

Årsrapport for 2020: Cytomegalovirus referansefunksjon ved Avdeling for mikrobiologi, Oslo universitetssykehus

Klinikk for laboratoriemedisin
Avdeling for mikrobiologi

Agens

Cytomegalovirus (CMV)

Innledning der smittestoffet kort omtales

Cytomegalovirus (CMV) er et virus i herpesvirusfamilien. Viruset overføres mellom mennesker ved dråpesmitte, seksuell kontakt, blodtransfusjoner og ved organ- og stamcelletransplantasjoner. Etter primærinfeksjon blir viruset værende latent i kroppen og kan på et senere tidspunkt reaktiveres.

Hos de fleste immunfriske vil både CMV-primærinfeksjon og -reakivering forløpe med få eller ingen symptomer. Hos personer med nedsatt immunforsvar, som ved behandling med immunsupprimerende medikamenter, organ- og stamcelletransplantasjoner og noen former for kreftbehandling, kan CMV gi alvorlig sykdom.

CMV er den vanligste årsaken til medfødt infeksjon i Norge. Nedsatt hørsel og andre nevrologiske skader er vanligst. Av gravide som får en primær CMV-infeksjon i svangerskapet vil i ca. 40 % overføre viruset til fosteret, mens ved reaktivert infeksjon vil bare ca. 1 % overføre viruset til fosteret. Omtrent 10-15 % av fostre smittet intrauterint vil få varige skader. Nasjonal faglig retningslinje for screening av hørsel hos nyfødte anbefaler testing for CMV-infeksjon hos nyfødte som ikke har tilfredsstillende hørselstest. I praksis gjøres dette med en spyttprøve tatt mindre enn 3 uker etter fødsel.

Anvendt referansediagnostikk og analysemetoder

Det diagnostiske repertoaret omfatter påvisning av CMV-DNA ved PCR, genotypisk resistensundersøkelse, IgG- og IgM-antistoffpåvisning, CMV-IgG aviditetsanalyse og CMV interferon gamma release assay (IGRA)- analyse for påvisning av spesifikk T-celleimmunitet mot CMV.

1. Påvisning av CMV-DNA ved PCR.

Vi har en egenutviklet PCR-analyse for påvisning av CMV-DNA. Analysen har vært CE-merket fra 2019, og et kontinuerlig kvalitetsarbeid pågår relatert til dette. Det har vært arbeidet med å optimalisere kvantiteringen av CMV-DNA relatert til WHO-standard (NIBSC).

Det pågår også en metodevurdering for påvisning av CMV-DNA i tørkede blodflekker fra Nyfødtscreening. Slike metoder har generelt relativt lav sensitivitet på grunn av små mengder blod på filterpapiret og vanskelig utvinning av DNA fra papir.

I plasma, spinalvæske, fostervann og urin rapporteres analysen kvantitativt, for øvrige prøvematerialer kvalitativt.

Tabell 1: Antall analyser 2017-2020

NLK-kode	Analyse	2020	Endring i % fra 2019	2019	2018	2017
NPU 18327	CMV DNA kvantitativ analyse (PCR)	19336	-5	20243	18857	18958
NPU 14625	CMV DNA kvalitativ analyse (PCR)	1773	-4	1846	1183	1080
NPU 18038	Urin- CMV DNA kvantitativ analyse (PCR)	130	13	115	114	140
NPU 56117	Spinalvæske- CMV DNA kvantitativ analyse (PCR)	172	12	154	163	151
NPU 54717	Fostervann- CMV DNA kvantitativ analyse (PCR)	32	28	25	28	28
NPU 14625	Blod på filterpapir- CMV DNA kvalitativ analyse (PCR)	32	14	28	27	
	SUM CMV DNA analyser	21475	-4	22411	20372	20357
NPU 12671	CMV resistensanalyse	38	31	29	33	39
NPU 57752	CMV IGRA	762	-20	947	883	907
NPU 28524	CMV IgG aviditetsanalyse	115	-6	122	57	62

2. Resistensbestemmelse

Referanselaboortoriet har landsfunksjon for resistensbestemmelse av CMV.

Tre medikamenter er i bruk for behandling av CMV-infeksjoner:

ganciclovir/valganciclovir, foscarnet og cidofovir. Ganciclovir/valganciclovir er førstevalg da det oftest er lite bivirkninger ved bruk.

