beskyttende antistoffer) kan placenta og fosteret utvikle klassisk CMV inklusjon-sykdom (congenitt CMV). Slik infeksjon i tredje trimester kan gi kun sparsomme forandringer mens første trimester infeksjoner kan føre til uttalt, ofte disseminert og fatal sykdom. Barn som overlever og fødes får ofte sekveler som intrauterin vekstrestriksjon, evt. med hepatosplenomegali, encephalitt og anemi og blødning pga. trombocytopeni. I fatale tilfeller er hjerne ofte mindre enn normalt (mikrocephali) og har foci med mikroforkalkninger. Barna som overlever har ofte permanent skade inkludert mental retardasjon, hørselstap, interstitiell pneumonitt, hepatitt eller hematologisk sykdom. En sjelden gang kan en tilsynelatende asymptomatisk infeksjon etter måneder til år vise nevrologiske sekveler som mental retardasjon og døvhhet.

CMV infeksjon hos immunsupprimerte pasienter

Opportunistiske infeksjoner er hovedårsak til død hos ubehandlede AIDS-pasienter. Mange av infeksjonene er reaktivering av latent infeksjon. Introduksjonen av HAART har redusert disse infeksjonene dramatisk (2).

Mottakere av organtransplantater som hjerte, lever og nyre kan få CMV infeksjon fra donororganet. Pasienter som er immunsupprimerte pga cancerbehandling eller annen immunsupprimerende sykdom er i risikogruppen for CMV-infeksjon.

Hos de overnevnte pasientene vil alvorlig, livstruende, disseminert CMV infeksjon primært affisere lungene (interstitiell pneumonitt), øyets retina og gastrointestinaltractus (colitt). Det endoscopiske utseende er typisk med grunne ulcerasjoner. Histologisk kan det være vanskelig å se de karakteristiske virusinklusionene i celletette infiltrater av inflammatoriske celler.

Parallell immunhistokjemisk undersøkelse med et sensitivt, virus-spesifikt antistoff er da viktig for sikker diagnose.

Referanser

1. Al-Adnani M, Sebire NJ. 2007. The role of perinatal pathological examination in subclinical infection in obstetrics. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* **21(3)**:505-521.
2. Kaplan JE et al. 2000. Epidemiology of human immunodeficiency virus-associated opportunistic infections in the United States in the era of high active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis.* **30(Suppl 1)**:S5

CMV i svangerskap

Medfødt cytomegalovirusinfeksjon (CMV) er den vanligste intrauterine infeksjonen og er en ledende årsak til nevrogen hørselstap og mental retardasjon. Sannsynligheten for intrauterin overføring etter primær infeksjon er 30-40%, men bare 1% etter sekundær infeksjon.

Circa 10-20% av smittede nyfødte vil ha symptomer ved fødselen og 20-30% av dem vil dø. Opptil 90% av de overlevende vil ha sene komplikasjoner.

Av asymptomatiske infiserte nyfødte vil 5-15% utvikle følgetilstander senere. Ved bekreftelse av primær maternell infeksjon, kan fosterinfeksjon bekreftes ved amniocentese som bør gjøres minst 7 uker etter at den gravide ble antatt smittet. Fostervannsprøve er en direkte metode for å diagnostisere intrauterin CMV infeksjon dersom det infiserte fosteret skiller ut viruset via urin inn i fostervannet. Amniocentese kan også vurderes ved sekundær maternell infeksjon. Oppfølging ved gjentatte ultralydundersøkelser anbefales for bekreftet infeksjon hos foster. De hyppigste rapporterte ultralydfunn inkluderer vekstretardasjon, ventriculomegali, microcefali, ascites, hydrothorax, hydrops fetalis og intrakranielle kalsifikasjoner. Ultralydfunn tyder på dårlig prognose, men manglende ultralydfunn utelukker ikke skade.

Prenatal rådgivning i tilfeller av bekreftet føtal infeksjon er derfor vanskelig på grunn av vår begrensede evne til å forutsi utfallet. Preliminære resultater ved bruk av spesifikk immunglobulin i behandling og forebygging av CMV infeksjon hos fostere viser at de har et potensiale for å behandle og forebygge medfødt CMV-infeksjon. Men randomiserte kontrollerte studier er nødvendig før denne behandlingsmetoden tas i bruk rutinemessig. Fordi utfallet av medfødt CMV er svært variabelt og det ikke finnes spesifikk behandling er det vanskelig å gi generelle anbefalinger.

