

Pregledni prispevek/Review article

ČLOVEŠKI HERPESVIRUS 6

HUMAN HERPESVIRUS 6

Jožica Marin

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta, Zaloška 4, 1105 Ljubljana

Prispelo 2002-09-09, sprejeto 2002-11-14; ZDRAV VESTN 2003; 72: 91–5

Ključne besede: herpesvirusi; exanthem subitum; roseola infantum**Key words:** herpesviruses; exanthem subitum; roseola infantum

Izvleček – Izhodišča. Človeški herpesvirus 6 spada med beta herpesviruse. Je limfotropni virus, ki je zelo razširjen. Najpogostejši način prenosa je s slino. Zato do prvih stikov z virusom navadno pride že v zgodnjem otroštvu. Klinično se okužba lahko izrazi kot značilen izpuščaj – exanthem subitum ali roseola infantum. Pri odraslih so primarne okužbe redke, zelo pogosto pa se virus reaktivira.

Zaključki. Človeški herpesvirus 6 lahko poškoduje osrednji živčni sistem. Celo pri imunsko normalno odzivnih posameznikih lahko povzroča meningoencefalitis in druge bolezni. Virus ima pomembno vlogo pri osebah, okuženih s HIV, in pri bolnikih po presaditvi organov. Povzroča zaplete, ker prispeva k še večji imunski pomanjkljivosti. Možnih povezav med človeškim herpesvirusom 6 in multipljo sklerozo, sindromom kronične utrujenosti in nastankom novotvorb še niso potrdili. Okužbo z virusom najlažje dokažemo s spremljanjem serološkega profila; virus lahko dokažemo tudi z monoklonskimi protitelesi in z molekularno biološkimi metodami.

Abstract – Background. Human herpesvirus 6 belongs to beta herpesviruses. This is a lymphotropic virus which is widely spread in a population. The most frequent way of virus transmission is by saliva. For this reason the first contact usually occurs early in a childhood period. Clinical manifestation might be expressed as exanthem subitum or roseola infantum. In adults primary infections are a rare event while virus reactivation might be very frequent.

Conclusions. Human herpesvirus 6 is believed to be the most neurotropic among all herpesviruses. It even can cause central nervous system disease in an immunocompetent person. The most important role of human herpesvirus 6 is in provoking complications in HIV-infected individuals and in patients after organ transplantations, as it causes immunosuppression even more severe. The possible connection of human herpesvirus 6 with multiple sclerosis, chronic fatigue syndrome and some neoplasms remains to be clarified. Human herpesvirus 6 infection can be most easily diagnosed by serological methods; the virus could be detected by monoclonal antibodies and by the use of the methods of molecular biology.

Uvod

Družina herpesvirusov je sprejela medse tri »mlajše« člane: človeški herpesvirus 6 (HHV-6), 7 (HHV-7) in 8 (HHV-8). HHV-6 in 7 sta vključena v poddružino beta, HHV-8 pa v poddružino gama (razpr. 1). Te tri viruse smo spoznali v zadnjem času, ko imamo metode, ki omogočajo dolgotrajnejše gojenje limfocitov, v katere ti virusi vstopajo, se v njih razmnožujejo in v njih vzpostavijo latentno stanje. Metode gojenja limfocitov so danes izpopolnjene, ker je to narekoval študij virusa človeške imunske pomanjkljivosti (HIV), ki je limfotropen prav tako kot omenjeni virusi herpesa. Salahuddin s sodelavci je leta 1986 HHV-6 osamil in ga identificiral kot neznan virus herpesa iz limfocitov bolnikov z aidsom in za tem iz bolnikov z limfoproliferativnimi boleznimi (1). Odkritje HHV-6 je bilo naključno, kot je bilo naključno tudi odkritje HHV-7, ki ga je prva osamila iz limfocitov zdravega človeka Frenklova s sod. leta 1990 (2). HHV-8, ki so ga našli pri bolnikih s Kaposijevim sarkomom (KS), so najprej opisovali kot virus citomegalije (CMV KS), a so ga leta 1994 »razglasili« kot osmega člana družine virusov herpesa (3). Vse tri viruse smo spoznali v zadnjih 15 letih, vendar to niso novi virusi; v serumih homoseksualnih moških, okuženih s HIV, ki so bili odvzeti leta 1978 in jih hra-

Razpr. 1. Herpesvirusi, ki jih najdemo pri človeku.

Table 1. Human herpesviruses.

