

CMV

Diagnostische Optionen und deren Aussagekraft

Dr. Heidrun Kerschner, Ordensklinikum Linz Elisabethinen,
Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Tropenmedizin

Offenlegung potentielle Interessenskonflikte

Es bestehen **keine** potentiellen Interessenskonflikte.

Ich gebe folgende potentielle Interessenskonflikte bekannt:

indirekte finanzielle Zuwendungen

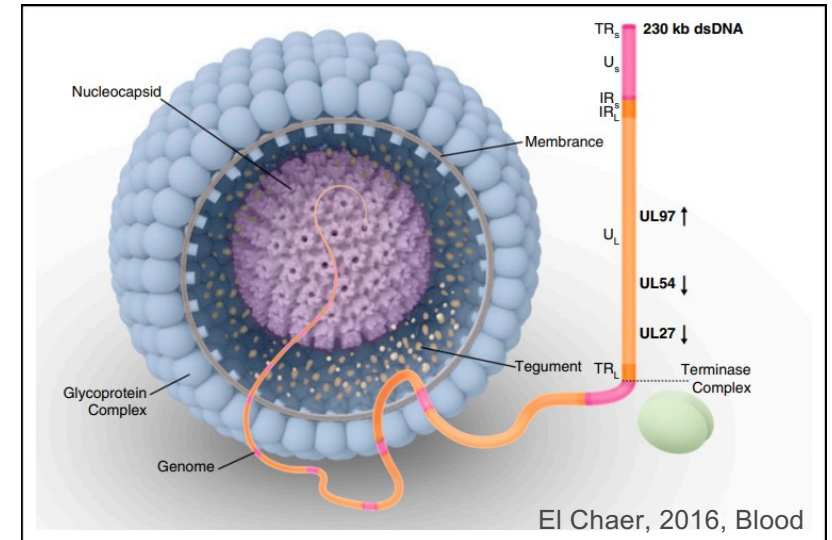
z.B. Forschungszuschüsse, Finanzierung von Studien etc.

Persönliche Beziehungen

Honorare, Dienst-/Beraterverhältnisse, Patente,
Geschäftsanteile, Mitgliedschaft in Verbänden, etc.

Cytomegalievirus (CMV)

- Humanes Herpesvirus 5
- Seroprävalenz: 40-100% der Erwachsenen
- Etabliert Latenz nach Primärinfektion
- Reaktivierung und Reinfektion möglich
- Diverse Transmissionswege
 - o Direkter Kontakt (Speichel, Sekrete der oberen Atemwege)
 - o Sexuelle Übertragung (genitale Sekrete)
 - o Übertragung durch Blut/Gewebe (Transfusion, Transplantation)
 - o Perinatale Übertragung (in utero, während der Geburt, durch Muttermilch)



CMV: Klinik bei Immunkompetenten

- Asymptomatisch
- Fieberhafter Infekt
- Mononukleoseartige Erkrankung mit Fieber, Lymphadenopathie, Lymphozytose
- Selten Organ-spezifische Komplikationen
 - o GI Trakt: Colitis, LFP-Auslenkung / Hepatitis
 - o ZNS: Enzephalitis, Guillain-Barré Syndrom
 - o Auge: anteriore Uveitis

- Intermittierende Reaktivierung triggert das Immungedächtnis → Kontrolle der viralen Replikation

CMV: Klinik bei Immunsupprimierten

- In hohem Maße abhängig von der immunologischen Fitness
- Verlust CMV spezifischer CD4+ und CD8+ T-Zellen bzw. Primärinfektion unter Immunsuppression kann zu unkontrollierter Replikation gefolgt von klinischer Erkrankung mit signifikanter Morbidität und Mortalität führen
- Indirekte Effekte von CMV
 - ↑ andere Infektionen
 - Transplantatschädigung
 - Verzögertes Engraftment
 - GvHD

Hochrisikogruppen

Organtransplantierte

Stammzelltransplantierte

Kongenital infizierte Neugeborene

AIDS Patienten

CMV Infektion vs. CMV Erkrankung

Definitionen für Transplantierte

March 1979

Cytomegalovirus

The Troll of Transplantation

Henry H. Balfour Jr, MD

» [Author Affiliations](#)

Arch Intern Med. 1979;139(3):279-280. doi:10.1001/archinte.1979.03630400011006

– Nicht synonym

– Infektion

- Virusisolierung oder Antigendetektion oder DNA-Nachweis in einer klinischen Probe, unabhängig vom Vorliegen von Symptomen

