

# Serološka dijagnostika Citomegalovirusa

---

Jukić, Ivana

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:176:650955>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-29**



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija  
SVEUČILIŠTE U SPLITU

Repository / Repozitorij:

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU  
Podružnica  
SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA  
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ  
MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Ivana Jukić**

**SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA CITOMEGALOVIRUSA**

**Završni rad**

Split, 2022.

SVEUČILIŠTE U SPLITU  
Podružnica  
SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA  
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ  
MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Ivana Jukić**

**SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA CITOMEGALOVIRUSA**

**SEROLOGICAL DIAGNOSTICS OF  
CYTOMEGALOVIRUS**

**Završni rad / Bachelor's Thesis**

Mentor:

**Doc. prim. dr.sc. Vanja Kaliterna, dr.med.  
specijalist medicinske mikrobiologije**

Split, 2022.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

**Sveučilište u Splitu**  
**Sveučilišni odjel zdravstvenih studija**  
**Medicinsko laboratorijska dijagnostika**

**Znanstveno područje:** Biomedicina i zdravstvo  
**Znanstveno polje:** Kliničke medicinske znanosti

**Mentor:** doc. prim. dr. sc. Vanja Kaliterna, dr. med spec. medicinske mikrobiologije

### SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA CITOMEGALOVIRUSA

Ivana Jukić 311240

#### **Sažetak:**

**Cilj rada:** Svrha rada je pojasniti način serološke dijagnostike citomegalovirusa u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije.

**Materijali i metode:** Postupak serološke dijagnostike CMV-a je određivanje IgM i IgG protutijela. Prisutnost IgM antitijela ukazuje na akutnu infekciju, a IgG na prošlu infekciju. U dijagnostičku svrhu određivanja CMV-a u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije koriste se kitovi za određivanje protutijela Abbott Alinity i. Sam analizator je Abbott Alinity i. Metoda kojom određuje protutijela je CMIA. CMIA je skraćeni naziv za kemiluminiscentnu imunokemijsku metodu. Uzorak je serum koji se izdvaja centrifugiranjem krvi. Serum se stavlja u stalak i potom u aparat koji analizira prisutnost protutijela.

**Rezultati:** Serološkim ispitivanjem uzorka pacijenta određena je prisutnost IgG protutijela CMV-a, a odsutnost IgM što ukazuje na preboljenu citomegalovirusnu infekciju.

**Ključne riječi:** dijagnostika Citomegavirusa; protutijela; infekcije imunokompromitiranih pacijenata

**Rad sadrži:** 39 stranica; 27 slika; 13 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**BACHELOR THESIS**

**University of Split**  
**University Department for Health Studies**  
**Medical laboratory diagnostics**

**Scientific area:** Biomedicine and health

**Scientific field:** Clinical medical sciences

**Supervisor:** doc. prim. dr. sc. Vanja Kaliterna, dr. med specialist of clinical microbiology

### **SEROLOGICAL DIAGNOSTICS OF CYTOMEGALOVIRUS**

Ivana Jukić, 311240

#### **Summary:**

**Objectives:** The purpose of this bachelor's thesis is to clarify the method of serological diagnosis of cytomegalovirus at the Teaching Institute for Public health of Split-Dalmatia County.

**Materials and methods:** The procedure of serological diagnosis of CMV includes the detection of IgM and IgG antibodies. The presence of IgM antibodies indicates acute infection while IgG indicates past infection. For the diagnostic purpose, at the Teaching Institute of Public Health of Split-Dalmatia County, kits Abbott Alinity i are used to detect CMV antibody. The analyzer is also called Abbott Alinity i. The method used to determine antibodies is CMIA. CMIA is the abbreviation for the chemiluminescent immunochemical method. The sample is a serum that is extracted by centrifugation of blood. The serum is placed in a rack and then in an analyzer that analyzes the presence of antibodies.

**Results:** Serological examination of the patient's sample determined the presence of IgG antibodies to CMV, and the absence of IgM, which indicates a past cytomegalovirus infection.

**Keywords:** diagnostic of Cytomegalovirus; antibodies; infections in immunocompromised patients

**Thesis contains:** 39 pages, 27 pictures 13 references

**Original in:** Croatian

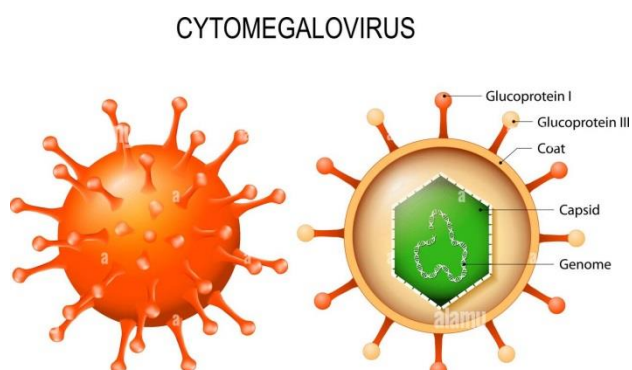
# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>1.1 VIRUSI I NJIHOVA GRAĐA</b> .....	2
<b>1.2 UMNOŽAVANJE VIRUSA</b> .....	4
<b>2. Citomegalovirus (CMV)</b> .....	6
<b>2.1 GRAĐA, SVOJSTVA I REPLIKACIJA Citomegalovirusa</b> .....	7
<b>2.2 EPIDEMIOLOGIJA INFEKCIJE CMV-OM</b> .....	10
<b>2.3 PATOGENEZA INFEKCIJE CMV-OM</b> .....	12
<b>2.4 KLINIČKA SLIKA INFEKCIJE CMV-OM</b> .....	13
<b>2.4.1 KONGENITALNA I PERINATALNA INFEKCIJA</b> .....	13
<b>2.4.2 INFEKCIJE ODRASLIH I ADOLESCENATA</b> .....	15
<b>2.4.3 INFEKCIJE IMUNOKOMPROMITIRANIH BOLESNIKA</b> .....	15
<b>2.5 DIJAGNOSTIKA CMV-A</b> .....	17
<b>2.5.1 Izravno otkrivanje virusa</b> .....	17
<b>2.5.2 Neizravna dijagnostika</b> .....	19
<b>2.6 LIJEČENJE I PREVENCIJA INFEKCIJA CMV-OM</b> .....	20
<b>3. CILJ RADA</b> .....	21
<b>4. METODE</b> .....	22
<b>5. REZULTATI</b> .....	33
<b>6. ZAKLJUČAK</b> .....	34
<b>8. ABSTRACT</b> .....	36
<b>9. LITERATURA</b> .....	37
<b>10. ŽIVOTOPIS</b> .....	39

## 1. UVOD

Virusi uz bakterije, gljive i parazite čine skupinu koja se naziva mikroorganizmi. Naziv virus dolazi od latinske riječi virus što znači otrov. Prvi izoliran virus je bio virus izoliran iz duhana. Baltimorska klasifikacija grupira viruse u jednu od sedam skupina ovisno o kombinaciji njihove nukleinske kiseline (DNK ili RNK), lančanosti (jednolančane ili dvolančane), smislu i metodi replikacije. Prema Baltimorskoj klasifikaciji skupina I dvolančanih DNK virusa je podijeljena na tri porodice: *Adenoviruses*, *Herpesviruses* i *Poxviruses*. Herpesvirusi su podijeljeni u tri potporodice:  $\alpha$  herpesvirusi,  $\beta$  herpesvirusi, i  $\gamma$  herpesvirusi. Najpoznatiji predstavnik *Alfaherpesvirinae* je *Herpes simplex virus*, Cytomegalovirus je najznačajniji predstavnik *Betaherpesvirinae*, a Epstein–Barr virus spada u *Gammaherpesvirinae* (1).

Humani citomegalovirus (HCMV), u usporedbi s drugim ljudskim herpesvirusima, jedan je od najvećih virusa, s genomom približno 240 kb. Najčešći način prenošenja je spolnim i oralnim putem. Uzrokuje mnogobrojne bolesti koje mogu biti klinički nezapažene ili čak uzrokovati rijetko komplikacije i smrt. Nakon inficiranja domaćina uzrokuje doživotnu latenciju. Naročito su opasne kongenitalne i konatalne infekcije uzrokovane humanim citomegalovirusom, koje često prate komplikacije u usporedbi sa kongenitalnim infekcijama i infekcijama u imunokompromitiranih ljudi, infekcije u imunokompetentnih osoba nisu popraćene teškim kliničkim slikama te često prođu neopažene (2).



