

SEROPREVALENȚA INFECȚIEI CU CMV LA PACIENȚI CU BOLI TRANSMISIBILE SEXUAL

Seroprevalence of cytomegalovirus among patients with sexually transmitted diseases (STDs)

Dr. A.V. Dragodan

Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau“, București

REZUMAT

Infecția genitală cu CMV, inclusă în prezent printre BTS, necesită contacte îndelungate cu o persoană cu leziuni de contiguitate în aria genitală sau cu fluide biologice ca lichid seminal, secreții vaginale, salivă. Obiectivul acestui studiu este de a determina seroprevalența infecției cu CMV la pacienți cu diagnostic clinic de BTS, corelată cu o serie de factori de risc. Grupul de studiu a inclus 255 de pacienți, testați pentru evidențierea anticorpilor anti CMV IgM și IgG. Anamneza participanților la studiu nu a evidențiat existența infecției cu CMV anterior diagnosticului de BTS. Seroprevalența pentru CMV IgM a fost corelată cu sexul feminin (1,56%), cu vârsta (>18 ani, 1,56%) și cu relațiile sexuale neprotejate (1,56%). Anticorpilor anti CMV IgG au fost prezenți la toți participanții la studiu (100%), seroprevalența caracterizând sexul feminin (47,05%), vârsta peste 18 ani (64,70%), persoanele cu relații sexuale neprotejate (60,39%), cele căsătorite (40%), cele cu parteneri sexuali multipli (> 2 în decursul ultimului an, 39,60%) și cele simptomatice pentru BTS (47,84%). Riscul contaminării prin contact sexual cu CMV a fost corelat cu sexul feminin (1,56%), cu vârsta peste 18 ani (1,56%), cu sexul neprotejat (1,56%) și cu prezența simptomatologiei sugestive pentru BTS (1,17%). Un argument semnificativ în acest sens ar fi evidențierea, de uz curent, a ADN – CMV în secrețiile cervicale și în lichidul seminal.

Cuvinte-cheie: virusul citomegalic (CMV), boli cu transmitere sexuală (BTS)

ABSTRACT

CMV genital infection, currently included among STDs, requires prolonged contact with a person with genital lesions contiguity in the area or body fluids as semen, vaginal secretions, saliva. The main objective of this study is to determine CMV seroprevalence in patients with clinical diagnosis of STDs and correlate it with several risk factors. The study group included 255 patients tested for IgM and IgG CMV antibodies presence. Clinical history of the trial did not reveal the existence of an earlier diagnosis for CMV infection before STDs diagnosis. IgM CMV seroprevalence was correlated with female sex (1.56%), age (> 18 years, 1.56%) and unprotected sex (1.56%). IgG CMV antibodies were present in all study participants (100%), seroprevalence characterizing females (47.05%), persons with age over 18 (64.70%), those which practice unprotected sex (60.39%), married (40%), or those with multiple sex partners (> 2 over the last year, 39.60%) and those with symptomatic STDs (47.84%). CMV contamination through sexual contact was correlated with female sex (1.56%), aged 18 years (1.56%), which practice unprotected sex (1.56%), and with the presence of symptoms suggestive of STDs (1.17%). Therefore a significant argument in this regards would be testing CMV DNA in cervical secretions and semen.

Key words: cytomegalovirus (CMV), sexually transmitted diseases (STDs)

INTRODUCERE

Izolarea *CMV*, în 1967, din secreția colului uterin și din lichidul seminal, a ridicat ipoteza

transmiterii virusului prin contact sexual. De asemenea, s-a sugerat că majoritatea femeilor purtătoare de *CMV* în sfera genitală s-ar infecta prin contact sexual. În ultimul deceniu, OMS a semnalat

Address for correspondence:

Dr. A.V. Dragodan, Institutul de Virusologie „Ștefan S. Nicolau“, Șos. Mihai Bravu, Nr. 285, București

creșterea frecvenței infecțiilor grave cu *CMV* ale nou-născutului, acest fiind contaminat de mama purtătoare a virusului în stare latentă, gravidele aparținând grupelor de risc (1, 2). Sindroamele clinice induse de *CMV* sunt corelate cu vârsta la care survine infecția, infectarea fătului putând determina o maladie congenitală cu diverse aspecte clinice, pe când la copilul și la adultul tânăr este responsabilă de apariția unui sindrom similar mononucleozei infecțioase. Se apreciază că 35-80% dintre femeile apte pentru gestație au anticorpi anti *CMV* prezenți, pe când la gravide infecția variază în funcție de 11-77% (studii efectuate în SUA și Anglia) (1-5).