Referanser

1. Lipitz S, Yinon Y, Yagel S, Levit L, Hoffman R, Rantzer, Weisz B. Risk of cytomegalovirus-associated sequelae in relation to time of infection and findings on prenatal imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41: 508–514
2. Gaytant M, Rours I, Steegers E, Galama J, Semmekrot B. Congenital cytomegalovirus infection after recurrent infection: case reports and review of the literature. *Eur J Pediatr* 2003; 162: 248–253
3. Yinon Y, Farine D, Yudin M. Cytomegalovirus infection in pregnancy. *JOGC* 2010 ; 240: 348-254
4. Enders G, Daiminger A, Bader U, Exler S, Enders M. Intrauterine transmission and clinical outcome of 248 pregnancies with primary cytomegalovirus infection in relation to gestational age. *J Clin Virol* 2011; 52: 244-246
5. Nigro G, Adler S. Cytomegalovirus infections during pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2011; 23: 123-128
6. Farkas N, Hoffmann C, Ben-Sira L, Lev D, Schweiger A, Kidron D, Lerman-Sagie T. Does normal fetal brain ultrasound predict normal neurodevelopmental outcome in congenital cytomegalovirus infection? *Prenat Diagn* 2011; 31: 360–366
7. Bonalumi S, Trapanese A, Santamaria A, D'Emidio I, Mobili L. Cytomegalovirus infection in pregnancy: review of the literature. *J Prenat med* 2011; 5(1): 1-8
8. Zalel Y, Gilboa Y, Berkenshtat M, Yoeli R, Auslander R, Achiron R, Goldberg Y. Secondary cytomegalovirus infection can cause severe fetal sequelae despite

maternal preconceptional immunity. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 31(4): 417-420

9. Ornoy, A. (2007). Fetal effects of primary and non-primary cytomegalovirus infection in pregnancy: are we close to prevention? *Isr Med Assoc J* 2007; 9(5): 398–401
10. Evans C, Brooks A, Anumba D, Raza M. Dilemmas regarding the use of CMV-specific immunoglobulin in pregnancy. *J Clin Virol* 2013; 57(2): 95-97

CMV infeksjon ved normalt immunforsvar og ved inflammasjonstilstander

I den vestlige verden vil 70-90 % i løpet av livet ha gjennomgått en primær CMV infeksjon. De fleste får sin infeksjon i løpet av de 4 første 10-årene, men risikoen for å få primær infeksjon er kontinuerlig og livslang. Hos immunfriske vil ca. 90 % ha en asymptomatisk infeksjon. Vel 10 % vil få en symptomatisk, selvbegrensende infeksjon hvor et mononucleose-lignende bilde med feber, utfall i leverprøver og noe lymfadenopati ikke er uvanlig. Enkelte kan imidlertid få alvorlige fokale infeksjoner som kan bli fatale. Fokus for infeksjon er da oftest gastrointestinaltraktus med colon som hyppigst affiserte del. CNS infeksjon er ikke sjeldent forekommende, men i prinsippet kan et hvert organ bli angrepet (1,2,3). Slike primær infeksjoner hos eldre kan være vanskelig å diagnostisere, fordi man ikke vurderer de som aktuelle. Det kan også se ut som infeksjonen hos disse blir alvorligere (3 – Orasch). Dette kan kanskje forklares med den tilstand av naturlig immunsvikt som inntreffer ved 60-års alder hvor bl.a. antall naive T-celler faller dramatisk (4).

Tilstander som fører til en dysbalanse i immunsystemet – for eksempel ved høye TNF-alfa nivå i blod - kan føre til replikering av latent virus som igjen kan føre til klinisk infeksjon som bør behandles. Reaktivering kan også forekomme hos immunfriske, men sannsynligvis sjeldent uten at det er assosiert til annen sykdom. Ved sepsis og andre inflammatoriske tilstander som inflammatorisk tarmsykdom kan man finne både CMV DNA og histologiske forandringer forenlig med CMV sykdom. Det er også spekulert på om infeksjonen i seg selv kan være direkte årsak til en rekke inflammatoriske tilstander og cancer (5). Ved sepsis er det funnet en økt dødelighet hos pasienter som også får en CMV reaktivering (6). Hos kritisk syke pasienter innlagt ved forskjellige intensiv avdelinger er det også observert at pasienter som får CMV reaktivering har et lengre sykehusopphold og økt dødelighet (7). Spørsmålet er imidlertid om dette er på grunn av CMV eller om CMV reaktivering følger ved mer alvorlig sepsis.

Rent praktisk har vi i klinikken følgende problem ved CMV infeksjon hos antatt immunfriske og ved andre inflammasjonstilstander:

1. Primærinfeksjon hos pasienter med feber av ukjent årsak eller fokal inflammasjonstilstand som ikke er avklart.
2. Reaktivering av CMV som faktisk gir sykdom og som bør behandles.

