

A humán cytomegalovírus fertőzés klinikai jelentősége, laboratóriumi diagnosztikai lehetőségei

The clinical significance, laboratory diagnostics possibilities of human cytomegalovirus infection

CSIRE MÁRTA DR.

Nemzeti Népegészségügyi Központ, Mikrobiológiai Referencia Laboratóriumi Főosztály, Virologiai Laboratóriumi Osztály, Budapest

ÖSSZEFOGLALÁS

A humán cytomegalovírus (CMV vagy humán bétaherpesvírus 5) a Herpesviridae család, Betaherpesvirinae alcsalád, Cytomegalovirus nemzetségbe tartozó vírus. A lineáris duplaszálú DNS genomja legnagyobb az emberi herpesvírusok között. Az elsődleges fertőzést követően a CMV perzisztál a szervezetben és reaktiválódhat. A vírus átvitele történhet a fertőzött testfolyadékokkal (pl.: nyál, vér, anyatej, sperma, hüvelyváladék, vizelet), valamint szerv és csontvelő átültetésekkel és vertikálisan az anyáról a magzatra. Világviszonylatban a CMV-fertőzés a leggyakoribb veleszületett vírusinfekció. A várandós fertőződése megállapítható CMV specifikus szerológiai módszerekkel. Az immunszuppresszióval az újabb és gyors diagnosztikai vizsgálatok lehetővé tették a preemtív antivirális kezelést a morbiditás és mortalitás csökkentésére.

Kulcsszavak:

humán cytomegalovírus –
humán bétaherpesvírus-5 –
kongenitális vírusfertőzés –
prenatalis diagnosztika – immunszuppresszió
– diagnózis

SUMMARY

Human cytomegalovirus (CMV or Human betaherpesvirus 5) was classified as belonging to the Cytomegalovirus genus within the subfamily Betaherpesvirinae of the Herpesviridae family. Its linear double-stranded DNA genome is the largest among human herpesviruses. After the primary infection, CMV is capable of latency and reactivation. The virus is transmitted between individuals via all body fluids (e.g. saliva, blood, breast milk, semen, vaginal secretions, urine) as well as through bone marrow and solid organ transplants and vertically from the mother to the fetus. The most common worldwide congenital viral infection is the CMV infection. Maternal CMV infection is typically diagnosed by serology. In the immunocompromised host, newer rapid diagnostic assays have made preemitive treatment feasible to reduce morbidity and mortality.

Key words:

human cytomegalovirus –
human betaherpesvirus-5 –
congenital infection –
prenatal diagnosis – immunocompromised
– diagnosis

A humán cytomegalovírus tulajdonságai, a terjedési módja és az okozott kórképek

A humán cytomegalovírus (CMV) duplaszálú lineáris DNS genommal rendelkező burkos vírus, a látenciája vagy a DNS megsokszorozódása során a lineáris genom gyűrűvé záródik. A CMV-törzsek genetikailag különbözőek lehetnek. A teljes genom hossza kb. 235 kilobázispár, amelyet ikozahedrális kapszid vesz körül. A nukleokapszid és a burok között a tegumentnek nevezett fehérje réteg helyezkedik el. A bu-

rok glikoproteinjein (gB, gH és gCII) találhatóak a neutralizáló ellenanyagok termeléséért felelős epitópok. A vírust humán fibroblaszt tenyészetben lehet izolálni, azonban *in vivo* epithelsejtekben is szaporodik (1, 2).

A vírus reservoárja az ember, a fertőzések egész évben történhetnek. Az átvészelttség az életkorral arányosan nő, a népesség szeroprevalenciája 30–97%-ig terjed, ez függ az életkortól, nemtől, a szociális és gazdasági viszonyoktól (1, 3). Magyarországon a felnőtt lakosság körülből 86%-a szeropozitív (4). Várandósok körében ha-

Levelező szerző: Csire Márta dr.

e-mail: csire.marta@nnk.gov.hu

zánkban a CMV szeroprevalencia a kedvező higiénés viszonyokra jellemző: 40–80% védett, 20–60% fogékony (956 várandós elemzése során 65,4% szeropozitív, 33,3% fogékony) (5).

A fertőzés forrása a fertőzött egyén testfolyadékai, így a nyál, vizelet, széklet, könny, vér, méhnyakváladék, ondó-folyadék és az anyatej. A vírus terjedhet transzplantált szervvel, csontvelővel, ritkán vértranszfúzióval, a várandósság alatt anyáról magzatra, szüléskor a fertőzött hüvelyváladékkal vagy később az anyatejjel az újszülöttre. A koraszülött csecsemők kb. 15%-a a születés után a szeropozitív édesanyjától az anyatejben ürülő vírus útján fertőződik (6).

A CMV-fertőzésre jellemző, hogy az elsődleges fertőzés után minden esetben életre szóló látenciát alakít ki a gazdaszervezet CD34+ mieloid prekursor sejtjeiben (7), további látencia helyek lehetnek a dendritikus sejt-prekursorok, perifériás vér monocitái, nyálmirigyek és vese epiteliális sejtjei és a fertőzés perzisztenssé válik. Ebben a látens állapotban élethosszig képes megbújni a vírus, a gazdaszövet sejt-magjában legtöbbször extrakromoszómálisan perzisztál, majd bizonyos ingerek hatására aktiválódhat és szaporodhat, újra aktív fertőzést okozva. Előfordulhat reinfekció, amikor egy másik, eltérő antigén-tulajdonságú CMV-törzssel a külvilágból fertőződik meg az egyén.