Infecția genitală cu *CMV* necesită contacte îndelungate cu o persoană cu leziuni de contiguitate în aria genitală sau cu fluide biologice ca lichid seminal, secreții vaginale, salivă. La asimptomatici, virusul a fost evidențiat în lichidul seminal, în secrețiile cervico-vaginale, în scaun și în salivă, ceea ce denotă transmiterea lui, relativ ușoară, pe cale sexuală. Incidența infecției este relativ egală la ambele sexe, marile aglomerații urbane, precum și nivelul economic scăzut ducând la creșterea incidenței infecției (2, 4, 5).

La nivel general infecția cu *CMV* este asimptomatică, manifestându-se doar în perioadele de imunosupresie a organismului (5). Unele studii arată că 8-10% dintre femeile active sexual au virusul prezent în secreția cervicală, iar 13,3% dintre femeile cu diferite BTS au concomitent și infecție cu *CMV*. Prezența virusului la gravide (în 15-20% dintre sarcinile aflate în al treilea trimestru) se datorează și contactelor sexuale neprotejate (1, 6, 7). Virusul a fost pus în evidență în lichidul seminal și în saliva bărbaților heterosexuali, precum și la partenerii lor sexuale. Prin microscopie electronică s-a evidențiat virusul în spermatozoizi și în lichidul seminal la circa 30% dintre homosexuali, prezența *CMV* crescând cu vârsta individului și vechimea homosexualității. S-a demonstrat că infecția HIV activează infecția cu *CMV*, ducând la creșterea cantității de *CMV* eliminate prin lichidul seminal (8, 9, 10). Ca urmare, în prezent se apreciază că infecția genitală cu *CMV* aparține BTS, virusul transmițându-se pe cale sexuală fără să creeze leziuni la nivelul organelor genitale (1, 10).

Întrucât infecțiile cu *CMV* sunt în marea lor majoritate asimptomatice sau cu simptomatologie asemănătoare celei din mononucleoza infecțioasă, iar accesibilitatea la un diagnostic de laborator complex este destul de dificilă, aprecierea incidenței este posibilă și prin stabilirea seroprevalenței (11, 12, 13, 14, 15). Obiectivul acestui studiu este de a

determina seroprevalența infecției cu *CMV* la pacienți cu diagnostic clinic de BTS.

MATERIALE ȘI METODE

Grupul de studiu a fost alcătuit din 255 de pacienți, care s-au prezentat, în intervalul 2001-2005, pentru investigații privind posibila etiologie virală a BTS, atât din proprie inițiativă, cât și la sugestia medicului curant. Caracteristic tuturor participanților la studiu a fost diagnosticul de BTS alături de variabilitatea manifestărilor clinice tipice pentru infecțiile suspicinate. Structura grupului a fost următoarea: 158 de femei și 97 de bărbați, cu vârsta cuprinsă între 15-47 ani. Diagnosticile clinice au fost: uretrită, cervicită, boala inflamatorie pelvină, condilomatoză genitală, herpes genital, 188 de pacienți prezentând simptome pentru bolile menționate. Restul de 67 de pacienți au fost asimptomatici, solicitând investigații ca urmare a unor contacte sexuale aleatorii și neprotejate sau a coabitării cu un partener stabil, simptomatic pentru BTS.

După informarea pacienților și după obținerea consimțământului de participare, un chestionar structurat a fost aplicat la toți cei 255 de pacienți. Chestionarul a inclus următoarele date: vârsta, sexul, statusul marital, antecedente privind numărul de parteneri sexuali în ultimul an, date privind protecția în cursul actului sexual și diagnosticul clinic de BTS. Fiecărui pacient i s-au prelevat, aseptice, prin puncție venoasă, 10 ml sânge (în vacuteinere fără anticoagulant) pentru detecția anticorpilor (Ac) anti *CMV* IgM și IgG (teste ELISA, DiaPro Diagnostic Bioprobes Srl.) Probele de sânge, transportate în laborator, au fost prelucrate cu metode standard ale laboratorului clinic, în vederea obținerii serului de testat. Probele de ser au fost codificate pentru a fi identificate ușor. Serurile hemolizate, cu aspect vizibil hiperlipemic, cu resturi de fibrină, particule, filamente microbiene sau corpuri străine au fost declarate neconforme și excluse de la testări deoarece pot genera rezultate eronate. Pentru testarea în interval de până la 5 zile din momentul prelevării, serurile au fost depozitate la temperatura de +2°C-8°C, iar dacă testarea s-a efectuat într-un interval mai mare de 5 zile, la temperatura de -20°C – 80°C (11-15).