– Erkrankung

- CMV Infektion PLUS Klinik
 - CMV Syndrom: Fieber, Krankheitsgefühl, Leuko-/Neutro-/Thrombopenie, Lymphozytose
 - CMV Gewebeinvasion: Colitis, Pneumonie, Hepatitis, Retinitis,..... („end organ disease“)

CMV: Diagnostik

- Serologie
- Quantitative PCR
- pp65 Antigentest
- Kultur
- Histologie
- Sequenzierung zur Resistenztestung
- Bestimmung der CMV-spezifischen Immunität



CMV: Serologie

- Diverse Methoden verfügbar (meist Enzyimmunoassays)
- Detektion von IgG und IgM Antikörpern

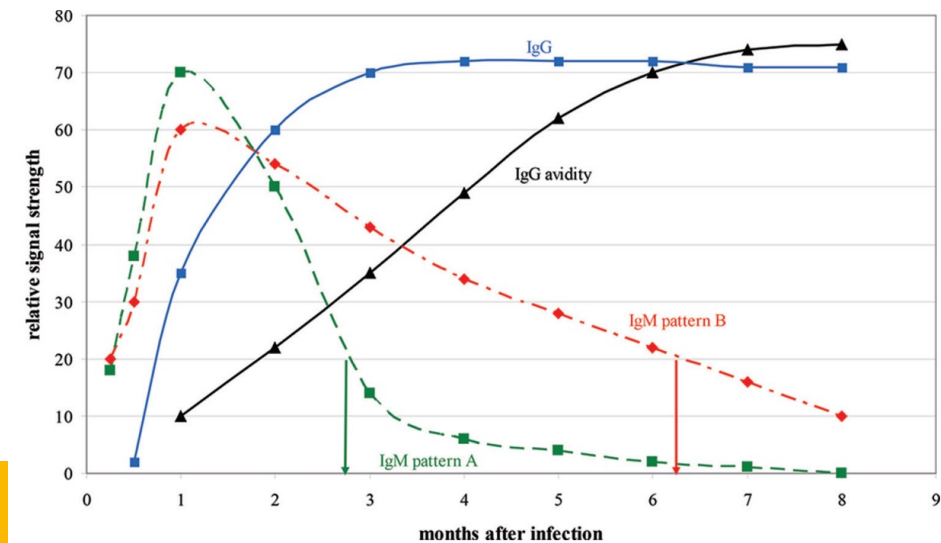
Anwendungsgebiete

Rezente/akute Infektion (Immunkompetent)

Risikoprofil bei geplanter Immunsuppression

IgG positiv: Risiko für Reaktivierung

IgG negativ: Risiko für Primärinfektion



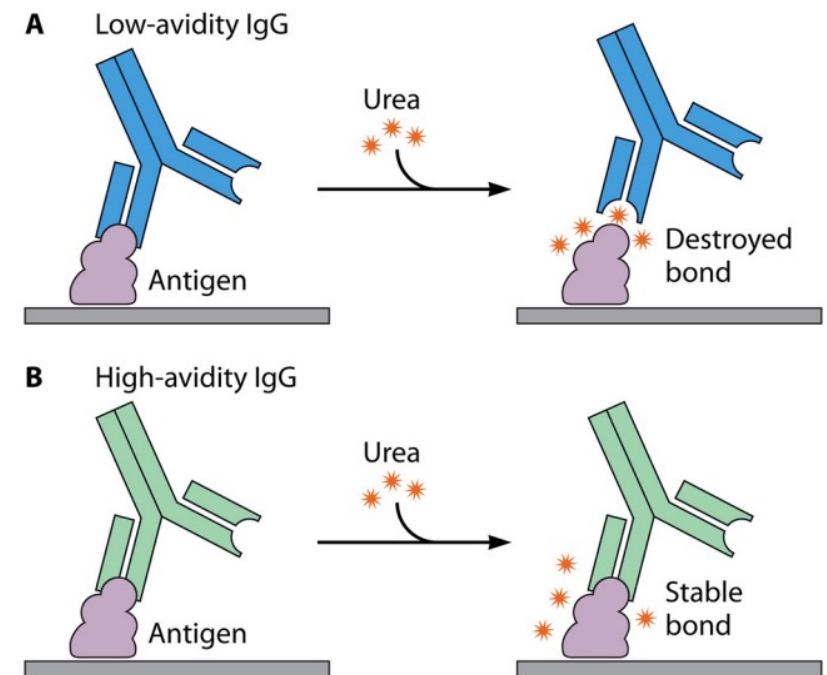
CMV: Serologie

Wie wird eine rezente Infektion diagnostiziert?