Slika 1. Citomegalovirus (Izvor: [www.alamy.com/](http://www.alamy.com/))

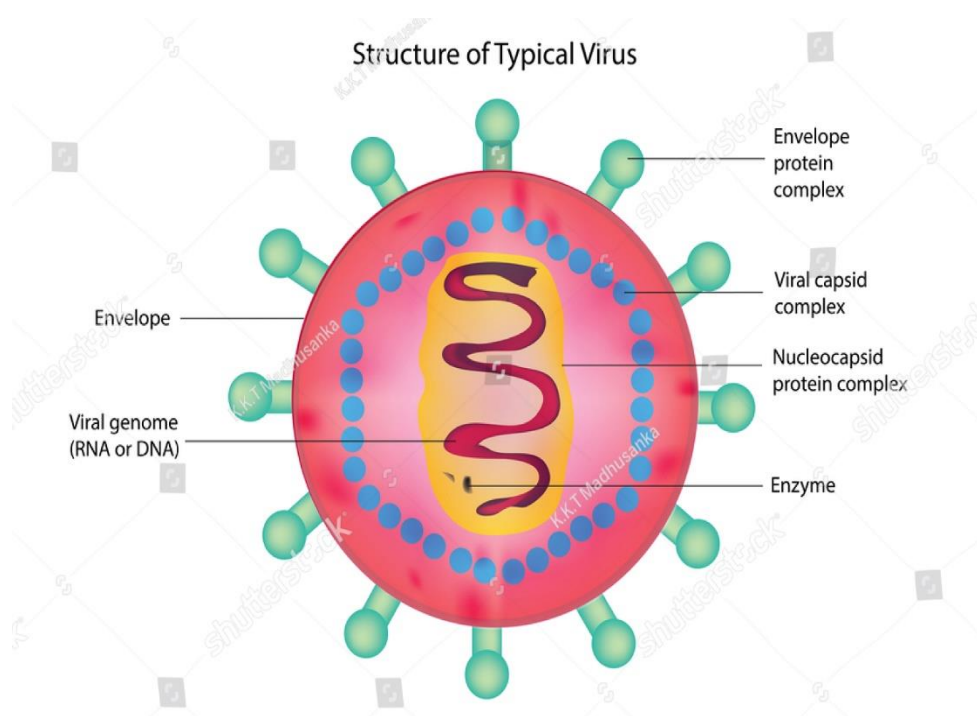
## 1.1 VIRUSI I NJIHOVA GRAĐA

Virusi su mikroorganizmi na granici žive i nežive prirode. Najmanji su od svih mikroba (od 20 do 400 nm). Toliko su mali da bi 500 milijuna rinovirusa (koji uzrokuju prehladu) moglo stati na glavu igle. Jedinstveni su u prirodi jer žive i sposobni su se razmnožavati samo unutar stanica drugih živih bića. Izvan stanica domaćina virusi su inertni. Stanica u kojoj se razmnožavaju naziva se stanica domaćin. Virusi ne mogu stvarati energiju jer ne sadrže nikakve organele kojima bi je stvarali. Kao obvezni unutarstanični paraziti, tijekom replikacije u potpunosti ovise o kompliciranom biokemijskom stroju eukariotskih ili prokariotskih stanica. Glavna svrha virusa je dostaviti svoj genom u stanicu domaćina kako bi se omogućila njegova ekspresija (transkripcija i translacija) od strane stanice domaćina. Virusi inficiraju ljude. Ali, zapravo, virusi inficiraju mnoge organizme, tako da postoje virusi koji inficiraju gljive ili virusi koji inficiraju bakterije. Virusi koji inficiraju ljude samo su mali dio virusa koji se mogu pronaći u svijetu. Nije točno poznato evolucijsko podrijetlo virusa, misli se da su oni nastali iz dijela genoma (DNK ili RNK) stanice domaćina koja se počela samostalno razvijati i umnožavati. Čestica virusa nazvana virion je kompletna virusna čestica tj. virus u svom infektivnom obliku. Svaki virion mora imati barem jedan karakterističan protein. Specifični geni u nukleinskoj kiselini viriona sintetiziraju najmanje jedan jedinstven protein za svaki virion. Viroidi su mikroorganizmi koji uzrokuju bolesti, a sastoje se od samo 1 nukleinske kiseline i ne sadrže strukturne proteine. Prioni, druge virusne čestice, sastoje se od proteina koji imaju malu molekulu DNK ili RNK (3).

Virus se sastoji od jezgre genetskog materijala, bilo DNK ili RNK, okruženog zaštitnim omotačem koji se naziva kapsida koji se sastoji od proteina. Jezgra čini središnji dio virusa. Kapsida štiti virusni genom od izvanstaničnog okoliša (enzima), nosi virusne antigene, pomaže pri prijenosu nukleinskih kiselina u druge stanice i osigurava strukturu viriona. Postoje dvije podjele višeslojne kapside, strukturna i morfološka. Najmanja funkcionalna jedinica i osnovni gradivni element je strukturna jedinica (protomer). Morfološka jedinica (kapsomera) je vidljiva elektronskim mikroskopom te služi kao oblikovni element. Nukleokapsidu virusa čine jezgra i kapsida. Virusi koji sadrže samo nukleokapsidu su jednostavne građe, dok su složene



građe oni koji uz nukleokapsidu sadrže i proteinski matriks, lipidnu ovojniciu te na njima glikoproteinske izdanke. Vanjska (lipidna) ovojnica obavija nukleokapsidu i potječe od stanice u kojoj se virus umnažao. Peplomere ili glikoproteinski izdanci su antigeni i služe za prianjanje na stanicu. Građa većine virusa je definirana točno određenim simetrijama u prostoru zbog građe kapside koja se sastoji od kapsomera. Kapsomere su karakterističnog oblika (kugla ili prizma) i broja koji se razlikuje među vrstama (3).



Slika 2. Građa virusa (Izvor: shutterstock.com)

## 1.2 UMNOŽAVANJE VIRUSA

Umnožavanje ili replikacija virusa je proces kopiranja i prepisivanja vlastitog virusnog genoma uz pomoć nukleinske kiseline. Budući da su virusi obvezni unutarstanični patogeni, ne mogu se replicirati bez stanice domaćina. Iako se replikacijski životni ciklus virusa uvelike razlikuje s obzirom na vrstu i kategoriju virusa, postoji šest osnovnih faza koje su bitne za replikaciju virusa.

Prva faza je prepoznavanje stanice i pričvršćivanje virusa na ciljanu stanicu. Virusni antigeni na površini virusa stupaju u interakciju sa specifičnim receptorima na površini stanice domaćina.

Druga faza se naziva penetracija. Može inducirati konformacijske promjene u proteinskoj virusnoj kapsidi ili lipidnom omotaču. Neki DNK virusi također mogu ulaze u stanicu domaćina putem endocitoze posredovane receptorima.

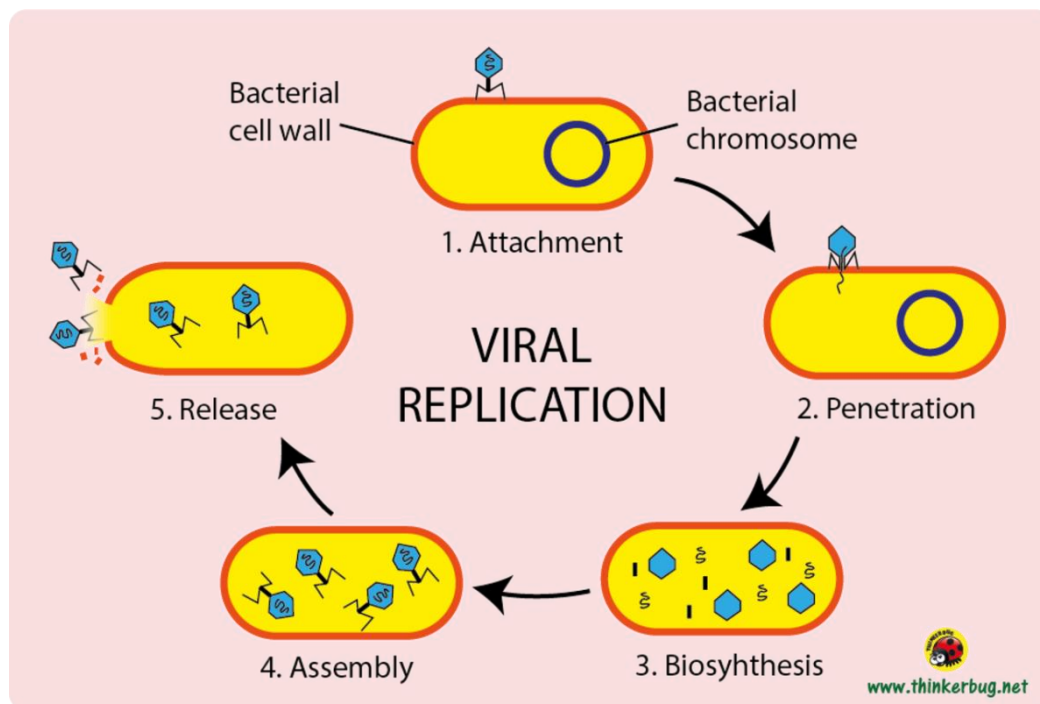
Treća faza je odvajanje. Virusna kapsida se razgrađuje virusnim enzimima ili enzimima domaćina, te se tako oslobađa virusna nukleinska kiselina.

Četvrta faza je replikacija. Nakon što se oslobodi virusni genom, vrši se transkripcija. Upravo se ova faza replikacije virusa uvelike razlikuje između DNK i RNK virusa. Većina DNK virusa se replicira u jezgri gdje im je dostupna DNK-polimeraza i ostali potrebni enzimi. RNK virusi ne ovise o jezgri stanice domaćina i većinom ostaju u citoplazmi.

Peta faza naziva se sastavljanje. Ovaj proces se također može nazvati sazrijevanje. Nakon *de novo* sinteze virusnog genoma i proteina, virusni proteini se pakiraju s novo repliciranim virusnim genomom u nove virione koji su spremni za oslobađanje iz stanice domaćina. Ponekad mogu nastati defektni virusi koji nemaju virusni genom.

Zadnja šesta faza je oslobađanje viriona. Postoje dvije metode oslobađanja virusa: liza ili pupanje. Kod lize dolazi do raspadanja (smrti) zaražene stanice domaćina, ove vrste virusa nazivaju se citolitičkim. Virusni s ovojnicom se obično oslobađaju iz stanice domaćina pupanjem. Ove vrste virusa obično ne ubijaju zaraženu stanicu i nazivaju se citopatskim virusima.

Cijeli ciklus umnožavanja virusa varira ovisno o podrijetlu, izgledu odnosno vrsti samog virusa, a traje od 6 h do 72 h (4).



