

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

www.iacmac.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

Подписные индексы

По каталогу «Журналы России» на 2019 г. агентства «Роспечать»:

82125 – для индивидуальных подписчиков;

82126 – для организаций.

Подписка на сайте издателя

<https://service.iacmac.ru>

Адрес для корреспонденции

214019, г. Смоленск, а/я 5.
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:
cmac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:
www.cmac-journal.ru

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

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2019.

Содержание

Болезни и возбудители

- Макинтош Д.
253 Разработка вакцин против гонореи, сифилиса, хламидиоза, вируса простого герпеса, вируса иммунодефицита человека и вируса Зика
Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Кутузова А.В., Аксенова Е.И., Карпова Т.И., Тартаковский И.С., Ющук Н.Д., Климова Е.А., Кареткина Г.Н., Чемерис О.Ю., Груздева О.А., Мелкумян А.Р., Орлова О.Е., Бурмистрова Е.Н.
261 Листерия: генотипирование как ключ к выявлению возможного источника заражения
Муравьев А.А., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В., Куркова А.А., Цветкова И.А., Козлов Р.С. и исследовательская группа «SPECTRUM»
275 Эпидемиология серотипов *S. pneumoniae*, выделенных у лиц старше 18 лет: здоровых носителей, пациентов с острым средним отитом, внебольничной пневмонией и инвазивной пневмококковой инфекцией (исследование «SPECTRUM»)

Антимикробные препараты

- Елисеева Е.В., Азизов И.С., Зубарева Н.А.
282 Обзор международных согласительных рекомендаций по оптимальному использованию полимиксинов
Козлов Р.С., Голуб А.В.
310 Остановить темпы роста антибиотикорезистентности микроорганизмов сегодня – дать шанс на выживание человечества завтра

Антибиотикорезистентность

- Иванчик Н.В., Сухорукова М.В., Чагарян А.Н., Дехнич А.В., Козлов Р.С., Архипенко М.В., Беккер Г.Г., Гудкова Л.В., Ершова М.Г., Жолобова А.Ф., Зубарева Н.А., Исакова Л.М., Кречикова О.И., Морозова О.А., Москвитина Е.Н., Петрова Т.А., Сивая О.В., Чернявская Ю.Л.
317 Антибиотикорезистентность клинических штаммов *Haemophilus influenzae* в России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «ПеГАС 2014–2017»
Веселов А.В.
324 Резистентность *Candida glabrata* к эхинокандинам: некоторые аспекты проблемы
Зубарева Л.М., Эйдельштейн И.А., Руднева Н.С., Романов А.В., Власова Т.А., Лавриненкова Ю.В., Суханова Л.Н., Ахмедова А.М., Кузьменков А.Ю., Трушин И.В., Евстафьев В.В.
330 Распространенность ассоциированных с устойчивостью к макролидам мутаций у *Mycoplasma genitalium* среди пациентов с негонококковыми инфекциями, передающимися половым путем, в Смоленске и Туле

Опыт работы

- Шагинян И.А., Аветисян Л.Р., Чернуха М.Ю., Сиянова Е.А., Бурмистров Е.М., Воронкова А.Ю., Кондратьева Е.И., Чучалин А.Г., Гинцбург А.Л.
340 Эпидемиологическая значимость молекулярной изменчивости генома изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, вызывающих хроническую инфекцию легких у больных муковисцидозом
Демин М.В., Тихомиров Д.С., Бидерман Б.В., Глинщикова О.А., Дроков М.Ю., Сударики А.Б., Туполева Т.А., Филатов Ф.П.
352 Мутации в гене UL97 цитомегаловируса, ассоциированные с устойчивостью к ганцикловиру, у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток
Кецко Ю.Л., Жестков А.В., Гусякова О.А., Лунина А.В., Лямин А.В.
359 Влияние тинкториальных свойств микроорганизма на нутритивный статус и ближайший прогноз у пациентов с синдромом системной воспалительной реакции бактериального генеза
Шамсиев Г.А., Хаммуд Ф.А., Закиров Ф.И., Попов Д.А., Лазарев Р.А., Абдуллоев О.К.
366 Случай успешного лечения инфекционного эндокардита митрального клапана, вызванного *Listeria monocytogenes*, после ранее выполненной операции на сердце