- Goldstandard: IgG Serokonversion (bei Immunkompetenten)
- Cave IgM Ak
 - o Nicht immer positiv (75-90% der akuten Infektionen)
 - o Können nach Infektion monatelang positiv bleiben
 - o Revertieren bei Reinfektion / Reaktivierung
 - o Falsch positive (Mit-)Reaktion bei anderen Infektionen möglich
- Bei Immunsupprimierten immer PCR

CMV Serologie – Aviditätsbestimmung

- Bestimmung der IgG Bindungsstärke
- Urea löst schwache Ag-Ak Bindung auf
- Datierung des Infektionszeitpunkts
 - Hochavide IgG → >3-4 Monate
 - Niedrig avide IgG → <3-4 Monate
- Verschiedene Testsysteme mit unterschiedlichen cut-offs und Interpretationen
- Normalisierung der Ak-Konzentration erforderlich



Serologie bei Immunsupprimierten

Wann brauchen wir sie?

- Keine Rolle bei der Diagnose einer aktiven Infektion
- CMV **IgG** VOR Beginn der Immunsuppression zur Abschätzung des individuellen Risikos
 - o Donor-Recipient Profil für Tx
 - o Antivirale Prophylaxe ↔ PCR Monitoring + präemptive Therapie
- Bei grenzwertigen Ergebnissen im Zweifel in höhere Risikokategorie einteilen
- Bei negativem Testergebnis WH unmittelbar vor Tx empfohlen
- Cave positive Tests nach Gabe von Blutprodukten
 - o Potentiell schwere Konsequenzen bei falscher Kategorisierung (R+ statt R-)

CMV: Quantitative PCR

- Sehr sensitive Tests – cave Detektion von latentem CMV
- Internationaler Standard seit 2010 verfügbar (Angabe der Ergebnisse in IE/ml)
- Materialien: Blut, Liquor, Biopsien, BAL, Fruchtwasser, ...

Anwendungsgebiete

Diagnose einer aktiven Infektion

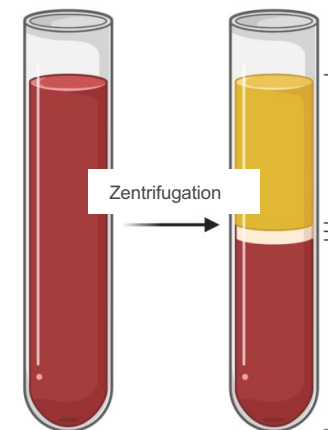
Monitoring von Risikopatienten – Start einer präemptiven Therapie

Detektion des Therapieansprechens

CMV: Quantitative PCR

Einsatz von EDTA-Vollblut vs. -Plasma?

- In die meisten Tests können beide Materialien eingesetzt werden
 - Kinetik der Viruslast ähnlich, auch unter Therapie
 - Vollblut enthält zellfreie und intrazelluläre Viren(-DNA)
 - o Daher sind Vollblutproben häufiger positiv
 - o Quantitäten in Vollblut sind $\sim 1\log_{10}$ höher als in Plasma
 - o Fragliche Signifikanz von niedrig positiven Proben, insbesondere residuelle Virämie nach Behandlung
- Patientenmonitoring immer mit demselben Material durchführen!



Lazarotto, 2018, Biol Blood Marrow Transplant.

Lisboa, 2011, Transplantation

Razonable, 2002, Transplantation

CMV: Quantitative PCR

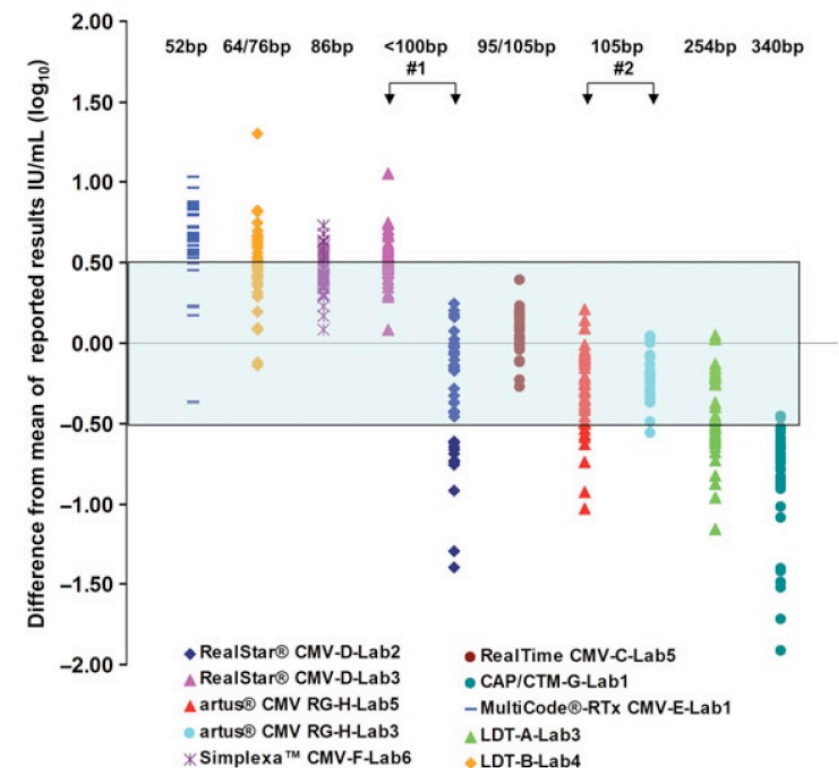
Warum gibt es keine einheitlichen cut-offs?

