

Milena Dunal¹, Agnieszka Trzcińska¹, Joanna Siennicka^{1*}

¹Zakład Wirusologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny

Wpłynęło w kwietniu 2012 r.

1. Wstęp. 2. Budowa wirusa cytomegalii. 3. Replikacja CMV. 4. Latencja. 5. Patogeneza i formy kliniczne zakażenia. 6. Epidemiologia. 7. Zakażenie wrodzone CMV. 8. Diagnostyka zakażeń wrodzonych. 8.1. Oznaczenia serologiczne u matki. 8.2. Badanie płynu owodniowego. 8.3. USG. 8.4. Diagnostyka zakażenia wrodzonego u noworodka. 9. Profilaktyka i leczenie. 9.1. Szczepionka. 9.2. Bierna immunizacja. 9.3. Leki przeciwwirusowe. 9.4. Zapobieganie zakażeniom CMV. 10. Podsumowanie

Cytomegalovirus – problems due to congenital infection

Abstract: Human cytomegalovirus (CMV) is the most common cause of perinatal viral infections in the developed world and the leading cause of congenital infections. About 30–40% infected pregnant women transmit the infection to their fetus. The consequences of CMV infection on pregnant women are very diverse, however, due to their universality, are a serious public health problem. Therefore, the development of prevention in the form of an effective vaccine is one of the priorities of the World Health Organization. Until the vaccine is implemented, it seems very important to raise awareness about the risks associated with CMV infection. The epidemiology, clinical manifestations, prevention, diagnosis and treatment of CMV congenital infection are reviewed.

1. Introduction. 2. The structure of cytomegalovirus. 3. CMV replication. 4. Latency. 5. Pathogenesis and clinical forms of infection. 6. Epidemiology. 7. Congenital CMV infection. 8. Diagnosis of congenital infection. 8.1. Serological tests for mothers. 8.2. Examination of amniotic fluid. 8.3. USG. 8.4. Diagnosis of congenital infection in a newborn. 9. Prevention and treatment. 9.1. The vaccine. 9.2. Passive immunization. 9.3. Antivirals. 9.4. Prevention of CMV infection. 10. Summary

Słowa kluczowe: CMV, zakażenie wrodzone, zapobieganie, diagnostyka, leczenie

Key words: CMV, congenital infection, prevention, diagnosis, treatment

1. Wstęp

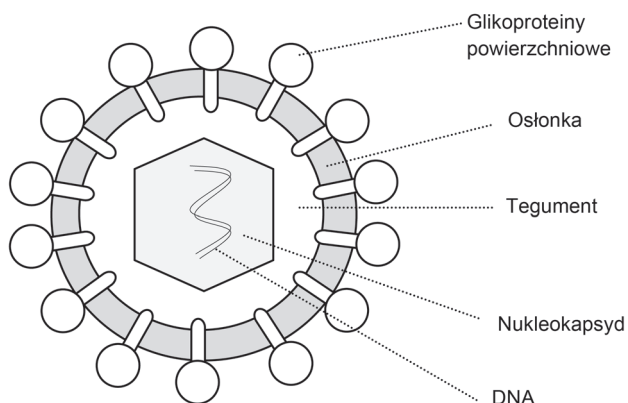
Wirus cytomegalii (CMV) jest najczęstszą przyczyną zakażeń wrodzonych u ludzi. Szacuje się, że corocznie w USA rodzi się około 40 000 zakażonych dzieci. Konsekwencje zakażenia są bardzo różne, jakkolwiek ze względu na ich powszechność, stanowią poważny problem zdrowia publicznego. Dlatego też opracowanie profilaktyki w postaci skutecznej szczepionki stanowi jeden z priorytetów Światowej Organizacji Zdrowia. Jednak do czasu opracowania takiej szczepionki jedyną formą zapobiegania transmisji CMV, szczególnie wśród kobiet w wieku prokreacyjnym, zwłaszcza w sytuacji niskiej świadomości dotyczącej możliwości zagrożenia jest edukacja. W większości krajów, w tym w Polsce, nie prowadzi się rutynowych badań w kierunku CMV u kobiet ciężarnych. Podjęcie tej decyzji argumentowane jest w sposób następujący: 1) Istnienie udokumentowanej odporności w postaci obecności przeciwciał anty-CMV IgG nie wyklucza możliwości zakażenia wrodzonego, 2) Zakażenie wewnątrzmaciczne nie zawsze prowadzi do wystąpienia zakażenia objawowego i późniejszych następstw u dziecka, 3) Nie ma ustalonego postępowania leczniczego w stosunku do płodu, 4) Badania rutynowe mogą wywoływać niepotrzebny niepokój u ciężarnej, szczególnie jeśli są wyko-

nywane bez zapewnienia odpowiedniej porady dotyczącej interpretacji wyniku, 5) Koszty badań rutynowych są wysokie i nieopłacalne w obliczu braku skutecznej interwencji terapeutycznej [69]. Wydaje się jednak, że logicznie uzasadniona decyzja o wykluczeniu z rutynowych badań oznaczeń w kierunku CMV może być jedną z przyczyn obniżenia świadomości zagrożeń jakie niesie zakażenie wirusem cytomegalii w ciąży. Znajomość aktualnych zagadnień związanych z zakażeniem CMV – replikacją wirusa, odpowiedzią immunologiczną, patogenezą, diagnostyką oraz możliwościami terapeutycznymi i profilaktycznymi, może przyczynić się do zweryfikowania stanowiska dotyczącego badań profilaktycznych mających na celu ograniczenie liczby zakażeń wrodzonych będących wynikiem zakażenia CMV.

2. Budowa wirusa cytomegalii

Gatunkowo swoisty wirus cytomegalii należy do rodziny *Herpesviridae*. Rodzina ta obejmuje trzy podrodziny, do których należy osiem patogenów człowieka: *Alphaherpesvirinae* (HSV-1, HSV-2, VZV), *Betaherpesvirinae* (CMV, HHV-6, HHV-7) i *Gammaherpesvirinae* (EBV, HHV-8). Genom wirusa cytomegalii stanowi podwójna nić liniowego DNA o długości 124–235 kbp,

* Autor korespondencyjny: Zakład Wirusologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny; 00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24; tel. (22)5421230; e-mail: jsiennicka@pzh.gov.pl



Rys. 1. Budowa cząsteczki wirusa cytomegalii

związana z kapsydem o średnicy 100–110 nm. Kapsyd zbudowany jest ze 162 podjednostek ułożonych w symetrii ikosahebralnej. Nukleokapsyd otoczony jest warstwą białek, składających się na tegument, oraz fosfolipidową osłonką, w której zakotwiczone są białka powierzchniowe tworzące wypustki [93] (Rys. 1).

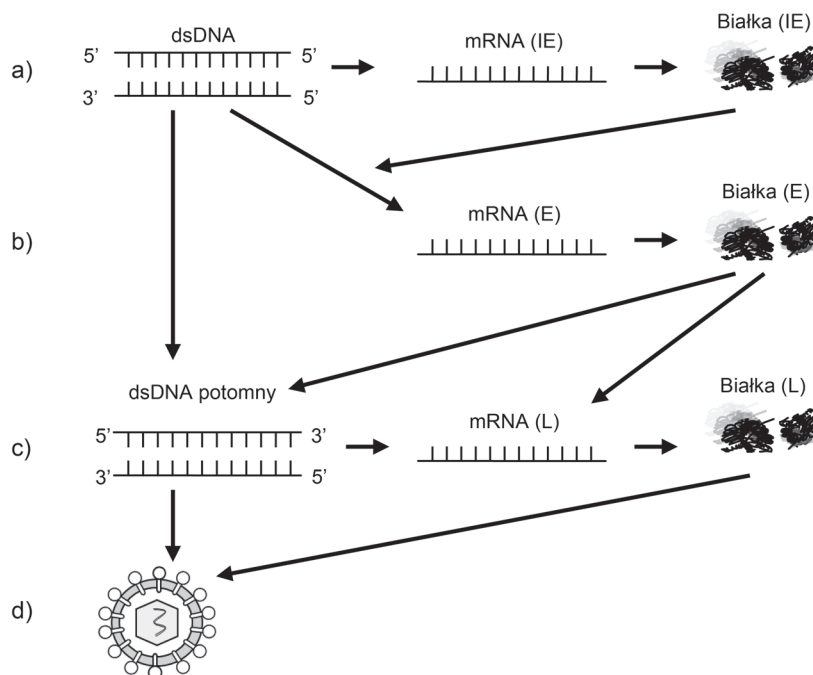
Wirus cytomegalii jest jednym z najbardziej złożonych wirusów. Możliwości kodujące genomu CMV określa się na ponad 200 białek [33]. Najistotniejszymi, z punktu widzenia reakcji odpornościowych białkami CMV, są te, których antygeny stymulują odpowiedź ze strony a) przeciwciał neutralizujących – są to glikoproteiny: B (gB, gpUL55), H (gH, gpUL75), kompleks gN-gM (gpUL73-gpUL100); b) limfocytów cytotoksycznych – pp65 (ppUL83), IE1 (ppUL123), glikoproteiny gB i gH; oraz c) limfocytów pomocniczych – pp65, IE1, glikoproteiny gB i gH [81]. Do badania zmienności szcze-

pów CMV wykorzystywany jest gen UL55 kodujący gB, dla którego wykazano istnienie czterech różnych genotypów (gB1, gB2, gB3, gB4), co ma istotne znaczenie w badaniach transmisji wirusa [19]. Poza tym, spośród wielu genów CMV na szczególną uwagę zasługują te, związane z lekoopornością – UL54 kodujący białko wczesne – pUL54 (DNA POL, p140), wirusową polimerazę oraz UL97 kodujący białko wczesne (pUL97), fosfoproteinę o aktywności kinazy, biorące udział w łączeniu kapsydów i syntezie wirusowego DNA [17].