A nagy genetikai állománnyal rendelkező CMV a filogenezis során olyan mechanizmusokat fejlesztett ki, amellyel elkerüli vagy módosítja az immunrendszer működését. A gyulladási folyamatokban központi szerepet játszó kemo-kinokkal homológ fehérje (US 28 génterméke) szintézisére képes, továbbá Fc-receptor szerű fehérjét termel és így a sejt felszínén megjelenő Fc-receptorok megkötik a CMV ellenes IgG-t, ezáltal gátolva az ellenanyag-mediált immunválaszt. Az MHC-I. (major histocompatibility complex-I) molekulák sejt felszínre jutását, átirását vagy a TAP (transporters associated with antigen processing; peptidpumpa) fehérjék révén történő peptid ellátást akadályozva elrejtik a fertőzött sejtet a citotoxikus T sejtek (CTL) általi felismeréstől. Immunszuppresszált állapotban, akár elsődleges fertőzés vagy reaktiváció esetén a látens állapot megszűnését kiváltó speciális inger a gyulladáshoz vezető nagy mennyiségben termelődő TNF- α (tumornekrózis faktor), amely kötődik a vírust hordozó sejtek TNF receptoraihoz, ezzel aktiválva a proteinkináz C-t és a nukleáris transzkripció faktor (NF- κ B), melynek eredménye egy heterodimer, ami kötődik a CMV IE (immediate early) génrégióhoz és elindítja virális replikációt. Másrészt a stressz katekolaminok (adrenalin és noradrenalin) emelik a sejten belüli ciklikus AMP (cAMP) szintet, amely szintén stimulálja IE enhancer/promóter régiót. Az utóbbin keresztül hatnak a gyulladáshoz vezető folyamatokban termelődő proinflammatorikus prosztaglandinok is, ezzel magyarázható, hogy pl. szervtranszplantáltaknál a CMV-fertőzés különböző folyamatokhoz kapcsolódik. A különböző gyulladáshoz vezető folyamatok kiváltják a CMV reaktivációját, ugyanakkor a szaporodó CMV által kiváltott immunválasz tovább erősíti a gyulladáshoz vezető folyamatot. Továbbá az immunszuppresszív kezelés is befolyásolja a fertőzés kialakulását, például a graftkilökődés miatt alkalmazott monoklonális vagy poliklonális T-lymphocyta ellenanyagok

(OKT3, ATG, ALG) fokozzák az infekció kialakulásának veszélyét.

A fertőzés elleni védelemben döntő fontosságú a veleszületett immunitás elemeinek aktivációja, amely meggátolja a vírus nagymértékű elszaporodását. Fertőzött sejtek azonnali reakcióként I. típusú interferonokat (IFN α -t és β -t) termelnek, melyek a környező sejtekben antivirális rezisztenciát indukálnak. A fertőzött sejtek gyors elpusztításában a NK-sejtek szerepe döntő, míg a komplementrendszer lektin vagy alternatív úton való aktiválása a vírusok lízisét okozhatja. Az adaptív válasz során aktiválódó és effektorsejtté differenciálódó CTL sejtek citotoxikus aktivitásuk révén nagy fajlagossággal pusztítják el a fertőzött sejteket. Az ezzel párhuzamosan kialakuló antitestek a vírusokhoz kötődve megakadályozzák a további fertőzést, illetve az opszonizáció révén fokozzák a vírus fagociták általi felvételét és elpusztítását. Mivel az ellenanyaggal fedett vírusok aktiválják a komplementrendszer klasszikus útját, az opszonizált részecskék nemcsak az Fc-, hanem a komplement-receptorokhoz (CR3, CR4) is kötődnek, ami még hatékonyabbá teszi a vírus bekebelezését és eliminálását. Azonban az opszonizáció révén akár fokozódhat is a fertőzés azáltal, hogy segítik a kórokozó Fc- és komplementreceptorokon keresztül történő sejtbe jutását. Így a vírus olyan sejtekbe is bejuthat, amelyek nem hordozzák a vírus-specifikus receptort. A CMV többféle sejt-receptorhoz kapcsolódhat, így például az epidermális növekedési faktorhoz (EGFR), heparin-szulfát proteinglikánhoz (HSPG) és Toll-like receptorokhoz (TLR), ezért a szervezet csaknem valamennyi sejtjében képes szaporodni.

A primer fertőzés az ép immunrendszerrel rendelkező személyekben gyakran tünetmentes, vagy enyhe nem specifikus tünetek jelentkeznek (gyengeség, láz, izzadás, izomfájdalom, atípusos lymphocytosis és hepatitis), vagy a mononucleosis infectiosa alakulhat ki. A mononucleosis infectiosa esetek kb. 20–25%-áért a CMV felelős, amelyre a negatív heterofil agglutinációs teszt (Paul-Bunnell) jellemző (1, 2). CMV-mononucleosis esetén maculopapulosus, morbilliform, scarlatiform vagy rubeolaszerű bőrkiütések jelentkezhetnek. A gyermekkori klasszikus virális exanthemák jól ismertek, a felnőttekben ritkán különböznek egymástól. Bizonyos klinikai jellemzők, mint pl. a petechiák, a vezikulumok és a morbilliform kiütések a vírus eredet felé mutatnak. A morbilliform kiütések okát sokszor nehéz megállapítani, így szükséges, hogy a laboratóriumi vizsgálat erősítse a diagnózist (1. táblázat) (8, 9). Az akut fertőzés után visszamaradó myocarditis, pleuritis, arthritis, encephalitis vagy Guillain-Barre-szindróma ritka és súlyos szövődménynek számít. A rekurrens fertőzés immunkompetens egyénekben általában tünetmentes.

Az immunológiailag károsodott egyénekben gyakran súlyos betegségek fordulnak elő mind a primer fertőzés, mind pedig a reaktiváció során. Transzplantált személyeknél és AIDS stádiumban lévők között növekszik az életet veszélyeztető kórképek száma, CMV pneumonitis és chorioretinitis, colitis, encephalitis. A CMV által okozott infekció az egyike a leggyakrabban előforduló szervátültetést követő virális fertőzéseknek, amely befolyásolja a transzplantált szerv és a beteg túlélését is.

Klinikai szindróma	Vírus	Lappangási idő	Populáció	Kiütés	Egyéb jellemzők	
mononucleosis infectiosa	CMV	4-12 hét	gyermek	Gianotti-Crosti szindróma	aszimptomatikus	
			immunkompetens felnőtt	morbilliform (penicillin antibiotikum adása után), petechia vagy urticaria	aszimptomatikus vagy mononucleosis infectiosa	
			immunhiányos felnőtt	toxikus epidermalis necrolysis	viraemia	
	EBV	4-8 hét	gyermek	morbilliform	aszimptomatikus	
			immunkompetens felnőtt	akut fertőzés: morbilliform (elsődleges vagy penicillin antibiotikum adása után), társult: Gianotti-Crosti szindróma, erythema multiforme, akut genitális fekély	aszimptomatikus vagy mononucleosis infectiosa +/- splenomegalia, lépruptúra	
			immunhiányos felnőtt	oral hairy leukoplakia	Burkitt lymphoma, Hodgkin lymphoma, T-sejt lymphomák	
	HHV-6 és HHV-7	5-12 nap	gyermek	roseola infantum		
			immunkompetens felnőtt	morbilliform vagy morbilliform petechiákkal	mononucleosis-szerű szindróma, pityriasis rosea	
			immunhiányos felnőtt	morbilliform	láz és csontvelő szuppresszió	
	HIV	változó	felnőtt	akut fertőzés	makuláris vagy morbilliform,	mononucleosis-szerű szindróma
krónikus fertőzés				társult: papuláris dermatitis, molluscum contagiosum, eozinofil folliculitis		