- Relativ große Variabilität zwischen Tests trotz internationalem Standard, beeinflusst durch
 - o Amplikongröße
 - o Extraktionsmethode
- Cut-offs müssen individuell festgelegt werden
 - o Verwendeter Test
 - o Verwendetes Material
 - o Patientenkollektiv (SOTx vs. SCT)
 - o Risikoprofil des individuellen Patienten (z.B. D+R+ vs. D+R- Serostatus)

→ Patientenmonitoring immer mit demselben Test durchführen!

Preiksaitis, 2016, Clin Infect Dis

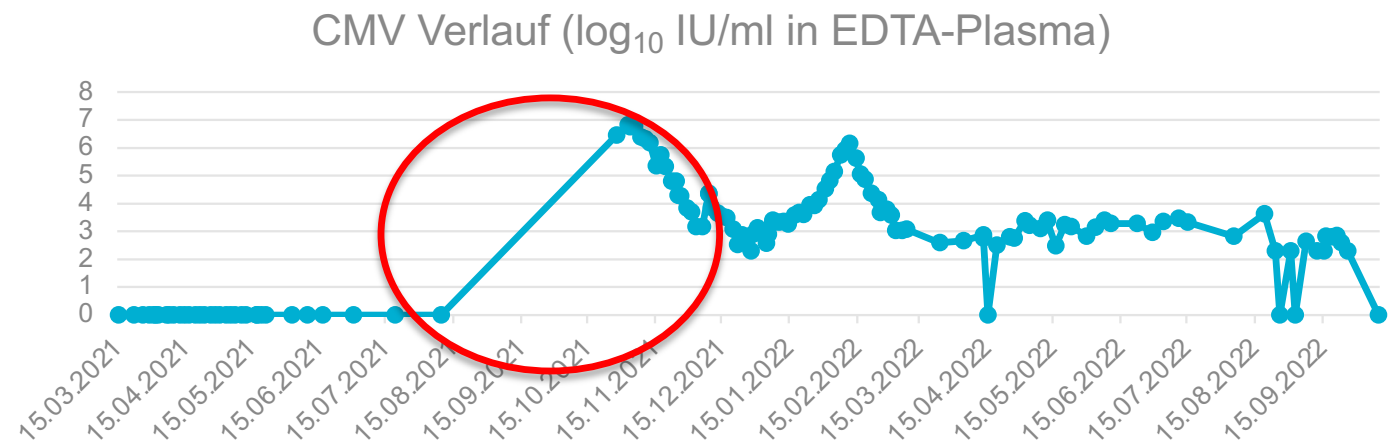
Tong, 2017, J Infect Dis



CMV: Quantitative PCR

Was ist wichtig beim Monitoring nach Tx?

