

Ewelina Osińska<sup>2</sup>, Agnieszka Tomaszewska<sup>3</sup>, Tomasz Dzieciatkowski<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Warszawski Uniwersytet Medyczny,  
ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa

<sup>2</sup>Międzywydziałowe Studium Biotechnologii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,  
ul. Nowoursynowska 166, 02-786 Warszawa

<sup>3</sup>Klinika Transplantacji Komórek Krwiotwórczych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie,  
ul. I.Gandhi 16, 02-776 Warszawa

Wpłynęło w listopadzie 2009 r.

1. Wstęp. 2. Współzakażenia HHV-5 u pacjentów z HIV/AIDS. 3. Infekcje herpeswirusem typu 5 w grupie biorców przeszczepów narządów unaczynionych. 4. Występowanie HHV-6 oraz HHV-7 po przeszczepieniach narządów unaczynionych. 5. Zakażenia herpeswirusem typu 5 u biorców komórek krwiotwórczych. 6. Choroby o etiologii HHV-6 i HHV-7 występujące u pacjentów poddanych przeszczepieniu komórek krwiotwórczych. 7. Diagnostyka zakażeń betaherpeswirusami. 8. Terapia zakażeń spowodowanych przez  $\beta$ -herpeswirusy. 9. Podsumowanie

#### Betaherpesviral infections in patients with immunological disorders

**Abstract:** Human herpesviruses: type 5 (HHV-5, formerly known as CMV), type 6 (HHV-6) and type 7 (HHV-7) are common DNA-viruses and have been classified as members of the *Betaherpesvirinae* subfamily. Primary infections with these viruses generally cause benign illnesses in infancy. The viruses remain latent in the body after primary infection and reactivate in immunocompromised individuals, such as recipients of a solid organ, bone marrow or patients with acquired immune deficiency syndrome (AIDS). The risk of herpesvirus reactivation is potentially high among these groups of people. Betaherpesviruses are associated with graft malfunction or rejection, pneumonitis in transplant recipients and retinitis with AIDS patients. After transplantation it is important to take proper antiviral therapy, which reduces virus reactivation.

1. Introduction. 2. Co-infections between HHV-5 and patients with HIV/AIDS. 3. Infections with human herpesvirus 5 in solid organ transplant recipients. 4. Occurrence of HHV-6 and HHV-7 infections after solid organ transplantations. 5. Infection with human herpesvirus 5 in hematopoietic stem cells recipients. 6. HHV-6 and HHV-7 diseases in hematopoietic stem cells recipients. 7. Diagnostic proceedings. 8. Therapy and management of betaherpesviral diseases. 9. Summary

**Słowa kluczowe:** betaherpeswirusy, zakażenie, immunosupresja, cytomegalowirus

**Key words:** betaherpesviruses, infection, immunosuppression, cytomegalovirus

## 1. Wstęp

Herpeswirusy są jednymi z najpowszechniej występujących wirusów kręgowców, bowiem do chwili obecnej sklasyfikowano ponad 100 ich gatunków, zakażających głównie ssaki i ptaki [11]. Wykazano, że zakres gospodarzy dla poszczególnych herpeswirusów jest bardzo ograniczony, zdarzają się jednak przypadki transmisji międzygatunkowej, czego przykładem może być zakażenie człowieka małpim wirusem typu B. Wirusy należące do podrodziny *Betaherpesvirinae*, charakteryzują się wąskim zakresem gospodarzy, na ogół ograniczonym do jednego gatunku [11, 53]. Cykl replikacyjny  $\beta$ -herpeswirusów jest najdłuższy spośród całej rodziny *Herpesviridae*. Ponadto, przeniesienie z komórki na komórkę jest wydłużone, co wynika z silnego związania wirionów potomnych ze strukturami błonowymi komórek gospodarza [43, 53]. Charakterystyczną cechą tej podrodziny jest efekt cytopatyczny

objawiający się powiększeniem komórek (cytomegalia) będące konsekwencją pojawienia się wewnątrzjądrowych i wewnątrzcytoplazmatycznych ciałek wręto- wych, zawierających wirusowe DNA [53, 58]. Zakażenie latentne dotyczy głównie komórek limforetykularnych oraz tkanki gruczołów wydzielniczych, nerek i siateczkowo-nabłonkowych węzłów chłonnych [53].

Spośród wirusów zaliczanych do *Betaherpesvirinae*, trzy są chorobotwórcze dla człowieka: ludzki herpeswirus typu 5 (HHV-5, określane powszechnie jako CMV), typu 6 (HHV-6) oraz herpeswirus typu 7 (HHV-7) [11]. Zakażenia herpeswirusem typu 5 są niezmiernie częste, szacuje się bowiem, że w krajach rozwijających się częstość zakażeń HHV-5 wśród dorosłych waha się w granicach 80%, a w krajach rozwiniętych 40–80% [26, 28]. Tak częste występowanie wirusa w populacji ludzkiej spowodowane jest łatwym szerzeniem się zakażenia poprzez ślinę, mocz, nasienie, łzy, wydzielinę pochwy, w wyniku transfuzji oraz

\* Autor korespondencyjny: Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Warszawski Uniwersytet Medyczny; ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa; tel./fax: 022 599 17 78; e-mail: dzieciatkowski@wp.pl

przeszczepów narządów lub szpiku kostnego. Pierwotne zakażenie HHV-5 może następować już w życiu płodowym, kiedy to odbywa się jego przeniesienie z matki na płód. Szacuje się, że 50–70% kobiet w wieku rozrodczym jest latentnie zakażonych tym wirusem [9]. Najbardziej niebezpieczne dla płodu jest pierwotne zakażenie ciężarnej matki, gdyż może prowadzić do małopłowia, zwapnień śródczaszkowych, zapalenia wątroby lub płuc oraz ciężkiej małopłytkowości [26, 28, 63]. Zakażenie płodu występuje również u kobiet o wysokim mianie przeciwciał, co może się wiązać z wędrówką cząstek wirusa wewnątrz leukocytów, które chronią go częściowo przed działaniem przeciwciał. W okresie postnatalnym, noworodki narażone są na zakażenie za pośrednictwem siary lub mleka matki, ponieważ przeciwciała zawarte w mleku nie chronią przed zakażeniem [9, 28]. Osoby zakażone HHV-5, doświadczają objawów charakterystycznych dla mononukleozy zakaźnej (wywoływanej przez HHV-4) takich jak: gorączka, powiększenie śledziony, zaburzeniami czynności wątroby, czy pojawienie się atypowych limfocytów we krwi. Jednak brak jest zapalenia gardła i limfadenopatii charakterystycznych dla „właściwej” mononukleozy [26, 28].

HHV-6 wywołuje m.in. limfadenopatie i rumień nagły (*exanthema subitum*). HHV-6 wykazuje również neurotropizm, ale, jak każdy betaherpeswirus, jest limfotropowy [61]. Niekiedy przy zakażeniu herpeswirusem typu 6 mogą wystąpić objawy zapalenia wątroby lub zespół mononukleozopodobny [13, 61, 70]. Sugeruje się również, że HHV-6 i HHV-7 mogą być czynnikiem etiologicznym wywołującym zespół chronicznego zmęczenia (*chronic fatigue syndrome*) [29]. Część badaczy sugeruje, że HHV-7, może być odpowiedzialny za występowanie łupieżu różowatego (*Pityriasis rosea*), choć brak jest jednoznacznych dowodów potwierdzających udział tego wirusa w przebiegu choroby [8]. HHV-7 współdziała z HHV-6 i najprawdopodobniej sprzyja reaktywacji pozostałych  $\beta$ -herpeswirusów ze stanu latencji [6, 7, 30].