3. Replikacja CMV

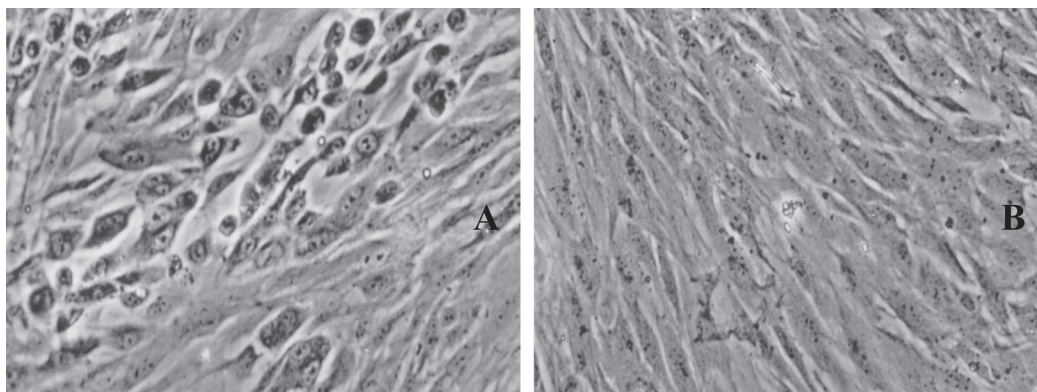
Replikacja wirusa cytomegalii przebiega według schematu typowego dla wirusów o dwuniciowym DNA (Rys. 2). CMV powszechnie uważany jest za wolno replikujący się wirus. Czas pełnego cyklu replikacyjnego wynosi około 96 godzin [38]. Proces replikacyjny rozpoczyna się przyłączeniem, fuzją a następnie penetracją do wnętrza komórki gospodarza. Dobrze poznany receptorem komórkowym biorącym udział w pierwszej fazie zakażenia jest EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) oraz, na co wskazują nowe doniesienia, PDGF (*Platelet-derived Growth Factor*) [16, 60]. Określenie, który z nich pełni kluczową rolę w procesie wnikania wirusa do komórki ma duże znaczenie dla badań związanych z opracowaniem nowych preparatów przeciwwirusowych. Najważniejszym wirusowym białkiem receptorowym jest glikoproteina powierzchniowa gB [30].

Po etapie przyłączenia i fuzji wirus ulega odpłaszczaniu. Materiał genetyczny transportowany jest do



Rys. 2. Schemat replikacji wirusa cytomegalii (CMV)

Etapy replikacji wirusa obejmują: a) syntezę białek bezpośrednio-wczesnych (IE), b) syntezę białek wczesnych (E), c) syntezę białek późnych (L) i d) składanie cząstek wirusowych



Rys. 3. A – Efekt cytopatyczny wirusa cytomegalii (szczep Towne) w pierwotnej hodowli fibroblastów człowieka (MRC5), B – kontrola (zdjęcia autorów)

jądra komórkowego gdzie następuje kaskadowa synteza 3 rodzajów mRNA: bezpośrednio-wczesnego (IE, *Immediately-Early*), wczesnego (E, *Early*) i późnego (L, *Late*). W cytoplazmie komórki gospodarza, wirusowe mRNA przy wykorzystaniu jego aparatu komórkowego, bierze udział w translacji białek. Te ulegają w dalszych etapach przemianom potranslacyjnym: fosforylacji, glikozylacji i proteolitycznym podziałom. Synteza wirusowego DNA zachodzi w jądrze komórkowym, gdzie odbywa się również proces składania nukleokapsydów. Podczas opuszczania jądra komórkowego, nukleokapsydy zaopatrywane są w warstwę białek tworzących tegument oraz osłonkę. Proces replikacji kończy się osadzeniem w osłonce białek powierzchniowych i opuszczeniem komórki, co równoznaczne jest z jej lizą [94]. Dzięki właściwościom jednego z białek (US28), CMV zdolny jest do tworzenia syncytiów. Fuzja komórek przyspiesza rozprzestrzenianie się zakażenia a ponadto pozwala znajdującemu się wewnątrz komórki wirusowi na uniknięcie działania ze strony przeciwciał neutralizujących [15]. Obraz mikroskopowy efektu cytopatycznego CMV w hodowlach komórek MRC-5 przedstawiono na Rys. 3.

4. Latencja

Wirus cytomegalii, tak jak inne herpeswirusy, ma zdolność do ustanawiania długotrwałej latencji. Genom wirusa występuje w postaci pozachromosomalnych epizomów w liczbie od 2 do 13 kopii w każdej zakażonej komórce [86]. CMV ma zdolność zakażenia komórek śródbłonna, nabłonka, monocytów, makrofagów, komórek mięśniówki gładkiej i granulocytów [63]. Miejscem latencji wirusa są monocyty, makrofagi oraz komórki pregenitorowe o fenotypie CD33+CD34+. Ze stanu latencji wirus cytomegalii może okresowo ulegać reaktywacji. Podczas reaktywacji zakażenia zachodzi pełny cykl replikacyjny, co skutkuje produkcją zakaźnych cząstek wirusowych.

Do reaktywacji zakażenia latentnego konieczna jest aktywacja regionu IE. W zakażonej komórce za utrzy-

manie stanu latencji odpowiadają białka komórkowe powodujące represję transkrypcji regionu promotorowego dla genów bezpośrednio-wczesnych (MIEP, *Major Immediate Early Promoter*) [84, 92]. Przyjmuje się, że kluczową rolę w przełamaniu tej represji mogą mieć czynniki takie jak deficyt odpowiedzi immunologicznej gospodarza, indukcja genów IE wirusa poprzez czynniki związane z różnicowaniem się komórek gospodarza, procesy zapalne i aktywacja makrofagów [41]. Z drugiej strony wiadomo, że wirus CMV może być istotnym czynnikiem reaktywacji innych herpeswirusów [7].

5. Patogeneza i formy kliniczne zakażenia

Do zakażenia CMV dochodzi w wyniku ekspozycji na materiały takie jak ślina, mocz, krew, mleko, zawierające zakaźne cząstki wirusa. Ze względu na sposób, czas bądź przebieg kliniczny, zakażenia wirusem cytomegalii mogą być dzielone na: wrodzone lub nabyte, naturalne lub jatrogenne, pierwotne lub wtórne, objawowe lub bezobjawowe.

U osób ze sprawnym układem immunologicznym zakażenie CMV w większości przypadków przebiega bezobjawowo. Rzadko przybiera postać syndromu mononukleozopodobnego z nieswoistymi objawami grypopodobnymi takimi jak złe samopoczucie, bóle mięśniowe, długotrwała gorączka, zaburzenia w funkcjonowaniu wątroby, limfocytoza ze wzrostem atypowych limfocytów, często bez uogólnionego powiększenia węzłów chłonnych [38]. Oddzielny i niezmiernie poważny problem zakażenie to stanowi u osób z immunosupresją (zakażonych wirusem HIV, biorców przeszczepów), oraz, co jest tematem tej pracy – kobiet ciężarnych.

Po wnikięciu do organizmu wirus rozprzestrzenia się drogą krwi do różnych organów: nerek, śledziony, wątroby, serca, mózgu, siatkówki, okrężnicy, ucha wewnętrznego, płuc, ślinianek [85]. Miejsce początkowego zakażenia i sposób, w jaki wirus dostaje się do krwi pozostają nieznanne. W czasie wirerii DNA wirusa stwierdzane jest w komórkach krwi obwodowej:

monocytach, limfocytach i neutrofilach [22]. Wirus replikujący w makrofagach nie powoduje ich lizy, a gromadzi się w dużych cytoplazmatycznych wakuolach, które nie mają zdolności do łączenia się z błoną cytoplazmatyczną komórki. Uniemożliwia to prezentację antygenów wirusa oraz pozwala na rozprzestrzenienie się wraz z makrofagami po całym organizmie i zakażenie komórek endotelium i fibroblastów [85].

Jednym z ważnych aspektów zakażenia CMV jest zdolność wirusa do unikania odpowiedzi immunologicznej gospodarza. W taktyce przetrwania w organizmie wirus cytomegalii stosuje różne strategie, między innymi ograniczenie prezentacji własnych antygenów poprzez blokowanie powierzchniowej ekspresji HLA I i HLA II oraz fosforylację białek bezpośrednio-wczesnych, hamowanie apoptozy, blokowanie lizy przez komórki NK w wyniku prezentacji glikoproteiny wirusowej będącej homologiem cząsteczki MHCI [74]. Zdolność do unikania odpowiedzi immunologicznej sprzyja rozwojowi chronicznego zakażenia z okresowymi, bezobjawowymi epizodami reaktywacji, w trakcie których dochodzi do aktywnej replikacji wirusa i krążenia w organizmie jego zakaźnych cząstek. Ma to miejsce mimo istnienia mechanizmów odporności wytworzonych w wyniku zakażenia pierwotnego – obecności wirusowo-swoistych przeciwciał oraz komórek pamięci. Tak więc istniejąca odporność nie zabezpiecza przed reaktywacją zakażenia latentnego, nie zabezpiecza też przed nadkażeniem egzogennymi szczepami wirusa.

Liczne badania nad patogenezą zakażenia wrodzonego CMV wskazują na znaczącą rolę łożyska w tym procesie [48, 59]. Wynika z nich między innymi, że wiele objawów wrodzonego zakażenia CMV może być związanych nie z bezpośrednim działaniem wirusa w stosunku do płodu, a z zakażeniem łożyska i jego dysfunkcją w zakresie dotlenienia i odżywienia płodu [59].

