



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-251>

© ТИХОМИРОВ Д.С., ДЕМИН М.В., СЕРИКОВА А.А., БИДЕРМАН Б.В., СУДАРИКОВ А.Б., ФИЛАТОВ Ф.П., ТУПОЛЕВА Т.А., 2024

Мутации в гене *UL97* цитомегаловируса (Orthoherpesviridae: *Herpesvirales: Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta 5*) увеличивают продолжительность виремии и снижают противовирусный ответ у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Тихомиров Д.С.¹, Демин М.В.^{1✉}, Серикова А.А.¹, Бидерман Б.В.¹, Судариков А.Б.¹, Филатов Ф.П.², Туполева Т.А.¹¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, 125167, г. Москва, Россия;²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Цитомегаловирус (Orthoherpesviridae: *Herpesvirales: Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta 5*) (ЦМВ) является одним из наиболее распространенных вирусов, детектируемых у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ГСК). При этом возможность развития резистентности вируса к противовирусным препаратам, таким как ганцикловир (GCV), создает сложности при проведении противовирусной терапии (ПВТ). Настоящее исследование позволяет обосновать необходимость внедрения новых диагностических подходов для улучшения результатов лечения у реципиентов алло-ГСК.

Цель исследования – изучение распространенности и влияния мутаций в гене *UL97* ЦМВ, ассоциированных с устойчивостью к действию GCV, на характер течения инфекции у реципиентов алло-ГСК.

Материалы и методы. В исследование вошли 14 реципиентов алло-ГСК с подозрением на устойчивую ЦМВ-инфекцию. Проводили амплификацию участка гена *UL97* методом гнездовой полимеразной цепной реакции, осуществляли секвенирование по Сэнгеру, последовательности сравнивали со штаммом Merlin (дикий тип).

Результаты и обсуждение. Выявлено 6 мутаций (D490A, T502A, C592G, C592F, E596G и C603W), из которых 4 (C592G, C592F, E596G и C603W) ранее были описаны как ассоциированные с устойчивостью к действию противовирусных препаратов, а D490A и T502A обнаружены впервые. При сравнении параметров пациентов – носителей вируса дикого типа и носителей мутантного варианта, установлено, что основные показатели периферической крови у первых были достоверно ниже. Медиана срока наступления пика вирусной нагрузки после трансплантации алло-ГСК, продолжительность виремии и скорость вирусологического ответа на ПВТ также имели достоверные различия в исследуемых группах.

Заключение. Показано, что почти у 1/3 (4 из 14) реципиентов алло-ГСК выявлены мутации, ассоциированные с устойчивостью к действию GCV. У реципиентов – носителей мутантного варианта ЦМВ наблюдались более длительные виремии и срок получения отрицательного результата вирусологического исследования после начала ПВТ. Проведение генотипирования может способствовать принятию более обоснованного терапевтического решения.

Ключевые слова: цитомегаловирус (ЦМВ) человека; трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК); вирусная резистентность; ганцикловир (GCV); противовирусная терапия (ПВТ)

Для цитирования: Тихомиров Д.С., Демин М.В., Серикова А.А., Бидерман Б.В., Судариков А.Б., Туполева Т.А. Мутации в гене *UL97* цитомегаловируса (Orthoherpesviridae: *Herpesvirales: Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta 5*) увеличивают продолжительность виремии и снижают противовирусный ответ у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(5): 449–458. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-251> EDN: <https://elibrary.ru/vrdyiz>

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Протокол № 160 от 23.12.2021).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-251>

Mutations in human cytomegalovirus (Orthoherpesviridae: *Herpesvirales*: *Cytomegalovirus*: *Cytomegalovirus humanbeta 5*) UL97 gene lead to increase in viremia duration and poor antiviral response in recipients of allogeneic hematopoietic stem cells

Dmitriy S. Tikhomirov¹, Mikhail V. Demin¹✉, Anastasia A. Serikova¹, Bella V. Biderman¹, Andrey B. Sudarikov¹, Felix P. Filatov², Tatiana A. Tupoleva¹

¹National Medical Research Center for Hematology of the Ministry of Health of Russia, 125167, Moscow, Russia;

²I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Human cytomegalovirus (Orthoherpesviridae: *Herpesvirales*: *Cytomegalovirus*: *Cytomegalovirus humanbeta 5*) (HCMV) is one of the most commonly detected viruses in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell (allo-HSCT) transplants. However, the emergence of resistance to antiviral drugs such as ganciclovir (GCV) poses a challenge in managing these patients.

This study **aims** to investigate the prevalence and impact of mutations in the HCMV UL97 gene associated with resistance to GCV on the course of infection among allo-HSCT patients.

Materials and methods. The study examined the association between UL97 mutations and the clinical course of HCMV infection in allo-HSCT patients. Genetic sequencing was performed to identify mutations, and their impact on viral replication and resistance to GCV was assessed.

Results and discussion. Six mutations were identified (D490A, T502A, C592G, C592F, E596G, C603W). C592G, C592F, E596G, and C603W are associated with resistance to antiviral drugs, while D490A and T502A described for the first time. When comparing patients with wild-type and those carrying the mutant variant, several parameters of peripheral blood were significantly lower in the former group. The median time to peak viral load following allo-HSCT, duration of viremia, and rate of virological response to high-dose therapy also differed significantly between the two groups.

Conclusion. It was shown that approximately one third (4 out of 14) of allogeneic stem cell transplant recipients had mutations associated with resistance to GCV. Patients carrying the mutant variant of HCMV had longer viremia and took longer to achieve a negative virological test result after starting high-dose therapy. Performing genotyping may help make more evidence-based therapeutic decisions.

Keywords: human cytomegalovirus (HCMV); hematopoietic stem cells (HSCs) transplantation; viral chemoresistance; ganciclovir (GCV); antiviral therapy

For citation: Tikhomirov D.S., Demin M.V., Serikova A.A., Biderman B.V., Sudarikov A.B., Tupoleva T.A. Mutations in human cytomegalovirus (Orthoherpesviridae: *Herpesvirales*: *Cytomegalovirus*: *Cytomegalovirus humanbeta 5*) UL97 gene lead to increase in viremia duration and poor antiviral response in recipients of allogeneic hematopoietic stem cells. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(5): 449–458. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-251> EDN: <https://elibrary.ru/vrдыz>

Funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics approval. The study was conducted with the voluntary informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the National Medical Research Center for Hematology of the Ministry of Health of Russia (Protocol No. 160 dated December 23, 2021).