Genom przedstawicieli  *$\beta$ -herpesvirinae* koduje około 200 polipeptydów, w tym polimerazę DNA konieczną do replikacji, natomiast nie koduje kinazy tymidynowej (w przeciwieństwie do HHV-1, HHV-2 czy HHV-3), co w konsekwencji powoduje brak wrażliwości na acyklowir [43]. Tak, jak w przypadku innych herpeswirusów, ekspresja genów podczas zakażenia produktywnego zachodzi w sposób kaskadowy. Podobnie wyróżnia się trzy rodzaje genów:  $\alpha$  – natychmiastowe wczesne (immediate-early, IEA), indukowane przez składnik tegumentu  $\alpha$ -TIF;  $\beta$  – wczesne (early, EA) oraz  $\gamma$  – późne (late, LA) [43, 53]. Produktami genów  $\alpha$  są przede wszystkim białka regulatorowe, które powstają po 2–4 godzinach od momentu zakażenia. Transkrypty genów  $\beta$  pojawiają się dopiero po 24–72 godzi-

nach od zakażenia i są to liczne białka niezbędne do replikacji wirionów potomnych, a ich przykładem jest wirusowa polimeraza DNA. Białka  $\gamma$  tworzą strukturalne składniki wirionów potomnych [43, 63].

Na szczególne podkreślenie zasługuje zjawisko, polegające na tym, iż pierwotne zakażenie produktywnie herpeswirusami (w tym członkami podrodziny  *$\beta$ -herpesvirinae*) zawsze przechodzi w zakażenie latentne, które utrzymuje się do końca życia [53, 56]. Możliwość przejścia zakażenia latentnego w zakażenie persystentne, podczas którego odbywa się stała produkcja niewielkiej ilości wirionów potomnych bez objawów klinicznych i związane z tym utajone nosicielstwo jest jedną z przyczyn szybkiego rozprzestrzeniania się herpeswirusów w populacji [26, 28]. Zakażenia beta-herpeswirusami będące wynikiem reaktywacji mogą manifestować się różnymi objawami i nasileniem, są jednak największym zagrożeniem dla pacjentów poddanych immunosupresji przy transplantacji czy też osób zakażonych HIV, u których mogą powodować potencjalnie zagrażające życiu infekcje [12, 26, 56].

## 2. Zakażenia HHV-5 u pacjentów z HIV/AIDS

Jedną z najczęściej spotykanych chorób wywołanych przez herpeswirusa typu 5 u osób zakażonych HIV jest cytomegalowirusowe zapalenie spojówek, które praktycznie nie występuje w populacji o sprawnym układzie odpornościowym [14, 32, 54]. Przy braku leczenia może ono prowadzić do poważnych zaburzeń i nieprawidłowości widzenia oraz w konsekwencji do utraty wzroku [2]. Proces zapalny w obwodowych częściach spojówki może początkowo nie dawać symptomów, jednak częściej pacjentom towarzyszy znaczny ubytek obwodowego pola widzenia. Dodatkowo podczas badania oftalmologicznego widoczne są obszary białka oka o kremowo-żółtawym zabarwieniu oraz okołonaczyniowe wysięki. Zmiany wykrywane są zazwyczaj na obwodowych częściach gałki ocznej, jednak postępujące zapalenie może objąć swoim zasięgiem także obszar plamki żółtej oraz tarczę nerwu wzrokowego [2, 14]. Utrata centralnego lub obwodowego pola widzenia w przebiegu zapalenia spojówki jest związana z nekrozą spojówki bądź też może wystąpić w efekcie odwarstwienia samej spojówki [2]. Zasiedlenie komórek spojówki przez herpeswirusa typu 5 powoduje ich obumieranie, co widoczne jest w postaci wielu białych plam zawierających śródspojówkowe krwawienia. Jeśli zapalenie pozostawione zostanie bez leczenia, obszary te mają tendencję do powiększania swoich rozmiarów i zlewania się ze sobą. Kiedy spojówka przestaje być miejscem namnażania wirionów potomnych, ulega zanikowi wraz z niżej leżącymi warstwami gałki ocznej, w wyniku tego zja-

wiska naczyńiówkowe naczynia krwionośne zaczynają być bardziej dostrzegalne [2]. Odwarstwienie spojówki występuje u około 20% pacjentów z objawami zapalenia towarzyszącego infekcjom HHV-5, a ryzyko jego wystąpienia wzrasta wraz z postępem choroby. Z badań klinicznych wynika, że odwarstwienie spojówki może zależeć od wielu czynników, takich jak ilość i położenie potencjalnych ognisk, od których zaczyna się proces. Profilaktyka skierowana przeciwko cytomegalowirusowemu zapaleniu spojówek polega głównie na monitorowaniu osób z AIDS, w celu wykrycia wszelkich nieprawidłowości w strukturze i funkcjonowaniu narządu wzroku [14, 32]. Dodatkowo wykonuje się testy immunologiczne na obecność przeciwciał anty-HHV-5 lub identyfikuje wirusa na podstawie molekularnej analizy próbek płynów ustrojowych [32].

Zapalenie błony śluzowej przełyku występuje u pacjentów z AIDS jako skutek obecności herpeswirusa typu 5, wirusów opryszczki lub zakażenia *Candida albicans*. Głównym symptomem wskazującym na rozwój zapalenia są ból i kłopoty z przełykaniem, które pojawiają się u prawie 90% pacjentów [12, 47]. Owrzodzenia z charakterystycznymi wirusowymi inkluzjami i pleśniawki są obecne praktycznie u wszystkich obserwowanych osób w przebiegu zapalenia śluzówki przełyku [14]. Często schorzeniami towarzyszącymi reaktywacji HHV-5 u pacjentów o obniżonej odporności mogą być wszelkiego rodzaju nieżyty żołądka, które manifestowane są przez uciążliwe i przewlekłe bóle żołądka, dodatkowo towarzyszą im wrzody, wykrywalne podczas przebiegu badania gastroscopowego lub radiograficznego. Diagnoza może być przeprowadzona na podstawie biopsji wycinków żołądka lub technik stosowanych dla identyfikacji zakażenia HHV-5 w przebiegu zapalenia okrężnicy i błony śluzowej przełyku [12, 14]. Zapalenie okrężnicy występuje u około 5–10% pacjentów w przebiegu AIDS. Częstymi dolegliwościami towarzyszącymi schorzeniu są m.in.: biegunki, utrata wagi, bóle brzucha, gorączka. Diagnostyka polega na wykluczeniu infekcji wywołanych obecnością bakterii patogennych bytujących w układzie pokarmowym, takich jak: *Salmonella*, *Shigella* czy *Campylobacter*. Dodatkowo kolonoskopia pozwala wykryć owrzodzenia, a biopsja odcinków okrężnicy identyfikuje inne zapalenia związane z zakażeniem HHV-5 [14, 54].

Zapalenie wątroby jest obserwowane u 30% do 50% pacjentów ze stwierdzonym AIDS, u których zdiagnozowano także inne infekcje spowodowane obecnością HHV-5 [54]. Objawy kliniczne *hepatitis* o etiologii herpeswirusowej są zazwyczaj mało specyficzne: poziom alkalicznej fosfatazy jest podwyższony, jednak bilirubina pozostaje w normie, co utrudnia identyfikację choroby. Niektóre badania sugerowały wpływ herpeswirusa typu 5 na rozwój innych schorzeń

dróg żółciowych popularnie występujących podczas przebiegu AIDS [14, 50].

