

Infekcie vyvolané cytomegalovírusom – diagnostika a terapia

RNDr. Daniela Hučková, RNDr. Katarína Kollárová

Medirex, a. s., Bratislava

Ako pri ostatných herpesvírusoch ľudí, aj pri cytomegalovíruse (CMV) po prekonaní primárnej infekcie nasleduje celoživotná infekcia, sprevádzaná obdobím latencie a reaktívacie, ktorá býva spojená s asymptomatickým vylučovaním vírusu do telesných sekrétov. U imunokompetentných jedincov prebieha CMV infekcia/reaktívacia obyčajne bezpríznakovito. Ak sú prítomné klinické príznaky, väčšinou odznejú samé, bez potreby terapie. Infekcia je kontrolovaná imunitným systémom hostiteľa, najmä bunkovou imunitou.

Vážny klinický problém predstavujú primárne a sekundárne CMV infekcie u gravidných žien (riziko kongenitálnej infekcie), novorodencov a u ťažko imunodeficitných jedincov (pacienti po transplantácii, pacienti s AIDS, onkologickí pacienti).

Laboratórna diagnostika nekomplikovaných ochorení využíva stanovenie špecifických protilátok. Pri závažných neurologických/očných komplikáciách býva doplnená o dôkaz autochtónnej produkcie protilátok a o detekciu CMV DNA vo vhodnom biologickom materiáli (cerebrospinálny mok, očná tekutina, nezrazená krv). U gravidných žien sa v diferenciálnej diagnostike kongenitálnych infekcií obyčajne stanovujú anti-CMV IgM/G a test avidity anti-CMV IgG. Pri zistení akýchkoľvek abnormalít, či už v sére matky, alebo plodu pomocou ultrasonografie/MRI sa odporúča kvantitatívne stanovenie CMV DNA (PCR) v plodovej vode. Manažment imunodeficitných pacientov sa opiera o monitoring nálože CMV DNA z vhodného biologického materiálu pomocou kvantitatívnych molekulárno-biologických metód.

Kľúčové slová: cytomegalovírus, laboratórna diagnostika, primárna infekcia, sekundárna infekcia, terapia

Cytomegalovirus infection – diagnosis and therapy

As with other human herpesviruses, overcoming cytomegalovirus (CMV) primary infection is followed by persistent lifelong infection, accompanied by a period of latency and reactivation, which is usually associated with asymptomatic viral shedding in bodily secretions. In immunocompetent individuals, CMV infection and/or reactivation are usually asymptomatic. In case some clinical symptoms are present, they are usually self-limiting without the need for any specific therapy. The infection is controlled by the host immune system, especially by the cellular immunity.

Primary and secondary CMV infections represent a serious clinical problem in pregnant women (the risk of congenital infections), newborns and severely immunocompromised individuals (transplant recipients, patients with AIDS, cancer patients).

Laboratory diagnosis of uncomplicated CMV manifestations is based on the determination of specific antibodies. Severe neurological/ocular CMV complications are complemented by autochthonous antibody production testing and CMV DNA detection in appropriate biological material (cerebrospinal fluid, aqueous/vitreous humour, whole blood). In pregnant women, the differential diagnosis of CMV congenital infection is usually based on serological testing of anti-CMV IgM/IgG and avidity of anti-CMV IgG in serum; but in case that any abnormalities in serologic profile of the mother or ultrasound/MRI testing of the fetus are found out, CMV DNA quantitative real-time PCR of amniotic fluid is recommended. In immunocompromised patients, the monitoring of CMV DNA load from a suitable biological material by quantitative molecular-biological method plays a key role in patient's management.

Key words: cytomegalovirus, laboratory diagnosis, primary infection, secondary infection, therapy

NewsLab, 2016; roč. 7(2): 78–83

Cytomegalovírus

Cytomegalovírus ľudí (CMV, HCMV, ľudský herpesvírus 5, HHV-5) patrí medzi ľudské herpetické vírusy; konkrétne do podčelade *Betaherpesvirinae*, do ktorej sa zaraďuje spolu s ostatnými cytomegalovírusmi iných cicavcov a herpesvírusmi ľudí 6 a 7 (1).

Genóm CMV ľudí je najväčší zo skupiny humánnych vírusov (~ 230 kbp). Tvorí ho lineárna dvojvláknová DNA, ktorá kóduje približne 180 proteínov, z toho asi 60 glykoproteínov, takže antigénová komplexnosť obalu je veľká. Niektoré štruktúrne a neštruktúrne proteíny (napríklad pp150, pp65, gB, gH, UL97, UL54, IE) sa využívajú

v diagnostike CMV infekcií, respektíve pri štúdiu niektorých typov vakcín (1).

Ľudský CMV sa vyskytuje v populácii ubikvitárne ako heterogénna zmes kmeňov. Taxonomicky ide o jediný druh bez rozlišovania sérotypov, avšak pri porovnaní sekvencií genómov jednotlivých izolátov a laboratórne pasážovaných kmeňov bola zistená značná variabilita (1). Pôvodne sa predpokladalo, že variabilita kmeňov CMV má len malý vplyv na hostiteľa, avšak v posledných rokoch viaceré štúdie naznačujú, že rozdiely v kmeňoch môžu výrazne ovplyvňovať klinický priebeh infekcie u pacientov s ťažkým imunodeficitom a pri kongenitálnych

infekciách (2). Navyše, kmeňovo-špecifické imunitné odpovede môžu brániť vývoju efektívnej vakcíny.

Epidemiológia

Infekcie CMV sú bežné, prevalencia špecifických protilátok svedčiacich o prekonaní infekcie postupne stúpa s vekom a u dospelaj populácie dosahuje v rôznych geografických oblastiach v závislosti od spôsobu života od cca 40 – 60 % v rozvinutých krajinách až po skoro 100 % v krajinách s nízkym hygienickým štandardom (3).

