

Received: 2012.11.09  
Accepted: 2013.05.21  
Published: 2013.09.11

## Zakażenia adenowirusami u pacjentów z zaburzeniami odporności\*

### Adenovirus infection in immunocompromised patients

Sylwia Rynans, Tomasz Dzieciatkowski, Grażyna Młynarczyk

Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

#### Streszczenie

Ludzkie adenowirusy, należące do rodziny *Adenoviridae*, zostały zaklasyfikowane do siedmiu gatunków, liczących razem 56 podtypów. Adenowirusy są szeroko rozpowszechnione w populacji ludzkiej, przy czym rzadko są związane z zakażeniami zagrażającymi życiu pacjentów immunokompetentnych. Mogą natomiast wywoływać wiele chorób groźących dużą śmiertelnością wśród pacjentów poddanych transplantacji komórek krwiotwórczych oraz narządów unaczynionych, osób zakażonych HIV oraz u ludzi z pierwotnymi zaburzeniami odporności. Zakażenia te mogą przebiegać od bezobjawowej wirerii, poprzez choroby układu oddechowego oraz pokarmowego, krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego, po ciężkie zakażenia uogólnione. Jak dotąd nie ma zatwierdzonej terapii zakażeń adenowirusowych.

W pracy omówiono obecny stan wiedzy na temat patogenyzy tych zakażeń oraz dostępnych metod diagnostycznych i opcji terapeutycznych.

#### Słowa kluczowe:

zakażenie adenowirusowe • pacjenci z zaburzeniami odporności

#### Summary

Human adenoviruses belong to the *Adenoviridae* family and they are divided into seven species, including 56 types. Adenoviruses are common opportunistic pathogens that are rarely associated with clinical symptoms in immunocompetent patients. However, they are emerging pathogens causing morbidity and mortality in recipients of hematopoietic stem cell and solid organ transplants, HIV infected patients and patients with primary immune deficiencies. Clinical presentation ranges from asymptomatic viraemia to respiratory and gastrointestinal disease, haemorrhagic cystitis and severe disseminated illness. There is currently no formally approved therapy for the treatment of adenovirus infections.

This article presents current knowledge about adenoviruses, their pathogenicity and information about available methods to diagnose and treat adenoviral infections.

#### Key words:

adenoviral infection • immunocompromised patients

#### Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1066199>

#### Word count:

3899

#### Tables:

1

#### Figures:

1

#### References:

44

\*Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/01/N/NZ5/02805.

**Adres autorki:** mgr Sylwia Rynans, Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa; e-mail: sylwia.rynans@gmail.com

**Wykaz skrótów:** **A549** – linia ludzkich komórek raka płuc; **AIDS** – zespół nabytego niedoboru odporności (acquired immune deficiency syndrome); **CAR** – receptor coxsackie-adenowirusowy (coxsackie-adenovirus receptor); **CMV** – wirus cytomegalii (cytomegalovirus); **CPE** – efekt cytopatyczny (cytopathic effect); **E** – geny wczesne (early genes); **GVHD** – choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (graft-versus-host disease); **HAART** – bardzo aktywna terapia antyretrowirusowa (highly active antiretroviral therapy); **HAdV** – adenowirus ludzki (human adenovirus); **HC** – krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego (haemorrhagic cystitis); **HeLa** – linia ludzkich komórek nabłonkowych pochodzących z raka szyjki macicy (human epithelial carcinoma cell line); **HEK** – linia embrionalnych komórek nerki ludzkiej (human embryonic kidney cell line); **Hep-2** – linia hodowlanych komórek raka krtani (human laryngeal carcinoma cell line); **HIV** – ludzki wirus niedoboru odporności (human immunodeficiency virus); **HSCT** – allogeniczna transplantacja komórek krwiotwórczych (hematopoietic stem cell transplantation); **L** – geny późne (late genes); **PCR** – łańcuchowa reakcja polimeryzacji (polymerase chain reaction); **qPCR** – (quantitative PCR) czyli PCR w czasie rzeczywistym (real-time PCR); **SBT** – transplantacja jelita cienkiego (small bowel transplantation); **SCID** – zespół ciężkiego złożonego niedoboru odporności (severe combined immunodeficiency); **SOT** – transplantacja narządów unaczynionych (solid organ transplantation).

## WPROWADZENIE

Wzrost liczby osób zakażonych HIV, częstsze występowanie chorób nowotworowych oraz coraz szersze wykorzystywanie metod terapii, takich jak leczenie immunosupresyjne czy też chemio- i radioterapia są uznawane za przyczynę zwiększającego się rozpowszechnienia zaburzeń odporności. Pacjenci z niesprawnym układem immunologicznym są w większym stopniu narażeni na różne zakażenia bakteryjne, wirusowe czy też grzybicze. Znaczny odsetek zakażeń w tej grupie chorych spowodowany jest przez ludzkie adenowirusy (HAdV), przede wszystkim ze względu na ich szerokie rozpowszechnienie w populacji [34]. U pacjentów immunokompetentnych, choroby wywołane przez adenowirusy zwykle ustępują samoistnie i mogą być powiązane z lekkimi chorobami układu oddechowego, pokarmowego czy też z zapaleniem spojówek. Z kolei u 20-50% osób z niedoborami immunologicznymi wirusy te wywołują wiele chorób [19]. Transmisja HAdV odbywa się drogą kropelkową, fekalno-oralną, poprzez kontakt z zakażonymi tkankami lub krwią, a także przez bezpośredni kontakt wirusa ze spojówką oka. Okres inkubacji zależy od typu wirusa i wynosi od dwóch dni do dwóch tygodni. Po zakażeniu pierwotnym ustala się zakażenie przetrwałe (persystentne), co przy obniżeniu odporności może powodować reaktywację wirusa oraz rozwój pełnoobjawowego zakażenia endogennego. W przypadku biorców przeszczepów zakażenia adenowirusowe mogą być także spowodowane przez kontakt *de novo* z wirusem [19]. Zakażenia HAdV mogą być bezobjawowe lub wywoływać miejscowe choroby, takie jak zapalenie jelit, zapalenie górnych dróg oddechowych czy też zapalenie pęcherza moczowego. Zakażenia te mogą być inwazyjne, a rozprzestrzenianie się chorób może powodować wysoką śmiertelność [26].

## CHARAKTERYSTYKA ADENOWIRUSÓW

Adenowirusy należą do rodziny *Adenoviridae*. Ich nazwa pochodzi od tkanki adenoidalnej, w której zostały wykryte po raz pierwszy w 1953 r. [27]. Wyróżniamy dwie podrodziny *Adenoviridae*: adenowirusy ptaków (*Aviadenovirus*) oraz adenowirusy ssaków (*Mastadenovirus*). Obecnie znanych jest 56 typów adenowirusa ludzkiego, wykazujących zróżnicowany tropizm tkankowy [18,32,41,42]. Zaklasyfikowano je do 7 gatunków oznaczonych literami od A do G na podstawie homologii DNA, a także zdolności do hemaglutynacji oraz właściwości onkogennych u gryzoni (tab. 1) [19]. Gatunki C, E, a także niektóre B zakażają dolne i górne drogi oddechowe, pozostałe wirusy z gatunku B układ moczowy. Gatunki A, F i G powodują choroby układu pokarmowego, natomiast gatunek D adenowirusa wywołuje zakażenia oczu oraz zaburzenia jelitowe.