Testul de evidențiere a anticorpilor anti *CMV* IgM se bazează pe procedeul „imunocapturii IgM”, unde clasele de anticorpi IgM din probă sunt primele captate de către faza solidă peliculizată cu anticorp anti hIgM (human IgM). După îndepărtarea prin spălare a anticorpilor nespecifici din probă,

și în special anticorpul IgG, anticorpul anti *CMV* IgM sunt detectați în a doua incubare prin adăugarea unui complex compus de antigene native *CMV* și a unor anticorpi specifici monoclonali *CMV*, marcați cu HRP. După incubare, microgodeurile sunt spălate pentru a îndepărta conjugatul nelegat și apoi se adaugă cromogenul – substrat. În prezența conjugatului legat substratul fără culoare este hidrolizat într-un produs final colorat a cărui densitate optică poate fi detectată și este proporțională cu cantitatea de anticorpi anti *CMV* IgM prezenți în probă. Protocolul de lucru este detaliat în Tabelul 1. Principiul testului de detecție a anticorpilor anti *CMV* IgG: microgodeurile sunt acoperite cu antigene native de *CMV*, purificate prin centrifugare și inactivare. Faza solidă este mai întâi tratată cu probă diluată și anticorpul anti *CMV* IgG sunt captați de către antigene, dacă sunt prezenți. După ce s-au îndepărtat prin spălare toți anticorpul nespecifici din probă, în a doua incubare anticorpul anti *CMV* IgG sunt detectați prin adăugarea unui anticorp specific anti IgG policlonal, marcat cu HRP. Enzima captată pe faza solidă, cu acțiune pe mixtura substrat – cromogen, generează un semnal optic care este proporțional cu cantitatea de anticorpi anti *CMV* IgG prezenți în probă. Protocolul de lucru este prezentat, schematic, în Tabelul 1.

TABELUL 1. Protocol de lucru al testului ELISA de detecție a anticorpilor anti *CMV* IgM și anticorpilor anti *CMV* IgG

Etapele	Operațiuni
controale și calibrator probe diluate 1:101	100 μl 100 μl
1 ^a incubare	60 de minute la +37°C
1 ^a etapă de spălare	4-5 cicluri
imunocomplex – conjugat	100 μl
a 2 ^a incubare	60 de minute la +37°C
a 2 ^a etapă de spălare	4-5 cicluri
substrat: TMB – H ₂ O ₂	100 μl
a 3 ^a incubare	20 de minute la temperatura camerei
soluție de stopare	100 μl
citirea densității optice (DO)	450 nm

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În grupul studiat, infecția acută cu *CMV* (semnalată de prezența anticorpilor anti *CMV* IgM) a fost evidențiată la 24 de pacienți (9,41%), cu vârsta peste 18 ani. Anticorpul anti *CMV* IgG, care semnifică trecerea prin infecția primară, au fost decelați la toți participanții la studiu (100%), indiferent de vârstă. Anticorpul anti *CMV* IgM au fost