Введение

Инфекция, вызываемая цитомегаловирусом (Orthoherpesviridae: *Herpesvirales*: *Cytomegalovirus*: *Cytomegalovirus humanbeta 5*) (ЦМВ), представляет серьезную угрозу для лиц в состоянии иммуносупрессии, к которым можно отнести ВИЧ-инфицированных (особенно в стадии СПИДа), пациентов с опухолевыми заболеваниями и реципиентов органов или тканей [1–3]. Для специфической противовирусной терапии (ПВТ) используют препараты, ингибирующие различные вирусные ферменты: вирусную ДНК-поли-

меразу – рUL54 (ганцикловир (GCV), цидофовир и фоскарнет), вирусную фосфотрансферазу – рUL97 (маривавир), вирусный терминальный комплекс ферментов (летермовир) [4, 5]. Однако в Российской Федерации, как и за рубежом, из-за ограниченного числа разрешенных к применению противовирусных лекарственных средств препаратом выбора является GCV или его пролекарство – валганцикловир [6–8]. Фосфорилированный вирусный фермент GCV является аналогом нуклеотида дезоксигуанозина, который накапливается в инфицированных ЦМВ клетках и пре-

пятствует репликации вируса путем терминального встраивания в растущую цепь вирусной ДНК [9, 10].

Однако применение GCV в течение длительного времени и в субоптимальных дозах может способствовать отбору лекарственно-устойчивых мутантных штаммов ЦМВ, репликация которых не блокируется в присутствии действующего вещества препарата [11]. Согласно данным литературы, мутации, ассоциированные с устойчивостью к действию GCV, локализируются в генах *UL97* и *UL54*. В гене *UL97* мутации чаще возникают в кодонах 460, 520 и 590–607 [4, 12], не нарушая жизненный цикл вируса, но снижая сродство фермента к GCV [13].

Несмотря на достижения в области профилактики и лечения ЦМВ-инфекции, ее устойчивость к действию противовирусных препаратов до сих пор вызывает опасения со стороны специалистов. Ранее были представлены данные о распространенности лекарственно-устойчивых мутантов ЦМВ у пациентов после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) и предложены возможные алгоритмы противовирусного лечения в подобных ситуациях [14, 15]. Тем не менее крайне скудны сведения о влиянии подобных мутаций на характер течения инфекции и на выживаемость пациентов. Также неясным остается вопрос о целесообразности рутинного скрининга на мутации при проведении ПВТ. Таким образом, дальнейшие исследования представляются крайне актуальными и важными для современной медицинской науки, в том числе в вопросах развития персонализированной медицины.

Цель исследования – изучение распространенности и влияния мутаций в гене *UL97* ЦМВ, ассоциированных с устойчивостью к действию ганцикловира, на характер течения инфекции у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ГСК).

Материалы и методы

Пациенты и образцы

Исследование было проведено при информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (Протокол № 160 от 23.12.2021).

В исследование были включены реципиенты алло-ГСК с признаками устойчивой ЦМВ-инфекции в посттрансплантационном периоде. Признаком такой формы инфекции считали наличие высокой вирусной нагрузки в крови – 1000 или более копий геном-эквивалент на 10 тыс. ядродержащих клеток крови (коп.) – в течение 2 нед и более на фоне проведения ПВТ. Всего в исследование включили 14 реципиентов алло-ГСК, удовлетворяющих этим критериям. У всех реципиентов в качестве источника трансплантата был использован концентрат гемопоэтических стволовых клеток крови (ГСК) [16], и у большинства (12 из 14) проведена частично-совместимая алло-ТГСК.

Поиск мутаций осуществляли в участке гена *UL97* ЦМВ с 420 по 630 кодоны методом секвенирования по Сэнгеру. Исследовали образец крови пациента, в котором вирусная нагрузка была максимальной. Далее проводили сбор и анализ клинико-лабораторных данных реципиентов за период 2 мес до фиксации высокой вирусной нагрузки и 2 мес после фиксации. Характеристики пациентов представлены в **табл. 1**.

Все пациенты, кроме одного, получали в качестве ПВТ GCV или валганциклоvir в среднем с 1-х или 3-х суток после выявления пика вирусной нагрузки. Ни один из пациентов, включенных в исследование, не умер за время наблюдения.

Аmplификация методом nested-PCR для получения продукта для последующего секвенирования

Аmplификацию методом гнездовой полимеразной цепной реакции (nested-PCR) проводили с помощью реагентов «Genta PCR мастер-микс» фирмы Genterra (США). Для первого раунда nested-PCR из расчета

Таблица 1. Характеристики реципиентов алло-ГСК, включенных в исследование

Table 1. Characteristics of allo-HSC recipients included in the study

Параметр Parameter	Величина Value
Всего пациентов, абс. Total patients, abs.	14
Пол, мужчины/женщины Gender, male/female	5/9
Медиана возраста, лет (диапазон) Median age, years (range)	40 (28–65)
Основной диагноз The main diagnosis	Число пациентов, <i>n</i> Number of patients, <i>n</i>
острый миелоидный лейкоз acute myeloid leukemia	7
острый лимфобластный лейкоз acute lymphoblastic leukemia	3
апластическая анемия aplastic anemia	1
первичный миелофиброз primary myelofibrosis	1
диффузная В-крупноклеточная лимфома diffuse B-large cell lymphoma	1
фолликулярная лимфома follicular lymphoma	1
Вид трансплантации Type of transplantation	Число пациентов, <i>n</i> Number of patients, <i>n</i>
родственная частично-совместимая related partially compatible	7
неродственная частично-совместимая unrelated partially compatible	4
неродственная полностью совместимая unrelated fully compatible	2
родственная полностью совместимая related fully compatible	1

на одну пробирку использовали следующую амплификационную смесь: деионизованная вода (8 мкл), «Genta PCR мастер-микс» (5 мкл), раствор прямого (Forward) и обратного (Reverse 1) праймеров (табл. 2) по 1 мкл (концентрация праймеров 100 пмоль/мл), образец ДНК – 10 мкл. Общий объем смеси для первого раунда nested-PCR составлял 25 мкл.

Программа амплификации первого раунда nested-PCR:

- начальная температура плавления 95 °С (5 мин);
- 32 цикла: 95 °С (10 с), 55 °С (40 с), 72 °С (1 мин);
- финальная элонгация – 72 °С (5 мин).