Cytomegalovírus sa šíri podobne ako ostatné herpetické vírusy, najmä blízkym kontaktom (horizontálne), významný je však i vertikálny prenos. Zdrojom nákazy sú chorí, častejšie však nosiči (vírus sa aktivuje hlavne pri oslabení imunitného systému, hoci klinické prejavy nemusia byť zjavné). Inkubačná lehota obvyčajne trvá v rozmedzí 9 – 60 dní (4).

Ako pri primárnej, tak i pri každej reaktivácii sa viriónové častice vylučujú z tela rôznymi telesnými sekrétmi, hlavne močom a slinami, ale aj materským mliekom, cervikálnym sekrétom, ejakulátom alebo slzami. K prenosu infekcie môže dôjsť i iatrogénne (krvou či transplantovaným orgánom) (1, 5). Vylučovanie vírusu môže byť intermitentné alebo kontinuálne a bežne trvá u dospelých niekoľko dní až týždňov, u malých detí skôr niekoľko mesiacov až rokov (6, 7, 8, 9). Pre tehotné ženy je obvyčajne príčinou infekcie práve kontakt s deťmi, často vlastnými (5, 10).

Vylučovanie CMV materským mliekom je jeden z najvýznamnejších rizikových faktorov postnatálnej infekcie (60 – 80 % pravdepodobnosť transmisie) (11). Najčastejšie sa vírus vylučuje 2. až 3. týždeň po pôrode (12). Obdobie vylučovania i množstvo vylučovaného vírusu sú rôzne.

Klinický obraz

Primárna infekcia prebieha väčšinou v detstve a spravidla inaparentne. Niekedy sa môže vyskytnúť ochorenie bez špecifických príznakov (horúčka, zdurené uzliny, únava, slabosť, bolesť svalov/kĺbov, nechutenstvo), respektíve syndróm infekčnej mononukleózy (IM), ktorý je klinicky neodlíšiteľný od IM spôsobenej vírusom Epsteina-Barrovej (EBV) (4).

Vzácnnejšie môže CMV infekcia vyvolať napríklad kolitídu, Guillain-Barrého syndróm, meningoencefalitídu, trombocytopéniu, hemolytickú anémiu, anikterickú či mierne ikterickú hepatopatiu (hepatosplenomegália a lymfocytóza), pneumóniu, perikarditídu, myokarditídu, vaskulárnu trombózu, uveitídu (4). Viaceré hlásené prípady CMV ochorení u imunokompetentných pacientov boli asociované s komorbiditami, ako napríklad diabetes mellitus a renálne zlyhanie. Predpokladá sa, že mierna dysfunkcia imunitného systému môže predstavovať v súčasnosti zatiaľ prehliadané riziko rozvoja CMV ochorenia (13, 14, 15, 16).

Kongenitálne CMV infekcie sú relatívne časté (0,6 – 0,7 % živonarodených detí), pričom stupeň klinického prejavu je závislý od infekčnej dávky. Infekcia tehotných žien môže viesť k transplacentárnemu prenosu vírusu na plod alebo k perinatálnej nákaze novorodenca. Kongenitálna infekcia nasleduje hlavne po primárnej infekcii gravidnej matky (20 – 40 % prípadov), avšak aj reinfekcia iným kmeňom CMV alebo reaktivácia latentného vírusu (latentne perzistujúceho kmeňa v hostiteľovi po prekonanej primárnej CMV infekcii v minulosti) môže spôsobiť infekciu plodu, hoci v podstatne menšej miere (0,2 – 2 % incidencie) (5, 7, 10, 17,

18). Asi 10 % kongenitálne infikovaných detí je pri pôrode symptomatických. Symptomatická kongenitálna infekcia sa môže manifestovať ako perinatálna sepsa, hepatitída, hepatosplenomegália, lymfocytóza, trombocytopenia, petechie, pneumónia alebo chorioretinitída (18). Úmrtnosť býva v rozmedzí 2 – 30 %. Dôsledkom teratogénneho účinku CMV môžu mať novorodenci rôzne vrodené chyby, často so závažnými trvalými následkami. Približne u 5 – 15 % kongenitálne infikovaných detí, ktoré sú pri pôrode asymptomatické, sa rozvinú symptómy v priebehu niekoľkých mesiacov až rokov. Najčastejšie ide o poškodenie sluchového nervu (10, 18).

Perinatálne infekcie a skoré infekcie po narodení u nedonosených detí môžu mať podobné klinické prejavy ako infekcie *in utero*, avšak ešte donedávna sa predpokladalo, že nebývajú spojené s trvalými následkami (19). Niektoré novšie štúdie však pri dlhodobom sledovaní predčasne narodených detí s postnatálnou CMV infekciou zistili určité mierne kognitívne rozdiely u tejto skupiny detí v porovnaní s kontrolnou skupinou jedincov bez včasnej postnatálnej CMV infekcie (20).

Infekcie u imunodeficitných pacientov. Rizikovou skupinu tvoria najmä pacienti po transplantácii kostnej drene, solídnych orgánov a pacienti s AIDS, u ktorých môže CMV infekcia vyvolať závažné systémové ochorenie (21, 22, 23, 24).

