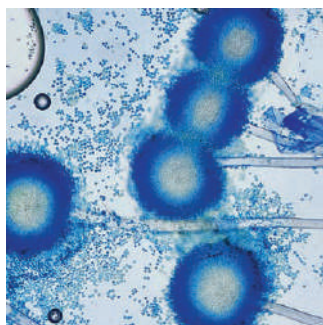




Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредители:

Синопальников А.И.; Пискунов Г.Г.; Козлов Р.С.; Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ)

Главный редактор:
Синопальников А.И.

Адрес редакции:

214019, Смоленская обл., г. Смоленск, ул. Кирова, д. 46А
Эл. почта: info@cmac-journal.ru

Адрес для корреспонденции:
214019, г. Смоленск, а/я 5.

Тел./факс: +7(4812)45-06-02

Издатель МАКМАХ:

214019, г. Смоленск, ул. Кирова 46А. www.iacmac.ru

Адрес типографии:

214020, Россия, г. Смоленск, ул. Смольянинова, д. 1

Электронная версия журнала:

https://cmac-journal.ru

Подписка на сайте издателя:

https://service.iacmac.ru

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Запись в реестре зарегистрированных СМИ: ПИ № ФС 77 – 86269 от 27.11.2023

Не распространяется через предпринятия связи
Тираж 3000 экз.

Свободная цена

Дата выхода – 00.00.2025

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук
Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов
Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 №436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

Иллюстрация для обложки предоставлена: Ольга Николаевна Пинегина (Микробиологическая лаборатория ЕКДЛ SmartLab АО «Группа компаний «МЕДСИ»)

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2025.

Содержание

Болезни и возбудители

- Козлова И.В., Носов Н.Ю., Юнакова И.В., Плахова К.И., Кубанов А.А.
268 Генетическое разнообразие *Chlamydia trachomatis* на территории России
- Лебедева Е.О., Давтян Л.А., Кузнецова И.К., Шутов М.В., Рачина С.А.
275 Респираторно-синцитиальный вирус у взрослых: особенности течения и инновационные методы профилактики
- Ларин Е.С., Рачина С.А., Федина Л.В., Зайналабидова Х.Г., Агеев В.А., Сидоренко С.В., Авдеева А.А., Савочкина Ю.А.
289 Инфекции, вызванные гипервирулентными изолятами *Klebsiella pneumoniae*: актуальность проблемы
- Арбузова Н.В., Шпилева М.В., Катунин Г.Л., Носов Н.Ю.
304 Протеомика *Treponema pallidum*: перспективы улучшения серологической диагностики сифилиса
- Кожушная О.С., Воропаев А.Д., Левин П.А., Новичкова Г.А., Солопова Г.Г.
309 Анализ мутаций резистентности цитомегаловируса и клинических особенностей течения ЦМВ-инфекции у иммунокомпрометированных детей

Антимикробные препараты

- Тапальский Д.В., Карпова Е.В., Симончик М.В., Пыж А.Э., Голикова М.В.
317 Сравнительная активность меропенема и биопенема и их комбинаций с колистином в отношении грамотрицательных микроорганизмов-продуцентов карбапенемаз различных групп
- Арепьева М.А., Кузьменков А.Ю., Старостенков А.А., Колбин А.С., Балыкина Ю.Е., Гомон Ю.М., Курылев А.А., Козлов Р.С.
330 Интегрированная система мониторинга потребления антимикробных препаратов и прогнозирования резистентности на основе динамических моделей

Антибиотикорезистентность

- Припутневич Т.В., Нечаева О.В., Бембеева Б.О., Гордеев А.Б., Кузнецова В.А., Скоробогатый А.В., Изюмов Р.В.
342 Изучение антибиотикорезистентности гипервирулентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у пациентов перинатальных центров различных регионов Российской Федерации
- Фёдорова А.В., Хрульнова С.А., Фролова И.Н., Ветохина А.В., Молчанова И.В., Куцевалова О.Ю., Клясова Г.А.
359 Ванкомицинорезистентные *Enterococcus faecium* в гематологии: чувствительность к антимикробным препаратам и клональное разнообразие
- Гульятеева Н.А., Виноградова А.Г., Колесникова И.В., Рыжова К.А., Шелковникова О.В.
369 Опыт создания замкнутого цифрового контура для обеспечения непрерывного мониторинга антимикробной резистентности на основе валидированных результатов микробиологической диагностики

Опыт работы

- Рачеева Ю.В., Эйдельштейн И.А., Пунин А.А., Ветлицына О.В., Ашакевич Т.П., Романов А.В., Козлов Р.С.
390 Распространенность *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae* у пациентов с обострением ХОБЛ в осенне-зимний период 2022–2023 гг. в Смоленской области
- Любимова Л.В., Павлова С.И., Любимов Е.А., Микишанина Е.А.
395 Динамика антибиотикорезистентности возбудителей перипротезной инфекции крупных суставов до и после пандемии COVID-19
- Казюлина А.А., Грачева А.Н., Токаев Т.К., Синицын М.В., Елисеев П.И., Тюлькова Т.Е., Загоскин Ю.Д., Григорьев Т.Е., Васильева И.А.
406 Оценка бактерицидного действия объемных пористых композиционных материалов, импрегнированных серебром, на *Mycobacterium tuberculosis*
- Данилов Д.И., Савочкина Ю.А., Эйдельштейн И.А., Адешкина Н.И., Олейник О.Н., Гордукова М.А., Шипулин Г.А.
417 Выявление устойчивых к макролидам *Mycoplasma pneumoniae* с помощью быстрых молекулярно-генетических методов: разработка и валидация диагностического ПЦР-теста

Анализ мутаций резистентности цитомегаловируса и клинических особенностей течения ЦМВ-инфекции у иммунокомпрометированных детей

Кожушная О.С., Воропаев А.Д., Левин П.А., Новичкова Г.А., Солопова Г.Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

Контактный адрес:

Олеся Сайдашевна Кожушная
Эл. почта: olesia.kozhushnaia@
fccho-moscow.ru

Ключевые слова: цитомегаловирус, резистентность к противовирусным препаратам, мутации, UL97, UL54, ганцикловир, фоскарнет, цидофовир, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, иммунокомпрометированные дети.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Определить частоту и спектр мутаций резистентности цитомегаловируса (ЦМВ) к противовирусным препаратам у иммунокомпрометированных детей. Изучить особенности клинического течения ЦМВ-инфекции, устойчивой к терапии у данной категории пациентов.