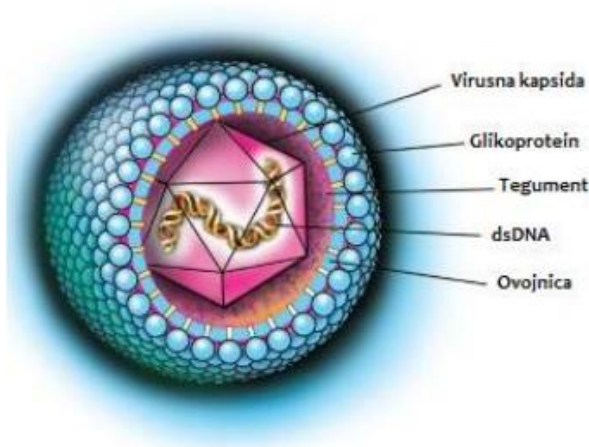
Slika 3. Umnožavanje virusa (Izvor: hmn.wiki-com)

## 2. Citomegalovirus (CMV)

Citomegalovirus (CMV) je ubikvitirani herpesvirus koji je čest uzrok bolesti čovjeka. Patogen je samo za ljude. Ljudski citomegalovirus član je virusne obitelji poznate kao herpesvirusi. Najvažnije svojstvo te skupine virusa je što uzrokuju latentne infekcije s mogućnošću povremene reaktivacije. Od svih herpes virusa, CMV ima najveći broj gena posvećenih izbjegavanju urođene i adaptivne imunosti kod domaćina. T-stanice, koje imaju ulogu antigenskog nadzora u ljudskom organizmu, su tijekom cijelog života čovjeka opterećene CMV-om. Virus je ime dobio zbog toga što stanice koje se inficiraju njime promjene veličinu, odnosno značajno se povećaju, a ta pojava se naziva citomegalija. U medicini se označava akronimom HHV5 što znači humani herpes virus – 5. Budući da je sposoban proizvesti i kongenitalne i stečene infekcije, citomegalovirus (CMV) je postao iznimno važan patogen. Intranuklearne inkluzije tipične za infekcije citomegalovirusom prvi su primijetili njemački znanstvenici 1881., a tek 1960. godine Weller ga naziva citomegalovirusom. CMV inficira između 60% do 70% odraslih u industrijaliziranim zemljama i gotovo 100% u zemljama u razvoju (2,5,6).

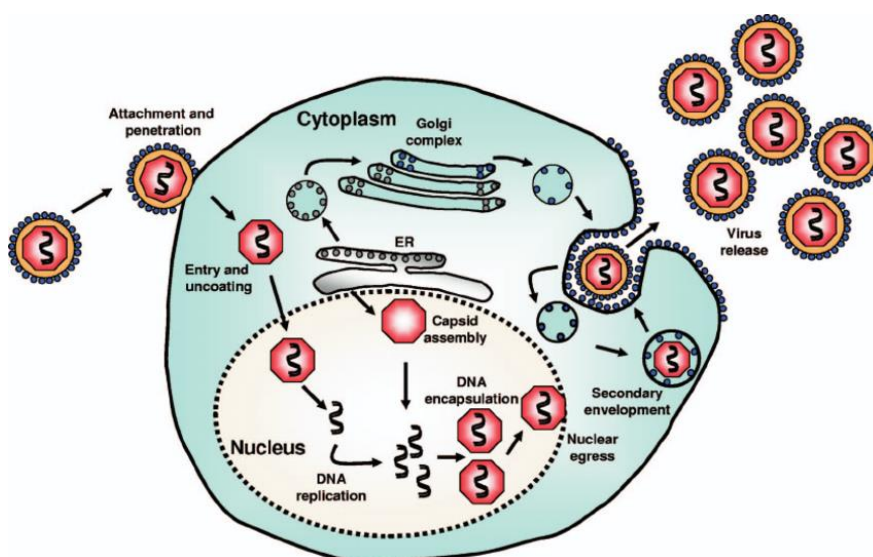
## 2.1 GRAĐA, SVOJSTVA I REPLIKACIJA Citomegalovirusa

Citomegalovirus ima najveći genom od svih ljudskih herpesvirusa. Njegov DNK genom je veličine otprilike 240 kbp, koji stvara oko 220 - 230 proteina. Mnogo tih proteina je važno u izbjegavanju imunološkog sustava domaćina. Jedan od tih proteina, glikoprotein stanične površine, koji djeluje kao Fc receptor može nespecifično vezati Fc fragment imunoglobulina što mu pomaže za izbjegavanje imunološkog sustava domaćina. Upravo je to razlog zbog čega inficirane stanice ne budu prepoznate i odstranjene. U ljudskoj populaciji cirkuliraju različiti genetski sojevi CMVa. Ti sojevi su antigenski srodni pa nemaju nikakav utjecaj na bolesti čovjeka. U nukleokapsidi je smješten genom. Oko nukleokapside se nalaze proteini matriksa ili tegumentum koje obavija lipidna ovojnica. Virusna kapsida je kubične strukture, sastavljena od 162 kapsomera. Prostor između kapside i ovojnice nazvano je tegumentum, a ima i proteine virusa i enzime (4,7).



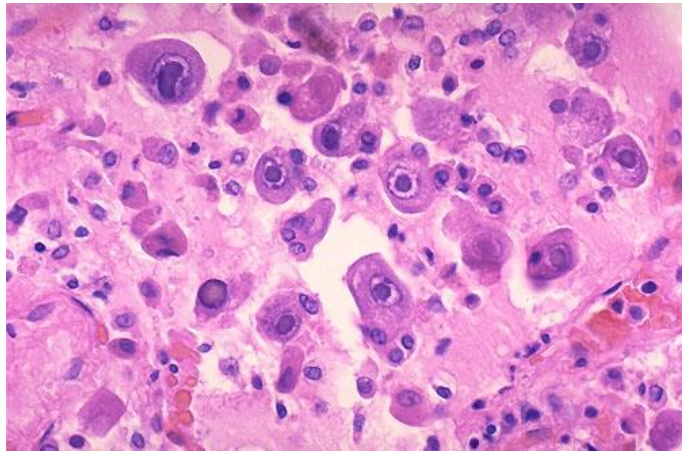
Slika 4. Građa Citomegalovirusa (Izvor: <http://cytomegalovirusproject.wikispaces.com/>)

Životni ciklus CMV-a započinje u ljudskoj stanici. Leukociti (neutrofilni granulociti i monociti) te endotelne i brojne epitelne stanice krajnji su cilj CMV-a (3). CMV ulazi u ljudske stanice bilo izravnom fuzijom ili endocitozom. Virus se veže na stanicu putem interakcija između virusnih glikoproteina i specifičnog(ih) površinskog receptora. Nakon toga slijedi spajanje ovojnice virusa sa staničnom membranom kako bi se oslobodila nukleokapsida u citoplazmu. Nukleokapsida se translocira u jezgru, gdje se oslobađa virusna DNK. To pokreće ekspresiju IE-1/IE-2 gena. Replikacija i sazrijevanje virusa prate stimulaciju i paralelno nakupljanje funkcije sinteze virusa. Ovaj proces uključuje inkapsulaciju replicirane virusne DNK tako što se stvara kapsida oko DNK. Više inkapsuliranih DNK-a se transportira iz jezgre u citoplazmu. Sekundarni omotač stvara se u citoplazmi u endoplazmatskom retikulumu i Golgijevom intermedijarnom odjeljku. Nakon toga složeni dvostupanjski proces nastanka konačnog omotača i izlaska koji dovodi do oslobađanja viriona egzocitozom na plazma membrani. Tijekom replikacije CMV-a jako je značajan enzim virusna DNK polimeraza, jer na nju djeluju trenutno raspoloživi djelotvorni antivirusni lijekovi koji se koriste za liječenje CMV infekcije. U izvanstaničnom prostoru virusi su prisutni jako malo vremena, pa ih je u krvi (plazmi) moguće dokazati samo prilikom vrlo intenzivnog virusnog umnažanja (5,8,9).



Slika 5. Životni ciklus Citomegalovirusa (Izvor: <https://www.researchgate.net/>)

Za vrijeme umnožavanja u staničnoj jezgri, CMV stvara velike inkluzije, koje prikazuju mjesta umnožavanja virusa. Sam virus stvara citopatski učinak za vrijeme umnožavanja. Taj učinak moguće je vidjeti samo mikroskopski kao promjenu na stanici. Uz te tipične inkluzije za općenito sve herpesviruse, stvaraju se još i multinuklearne i perinuklearne citoplazmatske inkluzije. Zbog tih inkluzija inficirana stanica postane citomegalična odakle dolazi i samo ime virusa (7).



Slika 6. Mikroskopska slika inficirane stanice CMV-om, inkluzije (Izvor: <https://webpath.med.utah.edu/>)

## 2.2 EPIDEMIOLOGIJA INFEKCIJE CMV-OM

CMV je raširen svijetom. Jako je čest ljudski patogen. Ne postoji sezonski trend jer se infekcije pojavljuju tijekom cijele godine. Procjenjuje se da oko 50-80% osoba stvori protutijela do 40. godine života. S obzirom na životne uvjete i higijenske navike te zemljopisno područje, postoje različite prevalencije seropozitivnih osoba. U Africi zbog niskog socio-ekonomskog statusa i loših higijenskih uvjeta prevalencija iznosi i do 100 %. U posebnom riziku za dobivanje CMV-a su uglavnom djeca u dječjim vrtićima, njihovi roditelji i seksualno aktivne osobe, posebno homoseksualci. Rizik od dobivanja CMV-a od strane zdravstvenih radnika je sličan ili gotovo jednak riziku javnosti, no ipak oni bi trebali biti svjesni širokog spektra kliničkih slika, metoda laboratorijske dijagnoze i trenutnih ograničenja liječenja CMV-a. Preporuča se pažljivo pranje ruku i izbjegavanje izlučivanja sekreta kako bi se smanjio prijenos CMV-a u bolnici, ali i izvan bolnice (5,8).