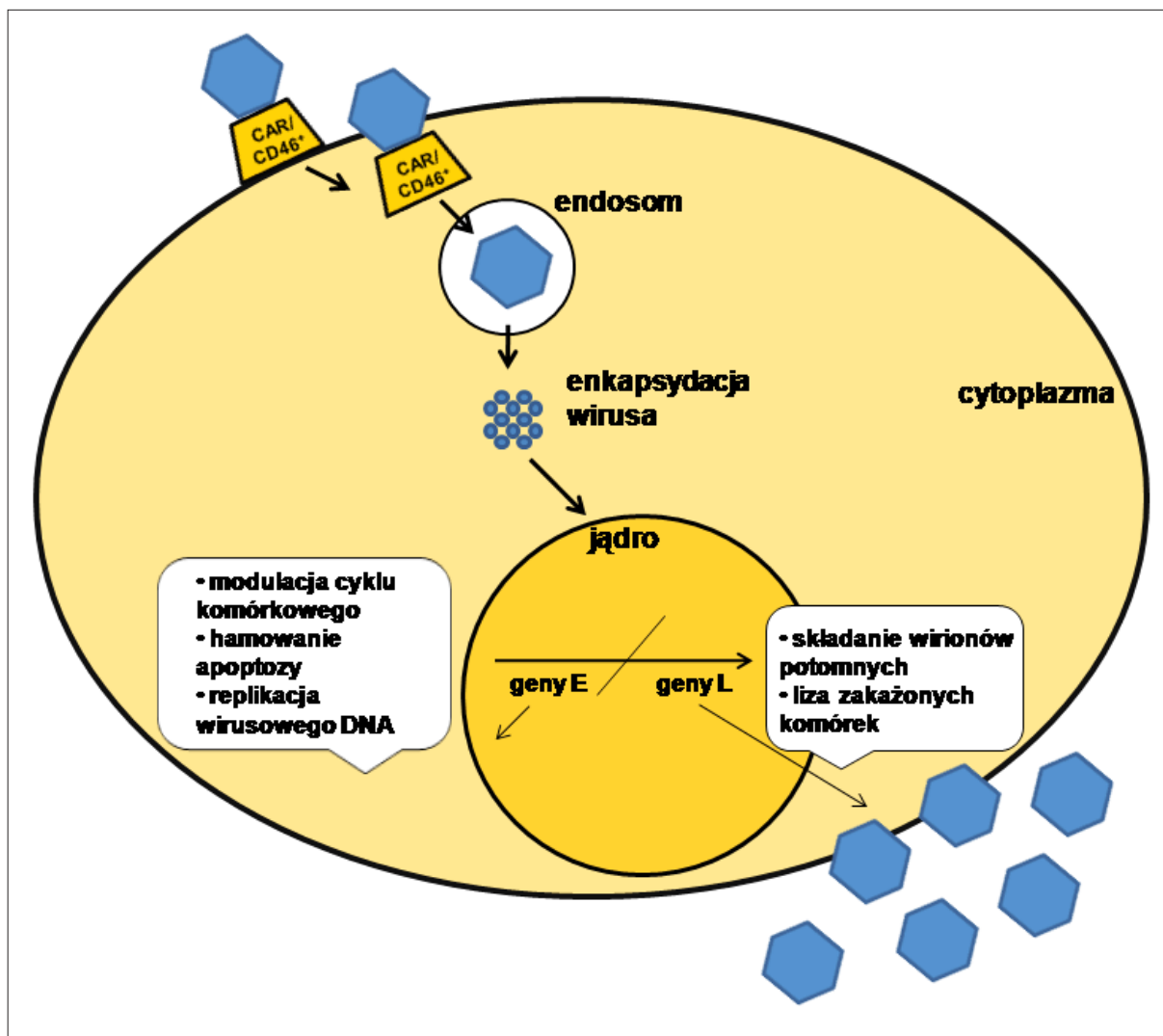
**Tabela 1.** Klasyfikacja adenowirusów ludzkich

Gatunek	Typ wirusa	Miejsce zakażenia
A	12, 18, 31	układ pokarmowy
B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50, 55	układ oddechowy układ moczowy
C	1, 2, 5, 6	układ oddechowy
D	8, 9, 10, 13, 15, 17, 19, 22, 23, 24, 26, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 38, 39, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 53, 54, 56	oczy układ pokarmowy
E	4	układ oddechowy
F	40, 41	układ pokarmowy
G	52	układ pokarmowy

Genom adenowirusów to liniowy, dwuniciowy DNA zawierający ~ 30-35 tysięcy par zasad. DNA otoczony jest ikozaedralem, bezpośrednio oddziałującym z komórkami gospodarza. Kapsyd osiągnący ~ 65-80 nm średnicy, zbudowany jest z 252 kapsomerów: 240 heksonów oraz 12 pentonów. Heksony tworzące ściany boczne są trimerami trzech identycznych łańcuchów polipeptydowych zbudowanych z trzech segmentów: centralnie położonego regionu zmiennego oraz dwóch konserwatywnych regionów flankujących. Regiony konserwatywne heksonu wśród poszczególnych gatunków adenowirusów wykazują 91-96% homologii. Każdy penton ma na szczycie wysunięte na zewnątrz trimerowe włókno, którego domeny wykazują zdolność do wiązania odpowiednich receptorów komórkowych [2].

Adenowirusy dostają się do komórek ludzkich przez znajdujący się na ich powierzchni receptor coxsackie-adenowirusowy (CAR) (ryc. 1).

Wyjątkiem są adenowirusy należące do gatunku B, które nie wykorzystują CAR, a oddziaływanie z komórką docelową odbywa się poprzez receptor CD46 [24]. Także typy 8, 19 i 37 gatunku D częściej wiążą się poprzez kwas siarowy niż CAR. W kolejnym etapie białko kapsydu wirusa wiąże się z integrzynami stanowiącymi receptory drugorzędowe. Adenowirusy wnikają do komórki za pośrednictwem endocytozy, a następnie transportowane są w kierunku jądra komórkowego poprzez sieć mikrotubul. W jądrze komórkowym następuje ekspresja genów wirusowych. W wyniku transkrypcji, a następnie translacji, powstają cząsteczki budujące kapsyd; jednocześnie przebiega proces replikacji wirusowego DNA. W wyniku ekspresji genów kodujących białka niestrukturalne powstają produkty genów wczesnych (E1-E4) oraz genów późnych (L1-L5). Produkty genów wczesnych pośredniczą w ekspresji genów i replikacji DNA, są inhibitorami procesu apoptozy oraz przeciwdziałają różnym czynnikiem przeciwwirusowym gospodarza, gdyż mogą hamować aktywację czynników transkrypcyjnych



Ryc.1. Cykl replikacyjny adenowirusów (wg [24]; zmodyfikowano)

genów indukowanych przez interferon. Produkty genów późnych biorą udział w składaniu nowych wirionów oraz uwalnianiu ich na zewnątrz zakażonej komórki. Adenowirusy zakażają następane komórki nie integrując przy tym swojego DNA do genomu gospodarza [10].