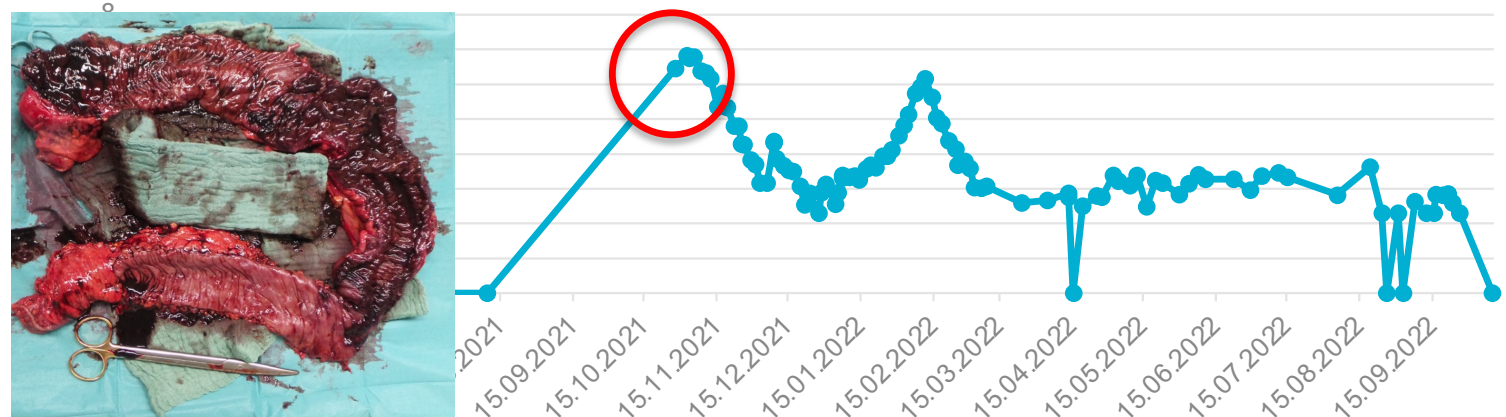
- Serielle quantitative PCRs, üblicherweise 1x/Woche für 3-4 Monate
- Ergebnisse sollten in 24-48h zur Verfügung stehen → rechtzeitiger Start einer präemptiven Therapie
- Unter laufender adäquater Prophylaxe Monitoring nicht unbedingt notwendig
 - o Aber in manchen Situationen Surveillance nach Prophylaxe sinnvoll → 1x/Woche PCR für 8-12 Wochen



CMV: Quantitative PCR Risiko für Erkrankung ermittelbar?

- Keine etablierten cut-offs
- Aber je höher die initiale Viruslast, desto höher das Risiko für Erkrankung
- Viruslastzunahme korreliert mit Risiko für Erkrankung

CMV Verlauf (log₁₀ IU/ml in EDTA-Plasma)



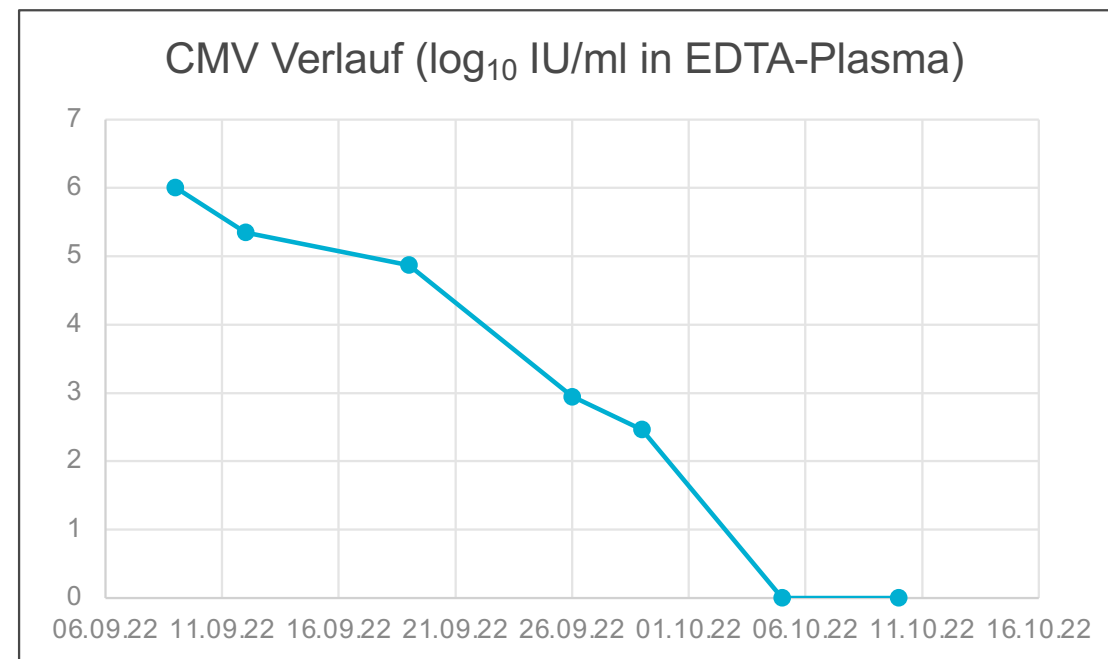
Emery, 2000, Lancet
Natori, 2018, Clin Infect Dis

CMV: Quantitative PCR

Was ist wichtig beim Therapiemonitoring?

