ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«НИЖЕГОРОДСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. АКАДЕМИКА И.Н. БЛОХИНОЙ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

На правах рукописи

ВАНЬКОВА

Ольга Евгеньевна

РАЗНООБРАЗИЕ ГЕНОВАРИАНТОВ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА, ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ

1.5.10. Вирусология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор

Новикова Надежда Алексеевна

Нижний Новгород – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 13
1.1 Распространенность, классификация, этиопатогенетические аспекты и эпидемиологические особенности цитомегаловирусной инфекции на современном этапе 13
1.2 Молекулярно-биологическая характеристика цитомегаловируса 19
1.2.1 Строение вириона цитомегаловируса 20
1.2.2 Характеристика генома цитомегаловируса 23
1.3 Методы диагностики цитомегаловирусной инфекции 25
1.4 Характеристика гипервариабельных генов цитомегаловируса и системы генотипирования 29
1.4.1 Распространенность различных генотипов цитомегаловируса среди иммунокомпрометированного населения 33
1.4.2 Роль генетической вариабельности цитомегаловируса в развитии клинических форм инфекционного процесса 42
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 44
2.1 Исследуемый материал 44
2.2 Выделение и детекция ДНК цитомегаловируса 45
2.3 Генотипирование цитомегаловируса по гену *UL55* (gB) 46
2.4 Генотипирование цитомегаловируса по гену *UL73* (gN) 47
2.5 Секвенирование фрагментов генов *UL55*(gB) и *UL73*(gN) с использованием NGS-технологии 48
2.6 Биоинформатические методы исследования 49
2.7 Иммунологические исследования 51
2.8 Статистический анализ результатов 51
2.9 Нормативно-методические документы 51
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ 53
3.1 Распространенность цитомегаловируса среди детей и взрослых реципиентов сóлидных органов 53

3.1.1 Частота выявления ДНК цитомегаловируса у детей 53
3.1.2 Частота выявления ДНК цитомегаловируса у взрослых пациентов, перенесших трансплантацию сóлидных органов 59
3.2 Разработка алгоритма генотипирования изолятов цитомегаловируса на основе секвенирования фрагментов генов *UL55* и *UL73* 65
3.3 Распределение gB- и gN- генотипов цитомегаловируса, выявленного у детей и взрослых реципиентов сóлидных органов 75
3.4 Филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей генов *UL55* (gB) и *UL73* (gN) цитомегаловируса 82
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 92
ВЫВОДЫ 97
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 98
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ 99
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ 100
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 102

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Цитомегаловирус человека (ЦМВ, *Orthoherpesviridae*: *Betaherpesvirinae: Cytomegalovirus: Cytomegalovirus humanbeta5*) – крупный ДНК-содержащий вирус, приводящий к пожизненной инфекции у человека. Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) представляет серьезную проблему для современного здравоохранения, что связано с убиквитарностью инфекции, высокой пораженностью населения ЦМВ, как детей, так и взрослых (50-90% в большинстве стран мира), полиморфизмом клинических проявлений, многообразием путей и факторов передачи инфекции, высокой смертностью детей раннего возраста. У здоровых людей первичная цитомегаловирусная инфекция протекает бессимптомно, но у иммунокомпрометированных пациентов (реципиентов со́лидных органов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), онкобольных), ЦМВИ имеет зачастую тяжелое течение, приводящее к различного рода осложнениям, включая пневмонию, гепатит, энцефалит, колит, увеит, ретинит, и в ряде случаев к летальному исходу [Ванькова О. Е. и др., 2023, 2024]. Известно, что при переливании крови от серопозитивных доноров заражается от 15 до 40% детей и 2-3% взрослых [Дмитраченко Т. И. и др., 2018; Dieamant D. C. et al., 2013]. Еще более сложные проблемы связаны с трансплантацией органов, поскольку фактором передачи инфекции может быть не только перелитая кровь, но и орган [Manuel O. et al., 2009; Nogueira E. et al., 2009; Тихомиров Д. С. и др., 2024]. ЦМВИ имеет самый высокий удельный вес среди врожденных инфекций [Кочкина С.С. и др., 2016; Al Mana H. et al., 2019].

Цитомегаловирус – оболочечный вирус, имеющий сферический/ плеоморфный вирион диаметром 150-200 нм. Геном ЦМВ представлен линейной двухцепочечной ДНК длиной 220-240 килобаз (кб), содержащей открытые рамки считывания (open reading frame, ORF) для кодирования около 170 белков. Бо́льшая часть генома ЦМВ достаточно консервативна, гомология ДНК различных штаммов составляет 90-95%, но отдельные гены демонстрируют

высокую вариабельность [Connoly S. A., et al., 2021; Ye L., et al., 2020; Preston H. et al., 2025].

В настоящее время для дифференциации штаммов ЦМВ широко используются вариабельные гены: *UL55*(gB), *UL73*(gN), *UL74*(gO), *UL144*-TNRF, из которых первые три гена кодируют гликопротеины, необходимые для жизненного цикла вируса, ген *UL144*-TNRF детерминирует последовательность гомолога клеточного TNF-рецептора человека [Pignatelli S. et al., 2011; Puhakka L. et al., 2020; Venturini C. et al., 2025].

Ген *UL55* кодирует гликопротеин gB (906 аминокислотных остатков (а.о.)), который играет значительную роль в присоединении и проникновении вируса в клетку хозяина и является основной мишенью для нейтрализующих антител. Кроме этого, он участвует в процессе вирусной репликации, отвечает за слияние клеток и распространение вируса от клетки к клетке. В настоящее время известно 7 основных геновариантов gB ЦМВ: gB-1, gB-2, gB-3, gB-4, gB-5, gB-6, gB-7 [Sijmons S., et al., 2014]. Ген *UL73* кодирует гликопротеин gN (138 а.о.), который индуцирует образование нейтрализующих антител и участвует в присоединении вируса к клетке хозяина. Различают 7 геновариантов gN ЦМВ: gN-1, gN-2, gN3a, gN3b и gN4a, gN4b, gN4c [Dong N., et al., 2023]. Знания о генетическом разнообразии и эволюционной динамике ЦМВ имеют решающее значение для понимания патогенеза ЦМВ-инфекции, определения вероятности повторного заражения и его последствий, разработки эффективных терапевтических и вакцинных препаратов [Venturini C. et al., 2025].

Генотипирование ЦМВ, обнаруженного в разных группах населения, активно проводится за рубежом [Chou S. W. et al., 1991; Pignatelli S. et al., 2003, 2004, 2009, 2010, 2011; Bale J. F. et al., 2001; Wang H. et al., 2021; Venturini C. et al., 2025]. В то же время, исследований, направленных на изучение генотипового разнообразия ЦМВ, циркулирующего на территории России, до начала наших исследований не проводилось. Только в 2025 году вышла работа в которой исследовалось распределение генотипов ЦМВ среди новорожденных детей Санкт-Петербурга [Иголкина А. А. и др., 2025].

Сведения о генотипном разнообразии ЦМВ необходимы для получения новых знаний о спектре и распределении геновариантов циркулирующего среди населения ЦМВ, мониторинга сочетанного инфицирования, обусловленного комбинацией различных геновариантов ЦМВ, а также разработки отечественных вакцин против этой инфекции [Ванькова О. Е. и др., 2017б]. Работы по генотипированию вируса открывают новые перспективы в области эпидемиологического надзора за ЦМВИ среди пациентов, перенесших трансплантацию органов, новорожденных и беременных.

В связи с вышеизложенным, исследования, направленные на изучение распространенности и генотипного разнообразия штаммов цитомегаловируса, выявленного в различных группах пациентов в промышленном мегаполисе относящегося в рамках экономико-географического районирования к Центральной России (нижегородский регион), являются актуальными и практически значимыми.

Степень разработанности темы исследования

За рубежом проводятся исследования, направленные на выявление ЦМВ в разных группах населения: у беременных с целью профилактики ЦМВИ у плода, у пациентов, перенесших трансплантацию органов, пересадку костного мозга, стволовых клеток, а также при динамическом наблюдении больных с иммунодефицитами [Basse G. et al., 2006; Pillet A. et al., 2006; Tanaka K., 2006; Ksouri H. et al., 2007; Nozava N. et al., 2007]. Большое внимание уделяется проблеме генотипирования вируса и определению роли различных генотипов в развитии определенных клинических форм ЦМВИ. Однако единая система генотипирования ЦМВ отсутствует. Детально изучена структура геномной двухцепочечной ДНК ЦМВ, описаны генетические различия в геноме вирусных штаммов. Установлены спектр и распределение генотипов в странах Европы, США, Китае, ряде Африканских стран [Venturini C. et al., 2025; Wang H. et al., 2021].

Активно ведутся исследования по разработке вакцины против ЦМВ. К настоящему времени созданы и изучаются вакцины: живые аттенуированные,

субъединичные, векторные, на основе пептидов, на основе ДНК, субвирусные, но ни одна из них, к сожалению, не используется в медицинской практике [Gerna G. 2019a]. На сегодняшний день наиболее успешным вакцинным кандидатом является gB/MF59, основанная на модифицированном варианте рекомбинантного белка gB (удален сайт расщепления фурином и трансмембранный домен, такой белок часто называют «Chiron gB») с адъювантом MF59 [Lankina A. et al., 2025].

В России исследования, в основном, направлены на изучение эпидемиологических и клинических аспектов ЦМВИ в различных группах населения. Диагностика ЦМВИ развивается на базе молекулярно-генетических методов. Имеются успехи в создании и производстве коммерческих ПЦР тест-систем для диагностики ЦМВИ. Однако генетическая вариабельность ЦМВ, циркулирующего на территории России, исследована недостаточно.

Цель работы – изучение разнообразия и филогенетических взаимоотношений генетических вариантов цитомегаловируса на основе анализа нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73*.

Задачи исследования

1. Определить частоту выявления цитомегаловируса у взрослых реципиентов со́лидных органов и детей разных возрастных групп.
2. Разработать оптимальный алгоритм генотипирования вируса с использованием высокопроизводительного секвенирования (Next-Generation Sequencing, NGS) фрагментов генов *UL55* и *UL73*.
3. Провести генотипирование клинических изолятов цитомегаловируса, установить распределение вариантов gB- и gN- генотипов в изучаемых группах пациентов.
4. На основе установленных нуклеотидных последовательностей фрагментов генов *UL55*(gB) и *UL73*(gN) цитомегаловируса оценить филогенетические связи российских вариантов (нижегородский регион) цитомегаловируса и геновариантов, представленных в международной базе данных GenBank.

Научная новизна

Впервые установлена частота выявления ЦМВ у детей разного возраста и иммунокомпрометированных взрослых (реципиентов сóлидных органов) в условиях промышленного мегаполиса центральной части России.

Разработан авторский алгоритм генотипирования ЦМВ на основе генов *UL55* и *UL73* с использованием NGS-технологии, позволяющий проводить мониторинг возбудителя на качественно новом уровне и выявлять наличие ассоциаций различных геновариантов ЦМВ, присутствующих в одном образце клинического материала.

Впервые определены спектр, распределение и доминирующие gB(*UL55)* и *gN(UL73)* генотипы ЦМВ, различающиеся у детей и иммунокомпрометированных взрослых, установлены филогенетические связи российских и циркулирующих в других странах вариантов ЦМВ.

Впервые международная база данных GenBank/EMBL/DDBJ пополнена нуклеотидными последовательностями фрагментов генома российских изолятов цитомегаловируса (65 последовательностей).