Мутации в гене UL97 цитомегаловируса, ассоциированные с устойчивостью к ганцикловиру, у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Демин М.В.¹, Тихомиров Д.С.¹, Бидерман Б.В.¹, Глинщикова О.А.¹, Дроков М.Ю.¹, Судариков А.Б.¹, Туполева Т.А.¹, Филатов Ф.П.^{2,3}

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

³ ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

Контактный адрес:

Михаил Валерьевич Демин
Эл. почта: memindisha@gmail.com

Ключевые слова: цитомегаловирус, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, мутации, резистентность, ганцикловир.

Цель. Определение мутаций в гене фосфотрансферазы цитомегаловируса (ЦМВ), ассоциированных с устойчивостью к противовирусным препаратам у пациентов с гемобластомами после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Материалы и методы. В исследование были включены 9 образцов ДНК ЦМВ, выделенных из периферической крови 8 реципиентов алло-ТГСК с ЦМВ-инфекцией, находившихся на лечении в клиниках ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России с 2016 по 2017 г. Для поиска мутаций применяли метод секвенирования по Сэнгеру. Полученную последовательность ДНК анализировали с помощью программ nucleotide BLAST и Genome compiler. Поиск мутаций осуществлялся в программе MRA. С помощью данного программного обеспечения сравнивали последовательности нуклеотидов с референсной последовательностью UL97 штамма Merlin.

Результаты. Частота детекции вирусов с мутациями в гене UL97, потенциально ведущими к устойчивости к ганцикловиру, оказалась довольно высокой – 3 случая из 8. Были обнаружены следующие ранее описанные мутации: C592G, C607F и C603W.

Выводы. Полученные данные показали, что наличие и характер мутации в гене UL97 влияет на вирусную нагрузку и длительность выявления ДНК ЦМВ в крови реципиентов. Обнаруженные мутации различались по фактору устойчивости, что также оказывало влияние на течение инфекции.

Original Article

Mutations in the cytomegalovirus UL97 gene associated with ganciclovir resistance in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants

Demin M.V.¹, Tikhomirov D.S.¹, Biderman B.V.¹, Glinshchikova O.A.¹, Drovkov M.Yu.¹, Sudarikov A.B.¹, Tupoleva T.A.¹, Filatov F.P.^{2,3}

¹ National Medical Research Center of Hematology, Moscow, Russia

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

³ N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Contacts:

Mikhail V. Demin
E-mail: memindisha@gmail.com

Key words: cytomegalovirus, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, mutation, antiviral resistance, ganciclovir.

Objective. To identify mutations in UL97 gene associated with antiviral drug resistance in recipients of allogeneic hematopoietic stem cells transplants (allo-HSCT).

Materials and methods. A total of 9 HCMV DNA samples were studied. These samples were received from the blood of 8 allo-HSCT recipients who were infected with HCMV and undergoing treatment at NMRC of Hematology (Russia) over the period of 2016 to 2017. Sanger sequencing was used to find mutations. The sequenced part of the virus DNA was analyzed using nucleotide BLAST and Genome compiler. Mutations were identified using MRA program which compared the obtained nucleotide sequence with the reference sequence of UL97 gene from Merlin strain.

Results. Rate of detection of viruses with mutations that may lead to drug resistance is relatively high – 3 of 8 patients. The following mutations were identified: C592G, C607F and C603W. The obtained data shows that the presence and characteristics of mutations affect the viral load and the time when HCMV DNA is identified in blood.

Conclusions. Obtained data show that presence of mutations impacts the course infection, leading to higher viral load and longer persistence of viral DNA in blood samples. Identified mutations had different resistance factor, which also impacted on the pattern of infection.

