

TESTIM LABORATORIK PËR INFEKSIONIN CYTOMEGALOVIRUS I GRAVE NË MOSHËN RIPRODHUESE

ANETA ÇOMO,¹ ANILA MITRE.²

¹Universiteti “Eqerem Çabej” Gjirokastrë, Fakulteti i Shkencave të Natyrës,
Departamenti i Biologji-Kimisë

²Universiteti i Tiranës, Fakulteti i Shkencave të Natyrës, Departamenti i Biologjisë
e-mail: anetacomo@yahoo.com

Përmbledhje

Qëllimi i këtij studimi është vlerësimi i pranisë së infeksionit akut dhe kronik me Cytomegalovirus, tek gratë në moshë riprodhuese (18-45vjeç) në Shqipëri. Diagnostikimi i hershëm i infeksionit primar me Cytomegalovirus kërkon matje sasimore dhe shumë të ndjeshme për antitrukat IgG dhe IgM, që diferencojnë infeksionet kronike nga ato të kohëve të fundit. Prania në serum e IgM specifike ndaj Cytomegalovirusit është tregues i infeksionit të kohëve të fundit, por shpesh IgM vazhdon dhe mund të zbulohet për vite pas shfaqjes së infeksionit. Një infeksion primar gjatë tremujorit të parë të shtatzanisë shkakton dëme fetale. Matja e aviditetit të IgG mund të përmirësojë saktësinë e diagnozës serologjike që daton nga infeksioni, prandaj, një tregues i lartë i aviditetit për Cytomegalovirus IgG gjatë tremujorit të parë të shtatzanisë përjashton infeksionin akut gjatë. 3543 serume u analizuan (të ndara për tre vjet) për antitrukat IgG dhe IgM ndaj Cytomegalovirusit ,me teknikën ECL (parimi bridging) në instrumentin Cobas 6000. Antitrukat anti-CMV IgM janë zbuluar në 1.92% të 3543 grave të përfshira në grup studimin tonë. Antitrukat anti-CMV IgG janë zbuluar në 70.78% të 3543 grave në grupin tonë të studimit. Megjithatë, testet serologjike për antitrukat IgG/IgM anti-Cytomegalovirus mund të mos arrijnë të bëjnë dallimin midis një infeksioni të kohëve të fundit dhe atij të kaluar. Testimi i aviditetit të IgG-së zbuloi antitruka me aviditet të ulët vetëm në 28% të femrave me IgM pozitive, duke sugjeruar një infeksion të kohëve të fundit.

Fjalëkyçe: *Cytomegalovirus*, aviditet, antitruka anti-CMV IgG, antitruka anti-CMV IgM, parimi bridging.

Abstract

The aim of the study is to evaluate the presence of acute and chronic infection with Cytomegalovirus in women at reproductive age from 18- 45 years in Albania. Early diagnosis of primary infection with Cytomegalovirus requires a highly sensitive and quantitative assay for IgG and IgM antibodies, to discriminate between chronic and recent infections. The presence of Cytomegalovirus -specific IgM in serum is an indicator of recent infection, but often IgM persists and may be detected for years after the occurrence of the infection. A primary infection during the first trimester of pregnancy cause foetal damage. Measurement of IgG avidity may improve the accuracy of the serological diagnosis dating the infection more precisely. Therefore a high IgG Cytomegalovirus Avidity Index during the first trimester excludes acute infection during pregnancy. A total of 3543 sera are analyzed (separated in three years) by type-specific IgG and IgM antibodies against, with ECL assays (bridging system) at Cobas 6000 instrument. Antibodies anti-CMV IgM are detected in 1.92% of the 3543 women in our study group. The antibodies anti-CMV IgG are detected in

70.78% of the 3543 women in our study group. Serological tests for IgG/IgM anti-Cytomegalovirus antibodies may fail to differentiate between a recent and past infection. However, the IgG-avidity test detected low-avidity antibodies only in 28 % of the IgM positive women, suggesting a recent infection.

Key words: cytomegalovirus, avidity, anti-CMV IgG antibody, anti-CMV IgM antibody, bridging system.