Амплификационная смесь для второго раунда амплификации: продукт первого раунда амплификации (1 мкл), раствор прямого (Forward) и обратного (Reverse 2) праймеров (табл. 2) по 1 мкл (концентрация праймеров 100 пмоль/мл), «Genta PCR мастер-микс» (5 мкл), деионизованная вода 17 мкл. Общий объем смеси для второго раунда nested-PCR составлял 25 мкл.

Программа амплификации второго раунда nested-PCR:

- начальная температура плавления 95 °С (5 мин);
- 5 циклов: 95 °С (10 с), 64 °С (10 с), 72 °С (30 с);
- 25 циклов: 95 °С (10 с), 60 °С (15 с);
- финальная элонгация – 72 °С (5 мин).

Секвенирование ДНК по Сэнгеру

Методом электрофореза в 2% агарозном геле подтверждали наличие продуктов nested-PCR для дальнейшего секвенирования с помощью набора реагентов «BrilliantDye версии 1.1, набор для циклического секвенирования» производства NimaGen (Нидерланды). Секвенирование проводили на приборе «Нанофор 05». Для исключения ложноположительных результатов независимо секвенировали как смысловые, так и матричные цепи ДНК и проверяли совпадение результатов. Данные, полученные в ходе секвенирования, анализировали с помощью компьютерной программы Sequencing Analysis 5.31.

На следующем этапе анализа данных с помощью платформы Benchling (<https://www.benchling.com>) сравнивали полученные нуклеотидные последовательности с референсной последовательностью гена *UL97* штамма Merlin (GenBank accession No: AY446894.2), который считается штаммом дикого типа.

Статистический анализ

Статистический анализ проводили с использованием статистического программного обеспечения (Minitab для Windows, версия 22.1; Minitab LLC). Точный критерий Фишера использовали для сравнения категориальных переменных между группами пациентов – носителей мутантного штамма и штамма дикого типа. *U*-критерий Манна–Уитни был использован для сравнения непрерывных переменных в изучаемых группах. Факторный анализ (Factorial ANOVA) применяли для оценки силы влияния изучаемых факторов на исследуемые при-

знаки. За уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты

Распространенность мутаций в гене UL97 ЦМВ у реципиентов алло-ТГСК с эпизодом устойчивой инфекции

В образцах ДНК ЦМВ, выделенной из крови 5 из 14 пациентов, были обнаружены 6 мутаций (D490A, T502A, C592G, C592F E596G и C603W). Четыре из них были ранее описаны в литературе (C592G [17], C592F [18], E596G [19] и C603W [20]) как мутации, ассоциированные с устойчивостью вируса к действию противовирусных препаратов. Остальные мутации (D490A и T502A) ранее в литературе не встречались. У одного пациента обнаружены две мутации одновременно, причем обе мутации обладали устойчивостью к действию GCV (C592G и C603W). Результаты приведены табл. 3.

Не было обнаружено связи факта выявления мутации с основным диагнозом и видом алло-ТГСК. У одного пациента (Wt_9) пик вирусной нагрузки наблюдался за 28 сут до выполнения алло-ТГСК. Практически у всех носителей вируса дикого типа максимальная вирусная нагрузка наблюдалась на ранних сроках после алло-ТГСК (до +100 сут). У подавляющего большинства пациентов – носителей мутантного варианта вируса, напротив, этот пик фиксировался на сроках более 100 сут после алло-ТГСК.

Сравнение клинико-лабораторных данных пациентов – носителей вируса дикого типа и мутантного варианта вируса

Для оценки влияния мутаций на характер течения инфекции пациенты были разделены на две группы. В «группу Wt» были включены носители вируса дикого типа, а носители мутантного варианта вируса – в «группу Mt» (табл. 4). Были собраны и проанализированы клинико-лабораторные данные пациентов за 2 мес до наступления максимальной вирусной нагрузки и 2 мес спустя.

Далее были проанализированы показатели периферической крови, продолжительность виремии и срок наступления вирусологического ответа на ПВТ. Данные представлены в табл. 5, 6.

Основные показатели периферической крови реципиентов-носителей вируса дикого типа были достоверно ниже, чем у носителей мутантного варианта вируса.

Таблица 2. Праймеры, использованные для nested-PCR и секвенирования

Table 2. Primers used for nested-PCR and sequencing

Название праймера Primer name	Последовательность олигонуклеотидов (5'-3') Sequence (5'-3')
Forward	ACAACGTACCGGTACATCGA
Reverse 1	GTCGTAGTCCAAACTCGAGA
Reverse 2	CGACACGAGGACATCTTGG

Таблица 3. Выявленные мутации в геноме ЦМВ и сроки наступления пиков вирусной нагрузки у всех пациентов

Table 3. Identified mutations in the HCMV genome and the timing of the onset of viral load peaks in all patients

Код пациента Patient code	Основной диагноз The main diagnosis	Вид алло-ТГСК Allo-HSCT type	Наличие мутации Mutation	Срок наступления пика вирусной нагрузки после алло-ТГСК, сут Onset of the peak viral load after allo-HSCT, days
Mt_1	ОМЛ Acute myeloid leukemia	Р, ЧС R, PC	C592G C603W	+118
Mt_2	ФЛ Follicular lymphoma	НР, ПС UR, FC	E596G	+152
Mt_3	ОМЛ Acute myeloid leukemia	НР, ПС UR, FC	C592F	+405
Mt_4	ОЛЛ Acute lymphoblastic leukemia	НР, ЧС UR, PC	D490A	+314
Mt_5	ОМЛ Acute myeloid leukemia	НР, ЧС UR, PC	T502A	+18
Wt_1	ОЛЛ Acute lymphoblastic leukemia	НР, ЧС UR, PC	Не обнаружена Not detected	+167
Wt_2	ОМЛ Acute myeloid leukemia	НР, ЧС UR, PC	Не обнаружена Not detected	+70
Wt_3	АА Aplastic anemia	Р, ПС R, FC	Не обнаружена Not detected	+23
Wt_4	ОМЛ Acute myeloid leukemia	Р, ЧС R, PC	Не обнаружена Not detected	+39
Wt_5	ПМФ Primary myelofibrosis	Р, ЧС R, PC	Не обнаружена Not detected	+50
Wt_6	ДВККЛ Diffuse B-large cell lymphoma	Р, ЧС R, PC	Не обнаружена Not detected	+63
Wt_7	ОЛЛ Acute lymphoblastic leukemia	Р, ЧС R, PC	Не обнаружена Not detected	+16
Wt_8	ОМЛ Acute myeloid leukemia	Р, ЧС R, PC	Не обнаружена Not detected	+60
Wt_9	ОМЛ Acute myeloid leukemia	Р, ЧС R, PC	Не обнаружена Not detected	-28

Примечание. АА – апластическая анемия; ДВККЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома; ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз; ОМЛ – острый миелоидный лейкоз; ПМФ – первичный миелофиброз; ФЛ – фолликулярная лимфома; НР – неродственная алло-ТГСК; ЧС – частично-совместимая алло-ТГСК; Р – родственная алло-ТГСК; ПС – полностью совместимая алло-ТГСК.