Материалы и методы. В данное проспективное исследование было включено 120 пациентов НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева – преимущественно реципиентов аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) с подтвержденной ЦМВ-инфекцией (медиана возраста – 8,9 лет). Критерием включения в исследование являлось возможное развитие лекарственной устойчивости ЦМВ. При увеличении вирусной нагрузки ЦМВ в крови (при определении методом полимеразной цепной реакции в реальном времени) проводилось исследование мутации генов UL97 и UL54, связанных с устойчивостью ЦМВ к противовирусным препаратам (методом секвенирования по Сэнгеру).

Результаты. Из 120 пациентов у 27 (22,5%) были обнаружены резистентные штаммы ЦМВ. В протеинкиназе pUL97 ЦМВ были выявлены следующие мутации и их сочетания: A594V (n = 8), L595S (n = 6), H520Q (n = 2), A591V (n = 1), C592G (n = 1), C592S (n = 1), C607F (n = 1), C607Y (n = 1), C603W (n = 1), A594V/H520Q (n = 2), L595F/C592G (n = 1), L595S/M460V (n = 1); в ДНК-полимеразе вируса pUL54: N408D (n = 1), V715H (n = 1), V781I/K513R (n = 1), L773V (n = 1). Наиболее частыми мутациями оказались A594V (37%) и L595S (27%). Медиана времени выявления мутации резистентности составила 108 дней от начала противовирусной терапии (11–306 дней). У пациентов с мутациями резистентности ЦМВ были зарегистрированы следующие особенности: более высокие значения пиковой вирусной нагрузки в крови (p = 0,005), более длительная элиминация вируса (p = 0,001) и более частое развитие инвазивных грибковых инфекций (p = 0,001). Общая выживаемость в данной группе пациентов составила 60% против 79% у пациентов без мутаций резистентности (p = 0,074).

Выводы. Определены частота и спектр мутаций, обуславливающих лекарственную устойчивость ЦМВ у иммунокомпрометированных детей. Наиболее распространенными механизмами резистентности ЦМВ к ганцикловиру были мутации A594V и L595S протеинкиназы pUL97. Мутации в pUL54 выявлялись реже и были представлены следующими: N408D, V781I, V715H и L773V. Необходимо подчеркнуть значимость своевременного выявления резистентных штаммов и пересмотра тактики терапии в связи с более тяжелым течением заболевания при наличии мутаций резистентности ЦМВ (более длительная персистенция вируса, повышение частоты развития грибковых инфекций, снижение общей выживаемости).

Original Article

Analysis of cytomegalovirus resistance mutations and clinical features of CMV infection in immunocompromised children

Kozhushnaya O.S., Voropaev A.D., Levin P.A., Novichkova G.A., Solopova G.G.

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

Contacts:

Olesya S. Kozhushnaya
E-mail: olesia.kozhushnaia@
fccho-moscow.ru

Key words: cytomegalovirus, antiviral resistance, mutations, UL97, UL54, ganciclovir, foscarnet, cidofovir, hematopoietic stem cell transplantation, immunocompromised children.

Objective. To determine frequency and spectrum of cytomegalovirus (CMV) resistance mutations to antiviral drugs in immunocompromised children. To study clinical course of resistant CMV infection in this patient population.

Materials and methods. This prospective study included 120 patients of the Dmitry Rogachev NMRC PHOI who mainly were recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with confirmed CMV infection (median age – 8.9 years). The study inclusion criterion was the possible development of CMV drug resistance. With an increase in the CMV blood viral load (determined by real-time polymerase chain reaction), UL97 and UL54 genes mutations associated with CMV resistance to antiviral drugs (using Sanger sequencing) were studied.

Results. Of 120 patients, 27 (22.5%) were found to have resistant CMV strains. The following mutations and their combinations were identified in CMV pUL97 protein kinase: A594V (n = 8), L595S (n = 6),

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

H520Q (n = 2), A591V (n = 1), C592G (n = 1), C592S (n = 1), C607F (n = 1), C607Y (n = 1), C603W (n = 1), A594V/H520Q (n = 2), L595F/C592G (n = 1), L595S/M460V (n = 1); in the DNA polymerase pUL54: N408D (n = 1), V715H (n = 1), V781I/K513R (n = 1), L773V (n = 1). The most common mutations were A594V (37%) and L595S (27%). The median time from the start of antiviral therapy to the detection of a resistance mutation was 108 days (11–306 days). The following features were recorded in patients with CMV resistance mutations: higher values of peak viral load in the blood (p = 0.005), longer viral elimination (p = 0.001), and more frequent development of invasive fungal infections (p = 0.001). The overall survival rate in this group of patients was 60% versus 79% in patients without resistance mutations (p = 0.074).