Rövidítések: CMV: humán cytomegalovírus, EBV: Epstein-Barr vírus, HHV-6: human bétaherpesvírus 6, HHV-7: humán bétaherpesvírus 7, HIV: humán immundeficiencia vírus

1. táblázat

A morbilliform kiütések virális okainak jellemzői

Kongenitális és perinatális fertőzések

A CMV-fertőzés a leggyakoribb veleszületett vírusinfekció, az élveszülések 0,2–2,2%-át érinti világszerte. A magzat fertőzése a várandósság bármely trimeszterében bekövetkezhet. A CMV okozta veleszületett fertőzés az USA-ban és Európában az újszülöttek 1–4%-át érinti. A primer anyai CMV-fertőzés kb. 40%-ban (25–75%) átterjed a magzatra. Recurrens fertőzés után ez az arány 0,5–1%, ami arra utal, hogy az anyai immunitás – ha nem is akadályozza meg –, de jelentősen csökkenti a vírus átvitelét. Magyarországon becslést alapján az újszülöttek 1–2%-a születik kongenitális CMV-fertőzéssel (2), a magzatok 10–15%-ában születéskor észlelnek klinikai tüneteket, legsúlyosabb megnyilvánulása a cytomegalias zárványbetegség. Tünetei a hepatosplenomegalia, sárgaság, petechiák, purpurák, microcephalia, agyi kalcifikáció és chorioretinitis. Ezeknél a csecsemőknél a központi idegrendszer fejlődési zavarainak mértékétől függően szellemi visszamaradottság, progrediáló halláskárosodás és látászavar jelentkezik, a csecsemők egy része meghal. A tünetmentes CMV-fertőzött újszülöttek 10–15%-ában évek múlva, esetleg csak iskoláskorra alakulnak ki a progrediáló neurológiai elváltozások (2, 3, 10). A fogékony gravidák fertőződése zömében inapparens, de mononucleosis infectiosaként is jelentkezhet. A terhesség alatti primer CMV-fertőzés aránya 1–4%, reinfectio ritkán fordul elő. A várandósság alatti CMV fertőzés lehetséges következményeit a 2. táblázat foglalja össze.

Ha a vírus átvitele transzplacentárisan történik, a viraemia alatt a méhlepényen át a foetusba jut, ahol cytolysis és vasculitis miatt fokális elhalások, gyulladások lesznek. A magzati károsodás mértéke az átjutott vírus mennyiségétől, a CMV-törzs virulenciájától és a gesztációs kortól függ. A várandósság első felében (24 hétig) történt fertőzés után a magzatnak születéskor már tünetei vannak. A gesztáció későbbi szakában történt fertőzés esetén tünetmentesen fertőzött gyermek születik, akinek a születés után fokozatosan lesznek tünetei. A graviditás 3–4. hónapjában történt fertőzés okozza a CMV-encephalitist, mely micro- és hydrocephaliához, periventriculáris meszesedéshez, mentális retardációhoz vezet. Előfordul, hogy a CMV hepatitiszt és következményes ascitist okoz, ez ultrahangvizsgálattal észrevehető. Prenatális diagnosztika különítheti el az egyéb ok miatt kialakult elváltozástól (pl. a parvo- vagy hepatitis B fertőzéstől).

A primer anyai CMV-fertőzés után 10–15% eséllyel már a születéskor beteg az újszülött. A tünetmentesen fertőzött újszülöttek és a halállal végződő esetek között számos átmenet van. A magzatok fele intrauterin sorvad, sok a koraszülött (30%). A beteg újszülött tünetei változatosak. Leggyakrabban icterus (direkt bilirubinszint-emelkedéssel), emelkedett ALT-értékek, thrombopenia, petechiák, hepatosplenomegalia, hepatitis, micro- és hydrocephalia, intracranialis meszesedés, chorioretinitis, microphthalmia, letargia, tónuseloszlási zavar, gyenge szopókészség, görcsök észlelhetők. Májelégtelenség és disszeminált intravasculáris coagulatio (DIC)

	Átvészelttség (CMV IgG+/IgM-) 40–80%	Fogékonyság (CMV IgG-/IgM-) 20–60%
Várandósság alatti fertőzés	Szekunder (reinfekció, reaktiváció) 0,5–1%	Primer 1–4%
Magzat fertőződése	1% körüli	40% (25–75%)
A magzati fertőzés lehetséges klinikai megnyilvánulásai	Hallás-, látáskárosodás, késői többnyire enyhe mentális károsodás	spontán abortusz, magzatkárosodás (hepatosplenomegalia, hyperchrom anaemia, erythroblastosis, microcephalia, hydrocephalia, ventriculomegalia, intracranialis calcificatio, növekedési rendellenesség), halva születés, újszülöttkori CMV-betegség, hallás-, látáskárosodás

2. táblázat

A várandósság alatti CMV-fertőzés lehetséges következményei

léphet fel. Microphthalmia, cataracta, fogzománc dysplasia tarkíthatja a képet. Születés után a súlyos, disszeminált betegségben az újszülöttek 20–30%-a meghal. A permanens idegrendszeri károsodás okozza a később kialakuló tüneteket. A gyermekek 90%-ánál alakulnak ki maradandó neurológiai eltérések, ha születéskor tünetek voltak. A leggyakoribb a sensoneuralis, többnyire kétoldali és súlyos halláscsökkenés. Még a tünetmentesen született gyermekek között is kialakulhat. A 15%-ban észlelt chorioretinitishez opticus atrophia társulhat. Ezek az elváltozások más szervek károsodása nélkül is előfordulhatnak. Az első életévben nem várt mértékben progrediál a nagyothallás (80%) és a chorioretinitis (25–50%) is. Az intrauterin CMV-fertőződött újszülött nagy tömegű vírust ürít környezetébe éveken át, tüneteire való tekintet nélkül, ezáltal a fertőzés fő fenntartója a populációban.