Hyrje

Human cytomegalovirus ose *Human Herpesvirus-5* bënë pjesë në Familjen *Herpesviridae*. Emërtimi *Cytomegalovirus* rrjedh nga fakti se qelizat e infektuara prej tij rrisin shumë përmasat e tyre 30-40 µm. Nëse krahasohet me pjesëtarët e tjerë të familjes, vihet re se është virusi me përmasa më të mëdha me një gjenomë në formë lineare të padegëzuar të përbërë prej 235 kb: Crough & Khanna, (2009). Kapsidi i tij ka simetri kubike të një njëzetedri të rregullt me diametër rreth 150-200 nm. Kapsidi përbëhet nga 162 kapsomerë dhe mbështillet nga tegumenti glikoproteinik. Ky virus përmban ADN dyvargore : Παπαπαναγιωτου , (1995)

Infeksioni me CMV është relativisht i shpeshtë, por CMV nuk përhapet shumë lehtë përmes kontaktit të thjeshtë. Transmetimi i infeksionit kërkon kontakt të drejtpërdrejtë me sekrecione të infektuara si: pështyma, qumështi i gjirit, urina, sekrecionet vaginale e cervikale, sperma, gjaku (Cheeran. *et al.*, 2009; Akhter & Kauser, 2015.)

Cytomegalovirusi është një sëmundje seksualisht e transmetueshme me përhapje të konsiderueshme në botë dhe një problem i rëndësishëm për shëndetin publik .

Në USA, Australi dhe Evropë, seroprevalenca CMV mes të rriturve varjon në 36-77%. Në USA 50%-85% e të rriturve janë të infektuar me CMV brenda moshës 40 vjeç. Në shumë vende ku janë kryer studime prevalenca e CMV varjon nga 20-100% tek gratë në moshë rriprodhuese dhe 100% tek përdoruesit e drogës.

Në shumicën e rasteve infektimi nga HCMV pas lindjes është asimptomatik. Por në disa raste të infektuarit zhvillojnë një sindrom të ngjashëm me mononukleozinë infektive me ethe të zgjatura, një hepatit të butë dhe dhimbje fyti.

Infeksioni me HCMV është një nga shkaktaret kryesor i sëmundjes dhe vdekjes te pacientët me imunitet të dobët. Tek këta njerëz infektimi nga HCMV mund të shkaktojë: dështim të plotë të mëlçisë, retinit i CMV, kolit i CMV, pneumoni i CMV, esofagit i CMV, myelitis tërthor, encefalit subakut

Infeksionet maternale gjatë shtatëzanisë shoqërohen me një rrezik të lartë të transmetimit intrauterin. CMV-ja është përgjegjëse për një numër të konsiderueshëm sëmundjesh si: shurdhimin sensorneural, prapambetje mendore, prapambetje në zhvillimim e femijeve dhe prapambetje në zhvillimim intrauterine.

Rreziku i dëmtimeve të sistemit nervor qëndror të fëmijëve që lindin me infeksion kongjenital zvogëlohet me moshën e shtatzanisë së nënës. Rreziku më i lartë është në tremujorin e parë të shtatzanisë: 80 %, në tre mujorin e dytë mundësia e dëmtimeve zvogëlohet në më pak se 10 %, ndërsa në tre mujorin e fundit mundësia zvogëlohet deri në 0%: Kenneson and Cannon, (2007).

N.q.se një nënë rezulton pozitive ndaj infeksionit primar me CMV në tremujorin e parë të shtatzanisë mjeku gjinekolog rekomandon kryerjen e amniocentezës për të hetuar n.q.s.embrioni është prekur nga sëmundja. N.q.s. fetusit rezulton i prekur nga CMV bën që diagnostikimi i hershëm i infeksionit primar të paraqesë rëndësi të veçantë.

Diagnostikimi i hershëm i infeksionit primar kërkon një analizë shumë të ndjeshme për praninë e antitropave: IgG dhe IgM si dhe përcaktimin sasior të tyre. Kjo është e domosdoshme për të dalluar infeksionet kronike dhe ato të kohëve të fundit. Prania e Cytomegalovirus-IgM specifik në serum është një tregues i infeksionit të kohës së fundit, por dhe IgM shpesh vazhdon të egzistojë dhe mund të dedektohet për vite të tëra pas shfaqjes së infeksionit. Një infeksion primar gjatë tremujorit të parë të shtatzanisë shkakton dëme tek fetusit dhe shpesh është shumë e vështirë për të dalluar riinfektimin nga riaktivizimi i infeksionit primar.