6. Epidemiologia

Rozpowszechnienie wirusa cytomegalii w populacji jest duże. Odsetek osób seropozytywnych w krajach wysokorozwiniętych szacuje się na około 40–60%, natomiast w krajach rozwijających się liczba ta osiąga poziom powyżej 80% [69]. Poziom seroprewalencji wśród kobiet w Europie jest bardzo zróżnicowany (od 30% do około 90%) i zależy od takich czynników jak wiek, pochodzenie, status socjo-ekonomiczny [58].

Do zakażenia CMV dochodzi poprzez wydzieliny i wydaliny człowieka zawierające zakaźne cząstki wirusa. Podczas aktywnego zakażenia wirus w wysokiej koncentracji znajduje się w takich materiałach jak ślina, mocz i krew. Do zakażenia może dojść w wyniku kontaktów seksualnych na skutek obecności wirusa CMV w nasieniu i wydzielinach dróg rodnych. Konsekwencją obecności wirusa cytomegalii w komórkach krwi jest moż-

liwość przenoszenia zakażenia poprzez transfuzję bądź przeszczep. Do zakażenia z reguły dochodzi we wczesnym dzieciństwie. Stwierdzono, że dzieci uczęszczające do przedszkoli są znaczącym źródłem wirusa. Wynika to między innymi z faktu długotrwałego utrzymywania się aktywnej infekcji u dzieci w wieku poniżej lat trzech. Wirus wykrywany jest w ślinie i moczu dzieci po 6 a nawet do 42 miesięcy po zakażeniu [5]. Szacuje się, że od 15% do 70% dzieci uczęszczających do przedszkola ulega infekcji [4]. W związku z powyższym logiczne jest, że dzieci są znaczącym źródłem zakażenia CMV dla swoich matek. Badania wykazały, że co najmniej 50% seronegatywnych kobiet, których dzieci objęte są opieką przedszkolną ulega serokonwersji w ciągu jednego roku [3]. Stwierdzono też, że największym czynnikiem ryzyka zakażenia w czasie ciąży jest częsty i długotrwały kontakt z dziećmi w wieku poniżej 3 lat [6]. Z powyższego wynika więc, że grupą kobiet wysokiego ryzyka są matki tych dzieci oraz osoby zawodowo zajmujące się opieką nad nimi – pracownice żłobków i przedszkoli [1, 71]. Co ciekawe, stwierdzono, że wysokie ryzyko zakażenia nie dotyczy pracownic służby zdrowia, nawet tych na co dzień zajmujących się małymi dziećmi [6, 27]. Wskazuje to na rolę reżimu higienicznego w rozprzestrzenianiu się zakażenia CMV, dużo bardziej restrykcyjnego w warunkach szpitalnych i ambulatoryjnych niż domowych czy przedszkolnych.

Wirus CMV jest obecny w mleku seropozytywnych kobiet i może być przyczyną zakażenia u noworodków karmionych piersią [90]. Szacuje się, że ryzyko transmisji wirusa tą drogą wynosi 58–69%. Pomimo wysokiej transmisji, zakażenia nabywane w ten sposób z reguły są bezobjawowe [28, 89]. Nie istnieją więc żadne przeciwwskazania do karmienia piersią zdrowych noworodków. Jako jedyną grupę zwiększonego ryzyka wskazuje się noworodki z niską masą urodzeniową i wcześniaki. W celu zmniejszenia u nich ryzyka zakażenia zaleca się krótkotrwałą pasteryzację lub zamrażanie mleka do temperatury -20°C . Jakkolwiek nie ma danych jednoznacznie wskazujących na skuteczność takiego postępowania to stwierdzono, że można w ten sposób osiągnąć obniżenie poziomu wirusa w mleku bez utraty jego właściwości pokarmowych i ochronnych [40].

7. Zakażenie wrodzone CMV

Do zakażenia CMV może dojść w trakcie trwania ciąży, w czasie porodu bądź w okresie poporodowym. Nabycie zakażenia w okresie płodowym (zakażenie wrodzone) jest związane z najpoważniejszymi konsekwencjami podczas gdy te, nabywane w okresie noworodkowym (zakażenie okołoporodowe i poporodowe) z reguły mają przebieg bezobjawowy. Zakażenie kobiety ciężarnej może mieć różne konsekwencje, od braku transmisji wirusa pomimo istnienia zakażenia u matki, do śmierci

płodu lub noworodka w wyniku infekcji. Może również dochodzić do sytuacji, w których ma miejsce zakażenie łożyska bez zakażenia płodu, zakażenie płodu o charakterze bezobjawowym bez późniejszych następstw, zakażenie płodu, które ma charakter bezobjawowy w czasie porodu ale może być związane z późniejszymi następstwami, jak również może mieć miejsce zakażenie płodu o charakterze objawowym, które najczęściej jest również związane z wystąpieniem późnych następstw.

Duży odsetek, bo aż 85–90% noworodków z wrodzonym zakażeniem CMV nie wykazuje żadnych objawów infekcji podczas porodu. Objawy te mogą się jednak ujawnić po kilku miesiącach bądź nawet latach (późne następstwa zakażenia CMV) i sytuacja taka ma miejsce w około 15–25% przypadków [6, 66].

Jedynie 10% nowonarodzonych dzieci z wrodzonym zakażeniem CMV wykazuje objawy tego zakażenia podczas porodu. Objawy te to: małopłowie, ograniczenie wzrostu, powiększenie wątroby, żółtaczkę, wybroczyny, anemia, objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego, opóźnienie rozwoju psychomotorycznego, ślepotę, niedosłuch, a nawet głuchota. [12, 70]. Szczególną uwagę zwraca się na zakażenie CMV jako najczęstszą z przyczyn utraty słuchu (SNHL – *Sensorineural hearing loss*). Jako późne następstwo zakażenia wrodzonego CMV, niedosłuch bądź głuchota może nastąpić w późnym dzieciństwie. Badania wykazały, że od 6% do 23% dzieci, które nie wykazywały objawów zakażenia CMV w okresie poporodowym i noworodkowym, w późniejszym dzieciństwie traciły słuch [32].

Zakażenia przezłożyskowe wirusem cytomegalii są najczęstszymi wrodzonymi zakażeniami wirusowymi, które dotyczą od 1 do 2% noworodków [87]. Dochodzi do nich na skutek zarówno pierwotnego, jak i wtórnego (reaktywacji bądź reinfekcji) zakażenia matki [13]. Jednakże to pierwotne zakażenie ciężarnej jest związane z największym ryzykiem urodzenia dziecka z zakażeniem wrodzonym i wystąpieniem bezpośrednich bądź odległych jego następstw [91, 95].

Do zakażenia płodu może dojść w każdym okresie ciąży. Podczas gdy w większości badań nie stwierdzano związku między poziomem transmisji wirusa do płodu a czasem trwania ciąży [36, 37, 88], to B o d e u s i wsp. [9, 10], na podstawie oznaczeń wykonanych u 524 kobiet określili, że ryzyko transmisji rośnie wraz z czasem trwania ciąży od 34,5% w I trymestrze do 73,3% w III trymestrze. Natomiast co do okresu zakażenia w ciąży i jego konsekwencji istnieje zgoda – im wcześniej dochodzi do zakażenia u ciężarnej, tym gorsze są rokowania u dziecka. Jeżeli do zakażenia dochodzi między 4 a 22 tygodniem, to ryzyko wystąpienia objawowej formy zakażenia wrodzonego oraz ciężkich upośledzeń szacuje się odpowiednio na 12% i 29%. Ryzyko ujawniania się konsekwencji zakażenia jest dużo mniejsze jeśli dochodzi do niego w późniejszych tygodniach ciąży. Przy zakażeniu ciężarnej między

16 a 27 tygodniem, objawy przy urodzeniu obserwuje się u 16% noworodków przy praktycznie zerowym ryzyku wystąpienia ciężkich uszkodzeń. Natomiast zakażenie w III trymestrze ciąży z reguły nie wiąże się z ryzykiem wystąpienia ciężkich powikłań, co jednak nie oznacza możliwości ujawnienia się przebytego zakażenia wrodzonego w późniejszym okresie życia dziecka [88].