Conclusions. Frequency and spectrum of mutations responsible for CMV drug resistance in immunocompromised children have been determined. The most common mechanisms of CMV resistance to ganciclovir were A594V and L595S mutations of protein kinase pUL97. pUL54 mutations were detected less frequently and represented by the following: N408D, V781I, V715H and L773V. It is necessary to emphasize the importance of timely detection of resistant strains and adjustment of treatment strategy due to a more severe course of the disease when CMV resistance mutations are presented: longer viral persistence, increased incidence of fungal infections, decreased overall survival.

Введение

Цитомегаловирус (ЦМВ) относится к семейству *Orthoherpesviridae* и вызывает тяжелые жизнеугрожающие инфекционные осложнения, в первую очередь у лиц с дефектами иммунитета [1]. ЦМВ-инфекция является одной из значимых причин инфекционной заболеваемости и смертности иммунокомпрометированных детей с врожденными или приобретенными иммунодефицитными состояниями, в том числе вследствие проведения химиотерапии, иммуносупрессивной терапии, трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), трансплантации солидных органов. По данным российских публикаций, серопревалентность среди детей в Российской Федерации достигает 50–75%, что подтверждает широкое распространение вируса в детской популяции и высокий риск его реактивации [2].

ЦМВ-инфекция развивается у реципиентов ТГСК в результате первичного инфицирования или реактивации латентного ЦМВ и приводит к развитию таких тяжелых осложнений, как пневмония, гепатит, ретинит, энцефалит и др. [3]. Помимо прямого патогенного действия вируса на органы-мишени, происходит нарушение Т-клеточного звена иммунитета, что в свою очередь может приводить к развитию других инфекционных осложнений, реакции «трансплантат против хозяина», нарушению приживления трансплантата и, как следствие, снижению выживаемости пациентов [4–6].

Продолжительная терапия или назначение субоптимальных доз противовирусных препаратов – ганцикловира, валганцикловира, фоскарнета и др., могут приводить к селекции устойчивых штаммов ЦМВ, особенно у пациентов с глубокой иммуносупрессией [7, 8]. Частота развития резистентности ЦМВ в популяции иммунокомпрометированных пациентов составляет 5–10%, при этом летальность достигает 45–60% [9, 10].

Препаратами первой линии терапии являются ганцикловир и валганцикловир, лекарственную устойчивость к которым обуславливает наличие мутаций ЦМВ

в генах *UL97* (кодирует вирусную протеинкиназу pUL97) и *UL54* (кодирует ДНК-полимеразу pUL54) [11, 12]. Продемонстрировано, что первыми появляются мутации в гене *UL97*, а после смены противовирусной терапии развиваются мутации в гене *UL54*. Мутации *UL54*, помимо устойчивости к ганцикловиру, также связаны с устойчивостью к фоскарнету и цидофовиру. Сочетание мутаций в генах *UL97/UL54* приводит к множественной лекарственной устойчивости и высокой летальности, однако такое явление встречается редко. Интересно, что у ряда пациентов мутации резистентности могут быть обнаружены не только в крови, но и в других локусах, поскольку патогенез заболевания включает репликацию ЦМВ за пределами системы кровообращения, и эволюция мутаций резистентности во время ЦМВ-инфекции в различных тканях может отличаться [13, 14].

В связи с процессом формирования иммунного ответа к ЦМВ проблема резистентности является наиболее актуальной для педиатрических пациентов. Несмотря на клиническую значимость, в российской и международной литературе представлено ограниченное число исследований, посвященных особенностям резистентных форм ЦМВ-инфекции, а также спектру выявленных мутаций у иммунокомпрометированных детей.

Цель исследования – проанализировать частоту развития, спектр и клиническое значение мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью ЦМВ к противовирусной терапии, в популяции иммунокомпрометированных детей.

Материалы и методы

Данное проспективное исследование было проведено на базе ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» в период 2020–2024 гг. В него было включено 120 пациентов с медианой возраста 8,9 лет (0;18) с подозрением на развитие лекарственной резистент-

ности ЦМВ. Основным критерием резистентности было волнообразное течение либо увеличение вирусной нагрузки ЦМВ на фоне противовирусной терапии ганцикловиром, валганцикловиром, фоскарнетом или цидофовиром. Материалом для исследования преимущественно являлись образцы крови с вирусной нагрузкой > 500 копий/мл, реже бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ), спинномозговая жидкость, внутриглазная жидкость и моча. Поиск мутаций резистентности ЦМВ проводили методом секвенирования по Сэнгеру.

Амплификация фрагментов генов осуществлялась с использованием реагентов «Евроген» (Россия). Реакционная смесь для одной пробирки включала: 5 мкл 5 × qPCRmixHS, по 1 мкл каждого праймера (10 мкМ) и 19 мкл ДНК ЦМВ. Амплификацию фрагмента гена *UL97* ЦМВ проводили в соответствии с ранее опубликованным протоколом [15]. Для амплификации гена *UL54* применяли протокол, описанный ранее [16]. Реакции проводились на термоциклере C1000 Touch 96 (Bio-Rad, США). Полученные ПЦР-продукты анализировали в 1% агарозном геле и очищали с помощью ферментного набора ExoSAP (Thermo Fisher Scientific, США). Секвенирование выполняли с использованием реагентов Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США) и праймеров для ПЦР-амплификации фрагментов *UL97* и *UL54*. Анализ проводили на автоматическом секвенаторе ABI 3500XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) в соответствии с инструкцией производителя. Полученные данные обрабатывали с помощью программ Sequencing Analysis 7 и nucleotide BLAST, а также сравнивали с референсными последовательностями генов *UL97* и *UL54* штамма Merlin с использованием платформы MRA Университета Ульма (Германия) [17].

В НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева была разработана информационная программа, кумулирующая данные лабораторной и медицинкой информационных систем в следующем объеме: персональные данные пациентов, диагноз, даты проведения ТГСК, результаты мониторинга ЦМВ с количественными значениями, результаты серологических исследований на ЦМВ, результаты оценки специфического Т-клеточного иммунитета пациентов к ЦМВ, результаты генотипирования ЦМВ, а также данные о назначенной пациентам противовирусной терапии. С помощью информационной панели проводили анализ мониторинга ЦМВ-инфекции и включение пациентов в исследование в соответствии с указанными ранее критериями.

Статистический анализ проводился с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2016 и RStudio Server 1.3.959. Качественные переменные описывались в виде абсолютных значений и частот. Количественные данные представлялись в виде медианы и межквартильного интервала. Для оценки различий качественных признаков между группами использовались критерии χ^2 (хи-квадрат) или точный критерий Фишера. Для количественных переменных применялся критерий Манна – Уитни. Доверительные интервалы для пропор-

ций рассчитывались с помощью критерия хи-квадрат. Статистическая значимость устанавливалась на уровне 0,05.

Результаты

В исследовании были проанализированы мутации резистентности к препаратам первой линии терапии (ганцикловир, валганцикловир) у 120 пациентов, из них у 15 (12,5%) – к препаратам второй линии (фоскарнет, цидофовир). Из 120 пациентов у 27 были выявлены мутации резистентности ЦМВ: в *pUL97* – у 26, в *pUL54* – 4, у трех – отмечались сочетанные мутации. Подробные данные представлены в Таблице 1.

При анализе гена *UL97* ($n = 120$), кодирующего вирусную фосфотрансферазу *pUL97*, были обнаружены мутации и их комбинации, ассоциированные с устойчивостью к ганцикловиру. Среди них наиболее часто встречались замена аланина на валин в положении 594 белковой цепи *pUL97* (A594V, $n = 8$) и замена лейцина на серин в положении 595 белковой цепи *pUL97* (L595S, $n = 6$). Реже регистрировались следующие мутации: H520Q ($n = 2$), A591V ($n = 1$), C592G ($n = 1$), C592S ($n = 1$), C607F ($n = 1$), C607Y ($n = 1$), C603W ($n = 1$), а также их сочетания: A594V/H520Q ($n = 2$), L595F/C592G ($n = 1$) и L595S/M460V ($n = 1$). При анализе гена *UL54* ($n = 15$), кодирующего ДНК-полимеразу вируса *pUL54*, у 4 пациентов были выявлены мутации, приводящие к резистентности: N408D ($n = 1$), V715H ($n = 1$), V781I/K513R ($n = 1$) и L773V ($n = 1$). У пациентов с резистентными штаммами ЦМВ наиболее частыми являлись мутации A594V и L595S протеинкиназы *pUL97*, что составило 37% и 26% соответственно. Медиана времени от начала противовирусной терапии до выявления мутаций резистентности составила 108 дней (11–306 дней). Для установления зависимости между диагнозами пациентов и частотой выявления мутаций ЦМВ было выделено 4 подгруппы: острые лимфобластные лейкозы и лимфопролиферативные заболевания ($n = 47$), острые миелоидные лейкозы и миелодиспластические синдромы ($n = 20$), первичные иммунодефициты ($n = 29$) и незлокачественные гематологические заболевания ($n = 19$). Частота выявления мутаций резистентности ЦМВ в данных группах пациентов составила 17%, 15%, 28% и 47% соответственно, статистически значимой ассоциации выявлено не было ($p = 0,058$) (Рисунок 1).

При анализе динамики вирусной нагрузки ЦМВ было установлено, что у пациентов с мутациями резистентности регистрировались статистически значимые более высокие значения пиковой вирусной нагрузки ($p = 0,005$) и более длительная персистенция вируса в крови ($p = 0,001$) (Рисунки 2 и 3).

У пациентов с резистентными штаммами ЦМВ примечательным фактом явилась более высокая частота инвазивных грибковых инфекций, вызванных грибами рода *Candida*, *Aspergillus* и *Mucor*, в сравнении с группой пациентов без мутаций (57% против 23%, $p < 0,001$) (Рисунок 4).

Таблица 1. Характеристики пациентов с выявленными мутациями резистентности ЦМВ

№ пациента	Возраст	Диагноз	Проведение ТГСК	Пиковая вирусная нагрузка, копий/мл	Мутация / локус	Исход
1	14 лет	ПИД	+	13100	C592S pUL97 / кровь	жив
2	7 лет	ОЛЛ	+	58100	C607F pUL97 / кровь	умер
3	6 лет	ОЛЛ	+	2670000	H520Q pUL97 / СМЖ	жив
4	13 лет	ОЛЛ	+	50900	L595S pUL97 / кровь	жив
5	7 мес.	ОМЛ	+	34700	A594V pUL97 / кровь	жив
6	8 лет	ОЛЛ	+	25400	A594V pUL97 / кровь	жив
7	4 года	ПИД	+	11700	C603W pUL97 / кровь	жив
8	1 год	ПИД	+	464000	A594V pUL97, H520Q pUL97 / кровь	жив
9	16 лет	ЛХ	+	383000 2122857	L595S pUL97, V715M pUL54 / кровь L595S pUL97, V781I pUL54, K513R pUL54 / ВГЖ	умер
10	13 лет	АА	+	9680 36600	A594V pUL97 / кровь H520Q pUL97 / КМ	умер
11	2 года	ПИД	+	56500 161647	L595S pUL97 / кровь 715H pUL54 / ВГЖ	жив
12	5 лет	АА	+	81600	A594V pUL97 / кровь	жив
13	7 лет	АА	+	8420 7490	L595S pUL97 / кровь M460V pUL97 / моча	жив
14	12 лет	АА	+	17600	A594V pUL97 / кровь	умер
15	17 лет	АА	+	9420	A594V pUL97 / кровь	умер
16	14 лет	МДС	+	22000 2610000	L595S pUL97 / кровь L595S pUL97 / БАЛ	умер
17	12 лет	МДС	+	100000	L773V pUL54 / кровь	жив
18	5 лет	АА	+	6040000	H520Q pUL97 / кровь	умер
19	10 лет	ПИД	+	15500	C592G pUL97 / кровь	жив
20	17 лет	АА	+	12300	A594V pUL97 / кровь	жив
21	4 года	ПИД	+	14100	C607Y pUL97 / кровь	жив
22	3 мес.	ПИД	+	4750	A591V pUL97 / кровь	умер
23	7 мес.	ПИД	-	5150 4550 103000	L595F pUL97 / кровь L595F pUL97 / БАЛ C592G pUL97 / СМЖ	умер
24	14 лет	АА	+	175000	L595S pUL97, N408D pUL54 / кровь	умер
25	18 лет	АА	+	28150	L595S pUL97 / СМЖ	умер
26	10 лет	ОЛЛ	+	6900	A594V pUL97 / кровь	жив
27	4 года	ПИД	+	29000 222000	A594V pUL97 / кровь A594V pUL97 / БАЛ	жив

ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз; ОМЛ – острый миелоидный лейкоз; ПИД – первичный иммунодефицит; АА – апластическая анемия; МДС – миелодиспластический синдром; ЛХ – лимфома Ходжкина; СМЖ – спинномозговая жидкость; БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж; ВГЖ – внутриглазная жидкость; КМ – костный мозг.

Общая выживаемость пациентов с наличием мутаций резистентности ЦМВ к противовирусной терапии составила 60% и была ниже, чем у пациентов без мутаций резистентности – 79% ($p = 0,074$) (Рисунок 5).

Обсуждение

Полученные результаты демонстрируют высокую клиническую значимость проблемы резистентности ЦМВ к противовирусной терапии у иммунокомпрометированных педиатрических пациентов – в исследуемой популяции детей мутации вируса при резистентном течении ЦМВ-инфекции были выявлены в 22,5% эпизодов ($n = 27$). Полученные данные сопоставимы с результа-

тами международных публикаций, согласно которым отмечалось увеличение роста резистентности ЦМВ к противовирусной терапии с достижением частоты резистентности 30% в популяции пациентов с устойчивым течением ЦМВ-инфекции. К наиболее уязвимой категории иммунокомпрометированных пациентов относились реципиенты ТГСК [18–20].

Важно подчеркнуть, что большинство современных исследований было посвящено взрослым пациентам, в то время как педиатрическая популяция представлена в литературе крайне ограниченно. Тем не менее описаны случаи выявления устойчивых форм ЦМВ-инфекции у детей, получавших длительную терапию ганцикловиром после ТГСК [21, 22]. Другие исследования демонстри-



Рисунок 1. Доля мутаций резистентности ЦМВ у пациентов с разными группами диагнозов

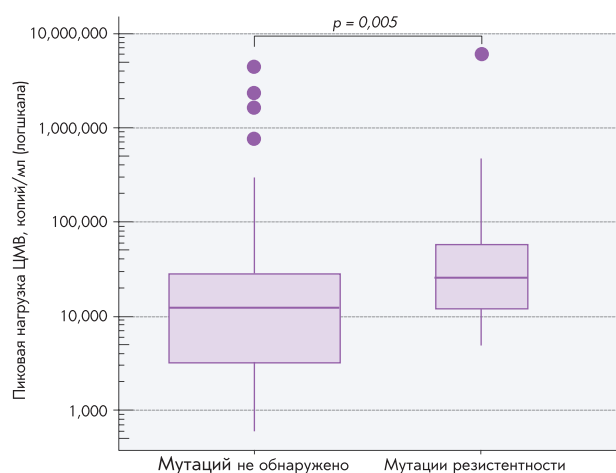


Рисунок 2. Пиковая нагрузка ЦМВ у пациентов с мутациями резистентности и без них

ровали увеличение частоты выявления мутаций в pUL97 и pUL54 у реципиентов ТГСК, в том числе у детей младшего возраста, при длительной персистенции ЦМВ в крови и плохом клиническом ответе на противовирусную терапию [23, 24].

По результатам проведенного нами исследования, в подавляющем большинстве случаев устойчивости к ганцикловиру (26 из 27) были обнаружены мутации резистентности в pUL97 ЦМВ, что согласуется с опубликованными литературными данными [25, 26]. Наиболее частыми мутациями в протеинкиназе pUL97 оказались A594V (37%) и L595S (27%), что подтвердило их ключевую роль в формировании устойчивости к ганцикловиру вследствие нарушения фосфорилирования и дальнейшей его активации [27]. Преобладающими мутациями ЦМВ как у пациентов в нашем исследовании, так и по данным других исследований, были A594V (37%) и L595S (26%) [11]. Интересно отметить, что у 3 пациентов, помимо мутаций в гене UL97, были обнаружены мутации в гене UL54, кодирующем вирусную ДНК-полимеразу, зачастую ассоциированные с устойчивостью к препара-