Rent diagnostisk har dette vist seg av og til å være vanskelig.

1. Primær infeksjon:

Serologi: CMV IgM – kan vedvare 12-18 mnd (8)
 CMV IgG – titerstigning
 Aviditetstest?

CMV DNA PCR i blod, sekreter, biopsier

Histologiske forandringer med ugle-øyne og positiv in situ hybridisering

2. Reaktivering:

Serologi – for å utelukke primær infeksjon

CMV PCR i blod, sekreter, biopsier

Histologi forandringer med ugle-øyne og positiv in situ hybridisering

Anbefalinger:

1. Ved primær infeksjon: CMV IgM og IgG er ønskelig.
 Funn av pos CMV PCR i blod indikerer aktiv infeksjon og ikke kun stille replikasjon og vil være en diagnostisk støtte.

2. Ved reaktivering: Serologi om ikke immunstatus er kjent.
Positiv CMV PCR i blod støtter CMV sykdom.
Funn av typiske histologiske forandringer støtter CMV sykdom

Referanser:

- 1) Rafailidis PI, Mourtzoukou EG, Varbobitis IC, Falagas ME. Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Virology* 2008;5:47.
- 2) Grilli E, Galati V, Bordi L, Taglietti F, Petrosillo N. Cytomegalovirus pneumoniae in immunocompetent host: case report and literature review. *J Clin Virol* 2012;55:356.
- 3) Orasch C, Conen A. Severe primary cytomegalovirus infection in the immunocompetent adult patient: a case series. *Scand J Infect Dis* 2012;44:987.
- 4) Larbi A, Franceschi C, Mazzatti D, Solana R, Wikby A, Pawelec G. Aging of the immune system as prognostic factor for human longevity. *Physiology* 2008;23:64.
- 5) Söderbef-Nauclér C. Does cytomegalovirus play a causative role in the development of various inflammatory diseases and cancer? *J Int Med* 2003;259:219.
- 6) Kalil AC, Florescu DF. Prevalence and mortality with cytomegalovirus infection in nonimmunosuppressed patients in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2009;37:2350.
- 7) Limaye AP, Kirby KA, Rubenfeld GD, Leisenring WM, Bulger EM, Neff MJ, Gibran NS, Huang M-L, Hayes TKS, Corey L, Boeckh M. Cytomegalovirus reactivation in critically ill immunocompetent patients. *JAMA* 2008;300:413.
- 8) Manfredi R, Calza L, Chiodo F. Primary cytomegalovirus infection in otherwise healthy adults with fever of unknown origin: a 3 year prospective survey. *Infection* 2006;34:87.

Infeksjoner ved organ- og stamcelletransplantasjon

CMV infeksjon og sykdom er svært vanlig hos organtransplanterte pasienter. Det transplanteres ved Rikshospitalet nå grovt sett omkring 300 nyrer, 100 leverer, 40 hjerter, 30 lunger og 50 stamcelleoverføringer årlig. CMV infeksjonens forløp på disse pasientene ved RH er best studert på nyretransplantasjonspasienter, som utgjør brorparten av de transplanterte.

CMV infeksjon og sykdom

CMV infeksjon defineres av klinkerne som påvisning av CMV i plasmaprøver, tidligere ofte som pp65 antigen de senere år ved CMV PCR. Vi viste på nyretransplanterte i en studie fra år 2000 at 2/3 av de nyretransplanterte pasientene hadde CMV infeksjon i løpet av de 3 første mnd. etter nyretransplantasjon (1). Således er CMV infeksjon den hyppigste komplikasjon etter nyretransplantasjon. Når det gjelder CMV sykdom, er det stor forskjell på hvilke pasienter som utvikler dette. CMV sykdom hos transplanterte kan dreie seg som om CMV syndrom, som innbefatter CMV infeksjon samt allmennsymptomer, oftest også leukopeni og feber over 38°C - og sjeldnere CMV invasiv sykdom, som hos transplanterte kan være affeksjon av det transplanterte organ, men oftere CMV invasiv sykdom i form av leveraffeksjon, gastrointestinal affeksjon og eventuell pneumoni. Særlig CMV sårddannelser i mage og tarmkanalen er vanlig, og dette kan skape betydelig morbiditet. Av 320 pasienter med positiv CMV infeksjon etter transplantasjonen utviklet omkring 100 CMV sykdom og en av disse døde på grunn av gastrointestinal blødning forårsaket av CMV sår i tynntarmen (1). Alle andre ble vellykket behandlet (1). I de fleste tilfeller er imidlertid CMV sykdom hos organtransplanterte pasienter enkelt å behandle med intravenøst ganciclovir. En multinasjonalt studie publisert i 2007 viste imidlertid at peroralt valganciclovir var like effektivt som i.v. ganciclovir i behandling av CMV sykdom hos organtransplanterte (2,3). Etter dette har det vært vanlig å behandle CMV sykdom med oral valganciclovir, men i alvorlige tilfelle av CMV sykdom, samt hos barn er fortsatt standardbehandling i.v. ganciclovir. Alternativ behandling kan være foscavir. Særlig hos stamcelletransplanterte er foscavir mye brukt.