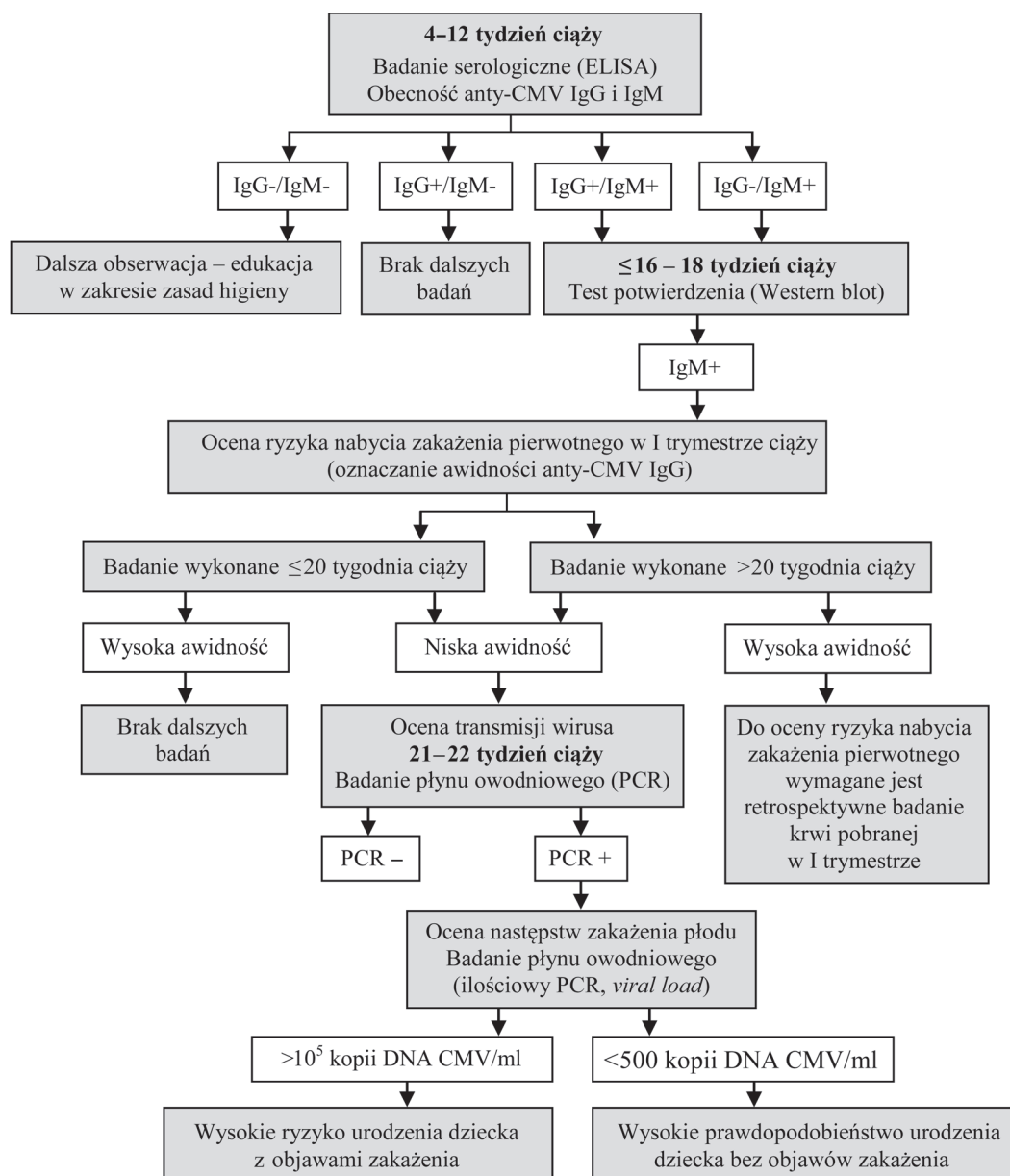
8. Diagnostyka zakażeń wrodzonych

Jedynie w nielicznych krajach prowadzi się rutynowe badania w kierunku zakażeń wrodzonych CMV. W Europie program mający na celu wykrywanie zakażeń pierwotnych u ciężarnych, był prowadzony przez kilka lat we Włoszech. Program ten opierał się na schemacie diagnostycznym opracowanym przez L a z z a r o t t o i wsp. [53]. Obecnie we Włoszech oraz kilku innych krajach europejskich badania są prowadzone, ale na ograniczoną skalę. Wykonuje się je u kobiet z grup wysokiego ryzyka oraz we wszystkich przypadkach podejrzenia wystąpienia zakażenia wrodzonego [31]. Schemat diagnostyki laboratoryjnej zakażenia CMV w ciąży przedstawiono na Rys. 4.

8.1. Oznaczenia serologiczne u matki

W związku z tym, że największe ryzyko wystąpienia ciężkich uszkodzeń płodu związane jest z zakażeniem pierwotnym u matki, to głównym celem diagnostyki zakażeń wrodzonych CMV jest potwierdzenie bądź wykluczenie tego zakażenia. Najpewniejszą metodą potwierdzenia jest stwierdzenie serokonwersji tj. wykrycie obecności CMV swoistych przeciwciał klasy IgG u uprzednio seronegatywnej kobiety. Z drugiej strony, jeżeli w okresie prekonceptyjnym stwierdzono obecność przeciwciał IgG, to pozwala to wykluczyć pierwotne zakażenia w trakcie ciąży. W związku z powyższym, wykonywanie badań profilaktycznych na sens. Wykrycie obecności CMV-swoistych przeciwciał klasy IgM potwierdza aktualne bądź niedawno przebyte zakażenie. Jest pomocnym wskaźnikiem w diagnostyce pierwotnego zakażenia, aczkolwiek badanie to ma kilka ograniczeń. Po pierwsze, przeciwciała klasy IgM mogą być produkowane we wtórnych infekcjach (reaktywacjach zakażeń latentnych bądź reinfekcjach nowym szczepem) [88]. Po drugie, przeciwciała klasy IgM zwykle utrzymują się 3–6 miesięcy ale mogą być stwierdzane nawet powyżej 12 miesięcy od momentu zakażenia [76]. Po trzecie, istnieją błędy wynikające z jakości testów diagnostycznych, a co za tym idzie, istnieje możliwość uzyskania wyników fałszywie dodatnich [51].

U kobiet ciężarnych, u których wykryto przeciwciała anty-CMV IgM, pomocnym narzędziem diagnostycznym jest oznaczanie awidności przeciwciał anty-CMV IgG. Stwierdzono, że przeciwciała produkowane



Rys. 4. Schemat diagnostyki laboratoryjnej zakażenia CMV w ciąży. Na podstawie Lazzarotto i wsp. [53] i Munro i wsp. [64]

w wyniku pierwotnego zakażenia mają niską siłę wiązania antygeny (niską awidność). W miarę rozwoju zakażenia, po około 20 tygodniach, powyżej 60% przeciwciał wykazuje wysoką awidność [56]. Tak więc metoda ta służy do różnicowania zakażenia pierwotnego i wtórnego oraz rozstrzygnięcia w sytuacjach związanych z długotrwałym utrzymywaniem się IgM oraz fałszywie dodatnimi wynikami oznaczeń anty CMV IgM.

8.2. Badanie płynu owodniowego

W przypadku potwierdzenia zakażenia pierwotnego u matki na podstawie obecności anty-CMV IgM oraz anty-CMV IgG o niskiej awidności, zachodzi podejrzenie zakażenia płodu. Badaniem z wyboru w tej sytuacji jest oznaczanie obecności wirusa w płynie owodniowym

(AF – *amniotic fluid*). Płyn owodniowy do badań diagnostycznych w kierunku CMV powinien być pobrany między 21 a 22 tygodniem ciąży, ale co najmniej 6 tygodni po zakażeniu matki [53]. Wynika to z faktu, że po pierwsze, nerki u płodu zaczynają efektywnie produkować mocz po 21 tygodniu trwania ciąży, a po drugie, wirus jest wydalany z moczem płodu na wykrywalnym poziomie po upływie 6–9 tygodni od zakażenia ciężarnej [9]. Z AF można próbować dokonać izolacji wirusa w hodowlach komórkowych, jednak obecnie powszechniej stosuje się oznaczanie obecności materiału genetycznego CMV metodą PCR. Co do wartości diagnostycznej określania poziomu CMV DNA (*viral load*) i prognozowania na tej podstawie o przebiegu zakażenia u płodu i jego konsekwencjach istnieją znaczne kontrowersje. W badaniach Lazzarotto i wsp. [53, 54] wykazano, że stwierdzenie

nie obecności DNA CMV na poziomie $> 10^3$ kopii/ml w 100% wskazuje na istnienie zakażenia wrodzonego, ale dopiero poziom DNA CMV $> 10^5$ kopii/ml związany jest z wysokim ryzykiem urodzenia dziecka z objawami zakażenia, natomiast obecność < 500 kopii/ml z dużym prawdopodobieństwem wyklucza wystąpienie objawowego zakażenia u dziecka. W innych badaniach nie wykazano wyraźnej korelacji pomiędzy liczbą kopii DNA CMV w płynie owodniowym a konsekwencjami zakażenia u płodu [34, 35, 77, 78].

8.3. USG

Pomocną metodą wykrywania zakażeń wrodzonych CMV jest rutynowo wykonywane w czasie ciąży badanie USG. Według zaleceń Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego powinno być wykonywane trzykrotnie: około 12, 20 i 30 tygodnia ciąży. Opisano wiele zmian widocznych w badaniu USG, które mogą być związane z zakażeniem CMV: zahamowanie wzrostu płodu, małomózgowie, powiększenie komórek mózgu, zwapnienia okołokomorowe, echogeniczność jelit, wielowodzie, obrzęk płodu, wysięk opłucnowy, powiększenie łożyska [39]. W przypadku, gdy nie prowadzony jest program badań przesiewowych, stwierdzenie takich zmian podczas rutynowego badania USG powinno być przesłanką do podjęcia badań mających na celu potwierdzenie bądź wykluczenie zakażenia wrodzonego CMV. Zaznaczyć należy, że stwierdzone zmiany niekoniecznie muszą być skutkiem zakażenia CMV, a z drugiej strony wiadomo, że czułość USG w diagnozie zakażenia CMV jest stosunkowo niska i opisane zmiany stwierdzane są jedynie w 8,5–14,9% zakażeń pierwotnych u matki [39].