Perinatális CMV-fertőzés, a CMV ürítés sajátosságai miatt a létrejöhet a szülés alatt (intrapartum) a fertőzött cervixvagy hüvelyváladékkal. Az érett újszülöttben általában tünetmentesen zajlik az intranatális és postnatális CMV-fertőzés, de CMV pneumonitis is kialakulhat. Az átvitel 25–50%-os, ezt elősegíti az idő előtti burokpedés. Születés után az

anyatejjel 40–60%-ban átvihető a vírus, ilyenkor a magzat garat-, illetve nyelöcső-mucosájára kerül, majd a nyálmirigyekbe. Ekkor az újszülöttnak van már anyai ellenanyaga, így általában nem lesznek tünetei. Ha azonban a vírus aspirációval a tüdőbe jut, pneumonitist okozhat. Az újszülött 4–18 héttel később lesz vírusürítő, főleg a nyálával és a vizeletével. Lehetséges átviteli mód volt régebben a vérátömlesztés, amely után 50% gyakorisággal fertőződtek meg az újszülöttek. A 4–12 hét után várható tünetek nyirokcsomó-, máj- és lépnyagyobbodás, pneumonitis, hemolitikus anaemia. A transzfúzióra vett vérek leukocytamentesítése, illetve a CMV szeronegatív donoroktól származó vér használata ezt a fertőzési módot megszüntette. A CMV-fertőzés lehetséges következményeit, komplikációit a 3. táblázat összegzi.

A humán cytomegalovírus laboratóriumi diagnosztikai lehetőségei

A fertőzés laboratóriumi diagnózisa a klinikai tünetek észlelése mellett a megfelelő virológiai módszerekkel történik. A vírus direkt (vírusizolálás, virális antigén és virális nuk-

Vírus	Besorolás	Perzisztálás helye	Fertőzés következményei, komplikációk
CMV (HHV-5)	β -alcsalád (<i>Herpesvirales</i> , <i>Herpesviridae</i> , <i>Beta-herpesvirinae</i> , <i>Cytomegalovirus</i> <i>genus</i>)	CD34+ myeloid prekurzor sejtek	mononucleosis infectiosa (20–25%), hepatitis, pneumonia, encephalitis, nephritis, oophoritis, myocarditis, HIV-fertőzöttekben: retinitis, polyradikulopathia, ulceratív colitis, oesophagitis, kongenitális és perinatális fertőzések: spontán abortusz, magzatkárosodás (hepatosplenomegalia, hyperchrom anaemia, erythroblastosis, microcephalia, hydrocephalia, ventriculomegalia, intracranialis calcificatio, növekedési rendellenesség), halva születés, újszülöttkori CMV betegség, hallás-, látáskárosodás leggyakoribb bőrtünetek: petechia, icterus, purpura, bluberry muffin baby, morbilliform kiütések

3. táblázat

A CMV-fertőzés lehetséges következményei

Vizsgálati minta	Anyagvétel	Víruskimutatás célja	Diagnosztikai módszer	Tárolás, anyagszállítás
Natív vér (vacutainer csőben)	Frissen vett natív vér (ha egy-két nap alatt vizsgálatra kerül)	Antivirális IgG, IgM és IgA kimutatás IgG aviditás vizsgálat Vírus antigének vizsgálata Vírus nukleinsav kimutatás Vírusterminálás	ELISA IF PCR alapú módszerek (PCR, nested-PCR, RT-PCR, Q-PCR) Szekvencia meghatározás	+2 °C és +8 °C között tárolni és szállítani A mennyisége legalább 5 ml legyen, csecsemők és kisgyermek esetében ez a min. 2–3 ml. Esetenként szükség lehet két, megfelelő időközökben levett vérminta vizsgálatára (savópár).
Vérsavó (steril edényzetben)	A natív vér lesavózva és fagyaszta, ha később kerül a laboratóriumba	Lásd mint az előző	Lásd mint az előző	Lásd mint az előző, illetve a fagyasztott (-20 °C-on) minta fagyaszta történő szállításáról is gondoskodni szükséges.
Alvadástól vett (EDTA) vacutainer csőben	Frissen vett alvadástól vett a vérvétel napján a laboratóriumba kerül	Lásd mint a vérsavó, továbbá Vírushordozó sejtek kimutatása	Lásd mint az előző, továbbá Interferon kimutatás Tenyésztés, kokultiváció	+2 °C és +8 °C között tárolni és szállítani
Alvadástól vett (EDTA) elválasztva a plazma és a sejt-frakció (steril edényzetben)	Az alvadástól vett (EDTA) később kerül a laboratóriumba	Lásd mint az előző	Lásd mint az előző	+2 °C és +8 °C között tárolni és szállítani a fagyasztott (-20 °C-on) minta fagyaszta történő szállításáról is gondoskodni szükséges.
Liquor cerebrospinalis	Gerinc-, ciszterna- vagy kamracsapolás újján vett minta egyaránt felhasználható. Aszeptikus körülmények között steril edényzetbe kell levenni a vizsgálati anyagot (1–2 ml)	Antivirális IgG, IgM és IgA kimutatás Vírus nukleinsav kimutatás Vírusterminálás	ELISA IF PCR alapú módszerek (PCR, nested-PCR, RT-PCR, Q-PCR) Szekvencia meghatározás Tenyésztés	+2 °C és +8 °C között tárolni és szállítani a fagyasztott (-20 °C-on) minta fagyaszta történő szállításáról is gondoskodni szükséges.
Vizelet	Középsugaras vizeletet vegyünk, kb. 5–50 ml mennyiségben steril edényzetben	Vírus nukleinsav kimutatás Vírusterminálás	PCR alapú módszerek (PCR, nested-PCR, RT-PCR, Q-PCR) Szekvencia meghatározás Tenyésztés, kokultiváció	Víruszórási kísérlethez: a frissen vett vizelet minden további kezelés nélkül kell eljuttatni a laboratóriumba, +2 °C és +8 °C között tárolni és szállítani. Nukleinsav vizsgálatához a minta lefagyasztható (-20 °C, vagy ez alatt).
Magzatvíz	A minta mennyisége kb. 1–10 ml legyen steril edényzetben	Vírus nukleinsav kimutatás Vírusterminálás	PCR alapú módszerek (PCR, nested-PCR, RT-PCR, Q-PCR) Szekvencia meghatározás Tenyésztés, kokultiváció	Víruszórási kísérlethez: a frissen vett vizelet minden további kezelés nélkül kell eljuttatni a laboratóriumba, +2 °C és +8 °C között tárolni és szállítani. Nukleinsav vizsgálatához a minta lefagyasztható (-20 °C, vagy ez alatt).
Ascites	A minta mennyisége kb. 1–10 ml legyen steril edényzetben	Vírus nukleinsav kimutatás Vírusterminálás	PCR alapú módszerek (PCR, nested-PCR, RT-PCR, Q-PCR) Szekvencia meghatározás Tenyésztés, kokultiváció	Víruszórási kísérlethez: a frissen vett vizelet minden további kezelés nélkül kell eljuttatni a laboratóriumba, +2 °C és +8 °C között tárolni és szállítani. Nukleinsav vizsgálatához a minta lefagyasztható (-20 °C, vagy ez alatt).
Bőr, nyálkahártya kaparék (steril edényzetben)	Steril mintavetető pálcával vegyünk mintát, majd mossuk bele egy transzport közeget tartalmazó steril csőbe. Hólyagos kiütés esetén a hólyag tartalmát is.	Vírus nukleinsav kimutatás Vírusterminálás	PCR alapú módszerek (PCR, nested-PCR, RT-PCR, Q-PCR) Szekvencia meghatározás Tenyésztés	Víruszórási kísérlethez: a frissen vett mintát minden további kezelés nélkül kell eljuttatni a laboratóriumba, +2 °C és +8 °C között tárolni és szállítani. Nukleinsav vizsgálatához a minta lefagyasztható (-20 °C, vagy ez alatt).