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате проведенной работы, основанной на применении высокотехнологичных молекулярно-генетических методов, включая NGS-технологию, получена молекулярно-генетическая характеристика ЦМВ, обнаруженного у детей и взрослых пациентов-реципиентов сóлидных органов, что позволило расширить информационную базу о частоте выявления и генотиповом разнообразии ЦМВ в центральной части России. Эти данные необходимы для оценки и прогнозирования эпидемиологической ситуации, а также разработки комплекса мер для эпидемиологического надзора за ЦМВИ.

Результаты генотипирования и филогенетического анализа изолятов ЦМВ могут быть использованы для разработки отечественных вакцин и иммунобиологических препаратов.

Результаты выполненного исследования использованы при разработке информационно-методического письма «Новые данные о распространенности

различных генотипов цитомегаловируса среди разных групп населения» (направлено в Роспотребнадзор исх. № 969 от 31.10.2017г.).

Новые знания о генетическом разнообразии ЦМВ используются в образовательном процессе Учебного центра ООО «Нижегородский институт прикладной биотехнологии» для различных категорий обучаемых (биологи, специалисты клинической лабораторной диагностики, биотехнологи) в системе последипломного образования.

Методология и методы исследования

Методология диссертационной работы заключалась в комплексном подходе к изучению генетического разнообразия ЦМВ, основанном на анализе отечественной и зарубежной литературы, посвященной тематике исследования. В работе были использованы современные молекулярно-генетические (полимеразная цепная реакция (ПЦР), полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ), секвенирование с использованием NGS-технологии), иммунологические (иммуноферментный анализ (ИФА), биоинформатические (программа MEGA X), и статистические методы исследований.

Положения, выносимые на защиту

1. На основе скрининговых исследований установлены показатели частоты выявления ДНК цитомегаловируса у детей разных возрастных групп и взрослых – реципиентов со́лидных органов, составляющие 28,4% и 43,1%, соответственно. Наиболее высокая частота обнаружения определена в группе детей в возрасте от одного года до трех лет (56,0-59,0%) и взрослых реципиентов почек (46,2%).

2. С использованием разработанного алгоритма NGS-типирования определено разнообразие геновариантов ЦМВ у детей, представленное пятью gB- и четырьмя gN- генотипами, среди которых доминируют gB1, gB2 и gN4a. У взрослых пациентов, перенесших пересадку со́лидных органов, превалируют gB1, gB2, gN1 и gN4b. В 16,0 % случаев у детей и в 25,0 % – у взрослых ЦМВИ обусловлена ассоциацией двух, иногда трех геновариантов.

3. Филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73* показал высокое разнообразие геновариантов ЦМВ,

выявленных на территории Центральной России (нижегородский регион), которые характеризуются генетическим родством с вариантами вируса, широко распространенными в мире, преимущественно в странах Европы, США и Китае. Нуклеотидные последовательности генома ЦМВ генотипа gB1, идентифицированные у детей и взрослых реципиентов солидных органов в нижегородском регионе, сформировали два субкластера последовательностей, филогенетически родственных европейским и американским вариантам, соответственно.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов диссертационной работы основана на репрезентативной выборке исследуемых проб (8350 образцов биологических субстратов, полученных от 3909 детей и 480 взрослых), достаточном числе проведенных исследований (более 30 000 исследований). Результаты детекции и генотипирования ЦМВ получены с использованием современных высокочувствительных, специфичных и высокоинформативных молекулярно-генетических методов на сертифицированном и поверенном оборудовании, достоверны и воспроизводимы. Экспериментальные данные подвергнуты обработке и систематизации с помощью методов описательной статистики, пакетов компьютерных программ, информационных баз данных и представлены в виде таблиц и графических изображений.

Результаты диссертационной работы были представлены на всероссийских и международных конференциях: VII, VIII, IX, XII Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2017 г., 2020 г.), VIII, IX, X Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика» (Москва, 2016 г., 2017 г., Минск, 2018г.), XVI, XVII, XVIII, XIX международном медицинском форуме «Качество и безопасность оказания медицинской помощи» (Нижний Новгород, 2017 г., 2018 г.), VII Всероссийской Научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии и гигиены» (Санкт-Петербург, 8 – 10 декабря 2015 г.),

Всероссийской Научно-практической конференции микробиологов и эпидемиологов, посвященной 95-летию со дня рождения академика РАМН И.Н. Блохиной «Современные технологии в эпидемиологическом надзоре за актуальными инфекциями» в рамках XVII, XVIII, XIX, XX Международного медицинского форума (Нижний Новгород, 2017 г., 2018 г., 2019 г.); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию академика И.Н. Блохиной (2021 г., Нижний Новгород), Окружной Научно-практической конференции эпидемиологов ПФО «Практические аспекты эпидемиологического надзора и контроля актуальных инфекционных болезней» (2023 г., Нижний Новгород).

Исследования осуществлялись в рамках отраслевых научно-исследовательских программ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека «Проблемно-ориентированные научные исследования в области эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями» на 2015 - 2020 гг. (Номер государственной регистрации НИР– *АААА-А16-116040810130-9)* и *«*Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней» на 2021-2025 гг. (Рег. № НИОКТР 121092300068-2).

Личное участие автора в получении результатов

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации, заключалось в анализе научной литературы, составлении плана исследований, в проведении иммуноферментного анализа, выполнении молекулярно-генетических исследований, в анализе полученных результатов, статистической обработке полученных данных, в подготовке материалов для публикации, в представлении устных докладов на конференциях. Диагностические, молекулярно-генетические исследования (детекция ДНК ЦМВ в образцах биологических субстратов, полученных от детей и взрослых; поиск, анализ и дизайн праймеров, секвенирование с применением NGS-технологии)

проведены на базе лаборатории метагеномики и молекулярной индикации патогенов (руководитель к.м.н., доцент Бруснигина Н. Ф.) Нижегородского НИИЭМ им. академика И. Н. Блохиной при непосредственном участии автора.

Соискателем сформулированы практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации и результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 4, 8 и 10 паспорта научной специальности 1.5.10. Вирусология.

Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 5 печатных работ, из них 3 – научные статьи и 1 – научный обзор опубликованные в журналах из перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК для публикаций основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. Представленные научные работы индексируются в международных базах Web of Science, Scopus и RSCI.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 135 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав основного текста, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, а также списка литературы. Диссертация иллюстрирована 14 таблицами и 20 рисунками. Библиографический указатель включает 261 источник литературы (50 отечественных и 211 зарубежных авторов).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Распространенность, классификация, этиопатогенетические аспекты и эпидемиологические особенности цитомегаловирусной инфекции на современном этапе

Цитомегаловирусная инфекция, или цитомегалия (от греч. cytos – клетка, megas – большой) – широко распространенное вирусное заболевание с преимущественным поражением детей раннего возраста, характеризующееся чрезвычайным многообразием клинических форм (от бессимптомных до генерализованных) [Cannon M. J., 2014; Khalafkhany D., 2016; Lanzieri T.M., 2014].

Источником ЦМВИ является только человек, больной или вирусоноситель. [Cannon M. J. et al., 2005; Рыбалкина Т. Н. и др., 2020]. ЦМВ может содержаться в тканях и органах, используемых для трансплантации. Взрослые после заражения выделяют вирус со слюной до четырех недель, а с мочой – до двух лет. У новорожденных выделение вируса со слюной может продолжаться несколько месяцев, а с мочой – до нескольких лет [Дьячук Е. В. и др., 2012].

Восприимчивость к ЦМВ высокая. Практически у всех взрослых людей (70-80 %) можно обнаружить в крови антитела к ЦМВ. Инфицированные остаются носителями вируса в течение всей жизни [Тимченко В. Н., 2012; Ahmed S. A. et al., 2019].

Основными механизмами и путями передачи ЦМВ являются воздушно-капельный (аэрозольный путь), контактный (контактно-бытовой и половой пути), гемоконтактный (парентеральный путь, при пересадке органов), вертикальный (от матери к ребенку, алиментарный – через грудное молоко), фекально-оральный. Факторами передачи вируса выступают слюна (преимущественно), моча, кровь, вагинальный секрет, слезы, сперма, фекалии, грудное молоко [Cannon, M. J. et al., 2010; Дмитраченко Т. И., 2018].

Группы риска по ЦМВИ:

– лица с различными видами иммунодефицитных состояний (пациенты, перенесшие пересадку органов, онкобольные, ВИЧ-инфицированные). ЦМВИ у

таких лиц может вызывать тяжелые осложнения, включая пневмонию, гепатит, энцефалит, колит, увеит, ретинит, слепоту [Шахгильдян В. И. и др., 2018; Grossi P. A., et al., 2019];

– новорожденные дети, особенно дети от матерей с первичной или с реактивированной, латентно-протекающей ЦМВИ в течение беременности. Новорожденные инфицируются перинатально в результате аспирации или постнатально через материнское молоко. В настоящее время установлено, что интранатальная или ранняя постнатальная передача ЦМВ происходит в 10 раз чаще, чем трансплацентарная. У 7 – 10% данной группы отмечается гепатоспленомегалия, желтуха, тромбоцитопения, недоношенность, тяжелые поражения головного мозга (микроцефалия, гидроцефалия, судорожный синдром), а также генерализованные поражения органов с развитием шока, ДВС – синдрома (синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания) с летальным исходом до 11 – 20% в первые 6 недель жизни ребенка [Петрова К. К., 2019];

– беременные, особенно опасно заражение в первом триместе беременности, так как это может приводить к врожденным паталогиям плода [Тимченко, В. Н., 2012; Петрова К. К., 2019].

Уровень пораженности населения этой инфекцией в большинстве стран мира колеблется в пределах 50 – 90%. Высокая заболеваемость населения наблюдается в развивающихся странах Азии, Африки и Латинской Америки (серопревалентность ЦМВ среди женщин составляет 84 – 100%, частота врожденной ЦМВИ среди новорожденных - 0,6 – 6,1%), а также в менее обеспеченных социально-экономических слоях населения развитых стран, где первичное заражение вирусом происходит в раннем возрасте. Однако в некоторых странах Европы (Италия, Швеция) и Среднего Востока (Турция, Израиль) отмечена высокая частота выявления ЦМВ [Lynn M. Km et al., 2023; Lanzieri T. M. et al., 2014].

В то же время уровень пораженности ЦМВИ значительно варьирует в различных группах населения даже в пределах одной страны, что, видимо,

зависит от этнических и социально-экономических факторов. Среди женщин афроамериканского происхождения в молодом возрасте уровень серопозитивности ниже, чем у женщин азиатского происхождения, но выше, чем у женщин европеоидной расы [Lynn M. Km et al., 2023; Wilms I. R. et al., 2008; Sentongo P. et al., 2021]. В ряде исследований было показано, что среди женщин вирус более распространен, чем среди мужчин. Однако, имеются и работы, отрицающие это положение [Kowalzik F. et al., 2020; Seale H., et al., 2006]. Во многих исследованиях была установлена зависимость частоты выявления вируса от социально-экономического статуса. Так, было показано, что среди населения без высшего образования частота выявления вируса на 10 – 30% выше, чем среди людей с высшим образованием [Maria O. et al., 2013]. Частота выявления ЦМВ у детей и взрослых в разных странах мира представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Частота выявления ЦМВ у детей и взрослых в странах мира

Страна	Контингент	Серопревалентность к ЦМВ (%)	Источник
Китай	новорожденные	98,1	Huang I., et al., 2021
Пакистан	молодые женщины	95,3	Saira I., et al., 2016
США	дети от 1 месяца до 10 лет дети от 12 до 19 лет взрослые старше 19 лет лица от 20 до 30 лет лица от 30 до 40 лет лица от 40 до 50 лет	17,0 42,7 33 – 81,0 54,0 40 – 59,7 69,8	Flowler K. et al., 2022
Мексика	беременные женщины лица от 1 года до 70 лет	79,9 89,2	Warnecke J. M., et al., 2020 Conde-Glez C.et al., 2013
Ангола	беременные женщины	96,5	Vueba A., et al., 2022
Россия	дети от 10 до 14 лет	70,6	Дубоносова Е.Ю. и др., 2021

Сезонность для ЦМВИ не характерна. В литературе не описано эпидемий, обусловленных ЦМВ. Имеются сообщения о высоком уровне заболеваемости ЦМВИ среди организованных групп лиц, например, детей, посещающих детские дошкольные учреждения и школу [Joseph S. A. et al., 2005; Ssentongo P. et al.,2021; Жебрун А. Б. и др., 2013].