Ovisno o životnoj dobi razlikuje se različiti prijenos, ali i odgovor na infekciju CMV-om. Infekcija se može pojaviti kao primarna infekcija, reinfekcija ili reaktivacija. Prijenos CMV-a je moguć putem krvnih produkata (transfuzije, transplantacije organa), dojenjem, oralnim putem, perinatalnim i spolnim prijenosom. Reaktivacija je uglavnom prisutna u imunokompromitiranih osoba i kod njih je povećan morbiditet i mortalitet. Za prijenos virusa je potreban ljudski kontakt jer su ljudi jedini poznati izvori infekcije CMV-om. Nakon prijenosa virusa potrebno je od 4 do 8 tjedana za pojavu prvih simptoma (5,10).

Primarna infekcija uglavnom se pojavljuje u ranom djetinjstvu ili početkom spolne zrelosti u mlađoj životnoj dobi. Način na koji se novorođenčad zarazi je preko majke za vrijeme trudnoće, tijekom rođenja ili putem majčinog mlijeka.. U imunokompetentnih osoba infekcija najčešće prođe klinički neopaženo i nakon toga slijedi cijeloživotni period latencije, no mehanizam nastanka latencije nije u potpunosti jasan. Moguća je povremena reaktivacija virusa, što je karakteristika i svih ostalih herpesvirusa. Reaktivacija i kod imunokompetentnih osoba uglavnom bude klinički neprimijećena (9).



Imunodeficijentne ili imunokompromitirane osobe su osobe čiji je imunostni sustav oslabljen ili im je nedostatan u borbi protiv infekcije. U imunodeficijentne osobe spadaju AIDS bolesnici, onkološki ili hematološki pacijenti te transplantirane osobe. Kod tih ljudi i primoinfekcija CMV-om i reaktivacija virusa može uzrokovati teške kliničke slike od kojih više od pola inficiranih umre (5).

Osobe na hemodijalizi su u 90 % slučajeva seropozitivne na CMV, dok su ljudi u općoj populaciji oko 80 % seropozitivne. Smatra se da je mogućnost prijenosa CMV-a putem transfuzije krvi oko 1-5 % po jedinici pune krvi. Tijekom transplantacije organa seropozitivnih osoba od 60 do 80 % serološki negativnih primatelja se zarazi. Zbog imunosupresivne terapije je ponekad čak moguća reaktivacija infekcije CMV-om (2).

## 2.3 PATOGENEZA INFEKCIJE CMV-OM

CMV, kao što je već i navedeno, može se prenijeti različitim putovima. Patogeneza svih herpesvirusa je ista ili jako slična. Nakon ulaska virusa u organizam čovjeka započinje **primarna infekcija**. Virus se širi sa stanice na drugu stanicu. Nakon primoinficiranja virusom on je zauvijek prisutan u organizmu domaćina. CMV stvara **latenciju** u domaćinu i infekcija se može reaktivirati prilikom smanjene funkcije imunološkog sustava domaćina. Treća vrsta infekcije naziva se **reinfekcija** kada nakon kontakta sa zaraznom osobom dođe do ponovne infekcije nekoga tko je već bio zaražen, unatoč posjedovanju prirodnog imuniteta. Bilo koja od ove tri podvrste infekcije može zakomplicirati trudnoću, te je zbog toga CMV najčešći uzrok kongenitalne infekcije. U usporedbi s ostalim herpesvirusima, CMV uzrokuje uglavnom neprimjetnu infekciju te kratkotrajnu supresiju imunološkog sustava domaćina. Brzo i neprimjetno se širi organizmom domaćina što mu omogućuju inficirani leukociti (limfociti) i onda lako dospije u sve organe domaćina. Zaštitna funkcija ljudskih antitijela je neučinkovita zbog velike ujedinjenosti stanica domaćina i virusa. Prilikom primarne infekcije stvara se veliki broj supresorskih T limfocita što smanjuje odnos CD4/CD8 (helper/supresorskih) T limfocita. Tijekom akutne citomegaloviroze uloga limfocita je smanjena. Ponekad je neophodno par mjeseci za oporavak stanične imunosti. Tijekom latencije CMV je zastupljen u monocitima, makrofagima, limfocitima te u bubrežnim i srčanim stanicama. Reaktivira se često iz latentnog stanja prilikom imunosupresije ili alogeničkom stimulacijom. U urinu i tjelesnim izlučevinama je veće izlučivanje virusa ako se on aktivira i replicira u bubrezima i sekretornim žlijezdama. Za razliku od EBV-a, CMV ne stvara heterofilna protutijela nego samo potiče stvaranje atipičnih limfocita. Infektivna mononukeloza može zato biti uzrokovana EBV-om s pozitivnim heterofilnim protutijelima ili CMV-om s negativnim heterofilnim antitijelima (2,5,11).

## **2.4 KLINIČKA SLIKA INFEKCIJE CMV-OM**

CMV je oportunistički patogen. Infekcija citomegalovirusom uobičajena je infekcija herpesvirusom sa širokim rasponom simptoma: od bez simptoma preko vrućice i umora (nalik infektivnoj mononukleozi) do teških simptoma koji zahvaćaju oči, mozak ili druge unutarnje organe. Kod imunokompetentnih domaćina uzrokovat će asimptomatske infekcije ili sindrom infektivne mononukleoze. Kod imunokompromitiranih domaćina uzrokuje teže kliničke slike. CMV ne može se prenositi s čovjeka na životinju i obrnuto. Ljudi svih životnih dobi mogu biti inficirani. CMV utječe ponajviše na stvaranje kongenitalnih i konatalnih infekcija, no bitan je jer može uzrokovati komplikacije i kod imunodeficijentnih osoba (2,5).

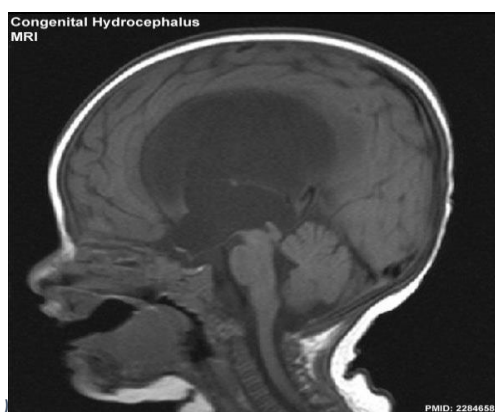
### **2.4.1 KONGENITALNA I PERINATALNA INFEKCIJA**

Virusni uzrok većine kongenitalnih infekcija je CMV. Bolest koju je uzrokovao CMV može se manifestirati na različite načine. Trudnica često zarazu CMV-om često produ nezapaženo i upravo to predstavlja veći rizik za stjecanje brojnih infekcija i malformacija ploda. Neka djeca pokazuju kliničke simptome kongenitalne CMV infekcije u prvim satima života (osip, žutica, hepatosplenomegalija, mikrocefalija, konvulzije, mala porođajna težina, intracerebralni kalcifikati). S druge strane, neka djeca kasnije mogu razviti ozbiljne zdravstvene probleme kao što su gubitak sluha, usporeni mentalni i motorički razvoj te gubitak vida. Kongenitalni CMV najčešći je infektivni uzrok kongenitalnog gubitka sluha. Infekcija CMV-om tijekom trudnoće ponekad može dovesti do mrtvorođenosti ili smrti dojenčadi. Za vrijeme majčine viremije, virus se brzo širi do svih organa tako brzo i stigne do posteljice i prijeđe na nerođeno dijete. Dijete se zarazi virusom preko majčine krvi ili virusom koji je dospio iz vrata maternice. Također, novorođenče osim što se može zaraziti prilikom poroda prolaskom kroz porođajni kanal može se inficirati, dojenjem majčinog mlijeka i slinom. Ako se beba inficira na taj način, onda je veća vjerojatnost da u tom trenutku neće imati simptome, ali ih može razviti u razdoblju od 2 godine i to kao gubitak sluha ili vida. Inficiranje kroz porođajni kanal se zbiva u trudnica koje su se zarazile CMV-om prije

trudnoće, dok se virus u zadnjem tromjesečju izlučuje iz vrata maternice. Iako novorođenče zbog transplacentarnog prijenosa ima majčina IgG protutijela, ono je zaraženo, a virus će izlučivati putem urina za vrijeme 3. ili 4. tjedna života. Inficirana nedonoščad pokazivat će teže simptome u usporedbi s na vrijeme rođenom djecom. Ako dijete nakon rođenja zatreba transfuziju krvi veća je mogućnost zaraze CMV-om. Ipak ponekad plod koji je inficiran u maternici za vrijeme trudnoće ne mora imati kliničke simptome i može proći neopaženo (2,5,8,12).



Slika 7. Žutica (Izvor: <https://hr-m.iliveok.com/>)



Slika 8. Hidrocefalija (Izvor: <https://hr.medicineh.com/>)

## 2.4.2 INFEKCIJE ODRASLIH I ADOLESCENATA

Virus se u adolescenata i starijoj životnoj dobi širi najčešće slinom, spolnim putem ili bliskim dodirrom između ljudi. Kod djece školske dobi, mladih i odraslih ljudi infekcije s CMV-om su sve češće. Bolest uglavnom prođe neprimijećena, ali ipak manjem broju ljudi se može manifestirati kao infektivna mononukleoza. Tijek same bolesti je lagan, često je praćena vrućicom i splenomegalijom, a ponekad se može razviti hepatitis. Smatra se da približno 10% slučajeva infektivne mononukleoze nastaje zbog CMV-a. Sindrom infektivne mononukleoze uzrokovan CMV-om uglavnom ima simptome slabijeg faringitisa i limfadenopatije. Razvijenije zemlje imaju 10 % - 15 % starije djece inficirane CMV-om. Rastom životne dobi raste i postotak inficiranih tako da je do 35. godine više od 50% ljudi inficirano CMV-om (2,12).