U imunosuprimovaných séronegatívnych pacientov dochádza k infekcii prostredníctvom transplantovaných orgánov/štetu od séropozitívnych darcov; u séropozitívnych príjemcov môže ísť o reaktiváciu endogénnej latentnej infekcie alebo reinfekciu iným kmeňom CMV pochádzajúcim od darcu (25). CMV infekcia môže mať potom priame a nepriame dôsledky. Medzi priame dôsledky patrí napríklad supresia kostnej drene, pneumónia, myokarditída, ochorenie gastrointestinálneho traktu, hepatitída, pankreatitída, nefritída, retinitída, encefalitída; medzi nepriame dôsledky akútne alebo chronická rejekcia štetu, akcelerovaná ateroskleróza (transplantácia srdca), sekundárne vírusové infekcie (napríklad EBV-asociované posttransplantačné lymfoproliferatívne ochorenie, infekcie herpesvírusmi ľudí 6, 7, adenovírusmi), bakteriálne (napríklad enterokoky, *Staphylococcus aureus*, aeróbne a fakultatívne anaeróbne gramnegatívne paličky) a mykotické infekcie (*Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Pneumocystis jirovecii*), znížená odolnosť štetu a celkové prežívanie pacienta (24, 26, 27, 28).

Laboratórna diagnostika

Na diagnostiku CMV infekcií u imunokompetentných jedincov je vo väčšine prípadov postačujúca sérologická diagnostika – stanovenie špecifických IgM (prípadne i IgA) a IgG (u séropozitívnych gravidných žien doplnená i o stanovenie avidity anti-CMV IgG). Molekulárno-biologické metódy (najmä PCR) sú vhodné predovšetkým pre ťažko imunodeficitných pacientov, novorodencov, pri diferenciálnej diagnostike kongenitálnych infekcií, neurologických/očných infekcií a iných závažných stavov.

Stanovenie špecifických protilátok proti CMV

Z nepriamych metód sa v súčasnosti využívajú najmä metódy enzýmovej alebo chemiluminiscenčnej imunoanalýzy (ELISA, CLIA). Stanovujú sa protilátky triedy IgG (kvantitatívne) a IgM (semikvantitatívne), v ojedinelých prípadoch i IgA (semikvantitatívne). Algoritmus sérologických testov v súčasnosti v mnohých prípadoch umožňuje interpretáciu výsledku

a určenie štádia infekcie z vyšetrenia jednej vzorky. Ak je potrebné posúdiť signifikantné zmeny v protilátkovej aktivite, vyšetrenie druhej vzorky je vhodné cca o 7 – 14 dní.

Anti-CMV IgM a IgA protilátky sa tvoria len prechodne v súvislosti s aktívnou CMV infekciou (hlavne primárnou, ale i rekurentnou). V priebehu primárnej infekcie obyčajne po 2 – 3 mesiacoch rýchlo klesajú, možná je však aj dlhodobá perzistencia IgM (29). Stanovenie samotných anti-CMV IgM nestačí na dôkaz aktívnej infekcie, možná je aj heterotypická imunitná odpoveď vplyvom inej prebiehajúcej infekcie (napríklad *Toxoplasma gondii*, *Legionella pneumophila*, chlamýdie, vírus parotitídy, EBV) (5, 30).

Nakoľko anti-CMV IgG sú prítomné už v akútnej fáze infekcie a po jej odznení pretrvávajú celý život, diagnostický význam má dôkaz sérokonverzie alebo signifikantného vzostupu týchto protilátok v párových vzorkách séra. Vzostup protilátkovej aktivity môže byť spôsobený aj heterológou imunitnou odpoveďou v dôsledku inej infekcie (napríklad HSV). Dôkaz vírusovo špecifických protilátok má dobrú výpovednú hodnotu, hlavne pri diagnostike primárnych infekcií. Vzhľadom na nasledujúce celoživotné nosičstvo vírusu je hositeľský organizmus opakovane stimulovaný vírusovými antigénmi. Dôsledkom toho má dlhodobo vysokú hladinu protilátok, ktorá pri reaktiváciách nemusí vykazovať signifikantné zmeny. Preto je diagnostický význam sérologických metód pri reaktiváciách a reinfekciách nízky. U dospelých pacientov je interpretácia sérologického nálezu často komplikovaná a nejednoznačná: dospelý organizmus je už infikovaný viacerými druhmi herpetických vírusov, ktoré sa môžu v rôznych klinických situáciách sekundárne reaktivovať a vyvolať tvorbu druhovo špecifických i skřížene reagujúcich protilátok. Typickým príkladom je sekundárna reaktivácia CMV a HHV-6 pri infekčnej mononukleóze vyvolanej EBV (6, 30).

Výsledok sérologického vyšetrenia musí byť hodnotený v súvislosti s klinickým stavom pacienta a s výsledkami iných laboratórnych vyšetrení. Plošný sérologický skrining žien pred graviditou (na selekciu a ďalšie sledovanie séronegatívnych osôb) sa vzhľadom na vysokú prevalenciu CMV v populácii a relatívne nízke percenta symptomatických kongenitálnych infekcií paušálne nerobí (29).

U imunodeficitných pacientov i novorodencov je sérologická diagnostika nedostatočná a je potrebné ju doplniť metódami priameho dôkazu CMV (21).

Stanovenie avidity (väzobnej schopnosti) IgG protilátok

Stanovenie avidity IgG protilátok je veľmi dôležité na diagnostiku CMV infekcie u gravidných žien. Využíva sa na odlišenie primárnej infekcie, keď je riziko transplacentárneho prenosu vírusu najvyššie, od reinfekcie/reaktivácie vírusu (31). Pri primárnej infekcii sa tvoria nízkoavidné protilátky, ktoré sú počas 2 – 4 mesiacov rekonvalescencie postupne nahrádzané protilátkami s vysokou aviditou (*cut-off* pre nízku aviditu sa v závislosti od použitej diagnostickej súpravy obyčajne udáva od 35 % do 50 %; pre vysokú aviditu v rozmedzí od 50 % do 65 %). Vysoká avidita anti-CMV IgG v 1. trimestri vylučuje primárnu infekciu počas gravidity a indikuje nízke riziko intrauterinnej transmisie vírusu. Naproti tomu, interpretácia sérologického výsledku so stredne vysokou, respektíve vysokou aviditou stanovenou v 2. alebo 3. trimestri je obťažná, nakoľko nie je možné jednoznačne vylúčiť primárnu infekciu počas tehotenstva (18, 30, 32).