Podružine in predstavniki Subfamily and viruses
<i>Alfaherpesvirusi</i>
Virus herpes simpleks tip 1 (HSV-1)
Virus herpes simpleks tip 2 (HSV-2)
Virus varicela-zoster (VZV)
<i>Betaherpesvirusi</i>
Virus citomegalije (CMV)
Človeški herpesvirus 6 A (HHV-6A)
Človeški herpesvirus 6 B (HHV-6B)
Človeški herpesvirus 7 (HHV-7)
<i>Gamaherpesvirusi</i>
Virus Epstein-Barr (EBV)
Človeški herpesvirus 8 (HHV-8)

nijo v San Franciscu, so nedavno dokazali protitelesa proti HHV-6, 7 in 8 (4). HHV-6 je morfološko enak drugim virusom herpesa. Genom predstavlja dvojnovijačna DNK, ki ima od 161 do 170 kb (5). Kodira vsaj 20 različnih beljakovin, od katerih je 101-kDa polipeptid pomemben antigen, ki daje močno pozitivno reakcijo

v odtisu Western s poliklonskimi in monoklonskimi protitelesi (6).

Prvim izolatom HHV-6 so sledile uspešne osamitve virusa pri bolnikih z aidsom iz Ugande in Zaira. Ob primerjavi posameznih izolatov so določili dve različici virusa: A in B. Razlikujeta se v molekularnih, bioloških in kliničnih lastnostih (7).

HHV-6 je zelo razširjen virus. Našli so ga pri skoraj 90% zdravih krvodajalcev (8, 9). Virus vztraja in se pogosto reaktivira, ne da bi povzročal klinične simptome. Kar 5% naključno izbranih zdravih ljudi ima v serumu protitelesa IgM proti HHV-6 (10). Virus se sprošča tudi s slino. Zelo pomembno je, da pri številnih otrocih po primarni okužbi deoksiribonukleinsko kislino (DNK) HHV-6 najdemo v možganskem tkivu in v možganski tekočini (11, 12). Virus po primarni okužbi vztraja v osrednjem živčnem sistemu (13). HHV-6 so dokazali tudi v ledvičnem tkivu (14), v pljučih (15), v epitelijskih celicah vratu maternice pri nosečnicah (16) in pri zdravih ženskah v izcedku iz nožnice (17).

Okužbe s HHV-6 pri otrocih

Rezultati epidemioloških študij kažejo, da 90% otrok, starih od 6 do 24 mesecev, razvije protitelesa proti HHV-6. Materina protitelesa jih varujejo 5 do 6 mesecev. Pri 30% otrok je pri primarni okužbi opazen izpuščaj, znan kot *exanthema subitum* (ES) ali *roseola infantum* ali šesta bolezen, ki ga spremlja zvišana telesna temperatura do 40° C. Vendar pa slika primarne okužbe ni vedno tipična: približno 14% otrok nima izpuščaja, imajo pa vročino, ali pa imajo samo izpuščaj (18). Primarno okužbo navadno dokažemo serološko; pri otrocih z ES so uspele tudi osamitve virusa iz limfocitov (19). Vedno bolj pa je HHV-6 pomemben, ker so dokazali, da povzroča nevrološke zaplete in mu izmed vseh človeških virusov herpesa pripisujejo najbolj intenzivno nevrotropno delovanje. Pri otrocih so pogosti vročinski krči, redkeje se razvije encefalitis (20). Najpogostejši način prenosa je s slino (21), možna je celo intrauterina in perinatalna okužba (22). Z verižno reakcijo s polimerazo (angl. polymerase chain reaction, PCR) so dokazali DNK HHV-6 v celicah vratu maternice pri 20% žensk v pozni nosečnosti. Pred nosečnostjo se lahko virus reaktivira (16). Glede na to, da so virus našli v izcedku nožnice tudi pri rednih kontrolnih pregledih žensk, obstaja celo hipoteza, da se HHV-6 prenaša spolno (17). Nedavno so opisali primera fulminantnega hepatitisa pri dveh novorojenčkih, ki podpirata to hipotezo; iz krvi mater in otrok so osamili HHV-6B (23).

Okužbe s HHV-6 pri odraslih

Pri odraslih je primarna okužba redka. Vendar so opisali limfadenopatijo, hepatitis ali infekcijski mononukleozi podobna stanja, pri katerih so določili akutno okužbo s HHV-6. Rezultati študij, v katerih so ugotavljali prekuženost zdrave populacije, kažejo, da ima od 20% do 90% asimptomatskih posameznikov specifična protitelesa IgG (24, 25). Nizki titri IgM protiteles pri odraslih so zaradi zelo pogostih reaktivacij. Reaktivacije niso vedno posledica stanja zmanjšane imunske sposobnosti, marveč lahko tudi sočasne okužbe s HHV-7 in s CMV (26).

