

Ilona Stefańska^{1,2}, Tomasz Dzieciatkowski^{3*}, Grażyna Młynarczyk³

¹Zakład Technologii Fermentacji, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

²Zakład Badania Wirusów Grypy. Krajowy Ośrodek ds. Grypy, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego
– Państwowy Zakład Higieny, ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

³Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa

Wpłynęło w lutym 2012 r.

1. Wstęp. 2. Ogólna budowa wirusów grypy 3. Zakażenia wirusami grypy u pacjentów z niedoborami immunologicznymi 4. Powikłania pogrypowe u osób z upośledzoną odpornością 5. Profilaktyka zakażeń wirusami grypy 6. Metody diagnostyczne stosowane w badaniu zakażeń wirusami grypy 7. Terapia zakażeń powodowanych przez ortomyksowirusy 8. Podsumowanie

Infections with orthomyxoviruses in patients with immunological disorders

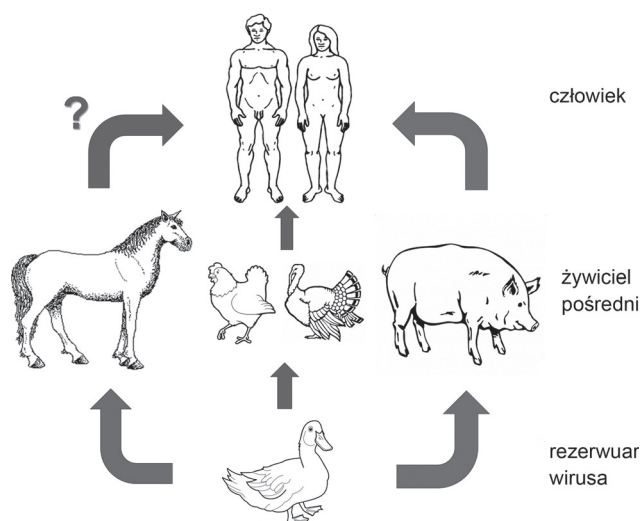
Abstract: *Orthomyxoviridae* is a family of enveloped viruses which contain a segmented negative strand RNA genome. They cause recurrent, seasonal epidemics and occasional global pandemics with different levels of morbidity and mortality, especially in transplant recipients. Infections with influenza A and/or B viruses may lead to complications including viral pneumonia, secondary bacterial infections and graft dysfunction. The ability of influenza viruses to undergo reassortment events ensures constant generation of new strains with unpredictable degrees of pathogenicity and transmissibility. Molecular diagnostics are preferred over other diagnostic methods, if available. Influenza vaccination is well tolerated and provides protective benefit in most immunocompromised hosts; in those with contraindications to vaccination or in whom responses are predicted to be poor, antivirals may be considered. Antiviral therapy is associated with improved outcomes in transplant patients and treatment should be continued until clinical and virologic response have been documented. Resistance, particularly in patients infected with the pandemic influenza A/H1N1, should be considered and treated with an antiviral with predictable activity.

1. Introduction. 2. Morphology of orthomyxoviruses. 3. Influenza virus infections in immunocompromised hosts. 4. Post-influenza infectious complications. 5. Prophylaxis of influenza. 6. Diagnostics in influenza infections. 7. Treatment of infection caused by orthomyxoviruses. 8. Summary

Słowa kluczowe: wirus grypy, reasortacja antygenowa, szczepienia, immunosupresja
Key words: orthomyxoviruses, antigenic shift, vaccination, immunosuppression

1. Wstęp

Ortomyksowirusy stanowią niewielką, ale ważną rodzinę, do której należą wirusy grypy, powszechnie wywołujące zakażenia układu oddechowego u zwierząt i ludzi (Rys. 1). Grypa jest ostrą chorobą zakaźną charakteryzującą się sezonowością oraz wysoką zachorowalnością i śmiertelnością na całym świecie [3, 66]. W rodzinie *Orthomyxoviridae* wyróżnia się trzy rodzaje wirusa grypy: A, B i C, różnicowane na podstawie budowy antygenowej białka błonowego (M) oraz nukleoproteiny (NP). Wirusy grypy typu A krążą wśród ludzi i wielu innych gatunków ssaków oraz ptaków, podczas gdy zakażenia wirusem typu B występują wyłącznie u ludzi, a typu C u ludzi i świń. Wirusy grypy typu A i B wywołują podobne objawy chorobowe, jednak zakażenia typem B mają zwykle łagodniejszy charakter i prowadzą do mniejszej liczby hospitalizacji. Wirus typu C różni się budową od pozostałych typów a w zakażeniach u ludzi odgrywa znacznie mniej istotną rolę, wywołując najczęściej zakażenia bezobjawowe [10].



Rys. 1. Schemat krążenia wirusów grypy w środowisku [wg 3, 66; zmienione]

W omówione zostaną więc wyłącznie wirusy grypy typu A i B oraz wywoływane przez nie zakażenia u osób z niedoborami odporności.

* Autor korespondencyjny: Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa; tel: 022 599 17 74; e-mail: dzieciatkowski@wp.pl

2. Budowa wirusów grypy

Wiriony wirusów grypy mają najczęściej kształt sferyczny i średnicę między 80 a 120 nm, choć szczepy laboratoryjne może charakteryzować duży polimorfizm (formy wydłużone, nitkowate) [22]. Otoczone są one podwójną osłonką lipidową, w której umieszczone jest białko błonowe M2 oraz dwie glikoproteiny, hemaglutynina (HA) i neuraminidaza (NA), tworzące na powierzchni charakterystyczne wypustki i stanowiące główne antygeny powierzchniowe. Pod osłonką znajduje się warstwa białka błonowego M1 otaczająca nukleokapsyd, rdzeń wirionu, w skład którego wchodzi genomowe RNA połączone z białkami strukturalnymi NP oraz kompleksem polimeraz PA, PB1 i PB2 [66].

Genom ortomyksowirusów zawiera od 6 do 8 segmentów, zbudowanych z jednoniciowego RNA o polaryzacji ujemnej – ss(-)RNA, które liczy około 12–15 tys. zasad [22]. Na obu krańcach genomu występują sekwencje powtarzalne, o długości 12–13 nukleotydów na końcu 5' oraz 9–11 nukleotydów na końcu 3'. Taka budowa genomu wirusów grypy powoduje ich znaczny stopień zmienności i różnorodności antygenowej w obrębie szczepów. Mechanizmy ciągłej ewolucji ortomyksowirusów spowodowane są głównie poprzez gromadzenie w wirusowym genomie mutacji punktowych wynikających z błędów zachodzących podczas replikacji (brak zdolności naprawczej polimerazy RNA) (zmiany określane jako tzw. przesunięcie antygenowe, ang. *drift*) oraz zjawisko reasortacji (tzw. skok antygenowy, ang. *shift*), czyli wymiana całych segmentów RNA pomiędzy różnymi wariantami wirusów zakażających tą samą komórkę [10, 22].

Ewolucja wirusa grypy dotyczy wszystkich ośmiu segmentów, jednakże najbardziej znaczące zmiany zachodzą w przypadku segmentu kodującego HA i NA, białka pełniące istotne funkcje zarówno w procesie zakażenia komórek, rozprzestrzeniania wirusa, jak i indukowania odpowiedzi immunologicznej gospodarza (produkcja przeciwciał neutralizujących). Na podstawie budowy antygenowej HA i NA wśród wirusów grypy typu A jak dotąd zidentyfikowano 16 odmiennych podtypów (serotypów) hemaglutyniny (H1-H16) oraz 9 podtypów neuraminidazy (N1-N9). U ludzi stwierdzono powszechne występowanie tylko trzech podtypów H1N1, H3N2 i H2N2. Sporadycznie opisywane są także przypadki zakażenia podtypami H5N1, H9N2, H1N2, H7N2 i H7N7 [3, 10].