Podostre zapalenie mózgu jest jednym z objawów występującym podczas przebiegu zakażeń HHV-5 u pacjentów z AIDS, częściej jednak syndrom ten jest powodowany przez inwazję tkanki nerwowej przez samego wirusa nabytego niedoboru odporności [47, 50]. Gorączka, zmiany osobowości, problemy z koncentracją, bóle głowy czy senność to najczęstsze symptomy towarzyszące podostremu zapaleniu mózgu w tych przypadkach. Rozpoznanie ma miejsce na podstawie badania płynu mózgowo-rdzeniowego lub biopsji mózgu, która wskazuje na okołokomorową nekrozę tkanki nerwowej oraz uwidacznia wewnątrzjądrowe i cytoplazmatyczne wtręty wirusowe [12, 14].

### 3. Infekcje herpeswirusem typu 5 w grupie biorców przeszczepów narządów unaczynionych

Zakażenia HHV-5 po transplantacjach mogą mieć dwojakie źródła; jednym z nich jest przekazanie wirusa biorcy wraz z narządem pochodzącym od seropozytywnego dawcy lub reaktywacja endogennego wirusa pozostającego w stadium latencji. Poziom zakażeń herpeswirusem typu 5 u pacjentów po zabiegach przeszczepienia narządów unaczynionych waha się od 30% do 50%, w zależności od statusu serologicznego dawcy i biorcy oraz intensywności terapii immunosupresyjnej [27]. Pacjenci seronegatywni, zwłaszcza biorcy nerki, serca i płuc, są szczególnie narażeni na rozwój HHV-5 w okresie pooperacyjnym, bowiem u ponad 27% z nich zaobserwowano rozwój zakażenia w czasie 3–6 miesięcy [51]. Do symptomów związanych z zakażeniem tym herpeswirusem zalicza się: zapalenie wątroby, nieżyty żołądkowo-jelitowe, zapalenie płuc, leukopenię z trombocytopenią [7] oraz chorobę „przeszczep przeciw gospodarzowi” (*graft versus host disease* – GvHD) [24]. HHV-5 w tej grupie pacjentów jest także często przyczyną ostrych lub przewlekłych odrzuceń przeszczepów [24]. Prawdopodobnie jednym z czynników stymulujących proces odrzucania jest uszkodzenie śródbłonka naczyń przeszczepionego narządu, spowodowane przez aktywność limfocytów T cytotoksycznych oraz przeciwciał skierowanych przeciwko cytomegalowirusowi.

Przewlekłe odrzucanie wątroby jest schorzeniem postępującym powoli, jednak długoterminowo, utrudnia jej przetrwanie i doprowadza po wielu latach do utraty funkcji organu [22]. Kryteria diagnostyczne wskazujące na obecność tego procesu to między innymi zanik przewodu żółciowego, pyknoza jego komórek (zmiany degeneracyjne jądra komórkowego na skutek zmian w aranżacji chromatyny, prowadzące do nekrozy komórki) oraz całkowite zwłóknienie żyły wrotnej

[22]. Stwierdza się wpływ wielu czynników na stymulację procesu odrzucania: niezgodność antygenów głównego układu zgodności tkankowej (HLA), niezgodność płci dawcy i biorcy czy też brak azathioprinu w terapii immunosupresyjnej. Najczęściej jednak sugeruje się zakażenia HHV-5 jako czynnik przyczyniający się do odrzucania przeszczepów wątroby [22].

Zakażenia herpeswirusem typu 5 diagnozowane są wśród pacjentów po przeszczepach wątroby z frekwencją sięgającą 30–60%, spośród nich blisko 40% rozwija się w pierwszych trzech miesiącach po operacji [22]. W badaniach wykazano, że ekspansja HHV-5 jest skierowana do miejsc, które wykazują zmiany patologiczne charakterystyczne dla odrzucania przeszczepu. Przy wykorzystaniu technik biologii molekularnej udowodniono, iż genom wirusa był obecny we wszystkich nowo przeszczepionych wątrobach, a jego silną ekspresję obserwowano także w komórkach przewodu żółciowego oraz, komórkach śródbłonka naczyń. Wydaje się to potwierdzać bliski związek pomiędzy zakażeniami HHV-5 i przewlekłym odrzuceniem allogenicznych przeszczepów wątroby, jednak jest to kwestia wciąż budząca wiele kontrowersji i wymagająca dalszych szczegółowych badań.

#### 4. Występowanie HHV-6 oraz HHV-7 po przeszczepieniach narządów unaczynionych

Ze względu na szerokie rozpowszechnienie HHV-6 oraz HHV-7 w populacji na całym świecie, niezwykle istotne jest określenie czy transmisja wirusa nastąpiła wraz z przeszczepianym narządem, czy też patogen był obecny u biorcy już wcześniej jako zakażenie pierwotne [66]. Przeważająca część zakażeń potransplantacyjnych herpeswirusem typu 6 uważana jest za wynik jego reaktywacji, a pierwotne infekcje po przeszczepach dotyczą głównie pacjentów pediatrycznych do drugiego roku życia [1, 21]. Szacuje się, że pierwotne zakażenia dotyczą około 90% dzieci w tym przedziale wiekowym, tak więc ta grupa pacjentów objęta jest ryzykiem ostrych odrzuceń przeszczepów oraz wyższej niż w przypadku osób dorosłych śmiertelności pooperacyjnej, będącej wynikiem pierwszego kontaktu z HHV-6 [21]. W badaniach przeprowadzonych wśród seronegatywnych biorców wątroby, jednoznacznie wykazano że u 61–100% z nich wystąpiły objawy zakażenia [40], co sugeruje na wysoką częstość transmisji wirusa wraz z materiałem pochodzącym od dawcy. Podobnie aktywne powikłania pooperacyjne, będące wynikiem obecności HHV-6 wykazano u 38–55% biorców nerki, 36% biorców serca oraz u 57% biorców serca i płuc [40].

Objawy towarzyszące zakażeniu herpeswirusem typu 6 występują dużo wcześniej w porównaniu do

wywołanych przez HHV-5. Jest zjawisko niezwykle charakterystyczne dla HHV-6 i daje tym samym potencjalną możliwość jego łatwej identyfikacji [40], wymagającej jednak potwierdzenia laboratoryjnego. Typowe symptomy pojawiają się w 2–4 tygodnie po operacji [30, 40, 66], gdy poziom zastosowanej immunosupresji jest najwyższy [1]. Przy wykorzystaniu technik biologii molekularnej udowodniono obecność DNA HHV-6 w 67% przypadków już po 14 dniach po przeszczepieniu [40], podczas gdy dla herpeswirusa typu 5 czas ten wynosił 36 dni [24]. Manifestacje kliniczne zakażeń HHV-6 przejawiają się najczęściej w formie odrzucania przeszczepu, gorączki neutropenicznej połączonej z wysypką, jak również panleukopenii czy zwiększona podatność na oportunistyczne infekcje grzybicze [1].

Ponieważ betaherpeswirusy wykazują umiarkowany neutrotropizm, DNA HHV-6 można także wykryć w płynie mózgowo-rdzeniowym a sam wirus stwierdzany jest jako czynnik etiologiczny zapalenia mózgu [40]. Pacjenci po przeszczepieniu wątroby, w 15% przypadków wykazywali zaburzenia neurologiczne niewiadomego pochodzenia w postaci splątania, utraty przytomności czy napadów senności [1, 40]. Także zjawisko pleocytozy u pacjentów z potransplantacyjnym zapaleniem mózgu i jej związek z aktywacją HHV-6 jest nieudokumentowany, a sam mechanizm patogenezы w obrębie centralnego układu nerwowego w tym przypadku jest niejasny.