Testimi serologjik për antitropat IgG/IgM anti-Cytomegalovirus mund të mos mjaftojë për të bërë dallimin midis një infeksioni të kohëve të fundit dhe një infeksioni të kaluar prandaj është e nevojshme që të përcaktohet aviditeti i IgG tek nënat seropozitive ndaj IgM.

Aviditeti është sasia e fuqisë së përgjithshme të lidhjes (energji e lidhjes) midis antitropave dhe një antigjeni shumëvalent, pra, aviditeti është shuma e afiniteteve individuale. Sa më i vjetër një infeksion, aq më i lartë është aviditeti, pra aq më e fuqishme është lidhja e antitropit me antigenin. Me fjalë të tjera, aviditeti rritet me maturimin e përgjigjes imune. Në përgjithësi, antitropat IgM kanë aviditet më të lartë se antitropat IgG, megjithëse lidhja e secilit Fab në antitropin IgM me ligandin mund të jetë me të njëjtit afinitet si ai i Fab në IgG.

Matja e aviditetit të IgG mund të përmirësojë saktësinë e diagnozës serologjike që daton që nga infeksioni duke dhënë një rezultat me saktësi më të lartë. Një indeks i lartë i aviditetit përjashton infeksionin nga CMV në katër muajt e fundit, prandaj një indeks i lartë i aviditetit të IgG gjatë tremujorit të parë të shtatzanisë, përjashton infeksionin akut për shumë gra që do të ishin identifikuar me infeksion të kohëve të fundit në bazë të rezultatit pozitiv për IgG dhe IgM.

Hapi i parë në diagnozën e infeksioneve të CMV është detektimi i antitropave specifikë: anti-CMV IgG dhe anti-CMV IgM. Mostrat pozitive për antitropat IgM shprehin një infeksion akut, ose një riaktivizim të mundshëm.

Për të dalluar infeksionet fillestare nga infeksionet e vjetra përdoret testi i

aviditetit. Nëse aviditeti i IgG është i ulët, kjo shpreh një infeksio primar dhe akut. Nëse aviditeti i IgG është i lartë, kjo shpreh një infeksion të vjetër.

Materiali dhe metodat

Një total prej 3543 serumeve janë analizuar (të ndara në tre vjet) për antitruapat IgG dhe IgM specifik anti- CMV tek gratë në moshë riprodhuese me testin ECL në instrumentin Cobbas 6000. Të gjitha mostrat janë analizuar në Laboratorin Intermedica gjatë viteve. Për detektimin e anti-CMV IgM dhe IgG përdoret parimi bridging. Parimi bridging është programuar që të masë antitruapat në lëngjet biologjike (IgA, IgG ose IgM). Kjo plotësohet me shtimin e antigeneve të biotinuara dhe të markuar me rutenium në reagentët për të cilët ka afinitet antitruapi target.

Rezultate dhe diskutime

Në përputhje me qëllimin e studimit u analizuan 3543 serume (të ndara në tre vjet, 2011-2013) për praninë e antitruapave specifik anti-CMV IgG dhe IgM tek gratë në moshë riprodhuese, me testin ECL (parimi bridging) në instrumentin Cobbas 6000, dhe u morën këto rezultate:

Në grupin në studim, në periudhën kohore 2011-2013, përhapja e infeksionit të CMV arrin në 72,70%

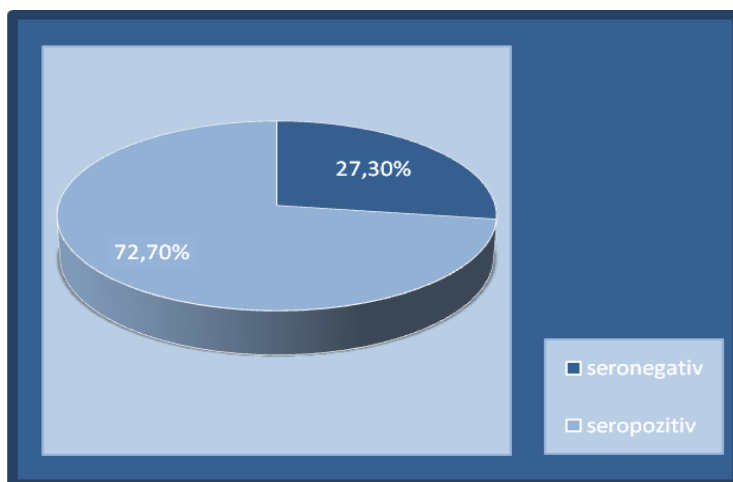


Figura1: Përhapja e infeksionit të CMV në grupin në studim

Per anti-CMV IgG: Në grupin në studim, në periudhën kohore 2011-2013, vërehet prania e antitruapave IgG ndaj *Human cytomegalovirus* në 70,78% të rasteve. Antitruapat anti-CMV IgG janë zbuluar në këto përqindje në vite:

- 74,3 % në 2011 (testuar gjithsej 1004 individë)
- 69,5 % në 2012 (testuar gjithsej 1098 individë)
- 69,3 % në 2013 (testuar gjithsej 1441 individë)

në grupin tonë të studimit.

Të dhënat paraqiten në grafikun e mëposhtëm:

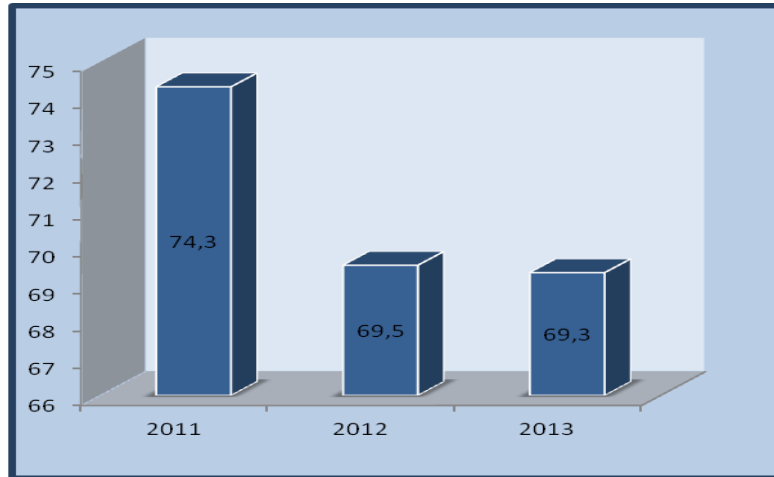


Figura2: Përqindja a femrave pozitive ndaj IgG në popullatën në studim

Siç vihet re nga grafiku kemi një ulje të lehtë të përqindjes së femrave pozitive ndaj IgG në 2012 në krahasim me 2011, ndërsa përqindja në 2012 dhe 2013 pothuaj nuk ndryshon. Kjo tregon për një përhapje të qëndrueshme të CMV në popullatën në studim.

Per anti-CMV IgM: Në grupin në studim, në periudhën kohore 2011-2013, vërehet prania e antitropave IgM ndaj *Human cytomegalovirus* në 1,92% të rasteve. Të dhënat paraqiten në grafikun e mëposhtëm:

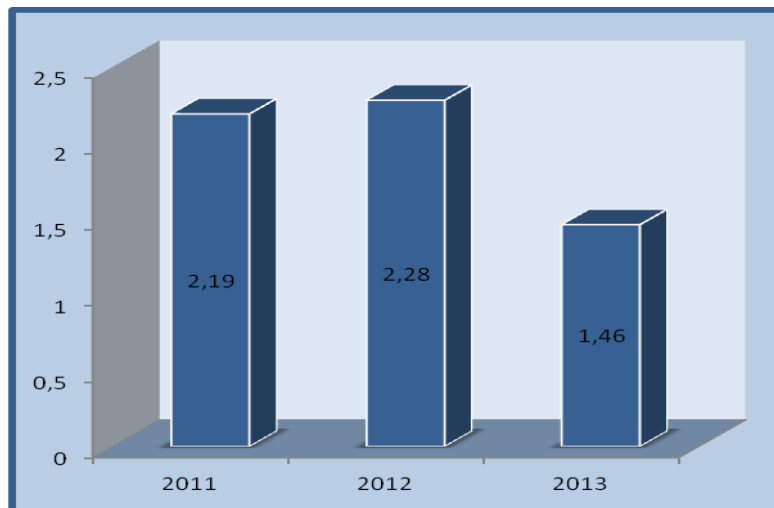


Figura3: Përqindja e femrave pozitive ndaj IgM në popullatën në studim

Antitruapat anti-CMV IgM janë zbuluar në këto përqindje në vite:

- 2,19 % në 2011 (testuar gjithsej 1004 individë)
- 2,28 % në 2012 (testuar gjithsej 1098 individë)
- 1,46 % në 2013 (testuar gjithsej 1441 individë)

në grupin tonë të studimit.