Note. UR – unrelated allo-HSCT; PC – partially compatible allo-HSCT; R – related allo-HSCT; FC – fully compatible allo-HSCT.

Таблица 4. Демографические характеристики пациентов

Table 4. Demographic characteristics of patients

Параметр Parameter	Все пациенты All patients	Группа Wt Group Wt	Группа Mt Group Mt	<i>p</i>
Число пациентов, абс. Number of patients, abs.	14	9	5	
Пол, муж/жен Gender, male/female	5/9	4/5	1/4	NS
Медиана возраста (диапазон) Median age (range)	40 (28–65)	42 (28–65)	43 (39–52)	NS

Примечание. NS – разница незначима.

Note. NS – the difference is not significant.

Медиана срока наступления пика вирусной нагрузки после алло-ТГСК, продолжительность виремии и скорость вирусологического ответа на ПВТ не имели достоверных различий в исследуемых группах.

Полученные результаты вызвали некоторые сомнения, т.к. противоречили данным литературы [14]. Были сформированы новые группы для анализа: пациент с ранее неописанной мутацией T502A был исклю-

Таблица 5. Основные показатели периферической крови пациентов

Table 5. The main indicators of peripheral blood of patients

Параметр Parameter	Все пациенты All patients	Группа Wt Group Wt	Группа Mt Group Mt	<i>p</i>
Гемоглобин, г/л, среднее ± SD Hemoglobin, g/l, average ± SD	83,2 ± 15,6	82,4 ± 16,3	85,0 ± 14,3	0,036
Тромбоциты, тыс/мкл, среднее ± SD Platelets, thousand/μl, average ± SD	92,0 ± 68,7	73,5 ± 55,5	127,7 ± 77,3	< 0,001
Лейкоциты, тыс/мкл, среднее ± SD Leukocytes, thousand/μl, average ± SD	2,9 ± 2,4	2,7 ± 2,5	3,5 ± 2,0	< 0,001

Примечание. Здесь и в табл. 6, 7: SD – стандартное отклонение.

Note. Here and in tables 6, 7: SD – standard deviation.

Таблица 6. Длительность вiremии и срок наступления вирусологического ответа на ПВТ у пациентов

Table 6. Duration of viremia and time of onset of virological response to antiviral therapy in patients

Параметр Parameter	Все пациенты All patients	Группа Wt Group Wt	Группа Mt Group Mt	<i>p</i>
Медиана срока наступления пика вирусной нагрузки после алло-ТГСК, сут (диапазон) Median time of onset of peak viral load after allo-HSCT, days (range)	69 (1–405)	50 (1–167)	152 (18–405)	0,083
Продолжительность вiremии, сут, среднее ± SD Duration of viremia, days, average ± SD	37,7 ± 29,1	25,8 ± 16,6	61,6 ± 35,6	0,075
Вирусологический ответ* на ПВТ, сут, среднее ± SD Virological response* to antiviral therapy, days, average ± SD	19,3 ± 19,4	13,0 ± 11,1	35,0 ± 28,2	0,102

Примечание. * – данные пациента Mt_2 не учитывали (не получал ПВТ).

Note. * – Mt_2 patient data was not taken into account (did not receive antiviral therapy).

Таблица 7. Сравнение показателей пациентов во вновь образованных группах

Table 7. Comparison of patient indicators in newly formed groups

Параметр Parameter	Группа Wt_new Group Wt_new	Группа Mt_new Group Mt_new	<i>p</i>
Число пациентов, абс. Number of patients, abs.	10	4	
Гемоглобин, г/л, среднее ± SD Hemoglobin, g/l, average ± SD	82,7 ± 16,3	84,7 ± 13,5	0,036
Тромбоциты, тыс/мкл, среднее ± SD Platelets, thousand/μl, average ± SD	77,7 ± 57,2	127,9 ± 81,1	< 0,001
Лейкоциты, тыс/мкл, среднее ± SD Leukocytes, thousand/μl, average ± SD	2,7 ± 2,5	3,5 ± 2,0	< 0,001
Медиана срока наступления пика вирусной нагрузки после алло-ТГСК, сут (диапазон) Median time of onset of peak viral load after allo-HSCT, days (range)	46 (1–167)	233 (118–405)	0,013
Продолжительность вiremии, сут, среднее ± SD Duration of viremia, days, average ± SD	24,2 ± 16,7	75,0 ± 22,2	0,007
Вирусологический ответ на ПВТ, сут, среднее ± SD Virological response to antiviral therapy, days, average ± SD	12,5 ± 10,7	44,3 ± 25,9	0,029

чен из группы пациентов с мутациями устойчивости (показатели этого пациента кардинально отличались от пациентов – носителей мутации устойчивости). После перераспределения пациентов по вышеописанным группам был проведен повторный анализ, результаты которого представлены в **табл. 7**.

Обсуждение

Следует различать рефрактерную и резистентную ЦМВ-инфекцию. Так, рефрактерность – это клиническое определение, основанное на критериях ответа на ПВТ, в то время как резистентная ЦМВ-инфекция

является понятием, основанным на лабораторном определении лекарственно-устойчивого генотипа или мутаций, которые отвечают за устойчивость к противовирусным препаратам [21].

Частота выявления рефрактерных форм ЦМВ-инфекции среди реципиентов органов и тканей достаточно высока. Согласно последним данным, среди реципиентов солидных органов она составляет от 5 до 12% [22, 23]. У реципиентов ГСК этот показатель варьирует в зависимости от многих факторов, среди которых важное место занимает совместимость реципиента и донора по системе лейкоцитарных антигенов (HLA). Так, при HLA-совместимой алло-ТГСК как от родственных, так и неродственных доноров частота резистентности составляет около 8% [23], а у пациентов из группы высокого риска при частично-совместимой алло-ТГСК – 14,5% [24].