Udział herpeswirusa typu 7 w patogenezы zakażeń potransplantacyjnych jest wciąż mało poznany [33, 42]. Zarówno u pacjentów dorosłych, jak i pediatrycznych, brak wyraźnych danych sugerujących rolę HHV-7 jako jedyne, głównego czynnika biorącego udział w odrzuceniach przeszczepów czy powodowaniu innych charakterystycznych objawów [21, 30]. Przeważnie opisuje się występowanie herpeswirusów 6 i 7 w skojarzeniu ze sobą, ze względu na ich bliskie pokrewieństwo i interakcje między nimi w warunkach *in vitro* i *in vivo* [21, 24]. Sugerowany jest także udział HHV-7 w reaktywacji pozostałych  $\beta$ -herpeswirusów ze stanu latencji [21, 66]. Stwierdzono bowiem, że interakcje pomiędzy HHV-5 i HHV-7 u pacjentów przed i po przeszczepach nerek są związane z progresją choroby cytomegalowirusowej. Poddając diagnostyce osoby przed przeszczepem nerki, metodami molekularnymi wykazano współobecność HHV-5 i HHV-7 u ponad 50% pacjentów, podczas gdy zakażenia jedynym tylko betaherpeswirusem wynosiły odpowiednio 26% (HHV-5) i 12% (HHV-7) [42]. Po zabiegu transplantacji proporcje procentowe pozostały zbliżone, jednak zakażenia HHV-5 dające widoczne objawy zostały zdiagnozowane dwa razy częściej u osób zakażonych dwoma rodzajami herpeswirusa, niż tylko jedynym z nich. Ponad 81% osób wykazywało obecność

Tabela I

Występowanie zakażeń o etiologii HHV-5 u różnych grup pacjentów z niedoborami odporności [wg 20, 24]

Objawy kliniczne	Biorcy komórek krwiotwórczych	Biorcy narządów unaczynionych	Pacjenci z HIV/AIDS
Gorączka	++	++	+
Zapalenie wątroby	+	+	+
Komplikacje żołądkowo-jelitowe	+	+	+
Zapalenie siatkówki	+	+	+++
Zapalenie płuc	+	+++	–
Mielosupresja	–	++	–
Odrzucenie przeszczepu/GvHD	++	+	–

DNA obu wirusów przed przeszczepieniem, co świadczy o tym, że współwystępowanie HHV-5 i HHV-7 zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia aktywnej choroby cytomegalowirusowej [42].

### 5. Zakażenia herpeswirusem typu 5 u biorców komórek krwiotwórczych

Ze względu na niezwykle szerokie rozpowszechnienie w populacji na całym świecie zakażenia herpeswirusem typu 5 wciąż pozostają jedną z najbardziej znaczących przyczyn zachorowań i śmiertelności u pacjentów po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych [18, 27, 37, 51, 60]. Ryzyko wystąpienia pełnoobjawowej choroby cytomegalowirusowej zależne jest od statusu immunologicznego dawcy i biorcy, rodzaju przeszczepu oraz typu zastosowanej immunosupresji. Wymusza to konieczność stosowania odpowiedniej profilaktyki antywirusowej przynajmniej przez 3 miesiące po zabiegu, by nie dopuścić do reaktywacji wirusa [24, 60]. W wielu przypadkach jednak stosowana terapia nie eliminuje ryzyka wystąpienia HHV-5, lecz zmienia tylko jego cykl replikacji i opóźnia wystąpienie choroby [51].

W licznych badaniach wykazano, że DNA herpeswirusa typu 5 zostało wykryte w 15–70% przypadków po zabiegu allogenicznego przeszczepienia komórek krwiotwórczych [44]. Średni czas, po którym zanotowano ujawnienie się infekcji o etiologii HHV-5 wynosił 42 dni [15, 37], a więc dużo później niż pozostałych betaherpeswirusów [17, 64]. Niektórzy autorzy opisują również fakt częstszego współwystępowania HHV-5 u pacjentów z wysokim poziomem wiremii herpeswirusa typu 6 [37] oraz 7 [6, 66].

Najczęściej obserwowaną chorobą towarzyszącą zakażeniu HHV-5 jest śródmiąższowe zapalenie płuc [27]. Notuje się je w okresie około 6 do 10 tygodni po transplantacji, a ponowne symptomy w skrajnych przypadkach mogą się pojawiać wielokrotnie [60]. Typowe objawy cytomegalowirusowego zapalenia płuc to gorączka, kaszel bez odkrztuszania, hipoksemia, przy-

spieszony oddech, obustronny śródmiąższowy naciek w płucach, a w obrazie radiologicznym zmiany o charakterze „szkła mlecznego”. Skuteczność chemioterapii zależy w dużej mierze od poziomu replikacji wirusa we krwi i spada wraz z upływem czasu od początku zakażenia [20]. Stosowana rutynowo terapia gancyklowirem, prócz swego działania mielotoksycznego, coraz częściej nie przynosi pożądanych rezultatów ze względu na rosnący odsetek szczepów HHV-5 opornych na ten lek, jednak nadal jest terapią z wyboru [52]. Niestety, pomimo stosowanej profilaktyki oraz leczenia wyprzedzającego (*pre-emptive therapy*), śmiertelność w tej grupie pacjentów jest duża i wynosi powyżej 50%. Zakażenie HHV-5 jest także czynnikiem zwiększającym ryzyko wtórnych zakażeń bakteryjnych i grzybiczych oraz nasilenie choroby „przeszczep przeciwko gospodarzowi” [24]. Znacznie rzadziej spotyka się przypadki innych schorzeń, jak: owrzodzeń żołądkowo-jelitowych, zapaleń wątroby czy zahamowania czynności szpiku kostnego [60].

### 6. Choroby o etiologii HHV-6 i HHV-7 występujące u pacjentów poddanych przeszczepieniu komórek krwiotwórczych

Wysoka częstość wykrywania DNA herpeswirusa typu 6 u pacjentów po przeszczepieniach komórek krwiotwórczych związana jest, podobnie jak w przypadku innych rodzajów transplantacji, z terapią immunosupresyjną i chwilowym nabytym niedoborem odporności, co sprzyja przerwaniu latencji i ponownemu ujawnieniu się wirusa [69, 70]. Ponadto przyjmuje się istnienie kilku kluczowych czynników szczególnie promujących rozwój HHV-6 u pacjentów w okresie okołoperacyjnym. Należą do nich między innymi: młody wiek biorcy, przeszczepy allogeniczne, niezgodność płci oraz w zakresie antygenów HLA dawcy i biorcy, przyjmowanie substancji o charakterze steroidowym przez biorcę oraz zaawansowana choroba podstawowa [40, 69, 70].

Tabela II  
Objawy kliniczne towarzyszące zakażeniom HHV-6 u osób  
poddanych transplantacjom [wg 66]

Objawy kliniczne	Biorcy narządów unaczynionych	Biorcy komórek krwiotwórczych
Zapalenie płuc	+	++
Zapalenie mózgu	+	+
Mielosupresja	-	++
Niewydolność narządu	brak danych	+
Wysypka skórna	++	+
GvHD	brak danych	+
Gorączka	+	+
Odrzucenie przeszczepu	+	brak danych
Zapalenie wątroby	+	-
Koinfekcje HHV-5	+	++
Zakażenia grzybicze	++	-

Infekcje z udziałem herpeswirusa 6 dotyczą 38–60% biorców komórek krwiotwórczych [17, 23], a szczyt wirerii występuje zazwyczaj w ciągu pierwszych 4–6 tygodni po zabiegu [70]. Zazwyczaj pierwsze pozytywne wyniki testów biologii molekularnej, świadczące o obecności DNA HHV-6 obserwowane są po 19–25 dniach, zaś dla HHV-7 po 15–20 dniu [5, 17]. W chwili obecnej reaktywacje zakażenia herpeswirusem typu 6 zostały powiązane z wieloma jednostkami chorobowymi, począwszy od stanów gorączkowych, poprzez neuroinfekcje [57] do chorób limfoproliferacyjnych włącznie [13, 70]. Występowanie HHV-6 oraz HHV-7 wcześniej niż zakażeń o etiologii HHV-5 (6–12 tygodni po zabiegu), sugeruje interakcje pomiędzy betaherpeswirusami w tej grupie chorych [23]. Obecność HHV-7 jest potencjalnym czynnikiem ułatwiającym reaktywację latentnego herpeswirusa typu 5, natomiast dokładne związki pomiędzy HHV-6 i HHV-7 wciąż pozostają niewyjaśnione. W badaniach *in vitro* wykazano bowiem udział HHV-7 jako czynnika przerywającego latencję HHV-6, jednak zależności tej nie udowodniono w pełni w warunkach *in vivo* [5].