Siç vihet re dhe nga grafiku, përqindja e femrave pozitive ndaj IgM në 2011 dhe 2012 pothuajse nuk ndryshon, ndersa në 2013 kemi një ulje të lehtë të përqindjes në krahasim me 2012.

Në grafikun e mëposhtëm paraqitet në mënyrë të krahasuar përqindja e grave pozitive ndaj IgM dhe IgG.

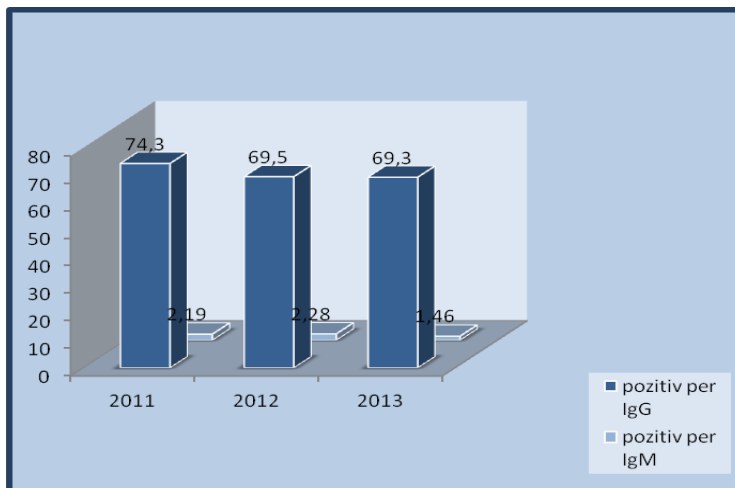


Figura4: Krahasimi i përqindjes së femrave pozitive ndaj IgM dhe IgG në popullatën në studim

Nga krahasimi i rezultateve të mara për përqindjen e femrave pozitive ndaj IgM dhe IgG vihet në dukje përqindja shumë më e madhe e femrave pozitive ndaj anti-CMV IgG në krahasim me ato pozitive ndaj anti-CMV IgM.

Testimi serologjik për antitruapat IgG/IgM anti-CMV mund të mos mjaftojë për të bërë dallimin midis një infeksioni të kohëve të fundit dhe një infeksioni të kaluar prandaj është e nevojshme që të përcaktohet aviditeti i IgG tek nënat seropozitive ndaj IgM.

Nga testimi i aviditetit të IgG tek 68 femrat që rezultuan pozitive ndaj IgM vetëm 19 femra që përbëjnë 28% të tyre rezultuan me aviditet të ulët ndaj IgG, si rrjedhim dhe me infeksion të kohëve të fundit. Pjesa më e madhe e tyre, 49 femra që përbëjnë 72% të femrave pozitive ndaj IgM rezultuan me aviditet të lartë ndaj IgG, si rrjedhim dhe me imunitet ndaj CMV.

Rezultatet për aviditetin paraqiten në grafikun e mëposhtëm:

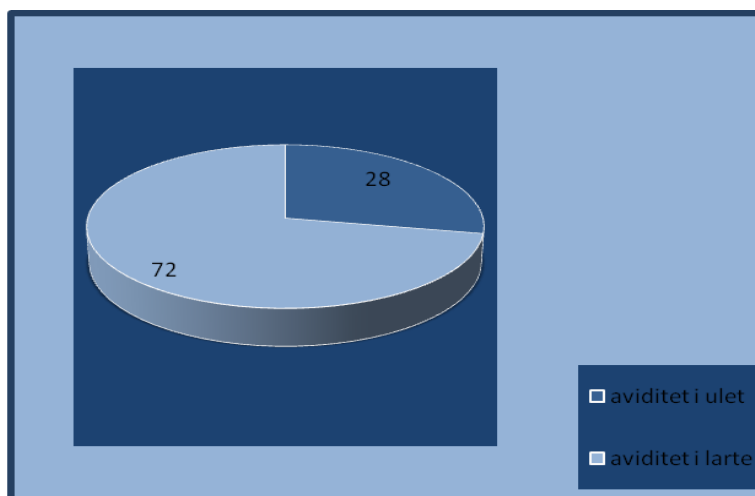


Figura 5: Përqindja e femrave pozitive ndaj IgM në bazë të aviditetit ndaj jIgG

Në vendin tonë ka pak studime mbi infeksionin nga CMV. Në një studim të kryer mbi prevalencën e CMV në dhuruesit me dhe pa pagesë të gjakut në Tiranë Seferi et al.(2003); prevalenca e CMV rezulton 83% në total, 85,3% tek femrat, ndërsa seropozitivët ndaj IgM rezultojnë 5,5%.