detectați numai la 4 femei (1,56%) din totalul cazurilor testate. Prevalența anticorpilor anti *CMV* IgG a fost de 18,82% (48 de cazuri) la bărbați și 47,05% (120 de cazuri) la femei. În funcție de simptomatologia pentru BTS, 3 (1,17%) cazuri au fost seropozitive pentru *CMV* IgM și 122 (47,84%) pentru *CMV* IgG la pacienții simptomatici; 1 (0,39%) caz a fost pozitiv pentru *CMV* IgM și 46 (18,03%) de cazuri pentru *CMV* IgG la pacienții asimptomatici. La pacienții căsătoriți, 3 (1,17%) cazuri au prezentat anticorpul anti *CMV* IgM și 102 (40%) anticorpul anti *CMV* IgG, pe când la cei necăsătoriți a fost seropozitiv pentru *CMV* IgM 1 caz (0,39%) și pentru *CMV* IgG 66 de cazuri din totalul cazurilor testate (25,88%). Dintre cei cu parteneri multipli (> 2 în ultimul an) 3 (1,17%) cazuri au avut anticorpi anti *CMV* IgM și 67 (26,27%) anticorpi anti *CMV* IgG, pe când la cei cu partener unic a fost detectat 1 (0,39%) singur caz pozitiv pentru *CMV* IgM și 101 (39,6%) cazuri pozitive pentru *CMV* IgG. La pacienții care au avut contacte sexuale neprotejate, anticorpul anti *CMV* IgM au fost detectați în 4 (1,56%) cazuri și anticorpul anti *CMV* IgG în 154 (60,39%) de cazuri; la cei care au folosit prezervativul doar anticorpul anti *CMV* IgG au fost prezenți la 1 singur caz (0,39%), iar la cei cu protecție ocazională anticorpul anti *CMV* IgG au fost prezenți la 11 (4,31%) cazuri. Anticorpul anti *CMV* IgM + IgG au fost decelați la 2 paciente (0,78%), necăsătorite, cu vârsta peste 18 ani, cu parteneri sexuali multipli în decursul ultimului an și simptomatice pentru BTS. Caracteristicile celor 255 de pacienți cu diagnostic de BTS și rezultatele testărilor serologice pentru infecția cu *CMV* sunt prezentate în Tabelul 2.

Anamneza participanților la studiu nu a evidențiat existența infecției cu *CMV* anterior diagnosticului de BTS. Seroprevalența pentru *CMV* IgM a fost corelată cu sexul feminin (4 cazuri – 1,56%), cu vârsta (>18 ani, 4 cazuri – 1,56%) și cu relațiile sexuale neprotejate (4 cazuri – 1,56%). Un aspect interesant l-a reprezentat prezența anticorpilor anti *CMV* IgM la pacienții căsătoriți (3 cazuri – 1,17%), la cei cu partener unic în decursul ultimului an (3 cazuri – 1,17%) și la cei simptomatici pentru BTS (3 cazuri – 1,17%). Probabil că pacienții căsătoriți fie au contractat virusul de la partenerul oficial, fie a fost o reactivare a unei infecții cu *CMV* contractată în antecedente. Anticorpul anti *CMV* IgG au fost decelați la toți participanții la studiu (100%), predilect la sexul feminin (120 de cazuri – 47,05%), la cei cu vârsta peste 18 ani (165 de cazuri – 64,70%), la cei cu relații sexuale neprotejate (154 de cazuri – 60,39%), cei căsătoriți (102 cazuri – 40%), cei cu

TABELUL 2. Caracteristicile a 255 de pacienți cu diagnostic de BTS și rezultatele testărilor serologice pentru infecția cu CMV

Caracteristici + teste serologice efectuate	Frecvența (%)
• Sex M / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG + F / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG +	97 (38,03%) / 0 / 48 (18,82%) 158 (61,97%) / 4 (1,56%) / 120 (47,05%)
• Vârsta între 15-18 ani / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG + peste 18 ani / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG +	3 (1,17%) / 0 / 3 (1,17%) 252 (98,83%) / 4 (1,56%) / 165 (64,70%)
• Status marital căsătoriți / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG + necăsătoriți / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG	148 (58,03%) / 3 (1,76%) / 102 (40%) 107 (41,97%) / 1 (0,39%) / 66 (25,88%)
• Parteneri sexuali (în cursul ultimului an) unic / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG + multipli (>2) / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG +	18 (8,24%) / 1 (0,39%) / 101 (39,6%) 237 (91,76%) / 3 (1,17%) / 67 (26,27%)
• Status BTS simptomatici / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG + asimptomatici / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG +	188 (73,72%) / 3 (1,17%) / 122 (47,84%) 67 (26,28%) / 1 (0,39%) / 46 (18,03%)
• Relații sexuale protejate (P) / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG + neprotejate (NP) / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG + P + NP / Ac anti CMV IgM + / Ac anti CMV IgG +	4 (1,56%) / 0 / 3 (1,17%) 233 (91,37%) / 4 (1,56%) / 154 (60,39%) 18 (7,07%) / 0 / 11 (4,31%)

parteneri sexuali multipli (>2 în decursul ultimului an, 101 de cazuri – 39,60%) și la cei simptomatici pentru BTS (122 de cazuri – 47,84%). Două paciente au prezentat serologia unei infecții acute, activă sau reactivă, sugerând că CMV ar fi putut fi contractat pe cale sexuală. Dacă pacienții ar fi fost investigați înaintea începerii vieții sexuale și la 4-8 săptămâni după o nouă relație sexuală neprotejată sau protejată ocazional, excluzând transmiterea parenterală, ar fi fost o certitudine contractarea CMV pe această cale. Un argument semnificativ în acest sens ar fi evidențierea, de uz curent, a ADN – CMV în secrețiile cervicale și în lichidul seminal.

