Oslo universitetssykehus
Postboks 4956 Nydalen
0424 Oslo

Klinikk for laboratoriemedisin
Avdeling for mikrobiologi

Årsrapport for 2022: Cytomegalovirus-referansefunksjon

Agens

Cytomegalovirus (CMV)

Innledning der smittestoffet kort omtales

Cytomegalovirus (CMV) er et virus i herpesvirusfamilien. Viruset overføres mellom mennesker ved dråpesmitte, seksuell kontakt, blodtransfusjoner, fra mor til foster og ved organ- og stamcelletransplantasjoner. Etter primærinfeksjon blir viruset latent i kroppen og kan reaktiveres på et senere tidspunkt.
Hos de fleste immunfriske vil både CMV-primærinfeksjon og -reaktivering 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 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 (redegjør for eventuelle endringer)

Det diagnostiske repertoaret omfatter påvisning av CMV-DNA ved PCR, CMV resistensundersøkelse ved påvisning av resistensmutasjoner, 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 stort kontinuerlig kvalitetsarbeid pågår relatert til dette. Det har i 2022 også vært arbeidet med godkjenning av analysen etter ny EU forordning (regulativ), IVDR-2017/746. Dette er en meget omfattende prosess.

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

Tabell 1: Antall analyser 2018-2022

NLK -kode	Analyse	2022	Endring fra 2021	2021	2020	2019	2018
NPU 18327	CMV DNA kvantitativ analyse (PCR)	21496	6%	20187	19336	20243	18857
NPU 14625	CMV DNA kvalitativ analyse (PCR)	2177	11%	1958	1773	1846	1183
NPU 18038	Urin- CMV DNA kvantitativ analyse (PCR)	65	-40%	108	130	115	114
NPU 56117	Spinalvæske- CMV DNA kvantitativ analyse (PCR)	177	14%	155	172	154	163
NPU 54717	Fostervann- CMV DNA kvantitativ analyse (PCR)	27	-16%	32	32	25	28
NPU 14625	Blod på filterpapir- CMV DNA kvalitativ analyse (PCR)	78	39%	56	32	28	27
	SUM CMV DNA analyser	**24020**	**7%**	**22496**	**21475**	**22411**	**20372**
NPU 12671	CMV resistensanalyse	45	55%	29	38	29	33
NPU 57752	CMV IGRA	791	10%	719	762	947	883
NPU 28524	CMV IgG aviditetsanalyse	184	5%	174	115	122	57

2. Resistensbestemmelse

Referanselaboratoriet har landsfunksjon for resistensbestemmelse av CMV. Tre medikamenter har vært i bruk for behandling av CMV-infeksjoner: ganciclovir/valganciclovir, foscarnet og cidofovir. Fra 2022 er også et medikament med virkestoff maribavir registrert på det norske markedet. Ganciclovir/valganciclovir er normalt førstevalg ved behandling.

Faktorer som disponerer for resistensutvikling hos CMV er langvarig bruk av antiviralt 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. Resistens mot maribavir skyldes mutasjoner i UL97 genet.
I 2022 mottok vi 45 prøver til resistensbestemmelse. 34 prøver fra 24 personer ble undersøkt. I tolv prøver fra fem ulike pasienter påviste vi kjente resistensmutasjoner. Det ble påvist kjente resistensmutasjoner i UL97-genet i fem og i UL54-genet i en av disse prøvene.

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

3. **T-celleimmunitet**
CMV-T-celleimmunitetsundersøkelsen utføres med interferon gamma release assay (CMV-IGRA). Denne undersøkelsen er aktuell ved utredning av terapisvikt ved behandling med anti-CMV-midler der en ikke påviser kjente resistensmutasjoner. Videre brukes CMV-IGRA for å vurdere risiko for reaktivering av latent CMV ved immunsuppresjon.
Referanselaboratoriet er de eneste i landet som utfører CMV-IGRA-analysen. Analysen har tidligere vært utført delvis manuelt ved hjelp av instrumentet BEP 2000, men fra november 2020 utføres analysen helautomatisert med Liaison XL, Diasorin.
Det ble i 2022 utført 779 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-celle aktivitet mot CMV. Er resultatet negativt eller gråsone 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 release assay (IGRA)-analyse funn*

År	Samlet antall	Ikke utført	Utført	Positiv	Svakt positiv	Gråsone	Negativ	Inkonklusiv
2020	762	9	**753**	478 (63%)	4 (0,5%)	25 (3 %)	228 (30%)	18 (2%)
2021	725	18	**707**	438 (62%)	5 (0.7%)	28 (4%)	225 (31%)	11 (2%)
2022	796	17	**779**	473 (61%)	12 (2%)	27 (3%)	251 (32%)	16 (2%)

*Inkluderer ikke sammenlignende laboratorieprøver eller spesielle prosjektprøver

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.