В настоящем исследовании мутации в гене *UL97* ЦМВ были зафиксированы у 5 из 14 реципиентов алло-ГСК с признаками резистентной ЦМВ-инфекции. Среди мутаций обнаружены следующие: D490A, T502A, C592G, C592F, E596G и C603W. Четыре из них (C592G, C592F, E596G и C603W) известны как мутации, ассоциированные с устойчивостью вируса к действию противовирусных препаратов. Остальные две мутации ранее в литературе не описаны. У одного пациента обнаружены две мутации одновременно, причем обе – мутации устойчивости (C592G и C603W).

Анализ и сравнение клинико-лабораторных данных пациентов – носителей мутантного и немутантного по гену *UL97* варианта вируса позволили выявить достоверную разницу в основных показателях периферической крови (содержание гемоглобина, тромбоцитов и лейкоцитов). У реципиентов с мутантным вариантом эти показатели были достоверно выше. Однако при комплексном сопоставлении данных стало очевидно, что этот феномен связан не с наличием мутации как таковой, а со временем ее детекции. Так, в случае штамма дикого типа высокая вирусная нагрузка в среднем наблюдалась на более ранних сроках после алло-ТГСК, чем у носителей мутантного штамма (50 сут против 152 сут). В первом случае у большинства пациентов на этом сроке еще не произошло окончательного приживления трансплантата и полного восстановления кроветворения за счет донорского.

Средняя длительность виремии, скорость наступления вирусологического ответа на ПВТ и медиана срока наступления пика вирусной нагрузки, напротив, не имели достоверной разницы. Этот феномен оказался неожиданным. Логично было бы предположить, что наличие мутации устойчивости к действию GCV должно увеличивать длительность виремии и замедлять наступление противовирусного ответа на фоне ПВТ. Для объяснения этого явления были более пристально проанализированы данные реципиентов, у которых выявлены мутации, ранее не описанные в литературе.

Пациент с мутацией T502A по клинико-лабораторным данным разительно отличался от других носителей мутантного штамма, а именно: высокая

вирусная нагрузка у него была зафиксирована всего через 18 сут после алло-ТГСК, длительность виремии составила 8 сут, а противовирусный ответ наблюдался на 8-е сутки применения ПВТ. Таким образом, можно выдвинуть предположение, что мутация T502A в гене *UL97* ЦМВ, вероятно, не ассоциирована с устойчивостью к действию GCV. Следовательно, этого пациента стоило рассматривать как носителя варианта вируса без мутации устойчивости и отнести его к группе пациентов с вирусом дикого типа («группа Wt_new»).

Клинико-лабораторные данные пациента с мутацией D490A, напротив, указывали на вероятную устойчивость к GCV: высокая вирусная нагрузка зафиксирована на 314-е сутки после алло-ТГСК, длительность виремии составила 45 сут, а противовирусный ответ наступил на 16-е сутки после начала ПВТ. Такую разницу между продолжительностью виремии и длительностью ПВТ можно объяснить тем, что вирусная нагрузка у этого пациента до наступления пика находилась в области низких значений, а его состояние не требовало противовирусного лечения. Полученные данные позволяют предположить, что мутация D490A ассоциирована с устойчивостью к действию GCV. Однако подтверждение этого факта требует проведения дополнительных исследований. Таким образом, вышеуказанного пациента следовало оставить в группе носителей мутантного варианта вируса, а группу переименовать в «группу Mt_new».

После перераспределения пациентов по вновь образованным группам была получена достоверная разница по всем изучаемым параметрам (табл. 7). Полученные данные дают дополнительные основания предполагать, что мутация T502A, вероятно, не ассоциирована с устойчивостью к действию GCV, а мутация D490A, напротив – ассоциирована. Таким образом, частота выявления мутаций устойчивости к GCV среди реципиентов алло-ГСК составила 4 из 14 (28,6%).

В рамках настоящего исследования и с учетом ранее опубликованных данных [14, 15], можно утверждать, что возникновение резистентного к GCV вируса может приводить к изменению характера течения ЦМВ-инфекции. Полученные в ходе исследования результаты подтверждают актуальность и практическую значимость идентификации мутаций, ассоциированных с устойчивостью к противовирусным препаратам.

Ограничение исследования

При оценке полученных результатов необходимо учитывать, что метод секвенирования по Сэнгеру, использованный в настоящей работе для поиска мутаций, имеет ограничения. Так, он не позволяет детектировать последовательности ДНК, доля которых составляет менее 10%. Другие лабораторные методы, например, секвенирование следующего поколения (NGS), обладают большей чувствительностью, что делает актуальным проведение подобного исследования с их применением [25]. Мутации устойчивости к действию GCV могут локализоваться также в гене *UL54*, кодирующем ДНК-полимеразу. Вирусы, не-

сущие такие мутации, могут обладать перекрестной резистентностью к другим противовирусным препаратам [26].

Заключение

Данные, полученные в ходе настоящей работы, согласуются с результатами предыдущих исследований и расширяют представления о влиянии мутаций, ассоциированных с устойчивостью к действию противовирусных препаратов, на течение ЦМВ-инфекции у реципиентов ГСК [7, 15]. Показано, что почти у 1/3 (4 из 14) реципиентов алло-ГСК с признаками устойчивой ЦМВ-инфекции выявлены мутации, ассоциированные с устойчивостью к действию GCV. Обнаружена и впервые описана мутация, обладающая таким потенциалом – D490A. У реципиентов – носителей мутантного варианта ЦМВ наблюдались более длительные виремия и срок получения отрицательного результата вирусологического исследования после начала ПВТ.

Тем не менее на данный момент стандартизованные алгоритмы диагностики мутаций не утверждены ни в Российской Федерации, ни за рубежом, несмотря на то что подобные предложения выдвигались неоднократно [7, 15, 27]. Проведение генотипирования и поиска мутаций в случае отсутствия ответа на ПВТ крайне актуально. Информация о конкретной мутации, ее характеристиках может способствовать принятию более обоснованного терапевтического решения.