Diagnostika primárnych infekcií sa môže v niektorých prípadoch doplniť o ďalšie testy, ako napríklad dôkaz anti-CMV glykoproteínu B (syntéza 50 až 100 dní po infekcii) (33).

Stanovenie špecifickej bunkovej imunitnej odpovede

U imunosuprimovaných pacientov po transplantácii je reaktivácia/reinfekcia, respektíve primárna infekcia CMV relatívne častým rizikovým faktorom rozvoja ochorenia. Profylaktická/včasná preemptívna terapia špecifickými antivírusovými látkami je ťažisková na zníženie morbidity a mortality u tejto skupiny pacientov (21, 22, 24). Vzhľadom na vysokú toxicitu preparátov a ďalšie nevýhody (napríklad neskorý nástup CMV ochorenia pri profylaktickej terapii a ťažkosti s určením *cut-off* hraníc vírusovej nálože na začatie preemptívnej terapie) sa už niekoľko rokov hľadá nástroj na odlišenie asymptomatickej aktivácie CMV od aktivácie s rizikom rozvoja CMV ochorenia. V rutinej praxi sa zvykne sledovať dynamika nálože CMV DNA pomocou kvantitatívnej PCR, avšak v posledných rokoch sa čoraz častejšie zdôrazňuje potreba sledovania rekonštitúcie bunkovej zložky adaptívnej imunity (napríklad pomocou ELISPOT alebo cytokinovej prietokovej cytometrie), konkrétne anti-CMV špecifických CD4+ a CD8+ T-lymfocytov a ich produktov, ktoré sú kľúčové na dosiahnutie dlhodobej protektivity proti reaktivácii vírusu a rozvoju ochorenia (25, 34, 35, 36, 37).

Priame metódy

V minulosti bola na dôkaz CMV infekcie štandardným postupom kultivácia vírusu *in vitro* na bunkových kultúrach (napríklad ľudské fibroblastové bunky). Vznik typického cytopatického efektu bolo možné pozorovať po 2 – 21 dňoch, t. j. že na vydanie negatívneho výsledku bolo nutné vzorku kultivovať minimálne 3 – 4 týždne. Zrýchlený variant kultivácie (tzv. shell vial assay) pomocou centrifugácie vzorky na monovrstvu fibroblastových buniek pomohol výrazne zrýchliť detekciu vírusu (38).

Vírusové antigény (najmä IE = immediate-early; t. j. veľmi skoré antigény, produkované na začiatku replikácie vírusu) môžu byť tiež detegované pomocou fluorescenčne značených monoklonových protilátok, a to už po 16 hodinách inkubácie vzorky (mikroskopicky alebo v mikrotitračných platničkách) (38).

Na diagnostiku CMV infekcie je použiteľná i metóda antigenémie pp65 (imunofluorescenčné mikroskopické stanovenie antigénu pp65, tegumentového fosfoproteínu CMV, v periférnych polymorfonukleároch a mononukleároch), hybridizácia *in situ*, imunohistochemické vyšetrenie vzoriek tkanív alebo tekutého biologického materiálu (pomocou fluorescenčných alebo enzýmovo značených monoklonových/polyklonových protilátok proti skorým CMV antigénom), metóda „hybrid capture“ (detekcia CMV DNA pomocou RNA značených sond) alebo dôkaz IE mRNA (veľmi skorý transkript CMV proteosyntézy) metódou NASBA (nucleic acid sequence-based amplification) (21, 22, 30, 38, 39, 40).

Je potrebné zdôrazniť, že hoci vyššie spomenuté metódy sa v priebehu niekoľkých posledných desiatok rokov postupne vyvíjali a používali či už diagnosticky, alebo na získanie nových poznatkov o CMV a jeho interakcii s hositeľom, vzhľadom na časovú náročnosť, prácnosť, požiadavky na erudovanú spôsobilosť pri hodnotení niektorých testov a v neposlednom rade i nižšiu citlivosť (okrem NASBA) sa v súčasnosti v rutinných laboratóriách už skoro vôbec nepoužívajú.

Amplifikačné metódy (najmä PCR na kvantitatívne stanovenie vírusovej nukleovej kyseliny) vďaka rýchlosti, vysokej citlivosti, špecifickosti a relatívne dobrej aplikovateľnosti stále viac nahrádzajú ostatné metódy priameho dôkazu vírusov (21, 22).

Pri vyšetrení vzoriek pomocou PCR, ktoré je realizované na účely diferenciálnej diagnostiky, je vhodné odberať materiál zodpovedajúci postihnutým orgánom: napríklad cerebrospinálny mok pri ochorení nervového systému, bronchoalveolárnu laváž (BAL) alebo spútum pri postihnutí dolných dýchacích ciest, výter zo spojkového vaku pri keratokonjunktivitídach, očné tekutiny pri retinitíde, biopsiu pri gastroenteritíde, periférnu nezrazenú krv pri akútnych horúčkových ochoreniach či uzlinových syndrómoch (30), plodovú vodu pri prenatalnej diagnostike a moč, sliny, krv, prípadne i iný materiál pri postnatálnej diagnostike kongenitálnych CMV infekcií (29, 38, 40).