Obecność lipoproteinowej otoczki powoduje stosunkowo niską odporność ortomyksowirusów na inaktywację za pomocą czynników fizycznych i chemicznych. W temperaturze 20°C wirusy grypy mogą przetrwać w środowisku do ośmiu godzin, jednak powyżej tej temperatury ich stabilność wyraźnie ulega zmniejszeniu: temperatura 56°C inaktywuje je w ciągu 180 minut, zaś

60°C w czasie 30 minut [51]. Wiriony grypy są natomiast słabo wrażliwe na zamrożenie, bowiem ich otoczka lipidowa w tych warunkach ulega stabilizacji, a sam wirus dłużej pozostaje wirulentny.

3. Zakażenia wirusami grypy u pacjentów z niedoborami immunologicznymi

U osób z osłabionymi mechanizmami obrony immunologicznej, podobnie jak w przypadku pozostałej części populacji, występowanie infekcji grypowych charakteryzuje się zazwyczaj sezonowością. Jednakże ryzyko zakażenia wirusem grypy może być znacznie większe i nieść ze sobą szczególne zagrożenie życia [12, 50]. Ponadto z uwagi na często wydłużony pobyt w szpitalu osoby takie bardziej narażone są na zakażenia szpitalne wirusami atakującymi drogi oddechowe. C o u c h wykazał, że infekcje szpitalne wywołane wirusem grypy mogą stanowić nawet między 63 a 83% wszystkich infekcji grypowych występujących u pacjentów z niedoborem odporności [17]. Źródłem zakażeń mogą być osoby odwiedzające, jak i inni pacjenci oraz personel medyczny.

Od statusu immunologicznego gospodarza zależy szybkość ustąpienia objawów choroby. Przebieg grypy u osób z niedoborem odporności różni się od zakażeń u osób immunokompetentnych często dłuższym czasem trwania infekcji i wydłużonym okresem wydalania wirionów potomnych, cięższym przebiegiem, zwiększonym ryzykiem wystąpienia poważnych powikłań pogrypowych nie tylko ze strony układu oddechowego oraz wyższą śmiertelnością [31, 46, 57]. Jednocześnie często wydłużony okres wydalania wirionów potomnych i związana z tym konieczność długoterminowej terapii zwiększa ryzyko nabycia oporności wirusa na stosowane leki antygrypowe [12, 24, 29]. Niektóre dane literaturowe wskazują na ekstremalnie długie wydalanie wirusa grypy, w tym szczepów opornych, przez pacjentów z upośledzoną odpornością. B o i v i n opisał przypadek wydalania wirionów potomnych grypy typu A przez okres 3 miesięcy (w tym wirusa opornego na amantydynę od około 30 dnia) [6], a W e i n s t o c k przez okres 18 miesięcy (w tym prawdopodobnie przez ponad rok wirusów opornych na rymantadynę i oseltamiwir) [67]. Dla porównania średni okres wydalania wirusa podczas eksperymentalnej infekcji u dorosłych pacjentów z prawidłowo funkcjonującym układem odpornościowym i nieleczonych wynosił 107 godzin, natomiast u osób leczonych oseltamiwirem zaledwie 56 godzin [23].

W przebiegu grypy u osób z niedoborem odporności często dochodzi do poważnych powikłań pogrypowych, które niejednokrotnie kończą się śmiercią [30]. Liczne dane literaturowe wskazują, że śmiertelność w następ-

stwie grypy w tej grupie pacjentów waha się przeważnie między 10 a 33% [17, 19, 35, 45, 57, 68, 70]. Do najczęstszych powikłań pogrypowych należą komplikacje ze strony układu oddechowego, takie jak pierwotne wirusowe oraz wtórne zapalenie płuc i zapalenie oskrzeli. Do zapalenia płuc dochodzi nawet u 53–80% pacjentów [17, 19, 57, 68, 70]. Ponadto jest ono stwierdzane w większości śmiertelnych przypadków.

Pierwotne grypowe zapalenie płuc, które wiąże się z rozwojem rozległego śródmiąższowego zapalenia i zwłóknienia płuc, charakteryzuje szczególnie wysoka śmiertelność [27]. Wtórne zapalenia płuc mogą być wywołane przez wiele czynników, zarówno bakteryjnych (np. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Enterobacteriaceae*), grzybiczych (np. *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Candida* spp., *Pneumocystis jirovecii*), jak i wirusowych (np. wirus RS) [57, 69, 70]. Możliwe są także wtórne zakażenia mieszane, wywołane więcej niż jednym czynnikiem etiologicznym. Jednakże w wielu przypadkach patogeny odpowiedzialne za zakażenia wtórne i komplikacje w postaci zapalenia płuc są trudne do zdiagnozowania [57].

Czynniki sprzyjające rozprzestrzenieniu infekcji z górnych do dolnych dróg oddechowych są wciąż słabo poznane. W badaniach przeprowadzonych w grupie 100 pacjentów z niedoborem odporności oróżnym podłożu (m.in. nowotwory, zakażenie HIV, terapia immunosupresyjna i kortykosteroidowa, przeszczepy) i potwierdzonym zakażeniem wirusem grypy, nie zaobserwowano występowania zależności pomiędzy zgonem a typem choroby podstawowej, statusem biorcy przeszczepu komórek hematopoetycznych, czy typem wirusa grypy jaki wywołał zakażenie [57]. Zaobserwowano natomiast istotnie statystycznie wyższą śmiertelność u mężczyzn, pacjentów z zakażeniem szpitalnym wirusem grypy oraz z infekcjami wtórnymi. Natomiast wśród czynników istotnie związanych z wystąpieniem zapalenia płuc był wiek pacjentów (osoby starsze), typ wirusa jaki wywołał chorobę (typ A) oraz wtórne infekcje. Z kolei Nichols stwierdził brak istotnego związku pomiędzy typem wirusa a progresją zakażenia z górnych do dolnych dróg oddechowych [45]. Wykazano znacząco większe prawdopodobieństwo rozwoju zapalenia płuc u pacjentów z limfopenią (<100 limfocytów/ μ l) i po autologicznym przeszczepie komórek hematopoetycznych oraz nie przyjmujących kortykosteroidów. Zwiększone ryzyko zgonu występowało u pacjentów z zapaleniem płuc a zwiększone ryzyko zakażenia wirusem grypy u pacjentów z przeszczepem w okresie sezonu grypowego, u kobiet, a także wiązało się ze stopniem zaawansowania choroby [26]. W innych badaniach wykazano, że wiek poniżej roku, wystąpienie infekcji w ciągu pierwszych 3 miesięcy po transplantacji oraz zakażenie podczas intensywnej terapii immunosu-

presyjnej wiążą się z poważnym przebiegiem infekcji, podczas gdy rodzaj przeszczepionego narządu mięszo-wego nie wpływa na ciężkość zakażenia [2].

4. Powikłania pogrypowe u osób z upośledzoną odpornością

W przebiegu grypy u pacjentów z upośledzoną odpornością mogą wystąpić także powikłania nie związane z układem oddechowym, takie jak zapalenie mięśnia sercowego, osierdzia, mięśni, powikłania neurologiczne [33, 57, 69]. Ponadto zakażenie wirusem grypy u biorców przeszczepu grozi ostrym lub przewlekłym odrzuceniem przeszczepionego narządu [26, 29]. Zwiększone ryzyko odrzucenia przeszczepu występuje szczególnie u pacjentów po przeszczepie płuc, rzadziej innych narządów [25]. W badaniach V i l c h e z biopsja przeszczepionego narządu u 18 biorców płuc, 2 biorców nerki i 1 biorcy wątroby, wykonana w czasie trwania infekcji grypowej, wykazała w 13 przypadkach (płuca (11) i nerki (2) różny stopień ostrego odrzucenia allogenicznego przeszczepu [69]. Według innych badań u 3 z 12 pediatrycznych biorców narządów mięszo-wych zakażonych wirusem grypy typu B wystąpił odrzut allogenicznego przeszczepu [40]. Mechanizm odrzutu przeszczepu nie jest do końca wyjaśniony. Wirus grypy wydaje się być zdolny aktywować mechanizmy immunologiczne w przeszczepionym organie co prowadzi do odrzucenia przeszczepów u takich pacjentów i ma związek z produkcją podczas wirusowej replikacji takich cytokin, jak IL-1, TNF, IL-6 i IL-8 [69].