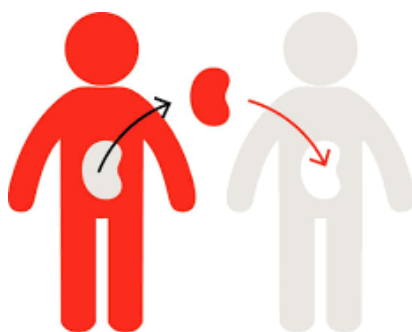
## 2.4.3 INFEKCIJE IMUNOKOMPROMITIRANIH BOLESNIKA

U imunokompromitirane osobe spadaju ljudi oboljeli od AIDS-a, transplantirani bolesnici, onkološki pacijenti i općenito bolesnici čiji je imunološki sustav suprimiran. Imunodeficijentni domaćini imaju najčešće simptomatske primarne ili rekurentne bolesti koje zahvaćaju više organa (pneumonija, korioretinitis, kolitis, ezofagitis, meningitis, mijelitis,...). Kako je CMV oportunistički patogen on uzrokuje bolest većinom kod imunokompromitiranih ljudi. Trećina AIDS bolesnika nakon inficiranja s CMV-om razvije retinitis koji nakon određenog perioda prijeđe u sljepoću. Ezofagitis uzrokovan s CMV-om se teško razlikuje od gljivične infekcije – *Candida*. Gastrointestinalni trakt također bude često inficiran kod AIDS pacijenata. Za vrijeme primanja transfuzije krvi ili transplantacije organa velika je mogućnost zaraze CMV-om. Istraživanja u velikim skupinama darivatelja krvi pokazuju da bi donacije od novih CMV-IgG-pozitivnih darivatelja trebale imati najveći rizik za prijenos CMV infekcija jer sadrže najviše razine CMV-DNK, a rana CMV protutijela ne mogu neutralizirati CMV. Razna istraživanja su dokazala da od 38 do 96 % bolesnika koji su primili transfuziju krvi ili bili transplantirani dobiju infekciju CMV-om. Ta infekcija može biti primarna, reaktivirana ili superinfekcija. Učestalije su reaktivacije, no teži su simptomi kod primoinfekcije. Obje vrste zaraze imaju visoki mortalitet. S obzirom da se virus

može brzo širiti po organizmu, može zahvatiti bilo koji organ i mogu se javiti razni simptomi (povišena tjelesna temperatura, smanjen broj leukocita i trombocita, povišene transaminaze, hepatitis, pneumonija, retinitis,...). Komplikacija koja je za život opasna je pneumonija koja se javlja u 15 % slučajeva. Mjesec dana nakon transplantacije razvijaju se uglavnom „blaže“ tegobe, dok kasnije komplikacije mogu dovesti do odbacivanja transplantata. Kod transplantiranih bolesnika, infekcija CMV-om može trajati od 1 do 4 mjeseca nakon njihove transplantacije. Ozbiljnost infekcije ovisi o vrsti transplantata, imunološkom sustavu primatelja i trajanju imunosupresivne terapije. Kod transplantacije pluća najčešće dođe do pneumonije, nakon transplantacije srca veliki je rizik od miokarditisa, ateroskleroze i retinitisa, a nakon transplantacije jetre i gušterače većinom se pojavljuju hepatitis i pankreatitis (2,9,13).



Slika 9. Simbol AIDS-a (Izvor: <https://en.wikipedia.org/>)



Slika 10. Slikani prikaz transplantacije organa (Izvor: <https://bljesak.info/>)

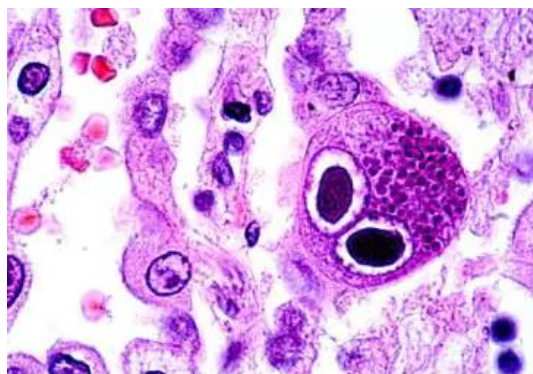
## 2.5 DIJAGNOSTIKA CMV-A

Dijagnostika virusa podijeljena je na izravnu i neizravnu dijagnostiku. CMV može se dijagnosticirati na oba načina, no ipak češća je u rutini neizravna dijagnostika – serologija. U izravnu dijagnostiku spada histološka metoda, molekularna dijagnostika, izolacija virusa te test antigenemije, dok u neizravnu dijagnostiku se ubraja serologija odnosno dokaz antitijela s različitim metodama i aviditet IgG protutijela.

### 2.5.1 Izravno otkrivanje virusa

#### Histološka dijagnostika

Dokaz CMV infekcije je moguć histološkom metodom. Infekcija CMV-om održava se prisutnošću citomegalije stanice s bazofilnim virusnim tvorevinama u jezgri stanice. Uzorak koji se analizira je tkivo ili urin. Preparati se bojaju histološkim bojama najčešće po Papanicolaou ili hematoksilinom i eozinom (2).



Slika 11. Citomegalija stanice zaražene CMV; bojanje hematoksilinom i eozinom

(Izvor: <https://www.medscape.com/>)

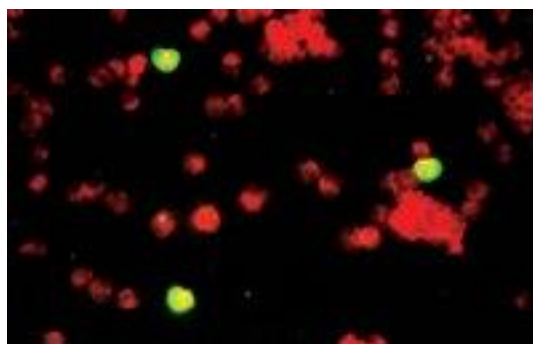
#### Molekularna dijagnostika

Standardni laboratorijski test za dijagnosticiranje kongenitalne CMV infekcije je polimerazna lančana reakcija (PCR) najčešće iz sline ili urina. Za otkrivanje samog virusa, u bolesnika koji imaju simptome, uzorak može također biti i krv, sputum,

amnionska tekućina, cerebrospinalna tekućina, duodenalna tekućina, druga tjelesna tkiva. Ova metoda je jako bitna kod imunodeficijentnih ljudi. Molekularne metode mogu se koristiti za otkrivanje genetskog materijala (DNK) CMV-a (kvalitativno ispitivanje) i/ili mjerenje količine virusne DNK u uzorku (kvantitativno). Molekularne metode su osjetljivije od kulture, a pozitivni i negativni rezultati su jasno izraženi (2).

### **Test antigenemije**

Test antigenemije namijenjen je kvalitativnoj identifikaciji proteina pp65 CMV-a u izoliranim leukocitima periferne krvi. Za in vitro dijagnostičku upotrebu. Mješavina ponuđenih monoklonskih antitijela će se vezati na CMV pp65 antigen prisutan u formalinom fiksiranim leukocitima. Protutijelo konjugirano s fluorescein izotiocijanatom (FITC) će se vezati na kompleks antigen-antitijelo. FITC pokazuje jabučno zelenu fluorescenciju kada je pobuđen ultraljubičastim svjetlom što omogućuje vizualizaciju kompleksa fluorescentnom mikroskopijom. Nuklearna fluorescencija ukazuje na pozitivan uzorak (2).



Slika 12. Test antigenemije (Izvor: <https://www.merckmillipore.com>)

### **Izolacija virusa**

Stanična kultura za uzgajanja CMV su ljudski fibroblasti. Glavna prednost stanične kulture, unatoč dugotrajnom procesu, je sposobnost oporavka virusnog soja za fenotipske testove osjetljivosti na antivirusne lijekove i za karakterizaciju soja (2).



## 2.5.2 Neizravna dijagnostika

### Serološka dijagnostika

Serološki testovi korisni su za utvrđivanje prisutnosti antitijela u serumu pacijenta odnosno je li pacijent imao CMV infekciju u prošlosti, na temelju prisutnosti ili odsutnosti CMV IgG protutijela. S obzirom na prisutnost antitijela i njihov aviditet možemo razlikovati radi li se o primarnoj infekciji, reaktivaciji, superinfekciji, akutnoj ili kroničnoj infekciji. Aviditet predstavlja čvrstoću veze između antitijela i antigena. Postoje različiti testovi za otkrivanje CMV IgG protutijela. U te testove spadaju reakcija vezanja komplementa (RVK), imunoenzimski test (ELISA), kemiluminiscencijski imunotest (CLIA), neizravni imunofluorescentni test (IFA), test IgG aviditeta i Western blot test (WB). Detekcija IgM antitijela koristi se je kao pokazatelj akutne ili nedavne infekcije. Rekombinantni IgM testovi koji koriste rekombinantne HCMV proteine i peptide razvijeni su u pokušaju standardizacije seroloških testova. Testovi za IgM antitijela nemaju specifičnost za primarnu infekciju zbog lažno pozitivnih rezultata, jer IgM može postojati mjesecima nakon primarne infekcije. IgM može biti pozitivan u reaktiviranim CMV infekcijama.