Indirekte effekter av CMV

Det er velkjent at CMV infeksjon og sykdom er assosiert med andre forhold enn CMV sykdommen i seg selv. Det er påvist at CMV infeksjon kan føre til avstøtning av organer som vist for transplanterte nyrer i vår populasjon (4). Det kan også føre til dødelighet som ikke er forårsaket av sykdommen i seg selv. Denne effekten kan ses i mange år etter gjennomgått CMV infeksjon (5). I tillegg er det spekulert i at CMV infeksjon kan føre til posttransplantasjonsdiabetes (6). Det er også relatert velkjent at CMV infeksjon kan bane vei for andre infeksjoner, både bakterieinfeksjoner og soppinfeksjoner hos immunosupprimerte pasienter. Hvilken betydning profylakse har med tanke på slike indirekte effekter er uavklart.

Risikogrupper

Høyrisikogruppen for infeksjon og CMV sykdom er først og fremst pasienter som er CMV IgG negative på transplantasjonstidspunktet som blir transplantert med CMV IgG positivt organ, (D+R-). Ved Rikshospitalet fant vi i at over 50% av CMV IgG negative nyretransplanterte pasienter som fikk nyre fra CMV IgG positiv nyredonor utviklet CMV sykdom (1). P.g.a risikoen for CMV sykdom hos pasienter med denne serokonstellasjonen er det blitt vanlig å behandle disse med profylakse, se tabell vedr. preventiv behandling (profylakse og preemtiv behandling).

For å unngå sykdom kan man anvende to ulike strategier. Det kan gis profylakse til alle eller til utvalgte høyrisikopasienter. Alternativt kan man overvåke pasientene med regelmessige CMV PCR målinger, vanligvis ukentlig, og behandle når det påvises infeksjon, men før pasientene blir syke. Dette kalles preemptiv behandling.

Som profylaktisk behandling har det først og fremst vært brukt valganciclovir behandling. Som profylakse kan også peroralt aciclovir benyttes selv om det er ineffektivt som behandling av CMV sykdom. Hos nyretransplanterte brukes profylakse nå i 6 mnd til høyrisikopasienter. Ellers varierer behandlingen fra 3-6 mnd hos disse pasientene. Det vises til tabell en som oppsummerer hovedtrekkene for våre strategier ved Rikshospitalet i behandling av ulike grupper av transplanterte pasienter. Det fremgår at profylakse første og fremst brukes ved D+R- og preemptiv behandling hos de fleste andre pasienter.

Tabell.

Behandlingsstrategier for CMV hos transplanterte pasienter ved Rikshospitalet

	Overvåking	Profylakse	Pre-emptiv behandling
Nyre (300)	PCR ukentlig 3 måneder	D+R- Valganciclovir 6 måneder	PCR over 600 kopier/ml til 2 negative prøver
Lever (100)	PCR ukentlig 3 måneder + 3mnd etter profylakse	D+R- Valganciclovir 3-6 måneder Alle med fulminant leversvikt 3-6 måneder	PCR over 2000 kopier/ml
Lunge (30)	PCR ukentlig kun D-R- 3 måneder	D+R- Valganciclovir 12 måneder D+R+, D-R+ 3 måneder	PCR over 600-2000 kopier/ml
Hjerte (40)	PCR ukentlig 3 måneder	D+R- 3 måneder	PCR over 2000 kopier/ml 3 måneder
Allogen stamcelletx	PCR 1-2 ukentlig 3 måneder	Alle på immunsuppresjon Valaciclovir 500x2 6 måneder	PCR over 100 kopier/ml ved høyrisiko, ellers ved 2 positive PCR

Det er i dag vanlig å overvåke pasientene for CMV infeksjon den første tiden etter transplantasjonen. Gjennomgående tas PCR CMV ukentlig de 3 første mnd etter transplantasjonen og dersom det tilkommer positive prøver, vil pasientene bli behandlet preemptivt, d. v. s før de utvikler sykdom. Grensene for behandling varierer noe fra organ til organ. På nyretransplanterte setter vi grensen på 600 kopier /ml, som var deteksjonsgrensen på tidligere assay. Øvrige organtransplanterte tillater noe høyere verdier, mens man ved allogen stamcelletransplantasjon behandler ved lavere verdier når det er høyrisikopasienter, se tabell.