Faktorer som disponerer for resistensutvikling hos CMV er langvarig bruk av antivirale medikament, for lavt nivå av medikamentet, høy virusmengde og dårlig immunforsvar. Resistens opptrer ved visse mutasjoner i bestemte gener. Disse mutasjonene påvises ved PCR-amplifisering og Sanger-sekvensering av de aktuelle genene. Resistens mot ganciclovir/valganciclovir kan skyldes mutasjoner i CMV-genene UL97 og UL54, mens resistens mot foscarnet og cidofovir skyldes mutasjoner i UL54-genet. I 2020 mottok vi 38 prøver til resistensbestemmelse. 33 prøver fra 24 personer ble undersøkt. I fem prøver fra fem ulike pasienter påviste vi kjente resistensmutasjoner. Det ble samlet funnet fem kjente resistensmutasjoner i UL97-genet og to i UL54-genet.

Referanselaboratoriets funn publiseres årlig i RAVN-rapporten (Resistensovervåkning av virus i Norge), FHI.

Laboratoriet har i 2020 også arbeidet med dypsekvensering av de kjente resistensgenene med neste generasjon sekvensering (NGS), men progresjonen har vært redusert grunnet pandemien. Arbeidet med dette videreføres i 2021.

3. T-celleimmunitet

CMV-T-celleimmunitetsundersøkelsen utføres med interferon gamma release assay (CMV-IGRA-test). Denne undersøkelsen er aktuell ved utredning av terapivikt ved behandling med anti-CMV-midler der en ikke finner resistensmutasjoner. Videre brukes CMV-IGRA-testen for å vurdere risiko for reaktivering av latent CMV ved immunsuppresjon.

Referanselaboratoriet er de eneste i landet som utfører CMV-IGRA-analysen. Analysen har vært utført delvis manuelt ved hjelp av BEP 2000. I 2020 har vi gjort en verifisering av helautomatisert utførelse med Liaison XL, Diasorin, og analysen utføres fra november 2020 med dette instrumentet.

Det ble i 2020 utført 764 undersøkelser for påvisning og kvantitering av CD8⁺T-celleimmunitet ved hjelp av CMV-IGRA-testen. En positiv test betyr at det er påvist spesifikk T-celleaktivitet mot CMV. Er resultatet negativt eller gråsoner er det påvist hhv ingen eller usikker CMV-spesifikk T-celleaktivitet. Personer som har gjennomgått CMV-infeksjon har vanligvis påvisbar spesifikk T-celleaktivitet, men hos personer med nedsatt immunforsvar som organ- eller benmargstransplanterte kan T-celleaktivitet mot CMV mangle selv om de har hatt infeksjonen. Resultatet fra en CMV-IGRA analyse blir derfor medisinskfaglig vurdert i lys av CMV immunstatus, bakenforliggende sykdommer og ev. pågående CMV-infeksjon.

Tabell 2: CMV interferon gamma releas assay (IGRA)-analyse funn

År	Samlet antall	Ikke utført	Positiv	Svakt positiv	Gråsone	Negativ	Inkonklusiv
2020	762	9	478 (63 %)	4 (0,5%)	25 (3 %)	228 (30%)	18 (2%)

Tallene er angitt som n(% av utførte analyser)

4. CMV-IgG-aviditet

CMV-IgG-aviditetsundersøkelse kan brukes til å tidfeste primær CMV-infeksjon. Tidfesting av infeksjonen er spesielt aktuelt i forbindelse med CMV-infeksjon hos gravide.

Analysen er hovedsakelig aktuell dersom det påvises IgM antistoffer i tillegg til IgG, og infeksjonen ikke kan tidfestes ut fra tidligere prøver. Hos gravide vil det oftest være hensiktsmessig å analysere oppbevarte prøver tatt før eller tidlig i svangerskapet for CMV-antistoffer før CMV-IgG-aviditet undersøkes.

Prøvene som mottas ved referanselaboratoriet er fra gravide og fra ikke-gravide med mistenkt primær CMV-infeksjon. Da referansefunksjonen ikke innhenter kliniske opplysninger om den enkelte gravide, om forløpet av svangerskapet eller om barnets smittestatus, rapporteres ikke antall intrauterine infeksjoner.

Av de 115 registrerte prøvene til aviditetsanalyse foreligger resultater fra 103 pasienter. Av disse har 79 % (81) høy aviditetsindex, 7 % (7) har grense aviditetsindex og 15 % (15) har lav aviditetsindex.

Epidemiologiske data, bistand til overvåking, beredskap og respons ved utbrudd av smittsomme sykdommer

Ikke aktuelt.

Funn og epidemiologiske data med aktuelle trender (over år) i tabells form

De viktigste CMV-epidemiologiske data vil være forekomst av CMV seronegative kvinner i fertil alder. Ved graviditet står disse i fare for å pådra seg primær CMV-infeksjon med smitte av fosteret. Publikasjon fra Folkehelseinstituttet viser at prevalensen av CMV-IgG også i Norge, er avhengig av personenes alder og geografisk lokalisasjon (Barlinn R et al. J Med Virol 86: 820-826; 2014).