CONCLUZII

Datele experimentale obținute au furnizat o serie de informații a căror analiză a condus la următoarele concluzii:

- riscul contaminării prin contact sexual cu CMV a fost corelat cu sexul feminin (1,56%),

cu vârsta peste 18 ani (1,56%), cu sexul neprotejat (1,56%) și cu prezența simptomatologiei sugestive pentru BTS (1,17%). Un aspect interesant este prezența anticorpilor anti CMV IgM la pacienții căsătoriți (1,17%) și la cei cu partener unic în decursul ultimului an (1,17%);

- detecția ADN-CMV de uz curent (secreție vaginală, prelevat col uterin, prelevat uretră, exudat faringian, lichid seminal) va permite un diagnostic precoce, mai ales în cazul infecțiilor asimptomatice, simultan cu prevenția posibilelor complicații;
- întrucât realizarea unor vaccinuri profilactice și terapeutice este încă în stadiu experimental, educația sexuală rămâne extrem de importantă, alături de intensificarea activității de informare, educare și orientare a populației spre un comportament de viață sănătos, mai ales pentru grupurile de populație cu risc crescut, tinerii și adolescenții.

BIBLIOGRAFIE

1. Bucur Gheorghe, Giurcăneanu Calin – Boli transmise pe cale sexuală, Editura Celsius, București, 2000.
2. Bucur Gheorghe, Giurcăneanu Călin, Gheorghe Letiția – Implicațiile infecțiilor veneriene în patologia generală, Editura Celsius, București, 2002.
3. Kumar & Clark – Clinical Medicine, 5-th Edition, 2002.
4. Nageswaran A., Kinghorn G.R. – Sexually transmitted diseases in children: herpes simplex virus infection, cytomegalovirus infection, hepatitis B virus infection and molluscum contagiosum, *Genitourin Med.*, 199; 69(4): 303-11.
5. Cernescu Costin – Virusologie medicală, Editura Medicală, București, 2008.
6. Scholz M., Cinatl Jr. J., Doerr H.W. – Prophylaxis of cytomegalovirus diseases in high-risk patients, *J. Infect Dis.*, 1995; 27: 269-274.
7. Shannon A. Ross, Zdenek Novak, Guha Ashrith, Lisa B. Rivera, William J. Britt Spencer Hedges, Jane R. Schwebke, and Suresh Boppana – Association between Genital Tract Cytomegalovirus Infection and Bacterial Vaginosis (Abstract), *The Journal of Infectious Diseases*, 2005; vol. 192, pag. 1727-1730.

8. **Mindel A., Sutherland S.** – Antybody to cytomegalovirus în homosexual and heterosexual men attending an STD clinic (Abstract), *British Journal of Veneral Disease*, 1984; Vol 60, Issue 3, pg. 189-192.
9. **Cohen M.S.** – HIV and sexually transmitted diseases: lethal synergy, *Top HIV Med.*, 2004; 12(4): 104 – 7.
10. **Bull S.S., McFarlane M., Lloyd L., Rietmeijer C.** – The process of seeking sex partners online and implications for STD/HIV prevention, *AIDS Care.*, 2004; 16(8): 1012 – 20.
11. **Henry J.B.** – Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, Twentieth Edition, Wb Saunders, 2001.
12. **Fischbach Frances** – A Manual of Laboratory and Diagnostic Tests, 7th Edition, Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
13. **Freidank Heike** – Clinical Laboratory Diagnostic, edited by Thomas Lothar, *TH Book Verlagsgesellschaft*, Frankfurt, 1998.
14. **Gregory A. Storch** – Essentials of Diagnostic Virology, 2000.
15. **Cernescu C., Ruța S.** – Practica diagnosticului virusologic, Editura Concept Publishing, București, 1997.