Analyseomfang og fortolkning av CMV PCR

På et behov for overvåking av transplanterte pasienter vil det være behov for ukentlig analyse hos opp mot 500 pasienter ved RH, i tillegg kommer tilsendte prøver fra andre sykehus, som ikke selv måler CMV PCR. Når det gjelder tolkning av svarene vurderes disse ulikt. Som nevnt har nefrologene en cut-off for behandling av CMV med 600 kopier /ml, mens de fleste andre solid organtransplanterte tillater noe høyere verdier, mens stamcelletransplanterte behandles på positive prøver uansett tall, se tabell.

Terapisvikt og resistens

Terapisvikt på ganciclovir / valganciclovir forekommer. Utvikling av klinisk resistens forekommer i 1– 2 % av pasientene. En undersøkelse her i Norge viste at den desidert viktigste risikofaktor for CMV resistens var at pasientene hadde primærinfeksjon, dvs var CMV naive på transplantasjonstidspunktet (7). Hos disse fant man CMV resistens i over 10% av tilfellene. CMV resistens kan imidlertid behandles effektivt med reduksjon av immunsuppresjon (8), ofte reduseres dosen av mykofenolat til halvparten, samtidig som man forsøker en forsiktig økning i dosering av ganciclovir og eventuelt instituerer annen behandling som foscavir (7,9). En slik fremgangsmåte viste seg å være effektiv ved samtlige registrerte tilfelle av CMV resistens hos nyretransplanterte gjennom en 5 års periode (7) . Alternativ behandling kan være reduksjon av immunsuppresjon, tilførsel av immunglobulin, men dette er meget sjelden indusert. Ved RH er vi nå med på en utprøving av 2 spesifikke antistoffer mot CMV i en fase 2 studie på høyriskopasienter.

Sammendrag

CMV infeksjon og sykdom er meget prevalent hos transplanterte pasienter, særlig de første månedene etter transplantasjon. Det gjennomføres derfor overvåking ukentlig av CMV PCR på pasientene og gis dessuten profylaktisk behandling til høyriskogruppene. Behandling er vanligvis effektivt med oral valganciclovir i noen uker. Terapisvikt og resistensutvikling ses særlig hos høyriskopasientene. Behandlingen er i tråd med internasjonale guidelines (9).

Referanser:

- 1) Sagedal S, Nordal KP, Hartmann A, Degre M, Holter E, Foss A, Osnes K, Leivestad T, Fauchald P, Rollag H. A prospective study of the natural course of cytomegalovirus infection and disease in renal allograft recipients. *Transplantation*. 2000;70:1166-74.
- 2) Asberg A, Humar A, Rollag H, Jardine AG, Mouas H, Pescovitz MD, Sgarabotto D, Tuncer M, Noronha IL, Hartmann A; VICTOR Study Group. Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2007, 7:2106-13. Epub 2007 Jul 19.
- 3) Asberg A, Humar A, Jardine AG, Rollag H, Pescovitz MD, Mouas H, Bignamini A, Töz H, Dittmer I, Montejo M, Hartmann A; VICTOR Study Group. Long-term outcomes of CMV disease treatment with valganciclovir versus IV ganciclovir in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant*. 2009, 9:1205-13.
- 4) Sagedal S, Nordal KP, Hartmann A, Sund S, Scott H, Degre M, Foss A, Leivestad T, Fauchald P, Rollag H. The impact of cytomegalovirus infection and disease on acute rejection episodes in renal allograft recipients. *Am J Transplantation* 2002; 2:850-856