5. Profilaktyka zakażeń wirusami grypy

Ze względu na zwiększone ryzyko wystąpienia ciężkich powikłań pogrypowych, niejednokrotnie prowadzących do zgonu, profilaktyka przeciwgrypowa u pacjentów z upośledzoną odpornością jest niezwykle ważna. Najskuteczniejszą jej formą są coroczne szczepienia przeciwko grypie sezonowej, szeroko zalecane dla tej grupy pacjentów zarówno przez Komitet Doradczy ds. Szczepień CDC (ACIP – The Advisory Committee on Immunization Practices) [20], jak i przez wiele zespołów badawczych [10, 34, 47, 59]. Jednakże efekt szczepienia w dużej mierze zależy od sprawności układu immunologicznego, od jego zdolności do produkcji przeciwciał i odpowiedzi na antygen [30]. Niektóre dysfunkcje układu immunologicznego zwiększające ryzyko wystąpienia zakażenia i powikłań pogrypowych mogą jednocześnie upośledzać odpowiedź szczepionkową i obniżać efektywność szczepień u takich pacjentów. Poszczepienne miano przeciwciał antyhemaglutyninowych $\geq 1:40$ lub czterokrotny wzrost miana w porównaniu

z mianem przed szczepieniem uznaje się za poziom ochronny, zabezpieczający przed zachorowaniem co najmniej 50% zaszczepionych pacjentów [5]. Należy podkreślić, że miana przeciwciał uznawane za ochronne u zdrowych osób mogą nie zabezpieczać przed zachorowaniem pacjentów z niedoborem odporności. W literaturze brak jest danych dotyczących poziomu zapewniającego ochronę przed zakażeniem klinicznym u takich osób [55, 58].

Skuteczność szczepionki przeciwko grypie zależy nie tylko od statusu immunologicznego czy wieku osoby szczepionej, ale w dużej mierze także od stopnia podobieństwa antygenowego pomiędzy wirusami szczepionkowymi na dany sezon epidemiczny a szczepami krążącymi w tym czasie w populacji. Odpowiedź na poszczególne antygeny wirusa zawarte w szczepionce może różnić się znacznie, a tylko indukcja wzrostu mian przeciwciał do poziomów uznawanych za ochronne dla wszystkich 3 antygenów może dać pełną ochronę przed zachorowaniem na grypę [20].

U osób z upośledzoną odpornością nie zaleca się stosowania szczepionek żywych atenuowanych ze względu na bardzo wysokie ryzyko rozwoju choroby zakaźnej wywołanej wirusem pochodzenia szczepionkowego. Ponadto zarówno bezpieczeństwo, jak i efektywność żywych, atenuowanych szczepionek przeciwko grypie nie została przebadana na osobach należących do grupy zwiększonego ryzyka wystąpienia powikłań [20]. Natomiast inaktywowane szczepionki przeciwko grypie mogą być bezpiecznie stosowane u pacjentów z niedoborem odporności. Jeżeli wirus szczepionkowy i krążące wirusy są pokrewne antygenowo szczepionki inaktywowane zapobiegają zachorowaniu na grypę u około 70–90% zdrowych dorosłych poniżej 65 roku życia i dzieci [20]. Natomiast wyniki badań dotyczących odpowiedzi na szczepienie przeciwko grypie u osób z niedoborem odporności są różne, niejednokrotnie nawet sprzeczne. Może to wiązać się z często niewielką liczbą przebadanych pacjentów, jak i znaczną niejednorodnością badanej grupy (pacjenci różniący się stanem zdrowia, typem i stadiem choroby, wiekiem, leczeniem – zarówno rodzajem terapii, jak i dawką, historią szczepień, przedszczepiennym mianem przeciwciał) oraz różnicami w składzie szczepionki rekomendowanej na poszczególne sezony [55]. Utrudnia to porównanie tych badań i wyciągnięcie jednoznacznych wniosków. Niemniej istnieje wiele danych literaturowych wskazujących na istotny wzrost po szczepieniu u pacjentów z upośledzoną odpornością poziomu przeciwciał do wartości ochronnych, choć poziom ten niejednokrotnie był mniejszy niż w grupie kontrolnej, zdrowych osób.

Okres pierwszych 6 miesięcy po przeszczepie wiąże się z największym ryzykiem odrzucenia przeszczepionego narządu oraz najsłabszą odpowiedzią immunologiczną ze względu na stosowane wówczas bardzo

wysokie dawki leków immunosupresyjnych [37]. Dlatego szczepienia przeciwko grypie u takich osób zalecane są przed wykonaniem przeszczepu a następnie w każdym sezonie po upływie 6 miesięcy od transplantacji. W badaniach przeprowadzonych u pacjentów po transplantacji wątroby udział osób z ochronnymi mianami przeciwciał anty-HA, w zależności od antygeny, wynosił 14–43% w grupie poniżej 4 miesięcy po transplantacji, 56–89% u pacjentów między 4 a 12 miesiącem po transplantacji oraz 46–86% w przypadku co najmniej 12 miesięcy po transplantacji [33]. Według innych badań efektywność szczepień przeciwko grypie u pacjentów powyżej 6 miesięcy po przeszczepie szpiku kostnego wynosiła 80% [37], a u pacjentów co najmniej rok po transplantacji nerek współczynnik ochronny osiągnął wartość 79–93% w zależności od antygeny i nie różnił się istotnie statystycznie od wartości uzyskanej dla grupy kontrolnej [58]. Ponadto większą odpowiedź wykazywali pacjenci wcześniej szczepieni co podkreśla potrzebę corocznych szczepień. Dane literaturowe dotyczące szczepień przeciwko grypie u pacjentów po przeszczepie bywają niekiedy sprzeczne. Jedne badania obejmujące osoby po transplantacji wątroby wskazują na wysoki współczynnik ochronny w tej grupie pacjentów: 92–95% wg B u r b a c h [11], a >75% wg M a d a n [38], podczas gdy w innych badaniach wskaźnik serokonwersji wynosił zaledwie 15–30% ([18]. F r a u n d i wsp. uzyskali ochronne miano przeciwciał u 32–100% pacjentów po transplantacji serca [21], zaś B l u m b e r g i wsp. u 68 pacjentów po przeszczepieniu serca, płuc, nerek lub wątroby wykazali istotnie statystycznie mniejsze miano niż w grupie kontrolnej, a wartości współczynnika ochronnego i odpowiedzi kształtowały się na poziomie odpowiednio 50–71% oraz 16–26% [4].

M o r e l o n wykazał u pacjentów po transplantacji nerek, że śródskórne podanie inaktywowanej szczepionki może wzmacniać jej immunogenność [43]. Natomiast S o e s m a n u pacjentów po przeszczepieniu wątroby stwierdził istotne zwiększenie współczynnika ochrony z 68 na 80% po drugiej dawce szczepionki [60], jednakże w wielu innych badaniach nie potwierdzono istotnego wzrostu wartości przeciwciał anty-HA u pacjentów zaszczepionych dwiema dawkami [4, 38, 58]. W licznych badaniach nie potwierdzono także, że stosowanie szczepionki przeciwko grypie u pacjentów po transplantacji może stymulować odpowiedź immunologiczną prowadzącą w konsekwencji do odrzutu przeszczepionego narządu [21, 33, 58].