Репродукция ЦМВ

ЦМВ активно реплицируется в тканевых макрофагах, эндотелиальных клетках сосудов, эпителиальных, нервных клетках и фибробластах. В клетках миелоидного ряда, гемопоэтических стволовых клетках костного мозга и в циркулирующих в кровеносном русле моноцитах вирус находится в латентном, транскрипционно репрессированном состоянии [Исаков В. А. и др., 2013; Gerna G., et al., 2019].

Входными воротами для ЦМВ служат слизистые оболочки различных органов. На месте внедрения вируса каких-либо изменений не наблюдается. Механизм проникновения вируса в клетку — это сложный процесс, который запускается адсорбцией и связыванием рецептора клетки с последующим слиянием оболочки вируса с клеточной мембраной и эндоцитозом. Во всех перечисленных процессах участвуют различные комплексы гликопротеинов оболочки вируса. Тримерный комплекс gH/gL/gO взаимодействует с рецептором тромбоцитарного фактора роста α (PDGFR α) и таким образом определяет независимое слияние мембран вируса и клеток фибробластов. Пентамерный комплекс gH/gL/*UL128*/ *UL130*/ *UL131* взаимодействует с нейропилином-2 (Nrp2), и запускает процесс эндоцитоза в эпителиальных и эндотелиальных клетках. Кроме того, рецептор трансформирующего фактора роста β 3го типа (TGF βRIII) и нейрегулин-2 (NRG2) являются дополнительными рецепторами для тримерных комплексов, способствующих проникновению вируса в фибробласты [Gerna G. et al., 2019]. Поверхностный димер gM/gN (*UL*100/*UL*73) и тример gB(*UL*55) также участвуют в процессе проникновения вируса. Димер gM/gN играет важную роль в адгезии, взаимодействуя с протеогликанами гепарансульфата на поверхности клеток, при этом тример gB действует в качестве проксимального медиатора во время слияния мембран [Lele Y., et al.,2020].

После проникновения вируса в клетку запускается синтез вирусных белков. Процесс экспрессии генов ЦМВ регулируется во времени и включает этапы экспрессии предранних (IE), ранних (E) и поздних (L) генов [Tai-Schmiedel et al., 2020, Zhang et al., 2020]. Предранние гены кодируют белки- активаторы, которые

способствуют экспрессии ранних и поздних генов посредством их взаимодействия с цитокинами. Продукты сверхранних генов (IE-белки) ЦМВ являются регуляторными факторами транскрипции, активирующими экспрессию последующих вирусных генов. Ранние белки вируса представлены ферментами, включая собственную ДНК-полимеразу (*UL54*), и кофакторами, обеспечивающими непосредственно репликацию вирусной ДНК. Трансляция вирусных белков обеспечивается рибосомальным аппаратом клетки-хозяина. Поздние (структурные) белки капсида и оболочки синтезируются на заключительном этапе, при этом экспрессия истинно поздних генов строго зависима от эффективности предшествующей репликации ДНК ЦМВ (Ye L., et al., 2020).

Пройдя через мембрану, вирус транспортирует свой капсид по микротрубочкам к ядерной поре. В этом процессе участвуют белки тегумента, связываясь с капсидом и способствуя его переносу к ядерной поре. В результате капсид диссоциирует, а вирусная ДНК попадает в ядро [Ye L., et al 2020]. В ядре клетки происходят репликация вирусной ДНК и начальная сборка капсида. После этого незрелые вирусные частицы выходят в цитоплазму, где в области аппарата Гольджи завершается их окончательное созревание — формирование тегумента и суперкапсидной оболочки. Только после этого сформированные в цитоплазме вирусные частицы ЦМВ включаются в секреторный цикл клетки и выходят во внеклеточную среду путем экзоцитоза. В результате цитопатического действия клетка увеличивается в 3 – 4 раза по сравнению с нормальными клетками (ядерно-цитоплазматическое соотношение не изменяется). В ядре формируются внутриядерные включения, представляющие собой незрелые вирионы, в апикальной части цитоплазмы – множественные цитоплазматические включения в виде «полулуний». При световой микроскопии такие клетки имеют характерный вид «птичьего» или «совиного глаза» [Bale J. F.et al., 2014; Fields Virology (P. 1985-1990), 2013; Харламова Ф. С. и др., 2017]. В ходе длительной совместной эволюции с хозяином ЦМВ выработал множество стратегий иммунного ускользания, поэтому иммунная система не может полностью элиминировать

вирус. Кроме этого, чтобы успешно установить пожизненную персистентную инфекцию, вирус использует множественные механизмы иммунного уклонения. Это достигается за счет экспрессии специализированных вирусных белков, блокирующих презентацию антигенов на молекулах главного комплекса гистосовместимости (HLA) I и II классов (что делает инфицированную клетку невидимой для Т-лимфоцитов), а также путем секреции вирусного гомолога противовоспалительного цитокина интерлейкина-10 (vIL-10), подавляющего активность макрофагов и дендритных клеток. Из 170 кодируемых вирусом белков, только 45 необходимы для репликации в фибробластах *in vitro*, остальные 125, предположительно, играют важную роль в передаче вируса и его персистенции в организме хозяина [Preston H. et al., 2025]. Например, вирусный гомолог тяжелой цепи HLA-I — белок p*UL18* — эффективно ингибирует цитолитическую активность натуральных киллеров (НК-клеток) и секрецию ими провоспалительного интерферона-гамма (IFN-γ) посредством направленного связывания с ингибиторным рецептором LILRB1 (ILT-2). Параллельно с этим, белок p*UL7* и специфические вирусные микроРНК (miR-US5-1 и miR-UL112-3p) синергично ограничивают экспрессию и функциональную активность транскрипционного фактора FOXO3a. Данное взаимодействие блокирует запуск вирус-индуцированного апоптоза, обеспечивая выживание и персистенцию ЦМВ в гемопоэтических стволовых клетках-предшественников CD34+ [Hancock M. H. et al., 2021; Preston H. et al., 2025]. Дополнительным фактором защиты служит продукт гена *UL144* (расположенного в области UL/b’ вирусного генома), который структурно похож на рецептор суперсемейства фактора некроза опухоли (TNFR). Белок *UL144* подавляет пролиферацию и активацию Т-лимфоцитов путем связывания с рецептором BTLA (ингибитор В- и Т-лимфоцитов), а также конкурентно блокирует рецептор CD160, что препятствует реализации цитотоксического потенциала НК-клеток. Со временем общий фенотип и функциональный резерв лимфоцитов меняется, что в последствие может влиять на характер ответа иммунной системы как на сам ЦМВ, так и на другие патогены [Preston H. et al., 2025; Venturini C. et al., 2025].

ЦМВ представляет собой медленно реплицирующийся вирус, для формирования новых вирусных частиц требуется до 48 часов. Вирус термолабилен, полностью инактивируется при температуре +56 °С, способен сохранять стабильность при комнатной температуре. При замораживании до минус 20 °С ЦМВ теряет свои вирулентные свойства. Кроме того, он высокочувствителен к действию дезинфицирующих средств и эфира. [Исаков В. А. и др., 2013].

Активность репликации вируса и выраженность воспалительных изменений зависит от функционального состояния иммунной системы человека. Внутриклеточная локализация вируса защищает его от иммунологического воздействия. Вирус замедляет или прекращает процесс репликации и переходит в латентное состояние. При снижении активности специфического иммунитета возможна реактивация ЦМВИ [Исаков В.А. и др., 2013; Бабаченко А.В. и др., 2012].

1.2 Молекулярно-биологическая характеристика цитомегаловируса

ЦМВ относится к крупным ДНК-содержащим вирусам. Согласно современной классификации Международного комитета по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV), он относится к реалму *Duplodnaviria*, царству *Heunggongvirae*, типу *Peploviricota*, классу *Herviviricetes*, порядку *Herpesvirales*, семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Betaherpesvirinae*, роду *Cytomegalovirus*. Официальное видовое наименование патогена — *Cytomegalovirus humanbeta5*, при этом ранее в литературе использовался термин *Human herpesvirus 5*. Исторически термин «*Cytomegalovirus»* был предложен Weller T. H. в 1957 г. Впервые частицы цитомегаловируса при электронном микроскопировании описал Minder F. J. в 1953 г., а из клеточных культур ЦМВ был впервые выделен Smith M.G. в 1956 г. [Riley H. D. et al., 1997; Fields Virology (P. 1985-1990), 2013]. Значительный вклад в изучение различных аспектов ЦМВИ внесли также отечественные исследователи [Лобзин Ю. В. и др., 2005; Балашова Е. Н. и др., 2023].

1.2.1 Строение вириона цитомегаловируса

Вирион ЦМВ имеет диаметр 150–200 нм и включает икосаэдрический (T=16) капсид с линейным геномом, окруженный тегументом (матриксом) и внешней оболочкой (рисунок 1). Липидный бислой оболочки имеет клеточное происхождение и содержит множество кодируемых вирусом гликопротеинов. При позитивном окрашивании в инфицированных клетках оболочка ЦМВ выглядит более плеоморфной, чем у остальных представителей семейства, что позволяет дифференцировать интактный ЦМВ от других герпесвирусов по их морфологическим характеристикам [Lele Y. et al., 2020].