8.4. Diagnostyka zakażenia wrodzonego u noworodka

Przy diagnozowaniu zakażenia wrodzonego CMV u noworodka sprawą niezwykle istotną jest wybór odpowiedniej metody diagnostycznej. Od lat 60-tych testem diagnostycznym uważanym za złoty standard w diagnozowaniu tego typu zakażenia u noworodków była izolacja wirusa z moczu [26]. Nadal izolacja wirusa cytomegalii z moczu lub śliny noworodka w 2 pierwszych tygodniach życia pozostaje standardową procedurą w niektórych ośrodkach [52, 53]. Jednakże izolacja CMV w hodowli komórkowej jest metodą czasochłonną (wymagającą nawet do 6 tygodni inkubacji w hodowli) i wymagającą wykwalifikowanego personelu do oceny. W chwili obecnej szybkie metody molekularne, takie jak PCR, zastępują metodę izolacji wirusa, także w przypadku CMV. Wykrywanie DNA CMV metodą PCR, we krwi noworodka pobranej w czasie porodu, wydaje się być czułą i swoistą metodą diagnozowania zakażenia wrodzonego [50], coraz częściej zastępując izolację CMV [53]. Również mocz i ślina zakażonego dziecka zawierają dużą liczbę cząstek CMV, a tym samym kopii

DNA, pozwalającą na przeprowadzenie czulej reakcji PCR [98]. Dane uzyskane w ilościowej reakcji PCR (ustalenie tzw. *viral load*) mogą mieć wartość prognostyczną w określaniu następstw zakażenia wrodzonego [12]. Wykrycie swoistych dla CMV przeciwciał w klasie IgM w surowicy noworodka, krótko po porodzie, również potwierdza zakażenie wrodzone, ale przeciwciała w tej klasie są obecne tylko u 20–70% zakażonych dzieci [76] i dlatego otrzymanie negatywnego wyniku w badaniu serologicznym nie wyklucza zakażenia CMV.

Po upływie 2–3 tygodni od urodzenia rozróżnienie za pomocą testów wirusologicznych i serologicznych zakażenia wewnątrzmacicznego od okołoporodowego staje się niemożliwe, a rozpoznanie zakażenia wrodzonego może się opierać tylko na objawach klinicznych [53].

Problem diagnostyczny pojawia się również w przypadku dzieci, które rodzą się bez objawów klinicznych zakażenia. Jedynie wprowadzenie rutynowych badań skryningowych u noworodków mogłoby pozwolić na wykrycie wszystkich przypadków dzieci z zakażeniem wrodzonym CMV i zapewnić możliwość ich dalszego monitorowania [26].

9. Profilaktyka i leczenie

9.1. Szczepionka

Duże nadzieje pokładane są w możliwości kontroli zakażenia CMV na drodze szczepień [8]. Jeśli chodzi o problem zakażeń wrodzonych to oczekuje się, że szczepienie powinno chronić przed transmisją wirusa w ciąży (immunizacja kobiet w wieku rozrodczym i 12-letnich dziewcząt). Oczekuje się również pozytywnych efektów poprzez zmniejszenie poziomu transmisji wśród dzieci w żłobkach i przedszkolach oraz zmniejszenie poziomu transmisji dziecko-dorosły (powszechne szczepienie niemowląt i dzieci) [81].

Idealna szczepionka powinna stymulować zarówno odpowiedź humoralną w zakresie produkcji przeciwciał neutralizujących (NT-Abs), jak i komórkową w zakresie odpowiedzi ze strony cytotoksycznych (CTL) i pomocniczych (Th) limfocytów. Jednak pomimo badań rozpoczętych już w latach 60-tych ubiegłego wieku, do tej pory nie udało się opracować skutecznej i bezpiecznej szczepionki przeciwko wirusowi cytomegalii. Pierwsze podjęte próby dotyczyły użycia atenuowanych szczepów CMV. Jakkolwiek szczepionka atenuowana, opracowana na bazie szczepu Town, wykazała obniżenie ryzyka wystąpienia objawowej formy zakażenia u biorców przeszczepu nerki, to jej słaba immunogenność u zdrowych osób seronegatywnych wykluczyła celowość jej stosowania w profilaktyce zakażeń wrodzonych [2]. Innym rodzajem szczepionki, z którą wiązane są duże nadzieje, to szczepionka podjednostkowa zawierająca glikoproteinę/y powierzchniowe wirusa (gB, gH).

Preparaty te wykazują immunogenność pod względem stymulacji NT-Abs i jako, że nie zawierają zdolnego do replikacji wirusa, są bezpieczne. Stwierdzono jednak, że niedostatecznie stymulują odpowiedź ze strony CTL, a poziom przeciwciał uzyskanych w wyniku szczepienia szybko ulega obniżeniu, co jest typowe dla tego rodzaju preparatów. Niedawno opublikowane dane wskazują, że zastosowanie adjuwantu MF59 (emulsji zawierającej skwalen) znacznie poprawia immunogenność pojednostkowej szczepionki gB, co stwarza nadzieję na uzyskanie możliwości kontroli zakażeń wrodzonych CMV [72, 73]. Liczną grupę preparatów, dla których były, bądź są nadal podejmowane badania to szczepionki wektorowe z użyciem wirusa ospy kanarków (ALVAC-gB, ALVAC-pp65), wirusa ospy wielbłądów (MVA-gB, MVA-pp65, MVA-IE1), wirusa wenezuelskiego zapalenia mózgu (VEE-gB, pp65, IE1), adenowirusa (Ad-gB, IE1). Inne kierunki badań obejmują prace nad immunizacją plazmidami dającymi ekspresję białek odpowiedzialnych za stymulację CTL i NT-Abs (szczepionki DNA), wykorzystaniem syntetycznych peptydów pp65 z epitopami immunodominującymi dla CTL (szczepionki peptydowe), czy wykorzystanie niekompletnych cząstek wirusowych (*Dense bodies*) [81].

Jakkolwiek zaawansowanie prac jest wysokie, a ich wyniki budzą nadzieję, to biorąc pod uwagę doświadczenia zdobyte po zatwierdzeniu do stosowania szczepionki przeciwko wirusowi ospy wietrznej i półpaśca, jedynemu do tej pory herpeswirusowi, dla którego to się udało, to problematycznym pozostaje fakt, czy uzyskanie preparatu zdolnego do stymulacji odporności „sterylizującej” w przypadku CMV będzie kiedykolwiek możliwe.

9.2. Bierna immunizacja

W profilaktyce zakażeń wrodzonych CMV stosowana jest bierna immunizacja. Mechanizm działania preparatów zawierających wysokie poziomy przeciwciał – HIG (*Hyper-Immune Globulin*) obejmuje takie procesy jak: neutralizacja cząstek wirusowych, podwyższenie aktywności komórek NK, zależną od przeciwciał cytotoksyczność, blokowanie procesu przyłączania wirusa [44].

W badaniach Ni g r o i wsp. [67] wykazano, że podawanie immunoglobuliny kobietom, u których zdiagnozowano pierwotne zakażenie CMV zmniejszało ryzyko infekcji płodu. Porównano odsetek noworodków z potwierdzonym laboratoryjnie zakażeniem wrodzonym w dwóch grupach kobiet. W grupie pierwszej kobietom, aż do momentu rozwiązania podawano immunoglobulinę, w drugiej nie stosowano tej formy terapii. Ostatecznie zakażenia wrodzone stwierdzono u 16% noworodków w grupie pierwszej i 56% w grupie drugiej [67].

Uważa się, że podawanie HIG wywiera korzystny wpływ w sposób bezpośredni w wyniku przedostania

się przeciwciał do krążenia płodu [82] oraz pośrednio poprzez redukcje zgrubienia łożyska, co poprawia jego funkcję odżywcze w stosunku do płodu [48, 68].

Wydaje się więc, że podawanie immunoglobuliny kobietom w ciąży, u których wykryto pierwotne zakażenie, może być skuteczną metodą w zapobieganiu zakażeń wrodzonych u noworodków. Przemawia za tym dostępność tej metody, brak toksyczności oraz niewielkie koszty w porównaniu do tych ponoszonych w przypadku leczenia dzieci z objawowymi zakażeniami wrodzonymi [18, 44].

9.3. Leki przeciwwirusowe

Obecnie zarejestrowane są cztery leki przeciwwirusowe przeznaczone do leczenia zakażeń wywołanych przez wirus cytomegalii: ganciclovir (GCV), valganciclovir (VGCV), cidofovir (CDV) i foscarnet (PFA), przy czym lekiem z wyboru jest ganciclovir, a foscarnet najczęściej stosuje się w przypadku zakażeń CMV opornych na GCV. Ganciclovir jest acyklicznym analogiem deoksyguanozyny, który do uzyskania pełnej aktywności przeciwwirusowej wymaga fosforylacji do trójfosforanowej pochodnej. W pierwszym, wstępnym etapie fosforylacji GCV jest selektywnie fosforylowany do monofosforanu przez kodowaną przez wirusa cytomegalii kinazę fosforanową (pUL97) [83]. Pozostałe etapy fosforylacji są katalizowane przez indukowane CMV kinazy komórkowe. Trójfosforanowa forma gancicloviru swoiście hamuje działanie wirusowej polimerazy, jak również po wbudowaniu do nowotworzonego łańcucha DNA wirusa powoduje terminację jego syntezy, a tym samym blokuje replikację wirusa w zakażonej komórce [42, 75]. Ze względu na niską przyswajalność formy doustnej ganciclovir podawany jest dożylnie. Pochodna gancicloviru – valganciclovir – jako preparat stosowany w formie doustnej charakteryzuje się 10-krotnie wyższą przyswajalnością [46]. Działanie cidofoviru i foscarnetu opiera się na zahamowaniu działania polimerazy DNA wirusa. Cidofovir, podobnie jak ganciclovir, wymaga fosforylacji, ale tylko przez kinazy komórkowe. Jego spektrum działania jest bardzo szerokie i obejmuje liczne wirusy DNA – herpeswirusy, adenowirusy, orthopoxwirusy [23]. Mechanizm działania foscarnetu (analogu pirofosforanowego) nie jest uzależniony od procesu fosforylacji i polega na wybiórczym i odwracalnym hamowaniu polimerazy DNA wirusa poprzez blokowanie miejsc wiązania pirofosforanu [42]. Związek ten jest stosowany przy leczeniu opornych na GCV zakażeń CMV, aczkolwiek jego toksyczność w znacznym stopniu ogranicza jego stosowanie [17, 96].