Инфекция, вызванная цитомегаловирусом (ЦМВ), является серьезной проблемой для больных с ослабленным иммунитетом, среди которых ВИЧ-инфицированные в стадии СПИДа [1], больные с опухолевыми заболеваниями, угнетением кроветворения, а также реципиенты органов и тканей. Поскольку вирус способен поражать практически любые ядродержащие клетки и, следовательно, любые органы и системы организма, он может вызывать трудно купируемые инфекционные осложнения на фоне лечения основного заболевания. В ходе естественного мутационного процесса, а также при проведении длительной специфической противовирусной терапии вирус может приобрести устойчивость к противовирусным препаратам, что не только осложняет течение инфекции, но и требует коррекции терапевтической тактики.

Число анти-ЦМВ препаратов прямого действия невелико: ганцикловир [2] и его производные, цидофовир и фоскарнет. Противовирусное действие этих препаратов основано на ингибировании вирусной ДНК-полимеразы, что в свою очередь прекращает вирусную репликацию [3]. Несмотря на доказанную клиническую эффективность, эти препараты имеют свои ограничения: низкая биодоступность при приеме внутрь, формирование резистентности в ходе лечения и относительно высокая токсичность [4]. Для клинического применения в России зарегистрирован только ганцикловир, представляющий собой аномальный нуклеозид и его производные. Аномальные нуклеозиды аналогичны гуанозину и гомологичны ацикловиру – препарату для терапии инфекции, вызванной вирусом простого герпеса и вирусом ветряной оспы [4]. Фосфорилированный ганцикловир (ганцикловир трифосфат) является аналогом дезоксигуанозина, который накапливается в инфицированной клетке и встраивается в растущую цепь реплицирующейся вирусной ДНК, после чего становится невозможным присоединение следующего нуклеотида, что приводит к ингибированию вирусной репликации [5]. Биодоступность ганцикловира крайне низкая и составляет 5,6%. Гораздо большей биодоступностью (60%) обладает его валиновый эфир – валганцикловир, что позволяет применять более низкие (по действующему веществу) дозы препарата. Валганцикловир является препаратом выбора для профилактики и терапии ЦМВ-инфекции у пациентов после трансплантации органов и тканей [6]. Однако длительное применение ганцикловира или валганцикловира, а также их применение в субоптимальных дозах [7] может привести к появлению штаммов ЦМВ, устойчивых к этим препаратам, что в свою очередь является причиной более агрессивного течения инфекции и увеличения количества летальных исходов.

Молекулярным механизмом формирования устойчивости к противовирусным препаратам является возникновение мутаций в генах, кодирующих вирусную фосфотрансферазу (UL97) и ДНК-полимеразу (UL54) [8]. В случае длительной противовирусной терапии может произойти отбор штамма с несколькими мутациями, обеспечивающими устойчивость. Различные мутации обладают разным фактором устойчивости, который вычисляется как отношение половины максимальной концентрации

противовирусного препарата ($ИК_{50}$), ингибирующей репликацию мутантного штамма к половине концентрации, ингибирующей репликацию чувствительного штамма «дикого типа», т.е. $ИК_{50 \text{ мутанта}}/ИК_{50 \text{ дикого типа}}$ [3]. Наличие мутаций, потенциально приводящих к устойчивости вируса, может быть доказано с помощью генотипирования [9].

Большинство случаев возникновения устойчивых штаммов ЦМВ относятся к мутациям в гене UL97, кодирующем фосфотрансферазу. Мутации, вызывающие устойчивость к фоскарнету и цидофовиру, локализируются в гене вирусной ДНК-полимеразы UL54 [10], однако эти препараты не зарегистрированы для клинического применения в России. Мутации, обуславливающие резистентность к терапии ганцикловиром и валганцикловиром, представляют собой однонуклеотидные замены или короткие (от 1 до 17 аминокислот) делеции [11], затрагивающие АТФ-связывающий регион или сайты переноса фосфата, изменяющие способность фермента к фосфорилированию действующего вещества препарата, не вызывая серьезных последствий для вирусной репликации [2]. Примерно 95% устойчивых к ганцикловиру штаммов ЦМВ содержат одну или несколько мутаций в гене UL97. Они обычно расположены в специфических кодонах – 460, 520 и 590-607 (причем в 70% случаев в кодонах 460, 594 и 595) [9]. Мутации в кодонах 460 и 520 расположены в консервативных киназных доменах и с большей вероятностью оказывают влияние на киназную функцию белка, что объясняет небольшое их разнообразие [12]. Сегмент гена 590-607 не играет большой роли в репликации вируса, однако мутации в нём нарушают способность связывания с ганцикловиром, не изменяя естественные биологические функции региона. Именно в этом регионе наблюдается большое количество аминокислотных замен и делеций, которые приводят к устойчивости [12].