### **ZAKAŻENIA ADENOWIRUSOWE U PACJENTÓW Z WRODZONYMI NIEDOBORAMI ODPORNOŚCI**

Zakażenia adenowirusami ludzkimi u osób z wrodzonymi niedoborami odporności stwierdzone są głównie u pacjentów z zespołem ciężkiego złożonego niedoboru odporności (SCID). Upośledzenie zarówno odpowiedzi komórkowej, jak i humoralnej sprawia, iż pacjenci ze SCID są bardzo podatni na zakażenia HAdV, jak i innymi czynnikami biologicznymi. Niemowlęta ze SCID chorują zazwyczaj przed ukończeniem trzeciego miesiąca życia, co związane jest z wysoką śmiertelnością, zwłaszcza jeżeli w szybkim czasie nie nastąpi przeszczep szpiku kostnego. Wczesna diagnoza, udoskonalenie technik transplantacji komórek krwiotwórczych oraz odpowiednia terapia powikłań zakażeń zwiększają szanse przeżycia do 71% [40]. Zakażenia adenowirusami u tych pacjentów powodują nawracające zakażenia układu oddechowego, zakażenia uogólnione oraz zgon. Szacuje się, że śmiertelność wśród pacjentów ze SCID zakażonych HAdV może przewyższać 55%, aczkolwiek dane o zakażeniach adenowirusowych u pacjentów z wrodzonymi niedoborami odporności są niepełne, gdyż oparte są głównie na opisach przypadków. Zakażenia HAdV u pacjentów ze SCID mogą się rozwijać w płucach, wątrobie czy też nerkach, powodując zapalenie płuc, zapalenie oskrzelików, zapalenie wątroby lub choroby przewodu pokarmowego [9]. Istnieje kilka doniesień mówiących o zakażeniach HAdV u pacjentów z agammaglobulinemią Burтона, zespołem DiGeorge'a oraz innymi rzadkimi zespołami upośledzenia odporności [37,44].

### **ZAKAŻENIA ADENOWIRUSOWE U BIORCÓW NARZĄDÓW UNACZYNIONYCH**

U biorców przeszczepów narządów unaczynionych (SOT) pierwotnym miejscem zakażenia HAdV jest zazwyczaj przeszczepiany narząd. Zakażenia adenowirusami mogą się pojawiać u pacjentów po transplantacji nerki, wątroby, jelita cienkiego, serca czy też płuc i objawiać zapaleniem płuc, zapaleniem wątroby, krwotocznym zapaleniem pęcherza moczowego, zapaleniem jelit czy też zakażeniem uogólnionym. Perspektywne badania osób po transplantacji narządów unaczynionych wykazują, że do rozwoju wirerii dochodzi w około 8% przypadków, a w 58% przypadków zakażenia są bezobjawowe, a wiremia krótkotrwała i mająca tendencje do samoograniczenia. Zakażenia HAdV u biorców SOT występują rzadziej niż u biorców szpiku kostnego, aczkolwiek w obu przypadkach najcięższy przebieg zakażeń stwierdzany jest u pacjentów pediatrycznych [9].

Zakażenia HAdV u biorców SOT pojawiają się zazwyczaj u dzieci 2,5-3,5-letnich w ciągu 1,5 do 2 miesięcy po przeszczepie. Większość zakażeń przebiega bezobja-

wowo i ustępuje samoistnie, wymagając jedynie redukcji immunosupresji. Przy objawach klinicznych zakażenia, dochodzi często do rozwoju stanu chorobowego w przeszczepionym organie. Czynnikiem ryzyka zakażenia uogólnionego jest leczenie immunosupresyjne z użyciem muromonabu-CD3 lub immunoglobuliny antyty-mocytarnej [15].

Zakażenie adenowirusowe po transplantacji jelita cienkiego (SBT) rozwija się prawie u 24% pacjentów pediatrycznych w ciągu sześciu miesięcy po przeszczepieniu. Najczęściej dochodzi do rozwoju zapalenia jelit, a podawanie leków immunosupresyjnych może sprzyjać odrzuceniu przeszczepu. Jak dotąd nie odnotowano zakażeń HAdV u osób dorosłych poddanych transplantacji jelita, dlatego też uważa się, że młodszy wiek jest znaczącym czynnikiem ryzyka rozwoju zakażenia. Intensywna immunosupresja w pierwszych tygodniach po zabiegu transplantacji może być przyczyną rozwoju zakażeń we wczesnym okresie poprzyszczepowym. Przyczyną odrzucenia przeszczepu jest najprawdopodobniej uruchomienie kaskady cytokin oraz aktywacja komórkowej odpowiedzi immunologicznej w odpowiedzi na zakażenie wirusem. W przypadku gdy biorca w odróżnieniu od dawcy nie ma w organizmie przeciwciał przeciwko wirusowi cytomegalii (CMV), a ryzyko zakażenia CMV jest bardzo wysokie, zauważono zmniejszone ryzyko zakażeń adenowirusowych. Zjawisko to jak dotąd nie zostało wyjaśnione [11].

Adenowirusy zakażają prawie 12% pacjentów poddanych przeszczepieniu nerki, ale trudno jest jednoznacznie określić liczbę pacjentów, u których doszło do rozwoju zakażenia w korelacji z obecnością wirusa w moczu. Zakażenie adenowirusami ludzkimi u biorców nerek może powodować krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego (HC) oraz zapalenie nerek, za które odpowiadają najczęściej typy 11, 34 oraz 35 HAdV. U wielu pacjentów, u których przed transplantacją nie wykryto przeciwciał skierowanych przeciwko HAdV-11, rozwój zakażenia następuje zaraz po przeszczepie, co może świadczyć o przeniesieniu zakażenia z dawcy na biorcę. W ciągu kilku tygodni do kilku miesięcy po przeszczepie zdarzają się przypadki reaktywacji wirusa [21].

U biorców przeszczepów wątroby adenowirusy ludzkie powodują najczęściej żółtaczkę, hepatomegalię oraz zapalenie wątroby [9]. Częstość zakażeń HAdV u pacjentów poddanych transplantacji wątroby waha się 5,8-11%, z czego większość zakażeń dotyczy dzieci. Adenowirusy powodują u pacjentów pediatrycznych zapalenie wątroby w 2-4% przypadków, z czego połowa kończy się nekrozą oraz niewydolnością wątroby. Z zapaleniem wątroby u biorców SOT związane są najczęściej typy 1, 2 i 5 HAdV, które u pacjentów immunokompetentnych powodują zakażenia górnych dróg oddechowych [21]. Zakażenie HAdV-5 powoduje rozwój zapalenia wątroby około 55 dnia po transplantacji, natomiast adenowirusy typu 1 i 2 związane są głównie z zapaleniem płuc [19]. Zapalenie wątroby może być wynikiem reaktywacji lub

transmisji zakażenia z dawcy na biorcę. U wielu pacjentów po przeszczepieniu wątroby adenowirusy mogą powodować zapalenie płuc, które przechodzi w zakażenie uogólnione mogące prowadzić do niewydolności wielonarządowej [21].