Liczne dane literaturowe dotyczące szczepień przeciwko grypie u pacjentów z nowotworami wskazują, że odpowiedź immunologiczna na antygeny szczepionkowe jest dobra, choć zazwyczaj słabsza niż u zdrowych osób. Szczepienie w trakcie przyjmowania chemioterapii może jednak obniżyć jego efektywność [39, 49, 55, 59]. O r t b a l s wykazał, że wskaźnik serokonwersji

u pacjentów szczepionych i przyjmujących chemioterapię wynosił 50% i był znacznie niższy w porównaniu z pacjentami zaszczepionymi pomiędzy kolejnymi cyklami chemioterapii (93%) [49]. Z kolei w badaniach P o r t e r a u co najmniej 60% dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną w trakcie chemioterapii obserwowano czterokrotny lub większy wzrost przeciwciał dla wszystkich antygenów i tylko w przypadku jednego szczepu wyniki uzyskane dla grupy dzieci chorych i zdrowych różniły się istotnie statystycznie [52]. W badaniach prowadzonych przez N o r d o y 72% pacjentów z guzem litym lub chłoniakiem złośliwym poddanych chemioterapii łagodnej lub umiarkowanej wykazywało ochronne miano przeciwko co najmniej dwóm z 3 antygenów zawartych w szczepionce [47]. Natomiast u 78% pacjentów z rakiem płuc co najmniej 4 tygodnie po zakończeniu chemioterapii uzyskano miano uznawane za ochronne na wszystkie antygeny zawarte w szczepionce [1]. W innych badaniach obserwowano znamienne wyższe miano przeciwciał po szczepieniu oraz wartości współczynnika ochronnego i współczynnika odpowiedzi od określonego minimum wskazującego na immunogenność szczepionki przeciwko grypie u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną [7], rakiem piersi [8] oraz chłoniakiem nieziarniczym (NHL – non-Hodgkin lymphoma) [14], niezależnie od wcześniejszego przyjmowania przez pacjentów chemioterapii.

U pacjentów z zaawansowanym stadium zakażenia HIV i niskim poziomem limfocytów krążących CD4⁺ (< 200 × 10⁶ komórek/L) odpowiedź na szczepienie przeciwko grypie może być bardzo słaba, a druga dawka szczepionki nie zwiększa istotnie poziomu odporności. Osoby z wyższą liczbą limfocytów CD4⁺ wykazują przeważnie dobrą odpowiedź na szczepienie, choć niejednokrotnie poszczepienne miano są znacząco mniejsze niż w kontroli [28, 61]. Wśród pacjentów zakażonych HIV z liczbą limfocytów CD4⁺ < 200 × 10⁶/L uzyskano miano ochronne u 29% badanych, przy CD4⁺ 200–500 × 10⁶/L u 64%, a przy CD4⁺ > 500 × 10⁶/L u 100% pacjentów [61]. Wśród dzieci zakażonych HIV-1 poddanych wysoce aktywnej terapii antyretrowirusowej (HAART – highly active antiretroviral therapy) w zależności od antygeny ochronny poziom przeciwciał anti-HA ≥ 1:40 lub co najmniej czterokrotny wzrost miana uzyskano u 57–83% [71], 50–70% [42], 40–100% badanych [63]. W badaniach T a s k e r obejmujących pacjentów zakażonych HIV w przypadku 29% osób zaszczepionych przeciwko grypie oraz 49% osób po iniekcji placebo (roztwór soli fizjologicznej) wystąpiły objawy infekcji ze strony układu oddechowego, z czego u 10% osób z grupy kontrolnej potwierdzono laboratoryjnie zakażenie wirusem grypy (zarówno w hodowli, jaki i badaniu serologicznym), natomiast nie stwierdzono wirusa u żadnej z zaszczepionych osób [64]. W niektórych pracach wykazano, że szczepionki przeciwko grypie mogą

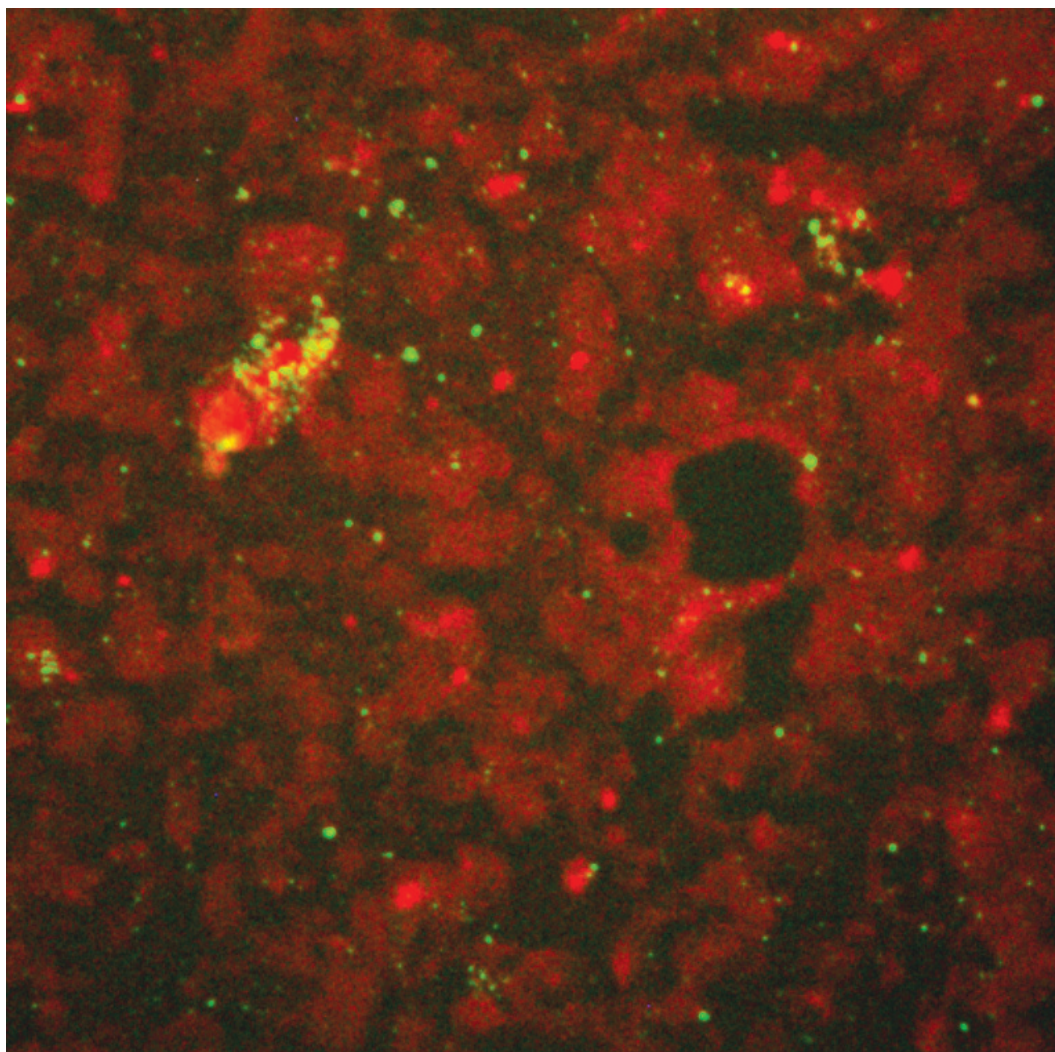
indukować spadek liczby limfocytów krążących CD4⁺ oraz replikację HIV w surowicy lub komórkach jednójądrowych krwi obwodowej (wzrost RNA oraz prowirusowego DNA), jednak efekt ten w większości przypadków był przejściowy [53, 64]. W późniejszych latach pojawiło się wiele prac świadczących o tym, że stosowanie szczepionki przeciwko grypie u pacjentów zakażonych HIV jest bezpieczne [42, 63, 64, 71]. S u l l i v a n i wsp. wykazali, że szczepionki przeciwko grypie u pacjentów HIV-serododatnich z poziomem limfocytów CD4⁺ zarówno < 200 × 10⁶/L, jak i ≥ 200 × 10⁶/L, nie tylko nie mają długo-terminowego (między 3 a 12 miesiącem od szczepienia) wpływu na liczbę limfocytów CD4⁺ i wzrost replikacji wirusa HIV, ale także nie zwiększają ryzyka progresji zakażenia i wystąpienia choroby wskazującej na AIDS oraz śmierci [62].