- 5) Sagedal S, Hartmann A, Nordal KP, Osnes K, Leivestad T, Foss A, Degre M, Fauchald P, Rollag H. Impact of early cytomegalovirus infection and disease on long-term recipient and kidney graft survival. *Kidney Int.* 2004; 66:329-37.
- 6) Hjelmesæth J, Müller F, Jenssen T, Rollag H, Sagedal S, Hartmann A. Is there a link between cytomegalovirus infection and new-onset posttransplantation diabetes mellitus? Potential mechanisms of virus induced beta cell damage. Editorial comment. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20:2311-5.
- 7) Myhre HA, Haug Dorenberg D, Kristiansen KI, Rollag H, Leivestad T, Asberg A, Hartmann A. Incidence and outcomes of ganciclovir-resistant cytomegalovirus infections in 1244 kidney transplant recipients. *Transplantation.* 2011;92:217-23.
- 8) Asberg A, Jardine AG, Bignamini AA, Rollag H, Pescovitz MD, Gahlemann CC, Humar A, Hartmann A; on behalf of the VICTOR Study Group. Effects of the Intensity of Immunosuppressive Therapy on Outcome of Treatment for CMV Disease in Organ Transplant Recipients. *Am J Transplant.* 2010, 10:1881-88. May 10. [Epub ahead of print]
- 9) Kotton CN, Kumar D, Caliendo, AM, Asberg A, Chou S, Snyderman DR, Allen U, Humar A; Transplantation Society International CMV Consensus Group. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation.* 2010;89:779-95

CMV ved HIV-infeksjon

Både primærinfeksjon, reaktivering og reinfeksjon med CMV kan føre til alvorlig sykdom og død hos pasienter med HIV. Personer som er født i utviklingsland og menn som har sex med menn, er nesten alltid seropositive for CMV. I Norge er seroprevalensen lavere hos stoffmisbrukere og andre risikogrupper for HIV-infeksjon (1).

Før effektiv kombinasjonsbehandling for HIV (HAART) ble tilgjengelig i siste halvdel av 1990-årene, var CMV-sykdom svært vanlig, og ble diagnostisert hos opp til halvparten av pasientene (1). Risikoen for CMV-sykdom var særlig høy blant individer med CD4+ T-lymfocytter $<50-100$ celler/mm³. De vanligste manifestasjonene var retinitt og gastrointestinal sykdom hos pasienter diagnostisert i live, men de fleste organer kunne rammes, og diagnosen ble ofte først stillet ved obduksjon. Etter introduksjonen av HAART falt forekomsten av CMV-sykdom hos HIV-positive betydelig (2). Tilstanden forekommer imidlertid fortsatt hos pasienter som presenterer med avansert immunsvikt, hos pasienter med dårlig medikamentetterlevelse og hos pasienter som responderer dårlig på antiretroviral behandling, f.eks. grunnet HIV-resistens.

Diagnosen CMV-retinitt stilles vanligvis ved oftalmoskopi. For andre organmanifestasjoner kreves typiske histopatologiske forandringer for sikker diagnose, med endoskopiske funn, radiologiske og mikrobiologiske undersøkelser som nyttige supplement.

CMV IgG serokonversjon kombinert med symptomer forenlig med CMV-sykdom er diagnostisk for tilstanden, og fravær av CMV antistoff gjør CMV-sykdom lite sannsynlig. Dette er imidlertid sjeldne konstellasjoner, og påvisning av antistoff er generelt av liten nytte. Dyrkning av CMV fra forskjellige prøvematerialer har lav positiv prediktiv verdi for CMV-sykdom.

Tidligere ble deteksjon av CMV pp65-antigen i leukocytter mye benyttet til påvisning av viremi, men er i dag for det meste erstattet av nukleinsyretester, hovedsakelig kvantitativ polymerasekjedereaksjon (PCR). Mengden CMV DNA er høyere i fullblod og leukocytter enn i plasma, men spesifisitet og positiv prediktiv verdi er høyest i plasma, som også av praktiske grunner er mest benyttet som prøvemateriale (3).

Før HAART var påvisning av CMV DNA i plasma assosiert med økt risiko for utvikling av CMV-sykdom og død (4;5), men sensitivitet, spesifisitet, positiv og negativ prediktiv verdi for sykdom varierte mye i forskjellige studier. For pasienter med tilgang til HAART er den positive prediktive verdi av nukleinsyretester ikke tilstrekkelig til å stille diagnosen CMV-sykdom med høy grad av sikkerhet og gi god veiledning om behandlingsindikasjon (3;6;7). Pre-emptiv terapi er derfor generelt ikke anbefalt (8). Studier av pre-emptiv terapi har heller ikke kunnet påvise økt overlevelse eller stigning i antall CD4+ T-lymfocytter (6;9). En retrospektiv studie utført på antiretroviralt naive pasienter med avansert immunsvikt, fant imidlertid at pre-emptiv terapi var assosiert med redusert risiko for utvikling av CMV-sykdom (10).