ЛИТЕРАТУРА

- Gerna G., Zavattoni M., Baldanti F., Furione M., Chezzi L., Revello M.G., et al. Circulating cytomegalic endothelial cells are associated with high human cytomegalovirus (HCMV) load in AIDS patients with late-stage disseminated HCMV disease. *J. Med. Virol.* 1998; 55(1): 64–74.
- Piret J., Boivin G. Antiviral drug resistance in herpesviruses other than cytomegalovirus. *Rev. Med. Virol.* 2014; 24(3):186–218. <https://doi.org/10.1002/rmv.1787>
- Ramanan P., Razonable R.R. Cytomegalovirus infections in solid organ transplantation: A review. *Infect. Chemother.* 2013; 45(3): 260–71. <https://doi.org/10.3947/ic.2013.45.3.260>
- Демин М.В., Тихомиров Д.С., Туполева Т.А., Филатов Ф.П. Устойчивость к противовирусным препаратам у вирусов человека из подсемейства Betaherpesvirinae. *Вопросы вирусологии.* 2022; 67(5): 385–94. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-136> <https://elibrary.ru/fncleq>
- Piret J., Boivin G. Clinical development of letermovir and maribavir: Overview of human cytomegalovirus drug resistance. *Antiviral Res.* 2019; 163: 91–105. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.01.011>
- Орлова С.В., Стома И.О., Шмелева Н.П., Сивец Н.В. Современное состояние проблемы герпесвирусных инфекций 6-го и 7-го типов с разными клиническими формами, возможности лечения. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* 2021; 10(2): 78–86. <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-1-78-86> <https://elibrary.ru/jjladx>
- Кожушная О.С., Солопова Г.Г., Маркелов М.И., Орил А.Р., Балашов Д.Н., Шелихова Л.Н. и др. Мониторинг мутаций в гене UL97 цитомегаловируса, ассоциированных с резистентностью к ганцикловиру, у детей после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2022; 24(1): 47–51. <https://doi.org/10.36488/emas.2022.1.47-51> <https://elibrary.ru/ygokdo>
- Chen S.J., Wang S.C., Chen Y.C. Antiviral agents as therapeutic strategies against cytomegalovirus infections. *Viruses.* 2019; 12(1): 21. <https://doi.org/10.3390/v12010021>
- Littler E., Stuart A., Chee M. Human cytomegalovirus UL97 open reading frame encodes a protein that phosphorylates the antiviral nucleoside analogue ganciclovir. *Nature.* 1992; 358(6382): 160–2. <https://doi.org/10.1038/358160a0>
- Chen H., Beardsley G.P., Coen D.M. Mechanism of ganciclovir-induced chain termination revealed by resistant viral polymerase mutants with reduced exonuclease activity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2014; 111(49): 17462–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405981111>
- Chou S. Approach to drug-resistant cytomegalovirus in transplant recipients. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2015; 28(4): 293–9. <https://doi.org/10.1097/qco.0000000000000170>
- Biron K.K. Antiviral drugs for cytomegalovirus diseases. *Antiviral Res.* 2006; 71(2-3): 154–63. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.05.002>
- Fischer L., Imrich E., Sampaio K.L., Hofmann J., Jahn G., Hamprecht K., et al. Identification of resistance-associated HCMV UL97- and UL54-mutations and a UL97-polymorphism with impact on phenotypic drug-resistance. *Antiviral Res.* 2016; 131: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.04.002>
- Демин М.В., Тихомиров Д.С., Бидерман Б.В., Глинщикова О.А., Дроков М.Ю., Судариков А.Б. и др. Мутации в гене UL97 цитомегаловируса, ассоциированные с устойчивостью к ганцикловиру, у реципиентов аллогенных стволовых гемопоэтических стволовых клеток. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2019; 21(4): 352–7. <https://doi.org/10.36488/emas.2019.4.352-357> <https://elibrary.ru/nrtppq>
- Демин М.В., Тихомиров Д.С., Бидерман Б.В., Дроков М.Ю., Судариков А.Б., Туполева Т.А. и др. Мутации в гене UL97 цитомегаловируса (herpesvirales: herpesviridae: cytomegalovirus: human betaherpesvirus 5), ассоциированные с устойчивостью к ганцикловиру, у реципиентов аллогенных стволовых гемопоэтических клеток. *Вопросы вирусологии.* 2022; 67(1): 37–47. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-90> <https://elibrary.ru/jkpuqq>
- Камельских Д.В., Дроков М.Ю., Дубинкин И.В., Калмыкова О.С., Васильева В.А., Демидова Е.С. и др. Эффективность трансфузий концентратов тромбоцитов у больных после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток с сопутствующей рефрактерностью. *Клеточная терапия и трансплантология.* 2020; 9(3): 71–2. <https://elibrary.ru/bbkqth>
- Chou S., Van Wechel L.C., Lichy H.M., Marousek G.I. Phenotyping of cytomegalovirus drug resistance mutations by using recombinant viruses incorporating a reporter gene. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005; 49(7): 2710–5. <https://doi.org/10.1128/aac.49.7.2710-2715.2005>
- Chou S., Marousek G., Guentzel S., Follansbee S.E., Poscher M.E., Lalezari J.P., et al. Evolution of mutations conferring multidrug resistance during prophylaxis and therapy for cytomegalovirus disease. *J. Infect. Dis.* 1997; 176(3): 786–9. <https://doi.org/10.1086/517302>
- Chou S., Waldemer R.H., Senters A.E., Michels K.S., Kemble G.W., Miner R.C., et al. Cytomegalovirus UL97 Phosphotransferase Mutations That Affect Susceptibility to Ganciclovir. *J. Infect. Dis.* 2002; 185(2): 162–9. <https://doi.org/10.1086/338362>
- Karrasch M., Michel D., Schneider S., Baier M., Busch M. Development of a combined CMV-UL97 C592F and CMV-UL54 T503I resistance mutation during ganciclovir treatment in a kidney transplant recipient. *Rev. Med. Microbiol.* 2019; 30(4): 197–9. <https://doi.org/10.1097/MRM.0000000000000190>
- Дмитрова А.А., Дроков М.Ю., Туполева Т.А., Савченко В.Г. Цитомегаловирусная инфекция при трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток: основное клиническое значение и определения. *Трансплантология.* 2022; 14(2): 210–25. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-2-210-225> <https://elibrary.ru/cbrhiq>
- Boivin G., Goyette N., Rollag H., Jardine A.G., Pescovitz M.D., Asberg A., et al. Cytomegalovirus resistance in solid organ transplant recipients treated with intravenous ganciclovir or oral valganciclovir. *Antivir. Ther.* 2009; 14(5): 697–704.
- Hantz S., Garnier-Geoffroy F., Mazeron M.C., Garrigue I., Merville P., Mengelle C., et al. French CMV Resistance Survey Study Group. Drug-resistant cytomegalovirus in transplant recipients: a French cohort study. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 65(12): 2628–40. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq368>
- Shmueli E., Shapira M.Y., Resnick I.B., Caplan O., Bdolah-Abram T., Wolf D.G. High rate of cytomegalovirus drug resistance