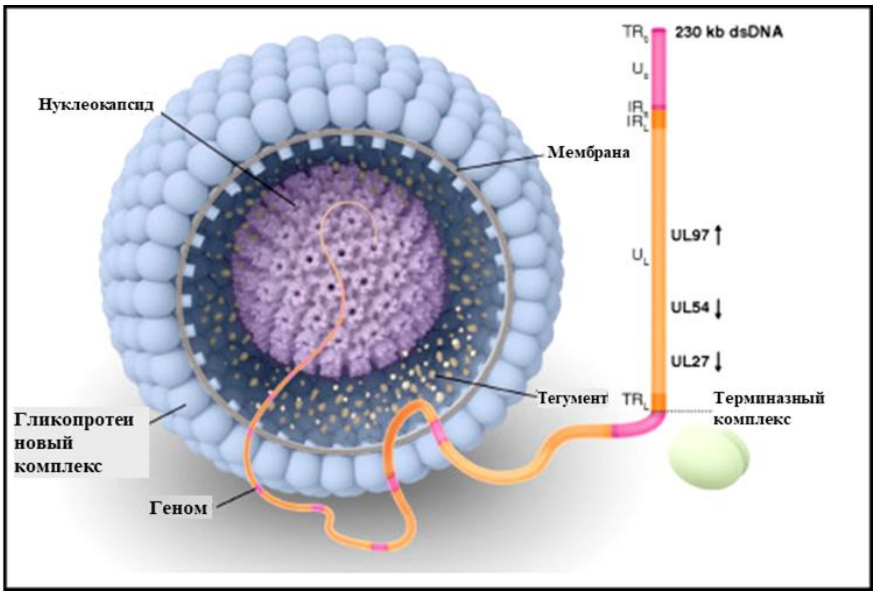


Рисунок 1 – Схема строения вириона ЦМВ [адаптировано по: Chaer F.E. et al., 2016]

Капсид вируса сформирован из 162 капсомеров и включает семь белков, гомологичных компонентам вируса простого герпеса (*Herpes Simplex Virus*, HSV). Основной капсидный белок (MCP, продукт гена *UL86*) образует гексоны и пентоны. Минорный капсидный белок (SCP, продукт гена *UL48A*) и три белка сборки (assembling proteins, продукты генов *UL80*, *UL80*a и *UL80.5*) ассоциированы с капсидом. Между капсидным слоем и внешней оболочкой располагается тегумент, в состав которого входят около 25 белков, причем многие из них фосфорилированы. Большинство белков являются высоко иммуногеными и консервативны, внутри подсемейства бета-герпесвирусов: pp*UL83* (pp65),

pp*UL32* (pp150), pp*UL99* (pp28), pp*UL82* (pp71). Исключением является тегументный белок p*UL48*, который является общим для всего семейсва герпесвирусов. Тегумент содержит некоторые транскрипционные трансактиваторы: pp*UL82*, pp*UL69*, p*TRS1*, p*IRS1*, которые инициируют первичную вирусную транскрипцию. [Connoly S. A.et al., 2021; Fields Virology (P. 1985-1990), 2013].

ЦМВ отличается от остальных герпесвирусов наибольшим количеством кодируемых гликопротеинов. Например, геном лабораторного штамма AD169 кодирует 57 потенциальных гликопротеинов, а у клинических изолятов дополнительно обнаружено еще 15. Зрелые гликопротеины входят в состав внешней оболочки вируса и условно разделены на три основных комплекса: gC-I, gC-II и gC-III [Pignatelli S. et al., 2004; Wang H. et al., 2013; Rasmussen L. et al., 2002; Ванькова О. Е. и др., 2017б, 2023].

Гликопротеин gB относится к гликопротеиновому комплексу gC-I, играет значительную роль в присоединении и проникновении вируса в клетку хозяина и является основной мишенью для нейтрализующих антител. Кроме этого, он участвует в процессе вирусной репликации, отвечает за слияние клеток и распространение вируса от клетки к клетке [Ванькова О. Е., и др., 2024]. Исходный размер гликопротеина gB – 150 кДа, в ходе процессинга он разрезается фуриновой протеазой, локализованной в комплексе Гольджи клетки хозяина, на два продукта размерами 93 и 55 кДа. Продукты процессинга ковалентно связаны и представлены на поверхности оболочки как гетеродимеры [Tugizov S. et al., 1994; Malito E. et al., 2018]. Картирование с помощью моноклональных антител показало, что основная масса нейтрализующих эпитопов содержится на С – концевом участке белка.

Продукты генов *UL73* и *UL100* – гликопротеины gN и gM – образуют высокомолекулярный гликопротеиновый комплекс gC – II [Dal Monte P. et al., 2001; Pignatelli S. et al.,2011; Fields Virology (P. 1985-1990), 2013, Coleman S. et al., 2015]. Данный комплекс является высокоиммуногенным, кроме этого, он отвечает за связывание гепарина. Гликопротеин gN индуцирует образование

нейтрализующих антител и, предположительно, играет главную роль в присоединении вируса к клетке хозяина. Во время репликативного цикла вируса гликопротеин gM выполняет роль шаперона в ходе процессинга гликопротеина gN [Lele Y. et al., 2020; Wang H. et al., 2013]. Было показано, что среди клинических изолятов gM остается консервативным, возможно, его структурные особенности препятствуют каким-либо изменениям в его аминокислотной последовательности [Pignatelli S. et al., 2004; Fields Virology (P. 1985-1990), 2013]. Гликопротеин gN (15-18 кДа, зрелая гликозилированная форма - 30-60 кДа) на поздних этапах вирусной репликации экспрессируется в цитоплазме, и экспанируется на поверхности мембраны инфицированной клетки. В составе вирусной оболочки и в структуре плотных тельцах присутсвует только в составе гетеродимерного комплекса с гликопротеином gM [Dal Monte P. et al., 2001; Pignatelli S. et al., 2004].

Гликопротеиновый комплекс gC – III состоит из белков gH, gL и gO, связанных дисульфидными мостиками [Rasmussen L. et al., 2002; Coleman S. et al., 2015]. Весь комплекс gC – III в целом необходим для вирусного проникновения. Было установлено, что gC – III комплекс связывается с рецепторами, которые необходимы для внедрения вируса в клетку и для его распространения от клетки к клетке фибробластов, а также для инфекции эпителиальных и эндотелиальных клеток [Lele Y. et al., 2020; Murrell I. et al., 2013].

Гликопротеин gH является мембранным белком типа I, имеет чрезвычайно короткий цитоплазматический хвост. Он последовательно экспрессируется в эндоплазматическом ретикулуме и аппарате Гольджи, присутсвует на плазматической мембране инфицированных клеток, а также в составе вирусной оболочки, где удерживается с помощью гидрофобного трансмембранного домена. Внутри вириона gH функционирует исключительно в составе мультимерных комплексов (gH/gL/gO или gH/gL/pUL128-131), отвечающих за распознавание клеточных рецепторов и слияние мембран. Молекулярная масса немодифицированного полипептида gH составляет около 83 кДа, однако в процессе созревания белок N-гликозилируется, и его финальный размер в составе

вириона достигает 115–125 кДа [Pignatelli S. et al., 2004; Ryckman B. J. et al., 2008]. Гликопротеин gH, как и gB, способствует проникновению вируса в клетки и индуцирует образование комплемент-независимых нейтрализующих анти-ЦМВ антител. Роль этого белка в слиянии с мембраной хозяина была подтверждена снижением трансмиссии вируса от клетки к клетке в присутствии антител к gH [Urban M. et al., 1996; Paradowska E. et al., 2014].

Гликопротеин gL необходим для транспорта гликопротеина gH к поверхности клетки. Недавно было сделано предположение, что клеточные рецепторы связываются комплексом gH/gL до появления gB, который выступает как белок слияния и не требуется для связывания лигандов [Wille P. et al., 2013]. Кроме того, гликопротеины оболочки gH/gL также образуют пентамерный комплекс gH/gL/*UL128L* с продуктами генов p*UL128,* p*UL130*, и p*UL131a* [Ryckman B. J. et al., 2008a,b; Murrell I. et al., 2013]. Пентамерный комплекс необходим для инфицирования и распространения вируса в эпителиальных, эндотелиальных и дендритных клетках [Gerna G. et al., 2019; Ryckman B. J. et al., 2008].

1.2.2 Характеристика генома цитомегаловируса

Геном ЦМВ значительно превосходит по размеру геномы остальных герпесвирусов и представляет собой линейную двухцепочечную молекулу ДНК длиной 220–240 тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.). Для него характерно наличие терминального участка и инвертированных повторов, размер которых зависит от конкретного штамма вируса и истории его пассирования (рисунок 2) [Fields Virology, 2013; Marti-Carrears J. et al., 2019]. Нуклеотидная последовательность генома у различных штаммов ЦМВ достаточно консервативна, хотя отдельные гены могут обладать высокой вариабельностью [Chee M.S. et al., 1990; Marti-Carrears J. et al., 2019]. В структуре генома ЦМВ выделяют два уникальных участка ДНК — длинный регион (UL) и короткий регион (US), которые фланкированы инвертированными повторами b (TRL/IRL) и c (IRS/TRS) [Ye L. et al., 2020].

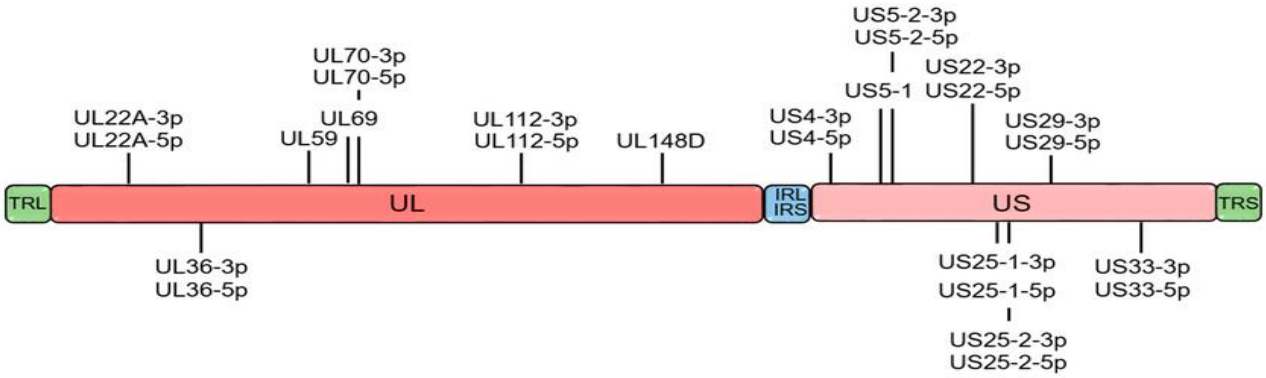


Рисунок 2 – Схема строения генома ЦМВ [адаптировано по: Melaiu O. et al., 2020]

На конце генома расположены прямые повторы – α-последовательности, они акже представлены в инвертированной ориентации в L-S соединении. Такое распределение α-последовательностей приводит к геномной инверсии. Внутри α - последовательности содержатся cis-сигналы, называемые pac-1 и pac-2, которые необходимы для разрезания во время репликации и упаковки вирусного генома. В геноме герпесвирусов cis-сигналы консервативны, однако, их расположение варьирует в зависимости от места положения сайта разрезания. Разрезанная ДНК может отличаться на несколько нуклеотидов у разных штаммов, но всегда на 3’ конце остаются неспаренные выступающие нуклеотиды [Steven S. et al., 2014; Marti-Carrears J. et al., 2019].

Секвенирование полного генома лабораторного штамма ЦМВ человека AD169 (accession number X17403*)* впервые было проведено в 1991 г. [Bankier A. T. et al., 1991]. Установлено, что геном штамма AD169 имеет размер 230 т.п.н. и содержит около 150 ORF, не перекрывающихся между собой. На основании последовательной нумерации генов в геноме AD169 была разработана номенклатура наименования вирусных генов и белков, их обозначения соответствуют расположению внутри уникальных последовательностей UL и US, а также регионов повторов TRL/IRL и IRS/TRS вирусного генома [Marti-Carrears J. el., 2019].

Генетическая изменчивость ЦМВ способствует ускользанию вируса от иммунного ответа (например, за счет изменения антигенных эпитопов) и

приводит к отбору вариантов с измененной конформацией структурных белков, что повышает адаптивный потенциал вируса, расширяет его клеточный тропизм, интенсифицирует репликацию и индуцирует формирование резистентности к противовирусной терапии. Вырабатываемые антитела против одного штамма ЦМВ обычно реагируют и с другими штаммами. Однако, у некоторых вирусных белков установлено наличие штамм-специфичных эпитопов [Pignatelli S. et al., 2009; Pignatelli S., 2011, Marti-Carrears J. et al., 2019].