## 7. Diagnostyka zakażeń betaherpeswirusami

Ze względu na fakt, iż  $\beta$ -herpeswirusy są potencjalnie niebezpiecznymi patogenami dla osób z niedoborami immunologicznymi, konieczne stało się opracowanie szybkich i wiarygodnych technik diagnostycznych pozwalających wykryć patogen w badanym materiale biologicznym. W diagnostyce stosuje się m.in.: detekcję wirusa w hodowli komórkowej, badania serologiczne, czy wykrywanie kwasów nukleinowych w oparciu o techniki biologii molekularnej.

Klasyczną metodą wykrywania HHV-5, jest izolacja wirusa w hodowlach komórkowych (najczęściej

ludzkich fibroblastów). Wadą techniki jest długi okres oczekiwania na charakterystyczny efekt cytopatyczny, który pojawia się w hodowli komórkowej po upływie ok. 1–3 tygodni od momentu zakażenia [31]. Co więcej szybkość pojawienia się CPE, zależy od liczby cząstek wirusa zakażającego hodowlę komórkową [4]. Alternatywą dla powyższej metody jest technika „shell vial” [31]. Zastosowanie wyznakowanych przeciwciał monoklonalnych oraz etapu wirowania pozwala uzyskać wynik dla produktywnego wirusowego zakażenia już po 16 godzinach inkubacji [31], co czyni tą technikę szybszą i bardziej czułą niż metoda klasycznej izolacji HHV-5 w hodowlach komórkowych. Wadami obu przytoczonych powyżej metod jest czas potrzebny na wykonanie badania, a także konieczność wykonania badania natychmiast po pobraniu materiału klinicznego, gdyż dłuższe przechowywanie izolowanych od pacjentów próbek, wiąże się ze spadkiem czułości obu metod. Również uprzednio zastosowane leczenie farmakologiczne może fałszować wyniki [31, 55].

Do używanych obecnie metod serologicznych zalicza się testy ELISA, umożliwiające określenia miana przeciwciał antywirusowych w klasach IgM i IgG [26]. Podstawowym badaniem jest stwierdzenie obecności i poziomu przeciwciał klasy IgM, które choć są wskaźnikiem świeżo przebytej infekcji wirusowej, nie umożliwiają rozróżnienia zakażenia pierwotnego od reaktywacji ze stanu latencji. Przeciwciała klasy IgG ze względu na rozpowszechnienie  $\beta$ -herpesvirinae w populacji mają mniejszą wartość diagnostyczną i przydatne są głównie do określania odpowiedzi immunologicznej u pacjentów narażonych na wystąpienie ciężkich postaci zakażeń. Większą czułość i specyficzność mają testy opierające się na wykrywaniu antygenów w leukocytach krwi obwodowej za pomocą wyznakowanych przeciwciał monoklonalnych rozpoznających wczesny antygen HHV-5 – fosfoproteinę **pp65** [46, 67]. Technika ta nie wymaga skomplikowanej aparatury i pozwala uzyskać wyniki już po 5 godzinach od momentu rozpoczęcia wykonywania badania [31]. Do jej poważnych wad należy zaliczyć subiektywność oceny wyników, a także trudności w odczycie u pacjentów po przeszczepie szpiku i komórek macierzystych, co wiąże się z ograniczoną liczbą granulocytów [45].

Ze względu na różnorakie ograniczenia w badaniach serologicznych czy izolacji betaherpeswirusów w hodowlach komórkowych, konieczne stało się wdrożenie do diagnostyki technik biologii molekularnej, takich jak PCR, która umożliwia wykrywanie obecności patogenów w organizmie pacjenta już na początkowych etapach zakażenia oraz pozwalają uzyskać jednoznaczny wynik [16, 31, 67]. Zagnieżdżona PCR (*nested PCR*, *nPCR*), jest modyfikacją klasycznej reakcji PCR, w której namnażany jest krótszy fragment uprzednio powielonego odcinka. Technika jest rzadko

stosowana ze względu na zbyt duży odsetek wyników fałszywie dodatnich [31, 45, 48].

Określenie w sposób ilościowy poziomu wiremii stało się możliwe dzięki zastosowaniu reakcji PCR połączonej z jednoczesną analizą przyrostu ilości produktu w czasie rzeczywistym (*real-time* PCR, qPCR) [16]. Określenie ilości kopii genomu wirusa w badanej próbce pozwala na monitorowanie przebiegu zakażenia, a także na zastosowanie odpowiedniej terapii przeciwwirusowej u pacjentów narażonych na zakażenie pierwotne czy reaktywację wirusa ze stanu latencji [34]. Metoda ta odznacza się wyższą czułością niż tradycyjna reakcja łańcuchowej polimeryzacji [16, 45]; można ją także z powodzeniem stosować w przypadku dłużej przechowywanego materiału biologicznego (próbek surowicy krwi), co stanowi poważne utrudnienie w przypadku badań serologicznych [34, 45]. Dodatkowo na korzyść qPCR przemawia możliwość zautomatyzowania procedury i znacznego obniżenia kosztów analizy próbek.

## 8. Terapia zakażeń spowodowanych przez $\beta$ -herpeswirusy

Określone wytyczne profilaktyki i leczenia zakażeń opracowano dotychczas wyłącznie dla pacjentów poddawanych transplantacjom komórek krwiotwórczych a zakażonych herpeswirusem typu 5 [24, 37, 38]. Dla pozostałych betaherpeswirusów (HHV-6 i HHV-7) nie ma ustalonych metod postępowania – w literaturze dominują opisy pojedynczych przypadków lub wyniki leczenia małych grup chorych [36, 40, 68]. Podobnie brak jest jednoznacznych zaleceń dotyczących terapii pacjentów poddanych przeszczepieniu narządów unaczynionych.

Ostatnie opublikowane rekomendacje zgodnie z zasadami medycyny opartej na faktach dotyczące diagnostyki, profilaktyki i leczenia zakażenia i choroby cytomegalowirusowej zostały przygotowane przez grupę roboczą zajmującą się powikłaniami infekcyjnymi

po transplantacjach komórek krwiotwórczych (EBMT Infectious Diseases Working Party) w 2004 r. [38]. Zgodnie z nimi po allogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych (HSCT) każdy pacjent powinien otrzymywać profilaktycznie leki przeciwwirusowe [10, 37–39]. Acyklowir lub walacyklowir są uznanymi preparatami w profilaktyce zakażenia czy rozwoju choroby cytomegalowirusowej, ale tylko w połączeniu ze strategią leczenia wyprzedzającego (*pre-emptive therapy*) (zalecenie **AI**) [25, 38, 59]. Stosowanie dożylnych preparatów gancyklowiru jest także skuteczną metodą profilaktyki zakażenia HHV-5, ale powinno być zarezerwowane dla pacjentów z grup wysokiego ryzyka (zalecenie **AI**) [38]. Walgancyklowir – prolek gancyklowiru – wykazuje podobną skuteczność, ale ze względu na brak wystarczających badań jego rola w profilaktyce wymaga jeszcze ustalenia (zalecenie **CIII**) [38]. Ostatnio również ukazały się bardzo zachęcające wyniki wielośrodkowego badania stosowania maribawiru w profilaktyce zakażenia herpeswirusem typu 5 u pacjentów po allogenicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych [65].