Påvisning av CMV DNA i cerebrospinalvæske har høy diagnostisk sensitivitet og spesifisitet for CMV-sykdom i sentralnervesystemet (11). Påvisning av CMV DNA i andre prøvematerialer som biopsier og bronkialskyllvæske er av mer usikker diagnostisk verdi. Funnt av CMV DNA i intestinale biopsier hos pasienter med immunsvikt av forskjellige årsaker har generelt høy diagnostisk sensitivitet og negativ prediktiv verdi for CMV-sykdom i tarmtraktus, men falskt positive prøver er vanlig (12;13).

Selv om påvisning av CMV-viremi er av beskjeden nytte i diagnostikken av CMV-sykdom hos pasienter med tilbud om antiretroviral behandling, er påvisning av viremi assosiert med økt dødelighet (14;15). Dette kan skyldes indirekte effekter av CMV-infeksjon.

Anbefalinger

Oftalmoskopi og histopatologisk undersøkelse av organer er de viktigste diagnostiske prosedyrer for påvisning av CMV-sykdom, og mikrobiologiske undersøkelser er et supplement til disse. Alle pasienter som får påvist HIV-infeksjon bør testes for CMV IgG. Rutinemessig overvåking av CMV-viremi er ikke indisert, men kvantitering av CMV DNA i plasma bør utføres hos pasienter med CD4+ T lymfocytt-tall <50-100 celler/mm³ som samtidig har kliniske funn forenlig med CMV- sykdom. Påvisning av viremi i en slik situasjon bør føre til oftalmoskopi, endoskopi og histopatologisk undersøkelse av aktuelle organer før man konkluderer med at pasienten har CMV-sykdom og igangsetter spesifikk terapi. Spinalpunksjon og undersøkelse av cerebrospinalvæske med CMV PCR bør utføres hos pasienter med symptomer og nevreradiologiske funn som gir mistanke om CMV-sykdom i sentralnervesystemet.

Litteratur

1. Brantsaeter AB, Liestol K, Goplen AK, et al. CMV disease in AIDS patients: Incidence of CMV disease and relation to survival in a population-based study from Oslo. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 2002; 34: 50-5.
2. Yust I, Fox Z, Burke M, et al. Retinal and extraocular cytomegalovirus end-organ disease in HIV-infected patients in Europe: a EuroSIDA study, 1994-2001. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 550-9.
3. Steininger C, Puchhammer-Stockl E, Popow-Kraupp T. Cytomegalovirus disease in the era of highly active antiretroviral therapy (HAART). *J Clin Virol* 2006; 37: 1-9.
4. Spector SA, Wong R, Hsia K, et al. Plasma cytomegalovirus (CMV) DNA load predicts CMV disease and survival in AIDS patients. *J Clin Invest* 1998; 101: 497-502.
5. Brantsaeter AB, Holberg-Petersen M, Jeansson S, et al. CMV quantitative PCR in the diagnosis of CMV disease in patients with HIV-infection - a retrospective autopsy based study. *BMC Infect Dis* 2007; 7: 127.
6. Wohl DA, Kendall MA, Andersen J, et al. Low rate of CMV end-organ disease in HIV-infected patients despite low CD4+ cell counts and CMV viremia: results of ACTG protocol A5030. *HIV Clin Trials* 2009; 10: 143-52.
7. Jacobson M, Lurain N, Hunt P. Cytomegalovirus viraemia in the modern antiretroviral era(*). *HIV Med* 2011; 12: 387-8.
8. Kaplan JE, Benson C, Holmes KH, et al. Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep* 2009; 58: 1-207.
9. Foca E, Motta D, Pollara C, et al. Impact of detectable human cytomegalovirus DNAemia on viro-immunological effectiveness of HAART in HIV-infected patients naive to antiretroviral therapy. *New Microbiol* 2012; 35: 227-31.

10. Mizushima D, Nishijima T, Gatanaga H, et al. Preemptive therapy prevents cytomegalovirus end-organ disease in treatment-naive patients with advanced HIV-1 infection in the HAART era. *PLoS One* 2013; 8: e65348.
11. Arribas JR, Storch GA, Clifford DB, et al. Cytomegalovirus encephalitis. *Ann Intern Med* 1996; 125: 577-87.
12. Mills AM, Guo FP, Copland AP, et al. A comparison of CMV detection in gastrointestinal mucosal biopsies using immunohistochemistry and PCR performed on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Am J Surg Pathol* 2013; 37: 995-1000.
13. Ganzenmueller T, Henke-Gendo C, Schlue J, et al. Quantification of cytomegalovirus DNA levels in intestinal biopsies as a diagnostic tool for CMV intestinal disease. *J Clin Virol* 2009; 46: 254-8.
14. Deayton JR, Sabin CA, Johnson MA, et al. Importance of cytomegalovirus viraemia in risk of disease progression and death in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Lancet* 2004; 363: 2116-21.
15. El Amari EB, Combescure C, Yerly S, et al. Clinical relevance of cytomegalovirus viraemia(*,dagger). *HIV Med* 2011; 12: 394-402.