У иммунокомпрометированных пациентов (реципиенты органов и тканей, ВИЧ-инфицированные) наиболее частыми являются следующие мутации: M460I/V, C592G, A591V, A594T/V, L595F/S, C603W. Эти мутации приводят к увеличению значения $ИК_{50}$ от 5 до 16 [15]. Исключением является C592G. Вирусный штамм с данной мутацией чаще всего является результатом отбора на фоне воздействия низких концентраций ганцикловира из-за низкой биодоступности или недостаточной абсорбции препарата [7].

Целью данной работы было определение мутаций в гене фосфотрансферазы ЦМВ, ассоциированных с устойчивостью к противовирусным препаратам у пациентов с гемобластозами после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК).

Материалы и методы

В исследование были включены 9 образцов ДНК ЦМВ, выделенных из периферической крови 8 реципиентов алло-ТГСК с ЦМВ-инфекцией, находившихся на лечении в клиниках ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России с 2016 по 2017 г. Соотношение мужчин/женщин – 2:6. Медиана возраста составила 39 (диапазон 24–64) лет. Клинико-лабораторная характе-

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов после алло-ТГСК (n = 8)

Код пациента	Пол	Возраст, лет	Основной диагноз	Источник трансплантата
КЗ	Ж	45	Лимфома из клеток мантийной зоны	Неродственный, полностью совместимый донор, гемопоэтические стволовые клетки
КН	М	35	Миелодиспластический синдром	Родственный, HLA-идентичный, костномозговая взвесь
КЗМ	Ж	40	Острый миелоидный лейкоз	Родственный, HLA-идентичный донор, костномозговая взвесь
ПГ	Ж	24	Острый лимфобластный лейкоз	Неродственный, полностью совместимый донор, костномозговая взвесь
ПР	М	51	Лимфома из клеток мантийной зоны	Неродственный, полностью совместимый донор, гемопоэтические стволовые клетки
ФС	Ж	64	Острый миелоидный лейкоз	Неродственный, частично совместимый донор, гемопоэтические стволовые клетки
ПД	Ж	37	Острый лимфобластный лейкоз	Неродственный, полностью совместимый донор, гемопоэтические стволовые клетки
ПЛ	Ж	38	Синдром Сезари	Неродственный донор, костномозговая взвесь

Таблица 2. Характеристика образцов ДНК ЦМВ, выделенной из крови пациентов после алло-ТГСК

Код пациента	Концентрация ДНК ЦМВ, ГЭ*	Продолжительность выявления ДНК ЦМВ (или признаков ЦМВ-инфекции), дней	Количество дней до выявления ДНК ЦМВ после алло-ТГСК
КЗ	1070	306	13
КН	$1,7 \times 10^4$	73	46
КЗМ	750	18	23
ПГ	$9,2 \times 10^3$	77	31
ПР	$6,8 \times 10^5$	363	32
ФС	$2,6 \times 10^4$	383	830
ПД	$1,16 \times 10^4$	173	7
ПЛ	$9,4 \times 10^4$	72	103

* ГЭ – копий геном-эквивалент вирусной ДНК на 10000 ядродержащих клеток периферической крови.

ристикой пациентов представлена в Таблице 1. Наличие ЦМВ и вирусная нагрузка в крови определялись с помощью набора «АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» (ИнтерЛабСервис, Россия).