Zakażenia HAdV po przeszczepieniu serca mogą powodować waskulopatię oraz odrzucenie organu. Powiązanie z zakażeniem HAdV, a odrzuceniem przeszczepu obserwowano także u pacjentów poddanych transplantacji płuc. U większości tych pacjentów, w przebiegu zakażenia adenowirusami ludzkimi, dochodzi do niewydolności oddechowej [21].

Zebrane dane wskazują, że nie ma jednego schematu reaktywacji HAdV prowadzącej do rozwoju chorób po zabiegach transplantacji narządów unaczynionych. Zakażenia pierwotne pojawiają się głównie u dzieci, gdyż mogły one nie mieć kontaktu z wieloma szczepami wirusa, a ich układ immunologiczny nie jest w pełni rozwinięty. Objawy kliniczne zakażenia pojawiają się wcześniej po zabiegu transplantacji, co sugeruje reaktywację endogennej postaci wirusa. Może także dojść do przeniesienia zakażenia z dawcy na biorcę, dlatego też oznaczenia serologiczne przed transplantacją są konieczne w celu weryfikacji możliwości transmisji HAdV [21].

#### **ZAKAŻENIA ADENOWIRUSOWE U BIORCÓW ALLOGENICZNYCH PRZESZCZEPÓW KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH**

W ostatnich latach zauważono wzrost częstości zakażeń adenowirusowych u pacjentów dotkniętych złośliwymi nowotworami układu krążenia i krwi, poddanych allogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych (HSCT). Związane jest to z lepszym poznaniem HAdV, zwiększeniem czułości metod diagnostycznych oraz wprowadzeniem systematycznych badań wśród ludności. Na częstość zakażeń wpływa wiek, typ zastosowanej metody kondycjonowania biorcy, a także czułość metody wykorzystanej w diagnostyce [9]. Zakażenia adenowirusowe rozwijają się zazwyczaj w ciągu 10 tygodni po transplantacji, a ich częstość może sięgać 19-27% [33]. Objawy ze strony układu pokarmowego dotyczą głównie dzieci po HSCT, natomiast u dorosłych biorców allogenicznych komórek krwiotwórczych najczęściej dochodzi do rozwoju zakażeń górnych i dolnych dróg oddechowych [10].

Na adenowirusowe zakażenia układu oddechowego są szczególnie narażeni pacjenci po zabiegu transplantacji. U pacjentów hematologicznych poddanych przeszczepieniu szpiku kostnego, jest to najczęściej występujące zakażenie HAdV. Tempo rozwoju zakażenia zależy od rodzaju i lokalizacji nowotworu, a także rodzaju zastosowanej chemioterapii [21]. Zakażenie układu oddechowego adenowirusami ludzkimi jest też częstą przyczyną zapalenia płuc. W badaniu przeprowadzonym u 57 pacjentów po transplantacji komórek krwiotwórczych spośród 11 pacjentów, u których wykryto zakażenie HAdV, u 7 osób doszło do rozwoju zapalenia płuc mię-

dzy 14 a 87 dniem po transplantacji [33]. Szacuje się, że adenowirusy odpowiedzialne są za 50-80% zgonów u pacjentów po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych. W badaniach przeprowadzonych przez Howarda i wsp., na 14 pacjentów, chorych na śródmiąższowe zapalenie płuc, zmarło 10. Materiał do badań wyizolowany został z płuc, popłuczyn oskrzelowych oraz aspiratów tchawiczych [17]. Zapalenia płuc u pacjentów po przeszczepieniu szpiku kostnego wywołują najczęściej typy 1, 2, 5, 29, 31 oraz 35 HAdV [21].

Adenowirusy zaklasyfikowane do gatunku F, głównie typ 40 i 41, odpowiadają za 10-15% przypadków biegunki u pacjentów hematologicznych. U pacjentów po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych niektóre adenowirusy grupy B i C mogą wywoływać także krwotoczne zapalenie okrężnicy, które łatwo pomylić z chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi (GVHD) czy też z zapaleniem okrężnicy spowodowanym przez *Clostridium difficile*. Choroby te mogą być dla pacjentów groźne i prowadzić nawet do śmierci [19,21]. Zakażenia układu pokarmowego u dzieci z obniżoną odpornością początkowo objawiające się biegunką, mogą się rozwinąć do inwazyjnej choroby z krwotocznym zapaleniem okrężnicy [41]. U pacjentów hematologicznych po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych zdarzają się też przypadki zapalenia wątroby, wywołanego zakażeniem adenowirusowym. Ostra niewydolność wątroby występuje rzadko, aczkolwiek stanowi wyzwanie zarówno diagnostyczne, jak i terapeutyczne. We wczesnym stadium choroby u pacjentów pojawiają się mało swoiste symptomy, takie jak gorączka czy też skurcze brzucha, które często nie pozwalają na postawienie prawidłowej diagnozy [29].

Neuroinfekcje o etiologii HAdV u pacjentów hematologicznych pojawiają się w wyniku zakażenia ogólnoustrojowego. Adenowirusy mogą powodować aseptyczne zapalenie opon mózgowych, choć niektóre typy wirusa, takie jak HAdV-7, są często odpowiedzialne za ostre zapalenie opon mózgowych i mózgu. Innymi schorzeniami układu nerwowego wywołanymi przez adenowirusy są: zapalenie rdzenia kręgowego, podostre ogniskowe zapalenie mózgu czy też zespół zbliżony do zespołu Reye'a [36]. Przejściowe zapalenie mózgu związane z zakażeniem HAdV może przebiegać w różny sposób, natomiast pozostałe objawy neurologiczne mają zwykle łagodny przebieg. Wszystkie jednak mogą być śmiertelne, dlatego też szybka i prawidłowa diagnostyka tych chorób jest bardzo ważna [7].

Krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego związane z zakażeniem adenowirusowym może być spowodowane przez adenowirusy typu 3, 7, 11, 21, 34 oraz 35. HC wywołane przez HAdV rozwija się w późnym okresie przeszczepowym i jest poważnym problemem u pacjentów po transplantacji szpiku kostnego [3]. Ze względu na ryzyko dysfunkcji przeszczepionych nerek w leczeniu stosuje się rybawirynę lub steroidy [16]. Większość przypadków krwotocznego zapalenia pęcherza po HSCT



ustępuje samoistnie, ale występujące przy tym ból i osłabienie są przyczyną przedłużonej hospitalizacji. HC u pacjentów hematologicznych objawia się hematurią, niekiedy nagłym oraz bolesnym oddawaniem moczu. Szacuje się, że krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego rozwija się u 15-25% pacjentów po transplantacji szpiku kostnego [21]. Ryzyko rozwoju HC zwiększa występowanie GVHD [23].