Kao i u svakoj laboratorijskoj tehnici i postupku postoje brojne prednosti i mane. Prednosti serološke dijagnostike su brzina, dostupnost, specifičnost, primjenjivost za širok spektar uzročnika bolesti te su neinvazivne jer je potreban samo serum bolesnika. Najveća mana serologije je što postoji uvijek određeni postotak lažno pozitivnih i lažno negativnih rezultata (11).

## 2.6 LIJEČENJE I PREVENCIJA INFEKCIJA CMV-OM

Imunokompetentni bolesnici ne trebaju posebnu terapiju osim simptomatskog liječenja. Međutim, antivirusnu terapiju treba razmotriti u teškim slučajevima CMV mononukleoze, CMV infekcije i CMV bolesti u imunokompromitiranih bolesnika. Ganciklovir koji se koristi intravenozno bio je glavno istraženo sredstvo protiv CMV-a. Međutim, ganciklovir ima problema s neoptimalnom učinkovitošću, toksičnošću, slabom oralnom bioraspodjelivostu i razvojem rezistentnih sojeva. Provedene su dodatne studije na foskarnetu i cidofoviru, iako je njihova upotreba ograničena njihovom nefrotoksičnošću. Primijenjena je kombinirana terapija ganciklovirom i foskarnetom za rezistentne sojeve. Ti antivirusni lijekovi osim što djeluju na liječenje infekcije mogu djelovati i kao profilaksa.

Infekcija se može prevenirati dodatnim serološkim testiranjem darivatelja organa ili krvi kako bi se spriječio prijenos CMV-a. Prevencija majčinske i kongenitalne CMV infekcije ovisi o savjetovanju žena o izvorima infekcije i higijenskim mjerama koje bi mogle spriječiti infekciju. Trenutačno nema dovoljno dokaza koji podržavaju korištenje antivirusnog liječenja ili pasivnu imunizaciju za profilaksu trudnica. Novorođenče zaraženo CMV-om treba udaljiti od ostale novorođenčadi i djece. U svakom slučaju prevencija infekcija kod ljudi je: provođenje osnovnih higijenskih mjera, korištenje prezervativa te izbjegavanje bolesnika inficiranih CMV-om.

Cjepiva protiv CMV-a su u razvoju, ali će još proći nekoliko godina prije nego što se licenciraju (2,5,13)

### **3. CILJ RADA**

Cilj ovog rada je prikazati postupak serološke dijagnostike CMV-a u laboratoriju za serologiju Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije (NZJZ).

Testovi i metode koje će se koristiti u laboratoriju ovise o internom dogovoru laboratorija, ali te metode trebaju biti precizne, osjetljive, specifične, praktične i što manje invazivne za ljude.

Cilj rada je:

- Pojasniti proces od uzimanja uzorka do interpretacije rezultata
- Pojasniti test i metodu serološke dijagnostike CMV-a
- Objasniti prisutnost karakterističnih protutijela CMV-a

## 4. METODE

Serološkom dijagnostikom CMV-a dokazuje se prisutnost odnosno odsutnost protutijela CMV u pacijenata. Metoda koja se koristi u NZJZ-u je kemiluminiscentna mikročestična imunokemijska metoda (CMIA). Sva dijagnostika se izvodi prema standardiziranim uputama.

### Uzorak i uzorkovanje

Uzorak za serološko testiranje je serum uzet iz venske krvi pacijenta. Flebotomija je najčešći invazivni postupak u skrbi pacijenta. Uzorak za dobivanje seruma iz krvi vadi se u epruvetu koja nema antikoagulans i uglavnom ima ili crveni ili žuti čep. Količina krvi koju treba izvaditi u epruvetu je od 5 do 10 mL. Nakon što se pravilno označila epruveta započinje vađenje krvi. Pacijentu se stavi podvez iznad mjesta uboda te bi trebao stisnuti šaku kako bi vene bile istaknutije. Dezinficira se mjesto uboda i pod kutom od 30 stupnjeva brzo se uđe u venu i nastavi se uvoditi iglu duž vene pod najlakšim kutom ulaska. Nakon što se prikupi dovoljno krvi, otpušta se podvez prije izvlačenja igle. Pacijentu se stavi pamučna vata na mjesto uboda.



Slika 13. Vacutaineri za uzorkovanje krvi (Izvori: <https://www.hce-uk.com> i <https://www.thomasci.com>)

Svaki uzorak prati i njegova radna lista s naznačenim imenom i prezimenom pacijenta, pretragama koje se trebaju napraviti i određenim laboratorijskim brojem. Uglavnom se uz pretragu CMV-a određuje i EBV.

str. 1/1

OBR  
ORIGINAL

.....matinske županije na lokaciji DZ Split -opće


;

;

Dg. zdu. izloženosti ili kontakt s drugim prenosivim bolestima  
serologija na CMV, EBV

**ECT 2201869**  
serum - EBV / IgM/IgG, CMV / IgM/IgG

Prijem: MARTA URLIĆ



EBV / VCA IgM		
EBV / VCA IgG		
EBV / EBNA IgG		
CMV / IgM		
CMV / IgG		

Slika 14. Radna lista

## Centrifugiranje uzorka krvi

Nakon što je pacijentu izvađena krv ona se dostavlja u laboratorij za serološku dijagnostiku. Vacutainer s uzorkom krvi treba ostaviti da odstoji minimalno 30 minuta prije centrifugiranja. Centrifugiranje krvi se radi kako bi se odvojio serum zbog toga što se određivanje protutijela CMV-a analizira iz seruma. Epruveta se stavi u centrifugu i potrebno je namjestiti ravnotežu tako da sa suprotne strane epruvete bude uzorak krvi s jednakom ili približnom količinom. Ako nema drugih uzoraka postavlja se epruveta s vodom. Centrifuga je namještena na 3000 rpm i 10 minuta. Nakon što se krv centrifugirala, na dnu epruvete su krvne stanice koje su se istaložile, a poviše njih serum. Čep s epruveta se skida i stavlja u infektivni otpad. Izdvaja se serum u novu epruvetu.



Slika 15. Centrifuga



Slika 16. Vrijeme i okretaji

## Dijagnostika CMIA metodom

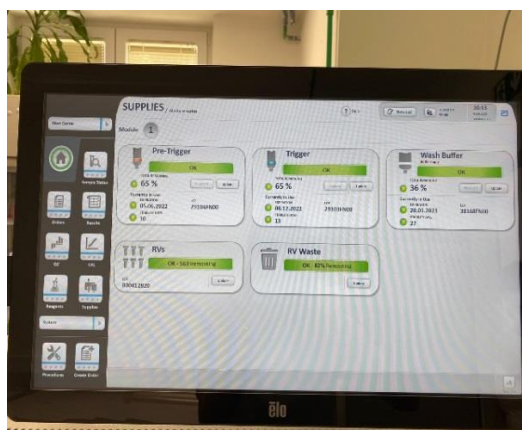
Sustav Alinity omogućava kvalitativnu analizu IgM i IgG antitijela CMV-a i njihovu aviditet, no također još ima mogućnost određivanja brojnih protutijela drugih uzročnika raznih infekcija.

## Uređaj i materijali

Abbot Alinity i sastoji se od kemiluminiscentnog imunokemijskog analizatora i monitora (Alinity i software).



Slika 17. Abbot Alinity i analizator

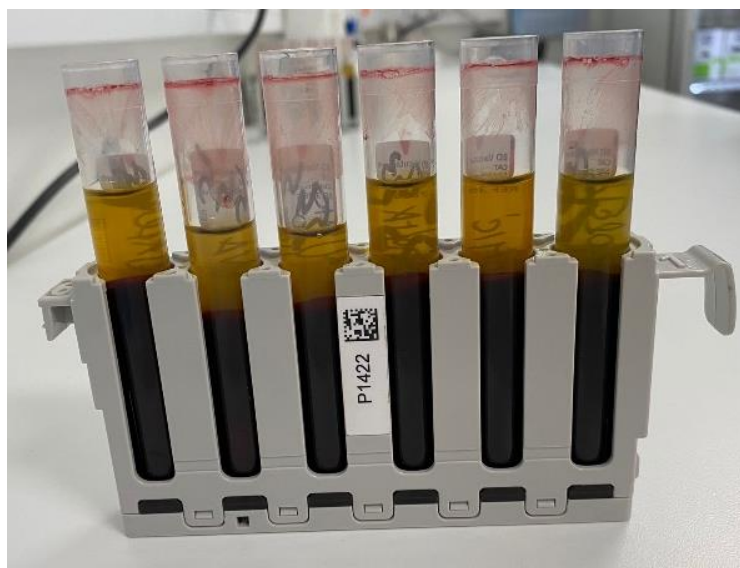


Slika 18. Software Alinity

Materijali i pribor koji su potrebni za određivanje protutijela CMV-a uključuju komercijalno dostupne kitove firme Abbot za Alinity analizator.

Pribor sadrži:

1. Stalke za stavljanje epruveta sa centrifugiranom krvi u aparat. Na sebi ima kod koji je potrebno skenirati prije stavljanja u analizator.