Stosowanie terapii przeciwwirusowej w przypadku zakażeń wrodzonych CMV jest przedmiotem intensywnych badań w wielu krajach [45, 46, 49, 57, 65]. Wyniki tych badań, prowadzonych z reguły na niewielkich gru-

pach dzieci wskazują na ograniczoną skuteczność stosowania preparatów przeciwwirusowych bądź jej brak. W chwili obecnej wydaje się, że głównym wskazaniem do stosowania chemioterapeutyków w przypadku zakażeń wrodzonych CMV jest zapobieganie, stabilizacja i poprawa niedosłuchu u dzieci [62].

Wyniki badań wskazują również na bardzo delikatną równowagę, która istnieje pomiędzy spodziewaną korzyścią terapeutyczną, a zwiększoną toksycznością leku, szczególnie przy leczeniu noworodków i niemowląt [61]. Stosowanie terapii przeciwwirusowej w zakażeniach wrodzonych CMV ma swoje ograniczenia. Głównym z nich jest fakt, że większość uszkodzeń OUN związanych z zakażeniem CMV ujawnia się w okresie życia płodowego, zanim pojawi się możliwość rozpoznania choroby i wdrożenia leczenia. Ponadto, stosując terapię ganciclovirem należy wziąć pod uwagę jego potencjalną toksyczność (neutropenia), jak również ryzyko wystąpienia komplikacji przy długotrwałej terapii oraz konieczność długofalowego monitorowania pod kątem efektów ubocznych dzieci poddanych leczeniu [42, 65]. Problem stanowi również terapia przeciwwirusowa u noworodków z zakażeniem wrodzonym CMV, urodzonych bez klinicznych objawów zakażenia, u których istnieje niebezpieczeństwo wystąpienia późnych następstw zakażenia [21]. Istotnym ograniczeniem terapii jest pojawiająca się oporność na stosowane leki, aczkolwiek należy zauważyć, że problem ten w mniejszym stopniu dotyczy leczenia zakażeń wrodzonych CMV w porównaniu do terapii u biorców przeszczepów [11, 29].

Badania nad opracowaniem nowych preparatów przeciwwirusowych skutecznych w leczeniu zakażeń CMV koncentrują się na otrzymaniu leku o wysokiej skuteczności, który charakteryzowałby się niską toksycz-

nością, co jest szczególnie istotne w przypadku leczenia osób o obniżonej odporności oraz noworodków, niemowląt i dzieci [60, 75].

9.4. Zapobieganie zakażeniom CMV

Brak szczepionki oraz ograniczona możliwość zastosowania terapii przeciwwirusowej u noworodków, niemowląt i kobiet w ciąży sprawia, że istotnym elementem profilaktyki stają się działania zapobiegawcze mające na celu ograniczenie szerzenia się zakażenia CMV, które można podjąć zarówno w domu, jak i w miejscu pracy. Istotną sprawą, w przypadku kobiet w ciąży, jest znajomość statusu serologicznego związanego z zakażeniem CMV [55], a w przypadku kobiet seronegatywnych – odpowiednia edukacja w zakresie możliwości ustrzeżenia się zakażenia (zakażenie pierwotne) [14, 25, 80, 97]. Jest to szczególnie istotne w przypadku kobiet opiekujących się małymi dziećmi, a więc kobiet z grupy wysokiego ryzyka zakażenia. Zalecenia dla seronegatywnych kobiet w ciąży przedstawiono w Tabeli I. Istotną rolę w edukacji kobiet w ciąży na temat ryzyka jakie niesie ze sobą zakażenie wirusem cytomegalii oraz postępowania mającego na celu uniknięcie tego zakażenia powinni odgrywać lekarze ginekolodzy i położnicy. Badania ankietowe przeprowadzone przez zespół Ross i wsp. z CDC [79] w 2009 roku wśród członków Amerykańskiego Kolegium Położników i Ginekologów (ACOG) wykazały, że na 305 lekarzy mniej niż 50% udziela pacjentkom porad na temat zapobiegania zakażeniom CMV, tłumacząc to ograniczeniami czasowymi [79]. Badania na temat wiedzy dotyczącej zakażenia wrodzonego wśród lekarzy w Holandii, szczególnie pediatrów, lekarzy położników i ginekologów przeprowadzili

Tabela I

Zalecenia dla seronegatywnych kobiet w ciąży, mające na celu zmniejszenie ryzyka zakażeń wrodzonych (wg Adler i wsp. [1, 6])

NALEŻY:
1. przyjąć, że wszystkie dzieci poniżej 3 roku życia są potencjalnym źródłem transmisji CMV
2. dokładnie myć ręce mydłem i ciepłą wodą po następujących czynnościach: <ul style="list-style-type: none"> – zmiana pieluchy – przebieranie dziecka – karmienie – kąpiel – wycieranie śliny lub wydzieliny z nosa – dotykanie zabawek, smoczków, szczeroteczki do zębów
3. myć i dezynfekować zabawki
4. przestrzegać ustalonych procedur higienicznych w miejscu pracy
NIE NALEŻY: <ul style="list-style-type: none"> – używać tych samych naczyń – dzielić się jedzeniem – całować dziecko w usta lub ich pobliżu – używać wspólnych ręczników – spać w tym samym łóżku

Korver i wsp. [47]. Analiza wyników ujawniła, że większość lekarzy zaangażowanych w opiekę nad matką i dzieckiem nie posiada optymalnej wiedzy na temat zakażenia wrodzonego CMV, w tym w zakresie transmisji zakażenia CMV i zapobiegania mu [47]. Podobnych badań w Polsce nie prowadzono.

Stan wiedzy i świadomości na temat zakażenia wrodzonego CMV w 7 grupach kobiet z różnych regionów geograficznych USA badali Jeon i wsp. [43]. Spośród 643 badanych kobiet tylko 142 (22%) słyszało cokolwiek o zakażeniu wrodzonym CMV, a wśród nich 78 wskazało częste mycie rąk jako działanie zapobiegające rozprzestrzenianiu się zakażenia [43]. Badanie przeprowadzone we Francji przez Cordier i wsp. [20] wśród 362 hospitalizowanych kobiet ciężarnych wykazały, że 217/362 (60%) kobiet słyszało o zakażeniu wrodzonym CMV. Jednak w grupie tej dużo więcej kobiet wiedziało na temat niebezpieczeństw związanych z toksoplazmozą (ponad 95%), różyczką (ponad 90%), zakażeniem matki HIV (99%). Ponadto, w grupie 217 kobiet, które słyszały o zakażeniu wrodzonym CMV większość (92%) wiedziała, że częste mycie rąk może zredukować ryzyko transmisji zakażenia, a 187 kobiet (86%) wiedziało, że używanie wspólnych naczyń, bielizny i dzielenie się jedzeniem zwiększa ryzyko nabycia zakażenia. Średnio 72% świadomych ryzyka ciężarnych znało podstawowe zasady higieny, których należy przestrzegać, aby zmniejszyć ryzyko nabycia zakażenia CMV [20].

10. Podsumowanie

Problem zakażeń wrodzonych CMV przypomina „słonia w salonie, którego nikt nie zauważa” jak obrazowo wyraziła się Demmler [24], opisując sytuację w USA. Sytuacja w Polsce jest podobna do tej obserwowanej na całym świecie i charakteryzuje ją niska świadomość społeczna dotycząca ryzyka i powikłań związanych z zakażeniami wewnątrzmacicznymi CMV oraz możliwości zapobiegania im.

Biorąc pod uwagę fakt, że wirus cytomegalii jest najczęstszą przyczyną zakażeń wrodzonych tak w Polsce, jak i na świecie, a uzyskanie przełomu w tym zakresie będzie możliwe dopiero za sprawą skutecznej szczepionki – niezwykle ważne wydaje się prowadzenie akcji podnoszących świadomość wśród kobiet w wieku rozrodczym na temat problemów związanych z zakażeniem CMV.