- among patients receiving preemptive antiviral treatment after haploidentical stem cell transplantation. *J. Infect. Dis.* 2014; 209(4): 557–61. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit475>
25. Chou S. Advances in the genotypic diagnosis of cytomegalovirus antiviral drug resistance. *Antiviral Res.* 2020; 176: 104711. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104711>
 26. Chou S., Marousek G.I., Van Wechel L.C., Li S., Weinberg A. Growth and drug resistance phenotypes resulting from cytomegalovirus DNA polymerase region III mutations observed in clinical specimens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51(11): 4160–2. <https://doi.org/10.1128/aac.00736-07>
 27. El Chaer F., Shah D.P., Chemaly R.F. How I treat resistant cytomegalovirus infection in hematopoietic cell transplantation recipients. *Blood.* 2016; 128(23): 2624–36. <https://doi.org/0.1182/blood-2016-06-688432>
- ### REFERENCES
1. Gerna G., Zavattoni M., Baldanti F., Furione M., Chezzi L., Revello M.G., et al. Circulating cytomegalic endothelial cells are associated with high human cytomegalovirus (HCMV) load in AIDS patients with late-stage disseminated HCMV disease. *J. Med. Virol.* 1998; 55(1): 64–74.
 2. Piret J., Boivin G. Antiviral drug resistance in herpesviruses other than cytomegalovirus. *Rev. Med. Virol.* 2014; 24(3):186–218. <https://doi.org/10.1002/rmv.1787>
 3. Ramanan P., Razonable R.R. Cytomegalovirus infections in solid organ transplantation: A review. *Infect. Chemother.* 2013; 45(3): 260–71. <https://doi.org/10.3947/ic.2013.45.3.260>
 4. Demin M.V., Tikhomirov D.S., Tupoleva T.A., Filatov F.P. Resistance to antiviral drugs in human viruses from the subfamily Betaherpesvirina. *Voprosy virusologii.* 2022; 67(5): 385–94. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-136> <https://elibrary.ru/fncclq> (in Russian)
 5. Piret J., Boivin G. Clinical development of letermovir and maribavir: Overview of human cytomegalovirus drug resistance. *Antiviral Res.* 2019; 163: 91–105. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.01.011>
 6. Orlova S.V., Stoma I.O., Shmialiova N.P., Sivets N.V. The current state of the problem of infections caused by herpes viruses 6, 7 with different clinical forms and the possibilities of their treatment. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie.* 2021; 10(2): 78–86. <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-1-78-86> <https://elibrary.ru/jjldax> (in Russian)
 7. Kozhushnaya O.S., Solopova G.G., Markelov M.I., Oril A.R., Balashov D.N., Shelikhova L.N., et al. Monitoring of resistance-associated mutations in UL97 gene of cytomegalovirus in children after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2022; 24(1): 47–51. <https://doi.org/10.36488/cmacc.2022.1.47-51> <https://elibrary.ru/ygokdo> (in Russian)
 8. Chen S.J., Wang S.C., Chen Y.C. Antiviral agents as therapeutic strategies against cytomegalovirus infections. *Viruses.* 2019; 12(1): 21. <https://doi.org/10.3390/v12010021>
 9. Littler E., Stuart A., Chee M. Human cytomegalovirus UL97 open reading frame encodes a protein that phosphorylates the antiviral nucleoside analogue ganciclovir. *Nature.* 1992; 358(6382): 160–2. <https://doi.org/10.1038/358160a0>
 10. Chen H., Beardsley G.P., Coen D.M. Mechanism of ganciclovir-induced chain termination revealed by resistant viral polymerase mutants with reduced exonuclease activity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2014; 111(49): 17462–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405981111>
 11. Chou S. Approach to drug-resistant cytomegalovirus in transplant recipients. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2015; 28(4): 293–9. <https://doi.org/10.1097/qco.0000000000000170>
 12. Biron K.K. Antiviral drugs for cytomegalovirus diseases. *Antiviral Res.* 2006; 71(2-3): 154–63. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.05.002>
 13. Fischer L., Imrich E., Sampaio K.L., Hofmann J., Jahn G., Hamprecht K., et al. Identification of resistance-associated HCMV UL97- and UL54-mutations and a UL97-polymorphism with impact on phenotypic drug-resistance. *Antiviral Res.* 2016; 131: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.04.002>
 14. Demin M.V., Tikhomirov D.S., Biderman B.V., Glinshchikova O.A., Drovkov M.Yu., Sudarikov A.B., et al. Mutations in the cytomegalovirus UL97 gene associated with ganciclovir resistance in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2019; 21(4): 352–7. <https://doi.org/10.36488/cmacc.2019.4.352-357> <https://elibrary.ru/nrtpqv> (in Russian)
 15. Demin M.V., Tikhomirov D.S., Biderman B.V., Drovkov M.YU., Sudarikov A.B., Tupoleva T.A., et al. Mutations in the UL97 gene of cytomegalovirus (Herpesvirales: Herpesviridae: Cytomegalovirus: Human Betaherpesvirus 5) associated with ganciclovir resistance in recipients of allogeneic hematopoietic stem cells. *Voprosy virusologii.* 2022; 67(1): 37–47. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-90> <https://elibrary.ru/jkpuqq> (in Russian)
 16. Kamel'skikh D.V., Drovkov M.Yu., Dubinkin I.V., Kalmykova O.S., Vasil'eva V.A., Demidova E.S., et al. The effectiveness of platelet concentrate transfusions in patients after transplantation of allogeneic hematopoietic stem cells with concomitant refractoriness. *Kletochnaya terapiya i transplantologiya.* 2020; 9(3): 71–2. <https://elibrary.ru/bbkqth> (in Russian)
 17. Chou S., Van Wechel L.C., Lichy H.M., Marousek G.I. Phenotyping of cytomegalovirus drug resistance mutations by using recombinant viruses incorporating a reporter gene. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005; 49(7): 2710–5. <https://doi.org/10.1128/aac.49.7.2710-2715.2005>
 18. Chou S., Marousek G., Guentzel S., Follansbee S.E., Poscher M.E., Lalezari J.P., et al. Evolution of mutations conferring multidrug resistance during prophylaxis and therapy for cytomegalovirus disease. *J. Infect. Dis.* 1997; 176(3): 786–9. <https://doi.org/10.1086/517302>
 19. Chou S., Waldemer R.H., Senters A.E., Michels K.S., Kemble G.W., Miner R.C., et al. Cytomegalovirus UL97 Phosphotransferase Mutations That Affect Susceptibility to Ganciclovir. *J. Infect. Dis.* 2002; 185(2): 162–9. <https://doi.org/10.1086/338362>
 20. Karrasch M., Michel D., Schneider S., Baier M., Busch M. Development of a combined CMV-UL97 C592F and CMV-UL54 T503I resistance mutation during ganciclovir treatment in a kidney transplant recipient. *Rev. Med. Microbiol.* 2019; 30(4): 197–9. <https://doi.org/10.1097/MRM.0000000000000190>
 21. Dmitrova A.A., Drovkov M.YU., Tupoleva T.A., Savchenko V.G. Cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: clinical significance and definitions. *Transplantologiya.* 2022; 14(2): 210–25. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-2-210-225> <https://elibrary.ru/cbrhiq> (in Russian)
 22. Boivin G., Goyette N., Rollag H., Jardine A.G., Pescovitz M.D., Asberg A., et al. Cytomegalovirus resistance in solid organ transplant recipients treated with intravenous ganciclovir or oral valganciclovir. *Antivir. Ther.* 2009; 14(5): 697–704.
 23. Hantz S., Garnier-Geoffroy F., Mazon M.C., Garrigue I., Merville P., Mengelle C., et al. French CMV Resistance Survey Study Group. Drug-resistant cytomegalovirus in transplant recipients: a French cohort study. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 65(12): 2628–40. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq368>
 24. Shmueli E., Shapira M.Y., Resnick I.B., Caplan O., Bdoiah-Abram T., Wolf D.G. High rate of cytomegalovirus drug resistance among patients receiving preemptive antiviral treatment after haploidentical stem cell transplantation. *J. Infect. Dis.* 2014; 209(4): 557–61. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit475>
 25. Chou S. Advances in the genotypic diagnosis of cytomegalovirus antiviral drug resistance. *Antiviral Res.* 2020; 176: 104711. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104711>
 26. Chou S., Marousek G.I., Van Wechel L.C., Li S., Weinberg A. Growth and drug resistance phenotypes resulting from cytomegalovirus DNA polymerase region III mutations observed in clinical specimens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51(11): 4160–2. <https://doi.org/10.1128/aac.00736-07>
 27. El Chaer F., Shah D.P., Chemaly R.F. How I treat resistant cytomegalovirus infection in hematopoietic cell transplantation recipients. *Blood.* 2016; 128(23): 2624–36. <https://doi.org/0.1182/blood-2016-06-688432>