Na základe dôkazu vírusovej DNA nie je možné odlišiť latentný vírus od replikujúceho. Výsledky kvalitatívneho vyšetrenia PCR môžu byť pozitívne ako v akútnej fáze infekcie, tak i v prodromálnom asymptomatickom štádiu, či vočasnej fáze rekonvalescencie (30). Sú to veľmi citlivé metódy, schopné zachytiť i malé množstvo vírusu (napríklad 100 – 1 000 kópií vírusového genómu/1 ml). Tieto metódy môžu detegovať i bezpríznakovú alebo lokálnu aktiváciu CMV. Rozlíšiť tieto štádiá je často možné len pomocou kvantitatívnej PCR (real time PCR).

Pri interpretácii nálezu je potrebné zohľadniť, z akého materiálu bolo vyšetrenie realizované. Najlepšie na posúdenie aktívnej CMV infekcie je vyšetrenie periférnej krvi s kvantitatívnym vyjadrením vírusovej nálože. Dôkaz DNA v slinách, moči alebo vaginálnom sekréte môže znamenať ako primárnu infekciu, tak i reinfekciu, či reaktiváciu. Pri náleze CMV DNA v BAL je potrebné zohľadniť možnú kontamináciu vplyvom asymptomatického vylučovania vírusu do nazofaryngeálneho sekréту. Na vylúčenie možnej „mylnnej“ positivity BAL je vhodné opakované alebo paralelné vyšetrenie BAL a periférnej krvi (30).

V diagnostike kongenitálnych infekcií je základom dôkaz primárnej infekcie, respektíve reinfekcie/reaktivácie CMV u matky v gravidite. Ak sa aktívna infekcia u matky potvrdí, respektíve je veľmi suspektná (sérokonverzia v triede IgG, výrazne vysoké hladiny anti-CMV IgM/IgG alebo významný vzostup hladiny špecifických protilátok, nízka avidita špecifických IgG, detekcia CMV DNA v krvi, moči alebo slinách matky, abnormálny ultrasonografický obraz plodu), je možné urobiť laboratórne vyšetrenia amniotickej tekutiny (metódou PCR). V tomto prípade má PCR metóda vysokú negatívnu aj pozitívnu prediktívnu hodnotu, výsledok je však nutné interpretovať v závislosti od gestačného týždňa (testovanie amniotickej tekutiny pred 21. týždňom gestácie má len asi 30 – 45 % senzitivitu) (41). Pozitívny výsledok testu indikuje, že došlo k prenosu infekčného agensa na plod.

Na diferenciálnu diagnostiku kongenitálnych CMV infekcií u novorodencov a najmä na odlišenie od peri-/postnatálnych infekcií je najvhodnejším materiálom moč, respektíve sliny odobraté do cca 2 týždňov po narodení dieťaťa (38). Pozitívna potvrdí infekciu, ktorá môže byť symptomatická alebo asymptomatická. Pri liečbe symptomatických infekcií sa zvykne monitorovať množstvo DNA vírusu v periférnej krvi, prípadne paralelne i v inom biologickom materiáli (napríklad moč, BAL, ascites) kvantitatívnou PCR metódou (30, 38).

Problémom je retrospektívny dôkaz kongenitálnej infekcie u detí, u ktorých sa klinické príznaky prejavujú oneskorene a prítomnosť aktívnej CMV infekcie sa už nedá dokázať. Na retrospektívne stanovenie infekcie CMV sa môže použiť detekcia CMV DNA z vysušených vzoriek krvi aplikovaných hneď po pôrode na tzv. perinatálne karty (Guthrie cards) (42, 43, 44). Periférna nezrazená krv je vhodným materiálom pri monitorovaní infekcie na účely včasného záchytu aktivácie vírusu u vysoko rizikových pacientov (napríklad pacienti po transplantácii, pacienti s AIDS, nedonosení novorodenci v riziku perinatálnej infekcie) pomocou kvalitatívnej PCR a pri monitorovaní úspešnosti terapie sledovaním vírusovej nálože pomocou kvantitatívnej molekulárno-biologickej metódy (21, 22, 23, 24, 45, 46).

Rezistencia CMV voči antivírusovým látkam sa stáva stále väčším klinickým problémom, najmä pri liečbe pacientov po transplantácii a HIV pozitívnych pacientov. Na diagnostiku rezistencií je najviac využívaná sekvenácia genómu CMV a sledovanie mutácií v úsekoch kódujúcich *UL97* (gén pre fosfotransferázu) alebo *UL54* (gén pre vírusovú DNA polymerázu). Diagnostika je však veľmi nákladná, nedáva kvantitatívny výsledok (t. j. nevieme koľko % vírusovej populácie danú mutáciu obsahuje), a tiež je náročná na interpretáciu (môžu byť detegované i náhodné, irelevantné mutácie), preto nebýva dostupná v rutinných laboratóriách (47).

Terapia a profylaxia

Liečba primárnej, nekomplikovanej CMV infekcie u imunokompetentných osôb je obvyčajne symptomatická (podporná terapia, pečťová diéta, obmedzenie fyzicky náročných aktivít). Špecifická antivírusová terapia sa podáva len vo výnimočných prípadoch, napríklad pri meningoencefalitíde, očných komplikáciách alebo ťažkej pneumónii vyvolanej CMV infekciou/aktiváciou (16).