Piśmiennictwo

- Adler S.P., Finney J.W., Manganello A.M., Best A.M.: Prevention of child-to-mother transmission of cytomegalovirus among pregnant women. *J. Pediatr.* **145**, 485–491 (2004)
- Adler S.P., Hempfling S.H., Starr S.E., Plotkin S.A., Riddell S.: Safety and immunogenicity of Ttowne strain cytomegalovirus vaccine. *Pediatr. Infect. Dis.* **17**, 200–206 (1998)
- Adler S.P.: Cytomegalovirus and child day care: risk factors for maternal infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **10**, 590–594 (1991)
- Adler S.P.: Cytomegalovirus transmission and child day care. *Adv. Pediatr. Infect. Dis.* **7**, 109–122 (1992)
- Adler S.P.: Molecular epidemiology of cytomegalovirus: a study of factors affecting transmission among children at three day-care centers. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **10**, 584–590 (1991)
- Adler S.P.: Screening for cytomegalovirus during pregnancy. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* Article ID 942937, 9 pages, doi:10.1155/2011/942937 (2011)
- Arcenas R., Widen R.H.: Epstein-Barr virus reactivation after superinfection of the BJAB-B1 and P3HR-1 cell lines with cytomegalovirus. *BMC Microbiol.* **23**, 2–20 (2002)
- Arvin A.M., Fast P., Myers M., Plotkin S., Rabinovich R.: Vaccine development to prevent cytomegalovirus disease: report from the National Vaccine Advisory Committee. *Clin. Infect. Dis.* **39**, 233–239 (2004)
- Bodéus M., Hubinont C., Bernard P., Bouckaert A., Thomas K., Goubau P.: Prenatal diagnosis of human cytomegalovirus by culture and polymerase chain reaction: 98 pregnancies leading to congenital infection. *Prenat. Diagn.* **19**, 314–317 (1999)
- Bodéus M., Kabamba-Mukadi B., Zech F., Hubinont C., Bernard P., Goubau P.: Human cytomegalovirus in utero transmission: follow-up of 524 maternal seroconversions. *J. Clin. Virol.* **47**, 201–202 (2010)
- Boivin G., Goyette N., Rollag H., Jardine A.G., Pescovitz M.D., Asberg A., Ives J., Hartmann A., Humar A.: Cytomegalovirus resistance in solid organ transplant recipients treated with intravenous ganciclovir or oral valganciclovir. *Antivir. Ther.* **14**, 697–704 (2009)
- Boppana S.B., Fowler K.B., Pass R.F., Rivera L.B., Bradford R.D., Lakeman E.D., Britt W.J.: Congenital cytomegalovirus infection: association between virus burden in infancy and hearing loss. *J. Pediatr.* **146**, 817–823 (2005)
- Boppana S.B., Rivera L.B., Fowler K.B., Mach M., Britt W.J.: Intrauterine transmission of cytomegalovirus to infants of women with preconceptual immunity. *N. Engl. J. Med.* **344**, 1366–1371 (2001)
- Cannon M.J., Davis K.F.: Washing our hands of the congenital cytomegalovirus disease epidemic. *BMC Public Health*, **5**, 70 (2005)
- Casarosa P., Waldhoer M., LiWang P.J., Vischer H.F., Kledal T., Timmerman H., Schwartz T.W., Smit M.J., Leurs R.: CC and CX3C chemokines differentially interact with the N terminus of the human cytomegalovirus-encoded US28 receptor. *Biol. Chem.* **280**, 3275–3285 (2005)
- Chan G., Nogalski M.T., Yurochko A.D.: Activation of EGFR on monocytes is required for human cytomegalovirus entry and mediates cellular motility. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 22369–22374 (2009)
- Chou S.: Cytomegalovirus UL97 mutations in the era of ganciclovir and maribavir. *Rev. Med. Virol.* **18**, 233–246 (2008)
- Clark A.L., Gall S.A.: Clinical uses of intravenous immunoglobulin in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **176**, 241–253 (1997)
- Coquette A., Bourgeois A., Dirand C., Varin A., Chen W., Herbein G.: Mixed cytomegalovirus glycoprotein B genotypes in immunocompromised patients. *Clin. Infect. Dis.* **39**, 155–161 (2004)
- Cordier A.G., Guitton S., Vauloup-Fellous C., Grangeot-Keros L., Ayoubi J.M., Benachi A., Picone O.: Awareness of cytomegalovirus infection among pregnant women in France. *J. Clin. Virol.* **53**, 332–337 (2012)
- Dahle A.J., Fowler K.B., Wright J.D., Boppana S.B., Britt W.J., Pass R.F.: Longitudinal investigation of hearing disorders in children with congenital cytomegalovirus. *J. Am. Acad. Audiol.* **11**, 283–290 (2000)

22. Dankner W.M., McCutchan I.A., Richman D.D., Hirata K., Spector S.A.: Localization of human cytomegalovirus in peripheral blood leukocytes by in situ hybridization. *J. Infect. Dis.* **161**, 31–36 (1990)
23. De Clercq E., Holý A.: Acyclic nucleoside phosphonates: a key class of antiviral drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.* **4**, 928–940 (2005)
24. Demmler G.J.: Cytomegalovirus infection: back to the future or no more elephants? *Clin. Infect. Dis.* **43**, 1152–1153 (2006)
25. Demmler-Harrison G.J.: Congenital cytomegalovirus: Public health action towards awareness, prevention, and treatment. *J. Clin. Virol.* **46**, Suppl. 4, S1–5 (2009)
26. Dollard S.C., Schleiss M.R., Grosse S.D.: Public health and laboratory considerations regarding newborn screening for congenital cytomegalovirus. *J. Inherit. Metab. Dis.* **33**, Suppl. 2, S249–254 (2010)
27. Dworsky M.E., Welch K., Cassady G., Stagno S.: Occupational risk for primary cytomegalovirus infection among pediatric health-care workers. *N. Engl. J. Med.* **309**, 950–953 (1983)
28. Dworsky M.E., Yow M., Stagno S., Pass R.F., Alford C.: Cytomegalovirus infection of breast milk and transmission in infancy. *Pediatrics*, **72**, 295–299 (1983)
29. Emery V.C., Griffiths P.D.: Prediction of cytomegalovirus load and resistance patterns after antiviral chemotherapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 8039–8044 (2000)
30. Feire A.L., Koss H., Compton T.: Cellular integrins function as entry receptors for human cytomegalovirus via a highly conserved disintegrin-like domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 15470–15475 (2004)
31. Forsgren M.: Prevention of congenital and perinatal infections. *Euro. Surveill.* **14**, 2–4 (2009)
32. Fowler K.B., Boppana S.B.: Congenital cytomegalovirus (CMV) infection and hearing deficit. *J. Clin. Virol.* **35**, 226–231 (2006)
33. Gibson W.: Structure and formation of the cytomegalovirus virion. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **325**, 187–204 (2008)
34. Goegebuert T., Van Meensel B., Beuselink K., Cossey V., Van Ranst M., Hanssens M., Lagrou K.: Clinical predictive value of real-time PCR quantification of human cytomegalovirus DNA in amniotic fluid samples. *J. Clin. Microbiol.* **47**, 660–665 (2009)
35. Gouarin S., Gault E., Vabret A., Cointe D., Rozenberg F., Grangeot-Keros L., Barjot P., Garbarg-Chenon A., Lebon P., Freymuth E.: Real-time PCR quantification of human cytomegalovirus DNA in amniotic fluid samples from mothers with primary infection. *J. Clin. Microbiol.* **40**, 1767–1772 (2002)
36. Grant S., Edmond E., Syme J.: A prospective study of cytomegalovirus infection in pregnancy. I. Laboratory evidence of congenital infection following maternal primary and reactivated infection. *J. Infect.* **3**, 24–31 (1981)
37. Griffiths P.D., Baboonian C.: Intra-uterine transmission of cytomegalovirus in women known to be immune before conception. *J. Hyg. (Lond)*, **92**, 89–95 (1984)
38. Griffiths P.D., Cytomegalovirus (w) Principles and practice of clinical virology. 5th edition, red. A.J. Zuckerman, J.E. Banatvala, J.R. Pattison, P.D. Griffiths, John Wiley & Sons Ltd. London, 2004, s. 85–122
39. Guerra B., Simonazzi G., Puccetti C., Lanari M., Farina A., Lazzarotto T., Rizzo N.: Ultrasound prediction of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **198**, 380–387 (2008)
40. Hamprecht K., Maschmann J., Müller D., Dietz K., Besenthal I., Goelz R., Middeldorp J.M., Speer C.P., Jahn G.: Cytomegalovirus (CMV) inactivation in breast milk: reassessment of pasteurization and freeze-thawing. *Pediatr. Res.* **56**, 529–535 (2004)
41. Hummel M., Abecassis M.M.: A model for reactivation of CMV from latency. *J. Clin. Virol.* **25**, Suppl. 2, S123–136 (2002)
42. James S.H., Kimberlin D.W., Whitley R.J.: Antiviral therapy for herpesvirus central nervous system infections: neonatal herpes simplex virus infection, herpes simplex encephalitis, and congenital cytomegalovirus infection. *Antiviral. Res.* **83**, 207–213 (2009)
43. Jeon J., Cannon M.J. i wsp.: Knowledge and awareness of congenital cytomegalovirus among women. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* **2006**, 1–7 (2006)
44. Keller M.A., Stiehm E.R.: Passive immunity in prevention and treatment of infectious diseases. *J. Clin. Microbiol.* **13**, 602–614 (2000)
45. Kimberlin D.W., Whitley R.J. i wsp.: Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system: a randomized, controlled trial. *J. Pediatr.* **143**, 16–25 (2003)
46. Kimberlin D.W., Whitley R.J. i wsp.: Pharmacokinetic and pharmacodynamic assessment of oral valganciclovir in the treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus disease. *J. Infect. Dis.* **197**, 836–845 (2008)
47. Korver A.M., de Vries J.J., de Jong J.W., Dekker F.W., Vossen A.C., Oudesluys-Murphy A.M.: Awareness of congenital cytomegalovirus among doctors in the Netherlands. *J. Clin. Virol.* **46**, Suppl. 4, S11–15 (2009)
48. La Torre R., Nigro G., Mazzocco M., Best A.M., Adler S.P.: Placental enlargement in women with primary maternal cytomegalovirus infection is associated with fetal and neonatal disease. *Clin. Infect. Dis.* **43**, 994–1000 (2006)
49. Lackner A., Acham A., Alborn T., Moser M., Engele H., Raggam R.B., Halwachs-Baumann G., Kapitan M., Walch C.: Effect on hearing of ganciclovir therapy for asymptomatic congenital cytomegalovirus infection: four to 10 year follow up. *J. Laryngol. Otol.* **123**, 391–396 (2009)
50. Lanari M., Lazzarotto T., Venturi V., Papa I., Gabrielli L., Guerra B., Landini M.P., Faldella G.: Neonatal cytomegalovirus blood load and risk of sequelae in symptomatic and asymptomatic congenitally infected newborns. *Pediatrics*, **117**, 76–83 (2006)
51. Lazzarotto T., Brojanac S., Maine G.T., Landini M.P.: Search for cytomegalovirus-specific immunoglobulin M: comparison between a new western blot, conventional western blot, and nine commercially available assays. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **4**, 483–486 (1997)
52. Lazzarotto T., Guerra B., Gabrielli L., Lanari M., Landini M.P.: Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy. *Clin. Microbiol. Infect.* **17**, 1285–1293 (2011)
53. Lazzarotto T., Guerra B., Lanari M., Gabrielli L., Landini M.P.: New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J. Clin. Virol.* **41**, 192–197 (2008)
54. Lazzarotto T., Guerra B., Quarta S., Lanari M., Bovicelli L., Nicolosi A., Landini M.P.: Prenatal diagnosis of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **183**, 476–482 (2000)
55. Lazzarotto T., Lanari M.: Why is cytomegalovirus the most frequent cause of congenital infection? *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* **9**, 841–843 (2011)
56. Lazzarotto T., Spezzacatena P., Varani S., Gabrielli L., Pradelli P., Guerra B., Landini M.P.: Anticytomegalovirus (anti-CMV) immunoglobulin G avidity in identification of pregnant women at risk of transmitting congenital CMV infection. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **6**, 127–129 (1999)
57. Lombardi G., Garofoli F., Stronati M.: Congenital cytomegalovirus infection: treatment, sequelae and follow-up. *J. Matern. Neonatal Med.* **23**, Suppl. 3, S45–48 (2010)
58. Ludwig A., Hengel H.: Epidemiological impact and disease burden of congenital cytomegalovirus infection in Europe. *Euro Surveill.* **14**, 26–32 (2009)