Samling av stammer og annet referansemateriale, eventuelle biobanker med tilhørende tillatelser

Avdelingen har en diagnostisk serumbiobank (FHI-tillatelse nr.1945 for serum/plasma-prøver og nr. 1949 for nukleinsyrer) der alle prøver som mottas til diagnostikk oppbevares i 20 år. Det kommer inn ca. 40.000 blodprøver hvert år.

Ved forskningsprosjekter kan deler av biobanken omgjøres til en forskningsbiobank etter søknad til Regional etisk komité og OUS-Forskningsstøtte.

I 2019 ble det gitt tillatelse av REK til uthenting av prøver fra nyretransplanterte fra 2016-2019. En del av disse har blitt analysert i 2020, og resten analyseres i 2021 med tanke på IgG-type som ledd i prosjektet «Novel strategies for personalized prophylaxis against cytomegalovirus in renal transplant recipients», se også under Samarbeid og forskning.

Vitenskapelig råd og støtte

1. Utredning ved mistanke om CMV-smitte i svangerskapet
Vi tilbyr utredning av gravide der det er mistanke om primær CMV-infeksjon. Målet er å tidfeste CMV-infeksjonen for å fastslå om den har funnet sted i svangerskapet. Til dette formål bruker vi CMV-serologi som består av CMV-IgG og IgM-analyser samt CMV-IgG aviditet undersøkelse. Ved mistanke om fosterinfeksjon utføres noen ganger CMV DNA analyse i prøve fra fostervann. I 2020 ble 32 fostervannsprøver undersøkt, det er 28 prosent mer enn i 2019.
2. Vi har i 2020 bidratt med virologisk kompetanse ved utarbeidelsen av nasjonal Veileder i fødselshjelp, Norsk gynekologisk forening.
(<https://www.legeforeningen.no/foreningsledd/fagmed/norsk-gynekologisk-forening/veiledere/veileder-i-fodsels-hjelp>)
Vi har tidligere også bidratt i utarbeidelsen av nasjonal Strategirapport: Diagnostikk av infeksjoner hos gravide, foster og nyfødte- en oppdatering
(<https://www.fhi.no/publ/strategimoter/strategimote-2018-diagnostikk-av-infeksjon-er-hos-gravde-foster-og-nyfodte/>)
3. Bistand til andre laboratorier i form av prøvematerialer med kjent mengde CMV-DNA ved validering av CMV-PCR-diagnostikk i ulike prøvematerialer. I 2020 ble det ikke sendt ut slike prøvepaneler, men det er planlagt utført i 2021.
4. Avdelingen har etablert en brukerhåndbok som benyttes av både rekvirenter og av andre laboratorier. Brukerhåndboken er tilgjengelig på nett (<https://ousmik.no>) og i en egen app. I brukerhåndboken er analysene vi tilbyr og indikasjonene for disse beskrevet.

5. **CMV resistensutvikling**
Laboratoriet rådgir klinikere og andre laboratorier vedrørende indikasjon for resistensbestemmelse, prøvetagning og vurdering av resultatene fra resistensanalyse.
Vi har deltatt i innsamling av data til RAVN (Resistensovervåkning av virus i Norge), og også bidratt i den skriftlige RAVN-rapporten publisert i 2020.

Samarbeid og forskning

1. Hjemmeside

På Referanselaboratoriets hjemmeside er det gitt en oversikt over analysene som tilbys. <https://oslo-universitetssykehus.no/avdelinger/klinikk-for-laboriemedisin/avdeling-for-mikrobiologi/om-avdeling-for-mikrobiologi/nasjonalt-referanselaboratorium-for-cytomegalovirus>
I avdelingens brukerhåndbok er praktiske forhold omkring prøvetagning og resultater beskrevet for de enkelte analysene. <https://ousmik.no>

2. Persontilpasset forebygging av CMV-infeksjon etter nyretransplantasjon

Sammen med Forskningsgruppe for transplantasjonsmedisin OUS, Avdeling for transplantasjonsmedisin OUS og Forskningsgruppe for klinisk nevroimmunologi UiO har vi planlagt og påbegynt et prosjekt om nye strategier for persontilpasset forebygging av CMV-infeksjon hos nyretransplanterte. Prosjektet inkluderer; A) Sammenligning av effekten ved å gi antivirale midler forebyggende eller overvåke og raskt gi antivirale midler dersom tegn til begynnende infeksjon. B) Betydningen av CD8+ T-celleimmunitet (vurdert med CMV-IGRA analyse) etter nyretransplantasjon. C) Betydningen av ulike undergrupper av IgG for utkomme av CMV-infeksjon etter nyretransplantasjon.