U pacjentów po HSCT może dojść do rozwoju zakażeń uogólnionych, które są powiązane głównie z zapaleniami płuc. U osób tych wiremia HAdV jest zazwyczaj wyższa, aczkolwiek nie jest to powiązane z wyższą śmiertelnością. Może to być związane z szybkim wprowadzeniem odpowiedniej terapii [4]. U pacjentki z ogólnoustrojowym zakażeniem HAdV, u której wirus został wykryty w większości próbek surowicy oraz moczu pobranych podczas przedłużonej hospitalizacji, po wprowadzeniu terapii rybawiryną zaobserwowano spadek wirerii oraz ustąpienie objawów klinicznych zakażenia [38]. U pacjentów hematologicznych w wyniku rozprzestrzeniania ogólnoustrojowo adenowirusów, które wraz z limfocytami dostają się do miocytów, może dojść do rozwoju zapalenia mięśnia sercowego. U dorosłych pacjentów choroba w postaci przewlekłej powoduje powolne uszkodzenie serca oraz kardiomiopatię rozstrzeniową [35]. Ogólnoustrojowe zakażenie HAdV u dzieci z zaburzeniami odporności charakteryzuje się nawet 60% śmiertelnością, z czego największe ryzyko zgonu występuje jeżeli doszło do rozwoju zapalenia płuc lub zapalenia wątroby. Chociaż współczynnik zgonu przy zakażeniach uogólnionych jest wysoki należy pamiętać, że wielu pacjentów wykazuje także inne czynniki ryzyka zgonu. Do najcięższych objawów zakażenia ogólnoustrojowego zaliczyć można choroby układu oddechowego, począwszy od lekkich zakażeń dolnych dróg oddechowych po ostre zapalenie płuc z niewydolnością oddechową włącznie [41].

### ZAKAŻENIA ADENOWIRUSOWE U OSÓB ZAKAŻONYCH HIV

Zakażenia HAdV u pacjentów chorych na zespół nabytego upośledzenia odporności organizmu (AIDS) mogą powodować zapalenia płuc, wątroby, opon i mózgu, nerek, przyusznic, trzustki, a także choroby układu pokarmowego oraz często śmiertelne zakażenia uogólnione [21]. Według badań prowadzonych przez Khoo i wsp., ryzyko zakażenia HAdV w pierwszym roku chorowania na AIDS wynosi ~ 28% w zależności od poziomu limfocytów CD4 (17% jeśli  $CD4 > 200 \text{ mm}^3$ ; 38% jeśli  $CD4 < 200/\text{mm}^3$ ) [20].

Większość ostatnio opisanych adenowirusów należących do gatunku D zostało wyizolowanych po raz pierwszy od pacjentów zakażonych HIV. HAdV-D są bardzo rzadko izolowane od pacjentów immunokompetentnych oraz pacjentów z innymi zaburzeniami odporności. U pacjentów chorych na AIDS najpowszechniejsze są zakażenia typami 9,17, 20, 22, 23, 26, 42 oraz 51. Sugeruje się, że przedłużające się zakażenie charakterystyczne

dla pacjentów z AIDS sprzyja występowaniu mutacji szczepów, co może wyjaśnić nadzwyczajną częstość oraz różnorodność adenowirusów gatunku D zakażających ich układ pokarmowy. Chociaż u osób zakażonych HIV zazwyczaj rozwija się łatwe do zdiagnozowania zakażenie objawowe, znaczenie patogenetyczne zakażenia HAdV pacjentów chorych na AIDS jest nieznanne [8].

Ponieważ zakażenia innymi mikroorganizmami są u pacjentów zakażonych HIV powszechne, trudno jest ustalić bezpośredni wpływ zakażenia adenowirusami na zgon. W ostatnich latach wraz z wprowadzeniem aktywnej terapii antyretrowirusowej (HAART) znacznie spadła liczba zakażeń adenowirusowych u pacjentów chorych na AIDS [9].

### DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ ADENOWIRUSOWYCH

Rozpoznanie zakażeń HAdV w oparciu jedynie o objawy kliniczne jest bardzo trudne, gdyż symptomy zakażenia są identyczne jak w innych zakażeniach wirusowych czy też bakteryjnych [31]. Rozważając aspekty epidemiologiczne, bakteriologiczne oraz wirusologiczne ważne jest, aby postawić pełną i prawidłową diagnozę. Do wykrywania zakażeń adenowirusowych służą metody angażujące kultury komórkowe, mikroskopię elektronową i metody serologiczne, metody immunomorfologiczne oraz obecnie najpowszechniej stosowane techniki molekularne.

„Złotym standardem” w diagnostyce zakażeń HAdV była dawniej izolacja i szybka identyfikacja wirusa w próbce klinicznej. Materiałem klinicznym wykorzystywanym w diagnostyce były najczęściej moczu, surowica, popłuczyny oskrzelowe oraz próbki tkanek. Próbkę te można było przechowywać w temperaturze  $-70^\circ\text{C}$  bez utraty żywotności adenowirusa [21]. Do pobranego materiału dodawano antybiotyki, następnie zakażano kulturę komórkową i między 2 a 21 dniem od zakażenia obserwowano efekt cytopatyczny (CPE). W kulturach *in vitro* używano linii komórkowych: HeLa, HEK, Hep-2 oraz A549. Proliferację wirusa w kulturze komórkowej identyfikowano za pomocą reakcji dopełniacza lub odczynu neutralizacji. Dzięki wykorzystaniu CPE można było wykryć zakażenie wirusem konkretnych tkanek, jednak metoda ta nie była wystarczająco wrażliwa, aby wykrywać małą liczbę cząsteczek wirusa znajdujących się we krwi obwodowej. Metoda ta była także zbyt kosztowna oraz czasochłonna [2].

Charakterystyczna morfologia adenowirusów umożliwia ich szybkie wykrycie z użyciem mikroskopii elektronowej. Jest to metoda czuła, a ponadto umożliwia obserwację CPE i zmian degeneracyjnych w obserwowanych fragmentach tkanek [1]. Z kolei metody serologiczne, takie jak test zahamowania hemaglutynacji czy odczyn neutralizacji, pozwalają na swoistą identyfikację konkretnych antygenów wirusowych. Do wykrywania adenowirusów wykorzystywane są także odczyny: immunoenzymatyczny, radioimmunologiczny czy też immunofluorescencji pośredniej lub bezpośredniej.

Testy serologiczne są jednak czasochłonne i nie pozwalają na odróżnianie wszystkich typów ludzkiego adenowirusa. Często także ilość dostępnego materiału klinicznego jest zbyt mała, by wykonać odpowiednie badanie. Dlatego też coraz częściej stosowane są wrażliwsze i wysoce swoiste metody biologii molekularnej. Stosowana początkowo hybrydyzacja kwasów nukleinowych została obecnie skutecznie zastąpiona przez łańcuchową reakcję polimerizacji (PCR) [6,28].

PCR umożliwia powielenie materiału genetycznego wirusa dzięki obecności specyficznych starterów. Dzięki tej reakcji możliwe jest wykrycie wszystkich adenowirusów ludzkich, ponieważ region transaktywujący genu E1A oraz region N-końcowy genu kodującego białko heksonu są wysoce konserwatywne w obrębie wszystkich typów HAdV [5,31]. DNA wirusa metodą PCR można wykryć w próbkach krwi, ale także kału, płwociny czy też fragmentów narządów [27]. Dzięki PCR można także wykryć zakażenie adenowirusem u pacjentów niewykazujących żadnych objawów zakażenia, gdyż wirusowe DNA może się znajdować we krwi nawet 3 tygodnie przed pojawieniem się klinicznych objawów zakażenia [19].