Hólyagbennék (steril edényzetben)	A hólyag steril tüvel (esetleg steril ollóval) történő feltárása után a bennék tartalmát vagy egy steril fecskendőre szerelt tüvel vagy kapillárisal távolítsuk el és kis mennyiségű (~1 ml) transzport közegbe mossuk bele (fiziológias sóoldattal is átöblíthetjük)	Vírus nukleinsav kimutatás Vírusstenyészés	PCR alapú módszerek (PCR, nested-PCR, RT-PCR, Q-PCR) Szekvencia meghatározás Tenyésztés	Vírus izolálási kísérlethez: a frissen vett mintát minden további kezelés nélkül kell eljuttatni a laboratóriumba, +2 °C és +8 °C között tárolni és szállítani. Nukleinsav vizsgálathoz a minta lefagyasztható (-20 °C, vagy ez alatt).
Szervminta (pl.: esontvelő, máj- vesebiopszia, korionhólyag-minta, stb.)	A vizsgálati anyagot steril edényzetben, a miniatól és a vizsgálati módszertől függően transzport tápoldatokban, vagy anélkül kell küldeni.	Vírus nukleinsav kimutatás Vírusstenyészés	PCR alapú módszerek (PCR, nested-PCR, RT-PCR, Q-PCR) Szekvencia meghatározás Tenyésztés <i>In situ</i> hibridizáció	Vírus izolálási kísérlethez: a frissen vett mintát minden további kezelés nélkül kell eljuttatni a laboratóriumba, +2 °C és +8 °C között tárolni és szállítani. Nukleinsav vizsgálathoz a minta lefagyasztható (-20 °C, vagy ez alatt).
Kórbonctani anyagok	Halál beállta után lehető leghamarabb a parenchimas szervekből kb. 1 cm ³ nagyságú minta, vérminta a bal kamrából steril edényzetbe. Formalinban fixált paraffinos minták	Vírus nukleinsav kimutatás	PCR alapú módszerek (PCR, nested-PCR, RT-PCR, Q-PCR) Szekvencia meghatározás <i>In situ</i> hibridizáció	A legeredményesebb, ha minden kezelés vagy preparálás nélkül, a vétel/kimetszés után azonnal fagyasztott szervmintát kap a laboratórium. A fagyasztott (-20 °C-on) minta fagyaszta történő szállításáról is gondoskodni szükséges. A paraffinba ágyazott minták szállítása és tárolása környezeti hőmérsékleten történik
Légúti minták	orr- torokváladék, orr- torokmosó VTM-ben. Alsó légúti megbetegedések esetén alsó légúti mosóoldatok, aspirátum, védett kefék bronchalveoláris minta (<i>bronchoalveolaris lavage</i> – BAL)	Vírus antigén kimutatás Vírus nukleinsav kimutatás Vírusstenyészés	Direkt IF közvetlen antigén kimutatás PCR alapú módszerek (PCR, nested-PCR, RT-PCR, Q-PCR) Szekvencia meghatározás Tenyésztés	VTM-ben vett univerzális légúti mintát a tünetek megjelenésétől számított 3-5 napon belül ajánlott venni. A minták tárolása 1-2 nap és szállítása +2 °C és +8 °C között, a minta fagyaszta tilos!
Széklet	Mínimum 4 g minta szükséges, steril széklettartályba véve. A végbélből (tampon alkalmazásával) vett minta is megfelelő lehet, VTM vagy steril fiziológias sóoldattal megnedvesített pálcica segítségével VTM-be mosva a mintát.	Vírus nukleinsav kimutatás	PCR alapú módszerek (PCR, nested-PCR, RT-PCR, Q-PCR) Szekvencia meghatározás	A székletminták tárolási és szállítási javasolt hőmérséklete: +2 és +8 °C között, de a minta szállítható környezeti hőmérsékleten is.

Rövidítések: ELISA:enzime-linked-immunosorbent-assay, IF: immunfluoreszcencia, PCR:polimeráz láncreakció, RT-PCR: reverz-transzkripció polimeráz láncreakció, Q-PCR: Quantitatív polimeráz láncreakció, VTM: vírus-transzport médium