1.3 Методы диагностики цитомегаловирусной инфекции

Клиническая диагностика ЦМВИ крайне затруднена в связи с выраженным полиморфизмом её проявлений и многообразием клинических форм заболевания (гепатиты, интерстициальная пневмония, менингоэнцефалит, миокардит, ДВС-синдром, а также вторичные гематологические нарушения). В связи с этим больные ЦМВИ могут попадать в поле зрения врачей различных специальностей: инфекционистов, терапевтов, педиатров, акушеров-гинекологов, дерматовенерологов, оториноларингологов, неврологов и гематологов

Лабораторная диагностика ЦМВИ основана на применении комплекса методов: иммунологических, молекулярно-биологических и направлена на индикацию ЦМВ, обнаружение серологических маркеров иммунного ответа и определение остроты инфекционного процесса (изучение активности репликации вируса, определение титра антител IgM, IgG и авидности антител). Следует отметить, что обнаружение ДНК ЦМВ в крови без учета вирусной нагрузки свидетельствует об активной репликации, а определение диагностически значимой концентрации позволяет подтвердить диагноз манифестной ЦМВИ [Харламова Ф.С. и др., 2017; Mendelson E., et al., 2006].

По данным Шахгильдяна В.И. с соавторами, диагностически значимая концентрация ДНК ЦМВ ассоциированная с риском развития манифестной формы ЦМВИ составляет более 2,95 lg ДНК ЦМВ копий ДНК ЦМВ на 10^5 лейкоцитов (что эквивалентно ≥ 900 копий 10^5 клеток), в плазме крови более $9x10^3$ копий/мл [Шахгильдян В. И. и др., 2011, 2018].

Цитологический метод заключается в обнаружении в исследуемом материале специфически измененных элементов — цитомегалов, которые представляют собой трансформированные по гигантскому типу клетки с крупным ядром, внутриядерными включениями и обильной цитоплазмой (патогномоничные феномены в формате «совиный глаз», «птичий глаз». Исследованию данным методом подлежат различные биологические субстраты: моча, слюна, спинномозговая жидкость (СМЖ), мокрота, бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ), а также вагинальный и цервикальный секреты. Обнаружение цитомегалических клеток в биоптате пораженного органа или в аутопсийном материале служит патоморфологическим подтверждением органного поражения ЦМВ. Диагностическая ценность метода ограничена его низкой чувствительностью прижизненного анализа (в частности, цитомегалы выявляются лишь у трети детей с манифестными формами врожденной ЦМВИ). В связи с этим при получении отрицательных результатов оправдано проведение повторных (динамических) исследований мочи и слюны с интервалом в 2–3 дня, с обязательным забором материала в периоды клинического ухудшения [Mendelson E. et al., 2006].

Вирусологический метод является «золотым стандартом» для подтверждения прижизненного диагноза ЦМВИ [Васильев В. В. и др., 2021]. Вирус можно выделить из слюны, мочи, секрета цервикального канала и др. на культуре фибробластов эмбриона человека или диплоидных клетках легкого эмбриона человека. Имеет значение правильно организованный забор и доставка материала в лабораторию. Учитывая термолабильность вируса, взятые пробы не следует замораживать [Chiopris G. et al., 2020].

Применение метода возможно лишь в вирусологических лабораториях, оснащенных специальным оборудованием и высококвалифицированными специалистами.

Реакция иммунофлуоресценции (РИФ) позволяет обнаружить антигены вируса в клиническом материале. Интенсивность выделения вируса оценивают по количеству светящихся клеток. Поскольку при ЦМВИ возможна персистенция

вируса, то больные могут выделять его с мочой долгие годы. В связи с этим обнаружение вируса в моче не указывает на активность инфекционного процесса. Острый процесс подтверждается наличием антигена ЦМВ в лейкоцитах крови с помощью РИФ [Lino K. et al., 2018].

Иммуноферментный анализ (ИФА) используется для определения антител классов IgM и IgG к ЦМВ. Сыворотки пациентов после первичной инфекции содержат антитела к внутренним белкам ЦМВ (p28, pp65, p150). В сыворотке лиц, перенесших ЦМВИ, содержатся, в основном, антитела, реагирующие с гликопротеинами оболочки. Диагностическое значение имеет исследование антител класса IgG в парных сыворотках в динамике с интервалом 14 – 21 день и выявление роста титра антител в 2 – 4 раза. Антитела формируются в среднем через 17 дней после появления симптомов ЦМВИ и персистируют в организме 2 – 3 месяца [Шахгильдян В. И., 2018; Chan E. S. et al., 2024].

Следует отметить, что у детей раннего возраста, беременных женщин, и пациентов с выраженным иммунодефицитом выработка антител к ЦМВ замедленна, поэтому решающее значение при их обследовании имеет обнаружение низкоавидных антител или «ранних» антигенов ЦМВ. Показатель авидности менее 30% указывает на наличие первичной ЦМВИ. Показатель авидности от 30% до 40% принято считать пограничным «серая зона» свидетельствует о завершении острого процесса, однако требует повторного тестирования или дополнительного тестирования методом ПЦР [Chan E. S. et al., 2024; Plotogea M. et al., 2022; Шахгильдян В. И., 2017].

Учитывая, что ЦМВ обладает выраженным иммуносупрессивным действием, определенное значение в диагностике заболевания имеет изучение иммунного статуса. При ЦМВИ возможно подавление функции Т-клеток, снижение соотношения Т4/Т8 – лимфоцитов [Шахгильдян В.И., 2018; Gerna, G. et al., 2019; Mendelson E. et al., 2006].

При диагностике неонатальной ЦМВИ методом ИФА возможно получение ложноотрицательных результатов: антитела IgM не обнаруживаются в 50% случаев. Отсутствие IgM, особенно у детей, родившихся от инфицированных

матерей, не является основанием для снятия клинического диагноза, поскольку IgM – ответ может быть «замаскирован» высокой концентрацией IgG – антител, или может иметь место иммунологическая толерантность [Васильев В. В. и др., 2021; Chan E. S. et al., 2024]. Выявление у детей, имевших в анамнезе гемотрансфузии, антител класса IgM или классов IgM и IgG, в том числе низкоавидных, а также наличие антигенов вируса в лейкоцитарной массе, чаще всего свидетельствуют об инфицировании при переливании крови [Mendelson E. et al., 2006].

Полимеразная цепная реакция

Традиционная ПЦР и ПЦР-РВ позволяют обнаружить специфические фрагменты вирусной ДНК и определить концентрацию вируса непосредственно в исследуемом материале. Метод характеризуется высокой чувствительностью (98,0%) и специфичностью (100,0%). Материалом для исследования служат образцы крови, мочи, слюны, слезной жидкости, СМЖ, биоптатов. Пробы доставляются в лабораторию в течение 2 часов после отбора. Возможна доставка образцов крови в замороженном виде. Основной мишенью, используемой при проведении экспресс-диагностики ЦМВИ, являются гены, кодирующие белки pp65 и предранний белок IE [Mendelson E. et al., 2006; Razonable R. R. et al., 2020]. Метод позволяет судить о степени репликативной активности ЦМВ. При этом клиническое значение обнаружения ДНК вируса в различных биологических субстратах неодинаково. Наличие возбудителя в образцах слюны или мочи зачастую выступает лишь маркером инфицированности организма. В то же время выявление ДНК ЦМВ в цельной крови (в лейкоцитарной фракции) свидетельствует об активной фазе инфекционного процесса. О этиологической ЦМВ роли в развитии органной патологии позволяет судить уровень вирусной нагрузки. Диагностически значимое количество копий ДНК ЦМВ в лейкоцитах периферической крови составляет ≥ 2,95 lg копий/10^5 клеток (что эквивалентно примерно 900 копий/10^5 клеток), а в плазме крови — более 9 х 10^3 копий/мл [Шахгильдян В.И. и др., 2018, 2023]. Молекулярно-генетические методы (ПЦР,

ПЦР-РВ, секвенирование) успешно используются в клинической медицине для диагностики ЦМВИ, контроля этиотропной терапии и для генотипирования ЦМВ.

1.4 Характеристика гипервариабельных генов цитомегаловируса и системы генотипирования

Для дифференциации изолятов циркулирующего ЦМВ используют различные методы анализа вариабельных генов: анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов ДНК, секвенирование по Сэнгеру, генотип-специфический ПЦР анализ, генотип-специфическую ПЦР-РВ, NGS-технологию. Предпочтительными являются методы анализа ДНК, основанные на секвенировании. С их помощью было продемонстрировано, что в мире существует большое количество генетически разнообразных штаммов ЦМВ [Dolan A. et al., 2004; Görzer I. et al., 2010, Brait N. et al., 2022; Dhingra A. et al., 2021].

У ЦМВ определено 12 генов, для которых характерны полиморфизмы последовательности: *RL5A, RL6, RL12, RL13, UL1, UL9,UL55, UL73, UL74, UL144, UL146 и UL139* [Dolan A. et al., 2004; Chou S.W. et al., 1991; Bale J. F. et al., 2001; Pignatelli S. et al., 2001; Hassan-Walker J. F. et al., 2004; Bar M. et al., 2001, Lurain N.S. et al., 2006, Suarez N.M. et al., 2019; Yan H. et al., 2008; Ванькова О.Е. и др., 2017]. Единой системы генотипирования ЦМВ на данный момент не существует, исследователи предлагают различные подходы к генотипированию, основанные на анализе гипервариабельных генов [Pignatelli S. et al., 2011]. Гипервариабельные гены, используемые для генотипирования ЦМВ разными авторами, представлены в таблице 2.

Гликопротеин gB кодируется геном *UL55*, для которого выделено 7 основных геновариантов: gB1, gB2, gB3, gB4, gB5, gB6, gB7 [Chou S. W. et al., 1991; Shepp D. et al., 1998; Trincado D. et al., 2000; Venturini C. et al., 2025]. Область основной вариабельности белка находится в позиции 448 – 481 а.о. и включает сайт, по которому происходит разрезание прекурсора на два белка. Изучение вариабельности внутри гликопротеина gB показало, что замены аминокислот происходят в тех его участках, которые имеют функциональную или

иммунологическую активность [Chou S. W. et al., 1991; Britt W. J. et al., 1996]. Вариабельность последовательности составила 9,5% и была определена отношением числа изменяющихся аминокислот к общему числу аминокислот [Zweygberg W. et al., 1998; Garcia de Figueiredo G. et al., 2018; Ванькова О.Е. и др., 2017].