W badaniach B r y d a k [9] nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w mianach przeciwciał anti-HA pomiędzy pacjentami poddanymi splenektomii a osobami zdrowymi (współczynnik ochronny i współczynnik odpowiedzi wynosiły odpowiednio 62,9–90,5% i 50–75,8% dla pacjentów po usunięciu śledziony oraz 81,8–94,5% i 60–70,9% dla grupy kontrolnej). Ponadto wysoki poziom przeciwciał występował niezależnie od czasu jaki upłynął pomiędzy operacją usunięcia śledziony a szczepieniem [9]. Wyniki innych badań wykazują na dobrą odpowiedź humoralną na szczepienie przeciwko grypie u dzieci i młodych osób z nieswoistym zapaleniem jelit, choć odpowiedź ta nie była jednakowa dla wszystkich 3 antygenów szczepionkowych [36, 56]. Ponadto wyższy współczynnik ochronny i współczynnik odpowiedzi uzyskano w 6 miesiącu po szczepieniu w porównaniu z pierwszym miesiącem co może sugerować, że pacjenci powinni być szczepieni tak szybko jak tylko dostępne są szczepionki na nowy sezon [56].

Należy pokreślić, że szczepienia przeciwko grypie zalecane są nie tylko dla pacjentów z niedoborem odporności, ale także i członków rodziny, osób z najbliższego otoczenia oraz personelu medycznego, które mogą stanowić bezpośrednie źródło zakażenia [20]. Ponadto szczepienia dawców szpiku kostnego wykazały możliwość przeniesienia limfocytów B pamięci do biorców wraz z przeszczepieniem szpiku [17].

6. Metody diagnostyczne stosowane w badaniu zakażeń wirusami grypy

Ze względu na dobre namnażanie się ortomyksowirusów w hodowlach komórkowych *in vitro* przez długie lata stanowiły one „złoty standard” w diagnostyce zakażeń wirusami grypy. Do ich namnażania używa się głównie kurzych zarodków w wieku 7–14 dni lub też ustalonych linii MDCK oraz RhMK, gdzie w ciągu 10–14 dni pojawia się specyficzny efekt cytopatyczny,



Rys. 2. Immunofluorescencja antygenów wirusa grypy typu A w preparacie bezpośrednim z zakażonego płuca ludzkiego (FITC – kolor zielony). Powiększenie mikroskopu 300x (badania własne).

potwierdzany często testami hemaglutynacji i immunofluorescencji. Efektywność hodowli komórkowych zależy w dużej mierze od ilości cząstek zakaźnych wirusa w wyjściowym materiale klinicznym oraz od sposobu jego przechowywania i transportu. Zamrażanie i rozmrażanie próbek prowadzić może do spadku miana zakaźnego, a w konsekwencji do wyników fałszywie ujemnych [32].

Z metod serologicznych w diagnostyce ortomykso-wirusów najpowszechniej stosowane są szybkie testy przeglądowe, oparte na zasadzie immunochromatografii oraz metody immunofluorescencji bezpośredniej (DFA). Testy należące do pierwszej grupy, zarówno w wariancie paskowym, jak i kasetkowym, ze względu na prostotę oraz krótki czas wykonania (10–30 min) są jednymi z najpowszechniej wykorzystywanych w diagnostyce zakażeń wirusami grypy A i B. Wykazują one wysoką swoistość, wymagają jednak stosunkowo wysokich ilości zakaźnego wirusa (10^4 – 10^6 cząstek) w materiale badanym. Metody immunofluorescencyjne z wykorzystaniem

znakowanych przeciwciał monoklonalnych pozwalają na wykrycie antygenów wirusa zarówno w preparatach bezpośrednich (Rys. 2), jak i w materiale namnożonym w hodowlach *in vitro*. Czas oczekiwania na wynik wynosi do 4 godz., przy czułości 85–95%, która może zostać zwiększona poprzez zastosowanie do badań preparatów cytospinowych. Do najpoważniejszych wad tej metody należy jej subiektywność, wynikająca z manualnego odczytu preparatów oraz wymagane doświadczenie personelu. Z tego też powodu wyniki otrzymane z użyciem DFA często różnią się pomiędzy laboratoriami [32].

Do diagnostyki molekularnej zakażeń wirusami grypy stosuje się powszechnie technikę PCR połączoną z reakcją odwrotnej transkrypcji (RT-PCR), lub też jej wariant real-time PCR (RT-qPCR). Metody real-time PCR pozwalają na skrócenie czasu detekcji, ograniczają ryzyko kontaminacji oraz umożliwiają badania ilościowe poziomu wirusa w materiale wyjściowym [32, 50]. Testy diagnostyczne z tej grupy mają bardzo wysoką czułość (ok. 97–99%), jednak nie eliminują całkowicie

występowania wyników fałszywie ujemnych, zwłaszcza wśród pacjentów oddziałów intensywnej terapii z objawami ze strony górnych dróg oddechowych [32, 54].

7. Terapia zakażeń powodowanych przez ortomyksowirusy

Skuteczną formą kontroli zakażeń wywoływanych przez wirusy grypy jest także terapia antywirusowa, która może być brana pod uwagę jako wspomaganie dla szczepienia, a w sytuacjach słabej odpowiedzi na szczepienie jako alternatywa. Leczenie infekcji grypowych wiąże się ze zmniejszeniem ryzyka wystąpienia powikłań związanych z zakażeniem dolnych dróg oddechowych (zapalenie płuc, zapalenie oskrzeli), skróceniem czasu występowania objawów chorobowych oraz zmniejszoną śmiertelnością [13, 41].

Dostępne są dwie grupy leków antygrypowych. Do pierwszej należą blokery kanału jonowego, tj. amantadyna i jej metylowa pochodna – rymantadyna. Są one skuteczne w leczeniu zakażeń wywołanych przez wirus grypy typu A, jako że celem ich działania jest białko matriksowe M2, obecne jedynie u tego typu wirusa. Druga grupa to inhibitory neuraminidazy (NAI), zanamir i oseltamir, stosowane w leczeniu i profilaktyce infekcji grypowych wywołanych zarówno wirusem grypy typu A, jak i B. Wiele badań retrospektywnych sugeruje, że leczenie oraz profilaktyka oseltamiwem przynoszą wymierne korzyści w zapobieganiu i kontroli zakażeń grypowych u pacjentów z niedoborami odporności, zmniejszając ryzyko pojawienia się powikłań oraz śmiertelność [37]. Badania przeprowadzone na grupie pacjentów z białaczką oraz po przeszczepie komórek krwiotwórczych wykazały istotny statystycznie spadek częstości występowania zapalenia płuc u osób zakażonych wirusem grypy i leczonych oseltamiwem (10%) w porównaniu z chorymi nie poddanymi leczeniu (42%) [15]. Natomiast pomimo wystąpienia zapalenia płuc u 12 spośród 25 pacjentów z białaczką chorych na grype i leczonych NAI, u żadnego nie odnotowano zgonu, natomiast w grupie 8 chorych nie poddanych leczeniu wystąpiły 3 zgony w wyniku zapalenia płuc [16].