Все включенные в исследование образцы были получены от пациентов с лабораторными признаками резистентной формы ЦМВ-инфекции согласно следующим критериям (наличие более одного из условий):

1. Более 1 месяца положительных результатов определения ДНК ЦМВ (при условии регулярного мониторинга не реже 1 раза в 2 недели).
2. Вирусная нагрузка в образцах $>10^4$ копий геном-эквивалент (ГЭ) на 10^5 ядродержащих клеток или на 1 мл образца.
3. Раннее выявление (первые 30 дней) ДНК ЦМВ после алло-ТГСК.

Характеристика исследованных образцов представлена в Таблице 2. У одного пациента в исследование было включено 2 образца, поскольку оба образца отвечали указанным выше критериям.

Для поиска мутаций применяли метод секвенирования по Сэнгеру по стандартной методике согласно инструкции производителя (Thermo Fisher Scientific, США), для чего с помощью nested-ПЦР были получены ампликоны, содержащие вирусную нуклеотидную по-

следовательность, соответствующую гену UL97. Были использованы пары праймеров, комплементарные консервативным участкам гена. Последовательности праймеров указаны в Таблице 3 [13].

После изучения карты белка, закодированного в гене UL97, подбирали праймеры, позволяющие секве-

Таблица 3. Праймеры, использованные для получения ампликонов с последовательностью гена UL97

Праймер	Последовательность (5'– 3')
F1	CGACGCCGTCTAACAGGTAT
R1	CTCATCGTCGTCGTAGTCCA
F2	TCACGCCTCTGTTTCAGATTTT
R2	CGGTGGGTTTGTACCTTCTC

Таблица 4. Праймеры, использованные для секвенирования при определении мутаций резистентности ЦМВ к противовирусным препаратам

Ген	Праймер	Последовательность (5'– 3')
UL97	UL97-E	R: AAAAGCCCAGCACGTTACC
	UL97-F	F: CTACGGCGTTATTGCATGT

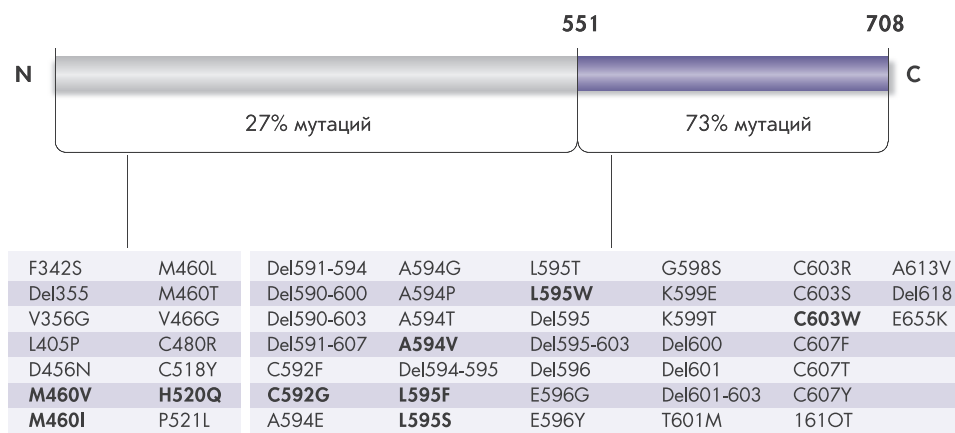


Рисунок 1. Схема белка UL97

Темной полосой с позиции 551 до 708 отмечен участок, который был секвенирован в рамках исследования; внизу перечислены известные мутации, жирным шрифтом отмечены наиболее часто встречающиеся.

нировать фрагмент (Таблица 4), который находится в участке гена, где наблюдается наибольшая плотность приводящих к возникновению резистентности мутаций (Рисунок 1).

Полученную последовательность ДНК анализировали с помощью программ nucleotide BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) и Genome compiler (<https://designer.genomecompiler.com>). Поиск мутаций осуществлялся в программе MRA (<http://www.informatik.uni-ulm.de/ni/mitarbeiter/HKestler/mra/app/index.php?plugin=form>). С помощью данного программного обеспечения сравнивали последовательности нуклеотидов с референсной последовательностью UL97 штамма Merlin (GenBank № AY446894.2).

