

Obrzęk uogólniony płodu w przebiegu zakażenia Parwowirusem B19, opis przypadku

Fetal Parvovirus B19 infection with hydrops fetalis, a case report

Engel Karina¹, Grabarczyk Piotr², Celewicz Zbigniew¹, Grzymała-Figura Anna¹,
Węgrzynowski Jan³, Brojer Ewa⁴

¹ Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii Pomorskiego UM w Szczecinie, Polska

² Zakład Wirusologii Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, Polska

³ Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii Pomorskiego UM w Szczecinie (do 2010r.), Polska

⁴ Zakład Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie, Polska

Streszczenie

Zakażenie parwowirusem B19 (B19V) w trakcie ciąży jest jedną z głównych przyczyn obrzęku nieimmunologicznego płodu. Przedstawiamy przypadek obrzęku uogólnionego z ciężką niedokrwistością w przebiegu infekcji B19V. Infekcję potwierdzono przeprowadzając badanie DNA wirusa ilościową metodą real time PCR w osoczu matki oraz płodu. Płód leczony był trzema transfuzjami wewnątrzmacicznymi. Noworodek urodzony w 36. tygodniu ciąży w stanie ogólnym dobrym. Obserwowany prawidłowy rozwój dziecka do 6. miesiąca życia.

Słowa kluczowe: **Parwovirus B19 / obrzęk uogólniony / niedokrwistość płodu /
/ transfuzja wewnątrzmaciczna /**

Abstract

Parvovirus B 19 (B19V) infection during pregnancy is a cause of nonimmune hydrops. We report a case of hydrops fetalis with severe fetal anemia in the course of B19V infection in the third trimester of pregnancy. Maternal and fetal parvovirus B19 infection was confirmed using quantitative real time PCR detection of viral DNA. The affected fetus was treated with three intrauterine transfusions. The baby was delivered by caesarean section at 36 weeks. Up until 6 months of age no abnormalities in the development of the child were observed.

Key words: **parvovirus B19 / hydrops fetalis / fetal anemia /
/ intrauterine blood transfusion /**

Adres do korespondencji:

Karina Engel
Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii PUM w Szczecinie,
72-010 Police ul. Siedlecka 2, Polska
tel./fax: 0-91-425-39-12
e-mail: karina@engel.net.pl

Otrzymano: 15.02.2011
Zaakceptowano do druku: 25.01.2012

Wstęp

W ostatnich 40 latach na skutek konsekwentnej eradykacji, immunizacja w zakresie czynnika Rh przestała być jedną z najczęstszych przyczyn umieralności perinatalnej płodów i noworodków. Choć immunizacja anty Rh-D pozostaje najczęstszym wskazaniem do transfuzji wewnątrzmacicznej zwiększa się odsetek przypadków niedokrwistości płodowej leczonych z powodu alloimmunizacji anty-Kell oraz infekcji parwowirusem B19 (B19V).

Innymi przyczynami obrzęku nieimmunologicznego jest m.in. zespół Turnera, infekcja cytomegalowirusem czy wrodzone wady serca płodu. Badania wielośrodkowe miana specyficznych przeciwciał u kobiet w wieku rozrodczym przeprowadzone w pięciu krajach Europy pozwoliły na oszacowanie ryzyka zakażenia B19V w czasie ciąży. Różniło się ono między poszczególnymi krajami Europy, w Polsce oszacowano je na 1,58 % [1, 2, 3].

U osób zdrowych zakażenie B19V zazwyczaj ma przebieg bezobjawowy lub manifestuje się jedynie w pierwszej fazie objawami grypopodobnymi (np. gorączka, dreszcze, ból głowy, bóle mięśni), a w drugiej, po rozpoczęciu produkcji przeciwciał klasy IgM, ogranicza się do wysypki i świądu skóry, głównie u dzieci (tzw. „rumień zakaźny”) oraz bólów stawów u dorosłych (reumatoidalne zapalenie stawów). Poziom wirerii w pierwszym tygodniu infekcji, kiedy nie wykrywane są przeciwciała, gwałtownie rośnie osiągając poziom nawet 10^{12} geq/ml. Odpowiedź humoralna ma kluczowe znaczenie w ograniczeniu infekcji. Między 7. a 14. dniem pojawiają się neutralizujące przeciwciała klasy IgM utrzymujące się przez okres do 6 miesięcy. Swoiste przeciwciała klasy IgG pojawiają się w trzecim tygodniu zakażenia i wykrywane są przez lata [4, 5, 6].