Podstawową zasadą zapobiegania zakażeniom HHV-5 po transplantacjach allogenicznych jest obowiązkowe monitorowanie poziomu wiremii we krwi obwodowej, co najmniej raz w tygodniu – metodą badania antygeny **pp65** lub wirusowego DNA metodą PCR (zalecenie **AI**) [10, 38]. To monitorowanie powinno być prowadzone przynajmniej do 100 dni po transplantacji (zalecenie **AI**), dłużej zaś w przypadku wcześniejszych reaktywacji lub choroby „przeszczep przeciwko gospodarzowi”, co wiąże się z przedłużoną immunosupresją (zalecenie **BII**) [10, 38]. W leczeniu wyprzedzającym, trwającym minimum 2 tygodnie, zarówno dożylny gancyklowir, jak i foscarnet, mogą być stosowane w I linii (zalecenie **AI**) – wybór zależy od ryzyka toksyczności u konkretnego pacjenta oraz tego, który preparat był stosowany uprzednio [38, 52]. Cidofowir może być rozważany jako leczenie II linii (zalecenie **BII**) [10, 38]. Pojawiają się także doniesienia, że walgancyklowir w leczeniu wyprzedzającym zakażenia herpeswirusem typu 5 u pacjentów po HSCT wykazuje wysoką skuteczność, wymaga natomiast ścisłej kontroli ewentualnych działań niepożądanych i toksyczności [3, 19, 38, 62]. W leczeniu aktywnej choroby cytomegalowirusowej w I linii zaleca się dożylny gancyklowir lub foscarnet (zalecenie **BII**), za wyjątkiem zapalenia płuc o etiologii HHV-5, w którym jako leczenie I linii zaleca się terapię skojarzoną dożylnym gancyklowirem i dożylnymi preparatami immunoglobulin – IVIG (zalecenie **BII**) [10, 38]. W leczeniu II linii choroby cytomegalowirusowej zaleca się cidofowir lub terapię skojarzoną dożylnym gancyklowirem z foscarnetem (zalecenie **BII**) [35, 38]. Leczenie zakażenia HHV-5 powinno trwać: 21–28 dni terapii

Tabela III

Stopnie określające jakość dowodów medycznych i kategorie wskazujące siłę rekomendacji (EBM – evidence based medicine)

Rodzaj badania	Siła rekomendacji
<b>I</b> – $\geq 1$ kontrolowane badanie randomizowane	<b>A</b> – mocne dowody
<b>II</b> – $\geq 1$ dobre badanie bez randomizacji, wielośrodkowe, duża liczebność grup	<b>B</b> – umiarkowane dowody
<b>III</b> – badania opisowe, raporty zespołów ekspertów	<b>C</b> – słabe dowody
	<b>D</b> – umiarkowane dowody przeciw zastosowaniu leku czy danej strategii
	<b>E</b> – znaczące dowody przeciw zastosowaniu leku

indukcyjnej z następującą po niej terapią podtrzymującą, trwającą 4 tygodnie [38]. Nadal w fazie badań jest stosowanie adaptacyjnej immunoterapii, polegającej na wykorzystaniu swoistych dla herpeswirusa typu 5 limfocytów T dawcy [38]. W opublikowanych dotychczas rekomendacjach nie zamieszczono preparatu immunoglobuliny ludzkiej przeciw herpeswirusowi typu 5, która jest zarejestrowana do profilaktyki i leczenia zakażeń HHV-5 u biorców przeszczepów narządowych. W praktyce klinicznej lek ten był stosowany wspomagająco w leczeniu cytomegalowirusowego zapalenia płuc.

W przypadku reaktywacji pozostałych betaherpeswirusów u pacjentów po przeszczepieniach dotychczas nie opracowano żadnych wytycznych. Wśród rekomendowanych badań serologicznych dawcy i biorecy przed allotransplantacją nie ma zaleceń dotyczących HHV-6 czy HHV-7 [41]. W literaturze pojawiają się jedynie doniesienia o leczeniu choroby spowodowanej zakażeniem herpeswirusem typu 6 u biorców przeszczepów – zwłaszcza potwierdzonych neuroinfekcji [49]. Wszystkie podstawowe leki stosowane w przypadku zakażenia HHV-5, tzn.: gancyklowir, foskarnet oraz cidofovir, mają udokumentowaną skuteczność *in vitro* przeciw HHV-6 [49, 68] i stosuje się je w analogicznych dawkach.

## 9. Podsumowanie

Zakażenia betaherpeswirusami u ludzi z upośledzonym układem immunologicznym występują bardzo często i stanowią poważny problemem terapeutyczny. Ich obecność w większości przypadków nie daje jednoznacznych objawów klinicznych, dlatego jedynym miarodajnym sposobem ich identyfikacji są techniki biologii molekularnej. U pacjentów w przebiegu AIDS, najczęściej diagnozuje się zapalenie siatkówki i jej odwarstwienie o etiologii HHV-5. Osoby po transplantacji narządów unaczynionych narażone są na odrzucenie przeszczepu, upośledzenie funkcji organu lub ostrą postać choroby „przeszczep przeciwko gospodarzowi”. Biorecy komórek krwiotwórczych stanowią natomiast grupę pacjentów niezwykle zagrożonych cytomegalowirusowym zapaleniem płuc. W zależności od rodzaju przeszczepu, obserwujemy inny rodzaj powikłań w okresie okołoperacyjnym.

Tradycyjne metody wirusologiczne, polegające na obserwacji objawów klinicznych i izolacji wirusów zawodzi w przypadku pacjentów z niedoborami odporności. Z podobnego powodu mało skuteczne są konwencjonalne testy serologiczne. Odpowiednią czułość i specyficzność zapewniają wyłącznie techniki biologii molekularnej, dziś rutynowo stosowane w monitorowaniu zakażeń osób po przeszczepieniach czy w prze-

biegu AIDS. Stosując ilościowe badanie metodą real-time PCR możemy oprócz identyfikacji wirusowego materiału genetycznego obserwować zmiany jego ilości w czasie trwania infekcji. Umożliwia to kontrolę skuteczności leczenia przeciwwirusowego. Zależy ona w dużej mierze od poziomu replikacji wirusa we krwi i spada wraz z upływem czasu od początku zakażenia [20, 52]. Większość wykorzystywanych w terapii przeciwwirusowej preparatów jest toksyczna dla organizmu i wywołuje liczne działania niepożądane. Istotne jest więc jak najszybsze ograniczenie podawanych dawek w miarę spadku liczby wykrywanych kopii wirusa [52]. Kolejnym problemem jest lekooporność wybranych szczepów wirusów, która pojawia się na skutek mutacji w niektórych strategicznych genach wirusowych lub w wyniku stosowania długotrwałej terapii. Dodatkowym utrudnieniem jest fakt, iż używane rutynowo leki nie działają na betaherpeswirusy w formie latentnej [59].