Результаты

У всех включенных в исследование пациентов до трансплантации в крови были выявлены анamnестические анти-ЦМВ IgG, что указывало на факт инфицирования вирусом еще до алло-ТГСК. Другими словами, ни в одном случае не было зафиксировано первичной ЦМВ-инфекции. Мутации были обнаружены в 4 образцах (Рисунок 2).

Образцы, принадлежащие одному пациенту (ФС), были собраны с разницей в несколько месяцев. При этом мутации, обнаруженные в этих образцах, различались (С592G и С603W соответственно). Была оценена вирусная нагрузка и продолжительность выявления ДНК ЦМВ у пациентов. Данные представлены на Рисунках 3 и 4.

Вирусная нагрузка в крови была статистически значимо выше у пациентов, у которых из крови выделена вирусная ДНК, содержащая мутацию в изучаемом регионе гена. Также было отмечено, что у пациентов с мутантным штаммом ЦМВ вирусная ДНК выявляется в крови на более поздних сроках после алло-ТГСК.

У пациентов, в крови которых выявлен вирус с мута-

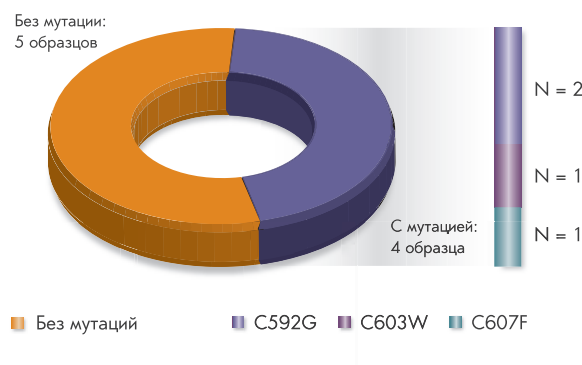


Рисунок 2. Мутации, выявленные у пациентов после алло-ТГСК

Всего мутации были обнаружены в 4 из 9 образцов, т.е. у 3 из 8 пациентов (2 образца принадлежали одному пациенту).

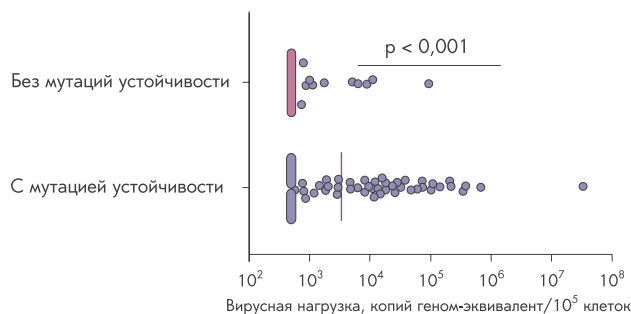


Рисунок 3. Вирусная нагрузка у пациентов-носителей ЦМВ с мутациями устойчивости к ганцикловиру и без них

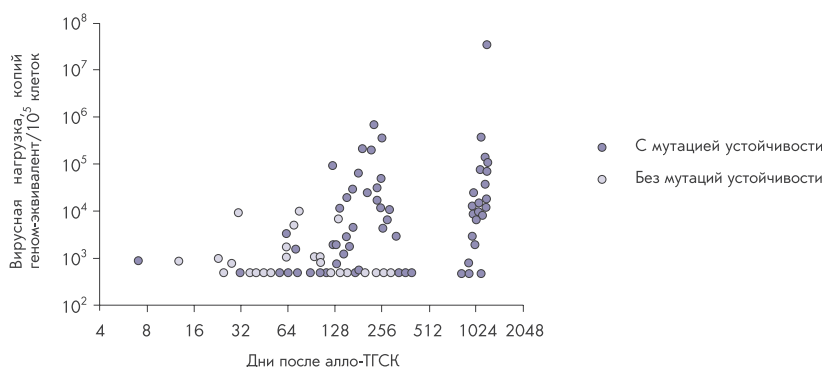


Рисунок 4. Длительность выявления и концентрация вирусной ДНК у пациентов-носителей ЦМВ с мутациями, ассоциированными с устойчивостью к ганцикловиру и без них, после алло-ТГСК

циями устойчивости, более длительно наблюдается выявление ДНК ЦМВ в крови, при этом вирусная нагрузка в большинстве случаев оказывается в области высоких значений.