Tak jak w przypadku pozostałych wirusów z rodziny *Parvoviridae* wykazano tropizm B19V do komórek progenitorowych erytrocytów, do komórek mięśnia sercowego, a także do hepatocytów płodowych oraz dzieci. Jest to wynik powinowactwa białek strukturalnych wirusa do antygeny P (głobozydu). Ta właściwość wirusa w trakcie infekcji powoduje m.in. leukopenię, małopłytkowość, uszkodzenie komórek wątroby, mięśnia sercowego, kryzę aplastyczną w przebiegu anemii hemolitycznej. Gwałtownie powstające w trakcie ostrej infekcji kompleksy antygen(B19V)-przeciwciała są odpowiedzialne za przewlekłe zapalenie stawów, zapalenie naczyń, kłębkowego zapalenia nerek [7].

Do zakażenia płodu dochodzi przezłożyskowo - według de Jong ryzyko takiej transmisji w przypadku zakażenia matki wynosi 30-50%, a wystąpienia choroby u płodu/ noworodka szacowane jest średnio na 10% [8]. Objawy u matki są zwykle niespecyficzne, co utrudnia wczesne postawienie diagnozy [11]. Do powikłań u płodu dochodzi najczęściej w przypadku zakażenia przed dwudziestym tygodniem ciąży. W ok. 15 % przypadków dochodzi do objawów poronienia samoistnego czy śmierci wewnątrzmacicznej płodu, w 3% do obrzęku uogólnionego płodu [13]. W przypadku śmierci wewnątrzmacicznej płodu w wyniku parwowirusy badanie autopsyjne wykazuje charakterystyczny obraz obejmujący obrzęk płodu, obrzęk łożyska, wysięk surowicy, erytroblastozę z wtrętami jądrowymi. Często obserwowana jest również fibroelastoza endokardium oraz hemosyderoza komórek wątrobowych [11]. Ryzyko obrzęku uogólnionego po dwudziestym tygodniu ciąży dotyczy ok. 1% płodów. Zakażenie B19V może sporadycznie być przyczyną uszkodzeń narząd-

owych, m.in. wad serca, chorób oczu, mikrognatii, przewlekłej anemii, zapalenia mięśnia sercowego, zapalenia wątroby, smółkowego zapalenia jamy otrzewnej czy zaburzeń centralnego układu nerwowego. Powstanie wad rozwojowych w przebiegu parwowirusy jest zjawiskiem rzadkim.

Dotychczas brak jest specyficznego leczenia oraz zapobiegania infekcji tym wirusem. Opisywane są przypadki leczenia płodu preparatami immunoglobulin zawierających swoiste przeciwciała neutralizujące B19V [12, 13, 14].

Podejrzenie choroby u kobiety ciężarnej wymaga wdrożenia postępowania diagnostycznego – badania w osoczu miana specyficznych przeciwciał anty- B19V lub/i oznaczenia DNA wirusa. Wykonanie badania DNA B19V we krwi płodu jest obecnie jedynym dostępnym sposobem potwierdzenia zakażenia płodu. Badanie markerów infekcji B19V pozwala ocenić ryzyko powikłań w trakcie zakażenia. Serokonwersja po dwudziestym tygodniu ciąży związana jest z brakiem objawów ciężkiej anemii płodowej. Dwanaście tygodni po stwierdzeniu matczynej serokonwersji nie dochodzi do objawów anemizacji płodowej wymagającej interwencji [15, 8]. Diagnostyka niedokrwistości obejmuje ocenę maksymalnej wartości przepływów krwi w tętnicy środkowej mózgu (MCA-PSV). Rozpoznanie niedokrwistości płodu wymagającej transfuzji dopłodowej, stawiane jest w przypadku wartości MCA-PSV powyżej 1,5 wielokrotności mediany (MoM). Postępowanie lecznicze polega na wykonaniu dopłodowej transfuzji wewnątrzmacicznej koncentratu krwinek czerwonych (KKCz) oraz masy płytkowej w przypadku towarzyszącej małopłytkowości, która występuje w połowie przypadków [16, 17, 18, 19, 20].