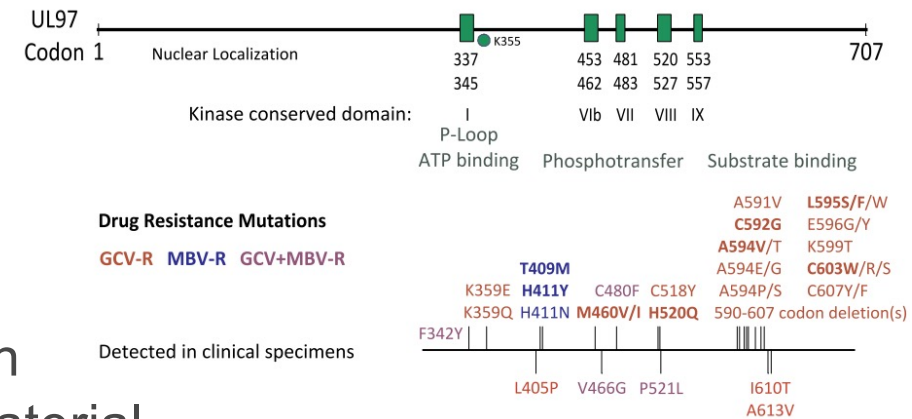
- Serielle quantitative PCRs zur Beurteilung des Therapieansprechens
- Testung 1x/Woche (Halbwertszeit im Plasma)
- Reproduzierbarkeit der PCR Tests nicht überschätzen
 - o Bedeutsame Änderung: $>3x$
- Therapieende nach einem negativen PCR Ergebnis möglich
 - o Ggf. Kontrolle nach 1 Woche
 - o Keine Symptomatik mehr

Kotton, 2018, Transplantation
Lisboa, 2011, Transplantation



CMV: Resistenztestung

- Sequenzierung und Detektion von spezifischen Resistenz-Mutationen direkt aus klinischem Material
- UL97 Phosphotransferase Mutationen
 - o Treten unter (Val-)Ganciclovirtherapie auf
 - o Verminderte Phosphorylierung (=Aktivierung) von Ganciclovir
 - o Je nach Mutation Substanzwechsel oder Dosiserhöhung notwendig
 - o Resistenz gegen Maribavir
- UL54 DNA Polymerase Mutationen
 - o Treten meist in Folge einer UL97 Mutation auf
 - o Je nach Mutation variable Resistenzkombinationen (Ganciclovir/Foscarnet/Cidofovir)
- UL56 Terminase Mutationen
 - o Resistenz gegen Letemovir

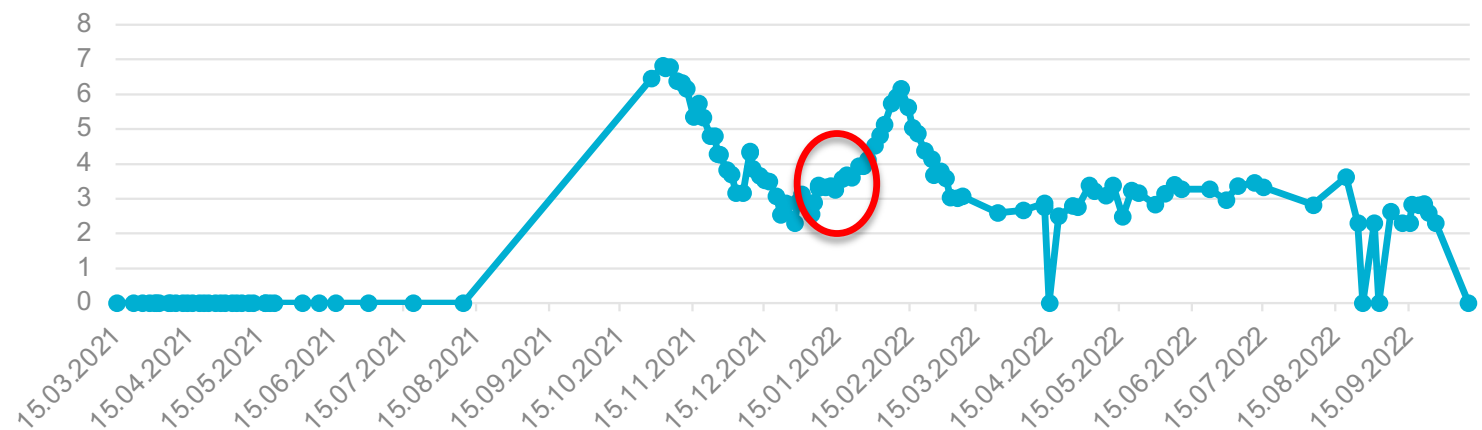


CMV: Resistenztestung

Wann ist sie indiziert?