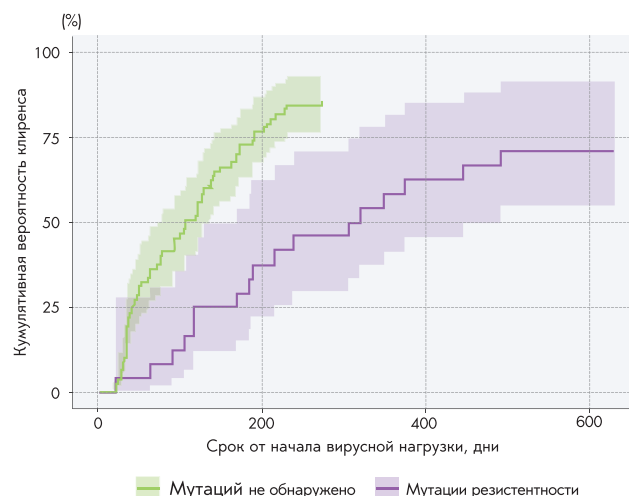


Рисунок 3. Кумулятивная вероятность клиренса ЦМВ в крови

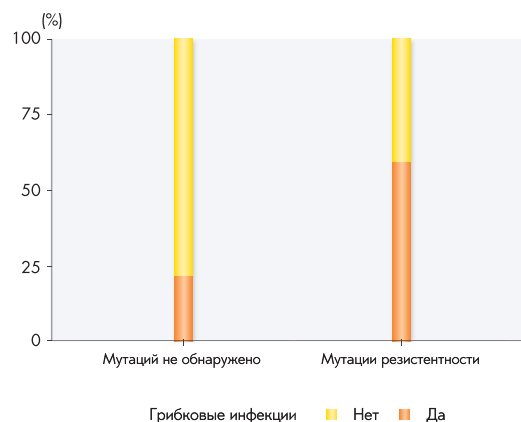


Рисунок 4. Доля выявленных грибковых инфекций у пациентов с мутациями резистентности ЦМВ и без них

там второй линии – фоскарнету и цидофовиру, что значительно ограничивает терапевтические возможности и требует индивидуального подбора терапии [28].

Анализ подгрупп пациентов выявил, что наибольшая частота мутаций наблюдалась у пациентов с незлокачественными гематологическими заболеваниями и первичными иммунодефицитами (47%), тогда как у пациентов с острыми лимфобластными лейкозами частота составила 17%. Несмотря на отсутствие статистически значимых различий ($p = 0,058$), подобная тенденция может указывать на роль длительной хронической иммуносупрессии как основного фактора риска возникновения мутаций лекарственной устойчивости ЦМВ. В исследовании Lurain N. и соавт. была продемонстрирована связь между субоптимальной вирусной супрессией и формированием устойчивости у пациентов без трансплантационного анамнеза. Авторы предположили, что помимо противовирусной активности и биодоступности противовирусных препаратов, глубина иммуносупрессии пациентов оказывала наибольшее влияние на риск возникновения лекарственной устойчивости ЦМВ [29]. Помимо

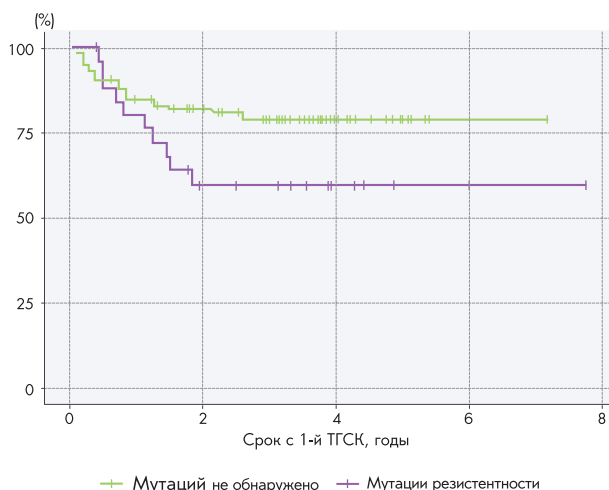


Рисунок 5. Общая выживаемость пациентов с мутациями резистентности ЦМВ и без них

реципиентов ТГСК к группе риска по развитию резистентных форм ЦМВ-инфекции относятся пациенты с ВИЧ-инфекцией, у которых также может формироваться длительная репликация вируса в различных тканях.

Возможными факторами, указывающими на наличие мутаций резистентности, явились высокая пиковая вирусная нагрузка ($p = 0,005$) и длительная персистенция ЦМВ в крови ($p < 0,001$), что указывало на недостаточную эффективность терапии. Помимо ЦМВ-инфекции, у пациентов с мутациями резистентности ЦМВ отмечалась более высокая частота развития инвазивных грибковых инфекций, что наиболее вероятно было связано с необходимостью проведения длительной иммуносупрессивной терапии, прямым цитотоксическим вирусным повреждением тканей и влиянием на формирование противовирусного иммунного ответа [30].

Кроме того, в нашем исследовании была продемонстрирована более низкая общая выживаемость у па-

циентов с мутациями резистентности ($p = 0,074$), что согласуется с результатами исследования Emery V. и соавт., в котором была выявлена корреляция между длительной ЦМВ-виремией и повышенной летальностью реципиентов ТГСК [31]. Полученные результаты подчеркивают клиническую значимость резистентности ЦМВ и ее влияния на прогноз заболевания.

В работе Asquier M. и соавт. интервал до выявления мутаций резистентности ЦМВ составил 6–8 нед. от начала терапии ганцикловиром [32], что отмечено и в нашем исследовании, где сроки развития резистентности составили 4–16 нед. Полученные данные подчеркивают важность проведения своевременного молекулярного мониторинга и, при необходимости, смены противовирусной терапии у пациентов с персистирующей вирусной нагрузкой ЦМВ.

Таким образом, резистентность ЦМВ является существенной проблемой в клинической практике. Выявленные в исследовании ассоциации наличия мутаций ЦМВ, тяжести течения ЦМВ-инфекции и общей выживаемости пациентов подтвердили необходимость персонализированного подхода, основанного на проведении молекулярной диагностики резистентности ЦМВ и необходимости модификации противовирусной терапии, в первую очередь у пациентов с высоким риском развития резистентности ЦМВ (реципиентов ТГСК, пациентов с первичными иммунодефицитами и незлокачественными гематологическими заболеваниями).