Opis przypadku

21-letnia pierwszoklaszka skierowana do Kliniki Medycyny Matczyno-Płodowej i Ginekologii PUM w Szczecinie w 27. tygodniu ciąży z powodu stwierdzonego „wodobrzusza u płodu oraz objawów zagrożenia życia płodu”. Ciężarna klinicznie bez dolegliwości. Przebieg ciąży do momentu rozpoznania zaburzenia niepowikłany.

W badaniu USG przy przyjęciu stwierdzono płód z cechami obrzęku uogólnionego pod postacią obecności wolnego płynu w jamie otrzewnej, w worku osierdziowym płodu oraz obrzęk tkanki podskórnej na głowie płodu grubości 4,2 mm. Obecności wad rozwojowych u płodu nie stwierdzono. Przewidywana masa płodu oszacowana została na 1000g.

W badaniu dopplerowskim stwierdzono prawidłowe wartości przepływów krwi w tętnicy pępowinowej i żyły pępowinowej. W tętnicy środkowej mózgu obserwowano wysokooporowy przepływ krwi z wartością wielokrotności mediany odpowiadającej 2,69 MoM dla wieku ciążowego.

W badaniu echokardiograficznym pole powierzchni klatki piersiowej do pola powierzchni serca (Ha/Ca) wynosiło 0,51. Stwierdzono cechy protosystolicznej niedomykalności zastawki trójdzielnej z V max 1,6 m/s. Wydolność układu krążenia oceniono na 6 punktów w 10-punktowej skali Huhty.

W zapisach kardiograficznych podstawowa czynność serca płodu 140 uderzeń na minutę, oscylacja zawężona, okresowo milcząca. W dodatkowych badaniach krwi matki stwierdzono ujemne wyniki badań serologicznych w kierunku toksoplazmozy i cytomegalii. Morfologia krwi matczynej: leukocyty (L) - $15,24 \times 10^3/\mu\text{l}$, krwinki czerwone (Er) - $3,06 \times 10^6/\mu\text{l}$, hemoglobina (Hb) -

Obrzęk uogólniony płodu w przebiegu zakażenia Parwowirusem B19, opis przypadku.

10,4 g/dl, hematokryt (Ht) - 30,4 %, krwinki płytkowe (Plt) - 214×10^3 , białko C-reaktywne (CRP) - 6,88 mg/l. Pośredni test antyglobulinowy ujemny. Ze względu na cechy obrzęku nieimmunologicznego z towarzyszącą anemizacją płodu wykonano zabieg kordocentezy oraz transfuzję dopłodową. W przeprowadzonych badaniach laboratoryjnych morfologia krwi płodowej: L - $133,09 \times 10^3/\mu\text{l}$, Er - $0,77 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hb - 4,1 g/dl, Ht - 8,9%, MCV - 115,6 fl, MCH - 53,2 pg, MCHC - 46,1 g/dl, Plt - 89×10^3 , gazometria: pH - 7,374; pCO₂ - 40,7 mmHg, pO₂ - 151 mmHg.

Ze względu na trudności w dostępie do pepowiny przetoczono jedynie 20 ml koncentratu krwinek czerwonych (KKCz) grupy Rh minus; 0,2 mg Furosemidu, 5 ml 5% albumin; 0,025 mg Digoxinu. W kontrolnym badaniu obserwowano niewielką poprawę wartości PSV w MCA wynoszącą 85 cm/s, co odpowiadało 2,41 MoM dla 28 tygodnia ciąży. Wykonano powtórna transfuzję dopłodową i przetoczono 80 ml KKCz. W celu potwierdzenia tła infekcji wirusowej krew płodową przesłano do Pracowni Biologii Molekularnej Zakładu Immunologii Hematologicznej i Transfuzjologicznej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. Uzyskano ujemny wynik badania DNA CMV (ilościowe badanie real time PCR, wg Machida Ali wsp. [21]).

Wynik badania przeciwciał anty - B19V we krwi płodu (recomWell Parvovirus B19 IgG/IgM ELISA (Mikrogen GmbH, Neuried, Germany): klasa IgG - dodatni (> 38 IU/mL) (cut off (Co) = 24 IU/mL), klasa IgM - ujemny (2 IU/mL) (Co = 20 U/mL).

Wynik badania krwi matki w kierunku przeciwciał anty - B19V: klasa IgG - dodatni (> 128 U/mL) (Co = 24 IU/mL), klasa IgM - dodatni (29 U//mL)(Co = 20 IU/mL).