Na liečbu pacientov so závažným priebehom CMV infekcie sa obvyčajne používa gancyklovir, foskarnet alebo cidofovir. Tieto lieky však majú veľa nežiaducich vedľajších účinkov, pri ktorých medzi najzávažnejšie patrí myelotoxicita a nefrotoxicita (48, 49). Novšie preparáty, ako napríklad brincidofovir, maribavir, leflunomid, majú viaceré výhody (menšia toxicita, lepšia biologická dostupnosť, vyššia účinnosť lieku), no sú ekonomicky nákladnejšie (50, 52, 53). Každé transplantačné centrum má svoje algoritmy na manažment pacienta v závislosti od typu transplantácie, biologických parametrov donora a recipienta a iných rizikových faktorov. Profylaktická terapia sa volí najmä u séronegatívnych príjemcov, ktorým sa transplantuje štep/orgán od séropozitívneho darcu. Preemptívna terapia sa zvykne voliť u menej rizikových pacientov (21, 22, 24). Podľa typu transplantácie a ďalších rizikových faktorov sa nastaví tzv. *cut-off* hladina vírusovej nálože, po prekročení ktorej sa podáva špecifická antivírusová látka. Ďalšou možnosťou pri aktivácii CMV je redukcia imunosupresie, podávanie intravenózneho imunoglobulínu alebo transfer *ex vivo* upravených klonov cytotoxických T-lymfocytov špecifických proti CMV, izolovaných od darcu transplantátu (25, 36, 54).

Špecifická antivírusová terapia nie je vhodná na aplikáciu v gravidite. Kladný efekt zabránenia ťažkého poškodenia plodu sa pozoroval napríklad podaním hyperimúnneho imunoglobulínu matke intravenózne (raz mesačne až do pôrodu), respektíve intraamniotickou infúziou alebo infúziou do pupočníkovej žily (55, 56).

Pri laboratórne potvrdenej kongenitálnej CMV infekcii sú symptomatickí novorodenci obvyčajne liečení gancyklovirom/valgancyklovirom (57, 58). Na profylaktickú terapiu asymptomatických novorodencov nie je jednotný názor. Zatiaľ nie je možné definovať, u ktorých z nich sa v priebehu rokov prejavia neskoré následky kongenitálnej infekcie, ako napríklad strata sluchu, aby boli cielene liečení len títo pacienti. Vzhľadom na toxicitu preparátu a možné riziko vzniku anémie v dôsledku podávania antivírusovej látky sa v súčasnosti skôr odporúča pravidelné monitorovanie dieťaťa v špecializovaných ambulanciách (napríklad ORL, očné oddelenie) počas niekoľkých rokov po narodení pre včasnú intervenciu v prípade rozvoja senzorieurálnej poruchy (podanie gancykloviru, logopedické cvičenia, kochleárny implantát) (59, 60). Ďalším problémom z hľadiska ekonomických nákladov sa javí otázka zavedenia plošného skríningu novorodencov na selekciu detí s asymptomatickou kongenitálnou CMV infekciou, ktoré by danému monitoringu malo predchádzať.

Pri postnatálnych infekciách býva liečba antivirotikami indikovaná v závislosti od klinického stavu dieťaťa. V rámci prevencie proti postnatálnej CMV infekcii u nedonosencov sa odporúča podávať materské mlieko po šetrnej tepelnej inaktivácii (údajne je optimálne zahriatie 5 minút na 72 °C) (61).

Možnosti prevencie kongenitálnej CMV infekcie a prevencie alebo aspoň zmiernenia CMV ochorení u imunosuprimovaných pacientov pomocou vakcinácie sú zatiaľ v štádiu výskumu. Viaceré vakcíny už boli testované na vybraných skupinách pacientov: živá atenuovaná vakcína, rekombinantné vakcíny, DNA vakcína alebo subjednotková vakcína (obsahujúca glykoproteín B) (25, 29, 62).