Таблица 2 – Гипервариабельные гены, используемые в системах генотипирования ЦМВ

Название гена	Геновариант	Референс-штамм	Источник
UL55 (gB*)* поверхностный белок, играет роль в проникновении вируса	gB1, gB2, gB3 (gB3a, gB3b), gB4, gB5, gB6, gB7	gB1: Towne gB2: AD169 gB3:Toledo gB4: M60926 M60924	Chou S.W.,1991; Dennison K. M., 1991; Vriess J. J. et al., 2012; Shepp D. et al., 1998; Trincado D. et al., 2000.
*UL73 (*gN*)* гликозилированный белок оболочки, относится к комплексу gC-II, играет роль в процессе репликации	gN1, gN2, gN3 (gN3a, gN3b), gN4 (gN4a gN4b, gN4c)	gN1: AD169 gN3a:M gN4c: TB40 gN3b: 1152B gN2 Can4 gN 4a ZVS gN 4b: Towne Davis	Pignatelli S. et al., 2003
UL144 трансмембранный гликопротеин, TNF-α-подобный рецептор	1 (A, B, C), 2, 3 A, B, C, AC, AB G1–G14	1A - Toledo, 3 - Davis, AD169 - удален, Towen - удален	Bale J. F. et al., 2001 Lurain N. S. et al., 1999 Zhi-Qin M. et al., 2007 Picone O. et al., 2005 Arav-Boger R. et al., 2002 Dolan A.et al., 2004
UL74 (gO*)* входит в состав комплекса gC-III вместе с gH и gL	gO1(gO1a, gO1b ,gO1c), gO2(gO2a, gO2b), gO3, gO4	gO1a: AD169, gO1b: M, PT , gO1c: TB40E, gO2a: 1152B, gO2b:Can4, gO3:ZVS, gO4: Towne	Rassmusen L. et al., 2002
UL75 (gH) поверхностный белок, входит в состав комплекса gC-III, участвует в процессе проникновения вируса	gH1, gH2	gH генотип 1: AB275152, AB275255, AJ239007, gH генотип 2: AB275156, AY446894, FJ616285,	Ikuta K. et al., 2012 Grosjean J. et al., 2009

Все варианты gB генотипов встречаются на разных континентах (Азия, Европа и Северная Америка), однако их географическое распространение различается: в Европе это генотипы gB1, gB2 и gB3 [Dobbins G.C. et al., 2019; Venturini C. et al., 2025].

Гликопротеин gN кодируется геном *UL73*. Показано, что в основном аминокислотные замены присутствуют в N-концевой области белка и захватывают участок первых 87 а.о. Данный участок расположен на поверхности вирусной оболочки. В отличие от N-концевого участка gN, трансмембранная часть белка и С–концевой домен являются высококонсервативными [Venturini C. et al., 2025]. Различают 7 генотипов gN, первоначально было выделено 4 основных генотипа gN (gN1, gN2, gN3 и gN4), позже для gN3 и gN4 были определены дополнительные субтипы (gN3a, gN3b и gN4a, gN4b, gN4c) [Pignatelli S. et al., 2009; 2010]. Общая вариабельность гена *UL73*(gN) составляет 50%.

Таким образом, гликопротеин gN является самым полиморфным белком среди белков ЦМВ человека [Pignatelli S. et al., 2004; 2010; Zweygberg W. et al., 1998]. Географическое распределение генотипов gN неоднородно (рисунок 3).

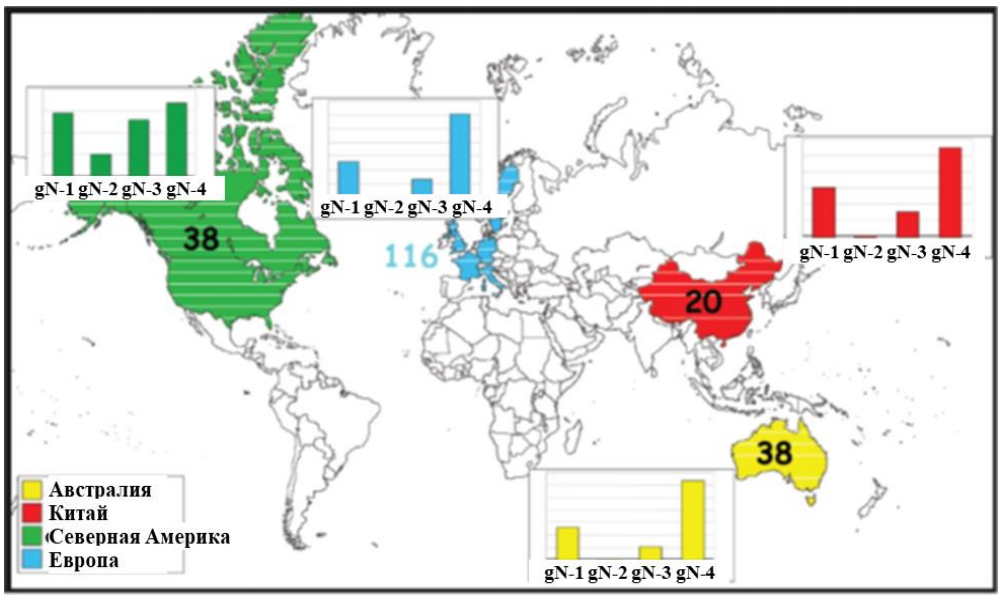


Рисунок 3 – Частота встречаемости генотипов ЦМВ в разных странах [адаптировано по: Jang X.J. et al., 2017]

Анализ распространенности генотипов gN в различных географических регионах мира показал, что в Австралии, Европе, Северной Америке и Китае

циркулируют все генотипы, но частота их встречаемости разная. Наиболее распространённым является gN4 генотип. Генотип ЦМВ gN2 распространен в Северной Америке и Европе, и очень редко встречается в Китае и Австралии [Jang X. J. et al., 2017, Venturini C. et al., 2025].

В 1992 году Chou S. W. первым описал генетический полиморфизм в гене *UL75*, который кодирует поверхностный гликопротеин оболочки gH, и выделил два генотипа (gH1 и gH2). Вариабельность gH расположена внутри первых 37 а.о. N-концевого участка белка, отдельные добавочные замены могут быть рассеяны по всей молекуле [Chou S. W., 1992]. Уровень вариабельности составляет 4,6% [Rasmussen L. et al., 2002; 2003].

Гликопротеин gL также является компонентом комплекса gC-III, кодируется геном *UL115*, связан с гликопротеином gH дисульфидными мостиками и играет важную роль в процессе репликации вируса. Анализ гена клинических изолятов ЦМВ позволил выделить четыре основные филогенетические группы: gL1, gL2, gL3, gL4. Основной вариабельный участок белка расположен внутри первых 45 а.о., общая вариабельность гена *UL115* составляет порядка 6,5% [Rasmussen L. et al., 2002; 2003; Hobom U. et al., 2000; Ванькова О. Е. и др., 2017].

Третий компонент комплекса gC-III, гликопротеин gO, кодируемый геном *UL74*, не играет существенной роли в репликации вируса *in vitro* [Hobom U. et al., 2000]. В отличие от белков комплекса gH и gL, вариабельность gO расположена вдоль всей последовательности [Rasmussen L. et al., 2002]. Основной вклад в вариабельность гена среди разных штаммов вносят делеции внутри первых 98 п.н. и спорадические замены между аминокислотами 140-158, 270-313 а.о., 314-390, и на С-концевом участке после 390 а.о. Общая вариабельность gO составляет 46% [Rasmussen L. et al., 2002; Hobom U. et al., 2000]. Была предложена система генотипирования по гену *UL74* с выделением 4 основных генетических групп: gO-1, gO2, gO3, gO4 [Rasmussen L. et al., 2002; 2003]. Позднее Mattick C. с соавторами выделили дополнительные субгруппы: gO1a, gO1b, gO1c, gO2a, gO2b, разделив штаммы ЦМВ на 7 генотипов по гену gO [Mattick C. et al., 2004].

Ген *UL144* кодирует гомолог медиаторов проникновения вируса простого герпеса, подобных рецепторам фактора некроза опухоли – альфа (TNFα) [Lurain N. S. et al., 1999; Qi Y. et al., 2011; He R. et al., 2011; Picone O. et al., 2005]. Существует несколько систем генотипирования по данному гену. По одной системе, штаммы ЦМВ разделены на три основные группы: 1, 2 и 3 и субгруппы A, B и C [Lurain N. S. et al., 1999; Bale J. F. et al., 2001]. По другой, предложенной исследователем R. Arav-Boger в 2002 году, выделено 3 основных генотипа A, B, C, и два минорных, которые были определены, как химерные: A/B и A/C [Arav-Boger R. et al., 2002]. Сравнение двух систем генотипирования по гену *UL144* показало, что группе 1 соответствует группа A и рекомбинантная подгруппа A/B, группе 2 - генотип C, группе 3 - генотип B. Общий процент вариабельности гена *UL144* у ЦМВ – изолятов составляет 33% [Pignatelli S., 2004; Picone, O. et al., 2005; Murayama, T. et al., 2005].

Одним из самых вариабельных генов ЦМВ является *UL139*. Предположительно он кодирует мембранный гликопротеин типа I. Высоко полиморфная область располагается на 5’ конце гена в эктодоменном участке [Dolan A. et al., 2004; Qi Y. et al., 2006; Mao Z. Q. et al., 2007; Демин М. В. и др., 2021]. При исследовании клинических изолятов для *UL139* было выделено три основных генотипа – G1, G2 и G3, два из которых были разделены на подгруппы: G1a, G1b, G1c, G2a и G2b [Qi Y. et al., 2006]. По другой системе генотипирования, штаммы ЦМВ на основе данного гена разделяют на 8 генотипов G1–G8 [Bradley A.J. et al., 2008]. Следует отметить, что единичные публикации о распространенности G-генотипов ЦМВ, не позволяют подтвердить связь генотипа и тяжести течения ЦМВИ [Ванькова О. Е. и др., 2017; Демин М. В. и др., 2021].

1.4.1 Распространенность различных генотипов цитомегаловируса среди иммунокомпрометированного населения

В соответствии с клиническими рекомендациями «Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) у взрослых (2025 г.)» к группам риска по тяжелому течению ЦМВИ относятся пациенты, перенесшие трансплантацию органов, новорожденные и ВИЧ-инфицированные. Частота встречаемости разных

генотипов ЦМВ внутри этих групп, по данным литературы, представлена в таблице 3. У пациентов, перенесших пересадку органов, по данным разных исследователей, чаще всего выявляются генотипы ЦМВ gB3, gB1 и gB2 [Torok-Storb B. et al., 1997; Roubalová K. et al., 2010; Dieamant D. C. et al., 2013]. Данные о корреляции gB-генотипов и риска отторжения органа неоднозначны. По данным Roubalová K. et al., (2010), Nogueira E. et al., (2009), у пациентов, перенесших трансплантацию почки, отторжение органа было связано с gB1 генотипом. У пациентов, перенесших пересадку костного мозга, летальный исход чаще был связан с генотипами gB2 и gB3 [Torok-Storb B. et al., 1997; Roubalová K. et al., 2010; Dieamant D. C. et al., 2013]. Частота встречаемости инфекции, обусловленной одновременным присутствием нескольких генотипов вируса, варьирует от 6,0% до 17,0% в зависимости от величины выборки обследуемых пациентов. В ряде работ отмечено, что при инфекции, обусловленной наличием двух-трех генотипов ЦМВ, наблюдается более высокая вирусная нагрузка, и для элиминации вируса требуется более продолжительный временной период [Manuel O. et al., 2009; Wu X. J. et al., 2013; Munoz I. et al., 2001; Ванькова О. Е. и др., 2017; 2023].

У ВИЧ-инфицированных независимо от клинической формы ЦМВИ наиболее часто встречаются генотипы gB2 и gB1 [Aquino V.H. et al., 2000; Fidouh-Houhou N. et al., 2001; Drew W.L. et al., 2002; Pignatelli S. et al., 2003a; Goossens V.J.et al., 2009; Roubalová K. et al., 2009]. Однако, в ряде работ показана связь генотипа gB2 с более высоким риском развития ретинита у ВИЧ - инфицированных пациентов [Shepp D. H. et al., 1996; Vogel J.U. et al., 2013].