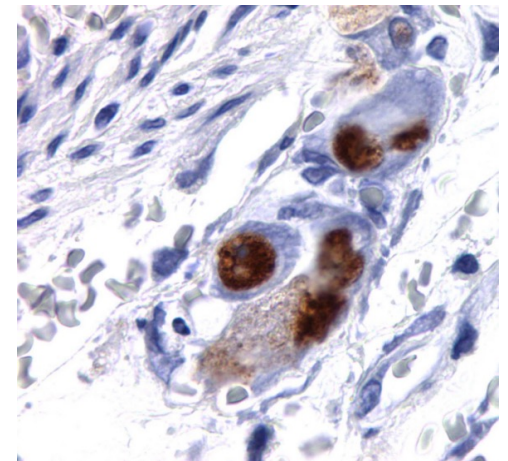
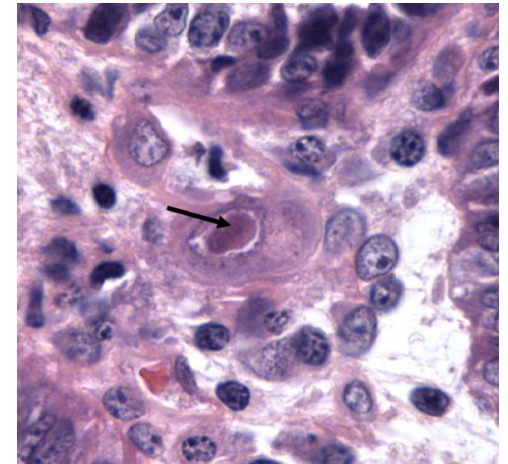
- Indiziert bei (Wieder-)Anstieg der Viruslast $>1 \log_{10}$ IE/ml bzw. Persistenz unter adäquater antiviraler Therapie (>14 Tage) = refraktäre Infektion
 - o Selten GCV Resistenz bei kumulativer Exposition <6 Wochen
- Technisch möglich ab ca. 10^3 IE/ml
- Ggf. Proben aus verschiedenen Kompartments testen (insbes. ZNS, Auge)

CMV Verlauf (\log_{10} IU/ml in EDTA-Plasma)



CMV: Histologie

- Goldstandard für den Nachweis einer Gewebeinvasion
 - o Negative PCR aus Blut schließt diese nicht aus!
 - o Lunge, GI-Trakt, Leber
- Jedenfalls bei DD:
Abstoßung / GvHD / V.a. anderes Pathogen
- Einschlusskörperchen in Plasma und Zellkern
- Bestätigung mit Immunhistochemie, in-situ Hybridisierung



CMV: Immunmonitoring

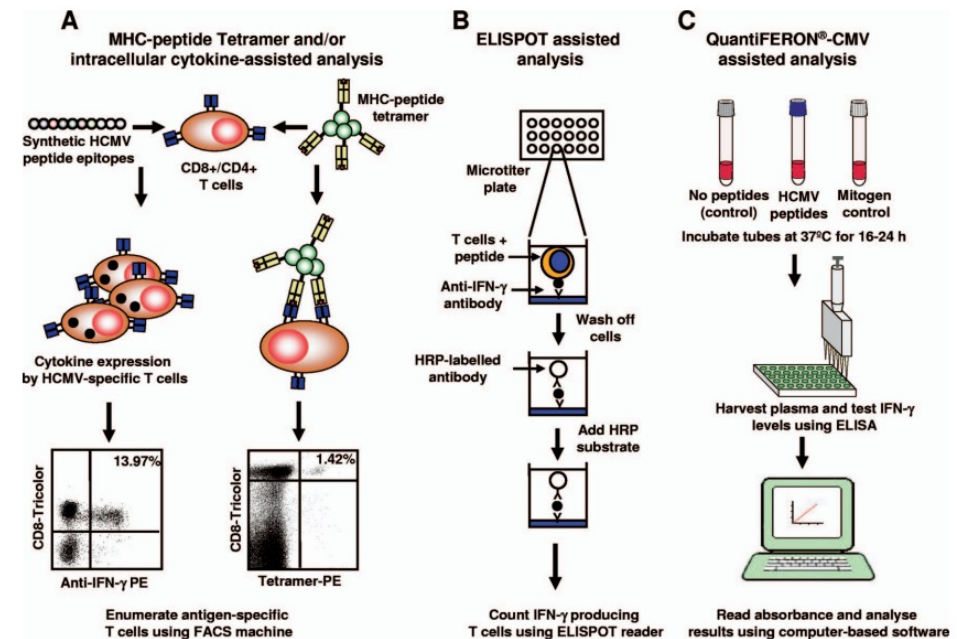
- Assays für CMV-spezifische T-Zellantwort