Обсуждение

Спектр противовирусных препаратов прямого действия для подавления репликации ЦМВ крайне ограничен и в России представлен лишь несколькими наименованиями. Это сильно ограничивает возможности терапевтической тактики при возникновении устойчивости к противовирусной терапии, особенно у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Уникальность данной популяции пациентов состоит в том числе и в том, что в раннем посттрансплантационном периоде в организме одновременно функционируют две иммунные системы – донора и пациента (реципиента). Сложные взаимодействия между вирусом и двумя иммунными системами могут способствовать отбору штаммов с мутациями резистентности. У всех пациентов, подвергшихся алло-ТГСК, до трансплантации в крови были выявлены анамнестические анти-ЦМВ IgG, что указывало на факт инфицирования вирусом еще до операции. Таким образом, ни в одном случае не было зафиксировано первичной ЦМВ-инфекции. Появление в организме реципиента устойчивого штамма возможно несколькими путями. В первую очередь, это возникновение мутаций в ходе естественной вирусной эволюции. Кроме того, попадание такого штамма возможно в результате реинфекции при трансплантации от донора-носителя, что крайне маловероятно, поскольку большая часть доноров перед заготовкой трансплантата исследуются на наличие в крови ДНК ЦМВ. Также отбору штаммов с мутациями резистентности может способствовать длительная терапия ганцикловиrom в субоптимальных дозах, что является наиболее вероятным сценарием в данном случае.

Все 3 вида обнаруженных мутаций располагались в нефункциональном регионе белка, участвующего в репликации вирусного генома. Согласно литературным данным, возникновение мутаций в этом регионе ведет к нарушению узнавания ганцикловира как субстрата, но не приводит к нарушению жизненного цикла

вируса. Разные мутации обладают разным потенциалом. Так, C592G и C607F в литературе обозначаются как мутации, обладающие низким потенциалом развития устойчивости. В то же время C603W обладает высоким потенциалом и с большей вероятностью может приводить к возникновению устойчивости ЦМВ к противовирусным препаратам. У пациента ПД выявлена мутация C607F с низким фактором устойчивости, равным 1,9. Медиана концентрации вирусной ДНК составила 500 копий геном-эквивалент на 10^5 ядросодержащих клеток крови, что считается низкой вирусной нагрузкой. В образцах ДНК, выделенной из крови пациента ПР, обнаружена мутация C592G (фактор устойчивости 2,9), вирусная нагрузка достигала более высоких значений (превышала 10^5 ГЭ) на фоне массивной противовирусной терапии. У пациента ФС были исследованы образцы, собранные в разное время – в 2016 г. и в 2017 г., при этом в них выявлены разные мутации (C592G и C603W, фактор устойчивости 2,9 и 8 соответственно), что говорит о смене штамма вируса, формирующего основную вирусную нагрузку. Согласно данным литературы, при низкой (субоптимальной) концентрации действующего вещества может наблюдаться отбор мутантных штаммов ЦМВ, что, вероятно, и произошло в наблюдаемом случае.

Учитывая, что мутации даже с низким потенциалом развития устойчивости следует считать клинически важными, становится очевидным, что своевременное обнаружение мутации в геноме вируса может влиять на характер течения ЦМВ-инфекции и, следовательно, на решение врача при выборе противовирусного препарата и его дозы. Мутации в гене UL97 приводят к резистентности только к ганцикловиру и его аналогам, но не к другим препаратам. Исследователи из Техасского университета разработали алгоритм лечения инфекции, вызванной устойчивым штаммом ЦМВ, согласно которому, если пациент не отвечает на противовирусную терапию, проводится генотипирование и определение наличия мутации. В случае обнаружения мутации, в зависимости от ее характера либо увеличивается доза ганцикловира или валганцикловира, либо принимается решение об использовании другого препарата, отличающегося по механизму подавления вируса – фоскарнета [5]. Также возможным методом

лечения при резистентных формах ЦМВ-инфекции является использование ЦМВ-специфичных лимфоцитов донора. Работа в этом направлении ведется, однако это требует дальнейшего изучения.