HHV-6 in bolezen osrednjega živčnega sistema

Vsi avtorji prvih opisov ES omenjajo nevrološke zaplete – od vročinskih krčev do encefalitisov (27, 28). Etiološko zvezo s HHV-6 so potrdili z osamitvijo HHV-6 iz monocitov periferne krvi (PMNC) in z dokazom virusne DNK v likvorju; kar pri 42% otrok z akutno okužbo so s PCR določili DNK v likvorju (10, 20). Pri otrocih virus lahko prodre v osrednji živčni sistem

(OŽS) med primarno okužbo (29). Pri odraslih so zapleti posledica reaktiviranja virusa ali reinfekcije. Encefalitis, ki ga povzroča HHV-6 pri imunsko normalno odzivnih osebah, lahko mineva z blago ali z zelo hudo klinično sliko. Navadno je povzročitelj HHV-6A (30, 31). Pri okužbi OŽS so pogosto navzoča intratekalna protitelesa (32).

Zanimivost v študiju patogeneze HHV-6 je možna povezava virusa z multiplo sklerozo (MS). Dokazali so povišane titre protiteles proti HHV-6 in pri 70% bolnikov DNK HHV-6 v likvorju. Razlaga za možno povezavo bi bila, da HHV-6, ki ostaja v OŽS, pri občutljivih posameznikih vzbudi lokalni vnetni odgovor, ki povzroči demielinizacijo, značilno za multiplo sklerozo (MS). Druga razlaga za morebitno vpletenost HHV-6 pa je, da pri demielinizaciji pride do neposredne citolize celic glia, ob tem pa se sproščajo citokini, kot npr. TNF α in drugi, ki poškodujejo mielin (33, 34). Zaenkrat so na voljo rezultati dveh študij. Obe zajemata premajhno število primerov, zato rezultati ne dokazujejo trdne etiološke povezave med HHV-6 in MS.

HHV-6 pri imunsko pomanjkljivih osebah

Vloga HHV-6 pri bolnikih z imunsko pomanjkljivostjo je vezana na primarno okužbo, na reaktiviranje latentnega virusa, na vztrajanje virusa ali na reinfekcijo. Vse, kar danes vemo o HHV-6, je pravzaprav »zasluga« bolnikov z imunosupresijo, kajti pri njih HHV-6 »razvije« svojo patogenost v največji meri.

Najpogostejša klinična znamenja pri bolnikih so zvišana telesna temperatura, pnevmonitis, hepatitis in encefalitis.

Pri bolnikih po presaditvi ledvic, ki imajo visoke titre protiteles proti HHV-6 in imajo imunosupresivno zdravljenje (OKT3 ali ALG), lahko pride do zavrnitve presadka. Biopsija pogosto pokaže navzočnost antigena HHV-6 v epitelijskih celicah tubulov (35). Znana pa je študija, v kateri niso ugotovili povezave med ravni protiteles in zavrnitveno reakcijo. Bolniki, vključeni v to študijo, niso dobivali OKT3, niti ALG (36). Raziskovalci v Turčiji so ugotovili DNK HHV-6 v polimorfno nuklearnih celicah (PMNC) pri bolnikih po presaditvi ledvice v 63%, pri zdravih osebah pa v 44%. Pri bolnikih so v 70% ugotovili HHV-6B (37).

Posebej poglobljeno so študirali vlogo HHV-6 pri bolnikih po presaditvi kostnega mozga. Aktivnosti HHV-6 pripisujejo izpuščaj, pnevmonitis, sinuzitis, zvišano temperaturo in tudi zavrnitveno reakcijo. Vzrok za ta stanja težko pripisujemo le HHV-6, čeprav so pri večini bolnikov ugotovili povišane titre protiteles proti HHV-6 in pri 40% so našli virus v PMNC ali v monocitih iz kostnega mozga (38). Carrigan v drugi študiji pri bolnikih po presaditvi kostnega mozga opisuje povezavo med HHV-6 in pnevmonitisom. Virus so osamili tudi iz bronhoalveolnega izpirka, hkrati so določili tudi CMV, pri nekaterih bolnikih pa tudi adenovirus in glive iz rodu *Aspergillus* (39). Sočasna navzočnost več mikroorganizmov otežuje zaključek o tem, da gre za etiološki pomen HHV-6. Pri teh bolnikih so v večini določili HHV-6B (40). Druga skupina raziskovalcev pa je pri bolnikih po presaditvi kostnega mozga v 11% določila HHV-6A; znan je primer bolnika, pri katerem so našli HHV-6A in B (41).