Literatúra

- Rajčáni J, Čiampor F. *Lekárska virológia*. Bratislava: Veda; 2006: 574.
- Klein M, Schoppel K, Amvrossiadis N, et al. Strain-Specific Neutralization of Human Cytomegalovirus Isolates by Human Sera. *J Virol*. 1999;73(2):878–886.
- Boeckh M, Leisenring W, Riddell SR, et al. Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity. *Blood*. 2003;101(2):407–414.
- Akhter K. *Cytomegalovirus Clinical Presentation* [online]. Available from: <<http://emedicine.medscape.com/article/215702-clinical>>. Updated August 12, 2015.
- Stagno S. Cytomegalovirus. In: Remington JS, Klein JO, eds. *Infectious diseases of the fetus and new born infant*. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 2001: 389–424.
- Arora N, Novak Z, Fowler KB, et al. Cytomegalovirus Viruria and DNAemia in Healthy Seropositive Women. *J Infect Dis*. 2010;202:1800–1803.
- Cannon MJ, Hyde TB, Schmid DS. Review of cytomegalovirus shedding in bodily fluids and relevance to congenital cytomegalovirus infection. *Rev Med Virol*. 2011;21(4):240–255.
- Noyola DE, Demmler GJ, Williamson WD, et al. Cytomegalovirus urinary excretion and long term outcome in children with congenital cytomegalovirus infection. Congenital CMV Longitudinal Study Group. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19:505–510.
- Zanghellini F, Boppana SB, Emery VC, et al. Asymptomatic primary cytomegalovirus infection: virologic and immunologic features. *J Infect Dis*. 1999;180:702–707.
- Swanson EC, Schleiss MR. Congenital Cytomegalovirus Infection: New Prospects for Prevention and Therapy. *Pediatr Clin North Am*. 2013;60(2):10.1016/j.pcl.2012.12.008.
- Vochem M, Hamprecht K, Jahn G, et al. Transmission of cytomegalovirus to preterm infants through breast milk. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17:53–58.
- Hamprecht K, Maschmann J, Vochem M, et al. Epidemiology of transmission of cytomegalovirus from mother to preterm infant by breastfeeding. *Lancet*. 2001;357:513–518.
- Cook CH, Trgovcich J. Cytomegalovirus reactivation in critically ill immunocompetent hosts: A decade of progress and remaining challenges. *Antiviral Res*. 2011;90(3):151–159.
- Lancini D, Faddy HM, Flower R, et al. Cytomegalovirus disease in immunocompetent adults. *Med J*. 2014;201(10):578–580.
- Osawa R, Singh N. Cytomegalovirus infection in critically ill patients: a systematic review. *Critical Care*. 2009;13:R68.
- Rafailidis PI, Mourtzoukou EG, Varbobitis IC, et al. Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Viral J*. 2008;5:47.
- Boppana SB, Rivera LB, Fowler KB, et al. Intrauterine transmission of cytomegalovirus to infants of women with preconceptional immunity. *N Engl J Med*. 2001;344:1366–1371.
- Centers for Disease Control and Prevention: *Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection* [online]. Available from: <<http://www.cdc.gov/cm/cv/clinical/features.html>>.
- Vollmer B, Seibold-Weiger K, Schmitz-Salue C, et al. Postnatally acquired cytomegalovirus infection via breast milk: effects on hearing and development in preterm infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23(4):322–7.
- Brecht KF, Goelz R, Bevoť A, et al. Postnatal human cytomegalovirus infection in preterm infants has long-term neuropsychological sequelae. *J Pediatr*. 2015;166(4):834–9.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2014.11.002.
- Azevedon LS, Pierrotti LC, Abdala E, et al. Cytomegalovirus infection in transplant recipients. *CLINICS*. 2015;70(7):515–523.
- Bhat V, Joshi A, Sarode R, et al. Cytomegalovirus infection in the bone marrow transplant Patient. *World J Transplant*. 2015;5(4):287–291.
- 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 Infectious Diseases*. 2007;7:127.
- Bruminhent J, Razonable RR. Management of cytomegalovirus infection and disease in liver transplant recipients. *World J Hepatol*. 2014;6(6):370–383.
- Einsele H. Immunotherapy for CMV infection. *Cytotherapy*. 2002;4(5):435–436.
- Roman A, Manito N, Campistol JM, et al.; ATOS working group. The impact of the prevention strategies on the indirect effects of CMV infection in solid organ transplant recipients. *Transplant Rev*. 2014;28(2):84–91.
- Rubin RH. The indirect effects of cytomegalovirus infection on the outcome of organ transplantation. *JAMA*. 1989;261(24):3607–3609.
- Couzi L, Pitard V, Moreau J-F, et al. Direct and Indirect Effects of Cytomegalovirus-Induced $\gamma\delta$ T Cells after Kidney Transplantation. *Frontiers in Immunology*. 2015;6:3. doi:10.3389/fimmu.2015.00003.
- Revello MG, Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus and newborn infant. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(4):680–715.
- Roubalová K. Laboratorní diagnostika herpetických virů. *Med. Pro Praxi*. 2010;7(5):241–244.
- Kanengisser-Pines B, Hazan Y, Pines G, et al. High cytomegalovirus IgG avidity is a reliable indicator of past infection in patients with positive IgM detected during the first trimester of pregnancy. *J Perinat Med*. 2009;37(1):15–18.
- Prince HE, Lapé-Nixon M. Role of Cytomegalovirus (CMV) IgG Avidity Testing in Diagnosing Primary CMV Infection during Pregnancy. *Clin Vaccine Immunol*. 2014;21(10):1377–1384.
- Sipewa MJ, Goubau P, Bodeus M. Evaluation of a cytomegalovirus glycoprotein B recombinant enzyme immunoassay to discriminate between a recent and a past infection. *J Clin Microbiol*. 2002;40(10):3689–3693.
- Egli A, Binet I, Binggeli S, et al. Cytomegalovirus-specific T-cell responses and viral replication in kidney transplant recipients. *Journal of Translational Medicine*. 2008;6:29.
- Gabanti E, Bruno F, Lillieri D, et al. Human Cytomegalovirus (HCMV) – Specific CD4+ and CD8+ T Cells Are Both Required for Prevention of HCMV Disease in Seropositive Solid-Organ Transplant Recipients. *PLoS ONE*. 2014;9(8):e106044.
- Hanley PJ, Bollard CM. Controlling Cytomegalovirus: Helping the Immune System Take the Lead. *Viruses*. 2014;6:2242–2258.
- Lillieri D, Gerna G, Fornara C, et al. Prospective simultaneous quantification of human cytomegalovirus-specific CD4+ and CD8+ T-cell reconstitution in young recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants. *Blood*. 2006;108(4):1406–1412.
- Ross SA, Novak Z, Pati S, et al. Diagnosis of Cytomegalovirus Infections. *Infect Disord Drug Targets*. 2011;11(5):466–474.
- Gerna G, Baldanti F, Lillieri D, et al. Human Cytomegalovirus Immediate-Early mRNA Detection by Nucleic Acid Sequence-Based Amplification as a New Parameter for Preemptive Therapy in Bone Marrow Transplant Recipients. *J Clin Microbiol*. 2000;38(5):1845–1853.
- Revello MG, Lillieri D, Zavattoni M, et al. Prenatal diagnosis of congenital human cytomegalovirus infection in amniotic fluid by nucleic acid sequence-based amplification assay. *J Clin Microbiol*. 2003;41(4):1772–1774.
- Liesnard C, Donner C, Brancart F, et al. Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection: prospective study of 237 pregnancies at risk. *Obstet. Gynecol*. 2000;95:881–888.
- Boppana SB, Ross SA, Novak Z, et al. for the National Institute on Deafness and Other Communication Disorders CMV and Hearing Multicenter Screening (CHIMES) Study: Dried blood spot real-time polymerase chain reaction assays to screen newborns for congenital cytomegalovirus infection. *JAMA*. 2010;303(14):1375–1382.