Møteledere, foredragsholdere og deltagere på Strategimøtet		
Helivi Holm Samdal	OUS-Ullevål	sbsahe@ous-hf.no
Halvor Rollag	OUS-Rikshospitalet	Halvor.Rollag@rr-research.no
Truls Leegaard	Akershus Universitetssykehus	Truls.Michael.Leegaard@ahus.no
Ellen Holter	OUS-Rikshospitalet	eholter@ous-hf.no
Svein Arne Nordbø	St. Olavs hospital	svein.a.nordbo@ntnu.no
Fredrik Müller	OUS-Rikshospitalet	Fredrik.Muller@rr-research.no
Borghild Roald	Universitetet i Oslo	borghild.roald@medisin.uio.no
Maria Aurora Hernandez Roset	St. Olavs Hospital	Aurora.Roset@gmail.com
Ingvild Nordøy	OUS-Rikshospitalet	inordoy@ous-hf.no
Anders Hartmann	OUS-Rikshospitalet	ahartman@ous-hf.no
Arne Broch Brantsæter	OUS-Ullevål	UXARBR@ous-hf.no
Veselka Petrova	Akershus universitetssykehus	
Patricia Merckoll	Akershus universitetssykehus	
Inger Sofie Samdal Vik	Folkehelseinstituttet	Inger.Sofie.Samdal.Vik@fhi.no
Regine Barlinn	Folkehelseinstituttet	Regine.Barlinn@fhi.no
Ingeborg Aaberge	Folkehelseinstituttet	ingeborg.aaberge@fhi.no
Susanne Dudman	Folkehelseinstituttet	Susanne.Gjeruldsen.Dudman@fhi.no
Gunnar Hoddevik	Folkehelseinstituttet	Hoddevik.gunnar@fhi.no
Hanne Nøkleby	Folkehelseinstituttet	hanne.nokleby@fhi.no
Trygve Tjade	Først medisinske laboratorium	tjade@furst.no
Synnøve Ljones	Først medisinske laboratorium	sljones@furst.no
Reidar Hjetland	Førde Sentralsjukehus	reidar.hjetland@helse-forde.no
Liv Jorunn Sønsteby	Haugesund sjukehus Fonna	Liv-Jorun.Sonsteby@helse-fonna.no
Gro Njølstad	Haukeland Universitetssykehus	gro.njolstad@helse-bergen.no
Ingerid Skarstein	Haukeland Universitetssykehus	
Einar Nilsen	Helse Møre og Romsdal	Einar.Nilsen@helse-mr.no
Sandra Åsheim	Nordlandssykehuset	Sandra.Asheim@nordlandssykehuset.no
Nicola Isabelle Kols	St. Olavs hospital	Nicola.Isabelle.Kols@stolav.no
Elisebet Haarr	Stavanger Universitetssykehus	hael@sus.no
Monica Regine Romstad	Stavanger Universitetssykehus	hmor@sus.no
Pål Arne Jenum	VestreViken HF	Pal.jenum@vestreviken.no
Roar Bævre-Jensen	Sykehuset Asker og Bærum	
Yngvar Tveten	Sykehuset Telemark	Yngvar.Tveten@sthf.no
Nils Grude	Sykehuset Vestfold	nigrud@siv.no
Anita Kanestrøm	Sykehuset Østfold, Fredrikstad	anikan@so-hf.no
Unn Houge	Sørlandet Sykehus Kristiansand	Unn.Houge@sshf.no
Anne-Marte Bakken Kran	Ullevål Universitetssykehus	a.m.b.kran@medisin.uio.no
Dagny Haug Dorenberg	Ullevål Universitetssykehus	Dagny.haug.dorenberg@ous-hf.no
Andreas Emmert	Unilabs	Andreas.Emmert@unilabs.com
Tore Gutteberg	Universitetssykehuset Nord-Norge	Tore.Gutteberg@unn.no
Garth Tylden	Universitetssykehuset Nord-Norge	Garth.Daryl.Tylden@unn.no

Utgitt av Nasjonalt folkehelseinstitutt
Divisjon for smittevern
Juni 2014

Rapporten kan lastes ned som pdf:
www.fhi.no/publikasjoner

ISBN: 978-82-8082-628-2 trykt utgave
ISBN: 978-82-8082-629-9 elektronisk utgave
Opplag: 80