## Piśmiennictwo

1. Abdel Massih R.C., Razonable R.R.: Human herpesvirus 6 infections after liver transplantation. *World J. Gastroenterol.* **15**, 2561–2569 (2009)
2. Au Eong K.G., Beatty S., Charles S.J.: Cytomegalovirus retinitis in patients with acquired immune deficiency syndrome. *Postgrad. Med. J.* **75**, 585–590 (1999)
3. Ayala E., Greene J., Sandin R., Perkins J., Field T., Tate C., Fields K.K., Goldstein S.: Valganciclovir is safe and effective as pre-emptive therapy for CMV infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* **37**, 851–856 (2006)
4. Boeckh M., Boivin G.: Quantitation of cytomegalovirus-methodologic aspects and clinical application. *Clin. Microbiol.* **11**, 533–554 (1998)
5. Boutolleau D., Fernandez C., André E., Imbert-Marcille B.M., Milpied N., Agut H., Gautheret-Dejean A.: Human Herpesvirus (HHV)-6 and HHV-7: Two closely related viruses with different infection profiles in stem cell transplantation recipients. *J. Infect. Dis.* **187**, 179–186 (2003)
6. Chan P.K.S., Peiris J.S.M., Yuen K.Y., Liang R.H.S., Lau Y.L., Chen F.E., Lo S.K., Cheung C.Y., Chan T.K., Ng M.H.: Human herpesvirus-6 and human herpesvirus-7 infections in bone marrow transplant recipients. *J. Med. Virol.* **53**, 295–305 (1997)
7. Chapenko S., Tomsone V., Amerika D., Rozentals R., Murovska M.: Co-infection of two  $\beta$ -herpesviruses (CMV and HHV-7) as an increased risk factor for “CMV disease” in patients undergoing renal transplantation. *Clin. Transplant.* **14**, 486–492 (2000)
8. Chuch A., Chan A.T., Zawar V.: Is human herpesvirus 7 the causative agent of pityriasis rosea? – a critical review. *International J. Dermatol.* **43**, 870–875 (2004)
9. Colugnati F.A.B., Staras S., Dollard S., Cannon M.J.: Incidence of cytomegalovirus infection among the general population and pregnant women in the United States. *BMC Infect. Dis.* **771**, 1186–1471 (2007)

10. Cordonnier C.: Infections after HSCT, (w) Haematopoietic Stem Cell Transplantation: the EBMT Handbook. Red. J. Apperley, Forum Service Editore, Genoa, 2004, 147–161.
11. Davison A., Eberle R., Hayward G.S.: Herpesviruses, (w) Virus taxonomy-classification and nomenclature of viruses. VIIIth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Red. C.M. Fauquet, M.A. Mayo, J. Maniloff, Elsevier Academic Press, San Diego 2005, 193–212.
12. Deayton J.R., Sabin C.A., Johnson M.A., Emery V.C., Wilson P., Griffiths P.D.: Importance of cytomegalovirus viraemia in risk of disease progression and death in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Lancet*, **363**, 2116–2121 (2004)
13. De Bolle L., Naesens L., De Clercq E.: Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features and therapy. *Clin. Microbiol. Rev.* **18**, 217–245 (2005)
14. Drew W.L.: Nonpulmonary manifestation of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Clin. Microbiol. Rev.* **5**, 204–210 (1992)
15. Dzieciatkowski T., Przybylski M., Torosian T., Sulowska A., Łuczak M.: Zakażenia cytomegalowirusem (HHV-5, CMV) u biorców allogeniczných przeszczepów komórek krwiotwórczych w Klinice Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Warszawie w latach 2004–2006. *Acta Haemat. Pol.* **38**, 317–322 (2007)
16. Dzieciatkowski T., Przybylski M., Tomaszewska A., Rokicka M., Łuczak M.: Comparison of two methods used for monitoring low-copy cytomegalovirus infection in a patient with chronic myeloid leukemia after unrelated umbilical cord blood transplantation. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* **55**, 199–203 (2007)
17. Dzieciatkowski T., Przybylski M., Torosian T., Tomaszewska A., Łuczak M.: Prevalence of human herpesvirus 6 antibodies and DNA in allogeneic stem cell transplant patients: two-year single centre experience. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* **56**, 201–206 (2008)
18. Eckle T., Prix L., Jahn G., Klingebiel T., Handgreitinger R., Selle B., Hamprecht K.: Drug resistant human cytomegalovirus infection in children after allogeneic stem cell transplantation may have different clinical outcomes. *Blood*, **96**, 3286–3289 (2000)
19. Einsele H., Reusser P., Bornhäuser M., Kalhs P., Ehninger G., Hebart H., Chalandon Y., Kröger N., Hertenstein B., Rohde F.: Oral valganciclovir leads to higher exposure to ganciclovir than intravenous ganciclovir in patients following allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, **107**, 3002–3008 (2006)
20. Emery V.C.: Investigation of CMV disease in immunocompromised patients. *J. Clin. Pathol.* **54**, 84–88 (2001)
21. Feldstein A.E., Razonable R.R., Boyce T.G., Freese D.K., El-Youssef M., Perrault J., Paya C.V., Ishitani M.B.: Prevalence and clinical significance of human herpesvirus 6 and 7 active infection in pediatric liver transplant patients. *Pediatr. Transplant.* **7**, 125–129 (2003)
22. Gao L-H., Zheng S-S.: Cytomegalovirus and chronic allograft rejection in liver transplantation. *World J. Gastroenterol.* **13**, 1865–1861 (2004)
23. Gentile G.: Post-transplant HHV-6 diseases. *Herpes*, **7**, 24–27 (2000)
24. Griffiths P.D., Clark D.A., Emery V.C.: Betaherpesviruses in transplants recipients. *J. Microbiol. Chem.* **45**, 29–34 (2000)
25. Griffiths P.D.: Tomorrow's challenges for herpesvirus management: potential applications of valganciclovir. *J. Infect. Dis.* **186**, S131–S137 (2002)
26. Griffiths P.D., Walter S.: Cytomegalovirus. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **18**, 241–245 (2005)
27. Hebart H., Jahn G., Sinzger C., Kanz L., Einsele H.: CMV infection in bone marrow and solid organ transplant patients in the era of antiviral prophylaxis. *Herpes*, **1**, 13–16 (2003)
28. Ho M.: The history of cytomegalovirus and its disease. *Med. Microbiol. Immunol.* **4**, 256–265 (2007)
29. Howard L., Wallace I., Natelson B., William G., Hay J.: Activation of human herpesviruses 6 and 7 in patients with chronic fatigue syndrome. *J. Clin. Virol.* **37**, 47–51 (2006)
30. Ihira M., Yoshikawa T., Suzuki K., Ohashi M., Suga S., Asonuma K., Tanaka K., Asano Y.: Correlation between human herpesvirus 6 and 7 infections after living related liver transplantation. *Microbiol. Immunol.* **45**, 225–232 (2001)
31. Kaczmarek A., Mikołajczyk D., Budzyńska A., Gierlotka K., Gospodarek E.: Diagnostyka i leczenie zakażeń wirusem cytomegalii. *Post. Mikrobiol.* **44**, 341–349 (2005)
32. Kedhar S.R., Jabs D.A.: Cytomegalovirus retinitis in the era of highly active antiretroviral therapy. *Herpes*, **14**, 66–71 (2007)
33. Lehto J.T., Halme M., Tukiainen P., Harjula A., Sipponen J., Lautenschlager I.: Human herpesvirus -6 and -7 after lung and heart-lung transplantation. *J. Heart Lung Transplant.* **26**, 41–47 (2007)
34. Leruez-Ville M., Ouchee M., Delarue R., Sauget A.S., Blanche S., Buzyn A., Rouzioux C.: Monitoring cytomegalovirus infection in adult and pediatric bone marrow transplant recipients by a real-time PCR assay performed with blood plasma. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 2040–2046 (2003)
35. Ljungman P., Deliliers G.L., Platzbecker U., Matthes-Martin S., Bacigalupo A., Einsele H., Ullmann J., Musso M., Trenchel R., Ribaud P., Bornhäuser M., Cesaro S., Crooks B., Dekker A., Gratecos N., Klingebiel T., Tagliaferri E., Ullmann A.J., Wacker P., Cordonnier C.: Cidofovir for cytomegalovirus infection and disease in allogeneic stem cell transplant recipients. *Blood*, **97**, 388–392 (2001)
36. Ljungman P.: b-herpesvirus challenges in the transplant recipient. *J. Infect. Dis.* **186**, S99–S109 (2002)
37. Ljungman P., Griffiths P., Paya C.: Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. *Clin. Infect. Dis.* **34**, 1094–1097 (2002)
38. Ljungman P., Reusser P., de la Camara R., Einsele H., Engelhard D., Ribaud P., Ward K.: Management of CMV infections: recommendations from the infectious diseases working party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant.* **33**, 1075–1081 (2004)
39. Ljungman P., Perez-Bercoff L., Jonsson J., Avetisyan G., Sparrelid E., Aschan J., Barkholt L., Larsson K., Winiarski J., Yun Z., Ringdén O.: Risk factors for the development of cytomegalovirus disease after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica*, **91**, 78–83 (2006)
40. Ljungman P., Singh N.: Human herpesvirus – 6 infection in solid organ and stem cell transplant recipients. *J. Clin. Virol.* **37**, S87–S91 (2006)
41. Ljungman P.: Risk assessment in haematopoietic stem cell transplantation: Viral status. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* **20**, 209–217 (2007)
42. Mendez J.C., Dockrell D.H., Espy M.J., Smith T.F., Wilson J.A., Harmsen W.S., Ilstrup D., Paya C.V.: Human beta-herpesvirus interactions in solid organ transplant recipients. *J. Infect. Dis.* **183**, 179–184 (2001)
43. Mocarski E.S.: Cytomegalovirus and their replication, (w) Fields Virology. Red. B.N. Fields, P.M. Knipe, Academic Press, Philadelphia 1996, 2447–2493.