Таблица 3 – Частота встречаемости различных генотипов ЦМВ у ВИЧ инфицированных и пациентов, перенесших пересадку органов

Объект исследования	Система генотипирования	Страна	Распределение генотипов	Количество пациентов (чел)	Источник
Пациенты, перенесшие пересадку органов	gB	Китай	gB3 (37,39 %), gB1 (36,52 %), gB5 (4,35 %), gB2 (2,61 %), gB4 (1,74 %), mix (17,39 %)	115 (HSCT пациенты)	Wu X. J. et.al., 2013
		Иран	gB1 (35%), gB2 (15%), gB3 (18%), gB4 (18%), mix (15%)	34	Soleimani A. R. et al., 2018
		Италия	gB2 (23,4%), gB1 (12,8%), gB3 (4,2%), mix (59,6%)	19	Ciotti M. et al., 2017
		Бразилия	gB1 (39%), gB2 (35%), gB4 (14%), gB3 (6%), mix 1+3, 1+4, 2+4 (6 %)	63 (HSCT)	Dieamant D. C. et al., 2013
		Чехия	gB1 (30%), gB3 (26%), gB2 (17%), gB4 (4%), mix (17%)	53 (HSCT)	Roubalová K. et al., 2010
		Канада	gB1 (26%), gB2 (10%), gB3 (10%), gB4 (5%), mix (49%)	239	Manuel et al., 2009
		Польша	gB1 (43,3%), gB2 (10%), gB3 (16,7%), gB4 (16,7%)	30	Zawlinska B. et al., 2016
		Сербия	gB1 (27,8%), gB2 (22,2%), gB3 (11,1%), gB4 (38,9%)	24	Jankovic M. et al., 2020
	gN	Китай	gN1 (5,9%), gN2 (9,8%), gN3a (16,7%), gN3b (4,9%), gN4a (11,7%), gN4b (8,8%), gN4c (2,0%), mix (40,2%).	102 (HSCT)	Xia C. S.et al., 2011
		Сербия	gN1 (34,6%), gN2 (7,7%), gN3b (23,1%), gN4a(15,4%), gN4b (19,2%)	24	Jankovic M. et al., 2020
	gO	Чехия	gO1(39%), gO2(20%), gO3, gO4	51 (HSCT)	Roubalová K. et al., 2011
	gH	Китай	gH1 (43%), gH2 (35%), mix (23%)	26	Zhou L. et al., 2007
		Испания	gH1 (37%), gH2 (31%), mix (32%)	162	Barrado L. et al., 2018

Продолжение таблицы 3

Объект исследования	Система генотипирования	Страна	Распределение генотипов	Количество пациентов (чел)	Источник
ВИЧ - инфици рованные	gB	Германия	gB2 (54%), gB1(23%), gB3(23%)	22	Vogel J. U. et al., 2013
		Франция	gB2 (70%), gB1 (8%), gB3 (5,5%), gB4 (3%), mix (13,5 %)	98	Fidouh-Houhou N. et al., 2001
		США	gB2 (50%), gB1 (25%)	18	Drew W. L.et al., 2002
		Чехия	gB2 (55%)	134	Roubalováá K. et al., 2009
		Китай	gB1 (87%), gB2 (19,6%), gB3 (60,9%), gB4 (17,4%), gB5 (13,0%)	46	Jiang X. J. et al., 2017
	UL144	Германия	1A(7чел), 2(7чел), 3(3чел), 1C(2чел)	22	Vogel J. U. et al., 2013
	gO	Китай	gO1a (78,8%), gO3 (39,4%), gO2b (24,2%), gO1c (15,2%), gO2a (12,1%), gO5 (12,1%), gO1b (3%)	33	Jiang X. J. et al., 2017

В группе детей с врожденной ЦМВИ в ряде стран (Китай, Австралия, США) доминирует генотип gB1, а в Японии и Мексике – gB3 и gB2 (таблица 4) [Sarkar A. et al., 2019; Dong N. et al., 2023; Yan H. et al., 2008; Arellano-Galindo J. et al., 2014].

Следует отметить, что низкий уровень вариабельности гена *UL55* (9,5%), высокая частота внутригенных рекомбинаций осложняют реальную оценку возможной взаимосвязи gB генотипа и клинической формы, тяжести течения и прогноза исхода заболевания [Haberland M. et al., 1999; Pignatelli S. et al., 2009; Pati S. K. et al., 2012].

Перспективными являются исследования по генотипированию изолятов ЦМВ по генам *UL73* (gN) и *UL144*, для которых характерна более высокая изменчивость (50% и 30% соответственно) [Pignatelli S. et al., 2010; Haberland M. et al., 1999; Bale J. F. et al., 2000; Trincado D. E. et al., 2000; Bale J. F. et al., 2001; Pati S. K. et al., 2013; Pignatelli S. et al., 2011].

В литературе имеются лишь единичные публикации, посвященные анализу полиморфизма гена *UL144* у ВИЧ-инфицированных пациентов [Vogel J. U. et al., 2013]. При этом характер распределения генотипов *UL144* среди детей с врожденной ЦМВИ в Европейском регионе имеет значимые отличия от США: в Европе превалирует генотип A, тогда как в США доминирует генотип B [Arav-Boger R. et al., 2002; Murayama T. et al., 2005; Heo J. et al., 2008]. В ряде исследований продемонстрирована ассоциация между относительно редкими генотипами ЦМВ *UL144* (A и C) и тяжелым течением врожденной инфекции, в то время как генотип B чаще ассоциирован с благоприятным исходом заболевания [Arav-Boger R. et al., 2006; Waters A. et al., 2010; Ванькова О. Е. и др., 2017]. Основным ограничением указанных работ является относительно малый объем выборок в обследуемых группах, что обусловливает необходимость проведения дополнительных масштабных исследований для верификации представленных данных [Picone O. et al., 2007; Mao Z. Q. et al., 2007; Heoa J. et al., 2008; Ванькова О. Е. и др., 2017; Puhakka L. et al., 2020].

Распространенность gN генотипов ЦМВ у пациентов после трансплантации органов описаны в Китае и Сербии [Xia C. S. et al., 2011; Jancovic M. et al., 2020].

При исследовании более 270 клинических изолятов ЦМВ, выделенных у новорожденных с врожденной ЦМВИ в Италии, было получено следующее распределение генотипов: gN1 – 25,6%, gN2 – 1,9%, gN3a – 8,9%, gN3b – 4,3%, gN4a – 21,3%, gN4b – 12,8% и gN4c – 25,2% [Pignatelli S. et al., 2003; 2010a]. В другом подобном исследовании среди новорожденных с врожденной ЦМВИ доминирующим генотипом являлся gN3a (32%) [Dong N. et al., 2023]. Исследователи показали, что наиболее вирулентным фенотипом обладают вирусы группы gN4 [Paradowska P. et al., 2013; Burkhardt C. et al., 2009; Puhakka L. et al., 2020]. Самыми распространенными генотипами у пациентов, перенесших пересадку гемопоэтических стволовых клеток, были gO1(39%) и gO2(20%). Показана связь генотипа gO3 с высоким риском развития манифестных форм ЦМВИ у пациентов, перенесших пересадку стволовых клеток [Jiang X. J. et al., 2017]. Как следует из вышесказанного, наиболее изученными и «аккредитованными» в качестве потенциальных эпидемиологических маркеров являются гены: *UL55* (gB), *UL73* (gN), *UL74* (gO), *UL144*-TNRF [Pignatelli S. et al., 2010a; Ванькова О. Е. и др., 2017; 2023; Suarez N. M. et al., 2019]. Сделать выбор достаточно сложно, особенно учитывая тот факт, что ЦМВ обладает штамм-специфичным генотипом, который определяется комплексом генов. Во многих исследованиях показано, что взаимосвязь между вариабельными генами наблюдается редко, таким образом, имеется вероятность существования большого количества различных генетических комбинаций [Bale J. F. et al., 2001; Arav-Boger R. et al., 2002; Pignatelli S. et al., 2003; Mao X. et al., 2007; Rasmussen L. et al., 2003; Ванькова О.Е. и др., 2017].

Таблица 4 – Частота встречаемости различных генотипов ЦМВ у детей с врождённой ЦМВИ

Объект исследования	Система генотипирования	Страна	Распределение генотипов	Количество пациентов (чел)	Источник
Дети с врожденной ЦМВИ	gB	Китай	gB1 (57, 27%), gB3 (41, 82%), gB4 (0,91%)	129	Dong N. et al., 2023
		Индия	gB1 (23,52%), gB2 (17,64%), gB3 (17,64%), gB4 (7,8%), gB5 (11,76%), mix (23,52%)	17	Sarkar A. et al., 2019
		Мексика	gB2 (76,5%), gB1 (5,9%), gB3 (11,8%), gB2+gB4 (5,9 %)	17	Arellano-Galindo J. et al., 2014
		Финляндия	gB1 (37,51%), gB2 (19%), gB3 (24%), gB4 (5%)	37	Puhakka L. et al., 2020
		Австралия	gB1 (39%), gB3 (30%)		Trincado D. E.et al., 2000
		Япония	gB3 превалировал	64	Yan H. et al., 2008
		США	gB1 (42%), gB2 (23%), gB5 (1%)	24	Pati S. et al., 2014
		Великобритания	gB1 (28%), gB2 (22%), gB3 (1%), mix (20%)	120	Kadambari S. et al., 2017
	gN	Италия	gN1(20,3%), gN2(8,1%), gN3a(8,1%), gN3b(6,8%), gN4a(20,3%), gN4b(13,5%), gN4c(22,9%)	74	Pignatelli S. et al., 2010a
		Финляндия	gN1(29%), gN3a(8%), gN3b(21), gN4a(13%), gN4b(8%), gN4c(25%), mix (4%)	24	Puhakka L. et al., 2020
		Китай	gN1 (17,44%), gN2 (2,33%), gN3a (29,07%), gN3b (8,14%), gN4a(13,95%), gN4b (15,12%), gN4c (13,95%)	129	Dong N. et al., 2023
	UL144	США	B (44,6%), A1 (25%), C (12,5%), A2 (8,9%), A/C (5,4%), A/B, C/B (1,8%)	33	Arav-Boger R. et al., 2002

Продолжение таблицы 4

Объект исследования	Система генотипирования	Страна	Распределение генотипов	Количество пациентов (чел)	Источник
Дети с врожденной ЦМВИ	*UL144*	Япония	гр.1 (38%) [1A(94%), 1B(6%), 1C(0)] гр.2 (12 %), гр.3 (50 %)	42	Murayama T et al., 2005
		США	A (27%), B (52%), C (11,6%), A/B (6,9%), A/C (2,5%)	44	Heo J. et al., 2008
	gO	Япония	gO1a (20%), gO2a (8,3%), gO2b (8,3%), gO3 (18,3%), gO5 (8,3%), gO4 (23,3%)	63	Yan H. et al., 2008a
		Италия	gO1 (30%), gO3 (35%), gO2 (12,5%), gO4 (22,5%)	40	Arvageletti M. C. et al., 2015
		Китай	gO1a (10,8%), gO1b (15,3%), gO1c (10,8%), gO2a (11,4%), gO2b (11,4%), gO3 (15,4%), gO4 (14,3%), gO5 (10,3%)	185	Chen J. Y. et al., 2016
	gH	США	gH1 (56%), gH2 (59%), mix (15%)	131	Pati S .K. et al., 2013
		Китай	gH1 (54%), gH2 (46%)	129	Dong N. et al., 2023
		Австрия	gH1 (47%), gH2 (47%), mix (6%)	17	Görzer I. et al., 2015
		Китай	gH1 (60%), gH2 (62%), mix (22%)	584	Li W. et al.,2020
		Финляндия	gH1 (47%), gH2 (47%), mix (6%)	24	Puhakka L. et al., 2020

Лишь недавно установлено наличие взаимосвязи между вариантами генотипов gN и gO (gN1/gO1a, gN2/gO2b, gN3a/gO1b, gN3b/gO2a, gN4a/gO3, gN4b/gO4 и gN4c/gO1c), несмотря на то, что они располагаются в различных гликопротеиновых комплексах [Jiang X. J. et al., 2017; Yan H. et al., 2008a]. Проведенные исследования свидетельствуют, что при генотипировании ЦМВ, следует изучать комплекс вариабельных генов, локусы которых располагаются рядом [Rasmussen L. et al., 2002; Murthy S. et al., 2011]. Обследование молодых женщин, участвовавших в клинических испытаниях цитомегаловирусной вакцины, разработанной на основе гликопротеина gB, показало, что при первичной ЦМВИ одновременное инфицирование несколькими штаммами ЦМВ происходит редко. Наиболее часто выделяют только один штамм ЦМВ, причем у одного пациента в различных субстратах выделяется один и тот же штамм на протяжении нескольких месяцев и лет (в течение 2 -3 лет) [Görzer I. et al., 2010; Murthy S. et al., 2011; Ванькова О.Е. и др., 2017].