Standardowa PCR, pozwala powielać wybrany fragment DNA ponad milion razy, w obecności innych sekwencji. Jednak głównym mankamentem tej reakcji jest brak dokładnej informacji o ilości produktu, ponieważ PCR rzadko przebiega ze 100% wydajnością. Ma to związek ze zmienną wydajnością amplifikacji między kolejnymi cyklami oraz obecnością inhibitorów reakcji, zwłaszcza w jej ostatnich etapach. Korelacja pomiędzy końcowym stężeniem produktu, a początkową liczbą cząsteczek matrycowego DNA jest ograniczona. Jest to spowodowane tym, iż na etapie oznaczenia ilościowego, kiedy reakcja osiąga maksimum wydajności, następuje wyczerpanie reagentów i stopniowa inaktywacja polimerazy, co sprawia, że konwencjonalny PCR przestaje mieć charakter eksponentialny. Zastosowanie PCR w czasie rzeczywistym (real-time PCR; qPCR), pozwala przewyżczyć te ograniczenia. Real-time PCR wymaga minimalnej liczby kopii matrycy oraz pozwala określić dokładną liczbę kopii DNA wirusa [27]. Podczas qPCR następuje powielenie swoistej sekwencji DNA znajdującej się w próbce, a postęp tego procesu monitorowany jest za pomocą technologii fluorescencji [39]. Oprócz zwiększenia czułości metody, użycie qPCR minimalizuje ryzyko kontaminacji próbek oraz eliminuje poamplifikacyjną obróbkę produktu.

Monitorowanie obecności wirusa przez częste oznaczanie liczby jego kopii w materiale klinicznym technikami ilościowymi, pozwala także na badanie skuteczności terapii przeciwwirusowej. Znacząc ilościowy wynik badania łatwiej jest podjąć decyzję o zmniejszeniu dawek leków przeciwwirusowych w razie pojawienia się działań niepożądanych lub też o zmianie leczenia na skuteczniejsze [34]. Za pomocą real-time PCR możliwe jest również monitorowanie rozwoju zakażenia adenowirusowego u pacjentów po zabiegach transplantacyjnych.

Możliwe jest wówczas szybkie, przedkliniczne rozpoznanie zakażenia i wdrożenie odpowiedniej terapii [26].

## PROFILAKTYKA I TERAPIA ZAKAŻEŃ ADENOWIRUSOWYCH

W związku z rosnącą liczbą osób chorych na AIDS oraz wykonywanych zabiegów transplantacyjnych nabiera znaczenia problem zakażeń adenowirusowych oraz potrzeba skutecznej terapii. Przeciwno zakażeniom o etiologii HAdV nie ma jak dotąd zatwierdzonych leków. W badaniach klinicznych używane są dwa związki chemiczne: cidofowir oraz rybawiryna. Brak jest jednak konkretnych danych potwierdzających skuteczność obydwu tych preparatów [25].

Cidofowir, będący analogiem nukleotydom cytozyny, hamuje działanie wirusowej polimerazy DNA. Lek ten wykazuje aktywność w stosunku do wielu wirusów DNA, w tym adenowirusów ludzkich. Odnotowano wiele przypadków skutecznego działania tego leku u pacjentów po przeszczepieniu szpiku kostnego zakażonych adenowirusami. Cidofowir można stosować do leczenia chorób spowodowanych przez adenowirusy u pacjentów z niedoborem limfocytów T lub przyjmujących wysokie dawki leków immunosupresyjnych przy aktywnym GVHD [30]. Lek ten podawany może być jedynie dożylnie, a jego użycie może powodować dużą nefrotoksyczność. Typowe postępowanie przy zakażeniu HAdV polega na podawaniu dawki 5 mg/kg m.c. 1-2 razy w tygodniu lub 1 mg/kg 3 razy w tygodniu. Chociaż drugie dawkowanie znacznie zmniejsza możliwość wystąpienia nefrotoksyczności, nie porównano dokładnie skuteczności obu sposobów podawania leku [19]. Dokładne skutki działania cidofowiru na polimerazę DNA adenowirusa nie są znane, gdyż jak dotąd nie przeprowadzono dokładnych badań klinicznych nad mechanizmem działania tego leku [25].

Rybawiryna jest analogiem guaniny o szerokim zakresie działania przeciwko wirusom DNA oraz RNA. Badania *in vitro* wykazują jej skuteczność w stosunku do wielu wirusów, w tym także adenowirusów z gatunku C [12]. Aby wyjaśnić jej dużą aktywność przeciwwirusową zaproponowano pięć różnych mechanizmów działania tego leku. Pośredni mechanizm działania rybawiryny może polegać na redukcji trifosforanu guanozyny poprzez zahamowanie dehydrogenazy monofosforanu inozyny oraz potencjalnym efekcie immunomodulacyjnym. Mechanizm bezpośredni najprawdopodobniej polega na zahamowaniu czapczkowania RNA, bezpośrednim hamowaniu wirusowej polimerazy oraz mutagenie letalnej następującej w wyniku inkorporacji rybawiryny do nowo syntetyzowanej nici genomowej [13]. Nie ma jednak dokładnych informacji mówiących o mechanizmie działania tego leku na adenowirusy ludzkie.

W badaniach przeprowadzonych przez Lankester'a i wsp., podczas badania skuteczności terapii rybawiryną, nie odnotowano zmniejszenia liczby kopii DNA HAdV u pacjentów pediatrycznych, którzy przeszli alloge-

niczną transplantację komórek krwiotwórczych. U niektórych chorych poziom DNA adenowirusów wzrastał, co świadczyło o dalszym rozwoju zakażenia. Po stwierdzeniu nieskuteczności rybawiryny, u dwóch pacjentów rozpoczęto terapię z użyciem cidofowiru. Podczas terapii cidofowirem zaobserwowano stabilizację DNA HAdV w surowicy pacjentów, nie udało się jednak przeprowadzić dalszych badań z powodu zgonu chorych. Leczenie to rozpoczęto przy bardzo wysokiej liczbie kopii wirusa, co świadczyło o długotrwałym, poważnym zakażeniu [22]. Z kolei w badaniach przeprowadzonych przez Neofytosa i wsp., u 5 spośród 6 pacjentów hematologicznych, u których rozwinęło się zakażenie adenowirusowe po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych, podczas monitorowania efektywności terapii cidofowirem odnotowano spadek wirerii. W 4 przypadkach obniżenie poziomu DNA HAdV w surowicy zauważono już po kilku dniach od rozpoczęcia terapii, co świadczyło o skuteczności leku [30].