59. Maidji E., Pereira L. i wsp.: Antibody treatment promotes compensation for human cytomegalovirus-induced pathogenesis and a hypoxia-like condition in placentas with congenital infection. *Am. J. Pathol.* **177**, 1298–1310 (2010)
60. Marschall M., Stamminger T.: Molecular targets for antiviral therapy of cytomegalovirus infections. *Future Microbiol.* **4**, 731–742 (2009)
61. Marshall B.C., Koch W.C.: Antivirals for cytomegalovirus infection in neonates and infants: focus on pharmacokinetics, formulations, dosing, and adverse events. *Paediatr. Drugs.* **11**, 309–321 (2009)
62. Milewska-Bobula B., Lipka B.: Congenital cytomegalovirus—advances in diagnosis and therapy. *Przegl. Epidemiol.* **63**, 79–83 (2009)
63. Mocarski E.S., Courcelle C.T., Cytomegaloviruses and their replication (w) Fields Virology, red. D.M. Knipe, P.M. Howley, D.E. Griffin, R.A. Lamb, M.A. Martin, B. Roizman, S.E. Straus, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001, s. 2629–2673
64. Munro S.C., Hall B., Whybin L.R., Leader L., Robertson P., Maine G.T., Rawlinson W.D.: Diagnosis of and screening for cytomegalovirus infection in pregnant women. *J. Clin. Microbiol.* **43**, 4713–4718 (2005)
65. Nassetta L., Kimberlin D., Whitley R.: Treatment of congenital cytomegalovirus infection: implications for future therapeutic strategies. *J. Antimicrob. Chemother.* **63**, 862–867 (2009)
66. Nelson C.T., Demmler G.J.: Cytomegalovirus infection in the pregnant mother, fetus, and newborn infant. *Clin. Perinatol.* **24**, 151–160 (1997)
67. Nigro G., Adler S.P., La Torre R., Best A.M.: Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection. *N. Engl. J. Med.* **353**, 1350–1362 (2005)
68. Nigro G., Torre R.L., Pentimalli H., Taverna P., Lituania M., de Tejada B.M., Adler S.P.: Regression of fetal cerebral abnormalities by primary cytomegalovirus infection following hyperimmunoglobulin therapy. *Prenat. Diagn.* **28**, 512–517 (2008)
69. Nyholm J.L., Schleiss M.R.: Prevention of maternal cytomegalovirus infection: current status and future prospects. *Int. J. Womens Health*, **9**, 23–35 (2010)
70. Ornoy A., Diav-Citrin O.: Fetal effects of primary and secondary cytomegalovirus infection in pregnancy. *Reprod. Toxicol.* **21**, 399–409 (2006)
71. Pass R.F., Hutto C., Lyon M.D., Cloud G.: Increased rate of cytomegalovirus infection among day care center workers. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **9**, 465–470 (1990)
72. Pass R.F., Cloud G. i wsp.: Vaccine prevention of maternal cytomegalovirus infection. *N. Engl. J. Med.* **360**, 1191–1199 (2009)
73. Pass R.F.: Development and evidence for efficacy of CMV glycoprotein B vaccine with MF59 adjuvant. *J. Clin. Virol.* **46**, Suppl. 4, S73–76 (2009)
74. Powers C., DeFilippis V., Malouli D., Früh K.: Cytomegalovirus immune evasion. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **325**, 333–359 (2008)
75. Prichard M.N., Kern E.R.: The search for new therapies for human cytomegalovirus infections. *Virus Res.* **157**, 212–221 (2011)
76. Revello M.G., Gerna G.: Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin. Microbiol. Rev.* **15**, 680–715 (2002)
77. Revello M.G., Gerna G.: Pathogenesis and prenatal diagnosis of human cytomegalovirus infection. *J. Clin. Virol.* **29**, 71–83 (2004)
78. Revello M.G., Zavattoni M., Furione M., Baldanti F., Gerna G.: Quantification of human cytomegalovirus DNA in amniotic fluid of mothers of congenitally infected fetuses. *J. Clin. Microbiol.* **37**, 3350–3352 (1999)
79. Ross D.S., Rasmussen S.A., Cannon M.J., Anderson B., Kilker K., Tumpey A., Schulkin J., Jones J.L.: Obstetrician/gynecologists' knowledge, attitudes, and practices regarding prevention of infections in pregnancy. *J. Womens Health (Larchmt)*, **18**, 1187–1193 (2009)
80. Ross D.S., Victor M., Sumartojo E., Cannon M.J.: Women's knowledge of congenital cytomegalovirus: results from the 2005 HealthStyles survey. *J. Womens Health (Larchmt)*, **17**, 849–858 (2008)
81. Schleiss M.R.: Cytomegalovirus vaccine development. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **325**, 361–382 (2008)
82. Schleiss M.R.: The role of the placenta in the pathogenesis of congenital cytomegalovirus infection: is the benefit of cytomegalovirus immune globulin for the newborn mediated through improved placental health and function? *Clin. Infect. Dis.* **43**, 1001–1003 (2006)
83. Sharland M., Luck S., Griffiths P., Cotton M.: Antiviral therapy of CMV disease in children. *Adv. Exp. Med. Biol.* **697**, 243–260 (2011)
84. Sinclair J., Sissons P.: Latency and reactivation of HCMV. *J. Gen. Virol.* **87**, 1763–1779 (2006)
85. Sinzger C., Jahn G.: Human cytomegalovirus cell tropism and pathogenesis. *Intervirology*, **39**, 302–319 (1996)
86. Slobedman B., Mocarski E.S.: Quantitative analysis of latent human cytomegalovirus. *J. Virol.* **73**, 4806–4812 (1999)
87. Stagno S., Pass R.F., Dworsky M.E., Alford C.A.: Maternal cytomegalovirus infection and perinatal transmission. *Clin. Obstet. Gynecol.* **25**, 563–576 (1982)
88. Stagno S., Pass R.F., Cloud G., Britt W.J., Henderson R.E., Walton P.D., Veren D.A., Page F., Alford C.A.: Primary cytomegalovirus infection in pregnancy. Incidence, transmission to fetus, and clinical outcome. *JAMA*, **256**, 1904–1908 (1986)
89. Stagno S., Reynold D.W., Pass R.F., Alford C.A.: Breast milk and the risk of cytomegalovirus infection. *N. Engl. J. Med.* **302**, 1073–1076 (1980)
90. Stagno S.: Breastfeeding and the transmission of cytomegalovirus infections. *Ital. J. Pediatr.* **28**, 275–280 (2002)
91. Staras S.A., Dollard S.C., Radford K.W., Flanders W.D., Pass R.F., Cannon M.J.: Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988–1994. *Clin. Infect. Dis.* **43**, 1143–1151 (2006)
92. Stinski M. F., Isomura H.: Role of the cytomegalovirus major immediate early enhancer in acute infection and reactivation from latency. *Med. Microbiol. Immunol.* **197**, 223–231 (2008)
93. Stinski M.F., Cytomegalovirus and its replication (w) Virology. 2nd edition, red. B.N. Fields, D.M. Knipe, Raven Press, New York, 1990, s. 1959–1980
94. Sweet C.: The pathogenicity of cytomegalovirus. *FEMS Microbiol. Rev.* **23**, 457–482 (1999)
95. Sylwester A.W., Picker L.J. i wsp.: Broadly targeted human cytomegalovirus-specific CD4+ and CD8+ T cells dominate the memory compartments of exposed subjects. *J. Exp. Med.* **202**, 673–685 (2005)
96. Torres-Madriz G., Boucher H.W.: Immunocompromised hosts: perspectives in the treatment and prophylaxis of cytomegalovirus disease in solid-organ transplant recipients. *Clin. Infect. Dis.* **47**, 702–711 (2008)
97. Vauloup-Fellous C., Picone O., Cordier A.G., Parent-du-Châtelet I., Senat M.V., Frydman R., Grangeot-Keros L.: Does hygiene counseling have an impact on the rate of CMV primary infection during pregnancy? Results of a 3-year prospective study in a French hospital. *J. Clin. Virol.* **46**, Suppl. 4, S49–53 (2009)
98. Yamamoto A.Y., Mussi-Pinhata M.M., Marin L.J., Brito R.M., Oliveira P.F., Coelho T.B.: Is saliva as reliable as urine for detection of cytomegalovirus DNA for neonatal screening of congenital CMV infection? *J. Clin. Virol.* **36**, 228–230 (2006)