4. táblázat

Fontosabb vizsgálati minták vétele, a tárolás és szállítás körülményei

leina kimutatása, elektronmikroszkópos vizsgálat) és indirekt vizsgálatára (humorális és celluláris immunválasz vizsgálata) többféle módszer alkalmazható (2, 5, 19). A fontosabb vizsgálati minták vételére, tárolására és szállítására vonatkozó ajánlásokat a 4. táblázat foglalja össze. A humorális immunválasz vizsgálatára, szerológiai diagnózis felállítására alkalmas érzékeny módszer az enzimhez kötött immunadszorpció vizsgálat (ELISA; enzyme-linked-immunosorbent assay), további lehetőségek még az indirekt immunfluoreszcencián alapuló eljárások, western-blot, line immunoassay. A szerológiai vizsgálatokhoz jelenleg a kereskedelmi forgalomból beszerezhető ELISA készletek specificitása és szenzitivitása igen változó (5, 11). Recombináns antigének és CMV peptid-fragmentek használata javíthatja a specificitást. A legjobb érzékenységgel és specificitással a CMV-specifikus IgM immunoblot rendelkezik. A CMV-specifikus IgM jelenléte igen érzékeny indikátora a folyamatban lévő vagy nem régen lezajlott fertőzésnek, azonban az IgM jelenlétének diagnosztikus értéke korlátozott, mivel nincs megfelelő CMV-specifikus IgM standard és nagyok a különbségek az egyes cégek által előállított tesztek érzékenysége között. Számos esetben számolnak be álpozitív és álnegatív eredményekről. Ezekon kívül a primer CMV-fertőzést követően az IgM akár kilenc hónapig is kimutatható lehet a vérsavóban, továbbá megjelenhet a vírus reaktiválódásakor és reinfekciókor is. A CMV-specifikus IgM immunoblot, amelynek érzékenysége és specificitása 100%, egy jó standard teszt, amely megerősíti a CMV-specifikus IgM jelenlétét a vérsavóban. A primer fertőzés szerológiai bizonyítékának tekintik a CMV-specifikus IgG ellenanyag megjelenését (IgG szerokonverzió).

A celluláris immunválasz vizsgálata a specifikus CTL sejtek kimutatása, amelyek CMV aktiváció idején nagy számban jelennek meg és fontos szerepük van a reaktiváció és a betegség visszaszorításában. A celluláris immunválasz 70-90%-ban a pp65, pp50 és gB antigének ellen irányul. A HLA (humán leukocita antigén) molekulákat és a virális peptidokat tartalmazó MHC tetramert konjugálják fluorokrómmal és így teszik láthatóvá a tetramerhez kötődő, antigén specifikus receptort hordozó T-sejteket melynek mérése áramlási citometriával történik (12).

Ha a laboratóriumi vizsgálatok során a várandós CMV IgM vizsgálati eredménye pozitív, fontos annak a megállapítása, hogy primer vagy rekurrens a fertőzése. Az IgG pozitivitás esetén további vizsgálatként a CMV IgG aviditás vizsgálata jön szóba. Az aviditási vizsgálattal a közelmúltban (4 hónapon belül), illetve régebben (4 hónapon túl), történt fertőzésre lehet következtetni. Némely esetben ezzel a vizsgálattal nem lehet kizárni, de megerősíteni sem a várandósság alatti primer CMV-fertőzés lehetőségét. Az aviditási vizsgálatnak igazi jelentősége a korai terhességben van, amikor eldönthető, hogy az anya CMV-fertőzése primer fertőzés vagy reaktiváció következménye-e. Amennyiben a várandós CMV IgG vizsgálat eredménye negatív, akkor a korszerű szakvélemények a várandós folyamatos ellenőrzését javasolják (3, 13, 18). Az 1. ábra a kongenitális cytomegalovírus fertőzés laboratóriumi diagnosztikai sémáját mutatja be.

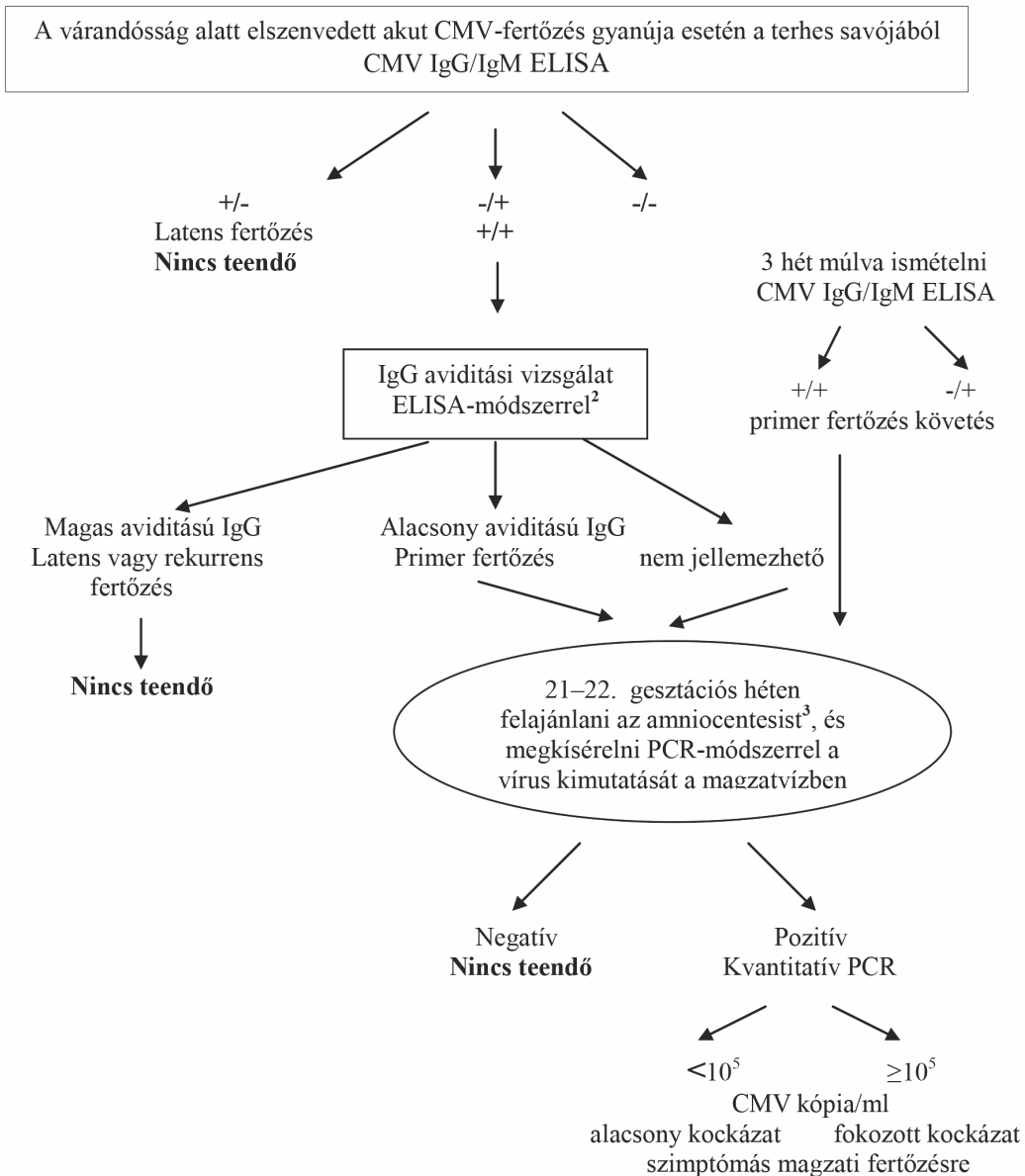
A direkt víruskimutatási módszerek közül a vírusizolálás torokmosófolyadékából vagy a vizeletből a legeredményesebb, de vérből vagy a vírussal fertőzött szervek biopsziás anyagából is lehetséges emberi fibroblaszt sejkultúrákon, amely több hetet is igényelhet az infektiós vírus mennyiségétől függően. Gyorsabb eljárás az ún. „shell vial” módszer, amely a vizsgálati anyag sejkultúrára vitele után 24 órán belül eredményt ad. Az izolált CMV-törzsek genomja restrikciós enzimanalízissel meghatározható és a módszer segítségével a vírustörzsek terjedése követhető (1, 2). A vírus nukleinsav kimutatására és mennyiségének meghatározására a legelterjedtebbek a polimeráz láncreakció (PCR)-n alapuló módszerek (PCR, nested-PCR, real-time vagy quantitative PCR, szekvenálás). A CMV viraemia kimutatása prognosztikai jelentőségű transzplantáltakban, a quantitative PCR (Q-PCR) és a CMV antigenaemia teszt (a pp65 vírusantigén kimutatása perifériás fehérvérsejtekben) megfelelnek a diagnosztikai elvárásoknak. További lehetőségek a virális nukleinsav vizsgálatra az mRNS pp67 kimutatása NASBA (nucleic acid sequence-based amplification) módszerrel, *in situ* hibridizációs technikák (14, 15).