3. CMV resistensbestemmelse med neste generasjon sekvensering

Sammen med utviklingsseksjonen ved avdelingen er det utført en validering av neste generasjon sekvensering av virusgenet UL 97 som metode for påvisning av resistens. Endelige resultater vil foreligge i 2021.

4. Alvorlig immunsvikt hos nyfødte

Referansefunksjonen har deltatt i et arbeid om tidlig påvisning av alvorlig immunsvikt ved Avdeling for nyfødtscreening, OUS Rikshospitalet. For barn med alvorlig immunsvikt er det ønskelig å unngå CMV-infeksjon, og dersom barnet får infeksjon er tidlig påvisning avgjørende. Nyfødtscreeningen har gjort en metodeutvikling med bruk av neste-generasjon sekvensering i nyfødtscreening. CMV-referanselaboratoriet har bidratt med diagnostikk og vurdering av resultatene relatert til CMV-analysene i prosjektet.

5. Revidert Veileder i fødselshjelp

Vi har i 2020 bidratt med virologisk kompetanse ved utarbeidelsen av nasjonal

Veileder i fødselshjelp, Norsk gynekologisk forening(2020).
(<https://www.legeforeningen.no/foreningsledd/fagmed/norsk-gynekologisk-forening/veiledere/veileder-i-fodsels-hjelp>).

6. CMV hos nyretransplanterte- reinfeksjon eller reaktivering

Referanselaboratoriet deltar i planleggingen av dette prosjektet utgående fra Nyremedisinsk avdeling Ullevål. Det finnes flere undertyper av CMV og samme person kan infiseres med flere stammer. Denne studien skal undersøke om CMV-infeksjon etter transplantasjon skyldes reaktivering av eget hvilende virus eller smitte av en ny stamme fra den transplanterte nyren. Studien skal også undersøke om noen stammer er spesielt farlige slik at behandlingen etter transplantasjon kan skreddersys for den enkelte transplanterte.

Organisatoriske-, administrative- og ressursmessige forhold knyttet til referansefunksjonen samt forutsetninger for videre drift

Arbeidet med CMV-referansefunksjonen er integrert i seksjonens daglige drift og utføres av de ansatte leger og bioingeniører. Leder av referansefunksjonen er overlege Grete A. Birkeland Kro, seksjonsleder er Jane Glende, driftsansvarlig er enhetsleder Tone Berge. Overlege Grete A. Birkeland Kro er medisinskfaglig ansvarlig.

Referansefunksjonen har ikke eget budsjett eller øremerket bevilgning.

Referansefunksjonen vil i 2021 i hovedsak bli utført som før, men driften kan bli påvirket av SARS-CoV-2 pandemien.

Publikasjoner

1. Second-Tier Next Generation Sequencing Integrated in Nationwide Newborn Screening Provides Rapid Molecular Diagnostics of Severe Combined Immunodeficiency.

Strand J, Gul KA, Erichsen HC, Lundman E, Berge MC, Trømborg AK, Sørgjerd LK, Ytre-Arne M, Hogner S, Halsne R, Gaup HJ, Osnes LT, **Kro GAB**, Sorte HS, Mørkrid L, Rowe AD, Tangeraas T, Jørgensen JV, Alme C, Bjørndalen TEH, Rønnestad AE, Lang AM, Rootwelt T, Buechner J, Øverland T, Abrahamsen TG, Pettersen RD, Stray-Pedersen A. Strand J, et al.. Front Immunol. 2020 Jul 9;11:1417. doi: 10.3389/fimmu.2020.01417. eCollection 2020. Front Immunol. 2020. PMID: 32754152

2. Veileder i fødselshjelp, Norsk gynekologisk forening(2020).

(<https://www.legeforeningen.no/foreningsledd/fagmed/norsk-gynekologisk-forening/veiledere/veileder-i-fodsels-hjelp>)

3. Usage of Antivirals and the Occurrence of Antiviral Resistance in Norway
2019. Publisert 15.10.2020. ISBN elektronisk: 978-82-8406-121-4.
<https://www.fhi.no/publ/2020/ravn-rapport-2019/>

Oslo, 29.03.21

*Grete A. Birkeland Kro
Overlege, PhD
Avdeling for mikrobiologi
Oslo universitetssykehus
(sign)*

*Fredrik Müller
Avdelingsleder, professor
Avdeling for mikrobiologi
Oslo universitetssykehus
(sign)*