Заключение

В данном исследовании образцы крови, взятые от реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, были проанализированы на наличие штаммов ЦМВ с мутациями в гене UL97, ассоциированными с устойчи-

востью к ганцикловиру. Показано, что частота детекции вирусов с мутациями, потенциально ведущими к устойчивости, довольно высока – 3 случая из 8. Были обнаружены следующие ранее описанные мутации: C592G, C607F и C603W. Полученные данные показали, что наличие и характер мутации влияет на вирусную нагрузку и длительность выявления ДНК ЦМВ в крови реципиентов. Однако данных, свидетельствующих о необходимости интенсификации противовирусной терапии в случае обнаружения мутаций, получено не было, что требует дальнейших исследований.

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. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9071(199805)55:1<64::AID-JMV11>3.0.CO;2-#
- Göhring K., Hamprecht K., Jahn G. Antiviral Drug- and Multidrug Resistance in Cytomegalovirus Infected SCT Patients. *Comput Struct Biotechnol J*. 2015;13:153-158. DOI: 10.1016/j.csbj.2015.01.003
- Piret J., Boivin G. Clinical development of letermovir and maribavir: Overview of human cytomegalovirus drug resistance. *Antiviral Res*. 2019;163:91-105. DOI: 10.1016/j.antiviral.2019.01.011
- Boutolleau D., Deback C., Bressollette-Bodin C., Varnous S., Dhedin N., Barrou B., et al. Resistance pattern of cytomegalovirus (CMV) after oral valganciclovir therapy in transplant recipients at high-risk for CMV infection. *Antiviral Res*. 2009;81(2):174-179. DOI: 10.1016/j.antiviral.2008.11.003
- Schaeffer H.J., Beauchamp L., de Miranda P., Elion G.B., Bauer D.J., Collins P. 9-(2-hydroxyethoxymethyl) guanine activity against viruses of the herpes group. *Nature*. 1978;272(5654):583-585. DOI: 10.1038/272583a0
- Chou S., Meichsner C.L. A Nine-Codon Deletion Mutation in the Cytomegalovirus UL97 Phosphotransferase Gene Confers Resistance to Ganciclovir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(1):183-185. DOI: 10.1128/aac.44.1.183-185.2000
- Chou S. Cytomegalovirus UL97 mutations in the era of ganciclovir and maribavir. *Rev Med Virol*. 2008;18(4):233-246. DOI: 10.1002/rmv.574
- Göhring K., Wolf D., Bethge W., Mikeler E., Faul C., Vogel W., et al. Dynamics of coexisting HCMV-UL97 and UL54 drug-resistance associated mutations in patients after haematopoietic cell transplantation. *J Clin Virol*. 2013;1(57):43-49. DOI: 10.1016/j.jcv.2013.01.003
- Biron K.K. Antiviral drugs for cytomegalovirus diseases. *Antiviral Res*. 2006;71(2-3):154-163. DOI: 10.1016/j.antiviral.2006.05.002
- Britt W. Cytomegalovirus. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn*. 7th Ed. Elsevier; 2011. 1280 p.
- Komatsu T.E., Pikiš A., Naeger L.K., Harrington P.R. Resistance of human cytomegalovirus to ganciclovir/valganciclovir: A comprehensive review of putative resistance pathways. *Antiviral Res*. 2014;101:12-25. DOI: 10.1016/j.antiviral.2013.10.011
- 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. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.04.002
- Campos A.B., Ribeiro J., Pinho Vaz C., Campilho F., Branca R., Campos A., et al. Genotypic resistance of cytomegalovirus to antivirals in hematopoietic stem cell transplant recipients from Portugal: A retrospective study. *Antiviral Res*. 2017;138:86-92. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.10.016