Në studimin tonë prevalenca e CMV në grupin tonë të studimit (femra në moshë riprodhuese 18-45 vjeç) rezulton 72,70%, ndërsa seropozitivët ndaj IgM rezultojnë 1,92%.

Përqindja pak më e ulët në studimin tonë vjen si rezultat: i ndryshimit të grupit të studimit pasi në studimin tonë përfshihen vetëm femrat në moshë riprodhuese (18-45 vjeç) ndërsa në studimin e dhuruesve të gjakut nuk ka kufizim moshë. Gjithashtu në studimin tonë për evidentimin e infeksionit janë përdorur vetëm metoda serologjike dhe meqë ato janë pak të kushtueshme nuk mund të kryhen nga të gjithë për shkak të vështirësive ekonomike e aq më pak nga dhuruesit e gjakut me pagesë.

Zhvillimi i një metode serologjike për të dalluar infeksionin e kohëve të fundit nga CMV nga një infeksioni i hershëm në gratë shtatzëna duke përdorur një mostër të vetme të serumit ka qenë prej kohësh një objektiv. Një metodë e tillë paraqet një rëndësi të veçantë në vendin tonë, ku nuk bëhet testimi serologjik gjatë shtatzanisë. Mungesa e disponueshmërisë së një serie mostrash individuale të serumit nga gratë shtatzëna ka vështirësuar shumë kërkimet në këtë drejtim dhe ka dëmtuar dukshëm aftësinë e mjekëve për të përcaktuar rrezikun nga CMV kongjenital në gratë shtatzëna. Një qasje për testimin dhe menaxhimin e infektimit nga CMV tek gratë shtatzëna do të ishte testimi për antitruapat IgG dhe IgM në tremujorin e parë të shtatzanisë i të gjitha grave në të cilat statusi serologjik nuk është i njohur. Për gratë seronegative për të dyja testet, informimi dhe edukimi do të ishin shumë të rëndësishëm për të parandaluar infektimin nga CMV. Në mostrat

seropozitive si për IgG ashtu edhe për IgM, do të përcaktohej aviditeti i IgG. Një rezultat i lartë i testit të aviditetit të do të ulte ndjeshëm numrin e analizave plotësuese ose testeve të tjera të nevojshme që duhet të kryhen në vazhdimësi si dhe teknikave nderhyrëse përfshirë dhe analizën e PCR, amniocentezën.

Kështu arrijmë në përfundim se testimi i aviditetit të IgG në mostrat e serumeve të grave në tremujorin e parë të shtatzanisë është një test i vlefshëm për përfundimin e infektimit të kohëve të fundit nga CMV.

Përfundime

Nga studimi i mësipërm arritëm këto përfundime:

Në grupin në studim, në periudhën kohore 2011-2013, përhapja e infeksionit të CMV arrin në 72,70%

Antitruapat anti-CMV IgM janë zbuluar në 1,92% të 3543 grave të përfshira në grupin tonë të studimit.

Antitruapat anti-CMV IgG janë zbuluar në 70,78% të 3543 grave në grupin tonë të studimit

Testet serologjike për antitruapat IgG/IgM anti-CMV mund të mos arrijnë për të bërë dallimin midis një infeksioni të kohëve të fundit dhe atij të kaluar.

Testimi i aviditetit të IgG-së zbuloi antitruapa me aviditet të ulët vetëm në 19 femra që përbëjnë 28% të 68 femrave me IgM pozitive, duke sugjeruar një infeksion të kohëve të fundit; ndërsa 49 femra që përbëjnë 72% të 68 femrave me IgM pozitive, kishin nivel të lartë aviditeti, gjë që tregon imunitet.