44. Ng A.P., Worth L., Chen L., Seymour J.F., Prince H.M., Slavin M., Thursky K.: Cytomegalovirus DNAemia and disease: incidence, natural history and management in settings other than allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica*, **90**, 1672–1679 (2005)
45. Nitsche A., Oswald O., Steuer N., Schetelig J.: Quantitative real-time PCR compared with pp65 antigen detection for cytomegalovirus. *Clin. Chem.* **49**, 1683–1685 (2003)
46. Ohlin M., Platcher B., Sundqvist V.-A., Steenbakkers P.G.A., Middeldrop J.M., Borrebaeck C.A.K.: Human antibody reactivity against the lower matrix protein (pp65) produced by cytomegalovirus. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* **2**, 325–129 (1995)
47. Ong E.L.: Common AIDS-associated opportunistic infections. *Clin. Med.* **8**, 539–543 (2008)
48. Paradowska E., Przepiórkiewicz M., Smołuch M., Nowakowska D., Wilczyński J., Studzińska M., Leśniowski Z.J.: Wykrywanie DNA HCMV w płynie owodniowym. *Post. Mikrobiol.* **41(S1)**, 51–55 (2002)
49. Pöhlmann C., Schetelig J., Reuner U., Bornhäuser M., Illmer T., Kiani A., Ehninger G., Jacobs E., Rohayem J.: Cidofovir and Foscarnet for treatment of human herpesvirus 6 encephalitis in a neutropenic stem cell transplant recipient. *Clin. Infect. Dis.* **44**, 118–120 (2007)
50. Rafailidis P.I., Mourtzoukou E.G., Varbobitis I.C., Falagas M.E.: Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Virol. J.* **47**, 1–7 (2008)
51. Razonable R.R., Paya C.V.: Herpesvirus infections in transplant recipients: current challenges in the clinical management of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus infections. *Herpes*, **10**, 60–65 (2003)
52. Reusser P., Einsele H., Lee J., Volin L., Rovira M., Engelhard D., Finke J., Cordonnier C., Link H., Ljungman P.: Randomized multicenter trial of foscarnet versus ganciclovir for preemptive therapy of cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, **99**, 1159–1164 (2002)
53. Roizmann B., Desrosiers R.C., Fleckenstein B., Lopez C., Minson A.C., Studdert M.J.: The Family Herpesviridae: an update. *Arch. Vir.* **123**, 425–449 (1992)
54. Samuel R., Bettiker R.L., Suh B.: AIDS related opportunistic infections, going but not gone. *Arch. Pharm. Res.* **25**, 215–228 (2002)
55. Siennicka J., Litwińska B., Kańtoch M.: Metoda „shell vial” w diagnostyce zakażeń wywołanych wirusem cytomegalii. *Med. Dośw. Mikrobiol.* **50**, 293–299 (1998)
56. Sinclair J., Sissons P.: Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J. Gen. Virol.* **87**, 1763–1779 (2006)
57. Singh N., Paterson D.L.: Encephalitis caused by human herpesvirus-6 in transplant recipients: relevance of a novel neurotropic virus. *Transplantation*, **69**, 2474–2479 (2000)
58. Simon K., Dziemianko I.: Obraz kliniczny zakażeń *Herpesviridae* w stanach obniżonej odporności u chorych po przeszczepach szpiku kostnego i narządów mięszkowych, *Przegl. Epidemiol.* **58**, 289–297 (2003)
59. Squifflet J.-P., Legendre C.: The economic value of valacyclovir prophylaxis in transplantation. *J. Infect. Dis.* **186**, S116–S122 (2002)
60. Stocchi R., Ward K.N., Fanin R., Bacarani M., Apperley J.F.: Management of human cytomegalovirus infection and disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Haematologica*, **84**, 71–79 (1998)
61. Stoeckle M.Y.: The spectrum of human herpesvirus 6 infection: from roseola infantum to adult disease. *Annu. Rev. Med.* **51**, 423–430 (2000)
62. van der Heiden P.L., Kalpoe J.S., Barge R.M., Willemze R., Kroes A.C., Schippers E.F.: Oral valganciclovir as preemptive therapy has similar efficacy on cytomegalovirus DNA load reduction as intravenous ganciclovir in allogeneic stem cell transplantation recipients. *Bone Marrow Transplant.* **37**, 693–698 (2006)
63. van den Pol A.N., Mocarski E., Saederup N., Vieira J., Mejer T.J.: Cytomegalovirus cell tropism, replication and gene transfer in brain. *J. Neurosci.* **19**, 10948–10965 (1999)
64. Wang F.Z., Dahl H., Linde A., Brytting M., Ehrnst A., Ljungman P.: Lymphotropic herpesviruses in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, **88**, 3615–3620 (1996)
65. Winston D.J., Young J.A., Pullarkat V., Papanicolaou G.A., Vij R., Vance E., Alangaden G.J., Chemaly R.F., Petersen F., Chao N., Klein J., Sprague K., Villano S.A., Boeckh M.: Maribavir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus infection in allogeneic stem cell transplant recipients: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study. *Blood*, **111**, 5403–5410 (2008)
66. Yoshikawa T.: Human herpesvirus -6 and -7 infections in transplantation. *Pediatr. Transplant.* **7**, 11–17 (2003)
67. Zawilińska B., Kosz-Vnenchak M., Kopeć J., Daszkiewicz E., Rojek-Zakrzewska D.: Wykrywanie DNA i antygeny pp65 ludzkiego wirusa cytomegalii w leukocytach krwi obwodowej. *Post. Mikrobiol.* **41(S1)**, 29–33 (2002)
68. Zerr D.M., Gupta D., Huang M.L., Carter R., Corey L.: Effect of antivirals on human herpesvirus 6 replication in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin. Infect. Dis.* **34**, 309–317 (2002)
69. Zerr D.M., Corey L., Kim H.W., Huang M.L., Nguy L., Boeckh M.: Clinical outcomes of human herpesvirus 6 reactivation after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin. Infect. Dis.* **40**, 932–940 (2005)
70. Zerr D.M.: Human herpesvirus 6: a clinical update. *Herpes*, **13**, 20–24 (2006)