W przypadku zdrowych pacjentów, z prawidłowo funkcjonującym układem immunologicznym wdrożenie leczenia oseltamiwem po 48 godzinach od wystąpienia objawów infekcji przynosi niewiele korzyści. U osób z obniżoną odpornością szczyt wirusowej replikacji i zakończenie wydalania wirusa grypy występuje znacznie później, dlatego rozpoczęcie terapii po 48 godzinach może przynieść znaczącą poprawę, w tym zabezpieczyć organizm przed rozprzestrzenieniem choroby do dolnych dróg oddechowych oraz zmniejszyć śmiertelność [13, 31]. Podczas trwania antygrypowej terapii powinna być stale prowadzona diagnostyka, oparta na metodach

hodowli i biologii molekularnej (PCR, sekwencjonowanie), w celu kontroli wydalania wirusa oraz monitorowania lekooporności szczepów. Wydłużona transmisja wirusa i długi okres trwania terapii znacznie zwiększają prawdopodobieństwo nabycia przez szczepy oporności na stosowane leki antywirusowe. Ison i wsp. badając oporność szczepów wirusa grypy izolowanych w kolejnych okresach trwania antywirusowej terapii wykazali pomiędzy pierwszym a ostatnim izolatem ponad 100-krotny wzrost wartości IC_{50} dla oseltamir i 3-krotny dla zanamir [24]. W innych badaniach u 4 z 7 hospitalizowanych i leczonych oseltamiwem pacjentów stwierdzono oporność na ten lek w 4 lub późniejszym dniu od rozpoczęcia terapii [65].

Oporność wirusów grypy na leki przeciwigrypowe może występować już przed rozpoczęciem terapii antywirusowej i jest zjawiskiem coraz bardziej powszechnym i niepokojącym. Podczas sezonu epidemicznego 2003/2004 znacznie wzrosła oporność na inhibitory białka M2. Z uwagi na to, iż obecnie wiele szczepów grypy sezonowej podtypu A/H3N2 oraz krążące od 2009 roku szczepy wirusa A(H1N1)/2009 odporne są na amantadynę i rymantadynę, nie zaleca się stosowania tej klasy leków samodzielnie zarówno w leczeniu, jak i profilaktyce grypy [20]. Większość aktualnie krążących szczepów wirusa grypy typu A i B pozostaje wrażliwa na inhibitory neuraminidazy. Niemniej podczas sezonu epidemicznego 2007/2008 zaobserwowano drastyczny wzrost oporności na oseltamir wśród szczepów grypy sezonowej podtypu A/H1N1 (mutacja H275Y w genie NA) izolowanych w wielu krajach Europy. Największy odsetek szczepów opornych stwierdzono w Norwegii (67%) i Francji (47%), a pacjenci od których zostały wyizolowane nie byli leczeni oseltamiwem, jak i nie mieli kontaktu z osobami przyjmującymi inhibitory neuraminidazy. Wśród krążących obecnie w populacji wirusów A(H1N1)2009 stwierdzono niewielki odsetek szczepów opornych zawierających mutację H275Y (492 przypadki) [72]. Oporność wirusów grypy na zanamir w porównaniu z oseltamiwem jest zjawiskiem bardzo rzadkim, na co mogą wpływać częściowo różnice w budowie i wiązaniu obu leków do miejsca aktywnego NA oraz ograniczone stosowanie zanamir [48]. W związku z coraz większym wzrostem oporności zaleca się stosowanie wyższych dawek oseltamir lub zastosowanie kombinacji różnych leków przeciwwirusowych, takich jak oseltamir, amantadyna i rybawirina [13, 44].

8. Podsumowanie

Zakażenia spowodowane przez przedstawicieli *Orthomyxoviridae* mogą przebiegać z różną manifestacją kliniczną i nasileniem [50]. Rozpowszechnienie zabiegów transplantacyjnych oraz upośledzenia odporności

wywołane AIDS spowodowały, iż w związku z wytworzoną głęboką immunosupresją infekcje wirusami grypy mogą przebiegać częściej i ze zwiększonymi objawami. Dodatkowo w grupie pacjentów z obniżoną wydolnością układu immunologicznego poważnym problemem stają się zakażenia mieszane, spowodowane przez nadkażenia bakteryjne [41].

Choć w większości przypadków zakażeń u osób z prawidłową czynnością układu odpornościowego zakażenia wirusami grypy nie wymagają leczenia, sytuacja ta nie dotyczy pacjentów poddanych immunosupresji. W tej grupie chorych wskazane jest rozpoczęcie terapii z wykorzystaniem NAI, nawet po upływie zalecanych 48 godzin od wystąpienia pierwszych objawów klinicznych, co może znacząco zwiększyć przeżywalność [31]. Jednocześnie osoby takie mają predyspozycje do wydłużenia czasu trwania zakażenia, co wraz z przewlekłą terapią przeciwwirusową, znacząco podwyższa ryzyko nabycia przez szczepy oporności na rutynowo stosowane preparaty przeciwgrypowe. Możliwe jest także narażenie pacjentów z tej grupy na potencjalne efekty uboczne, które jak wiadomo w mniejszym lub większym stopniu, posiadają wszystkie chemioterapeutyki.

Piśmiennictwo:

- Anderson H., Petrie K., Berrisford C., Charlett A., Thatcher N., Zambon M.: Seroconversion after influenza vaccination in patients with lung cancer. *Br. J. Cancer*, **80**, 219–220 (1999)
- Apalsch A.M., Green M., Ledesma-Medina J., Nour B., Wald E.R.: Parainfluenza and influenza virus infections in pediatric organ transplant recipients. *Clin. Infect Dis.* **20**, 394–399 (1995)
- Bañbura M.W., Dzieciatkowski T.: Ptasia grypa – krążące zagrożenie. *Życie Wet.* **80**, 683–685 (2005)
- Blumberg E.A., Albano C., Pruett T., Isaacs R., Fitzpatrick J., Bergin J., Crump C., Hayden F.G.: The immunogenicity of influenza virus vaccine in solid organ transplant recipients. *Clin. Infect Dis.* **22**, 295–302 (1996)
- Boehmer L.M., Waqar S.N., Govindan R.: Influenza vaccination in patients with cancer: an overview. *Oncology*, **24**, 1167–1170 (2010).
- Boivin G., Goyette N., Bernatchez H.: Prolonged excretion of amantadine-resistant influenza A virus quasi species after cessation of antiviral therapy in an immunocompromised patient. *Clin. Infect Dis.* **34**, 23–25 (2002)
- Brydak L.B., Rokicka-Milewska R., Machała M., Jackowska T., Sikorska-Fic B.: Immunogenicity of subunit trivalent influenza vaccine in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **17**, 125–129 (1998)
- Brydak L.B., Guzy J., Starzyk J., Machała M., Gózdź S.S.: Humoral immune response after vaccination against influenza in patients with breast cancer. *Support Care Cancer*, **9**, 65–68 (2001)
- Brydak L.B., Machała M., Łaguna P., Rokicka-Milewska R.: Antibody response to influenza vaccination in splenectomized patients in Poland. *J. Clin. Immunol.* **24**, 225–236 (2004)
- Brydak L.B.: Grypa. Pandemia grypy – mit czy realne zagrożenie? Oficyna Wyd. RYTM, Warszawa, 2008.
- Burbach G., Bienzle U., Stark K., Rayes N., Neuhaus R., Serke S., Engelmann H., Künzel W., Türk G., Neuhaus P.: Influenza vaccination in liver transplant recipients. *Transplantation*, **67**, 753–755 (1999)
- Carr S., Ilyushina N.A., Franks J., Adderson E.E., Caniza M., Govorkova E.A., Webster R.G.: Oseltamivir-resistant influenza A and B viruses pre- and postantiviral therapy in children and young adults with cancer. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **30**, 284–288 (2010)
- Casper C., Englund J., Boeckh M.: How I treat influenza in patients with hematologic malignancies. *Blood*, **115**, 1331–1342 (2010)
- Centkowski P., Brydak L., Machała M., Kalinka-Warzocho E., Błasińska-Morawiec M., Federowicz I., Walewski J., Węgrzyn J., Wołowicz D., Lech-Marańda E., Sawczuk-Chabin J., Biliński P., Warzocho K.: Immunogenicity of influenza vaccination in patients with non-Hodgkin lymphoma. *J. Clin. Immunol.* **27**, 339–346 (2007)
- Chemaly R.F., Ghosh S., Bodey G.P., Rohatgi N., Safdar A., Keating M.J., Champlin R.E., Aguilera E.A., Tarrand J.J., Raad I.I.: Respiratory viral infections in adults with hematologic malignancies and human stem cell transplantation recipients: a retrospective study at a major cancer center. *Medicine*, **85**, 278–287 (2006)
- Chemaly R.F., Torres H.A., Aguilera E.A., Mattiuzzi G., Cabanillas M., Kantarjian H., Gonzalez V., Safdar A., Raad I.I.: Neuraminidase inhibitors improve outcome of patients with leukemia and influenza: an observational study. *Clin. Infect. Dis.* **44**, 964–967 (2007)
- Couch R.B., Englund J.A., Whimbey E.: Respiratory viral infections in immunocompetent and immunocompromised persons. *Am. J. Med.* **102**, 2–9 (1997)
- Duchini A., Hendry R.M., Nyberg L.M., Viernes M.E., Pockros P.J.: Immune response to influenza vaccine in adult liver transplant recipients. *Liver Transpl.* **7**, 311–313 (2001)
- Elting L.S., Whimbey E., Lo W., Couch R., Andreeff M., Bodey G.P.: Epidemiology of influenza A virus infection in patients with acute or chronic leukemia. *Support Care Cancer*, **3**, 198–202 (1995)
- Fiore A.E., Uyeki T.M., Broder K., Finelli L., Euler G.L., Singleton J.A., Iskander J.K., Wortley P.M., Shay D.K., Bresee J.S., Cox N.J.: Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. *MMWR Recomm. Rep.* **59**, 1–62 (2010)
- Fraund S., Wagner D., Pethig K., Drescher J., Girgsdies O.E., Haverich A.: Influenza vaccination in heart transplant recipients. *J. Heart Lung Transplant.* **18**, 220–225 (1999)
- Gulyaev A.P., Fouchier R.A., Olsthoorn R.C.: Influenza virus RNA structure: unique and common features. *Int. Rev. Immunol.* **29**, 533–556 (2010)
- Hayden F.G., Treanor J.J., Fritz R.S., Lobo M., Betts R.F., Miller M., Kinnersley N., Mills R.G., Ward P., Straus S.E.: Use of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in experimental human influenza: randomized controlled trials for prevention and treatment. *J. Am. Med. Ass.* **282**, 1240–1246 (1999)
- Ison M.G., Gubareva L.V., Atmar R.L., Treanor J., Hayden F.G.: Recovery of drug-resistant influenza virus from immunocompromised patients: a case series. *J. Infect. Dis.* **193**, 760–764 (2006)
- Ison M.G., Michaels M.G.: AST Infectious Diseases Community of Practice. RNA respiratory viral infections in solid organ transplant recipients. *Am. J. Transplant.* **9**, S166–172 (2009)
- Ison M.G.: Influenza, including the novel H1N1, in organ transplant patients. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **23**, 365–373 (2010)

27. Khater F, Moorman J.P.: Complications of influenza. *South Med. J.* **96**, 740–743 (2003)
28. Kroon F.P., van Dissel J.T., de Jong J.C., van Furth R.: Antibody response to influenza, tetanus and pneumococcal vaccines in HIV-seropositive individuals in relation to the number of CD4+ lymphocytes. *AIDS*, **8**, 469–476 (1994)
29. Kumar D., Humar A.: Pandemic influenza and its implications for transplantation. *Am. J. Transplant.* **6**, 1512–1517 (2006)
30. Kunisaki K.M., Janoff E.N.: Influenza in immunosuppressed populations: a review of infection frequency, morbidity, mortality, and vaccine responses. *Lancet Infect. Dis.* **9**, 493–504 (2009)
31. Lapinsky S.E.: H1N1 novel influenza A in pregnant and immunocompromised patients. *Crit. Care Med.* **38**, 52–57 (2010)
32. Landry M.L.: Diagnostic tests for influenza infection. *Curr. Opin. Pediatr.* **23**, 91–97 (2011)
33. Lawal A., Basler C., Branch A., Gutierrez J., Schwartz M., Schiano T.D.: Influenza vaccination in orthotopic liver transplant recipients: absence of post administration ALT elevation. *Am. J. Transplant.* **4**, 1805–1809 (2004)
34. Ljungman P.: Immunization of transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* **23**, 635–636 (1999)
35. Ljungman P.: Respiratory virus infections in stem cell transplant patients: the European experience. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **7**, S5–7 (2001)
36. Lu Y., Jacobson D.L., Ashworth L.A., Grand R.J., Meyer A.L., McNeal M.M., Gregas M.C., Burchett S.K., Bousvaros A.: Immune response to influenza vaccine in children with inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* **104**, 444–453 (2009)
37. Machado C.M., Cardoso M.R., da Rocha I.F., Boas L.S., Dullely F.L., Pannuti C.S.: The benefit of influenza vaccination after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* **36**, 897–900 (2005)
38. Madan R.P., Tan M., Fernandez-Sesma A., Moran T.M., Emre S., Campbell A., Herold B.C.: A prospective, comparative study of the immune response to inactivated influenza vaccine in pediatric liver transplant recipients and their healthy siblings. *Clin. Infect. Dis.* **46**, 712–718 (2008)
39. Matsuzaki A., Suminoe A., Koga Y., Kinukawa N., Kusuhara K., Hara T.: Immune response after influenza vaccination in children with cancer. *Pediatr. Blood Cancer*, **45**, 831–837 (2005)
40. Mauch T.J., Bratton S., Myers T., Krane E., Gentry S.R., Kashtan C.E.: Influenza B virus infection in pediatric solid organ transplant recipients. *Pediatrics*, **94**, 225–229 (1994)
41. Minnema B.J., Patel M., Rotstein C., Mazzulli T., Hota S., Cole E.H., Renner E.L., Ross H.J., Singer L.G., Husain S.: Comparison of hospitalized solid organ transplant recipients and nonimmunocompromised patients with pandemic H1N1 infection: a retrospective cohort study. *Transplantation*, **92**, 230–234 (2011)
42. Montoya C.J., Toro M.F., Aguirre C., Bustamante A., Hernandez M., Arango L.P., Echeverry M., Arango A.E., Prada M.C., Alarcon Hdel P., Rojas M.: Abnormal humoral immune response to influenza vaccination in pediatric type-1 human immunodeficiency virus infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **102**, 501–508 (2007)
43. Morelon E., Noble C.P., Daoud S., Cahen R., Goujon-Henry C., Weber F., Laurent P.E., Kaiserlian D., Nicolas J.F.: Immunogenicity and safety of intradermal influenza vaccination in renal transplant patients who were non-responders to conventional influenza vaccination. *Vaccine*, **28**, 6885–6890 (2010)
44. Nguyen J.T., Hoopes J.D., Smee D.F., Prichard M.N., Driebe E.M., Engelthaler D.M., Le M.H., Keim P.S., Spence R.P., Went G.T.: Triple combination of oseltamivir, amantadine, and ribavirin displays synergistic activity against multiple influenza virus strains in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 4115–4126 (2009)
45. Nichols W.G., Guthrie K.A., Corey L., Boeckh M.: Influenza infections after hematopoietic stem cell transplantation: Risk factors, mortality, and the effect of antiviral therapy. *Clin. Infect. Dis.* **39**, 1300–1306 (2004)
46. Nicolini A., Perazzo A.: Influenza A H1N1 pneumonia in a patient with hairy-cell leukemia. *Monaldi Arch. Chest Dis.* **73**, 92–94 (2010)
47. Nordøy T., Aaberge I.S., Husebekk A., Samdal H.H., Steinert S., Melby H., Kolstad A.: Cancer patients undergoing chemotherapy show adequate serological response to vaccinations against influenza virus and Streptococcus pneumoniae. *Med. Oncol.* **19**, 71–78 (2002)
48. Okomo-Adhiambo M., Demmler-Harrison G.J., Deyde V.M., Sheu T.G., Xu X., Klimov A.I., Gubareva L.V.: Detection of E119V and E119I mutations in influenza A (H3N2) viruses isolated from an immunocompromised patient: challenges in diagnosis of oseltamivir resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 1834–1841 (2010)
49. Ortals D.W., Liebhaber H., Presant C.A., Van Amburg A.L. 3rd, Lee J.Y.: Influenza immunization of adult patients with malignant diseases. *Ann. Intern. Med.* **87**, 552–557 (1977)
50. Pavia A.T.: Viral infections of the lower respiratory tract: old viruses, new viruses, and the role of diagnosis. *Clin. Infect. Dis.* **52**, S284–289 (2011)
51. Polozov I.V., Bezrukov V., Gawrisch K., Zimmerberg J.: Progressive ordering with decreasing temperature of the phospholipids of influenza virus. *Nat. Chem. Biol.* **4**, 248–255 (2008)
52. Porter C.C., Edwards K.M., Zhu Y., Frangoul H.: Immune response to influenza immunization in children receiving maintenance chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr. Blood Cancer*, **42**, 36–40 (2004)
53. Ramilo O., Hicks P.J., Borvak J., Gross L.M., Zhong D., Squires J.E., Vitetta E.S.: T cell activation and human immunodeficiency virus replication after influenza immunization of infected children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **15**, 197–203 (1996)
54. Rello J., Rodríguez A., Ibañez P., Socias L., Cebrian J., Marques A., Guerrero J., Ruiz-Santana S., Marquez E., Del Nogal-Saez F., Alvarez-Lerma F., Martínez S., Ferrer M., Avellanás M., Granada R., Maraví-Poma E., Albert P., Sierra R., Vidaur L., Ortiz P., Prieto del Portillo I., Galván B., León-Gil C.: Intensive care adult patients with severe respiratory failure caused by Influenza A (H1N1) in Spain. *Crit. Care*, **13**, 148–157 (2009)
55. Ring A., Marx G., Steer C., Harper P.: Influenza vaccination and chemotherapy: a shot in the dark? *Support Care Cancer*, **10**, 462–465 (2002)
56. Romanowska M., Banaszkiwicz A., Nowak I., Radzikowski A., Brydak L.B.: Immunization against influenza during the 2005/2006 epidemic season and the humoral response in children with diagnosed inflammatory bowel disease (IBD). *Med. Sci. Monit.* **16**, 433–439 (2010)
57. Schnell D., Mayaux J., de Bazelaire C., Legoff J., Feuillet S., Scieux C., Andreu-Gallien J., Darmon M., Baruchel A., Schlemmer B., Azoulay E. Risk factor for pneumonia in immunocompromised patients with influenza. *Res. Med.* **104**, 1050–1056 (2010)
58. Scharpé J., Evenepoel P., Maes B., Bammens B., Claes K., Osterhaus A.D., Vanrenterghem Y., Peetermans W.E.: Influenza vaccination is efficacious and safe in renal transplant recipients. *Am. J. Kidney Dis.* **54**, 77–85 (2009)
59. Shahgholi E., Ehsani M.A., Salamati P., Maysamie A., Sotoudeh K., Mokhtariad T.: Immunogenicity of trivalent influenza