Zelo pomembno mesto ima HHV-6 v patogenezi aidsa; tako virus HIV kot HHV-6 imata za svojo tarčo celico limfocite CD4. Zanimivi so podatki o prevalenci protiteles proti HHV-6 pri osebah, okuženih s HIV: rezultati nekaterih študij niso pokazali razlike v prevalenci med zdravimi osebami in osebami, okuženimi s HIV (42–44); v drugi študiji rezultati kažejo na večjo prevalenco (45) ali celo nižjo (46). V tej študiji niso mogli dokazati povezave s HHV-6 seroprevalenco in napredovanjem aidsa. Drugi avtorji so dokazali padec seroprevalence s počasnim napredovanjem aidsa (47, 24) in nobenega padca,

če je bolezen napredovala hitro. Pri osebah, okuženih s HIV, so ugotavljali tudi sproščanje HHV-6 s slino. Dobili so zelo različne rezultate: od 0 do 96%; v slini zdravih oseb so HHV-6 določili v 3 do 63% (48, 49). Prav tako so zelo različne rezultate dobili, ko so ugotavljali DNK HHV-6 v PMNC pri osebah, okuženih s HIV, in pri neokuženih. Vsi ti rezultati ne kažejo na sinergistično delovanje obeh virusov. Boljšo povezavo so našli, ko so ugotavljali DNK HHV-6 v bezgavkah zdravih ljudi in ljudi, okuženih s HIV: slednji so imeli HHV-6A v značilno višjem odstotku kot neokužene osebe. HHV-6 pri osebah, okuženih s HIV, najverjetneje ne povzroča neposredne okvare posameznega organa, temveč prispeva k še večji imunski pomanjkljivosti (50, 51).

HHV-6 in novotvorbe

Rezultati raziskav nekaterih molekularnobioloških mehanizmov patogenosti HHV-6A in B nakazujejo onkogeno delovanje obeh različic virusa v eksperimentalnih pogojih (52, 53). Klinični pomen te lastnosti HHV-6 so raziskovali predvsem v zvezi z limfoproliferativnimi boleznimi: z ne-Hodgkinovim limfomom (NHL), s Hodgkinovo boleznijo (HB) in z akutno limfatično levkemijo (ALL). Zaključki študij kažejo le na pogosto navzočnost HHV-6 v različnih kliničnih materialih, ne podpirajo pa možnih etioloških povezav. Tudi spremljanje serološkega profila se ne ujema z napredovanjem ali regresijo bolezni (54–57).

DNK HHV-6 so našli tudi v različnih organih bolnikov s Kaposijevim sarkomom (KS) (58) in v celicah karcinoma v ustni votlini, ki je pogost pri Azijcih; njegov nastanek povezujejo z žvečenjem tobaka (59). HHV-6 je najverjetneje spremljajoči dejavnik in ni neposredno vpleten v nastanek novotvorbe. Znani so tudi rezultati raziskave o možni vpletenosti HHV-6 pri nastanku raka na vratu maternice. Določitev DNK HHV-6 v transformiranih celicah vratu maternice kaže le na vlogo virusa kot »naključnega začasnega sopotnika« v epitelijskih celicah (60).

HHV-6, sindrom kronične utrujenosti in nekatere druge sistemske bolezni

Za sindrom kronične utrujenosti (SKU) so značilne motnje v koncentraciji, boleče žrelo, bolečine v mišicah in druga klinična znamenja. Ker v serumih bolnikov najdemo neobičajen imunski odgovor na virus Epstein-Barr, na virus herpesa simpleksa, na CMV, entero- in retrovire je bil možen povzročitelj tega sindroma tudi HHV-6. V številnih študijah so pri bolnikih ugotavljali DNK HHV-6 v likvorju in v PMNC, ugotavljali so serološki profil in ugotovili, da je tudi imunski odgovor na HHV-6 netipičen, kar najverjetneje kaže na določeno aktivnost virusa – gre za reaktiviranje latentnega virusa zaradi porušitve regulacije imunskega sistema in ne za potrditev vzroka bolezni (61, 62). Možne etiološke povezave HHV-6 s Sjögrenovim sindromom, z revmatoidnim artritisom in s sistemskim lupusom eritematozusom niso mogli potrditi (63).

Diagnostika okužb s HHV-6

V zadnjih letih se je razvila vrsta metod za določanje okužb s HHV-6. Vse postopke je narekoval razvoj virologije in temeljijo tako na neposrednem dokazovanju virusa kot na dokazovanju specifičnih protiteles.

Neposredne metode

Poskus osamitve virusa

Teoretično in praktično lahko HHV-6 izoliramo iz limfocitov bolnika v akutni stopnji okužbe in jim dodamo nekaj sve-

žih limfocitov, aktiviranih s fitohemaglutininom ob dodatku IL-2. Pozitivna osamitev ob kliničnih znamenjih bolezni pomeni najbolj zanesljiv dokaz povzročitelja; metoda je razmeroma zahtevna in jo v vsakodnevni diagnostiki redko uporabljamo (64).