На примере пациента 2009 г. р. с диагнозом ОЛЛ продемонстрировано использование разработанной нами информационной программы. На фрагменте интерфейса графически отображены такие данные программы, как динамика вирусной нагрузки ЦМВ, даты проведения ТГСК, назначенная противовирусная терапия, данные генотипирования вируса, результаты серологических исследований и тестов на специфический Т-клеточный иммунный ответ к ЦМВ, а также наличие у пациента грибковой инфекции (Рисунок 6).

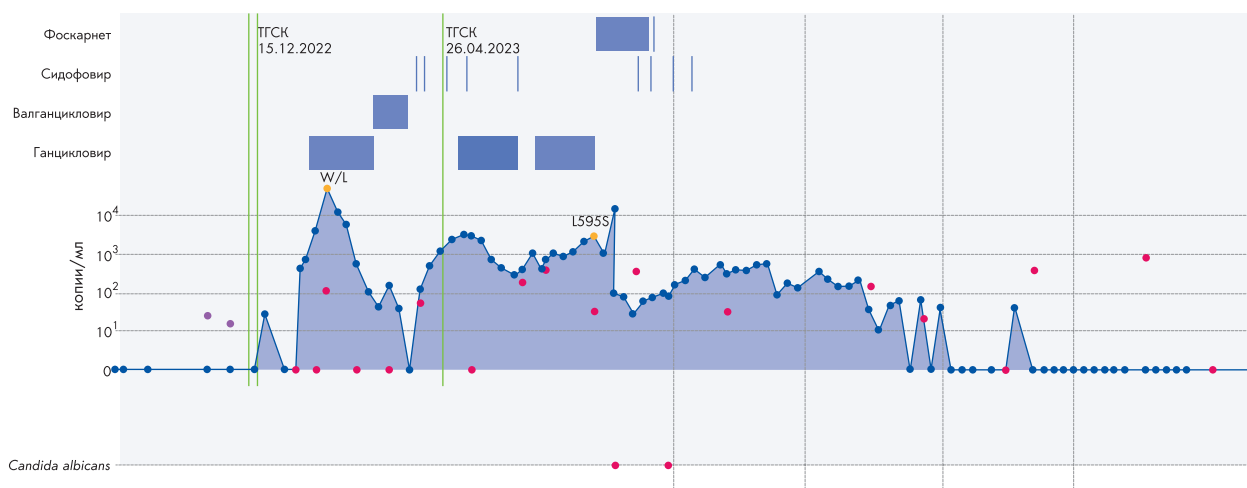


Рисунок 6. Фрагмент интерфейса информационной программы

Сиреневыми точками на графике отмечены результаты серологических исследований на антитела к ЦМВ, красными — показатели специфического Т-клеточного иммунитета к ЦМВ у пациента

Литература

1. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV. Available at: <https://ictv.global/>. Accessed July 2025.
2. Dubonosova E.Yu., Namazova-Baranova L.S., Vishneva E.A., Mayanskiy N.A., Kulichenko T.V., Soloshenko M.A. Cytomegalovirus infection in adolescents of Russian federation: results of cross-sectional population analysis of seroprevalence. *Pediatric pharmacology*. 2021;18(6):451-459. Russian. (Дубоносова Е.Ю., Намазова-Баранова Л.С., Вишнева Е.А., Маянский Н.А., Куличенко Т.В., Солошенко М.А. Распространенность цитомегаловирусной инфекции среди подростков в Российской Федерации: результаты одномоментного популяционного анализа серопревалентности. *Педиатрическая фармакология*. 2021;18(6):451-459.) DOI: 10.15690/pf.v18i6.2297
3. Ljungman P., Hakki M., Boeckh M. Cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2011;25(1):151-169. DOI: 10.1016/j.hoc.2010.11.011
4. Teira P., Battiwalla M., Ramanathan M., Barrett A.J., Ahn K.W., Chen M., et al. Early cytomegalovirus reactivation remains associated with increased transplant-related mortality in the current era: a CIBMTR analysis. *Blood*. 2016;127(20):2427-2438. DOI: 10.1182/blood-2015-11-679639
5. Anderson-Smiths C., Baker E.R., Hirji I. Coinfection rates and clinical outcome data for cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in post-transplant patients: a systematic review of the literature. *Transpl Infect Dis*. 2020;22(6):e13396. DOI: 10.1111/tid.13396
6. Grigoleit G.U., Kapp M., Einsele H. Indirect effects of cytomegalovirus infection. *Infect Immun*. 2009;3(1):41-44. DOI: 10.17925/EOH.2009.03.1.41
7. Cho S.Y., Lee D.G., Kim H.J. Cytomegalovirus infections after hematopoietic stem cell transplantation: current status and future immunotherapy. *Int J Mol Sci*. 2019;30;20(11):2666. DOI: 10.3390/ijms20112666
8. Vere Hodge R.A. Meeting report: 29th International Conference on Antiviral Research in La Jolla, CA, USA. *Antiviral Res*. 2017;137:23-40. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.10.014
9. Boeckh M., Leisenring W., Riddell S.R., Bowden R.A., Huang M.L., Myerson D., et al. Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity. *Blood*. 2003;101:407-414. DOI: 10.1182/blood-2002-03-0993
10. Boeckh M., Nichols W.G., Chemaly R.F., Papanicolaou G.A., Wingard J.R., Xie H., et al. Valganciclovir for the prevention of complications of late cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2015;162(1):1-10. DOI: 10.7326/M13-2729
11. 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;185:162-169. DOI: 10.1086/338362
12. 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):4160-4162. DOI: 10.1128/AAC.00736-07
13. Andrei G., Van Loon E., Lerut E., Victoor J., Meijers B., Bammens B., et al. Persistent primary cytomegalovirus infection in a kidney transplant recipient: multi-drug resistant and compartmentalized infection leading to graft loss. *Antiviral Res*. 2019;168:203-209. DOI: 10.1016/j.antiviral.2019.06.004
14. Hage E., Wilkie G.S., Linnenweber-Held S., Dhingra A., Suarez N.M., Schmidt J.J., et al. Characterization of human cytomegalovirus genome diversity in immunocompromised hosts by whole-genome sequencing directly from clinical specimens. *J Infect Dis*. 2019;215:1673-1683. DOI: 10.1093/infdis/jix157
15. 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 himioterapiya*. 2022;24(1):47-51. Russian. (Кожушная О.С., Солопова Г.Г., Маркелов М.И., Орил А.Р., Балашов Д.Н., Шелихова Л.Н. и соавт. 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.) DOI: 10.36488/смач.2022.1.47-51
16. Lurain N.S., Bhorade S.M., Pursell K.J., Avery R.K., Yeldandi V.V., Isada C.M., et al. Analysis and characterization of antiviral drug-resistant cytomegalovirus isolates from solid organ transplant recipients. *J Infect Dis*. 2002;186(6):760-768. DOI: 10.1086/342844
17. Chevillotte M., von Einem J., Meier B.M., Lin F.M., Kestler H.A., Mertens T. A new tool linking human cytomegalovirus drug resistance mutations to resistance phenotypes. *Antiviral Res*. 2010;85(2):318-327. DOI: 10.1016/j.antiviral.2009.10.004
18. Yu U., Wang X., Zhang X., Wang C., Yang C., Zhou X., et al. Cytomegalovirus Infection and the implications of drug-resistant mutations in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: a retrospective study from a tertiary hospital in China. *Infect Dis Ther*. 2021;10(3):1309-1322. DOI: 10.1007/s40121-021-00452-4
19. Kleiboeker S.B. Prevalence of cytomegalovirus antiviral drug resistance in transplant recipients. *Antiviral Res*. 2023;215:105623. DOI: 10.1016/j.antiviral.2023.105623
20. Aguado J.M., Navarro D., Montoto C., Yébenes M., de Castro-Orós I. Incidence of refractory CMV infection with or without antiviral resistance in Spain: a systematic literature review. *Transplant Rev (Orlando)*. 2024;38(1):100804. DOI: 10.1016/j.tre.2023.100804