Tabell 3: Resultater CMV-aviditetsanalyse*

År	Samlet antall	Ikke utført	Utført	Høy index	Grense index	Lav index	Inkonklusivt resultat
2020	115	12	**103**	81 (79%)	7 (7%)	15 (15%)	0 (0%)
2021	170	7	**163**	117 (72%)	16 (10%)	30 (18%)	0 (0%)
2022	177	7	**170**	135 (79%)	12 (7%)	22 (13%)	1 (1%)

*Inkluderer ikke sammenlignende laboratorieprøver eller spesielle prosjektprøver

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

Ikke aktuelt.

Har du funn og epidemiologiske data med aktuelle trender (over år) i tabells form

De viktigste 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 og Rikshospitalet viser at prevalensen av CMV-IgG i fertil alder i Norge i motsetning til andre vestlige land ikke øker signifikant med økende alder (Barlinn R et al. Apmis 2018 Vol. 126 (12): 899-906).

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.

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 formålet bruker vi CMV-serologi som består av CMV-IgG og IgM-analyser samt eventuelt CMV-IgG aviditet og CMV DNA undersøkelse. Ved mistanke om fosterinfeksjon utføres CMV-DNA analyse i fostervann om dette mottas.

2. Referanselaboratoriet er tilgjengelig for rådgivning og bistand til andre laboratorier ved utredning av CMV-infeksjon.

3. Bistand til andre laboratorier i form av prøvematerialer med kjent mengde CMV-DNA ved validering av CMV-PCR-diagnostikk i ulike prøvematerialer.

4. Sammenligning av kvantitering mellom laboratoriene i Norge. Det er kjent at ulike CMV-DNA analyser fra ulike produsenter og instrumenter gir ulik målt CMV-DNA mengde. Mange pasienter tar prøver til CMV ved lokalsykehus og annet sykehus, f.eks. Rikshospitalet. Ulikheter i CMV-PCR analysene kan gi vansker med å vurdere behandlingseffekt og kan gi feiltolkning dersom behandlende lege ikke er klar over ulikhetene. I 2022 ble det planlagt å sende ut prøvepanel for å sammenligne kvantiteringen mellom de norske laboratoriene. Dette ble ikke utført i 2022 grunnet utfordringer med bemanning ved referanselaboratoriet. Det håpes at det kan bli utført i 2023.

5. Avdelingen har etablert brukerhåndbok som benyttes av både rekvirenter og av andre laboratorier. Brukerhåndboken er tilgjengelig på nett (http://ousmik.no) og i en egen app. I brukerhåndboken er analysene vi tilbyr og indikasjonen for disse beskrevet.

6. 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 2022.

Samarbeid og forskning

1. **Hjemmeside**
   På Referanselaboratoriets hjemmeside er det gitt en oversikt over analysene som tilbys. https://oslo-universitetssykehus.no/avdelinger/klinikk-for-laboratoriemedisin/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 Nyremedisinsk avdeling Ullevål, 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) etter nyretransplantasjon. C) Betydningen av ulike undergrupper IgG for utkomme av CMV-infeksjon etter nyretransplantasjon.
   I 2021 ble innsamlingen av CMV-DNA data fra alle utførende laboratorier i Norge utført, og i 2022 har en stipendiat arbeidet med analyse av disse dataene. Et manuskript er pr utgangen av 2022 sendt inn til tidsskrift og et annet er påbegynt.

3. **Metodebok Infeksjonsmedisin OUS**
   Representant fra referanselaboratoriet har i 2022 sammen med representanter fra infeksjonsmedisinsk avdeling Ullevål revidert kapitlet om Cytomegalovirus-infeksjon. Lenke:
   https://metodebok.no/index.php?action=topic&item=9eAZRF4c
   Metodeboken er et viktig verktøy ved håndtering av infeksjoner i OUS.

4. **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 er planlagt å undersøke om CMV-infeksjon etter transplantasjon skyldes reaktivering av eget hvilende virus eller smitte av en ny stamme fra den transplanterte nyren. Studien vil 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 uten særskilt finansiering.
Leder av referansefunksjonen og medisinsk faglig ansvarlig er overlege Grete A. Birkeland Kro, stedfortreder er overlege Regine Barlinn. Seksjonsleder for driftsseksjonen var til mai 22 Jane Glende, etter dette Beth Marie Sandaker Brotnov. Driftsansvarlig enhetsleder i 2022 var Martin Petersen.

Referansefunksjonen har ikke eget budsjett eller øremerket bevilgning. Referansefunksjonen vil i 2023 i hovedsak bli utført som før, men driften forventes å bli påvirket av presset bemanningssituasjon i enheten.

Publikasjoner

1. Usage of Antivirals and the Occurrence of Antiviral Resistance in Norway 2021. Publisert 20.10.2022. ISSN elektronisk: 978-82-8406-322-5. https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/rapporter/2022/ravn-rapport-2022.pdf
2. Barlinn, R., et al. (2022). "Maternal cytomegalovirus infection and delayed language development in children at 3 years of age-a nested case-control study in a large population-based pregnancy cohort." PLoS ONE [Electronic Resource] 17(12): e0278623.

Oslo, 28.03.23

Grete A. Birkeland Kro
Overlege, PhD

Fredrik Müller
Avdelingsleder, professor