Obecnie prowadzone są badania nad innymi analogami nukleozydów i nukleotydów wykazujących potencjalną skuteczność wobec HAdV. Wiele testowanych związków chemicznych wykazuje aktywność w kulturach komórkowych, co nie zawsze znajduje odbicie w warunkach *in vivo*. Gancyklowir, używany do zwalczania zakażeń herpeswirusem typu 5, ogranicza także częściowo rozwój zakażeń adenowirusowych. Zalcytabina wykorzystana w szczurzym modelu zapalenia płuc znacznie zredukowała rozwój tej choroby. Z kolei widarabina, podawana z inhibitorem deaminazy adenozyiny, skutecznie zwalcza krwotoczne zapalenie pęcherza występujące często u pacjentów po HSCT [19].

Ze względu na brak zatwierdzonej terapii w leczeniu zakażeń adenowirusami ludzkimi, niezmiernie ważną jest profilaktyka tych zakażeń. Jak dotąd jednak nie udało się skonstruować skutecznej szczepionki przeciwko zakażeniom HAdV. Dostępna przed laty w Stanach

Zjednoczonych szczepionka, wywołująca odpowiedź immunologiczną przeciw HAdV-4 i HAdV-7, została wycofana z obiegu w roku 1996. Związane to było z jej małą skutecznością u pacjentów z zaburzeniami odporności, powodowanymi działaniami niepożądanymi, a także względami ekonomicznymi [14]. Obecnie prowadzone są badania kliniczne nad nową szczepionką, aczkolwiek ze względu na dużą liczbę typów HAdV, napotykaną są różne utrudnienia i czas wprowadzenia szczepionki na rynek przesuwają się na kolejne lata.

## PODSUMOWANIE

Liczba pacjentów z obniżoną odpornością wzrasta, m.in. w wyniku przeprowadzenia coraz większej liczby zabiegów transplantacji oraz szerzenia się zakażenia HIV. Adenowirusy są przyczyną licznych zachorowań oraz śmiertelności wśród pacjentów hematologicznych oraz biorców narządów unaczynionych. U pacjentów tych często dochodzi do zakażeń dróg oddechowych, zakażeń układu pokarmowego, krwotocznego zapalenia pęcherza moczowego, a także neuroinfekcji czy też stanów patologicznych przeszczepianych narządów. Patogeneza zakażeń HAdV pozostaje wciąż nie do końca poznana, dlatego też potrzebne są badania dotyczące częstości oraz naturalnej historii zakażeń adenowirusami u biorców narządów unaczynionych, komórek krwiotwórczych oraz pacjentów z pierwotnymi lub wtórnymi zaburzeniami odporności.

Chociaż w ostatnich latach poczyniono duży postęp w diagnostyce zakażeń HAdV, nadal brakuje skutecznej terapii przeciwwirusowej. Stosowane w próbach klinicznych cidofowir oraz rybawiryna nie są jeszcze zatwierdzonymi lekami. Ważne jest więc zachowanie odpowiedniej profilaktyki oraz stosowanie najczulszych metod diagnostycznych, ograniczających rozprzestrzenianie się wśród pacjentów z zaburzeniami odporności chorób spowodowanych przez adenowirusy ludzkie.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Arcangeletti M.C., De Conto F., Pinardi F., Medici M.C., Valcavi P., Ferraglia F., Motta F., Covan S., Calderaro A., Chezzi C., Dettori G.: Electron microscopy as a reliable tool for rapid and conventional detection of enteric viral agents: a five-year experience report. *Acta Biomed.*, 2005; 76: 165-170
- [2] Bil I., Rybka B., Woźniak M.: Adenoviral infection – pathomechanism and diagnostics. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2008; 17: 91-99
- [3] Bil-Lula I., De Franceschi N., Pawlik K., Woźniak M.: Improved real-time PCR assay for detection and quantification of all 54 known types of human adenoviruses in clinical samples. *Med. Sci. Monit.*, 2012; 18: BR221-BR228
- [4] Bil-Lula I., Ussowicz M., Rybka B., Wendycz-Domalewska D., Ryzan R., Górczyńska E., Kałwak K., Woźniak M.: Hematuria due to adenoviral infection in bone marrow transplant recipients. *Transplant. Proc.*, 2010; 42: 3729-3734
- [5] Bil-Lula I., Ussowicz M., Rybka B., Wendycz-Domalewska D., Ryzan R., Górczyńska E., Kałwak K., Woźniak M.: PCR diagnostics and monitoring of adenoviral infections in hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Arch. Virol.*, 2010; 155: 2007-2015
- [6] Bravo L.T., Procop G.W.: Recent advances in diagnostic microbiology. *Semin. Hematol.*, 2009; 46: 248-258
- [7] Chatterjee N.K., Samsonoff W.A., Balasubramaniam N., Rush-Wilson K., Spargo W., Church T.M.: Isolation and characterization of adenovirus 5 from the brain of an infant with fatal cerebral edema. *Clin. Infect. Dis.*, 2000; 31: 830-833
- [8] De Jong J.C., Wermolenbol A.G., Verweij-Uijterwaal M.W., Slaterus K.W., Wertheim-Van Dillen P., Van Doornum G.J., Khoo S.H., Hierholzer J.C.: Adenoviruses from human immunodeficiency virus-infected individuals, including two strains that represent new candidate serotypes Ad50 and Ad51 of species B1 and D, respectively. *J. Clin. Microbiol.*, 1999; 37: 3940-3945
- [9] Echavarría M.: Adenoviruses in immunocompromised hosts. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2008; 21: 704-715
- [10] Feuchtinger T., Lang P., Handgretinger R.: Adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Leuk. Lymphoma*, 2007; 48: 244-255