Dokazovanje virusnih antigenov

Uporabljamo monoklonska protitelesa proti različnim antigenom. Nekatera so že na trgu. Prirejena so za posredno imunofluorescenco, nekatera pa za detekcijo antigenov na rezinah tkiva. Razvili so tudi encimsko imunski test za dokaz posebnega glikoproteina (gp 116/64/54). Dokazovanje virusnih antigenov v PMNC je primeren hiter diagnostični postopek pri ugotavljanju vzroka vročinskega stanja pri otrocih in tudi za ugotavljanje aktivnosti HHV-6 pri bolnikih po presaditvi organov (65, 66).

Dokazovanje DNK

Na voljo je PCR z različnimi kombinacijami začetnih oligonukleotidov z možnim ločevanjem HHV-6A in B (67, 68). Dokaz virusne DNK v serumu ali plazmi pomeni aktivnost HHV-6. Zelo pomemben je čas odvzema krvi – med akutno stopnjo okužbe je manjša verjetnost pozitivnega rezultata kot 7 do 20 dni kasneje (69).

Posredne metode

Za dokaz protiteles proti HHV-6 lahko uporabimo posredno imunofluorescenco, antikomplementno imunofluorescenco, nevtralizacijski test in encimsko-imunski test. Te metode navadno ne ločujejo različic A in B. Znano je, da pri seroloških testih lahko pride do navzkrižne reakcije s protitelesi proti HHV-7. Zato pred preiskavo priporočajo absorpcijo serumov. Ker ima večina prebivalcev, starejših od dveh let, navzoča protitelesa, preiskava enega seruma nima večjega pomena. Če določimo IgM, to pomeni primarno okužbo ali reaktiviranje virusa. Pri primarni okužbi določimo IgM med 5. in 7. dnevom po okužbi. Ker pa ima 5% zdravih odraslih ljudi IgM, določanje teh imunoglobulinov žal ne daje trdnega odgovora na vprašanje, za kakšno stopnjo okužbe gre v danem primeru (70).

Klinična slika bolnika in izbira pravega diagnostičnega postopka

Vročina in izpuščaj

Odločimo se za kultiviranje HHV-6 ali za PCR iz PMNC in za pregled parnih serumov (odvzetih v presledku enega tedna). Pri bolnikih s klasičnim ES razširjen spekter diagnostičnih postopkov ni potreben. PCR ali »antigenski test« sta koristni preiskavi pri primarni okužbi brez ES, ker s tem lahko izključimo druge povzročitelje izpuščajev in preprečimo nepotrebno uvažanje antibiotičnega zdravljenja.

Akutna nevrološka simptomatika

Pozitiven PCR iz likvorja potrdi nevrološko bolezen in vročinske krče (20, 31, 64). Poleg PCR je primeren pregled seruma akutne in konvalescentne stopnje bolezni in eventualno določanje avidnosti protiteles vedno pomeni akutno okužbo (71). Glede na spoznanje, da po primarni okužbi mnogokrat najdemo DNK HHV-6 v možganskem tkivu, je vsak pozitiven rezultat pri nevrološki simptomatiki bolnika potrebno skrbno pretehtati. Zaenkrat še ni enotnih smernic za diagnostiko nevrološke bolezni, ki jih povzroča HHV-6.

Zdravljenje

Za HHV-6 so ugotovili v in vitro sistemu občutljivost na foskarnet, na aciklovir in na ganciklovir. Ugotovili so, da je različica B bolj občutljiva na ganciklovir in foskarnet kot na aciklovir. Občutljivost različice A na aciklovir in foskarnet je enaka

kot pri različici B. Učinkovitost teh sredstev so dokazali tudi v klinični praksi. Vendar se za zdravljenje odločijo le v redkih primerih. V literaturi so podatki o uspešnem zdravljenju vezani na posamezne skupine bolnikov, kot so bolniki po presaditvi organov s pnevmonitisom, ki imajo povišane titre IgM proti HHV-6, in bolniki z encefalitisom, pri katerih so dokazali DNK virusa v likvorju. Foskarnet se je izkazal kot uspešno protivirusno sredstvo (72).