Wyniki ilościowego badania DNA B19V metodą real-time PCR (wg Candotti i wsp., 2004 z modyfikacjami późniejszymi Grabarczyk i wsp. [22, 23]: pierwsze pobranie, osocze matki - $2,78 \times 10^5$ IU/mL, pobranie kontrolne po czterech tygodniach: osocze płodu - $3,6 \times 10^7$ IU/mL, osocze matki - $6,85 \times 10^3$ IU/ml. W kontrolnym badaniu stanu płodu wykonanym po czterech tygodniach wartość PSV MCA 50,37 cm/s odpowiadająca 1,37 MoM dla wieku ciążowego.

W przeprowadzonym badaniu echokardiograficznym Ha/Ca - 0,47, utrzymująca się niedomykalność zastawki trójdzielnej z prędkością - V max- 1,29 m/s. Stwierdzono utrzymywanie się wolnego płynu w jamie otrzewnowej płodu, zmniejszenie obrzęku na główce płodu do 1,5 mm. Przepływy naczyniowe w tętnicy pepowinowej oraz przewodzie żylnym były prawidłowe. Wydolność układu krążenia oceniono na 7 punktów w dziesięciopunktowej skali Huhty.

W badaniach laboratoryjnych stwierdzono znaczną poprawę parametrów morfologii krwi płodu: L- $10,8 \times 10^3/\mu\text{l}$, Er - $3,45 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hb - 11,9 g/dl, Ht - 34,5%, MCV - 100,0 fl, MCH - 34,5 pg, MCHC - 34,5 g/dl, Plt - $35 \times 10^3/\mu\text{l}$, a w badaniu gazometrycznym: pH - 7,427; pCO₂ - 35,6 mmHg, pO₂ - 148 mmHg, białko całkowite 30,6 g/l.

W kontrolnym badaniu dopplerowskim nastąpiła poprawa wartości przepływów MCA PSV - 36,45 cm/s odpowiadająca 0,98 MoM. Uzyskano poprawę zapisów kardiograficznych z pojawieniem się oscylacji falistej. Kontrolny wynik badania osocza krwi matki w kierunku przeciwciał anty - B19V: klasa IgG - dodatni (> 128 U/mL) (Co = 24 U/mL), klasa IgM - dodatni 29 U/mL(Co = 20 U/mL).

Po wypisaniu ciężarnej do domu w 29. tygodniu ciąży przeprowadzano regularną kontrolę ultrasonograficzną przepływów dopplerowskich oraz kontrolę kardiograficzną stwierdzającą dobrostan płodu. W 36. tygodniu ciąży z powodu przebytej niewydolności krążenia u płodu w przebiegu ciąży wykonano cięcie cesarskie, urodzono noworodka płci żeńskiej o masie ciała 2650 g w stanie ogólnym dobrym (Apg 7,8,9). Położnicę i noworodka wypisano do domu w 7. dobie porodu. Obserwowano prawidłowy stan rozwoju psychofizycznego, stan kardiologiczny, okulistyczny dziecka do szóstego miesiąca życia.

Dyskusja

Parwovirus B19 uznawany jest obecnie za jedną z częstszych przyczyn utraty ciąży w przypadku nieimmunologicznego obrzęku płodu. Blisko połowa młodych kobiet nie jest nosicielkami przeciwciał i może potencjalnie ulec zakażeniu w trakcie ciąży [10, 2]. Zakażenie w pierwszych dwóch trymestrach ciąży obarczone jest dużym ryzykiem obumarcia wewnątrzmacicznego płodu, zakażenie w trzecim trymestrze rzadko powoduje śmierć wewnątrzmaciczną płodu. Badania potwierdziły obecność parwovirusa B19V w 7,5 % obumarłych ciąż [24, 25]. Natomiast badania Goldenberga w ciążach obumarłych potwierdziły obecność B19V jedynie poniżej 1%.[26].