Nëse bazoheshim vetëm në serologjinë IgM për CMV, të paktën 49 gra gabimisht mund të evidentoheshin me infeksion akut dhe rekomandim të gabuar për abort.

Literatura

Crough T. and Khanna R. (2009): Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside. *Clin. Microbiol. Rev*; vol 22, no. 1, 76-98

Παπαπαναγιωτου Ι. (1995): Ιατρική Μικροβιολογία και Ανοσοβιολογία. Τομος Β. ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ, 478-483

Akhter, Kauser. (2015): Cytomegalovirus Workup." *Medscape. com/article/215702 - Workup*

Lazzarotto, T. et al. (2011): Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy." *Clin Microbiol Infect* 17.9. 1285-93 United States. Centers for Disease Control and Preventio .(2010): Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection

Cheeran, M. C. J., Lokensgard, J. R., and Schleiss, M. R. (2009): Neuropathogenesis of congenital cytomegalovirus infection: Disease mechanisms and prospects for intervention. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1):99-126

Schlesinger, Y., Reich, D., Eidelman, A. I., Schimmel, M. S., Hassanin, J., Miron, D., et al. (2005): Congenital cytomegalovirus infection in Israel: screening in different subpopulations. *Isr. Med. Assoc. J.* 7, 237–240.

Zhang, X. W., Li, F., Yu, X. W., Shi, X. W., Shi, J., Zhang, J. P., et al. (2007): Physical and intellectual development in children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection: a longitudinal cohort study in Qinba mountain area, China. *J. Clin. Virol.* 40, 180–185. doi: 10.1016/j.jcv.2007.08.018

Cannon, M. J., Schmid, D. S., and Hyde, T. B. (2010): Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev. Med. Virol.* 20, 202–213. doi: 10.1002/rmv.655

Manicklal, S., Emery, V. C., Lazzarotto, T., Boppana, S. B., and Gupta, R. K. (2013): The “silent” global burden of congenital cytomegalovirus. *Clin. Microbiol. Rev.* 26, 86–102. doi: 10.1128/CMR.00062-12

Manicklal, S., van Niekerk, A. M., Kroon, S. M., Hutto, C., Novak, Z., Pati, S. K., et al. (2014): Birth prevalence of congenital cytomegalovirus among infants of HIV-infected women on prenatal antiretroviral prophylaxis in South Africa. *Clin. Infect. Dis.* 58, 1467–1472. doi: 10.1093/cid/ciu 096

Gumbo, H., Chasekwa, B., Church, J. A., Ntozini, R., Mutasa, K., Humphrey, J. H., et al. (2014): Congenital and postnatal CMV and EBV acquisition in HIV-infected Zimbabwean infants. *PLoS ONE* 9:e114870. doi: 10.1371/journal.pone.0114870

Mwaanza, N., Chilukutu, L., Tembo, J., Kabwe, M., Musonda, K., Kapasa, M., et al. (2014): High rates of congenital cytomegalovirus infection linked with maternal HIV infection among neonatal admissions at a large referral center in sub-Saharan Africa. *Clin. Infect. Dis.* 58, 728–735. doi: 10.1093/cid/cit766

Kenneson, A. and Cannon, M. J. (2007): Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (cmv) infection. *Reviews in Medical Virology*, 17(4):253–276.

MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 and cobas e analyzers. Roche Diagnostics, Operator’s manual, Version1,0. (2011). CMV IgM. REF 04784618

MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 and cobas e analyzers. Roche Diagnostics, Operator’s manual, Version1,0. (2011). CMV IgG. REF 04784596

Munro,S.C.,Hall,B,Whibin,L.R.,et al, (2005): *J Clin Mikrobiol* 43(9),4713-4718

Lazzarotto,T.,Gabrielli,I.,Lanari,M.et al,,(2004): *Hum Immunol* 65,410-415

Guerra,B.,Simonazzi,G.,Banfi,a.,et al,(2007): *Am J Obstet Gynecol* 196,221-223)

Duff,P.(2007): A thoughtful algorithm for the accurate diagnosis of primaryCMV in pregnancy*Am J Obstet Gynecol* 196,196-197

Seferi,I.,Xhumari.P.,Burazeri.G.,(2003): Prevalenca e Citomegalovirusit në dhuresit me pagesë dhe pa pagesë te gjakut *Revista mjekesore* 3-2007, 17-26