Literatura

- Josephs SF, Salahuddin SZ, Ablashi DV, Schachter F, Wong-Staal F, Gallo RC. Genomic analysis of the human B-lymphotropic virus (HBLV). *Science* 1986; 234: 601-3.
- Frenkel N, Schirmer EC, Wyatt LS et al. Isolation of a new herpesvirus from CD4 T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 748-52.
- Chang Y, Cesarman E, Pessin MS et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science* 1994; 266: 1865-9.
- Martin J. Epidemiology of HHV-8 infection in Western countries. Fourth International Conference on Human Herpesviruses 6, 7 and 8. Book of Abstracts. Paris, 2001: 12-2.
- Lindquester GJ, Inone N, Allen RD et al. Restriction endonuclease mapping and molecular cloning of human herpesvirus 6 variant B strain Z 29 genome. *Arch Virol* 1996; 141: 367-9.
- Yamamoto M, Black JB, Stewart JA, Lopez C, Pellett P. Identification of a nucleocapsid protein as a specific serological marker of human herpesvirus 6 infection. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1957-62.
- Gempels VA, Nicholas J, Lawrence G, Jones M, Thomson BJ, Martin ME. The DNA sequence of human herpesvirus-6: structure, coding content, and genome evolution. *Virology* 1995; 209: 29-51.
- Cone RW, Huang ML, Ashkley R, Corey L. Human herpesvirus-6 DNA in peripheral blood cells and saliva from immunocompetent individuals. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1262-7.
- Cuende JI, Ruiz J, Civeira MP, Prieto J. High prevalence of HHV-6 DNA in peripheral blood mononuclear cells of healthy individuals detected by nested-PCR. *J Med Virol* 1994; 43: 115-8.
- Hall CB, Long CE, Schnabel KC et al. Human herpesvirus-6 infection in children. A prospective study of complications and reactivation. *N Engl J Med* 1994; 331: 432-8.
- Luppi M, Barozzi P, Maiorana A, Marasca R, Torelli G. Human herpesvirus-6 infection in normal brain tissue. *J Infect Dis* 1994; 168: 943-4.
- Luppi M, Barozzi P, Maiorana A et al. Human herpesvirus-6: a survey of presence and distribution of genome sequences in normal brain and neuroglial tumors. *J Med Virol* 1995; 47: 105-11.
- Challoner PB, Smith KT, Parker JD et al. Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7440-4.
- Hoshino K, Nishi T, Adachi H et al. Human herpesvirus-6 infection in renal allografts: retrospective immunohistochemical study in Japanese recipients. *Transplant Int* 1995; 8: 169-73.
- Cone RW, Hackman RC, Huang ML et al. Human herpesvirus-6 in lung tissue from patients with pneumonitis after bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1993; 329: 156-61.
- Okuno T, Oishi H, Hayashi K, Nonogyki M, Tanaka K, Yamanishi K. Human herpesvirus-6 and 7 in cervixes of pregnant women. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1968-70.
- Leach CT, Newton ER, McParlin S, Jensen HB. Human herpesvirus-6 infection of the female genital tract. *J Infect Dis* 1994; 169: 1281-3.
- Pruksananonda P, Hall CB, Insel RA et al. Primary human herpesvirus 6 infection in young children. *N Engl J Med* 1992; 326: 1445-50.
- Yamanishi KT, Okuno K, Shiraki M et al. Identification of human herpesvirus 6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* 1988; 1: 1065-7.
- Kondo K, Nagafuji H, Hata A, Tomomori C, Yamanishi K. Association of HHV-6 infection of the central nervous system with recurrence of febrile convulsions. *J Infect Dis* 1993; 167: 1197-200.
- Harnett GB, Farr TJ, Pietroboni GR, Bucens MR. Frequent shedding of human herpesvirus 6 in saliva. *J Med Virol* 1990; 30: 128-30.
- Aubin JT, Poirel L, Agut H et al. Intrauterine transmission of human herpesvirus 6. *Lancet* 1992; 340: 482-3.
- Mendel I, DeMatteis M, Bertin C et al. Fulminant hepatitis in neonates with human herpesvirus 6 infection. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 993-7.
- Marin J, Klemenc P, Beović B. Humani herpesvirus 6 - navzočnost specifičnih protiteles IgG pri asimptomatskih posameznikih in pri izbranih skupinah bolnikov. 1. slovenski imunološki kongres z mednarodno udeležbo, Portorož. Med Razgl 2000; 39: 162-2.
- DiLuca D, Mirandola P, Ravaioli T et al. Human herpesvirus 6 and 7 in salivary glands and shedding in saliva of healthy and human immunodeficiency virus positive individuals. *J Med Virol* 1995; 45: 462-8.
- Di Luca D, Mirandola P, Secchiero P et al. Characterisation of human herpesvirus 6 strains isolated from patients with exanthem subitum with or without cutaneous rash. *J Infect Dis* 1992; 166: 689-9.
- Burnstine RC, Paine RS. Residual encephalopathy following roseola infantum. *AMA J Dis Child* 1959; 98: 144-52.
- Moller KL. Exanthema subitum and febrile convulsions. *Acta Paediatr* 1956; 45: 534-40.
- Ishiguro N, Yamada, Takahashi T et al. Meningo-encephalitis associated with HHV-6 related exanthem subitum. *Acta Paediatr Scand* 1990; 79: 987-9.
- Whitley RJ. Viral encephalitis. *N Engl J Med* 1990; 323: 242-50.