- vaccine in children with acute lymphoblastic leukemia during maintenance therapy. *Pediatr. Blood Cancer*, **54**, 716–720 (2010)
60. Soesman N.M., Rimmelzwaan G.F., Nieuwkoop N.J., Beyer W.E., Tilanus H.W., Kemmeren M.H., Metselaar H.J., de Man R.A., Osterhaus A.D.: Efficacy of influenza vaccination in adult liver transplant recipient. *J. Med. Virol.* **61**, 85–93 (2000)
61. Staprans S.I., Hamilton B.L., Follansbee S.E., Elbeik T., Barbosa P., Grant R.M., Feinberg M.B.: Activation of virus replication after vaccination of HIV-1-infected individuals. *J. Exp. Med.* **182**, 1727–1737 (1995)
62. Sullivan P.S., Hanson D.L., Dworkin M.S., Jones J.L., Ward J.W.: Adult and adolescent spectrum of HIV disease investigators. Effect of influenza vaccination on disease progression among HIV-infected persons. *AIDS*, **14**, 2781–2785 (2000)
63. Tanzi E., Esposito S., Bojanin J., Amendola A., Trabattoni D., Pariani E., Pinzani R., Zanetti A., Principi N.: Immunogenicity and effect of a virosomal influenza vaccine on viral replication and T-cell activation in HIV-infected children receiving highly active antiretroviral therapy. *J. Med. Virol.* **78**, 440–445 (2006)
64. Tasker S.A., Treanor J.J., Paxton W.B., Wallace M.R.: Efficacy of influenza vaccination in HIV-infected persons. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann. Intern. Med.* **131**, 430–433 (1999)
65. Tramontana A.R., George B., Hurt A.C., Doyle J.S., Langan K., Reid A.B., Harper J.M., Thursky K., Worth L.J., Dwyer D.E., Morrissey C.O., Johnson P.D., Buising K.L., Harrison S.J., Seymour J.F., Ferguson P.E., Wang B., Denholm J.T., Cheng A.C., Slavin M.: Oseltamivir resistance in adult oncology and hematology patients infected with pandemic (H1N1) 2009 virus, Australia. *Emerg. Infect. Dis.* **16**, 1068–1075 (2010)
66. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y.: Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev.* **56**, 152–179 (1992)
67. Weinstock D.M., Gubareva L.V., Zuccotti G.: Prolonged shedding of multidrug-resistant influenza A virus in an immunocompromised patient. *N. Engl. J. Med.* **348**, 867–868 (2003)
68. Whimbey E., Elting L.S., Couch R.B., Lo W., Williams L., Champlin R.E., Bodey G.P.: Influenza A virus infections among hospitalized adult bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* **13**, 437–440 (1994)
69. Vilchez R.A., McCurry K., Dauber J., Lacono A., Griffith B., Fung J., Kusne S.: Influenza virus infection in adult solid organ transplant recipients. *Am. J. Transplant.* **2**, 287–291 (2002)
70. Yousuf H.M., Englund J., Couch R., Rolston K., Luna M., Goodrich J., Lewis V., Mirza N.Q., Andreeff M., Koller C., Elting L., Bodey G.P., Whimbey E.: Influenza among hospitalized adults with leukemia. *Clin. Infect. Dis.* **24**, 1095–1099 (1997)
71. Zuccotti G.V., Zenga A., Durando P., Massone L., Bruzzone B., Sala D., Riva E.: Immunogenicity and tolerability of a trivalent virosomal influenza vaccine in a cohort of HIV-infected children. *J. Int. Med. Res.* **32**, 492–499 (2004)
72. World Health Organisation 18.05.2011 (online): http://www.who.int/csr/disease/influenza/2011_05_20_weekly_web_update_oseltamivir_resistance.pdf