Информация об авторах:

Тихомиров Дмитрий Сергеевич – канд. биол. наук, заведующий лабораторией анализа посттрансфузионных вирусных инфекций ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2553-6579>

Демин Михаил Валерьевич✉ – канд. биол. наук, биолог лаборатории анализа посттрансфузионных вирусных инфекций ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: memindisha@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-7579-3442>

Серикова Анастасия Андреевна – специалист лаборатории анализа посттрансфузионных вирусных инфекций ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Москва, Россия; <https://orcid.org/0009-0009-6094-3223>

Бидерман Белла Вениаминовна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии, ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Судариков Андрей Борисович – д-р биол. наук, заведующий лабораторией молекулярной гематологии, ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>

Филатов Феликс Петрович – канд. мед. наук, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-6182-2241>

Туполева Татьяна Алексеевна – д-р мед. наук, заведующая отделом вирусологии, заведующая отделением – врач-вирусолог отделения инфекционной безопасности трансфузий ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4668-9379>

Участие авторов: Тихомиров Д.С. – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, подготовка текста статьи; Серикова А.А. – проведение экспериментов, сбор данных; Демин М.В. – проведение экспериментов, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка и научное редактирование текста статьи; Бидерман Б.В. – техническая поддержка; Судариков А.Б. – одобрение окончательного варианта статьи для публикации; Филатов Ф.П. – консультирование по общим вопросам, научное редактирование текста; Туполева Т.А. – общее руководство, одобрение окончательного варианта статьи для публикации.

Поступила 17.07.2024
Принята в печать 10.09.2024
Опубликована 31.10.2024

Information about the authors:

Dmitriy S. Tikhomirov – PhD in Biology, Head of the Laboratory for Analysis of Posttransfusion Viral Infections, National Medical Research Center of Hematology, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2553-6579>

Mikhail V. Demin✉ – PhD in Biology, Biologist of the Laboratory for the Analysis of Posttransfusion Viral Infections, National Medical Research Center of Hematology, Moscow, Russia. E-mail: memindisha@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-7579-3442>

Anastasia A. Serikova – Specialist of the Laboratory for the Analysis of Posttransfusion Viral Infections, National Medical Research Center of Hematology of the Ministry, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0009-0009-6094-3223>

Bella V. Biderman – PhD in Biology, Senior Researcher at the Laboratory of Molecular Hematology, National Medical Research Center of Hematology, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Andrey B. Sudarikov – Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Hematology, National Medical Research Center of Hematology, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>

Felix P. Filatov – PhD in Medicine, Doctor of Biological Sciences, Researcher in Laboratory of Molecular Biotechnology, I.I. Mechnikov Federal State Budgetary Research University, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6182-2241>

Tatiana A. Tupoleva – Doctor of Medical Sciences, Head of the Virology Department, Head of the Department – Virologist of the Infectious Transfusion Safety Department, National Medical Research Center of Hematology, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4668-9379>

Contribution: Demin M.V. – research concept and design, conducting experiments, collecting, analyzing and interpreting data, preparing the text of the article; Serikova A.A. – conducting experiments, collecting data; Tikhomirov D.S. – analyzing and interpreting data, preparing the text of the article; Biderman B.V. – technical support, analyzing and interpreting data; Sudarikov A.B. – approval of the final version of the article for publication; Filatov F.P. – consulting on general issues, text editing; Tupoleva T.A. – approval of the final version of the article for publication.

Received 17 July 2024
Accepted 10 September 2024
Published 31 October 2024