W przypadku podejrzenia ekspozycji na parwovirusa B19 rozważyć należy kontrolę serologicznych markerów zakażenia u matki. Potwierdzenie przeniesienia zakażenia można dokonać na podstawie sekwencjonowania genomu wirusa [23]. Serokonwersja po dwudziestym pierwszym tygodniu ciąży zazwyczaj nie skutkuje ciężką niedokrwiistością płodu [15]. W przypadku potwierdzenia czynnego zakażenia u matki należy wykonać cotygodniowe badanie ultrasonograficzne celem oceny niedokrwiistości u płodu [27]. Przeprowadzenie transfuzji dopłodowej w przypadku stwierdzonego obrzęku płodu redukuje ryzyko jego wewnątrzmacicznego obumarcia. Brochot i wsp. opisali 90 % przeżywalność w przypadku leczenia wewnątrzmacicznego [10]. Również odległe wyniki rozwoju neurologicznego dzieci były najczęściej dobre. Nagel i wsp. ocenili średnie stężenie hemoglobiny na 4,5 g/dl, zakres: 2,4 - 11,4 g/dl), płytek krwi $79 \times 10^9/L$ (zakres 37 - $238 \times 10^9/L$) oraz pH - 7,36 (zakres 7,31 - 7,51) we krwi płodowej przed przeprowadzonymi w 25 przypadkach z powodu obrzęku płodu transfuzjami dopłodowymi [28]. Autorzy oceniali również długoterminowe wyniki rozwoju neurologicznego szesnastoletniej dzieci w wieku od 6 miesięcy do 8 lat. Prawidłowy rozwój obserwowano w 68% przypadków (n=11), 32% dzieci (n= 5) demonstrowało opóźniony rozwój psychomotoryczny z suboptymalnym stanem neurologicznym (łagodne opóźnienie n=3, ciężkie opóźnienie n=2). Stan neurologiczny dziecka nie korelował z przedtransfuzyjnym stężeniem hemoglobiny, płytek krwi czy wartością pH. Ogólny stan zdrowia oraz rozwój dzieci oceniono jako prawidłowe.

Przedstawiony opis przypadku pokazuje, że badanie DNA B19V jest właściwym narzędziem do oceny zakażenia płodu, pozwala monitorować wirus, w szczególności w trakcie leczenia. Dane literaturowe pokazują, że w trakcie zakażenia pojawieniu się przeciwciał towarzyszy ograniczenie wirusii. Jednak mimo działania neutralizującego przeciwciał, niska liczba kopii DNA wirusa często jest stwierdzana przez lata w osoczu krwi obwodowej [22,23]. Wirus może przetrwać także w szpiku kostnym, błonie maziowej, skórze i innych tkankach [4, 5, 6].

Engel K, et al.

Ze względu na przewlekłe utrzymywanie się przeciwciał klasy IgG oraz DNA wirusa, uważa się badanie materiału genetycznego B19V metodami ilościowymi za najbardziej informatywne w diagnozowaniu etiologii stanów klinicznych, w których przyczyną może być ten wirus – pozwala bowiem różnicować zakażenie przewlekłe i ostre oraz potwierdzić przeniesienie infekcji z matki na dziecko [8]. Badanie wirusowego materiału genetycznego jest w szczególności użyteczne, gdy nie są już wykrywane przeciwciała klasy IgM. Taka sytuacja może mieć miejsce także w przypadku zakażonych kobiet w ciąży .

25. Leung T, Leung T, Chan P, [et al.]. Fetal parvovirus B19 infection in a twin pregnancy with 1 twin presenting with hydrops fetalis and the other asymptomatic: a case report. *J Reprod Med.* 2007, 52, 419-421.
26. Goldenberg R, Thomson C. The infectious origins of stillbirth. *Am J Obstet Gynecol.* 2003, 189, 861-873.
27. Mari G, Moise K, Deter R, [et al.]. Flow velocity waveforms of the vascular system in the anemic fetus before and after intravascular transfusion for severe red cell alloimmunisation. *Am J Obstet Gynecol.* 1990, 162,1060-1064.
28. Nagel H, de Haan T, Vandenbussche F, [et al.]. Long-term outcome after fetal transfusion for hydrops associated with parvovirus B19 infection. *Obstet Gynecol.* 2007, 109, 42-47.