- Beović B, Pečarič-Meglić N, Marin J, Bedernjak J, Muzlović I, Čizman M. Fatal human herpesvirus 6-associated multifocal meningoencephalitis in an adult female patient. *Scand J Infect Dis* 2001; 33: 942-4.
- Patnaik M, Pater JB. Intrathecal synthesis of antibodies to human herpesvirus-6 early antigen in patients with meningoencephalitis. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 715-6.
- Sola P, Merelli E, Marasca R et al. Human herpesvirus 6 and multiple sclerosis: survey of anti-HHV-6 antibodies by immunofluorescence analysis and of viral sequences by polymerase chain reaction. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1993; 56: 917-9.
- Selmaj KW, Raine CS. Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro. *Ann Neurol* 1988; 23: 339-46.
- Okuno T, Higashi K, Shiraki K et al. Human herpesvirus 6 infection in renal transplantation. *Transpl* 1990; 49: 519-22.
- Merlino C, Giacchino F, Segoloni G, Ponzi AN. Human herpesvirus 6 infection and renal transplantation. *Transpl* 1992; 53: 1382-3.
- Yalcin S, Karpuzoglu T, Suleymanlar G et al. Human herpesvirus 6 and 7 infections in renal transplant recipients and healthy adults in Turkey. *Arch Virol* 1994; 136: 183-90.
- Yoshijawa T, Suga S, Asano Y et al. Human herpesvirus-6 infection in bone marrow transplantation. *Blood* 1992; 78: 1381-4.
- Carrigan DR, Drobyski WR, Russler SK, Appler MA, Knox KK, Ash RC. Interstitial pneumonitis associated with human herpesvirus-6 infection after marrow transplantation. *Lancet* 1991; 338: 147-9.
- Drobyski WR, Knox KK, Majewski D, Carrigan DR. Fatal encephalitis due to variant B human herpesvirus-6 infection in a bone marrow-transplant recipient. *N Engl J Med* 1994; 330: 1356-60.
- Wilborn F, Brinkmann V, Schmidt CA, Neipel F, Gelderblom H, Seigert W. Herpesvirus type 6 in patients undergoing bone marrow transplantation: serologic features and detection by polymerase chain reaction. *Blood* 1994; 83: 3052-8.
- Brown NA, Kovacs A, Lui CR, Hur C, Zaia A, Moley JW. Prevalence of antibody to human herpesvirus 6 among blood donors infected with HIV. *Lancet* 1988; 2: 1146-6.
- Essers S, Schwinn J, Meulen J et al. Seroepidemiological correlations of antibodies to human herpesvirus and human immunodeficiency virus type 1 in African patients. *Eur J Epidemiol* 1991; 7: 658-64.
- Fox J, Briggs M, Tedder RS. Antibody to human herpesvirus 6 in HIV-1 positive and negative homosexual men. *Lancet* 1988; 2: 396-7.
- Ablashi DV, Josephs SF, Buchbinder C et al. Human B-lymphotropic virus (human herpesvirus-6). *J Virol Methods* 1988; 21: 29-48.
- Spira TJ, Bozeman LH, Sanderlin KC et al. Lack of correlation between human herpesvirus-6 infection and the course of human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1990; 161: 567-70.
- Chen H, Pesce AM, Carbonari M et al. Absence of antibodies to human herpesvirus-6 in patients with slowly-progressive human immunodeficiency virus type 1 infection. *Eur J Epidemiol* 1992; 8: 217-21.
- Gautheret A, Aubin JT, Fauveau V, Rozenbaum W, Huraux JM, Agut H. Rate of detection of human herpesvirus-6 at different stages of HIV infection. *Eur J Microbiol Infect Dis* 1995; 14: 420-4.
- Gopal MR, Thomson BJ, Fox J, Tedder RS, Honess RW. Detection by PCR of HHV-6 and EBV DNA in blood and oropharynx of healthy adults and HIV-seropositives. *Lancet* 1990; 335: 1598-9.
- Fillet AM, Raphael M, Visse B, Audouin J, Poirel L, Agut H. Controlled study of human herpesvirus 6 detection in acquired immunodeficiency syndrome-associated non-Hodgkin's lymphoma. *J Med Virol* 1995; 45: 106-12.
- Knox KK, Carrigan DR. Active HHV-6 infection in the lymph nodes of HIV infected patients: in vitro evidence that HHV-6 can break HIV latency. *J Acquired Immune Defic Syndr* 1996; 11: 370-8.
- Razzaque A. Oncogenic potential of human herpesvirus-6 DNA. *Oncogene* 1990; 5: 1365-70.
- Chen M, Popescu N, Woodworth C et al. Human herpesvirus 6 infects cervical epithelial cells and transactivates human papillomavirus gene expression. *J Virol* 1994; 68: 1173-8.
- Jarrett RF, Gledhill S, Quereschi F et al. Identification of human herpesvirus-6 specific DNA sequences in two patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* 1988; 2: 296-502.
- Josephs SF, Buchbinder A, Streicher HZ et al. Detection of human B-lymphotropic virus (human herpesvirus 6) sequence in B cell lymphoma tissue of three patients. *Leukemia* 1988; 2: 132-5.
- Luka J, Pirruccello SJ, Kersey JH. HHV-6 genome in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Lancet* 1991; 338: 1277-8.
- Levine PH, Ebbesen P, Ablashi DV, Saxinger WC, Nordentoft A, Connelly RR. Antibodies to human herpesvirus-6 and clinical course in patients with Hodgkin's disease. *Int J Cancer* 1992; 51: 53-7.
- Luppi M, Barozzi P, Maiorana A et al. Frequency and distribution of herpesvirus-like DNA sequences (KSHV) in different stages of classic Kaposi's sarcoma and in normal tissue from an Italian population. *Int J Cancer* 1996; 66: 437-41.