Slika 19. Stalci za epruvete



2. Reagense za IgM i IgG koji se sastoje od mikročestica, konjugata i diluenta za analizu



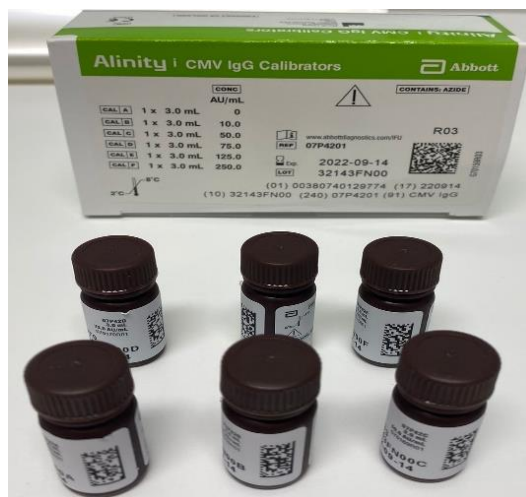
Slika 20. Reagensi za određivanje At CMV-a

### 3. Kalibratori

Kalibratori služe za izvođenje kalibracije. Kalibrator ili standard ima točno određenu vrijednost koja je obilježena na kutiji i bočicama. Nakon ubacivanja standarda u aparat izrađuje se kalibracijska krivulja prema kojoj se dalje izračunavaju rezultati. Kalibracija se izvodi kod korištenja nove serije reagensa. Izvodi se prema uputama proizvođača. Kalibracija IgM antitijela se izvodi uz pomoć jednog standarda, a IgG antitijela uz pomoć 6 standarda, no to sve ovisi o proizvođaču. Što je više standarda preciznije je napravljena krivulja.



Slika 21. Kalibrator IgM



Slika 22. Kalibratori IgG

#### 4. Pozitivnu i negativnu kontrolu

Pozitivna i negativna kontrola rabe se kako bi utvrdili kvalitetu rada uređaja. Bez kontrole kvalitete analizatora ne smije se izdavati ni jedan rezultat. Kontrole za IgM imaju 1 pozitivnu i 1 negativnu kontrolu, dok kontrole za IgG imaju 2 pozitivne i 1 negativnu kontrolu.

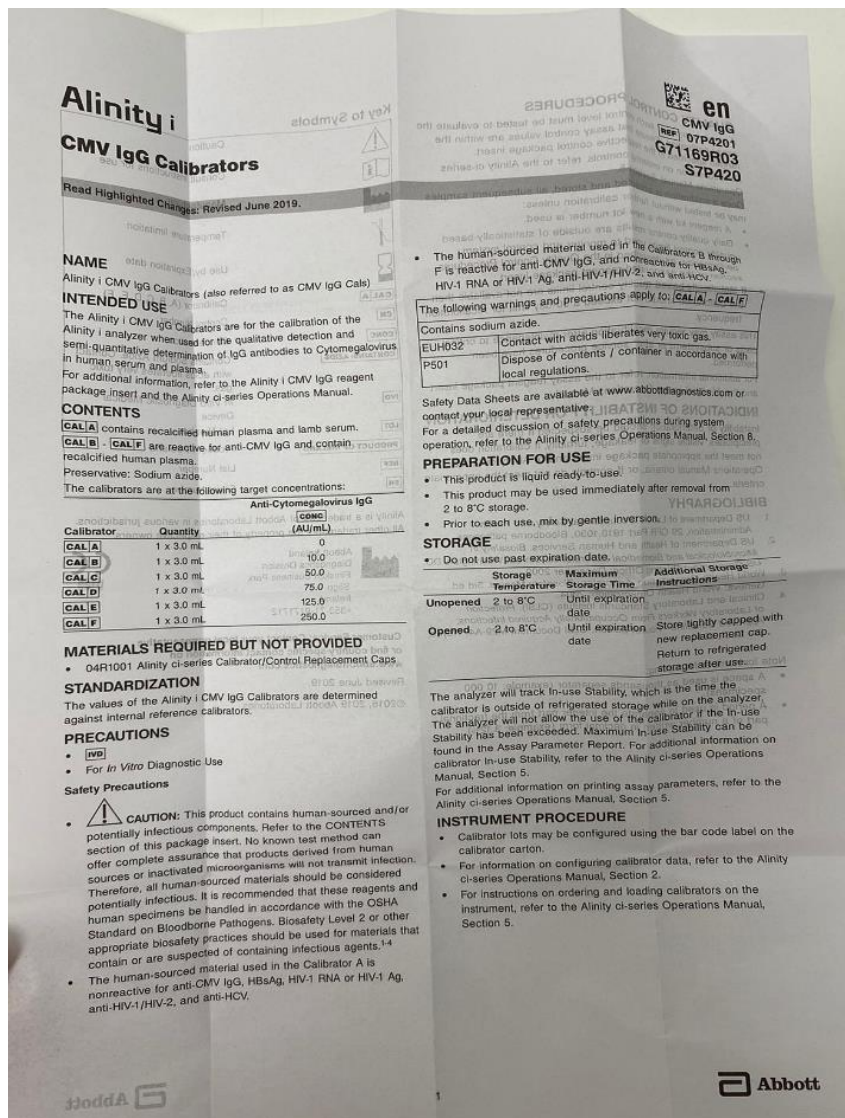


Slika 23. Poz. i neg. kontrola IgM



Slika 24. Poz. i neg. kontrole IgG

Svi reagensi, standardi i kontrole čuvaju se na temperaturi od 2 do 8 Celzijevih stupnjeva. Rok trajanja je obilježen na svakoj bočici i prilikom isteka zamjenjuje se drugim. Svaki kit ima upute za upotrebu i pohranu od strane proizvođača te se njih treba pridržavati.



Slika 25. Upute iz kita

## Abbot Alinity i analizator

Analizator Alinity i je sofisticirani sustav koji se zasniva na principu CMIA metode. To je imunokemijski test s kojim je omogućeno kvalitativno određivanje protutijela ili antigena u serumu ljudi. Automatizirani analizator unaprijeđen je jer smanjuje vrijeme obrade, ima visoku propusnost i poboljšanu točnost da bi što bolje zadovoljio kliničke zahtjeve. Osim toga, automatizirano je više procesa što omogućuje smanjenje manualnog rada.

Svakim radnim danom, prije korištenja aparata, potrebno je provjeriti je li analizator ima dovoljno potrošnog materijala, reagensa, pufera za ispiranje, je li smeće popunjeno. Ako nešto od tog pribora i materijala fali potrebno je nadopuniti prije rada, a smeće isprazniti. Sve informacije o količini pribora i materijala, smeća dobijemo preko zaslona na uređaju. Nakon provjere aparata u njega se stavljaju pozitivna i negativna kontrola kako bi vidjeli je li aparat spreman za rad. Kontrole moraju biti unutar dvije standardne devijacije kako bi se moglo započeti s radom. Ako su kontrole zadovoljile svoje vrijednosti u aparat se ubacuju uzorci koji su naslagani na stalcima. Nakon što je uzorak ubačen na monitoru je prikazano vrijeme kada će biti gotovo. Kada je gotovo ispisuje se i validira nalaz. Uzorci se čuvaju nakon obrade 2 tjedna u hladnjaku na temperaturi od 2 do 8 °C.



Slika 26. Mjesto potrošnog materijala u aparatu

## **Dijagnostika CMIA metoda**

CMIA metoda je dvostupanjska analiza koja radi na principu korištenja paramagnetskih mikročestica obloženih anti-analitom i konjugata anti-humanog IgG obilježenog akridinijem. Postoje brojni obilježivači na raspolaganju za korištenje, a koji će se koristiti ovisi o proizvođaču. Dodaje se uzorak i ako postoji prisutnost ispitivanog analita vezat će se. Kada prođe vrijeme inkubacije, ispiru se puferom da se odstrani višak ne vezanog sadržaja. Predaktivacijska (eng. *Pre-trigger*) i aktivacijska (eng. *Trigger*) otopina se miješaju sa tim sadržajem. Ove otopine aktiviraju kemiluminiscentnu reakciju koja se mjeri kao relativna svjetlosna jedinica (eng. *Relative Light Units*; RLU) koja ima izravan odnos s količinom ispitivanog analita u uzorku. Preciznost, specifičnost i osjetljivost ove metode jako je visoka pa se zato smatraju jako točnim i efikasnim u otkrivanju protutijela CMV.

## 5. REZULTATI

Uz određivanje protutijela CMV najčešće se određuju i protutijela EBV. Alinity i uređaj rezultate izdaje kvalitativno pa tako ako postoji prisutnost protutijela onda u nalazu piše pozitivan, a ako protutijelo nije prisutno onda piše negativan. Ukoliko su pacijentu prisutna oba antitijela onda se treba raditi indeks aviditeta. Ako je aviditet visok za IgG isključuje se primarna infekcija i obrnuto. Uvijek je potrebno na nalazu napisati i metodu rada.

Analizirani uzorak bolesnika bio je negativan na IgM protutijela, a pozitivan na IgG protutijela CMV-a što znači da je pacijent nekad u prošlosti prebolio citomegalovirusnu infekciju.

Nastavni zavod za javno zdravstvo Splitsko - dalmatinske županije  
Služba za kliničku mikrobiologiju  
Vukovarska 46, 21000 Split  
021 401 111  
mikrobiologija@nzjz-split.hr

Uzimanje uzorka: 31.5.2022. 10:43  
Prijem uzorka: 31.5.2022. 12:09  
Završetak nalaza: 31.5.2022. 14:50

Prezime i ime: [REDACTED]


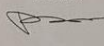
Lab. Broj: ECT Z201830  
Uzorak: serum  
Pretraga: citomegalovirus / IgM/IgG, virus Epstein-Barr / IgM/IgG

MIKROBIOLOŠKI NALAZ

Pretraga	Rezultat	Metoda	Jedinice	Referentna vrijednost	Naziv testa	Instrument
virus Epstein-Barr / VCA IgM	negativan	CMIA	/		Alinity i EBV-VCA IgM, Abbott	Alinity i, Abbott
virus Epstein-Barr / VCA IgG	negativan	CMIA	/		Alinity i EBV-VCA IgG, Abbott	Alinity i, Abbott
virus Epstein-Barr / EBNA IgG	negativan	CMIA	/		Alinity i EBV-EBNA-1 IgG, Abbott	Alinity i, Abbott
citomegalovirus / IgM	negativan	CMIA	/		Alinity i CMV IgM, Abbott	Alinity i, Abbott
citomegalovirus / IgG	POZITIVAN / 176,50	CMIA	AU/ml	negativan < 6,00 POZITIVAN >= 6,00	Alinity i CMV IgG, Abbott	Alinity i, Abbott

Osjetljivost na infekciju virusom Epstein-Barr. Ponoviti pretragu (samo EBV) za 2 - 3 tjedna ako klinički nalaz upućuje na infektivnu mononukleozu.  
Preboljena primarna citomegalovirusna infekcija.