Piśmiennictwo

1. Mossong J, Hens N, Friederichs V, [et al.]. Parvovirus B 19 infection in five European countries: seroepidemiology, force of infection and maternal risk of infection. *Epidemiol Infect.* 2008, 136,1059-1068.
2. Toffenstam T, Broliden K. Parvovirus B 19 infection. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2009, 14, 218-221.
3. Siennicka J, Stefanoff P, Trzcińska A. Seroprevalence study of parvovirus B19 in Poland. *Przegl Epidemiol.* 2006, 60, 571-580.
4. Heegaard E, Brown K. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev.* 2002, 15, 485-505.
5. Young N, Brown K. Parvovirus B19. *N Engl J Med.* 2004, 350, 586-596.
6. Parsyan A, Candotti D. Human erythrovirus B19 and blood transfusion - an update. *Transfus Med.* 2007, 17, 263-278.
7. Kempe A, Rosing B, Berg C, [et al.]. First-trimester treatment of fetal anemia secondary to parvovirus B19 infection. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007, 29, 226-228.
8. de Jong E, de Haan T, Kroes A, [et al.]. Parvovirus B19 infection in pregnancy. *J Clin Virol.* 2006, 36, 1-7.
9. Von Landenberg P, Lehmann H, Modrow S. Human parvovirus B19 infection and antiphospholipid antibodies. *Autoimmun Rev.* 2006, 10, 278-85
10. Brochot C, Debever P, Subtil D, Puech F. Which supervision and treatment to use in case of exposure to Parvovirus B 19 during pregnancy? *Gynecol Obstet Fertil.* 2008, 36, 204-211.
11. Silingardi E, Santunione A, Rivasi F, [et al.]. Unexpected intrauterine fetal death in parvovirus B 19 fetal infection. *Am J Forensic Med Pathol.* 2009, 30, 394-397.
12. Matsuda H, Sakaguchi K, Shibasaki T, [et al.]. Intrauterine therapy for parvovirus B19 infected symptomatic fetus using B19 IgG-rich high titer gammaglobulin. *J Perinat Med.* 2005, 33, 561-563.
13. Selbing A, Josefsson A, Dahle L, Lindgren R. Parvovirus B19 infection during pregnancy treated with high-dose intravenous gammaglobulin. *Lancet.* 1995, 345, 660-661.
14. Rugolotto S, Padovani E, Sanna A, [et al.]. Intrauterine anemia due to parvovirus B19: successful treatment with intravenous immunoglobulins. *Haematologica.* 1999, 84, 668-669.
15. Simms R, Liebling R, Patel R, [et al.]. Management and outcome of pregnancies with parvovirus B19 infection over seven years in a tertiary medicine unit. *Fetal Diagn Ther.* 2009, 25, 373-8.
16. De Haan T, van den Akker E, Porcelijn, [et al.]. Thrombocytopenia in hydropic fetuses with parvovirus B 19 infection: incidence, treatment and correlation with fetal B19 viral load. *BJOG.* 2008, 115, 76-81.
17. Kempe A, Rosing B, Berg C, [et al.]. First trimester treatment of fetal anemia secondary to parvovirus B19 infection. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007, 29, 226-228.
18. Von Kaisenberg C, Grebe S, Schleider S, [et al.]. Successful intrauterine intracardiac transfusion in monozygotic twins affected by parvovirus B19. *Fetal Diagn Ther.* 2007, 22, 420-424.
19. Bekhit M, Greenwood P, Warren R, [et al.]. In utero treatment of severe fetal anaemia due to parvovirus B 19 in one fetus in a twin pregnancy - a case report and literature review. *Fetal Diagn Ther.* 2009, 25, 153-157.
20. Oepkes D, Adama van Scheltema P. Intrauterine fetal transfusions in the management of fetal anemia and fetal thrombocytopenia. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2007, 12, 432-438.
21. Machida U, Kami M, Fukui T, [et al.]. Real-time automated PCR for early diagnosis and monitoring of cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation. *J Clin Microbiol.* 2000, 38, 2536-2542.
22. Candotti D, Etiz N, Parsyan A, Allain J. Identification and characterization of persistent human erythrovirus infection in blood donor samples. *J Virol.* 2004, 78,12169-12178.
23. Grabarczyk P, Kalińska A, Kara M, [et al.]. Identification and characterization of acute infection with parvovirus B19 genotype 2 in immunocompromised patients in Poland. *J Med Virol.* 2011, 83, 142-149.
24. Skjoldbrand-Sparre L, Toffenstam T, Papadogiannakis N, [et al.]. Parvovirus B 19 infection: association with third-trimester intrauterine fetal death. *BJOG.* 2000, 107, 476-480.