21. Kim Y.J., Boeckh M., Cook L., Stempel H., Jerome K.R., Boucek R. Jr., et al. Cytomegalovirus infection and ganciclovir resistance caused by UL97 mutations in pediatric transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2012;14(6):611-617. DOI: 10.1111/j.1399-3062.2012.00760.x
22. Hume J., Sweeney E.L., Lowry K., Fraser C., Clark J.E., Whitley D.M., et al. Cytomegalovirus in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a diagnostic and therapeutic approach to antiviral resistance. *Front Pediatr.* 2023;11:1180392. DOI: 10.3389/fped.2023.1180392
23. Choi S.H., Hwang J.Y., Park K.S., Kim Y., Lee S.H., et al. The impact of drug-resistant cytomegalovirus in pediatric allogeneic hematopoietic cell transplant recipients: a prospective monitoring of UL97 and UL54 gene mutations. *Transpl Infect Dis.* 2014;16(6):919-929. DOI: 10.1111/tid.12311
24. Torii Y., Horiba K., Kawada J., Kazunori H., Makoto Y., Takako S., et al. Detection of antiviral drug resistance in patients with congenital cytomegalovirus infection using long-read sequencing: a retrospective observational study. *BMC Infect Dis.* 2022;22:568. DOI: 10.1186/s12879-022-07537-6
25. Recio V., González I., Tarragó D. Cytomegalovirus drug resistance mutations in transplant recipients with suspected resistance. *Virol J.* 2023;20(1):153. DOI: 10.1186/s12985-023-02127-7
26. Wolf D.G., Smith I.L., Lee D.J., Freeman W.R., Flores-Aguilar M., Spector S.A. Mutations in human cytomegalovirus UL97 gene confer clinical resistance to ganciclovir and can be detected directly in patient plasma. *J Clin Invest.* 1995;95(1):257-263. DOI: 10.1172/JCI117648
27. Erice A. Resistance of human cytomegalovirus to antiviral drugs. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(2):286-297. DOI: 10.1128/CMR.12.2.286
28. Chou S. Opposite effects of cytomegalovirus UL54 exonuclease domain mutations on acyclovir and cidofovir susceptibility. *Antiviral Res.* 2021;195:105181. DOI: 10.1016/j.antiviral.2021.105181
29. Lurain N.S., Chou S. Antiviral drug resistance of human cytomegalovirus. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(4):689-712. DOI: 10.1128/CMR.00009-10
30. Sandkovsky U., Qiu F., Kalil A.C., Florescu A., Wilson N., Manning C., et al. Risk Factors for the development of cytomegalovirus resistance in solid organ transplantation: a retrospective case-control study. *Transplant Proc.* 2018;50(10):3763-3768. DOI: 10.1016/j.transproceed.2018.08.009
31. Emery V.C., Sabin C.A., Cope A.V., Gor D., Hassan-Walker A.F., Griffiths P.D. Application of viral-load kinetics to identify patients who develop cytomegalovirus disease after transplantation. *Lancet.* 2000;355(9220):2032-2036. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02350-3
32. Acquier M., Taton B., Alain S., Garrigue I., Mary J., Pfirmann P., et al. Cytomegalovirus DNAemia requiring (val)ganciclovir treatment for more than 8 weeks is a key factor in the development of antiviral drug resistance. *Open Forum Infect Dis.* 2023;10(2):ofad018. DOI: 10.1093/ofid/ofad018