PAUL BOHNERT, dr. med.  
specijalist medicinske mikrobiologije s parazitologijom  
0163872



Slika 27. Nalaz ispitivanog pacijenta

## 6. ZAKLJUČAK

Citomegalovirus (CMV) je virus koji je jako proširen u populaciji. Nalazi se među ljudima i prenosi se najčešće kapljičnim putem. Skoro pa svaka osoba se tijekom života zarazi CMV-om i shodno tome razvije protutijela.

Uzrokuje od asimptomatske infekcije do bolesti. Teža klinička slika je kod pacijenata oslabljenog imunološkog statusa, a ljudi koji imaju zdrav imunološki sustav imaju jako slabe simptome ili ih gotovo nemaju. Najčešće su perinatalne i kongenitalne infekcije. Također, CMV jako je čest uzročnik infektivne mononukleoze.

Mikrobiološka dijagnostika CMV-a je većinom serološka, a sve više se počinje koristiti molekularna dijagnostika. U Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije svakodnevno se zaprima velika količina uzoraka krvi koji se testiraju na prisutnost antitijela IgM i IgG CMV-a. Uzorci se odmah pri dolasku u laboratoriju za serološku dijagnostiku pripremaju (izdvaja se serum) i obrađuju. Metoda rada je CMIA (engl. *Chemiluminescent Microparticle Immuno Assay*). Određivanje aviditeta protutijela nešto je rjeđe, jer se ono određuje samo kod pacijenata kod kojih su prisutna i IgM i IgG protutijela kako bi ustanovili je li se radi o ponovljenoj infekciji ili primarnoj infekciji. Aviditet je jako bitan jer prisutnost IgM protutijela nakon trenutka zaraze u bolesnika može različito biti prisutna tako da može varirati od par tjedana do nekoliko mjeseci.

Infekcije uzrokovane citomegalovirusom se liječe simptomatski jer još nije razvijeno optimalno cjepivo za sprječavanje zaraze. U slučaju jako teških kliničkih slika mogu se pacijentu dati antivirusni lijekovi koji prema istraživanjima djeluju na suzbijanje CMV-a. Najbolji način prevencije je izbjegavanje kontakta s zaraženim osobama.



## 7. SAŽETAK

Humani cytomegalovirus ili HHV-5 je herpes virus koji spada u potporodicu *Betaherpesvirinae*. Glavno svojstvo svih herpes virusa je latencija odnosno doživotno prisustvo u organizmu čovjeka bez kliničkih simptoma i moguća reaktivacija prilikom oslabljenog imunološkog statusa. Virus je štetan samo za čovjeka. Nakon što se čovjek zarazi virusom, odmah započinje njegovo razmnožavanje, odnosno oslobađanje virusne DNK i njeno umnožavanje. CMV uzrokuje karakteristične promjene na ljudskim stanicama koje je moguće vidjeti mikroskopskim pregledom. Pojava velikih inkluzija unutar jezgre olakšava dijagnostiku virusa. CMV virus može inficirati ljude različite životne dobi i različitog zdravstvenog statusa. Ovisno o starosti ljudi razlikuje se i način prijenosa. Najčešći način prijenosa kod ljudi mlađe životne dobi je kapljični put ili transplacentarno, dok kod osoba starije životne dobi kapljično ili transplantacijski. S obzirom na zdravstveni status ljudi razlikuju se i klinički simptomi. Najteži klinički znakovi su kod imunodeficijentnih osoba zbog mogućnosti stvaranja raznih komplikacija. Sprječavanje zaraze najučinkovitije je ako se čovjek izolira od osoba zaraženih CMV-om. Kako CMV kod imunokompetentnih ljudi ne uzrokuje velike i karakteristične simptome to može biti veliki problem u prevenciji infekcije, jer je teško detektirati zaražene osobe.

Dijagnostika CMV-a je moguća različitim načinima, no najčešća je neizravna dijagnostika. Neizravna dijagnostika podrazumijeva serološku obradu u kojoj se određuju protutijela na CMV. IgM protutijela se javljaju kao primarni odgovor na infekciju, a IgG su dokaz preboljene bolesti. Kako CMV uzrokuje latentne infekcije IgG je moguće dokazati bilo kada tijekom života. Ukoliko pacijent ima i IgM i IgG protutijela na CMV, potrebno je napraviti aviditet za IgG. Na taj način razlikuje se primarna infekcija, od ponovljene infekcije, jer IgM za CMV može kod nekih pacijenata ostati dugo pozitivan.

## 8. ABSTRACT

Human cytomegalovirus or HHV-5 is a herpes virus that belongs to the subfamily *Betaherpesvirinae*. The main feature of all herpes viruses is latency, a lifelong presence in the human body without clinical symptoms, and possible reactivation in case of weakened immune status. The virus is harmful only for humans. After the virus enters the body, its reproduction begins immediately, the release of viral DNA and its reproduction. CMV causes characteristic changes in human cells that are visible microscopically. The appearance of large inclusions within the nucleus facilitates the diagnosis of the virus. The CMV virus can infect people of different ages and different health statuses. Depending on the age of the people, the mode of transmission also differs. The most common transmission in younger people is by droplet or transplant, while in older people by transplantation or droplet. Depending on the health status of people, clinical symptoms also differ. The worst clinical signs are in immunodeficient people due to the possibility of creating various complications. Infection prevention is most effective if a person isolates himself from potentially possible or infected people with CMV. CMV in immunocompetent people does not cause characteristic symptoms that can be a significant problem in infection prevention, because it is difficult to detect infected people.

Diagnosis of CMV is possible in many ways, but indirect diagnosis is the most common. Indirect diagnosis involves serological processing in which antibodies to CMV are determined. IgM antibodies show us the primary response to infection, and IgG is evidence of past illness. How CMV causes during latent IgG infection can be proven at any time of life. Because CMV causes latent infections, so IgG antibodies can be diagnosed at any time of life. If the patient has both IgM and IgG antibodies to CMV, it is necessary to make an avidity for IgG. In this way, the primary infection differs from the recurrence of the infection, because the IgM for CMV can remain positive for a long time in some patients.

## 9. LITERATURA

1. Simmonds P, Aiewsakun P. Virus classification - where do you draw the line? *Arch Virol*. 2018 Aug;163(8):2037-2046. doi: 10.1007/s00705-018-3938-z. Epub 2018 Jul 24. PMID: 30039318; PMCID: PMC6096723.
2. Bader N. Citomegalovirus. U: Kalenić S (Ur.). *Medicinska mikrobiologija*. Zagreb: Medicinska naklada, 2019., str. 418-22.
3. Presečki V, Presečki-Stanko A, Lukić-Grlić A. Virusi – Opće osobine, građa, umnožavanje, genetika U: Kalenić S i sur. *Medicinska mikrobiologija*, Zagreb: Medicinska naklada, 2019., str. 353-75.
4. Schmid M, Speiseder T, Dobner T, Gonzalez RA. DNA virus replication compartments. *J Virol* 2014 Feb;88(3):1404-20. doi: 10.1128/JVI.02046-13. Epub 2013 Nov 20. PMID: 24257611; PMCID: PMC3911613.
5. Presečki V i sur. *Virologija*. Zagreb: Školska knjiga, 1994., str. 110.
6. Riley HD Jr. History of the cytomegalovirus. *South Med J* 1997 Feb;90(2):184-90. doi: 10.1097/00007611-199702000-00004. PMID: 9042169.
7. Compton T, Feire A. Early events in human cytomegalovirus infection. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, Moore PS, Roizman B, Whitley R, Yamanishi K, editors. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. Cambridge: Cambridge University Press, 2007. PMID: 21348067.
8. Tešović G. Konatalna citomegalovirusna bolest. *Paediatr Croat* 2011;55:127
9. Begovac J, Božinović D, Lisić M, Baršić B, Schönwald S. *Infektologija*. Zagreb: Profil, 2006.
10. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev Med Virol* 2010;20:202-13.
11. Presečki V. Citomegalovirus. U: Mlinarić-Galinović G, Ramljak-Šešo M (Ur.) *Specijalna medicinska mikrobiologija i parazitologija*. Zagreb: Merkur A.B.D., 2003., str. 384-6.
12. Presečki V i sur. *Virologija*. Zagreb: Školska knjiga, 1994., str. 110.

13. Gupta M, Shorman M. Cytomegalovirus. 2022 May 9. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 29083720.

## **10. ŽIVOTOPIS**

### **Općeniti podaci:**

Ime i prezime: Ivana Jukić

Datum rođenja i mjesto: 07.03.2001, Split

E-mail: [ivana.plokite@gmail.com](mailto:ivana.plokite@gmail.com)

### **Obrazovanje:**

2007. – 2015. godine pohađana Osnovna škola "Plokite"

2015. – 2019. godine pohađana Zdravstvena škola Split, smjer zdravstveno laboratorijski tehničar

2019. upisan Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, preddiplomski sveučilišni studij, smjer Medicinsko laboratorijska dijagnostika, Split

### **Zaposlenje:**

2019. godine zaposlena kao student na Kliničkom zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju, KBC Split do kraja sveučilišnog obrazovanja

### **Strani jezik:**

Engleski