43. Misono S, Sie KCY, Weiss NS, et al. Congenital Cytomegalovirus Infection in Pediatric Hearing Loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2011;137(1):47–53.
44. Scanga L, Chaing S, Powell C, et al. Diagnosis of human congenital cytomegalovirus infection by amplification of viral DNA from dried blood spots on perinatal cards. *J Mol Diagn.* 2006;8(2):240–245.
45. Hučková D, Kollárová K, Jančovičová K, et al. Monitoring CMV ochorenia u pacienta po transplantácii obličky a u pacienta po TKB pomocou real-time PCR. *KMIL.* 2005;11(5):176–181.
46. Razonable RR, Hayden RT. Clinical Utility of Viral Load in Management of Cytomegalovirus Infection after Solid Organ Transplantation. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(4):703–727.
47. Drew WL. Cytomegalovirus Resistance Testing: Pitfalls and Problems for the Clinician. *Clin Infect Dis.* 2010;50(5):733–736.
48. Deray G, Martinez F, Katlama C, et al. Foscarnet nephrotoxicity: mechanism, incidence and prevention. *Am J Nephrol.* 1989;9:316–321.
49. Sommadossi JP, Carlisle R. Toxicity of 3'-azido-3'-deoxythymidine and 9-(1,3-dihydroxy-methyl) guanine for normal human hematopoietic progenitor cells in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 1987;31:452–454.
50. Alain S, Revest M, Veyer D, et al. Maribavir use in practice for cytomegalovirus infection in French transplantation centers. *Transplant Proc.* 2013;45(4):1603–1607.
51. Chong AS, Zeng H, Knight DA, et al. Concurrent antiviral and immunosuppressive activities of leflunomide in vivo. *Am J Transplant.* 2006;6:69–75.
52. McGregor A, Yeon Choi K. Cytomegalovirus Antivirals and Development of Improved Animal Models. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2011;7(10):1245–1265.
53. Marcelin JR, Beam E, Razonable RR. Cytomegalovirus infection in liver transplant recipients: Updates on clinical management. *World Journal of Gastroenterology.* 2014;20(31):10658–10667.
54. Sokos DR, Berger M, Lazarus HM. Intravenous immunoglobulin: appropriate indications and uses in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2002;8(3):117–130.
55. Nigro G, Adler SP, Parruti G, et al. Immunoglobulin Therapy of Fetal Cytomegalovirus Infection Occurring in the First Half of Pregnancy – A Case-Control Study of the Outcome in Children. *J Infect Dis.* 2012;205(2):215–227.
56. Nigro G, Adler SP, La Torre R, et al. for the Congenital Cytomegalovirus Collaborating Group: Passive Immunization during Pregnancy for Congenital Cytomegalovirus Infection. *N Engl J Med.* 2005;353:1350–1362.
57. Nassetta L, Kimberlin D, Whitley R. Treatment of congenital cytomegalovirus infection: implications for future therapeutic strategies. *J Antimicrob Chemother.* 2009;63(5):862–867.
58. Amir J, Wolf DG, Levy I. Treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection with intravenous ganciclovir followed by long-term oral valganciclovir. *Eur J Pediatr.* 2010;169(9):1061–7.
59. Lackner A, Acham A, Alborn T, et al. Effect on hearing of ganciclovir therapy for asymptomatic congenital cytomegalovirus infection: four to 10 year follow up. *J Laryngol Otol.* 2009;123(4):391–396.
60. Morton CC, Nance WE. Newborn hearing screening – a silent revolution. *N Engl J Med.* 2006;354(20):2151–2164.
61. Hamprecht K, Maschmann J, Müller D, et al. Cytomegalovirus (CMV) inactivation in breast milk: reassessment of pasteurization and freeze-thawing. *Pediatr Res.* 2004;56(4):529–35.
62. Sung H, Schleiss MR. Update on the current status of cytomegalovirus vaccines. *Expert Rev Vaccines.* 2010;9(11):1303–1314.



RNDr. Daniela Hučková
Medirex, a. s.
Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava
daniela.hučkova@medirex.sk

SIEMENS

Taký malý, že sa zmestí do vášho vrecka Taký presný, že ho možno používať v laboratóriu

S novým koagulačným analyzátorom Xprecia Stride spoločnosť Siemens Healthcare reaguje na požiadavky, akými sú správnosť a presnosť výsledkov v oblasti point of care.

V dnešnom prostredí point of care (POC) musíte byť schopní rýchlo prijať rozhodnutia na základe výsledkov, ktorým dôverujete. Preto spoločnosť Siemens Healthcare vyvinula nový analyzátor Xprecia Stride™. Teraz v priebehu niekoľkých minút získate výsledky v laboratórnej kvalite, na ktoré sa pri vašom rozhodovaní o diagnóze pacienta spoliehate.

Xprecia Stride je inovátorom na poli malých kompaktných PT/INR analyzátorov, ktorých dizajn je navrhnutý tak, aby spĺňal požiadavky na súčasné trendy v point of care.

Tento koagulačný analyzátor, charakteristický ergonomickým dizajnom s veľkou intuitívnou dotykovou obrazovkou, zvyšuje pohodlie používateľa, zjednodušuje pracovné postupy a zlepšuje celkovú presnosť testovania.

Už viac ako 30 rokov je spoločnosť Siemens Healthcare celosvetovým lídrom v oblasti laboratórneho testovania hemostázy. Analyzátor Xprecia Stride v súčasnosti reprezentuje najlepšiu voľbu v rámci merania PT/INR pre potreby POC.

Testujte s presnosťou a dôverujte výsledku. Spoločnosť Siemens Healthcare poskytuje kvalitné testovanie v oblasti hemostázy od laboratória až po lôžko pacienta.

Pre viac informácií kontaktujte: jana.stefanovicova@siemens.com
Tel.: +421 2 5968 2521, Adresa: Siemens Healthcare s.r.o.
Lamačská cesta 3/A, 841 04 Bratislava.