59. Yadav M, Chandrashekrana A, Vasudevan DM, Ablashi DV. Frequent detection of human herpesvirus 6 in oral carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 1792–4.
60. zur Hausen H. Human papillomaviruses in the pathogenesis of anogenital cancer. *Virology* 1991; 184: 9–13.
61. Sairenyi T, Yamanishi K, Tachibana Y, Bertoni G, Kurata T. Antibody responses to Epstein-Barr virus, human herpesvirus 6 and human herpesvirus 7 in patients with chronic fatigue syndrome. *Intervirology* 1995; 38: 269–73.
62. Reeves WC, Pellett PE, Gary H. The chronic fatigue syndrome controversy. *Ann Intern Med* 1992; 117: 343–3.
63. Ranger-Rogez S, Vidal E, Labrousse F et al. Large-scale study suggests no direct link between human herpesvirus-6 and primary Sjogren's syndrome. *J Med Virol* 1995; 47: 198–203.
64. Asano Y, Nakashima T, Yoshikawa T, Suga S, Yazaki T. Severity of human herpesvirus-6 viremia and clinical findings in infants with exanthem subitum. *J Pediatr* 1991; 118: 891–5.
65. Balachandran N, Amelse RE, Zhou WW, Chang K. Identification of proteins specific for herpesvirus 6-infected human T cells. *J Virol* 1989; 63: 2835–40.
66. Campadelli-Fiume G, Guerrini S, Liu X, Foa-Tomasi L. Monoclonal antibodies to glycoprotein B differentiate human herpesvirus 6 into two clusters, variants A and B. *J Gen Virol* 1993; 98: 2257–62.
67. Yamamoto T, Mukai T, Kondo K, Yamanishi K. Variation of DNA sequence in immediate-early gene of human herpesvirus 6 and variant identification by PCR. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 473–6.
68. Chou S, Marousek GI. Analysis of interstrain variation in a putative immediate-early region of human herpesvirus 6 DNA and definition of variant-specific sequences. *Virology* 1994; 198: 370–6.
69. Huang LM, Kuo PF, Lee CY, Chen JY, Liu MY, Yang CS. Detection of human herpesvirus-6 DNA by polymerase chain reaction in serum or plasma. *J Med Virol* 1992; 38: 7–10.
70. Black JB, Schwartz TF, Patton JL et al. Evaluation of immunoassays for detection of antibodies to human herpesvirus 7. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; 3: 79–83.
71. Ward KN, Gray JJ, Joslin ME, Sheldon MJ. Avidity of IgG antibodies to human herpesvirus-6 distinguishes primary from recurrent infection in organ transplant recipients and excludes cross-reactivity with other herpesviruses. *J Med Virol* 1993; 39: 44–9.
72. Williams MV. HHV-6 response to antiviral agents. In: Ablashi DV, Krueger GRF, Salahuddin SZ eds. *Human herpesvirus-6: epidemiology, molecular biology, and clinical pathology*. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1992: 317–35.