A várandósság során a magzati szövetek vizsgálatára is szükség lehet. A chorionbolyhokból a terhesség 10–12. hetében lehet mintát venni. Amniocentézisre a középső trimeszterben (16–28 hét) kerülhet sor. Köldökzsínór vért a 16. terhességi hét után lehet venni. Az amniocentézis során nyert magzatvízből a CMV-specifikus nukleinsav kimutatását PCR módszerrel a 20. gesztációs hét után célszerű elvégezni. Amennyiben a PCR negatív eredményt ad, nincs teendő, ha viszont pozitív, akkor a Q-PCR a következő lépés. 100.000 CMV kópia/ml alatti az eredménynél alacsony a kockázat a szimptomás magzati fertőzésre, amennyiben 100.000 CMV kópia/ml feletti az eredmény a kockázat fokozott (13, 16). A postnatalis diagnosztika mindkét esetben javasolt. A születést követően a két héten belül kimutatott vírus specifikus nukleinsav, vagy a vírus izolálása a vizeletből kongenitális fertőzést igazol (17, 20). Retrospektív kongenitális CMV-fertőzés vizsgálatára a szűrőpapírra levett szárított vércsepp minta (Dried Blood Spot; DBS), amelyet minden újszülöttől az anyagcsere betegség szűrésére vesznek le, nagyon jól alkalmazható a CMV DNS kimutatására is.

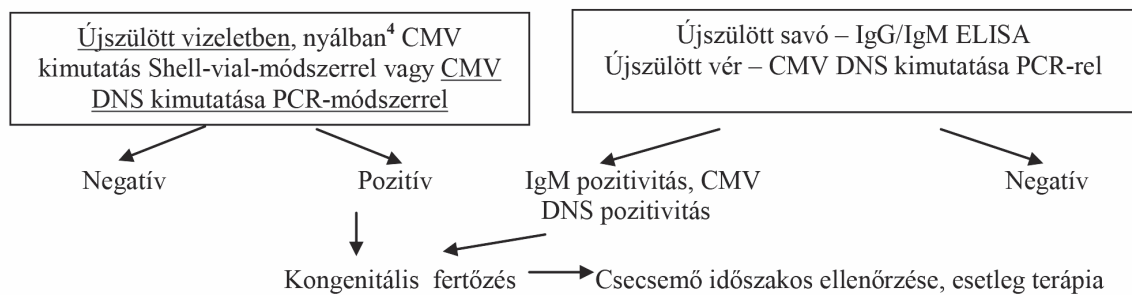
Összefoglalás

A CMV-fertőzések túlnyomó része tünetmentes, a vírusürítés a primer fertőzés után évekig is eltarthat. Az aktív fertőzés után a vírus életreszóló latenciát alakít ki a gazdaszervezetben. A monocita - makrofág sejt vonal előalakjai hordozzák a látens vírus genomját. A látens perzisztáló vírus időnként reaktiválódva újra aktív fertőzést okoz. Bármilyen módon is történt a fertőzés (kongenitális, perinatális vagy postnatális) a látens vírus bármikor reaktiválódhat, és ilyenkor a környezetbe ürül, de rövidebb ideig és kisebb mennyiségben, mint a primer fertőzés esetében. Előfordulhat reinfekció, amikor egy másik, eltérő antigén-tulajdonságú CMV vírustörzsszel a külvilágból fertőződik meg az egyén.

Praenatalis diagnózis



Postnatalis diagnosztika (a születést követő két héten belül)



Megjegyzés: 1. A kongenitális CMV-fertőzés laboratóriumi diagnózisa nem rutin laboratóriumi feladat, de gyanú esetén indokolt a vizsgálatok elvégzése. 2. Az IgG aviditási vizsgálattal eldönthető, hogy primer vagy rekurrens a CMV-fertőzés. A primer fertőzés jele az alacsony aviditású IgG jelenléte immunkompetens egyénben a fertőzést követő 18–20 hétig. A várandós primer fertőződését gyakrabban követi a magzat fertőződése (30–70%), mint a rekurrens fertőződését (0,5–1%). 3. A fertőzött magzat vizeletével üríti az amnionüregbe a CMV-t. A 20–21. gesztációs hét után indul meg a magzat vizeletürítése. 4. A születést követő 2 héten belül kimutatott vírus kongenitális fertőzést igazol.