- [11] Florescu D.F., Islam M.K., Mercer D.F., Grant W., Langnas A.N., Freifeld A.G., Sudan D., Basappa R., Dimairo D., Kalil A.C.: Adenovirus infections in pediatric small bowel transplant recipients. *Transplantation*, 2010; 90: 198-204
- [12] Gavin P.J., Katz B.Z.: Intravenous ribavirin treatment for severe adenovirus disease in immunocompromised children. *Pediatrics*, 2002; 110: e9
- [13] Graci J.D., Cameron C.E.: Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. *Rev. Med. Virol.*, 2006; 16: 37-48
- [14] Gray G.C., Goswami P.R., Malasig M.D., Hawksworth A.W., Tramp D.H., Ryan M.A., Schnurr D.P.: Adult adenovirus infections: loss of orphaned vaccines precipitates military respiratory disease epidemics. For the Adenovirus Surveillance Group. *Clin. Infect. Dis.*, 2000; 31: 663-670
- [15] Hoffman J.A.: Adenovirus infections in solid organ transplant recipients. *Curr. Opin. Organ Transplant.*, 2009; 14: 625-633
- [16] Hofland C.A., Eron L.J., Washecka R.M.: Hemorrhagic adenovirus cystitis after renal transplantation. *Transplant. Proc.*, 2004; 36: 3025-3027
- [17] Howard D.S., Phillips II G.L., Reece D.E., Munn R.K., Henslee-Downey J., Pittard M., Barker M., Pomeroy C.: Adenovirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin. Infect. Dis.*, 1999; 29: 1494-1501
- [18] Ishiko H., Aoki K.: Spread of epidemic keratoconjunctivitis due to a novel serotype of human adenovirus in Japan. *J. Clin. Microbiol.*, 2009; 47: 2678-2679
- [19] Ison M.G.: Adenovirus infections in transplant recipients. *Clin. Infect. Dis.*, 2006; 43: 331-339
- [20] Khoo S.H., Bailey A.S., de Jong J.C., Mandal B.K.: Adenovirus infections in human immunodeficiency virus-positive patients: clinical features and molecular epidemiology. *J. Infect. Dis.*, 1995; 172: 629-637
- [21] Kojaoghlanian T., Flomenberg P., Horwitz M.S.: The impact of adenovirus infection on the immunocompromised host. *Rev. Med. Virol.*, 2003; 13: 155-171
- [22] Lankester A.C., Heemskerk B., Claas E.C., Schilham M.W., Beer-sma M.F., Bredius R.G., van Tol M.J., Kroes A.C.: Effect of ribavirin on the plasma viral DNA load in patients with disseminating adenovirus infection. *Clin. Infect. Dis.*, 2004; 38: 1521-1525
- [23] Lee G.W., Lee J.H., Choi S.J., Kim S., Seol M., Kim W.K., Lee J.S., Lee K.H.: Hemorrhagic cystitis following allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J. Korean Med. Sci.*, 2003; 18: 191-195
- [24] Leen A.M., Bollard C.M., Myers G.D., Rooney C.M.: Adenoviral infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2006; 12: 243-251
- [25] Lenaerts L., Naesens L.: Antiviral therapy for adenovirus infections. *Antiviral Res.*, 2006; 71: 172-180
- [26] Lion T., Baumgartinger R., Watzinger F., Matthes-Martin S., Suda M., Preuner S., Futterknecht B., Lawitschka A., Peters C., Potschger U., Gadner H.: Molecular monitoring of adenovirus in peripheral blood after allogeneic bone marrow transplantation permits early diagnosis of disseminated disease. *Blood*, 2003; 102: 1114-1120
- [27] Mackay I.M., Arden K.E., Nitsche A.: Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Res.*, 2002; 30: 1292-1305
- [28] Matsuse T., Matusi H., Shu C.Y., Nagase T., Wakabayashi T., Mori S., Inoue S., Fukuchi Y., Orimo H.: Adenovirus pulmonary infections identified by PCR and in situ hybridisation in bone marrow transplant recipients. *J. Clin. Pathol.*, 1994; 47: 973-977
- [29] Nakazawa H., Ito T., Makishima H., Misawa N., Okiyama W., Uehara T., Hidaka E., Kiyosawa K., Ishida F.: Adenovirus fulminant hepatic failure: disseminated adenovirus disease after unrelated allogeneic stem cell transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *Intern. Med.*, 2006; 45: 975-980
- [30] Neofytos D., Ojha A., Mookerjee B., Wagner J., Filicko J., Ferber A., Dessain S., Grosso D., Brunner J., Flomenberg N., Flomenberg P.: Treatment of adenovirus disease in stem cell transplant recipients with cidofovir. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2007; 13: 74-81
- [31] Okada M., Ogawa T., Kubonoya H., Yoshizumi H., Shinozaki K.: Detection and sequence-based typing of human adenoviruses using sensitive universal primer sets for the hexon gene. *Arch. Virol.*, 2007; 152: 1-9
- [32] Robinson C.M., Singh G., Henquell C., Walsh M.P., Peigue-Lafeuille H., Seto D., Jones M.S., Dyer D.W., Chodosh J.: Computational analysis and identification of an emergent human adenovirus pathogen implicated in a respiratory fatality. *Virology*, 2011; 409: 141-147
- [33] Rynans S., Dzieciatkowski T., Basak G.W., Snarski E., Przybylski M., Wróblewska M., Jędrzejczak W.W., Młynarczyk G.: Human adenovirus infection in patients subjected to allogeneic hematopoietic stem cell transplantation – a three year single center study. *Acta Virol.*, 2012; 56: 85-87
- [34] Rynans S., Dzieciatkowski T., Krenke R., Grabczak M., Kołkowska-Leśniak A., Przybylski M., Sulowska A., Chazan R., Warzocha K., Młynarczyk G.: Wykorzystanie ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym do wykrywania zakażeń dolnych dróg oddechowych wywołanych adenowirusami u osób z chorobami nowotworowymi układu krwiotwórczego. *Przegl. Epidemiol.*, 2011; 65: 333-338
- [35] Savón C., Acosta B., Valdés O., Goyenechea A., Gonzalez G., Pi-nón A., Más P., Rosario D., Capó V., Kourí V., Martínez P.A., Marchena J.J., González G., Rodríguez H., Guzmán M.G.: A myocarditis outbreak with fatal cases associated with adenovirus subgenera C among children from Havana City in 2005. *J. Clin. Virol.*, 2008; 43: 152-157
- [36] Straussberg R., Harel L., Levy Y., Amir J.: A syndrome of transient encephalopathy associated with adenovirus infection. *Pediatrics*, 2001; 107: E69
- [37] Tuvia J., Weisselberg B., Shif I., Keren G.: Aplastic anaemia complicating adenovirus infection in DiGeorge syndrome. *Eur. J. Pediatr.*, 1988; 147: 643-644
- [38] Ulrych E.E., Dzieciatkowski T., Przybylski M., Zduńczyk D., Boguradzki P., Torosian T., Waszczuk-Gajda A., Rynans S., Wróblewska M., Jędrzejczak W.W., Młynarczyk G.: Disseminated adenovirus disease in immunocompromised patient successfully treated with oral ribavirin: a case report. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2011; 59: 473-477
- [39] Valasek M.A., Repa J.J.: The power of real-time PCR. *Adv. Physiol. Educ.*, 2005; 29: 151-159
- [40] Walls T., Shankar A.G., Shingadia D.: Adenovirus: an increasingly important pathogen in paediatric bone marrow transplant patients. *Lancet Infect. Dis.*, 2003; 3: 79-86
- [41] Walsh M.P., Chintakuntlawar A., Robinson C.M., Madisch I., Harrach B., Hudson N.R., Schnurr D., Heim A., Chodosh J., Seto D., Jones M.S.: Evidence of molecular evolution driven by recombination events influencing tropism in a novel human adenovirus that causes epidemic keratoconjunctivitis. *PLoS One*, 2009; 4: e5635
- [42] Walsh M.P., Seto J., Jones M.S., Chodosh J., Xu W., Seto D.: Computational analysis identifies human adenovirus type 55 as a re-emergent acute respiratory disease pathogen. *J. Clin. Microbiol.*, 2010; 48: 991-993
- [43] Waruiri C., Slatter M.A., Taylor C., Ramesh V., Flood T.J., Abinun M., Cant A.J., Gennery A.R.: Outcome of hematopoietic stem cell transplantation in severe combined immune deficiency with central nervous system viral infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2007; 26: 129-133
- [44] Winkelstein J.A., Marino M.C., Lederman H.M., Jones S.M., Sullivan K., Burks A.W., Conley M.E., Cunningham-Rundles C., Ochs H.D.: X-linked agammaglobulinemia: report on a United States registry of 201 patients. *Medicine*, 2006; 85: 193-202

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.