- Durchflusszytometrie
- ELISpot Assay
- QuantiFERON CMV

- Fehlende CD4/CD8 T-Zellantwort korreliert mit höherem Risiko (CMV-Erkrankung, Therapieversagen, Relaps)

- Noch keine breite Anwendung aber vielversprechende Technologie

- Cut-offs? (Abhängig von Population, D/R Serostatus, Immunsuppression)
- Standardisierung?
- Nutzen in Populationen mit engmaschigem Screening und präemptiver Behandlung?



Patienten auf der Intensivstation Brauchen sie CMV Diagnostik?

- Häufige Reaktivierungen (1-30%) bei zuvor immunkompetenten Patienten
- Variable Berichte über Outcome (↑Mortalität, ↑Aufenthalt vs. kein Unterschied)
- Bisher keine Evidenz, dass Therapie/Prophylaxe Outcome verbessert
- Keine generelle Empfehlung, zu testen
 - Wenn, dann PCR aus Blut
 - Keine Schwellenwerte definiert

	Placebo Group (n = 72)	Ganciclovir Group (n = 84)	Absolute Difference (95% CI) ^a	P Value
Primary Outcome at Day 14				
Difference in IL-6 level, log ₁₀ units, mean (95% CI)	-0.79 (-2.14 to 0.56)	-0.79 (-2.06 to 0.48)	0 (-0.3 to 0.2)	>.99
Secondary Outcomes at Day 28				
Any CMV reactivation, No. (%)	28 (39)	10 (12)	-27 (-40 to -14)	<.001
Mechanical ventilation days, median (IQR)	6 (3 to 12)	5 (3 to 9)	-1 (-3 to -1)	.16
VFDs, median (IQR)	20 (8 to 24)	23 (16 to 25)	3 (0 to 6)	.05
Sepsis subgroup analysis	20 (9 to 24)	23 (16 to 25)	3 (0 to 4)	.03
ICU length of stay, median (IQR), d	8 (5 to 15)	8 (4 to 14)	0 (-4 to 2)	.76
Secondary bacteremia or fungemia, No. (%)	11 (15)	13 (15)	0 (-10 to 10)	.67
Mortality, No. (%)	11 (15)	10 (12)	-3 (-14 to 7)	.54

CMV Infektion in der Schwangerschaft

Welche Diagnostik und bei wem?

Indikation zur CMV Diagnostik

Abklärung einer mononukleoseartigen Erkrankung/eines grippalen Infekts

Abklärung bei Hepatitis

Auffällige Ultraschallbefunde beim Fetus

- Diagnose der maternalen Infektion
 - o IgG Serokonversion, cave IgM
 - o Aviditätstestung, Spezifitätstestung (Antwort gegen welche Proteine?)
 - o PCR eingeschränkt hilfreich (negatives Ergebnis schließt Infektion nicht aus)
- Diagnose der fetalen Infektion
 - o PCR aus Fruchtwasser (>8 Wochen nach maternaler Infektion, >21. SSW)
 - o Ultraschall (IUGR, Mikrozephalie, Strukturanomalien des Gehirns...) – nicht diagnostisch

Kongenitale CMV Infektion

Welche Diagnostik und bei wem?

V.a. kongenitale CMV Infektion

Klinische Zeichen einer kongenitalen Infektion

Auffällige ZNS Bildgebung

Sensorineurale Schwerhörigkeit (z.B. 2x auffälliges Screening)

CMV Infektion der Mutter in der Schwangerschaft

- PCR aus Harn (oder Speichel) in den ersten 2-3 Lebenswochen (hochpositiv)
- Positive PCR aus Blut ist ebenfalls diagnostisch
- Retrospektive Diagnostik: PCR aus Guthrie-Karten
 - o Negatives Ergebnis schließt Infektion nicht aus

Abschluss

- Vielzahl von diagnostischen Optionen
- Richtige Anwendung für die verschiedenen Aspekte des CMV Managements je nach betroffener Patientengruppe

Danke für Ihre Aufmerksamkeit