1. ábra
Kongenitális cytomegalovírus fertőzés diagnosztikai sémája

Kiemelten fontos a vírus diagnosztikája és a kezelése, elkerülhetetlen a korai diagnózisa az immunszuppresszáltaknál, transzplantáltaknál az időben megkezdett antivirális terápiához. A CMV-fertőzésben a leggyakrabban alkalmazott antivirális szerek a ganciclovir, valganciclovir, foscarnet és a cidofovir. Transzplantáción átesett betegek és poszttranszplantációs CMV-fertőzésnek kitett koraszülött gyermekek esetén hiperimmunglobulin kezelés is alkalmazható. Hatásos védőoltás hiányában elkerülhető, illetve csökkenthető a várandósok aktív CMV-fertőzése, ha felhívják a figyelmet a fertőzés forrásaira, veszélyeire és ismertetik a fertőzés megelőzésének lehetőségeit. Különösen a kisgyermekkel foglalkozók oktatása fontos. Szeronegatív nő szeropozitív partnerétől szexuális úton is megkaphatja a fertőzést. A szerv és csontvelő traszplantálásokkal kapcsolatos CMV-fertőzés okozta komplikációk a donorok és recipiensek szűrésével és kiválasztásával csökkenthető.

A molekuláris virológiai laboratóriumi vizsgálati eredmények alátámasztják, hogy a PCR-alapú diagnosztikai módszerek (minőségi és mennyiségi) jól használhatók az egyes kórképekben, különösen a veleszületett CMV-fertőzés diagnosztikájában a magzati kortól kezdve az újszülött-csecsemőkoron át a kisgyermekkorig, a megfelelő mintát vizsgálva. A CMV-fertőzés virológiai laboratóriumi diagnosztikája a nagy kockázatú kórfomák esetében a sikeres kezelés záloga. A vírusdiagnosztika fejlesztése javítja a korai diagnózist, növeli az újonnan felfedezett vagy nem gyakori vírusok diagnosztikai arányát az eredményes kezelés érdekében.

IRODALOM

- Mocarski E. S., Shenk T., Pass R. F.: Cytomegaloviruses In: Fields Virology. 5th ed., Eds.: Knipe D. M., Howley P. M., Griffin, D.E. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, (2007) 2701-2772.
- Pusztai R.: Humán herpesvírus 5 (Humán cytomegalovírus) In: Klinikai és járványügyi virológia. (Szerk.: Takács M., Vox Medica Kiadó Kft. Budapest, (2010) 331-335.
- Revello, M. G., Gerna G.: Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. Clin. Microbiol. Rev., (2002) 15(4), 680–715.
- Varga, M., Rempert Á., Czebe K. és mtsai.: A cytomegalovírus-fertőzés rizikófaktorai, hatásai és a megelőzés lehetősége transzplantációt követően. Orv.Hetil. (2008) 149(12), 551-558.
- Mihály I., Arányi Zs., Princz Gy. és mtsai.: A virológiai vizsgálatok szerepe a terhes nők cytomegalovírus fertőzésének kiderítésében Orv Hetil., (2014) 155(41), 1632-1642.
- Jim W. T., Chiu N. C., Ho C. S. és mtsai.: Outcome of Preterm Infants With Postnatal Cytomegalovirus Infection via Breast Milk: A Two-Year Prospective Follow-Up Study. Medicine (Baltimore), (2015):e1835 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4985402/pdf/medi-94-e1835.pdf>
- Mendelson M., Monard S., Sissons P. és mtsai.: Detection of endogenous human cytomegalovirus in CD34+ bone marrow progenitors. J Gen Virol. (1996) 77(12), 3099-3102.
- Korman A. M., Alikhan A., Kaffenberger B. H.: Viral exanthems: An update on laboratory testing of the adult patient. J Am Acad Dermatol. (2017) 76(3), 538-550.
- Drozd B., Andriescu E., Suárez A. és mtsai.: Cutaneous cytomegalovirus manifestations, diagnosis, and treatment: a review. Dermatol Online J. (2019) Jan 15, 25(1). Available from: <https://escholarship.org/uc/item/84f936cp>
- Ho M.: The history of cytomegalovirus and its diseases. Med Microbiol Immunol. (2008) 197(2), 65-73.
- Torii Y., Yoshida S., Yanase Y. és mtsai.: Serological screening of immunoglobulin M and immunoglobulin G during pregnancy for predicting congenital cytomegalovirus infection. BMC Pregnancy Childbirth. (2019) 19(1), 205. doi:10.1186/s12884-019-2360-1. PubMed PMID: 31221131.
- Pállinger É.: Áramlási citometria: Újdonság a mikrobiológiai diagnosztika eszköztárában? Orv Hetil. (2013) 154(31), 1207-121.
- Ludwig E.: Infektológiai útmutató. Klinikai irányelvek kézikönyve. Medition Kiadó, (2010) Budakeszi
- Ross S. A., Novak Z., Pati S. és mtsai.: The diagnosis of cytomegalovirus infection. Infect Disord Drug Targets.(2011) 11(5), 466-474.
- Naegele K., Lautenschlager I., Gosert R. és mtsai.: Cytomegalovirus sequence variability, amplicon length, and DNase-sensitive non-encapsidated genomes are obstacles to standardization and commutability of plasma viral load results. J Clin Virol. (2018) 104, 39-47.
- Bonalumi S., Trapanese A., Santamaria A. és mtsai.: Cytomegalovirus infection in pregnancy: review of the literature. J Prenat Med., (2011) 5(1), 1-8.
- Exler S., Daiminger A., Grothe M. és mtsai.: Primary cytomegalovirus (CMV) infection in pregnancy: Diagnostic value of CMV PCR in saliva compared to urine at birth. J Clin Virol. (2019) 117, 33-36.
- Prince H. E., 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.
- Prince H. E., Lapé-Nixon M., Brenner A. és mtsai.: Potential impact of different cytomegalovirus (CMV) IgM assays on an algorithm requiring IgM reactivity as a criterion for measuring CMV IgG avidity. Clin Vaccine Immunol.(2014) 21(6), 813-816.
- de Vries J. J., van der Eijk A. A., Wolthers K. C. és mtsai.: Real-time PCR versus viral culture on urine as a gold standard in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. J Clin Virol. (2012, 53(2), 167-170.

Érkezett: 2019. 07. 22.

Közlésre elfogadva: 2019. 07. 31.