Инфицирование более чем одним штаммом ЦМВ часто наблюдается среди иммунокомпроментированных пациентов (ВИЧ-инфицированные или пациенты, перенесшие пересадку органа), а также среди новорожденных с врожденной ЦМВИ. У пациентов после трансплантации органов могут реактивироваться не только штаммы, персистировавшие у реципиента до операции, но и начать реплицироваться латентные штаммы вируса, переданные с трансплонтантом от серопозитивного донора. Было показано, что инфицирование пациента штаммами ЦМВ разных генотипов, ассоциировано с высокими уровнями вирусной нагрузки, тяжелым (генерализованным) течением инфекционного процесса, а также с повышенным риском криза отторжения трансплантированного органа [Puchhammer-Stockl E. et al., 2006; Görzer I. et al., 2010; Soleimani A. R. et al., 2018; Ванькова О. Е. и др., 2017; 2022; 2023]. Эти данные имеют важное значение при выборе этиотропной терапии, а также при разработке вакцин и иммунобиологических препаратов, основанных на использовании штаммов ЦМВ различных генотипов.

1.4.2 Роль генетической вариабельности цитомегаловируса в развитии клинических форм инфекционного процесса

Штаммы ЦМВ, циркулирующего в мире, отличаются друг от друга уровнем вирулентности, степенью тропизма к клеткам, генотиповой принадлежностью. Указанные различия обусловлены неоднородностью и динамической изменчивостью генов различных штаммов ЦМВ [Pignatelli S. et al., 2004; 2011; Venturini C. et al., 2025].

Значительная часть генов ЦМВ кодирует белки, которые являются мишенями для иммунного ответа хозяина. Вирулентность вируса связана с его способностью уклонения от иммунной системы, молекулярной мимикрией или интерференцией с хемокинами хозяина [Pignatelli S., 2004; Preston H. et al., 2025]. Генетически обусловленный полиморфизм гликопротеинов оболочки может быть связан с вариабельностью иммунного контроля ЦМВИ, а также со степенью инфицированности, с тропизмом к тканям и эффективностью связывания с клеткой хозяина [Damme E. V. et al., 2014; Venturini C. et al 2025]. Хотя роль генетической вариабельности ЦМВ в развитии инфекционного процесса до конца не определена, изучение разнообразия и распределения генотипов ЦМВ с учетом пола, возраста обследуемых лиц и клинических форм инфекции позволит получить новые знания о патогенезе и эпидемиологии ЦМВИ [Ванькова О.Е. и др., 2017].

Присутствие вариаций внутри генов, вовлеченных в процесс первичной репликации вируса, например, в гене регуляции транскрипции, может влиять на ее эффективность [Charles O. J. et al., 2023; Hayijneh W. A. et al., 2001; 2001a; Hebart H. et al., 1997]. Однако, рядом исследований показано отсутствие влияния на вирулентные свойства вируса полиморфизмов внутри генов регуляции транскрипции [Morris D. J. et al., 2004; Gyulai Z. et al., 2000; Mousavi-Jazi M. et al., 2000].

Наличие полиморфизма аминокислотной последовательности белков, которые участвуют в процессе распространения вируса от клетки к клетке путем слияния мембран вируса и клетки хозяина, привело к гипотезе о возможной

взаимосвязи между геномными вариантами вируса и его клеточным тропизмом. Однако, исследование полиморфных генов ЦМВ на образцах клеток и тканей, полученных от пациентов с ЦМВИ, не подтвердили наличие этой взаимосвязи [Pignatelli S. et al., 2010; Venturini C. et al 2025].

Полиморфные гены используются как эпидемиологический маркер при изучении циркуляции вируса в человеческой популяции [Ванькова О.Е. и др., 2017; Murthy S. et al., 2011; Novak Z. et al., 2008;Venturini C. et al., 2025]. В ряде исследований показано, что генетические варианты ЦМВ-штаммов из различных географических регионов могут быть идентичными, существенно отличаются лишь показатели частоты их встречаемости. Обсуждается вероятность обнаружения редких или новых вариантов ЦМВ в регионах, изолированных от остального мира [Pignatelli S. et al., 2004; Revello M. G. et al., 2008; Ванькова О. Е. и др., 2017, 2017a; Venturini C. et al., 2025]. На основании полученных данных об уровне идентичности генетических вариантов ЦМВ можно судить о филогенетическом родстве штаммов.

Таким образом, ЦМВИ остается одной из ведущих проблем современного здравоохранения. Она относится к категории социально и экономически значимых инфекций с высокой пораженностью как детей, так и взрослых, характеризуется полиморфизмом клинических проявлений и многообразием путей и факторов передачи инфекции [Ванькова и др., 2017]. Серьезной проблемой является заражение ЦМВ детей и реципиентов крови и органов.

Молекулярно-генетические исследования эпидемически значимых штаммов вирусов, в том числе ЦМВ, являются важным аспектом геномного мониторинга актуальных вирусных патогенов. Информация о спектре и распространении генетических вариантов ЦМВ среди различных групп населения, включая группы риска, необходима для создания отечественных вакцин и иммунобиологических препаратов, а также эпидемиологического надзора за ЦМВИ [Ванькова О.Е. и др., 2024].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Исследуемый материал

В период с 2014 по 2024 гг. проведено исследование 8350 образцов биологических субстратов, полученных от 3909 детей в возрасте от 0 до 16 лет и от 160 взрослых пациентов (77 мужчин и 83 женщины), перенесших пересадку со́лидных органов, которые регулярно (один раз в три месяца) приходили на плановое обследование в амбулаторное отделение ПОМЦ («Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА), а также 320 условно здоровых взрослых, составивших группу сравнения (таблица 5). Среди взрослых пациентов, перенесших пересадку солидных органов, после операции к моменту взятия проб прошло от 3 до 12 месяцев у 16 человек, от года до 9 лет после операции - у 101 человека, и более 10 лет после операции у 6 человек. Для 12 человек не было информации о периоде времени, прошедшем после пересадки органа. В группу обследуемых детей вошли 2625 человек, не имеющих в анамнезе диагноза ЦМВИ, обратившихся в медицинские организации (МО) г. Нижнего Новгорода и Нижегородской области с профилактической целью, а также 1284 ребенка с разной патологией (заболевания органов дыхания, желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), центральной нервной системы (ЦНС), лейкозы, подозрение на внутриутробную инфекцию) потенциально ассоциированной с ЦМВ.

Таблица 5 – Категории обследованных

Категории	Возраст обследуемых	Количество (n)
Дети без диагноза ЦМВИ, обратившиеся в МО г. Нижнего Новгорода и Нижегородской области с профилактической целью	0 - 16 лет	2625
Дети с воспалительными заболеваниями (органов дыхания, ЖКТ, ЦНС, кроветворения, подозрение на внутриутробную инфекцию)	0 - 16 лет	1284
Взрослые пациенты, перенесшие трансплантацию со́лидных органов	22 - 64 лет	160
Взрослые условно здоровые	20 - 65 лет	320
Всего		4389

Материалом для исследования служили различные биологические субстраты (кровь, слюна, моча, слезное отделяемое (смыв с конъюнктивы), лейкоцитарная масса). Образцы крови отбирали в вакуумные системы, содержащие антикоагулянт К2-ЭДТА (или К3-ЭДТА), в объеме не менее 2 мл. Исследование лейкоцитарной массы проводили в случае клинически выраженной полилимфоаденопатии и лихорадочного состояния обследуемого ребенка. У взрослых пациентов–реципиентов со́лидных органов, исследование лейкоцитарной массы проводили в случае обнаружения ДНК ЦМВ в образцах слюны и мочи. Объектом исследования служила ДНК ЦМВ.

Отбор клинических образцов у пациентов осуществляли сотрудники МО при наличии информированного согласия на участие в исследовании. Образцы клинического материала поступали из ГБУЗ НО «Нижегородская областная детская клиническая больница», городских детских больниц №1, №27, № 39 г. Нижнего Новгорода, детских отделений ГБУЗ НО «Инфекционная клиническая больница № 23 г. Нижнего Новгорода», ГБУЗ НО «Кстовская ЦРБ», ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России.

2.2. Выделение и детекция ДНК цитомегаловируса

Выделение и очистку ДНК проводили сорбционным методом с применением наборов «ДНК-сорб В» (ФСР 2012/14019) и «ДНК-сорб АМ» (ФСР 2007/00183) согласно инструкции производителя (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва). ДНК выделяли из отдельных субстратов (моча, слюна, слезное отделяемое (смыв с конъюнктивы), кровь, лейкоцитарная масса) и из смеси субстратов (моча, слюна, слезное отделяемое (смыв с конъюнктивы)), смешанных в равных количествах. Выделенную и очищенную ДНК хранили при минус 70°С до момента анализа. Скрининг образцов на наличие ДНК ЦМВ осуществляли с применением коммерческих тест – систем:

- набор реагентов для выявления ДНК ЦМВ в клиническом материале методом ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле «АмплиСенс® CMV- Eph» (ФСР 2007/00184), (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва);

- набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК ЦМВ в клиническом материале методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией "АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL (ФСР 2010/09504).

Амплификацию выделенной ДНК проводили в термоциклере «Терцик МС-2» («ДНК-технология», Москва) и Rotor Gene 6000 (Corbett Research, Австралия). Продукты амплификации детектировали путем горизонтального электрофореза в 1,8% агарозном геле с использованием трис-боратной - ЭДТА (ТВЕ) буферной системы, pH 8,2. Визуализацию и учет результатов реакции осуществляли с помощью гель документирующей видеосистемы «Geldoc EZ» и программы Image Lab 5.0 (Bio-Rad). Образцы, содержащие ДНК ЦМВ, использовали для определения генотипа ЦМВ.

2.3. Генотипирование цитомегаловируса по гену *UL55* (gB)

Дизайн праймеров для определения геновариантов gB ЦМВ осуществляли с помощью программного пакета DNASTAR Lasergen 11 (DNASTAR, США) с использованием встроенных алгоритмов BLAST и Primer-BLAST для проверки специфичности праймеров. Праймеры для генотипирования по гену *UL55* (gB) были выбраны на основе анализа данных литературы. Последовательности праймеров представлены в таблице 6.

Для получения ПЦР-фрагмента применяли Taq полимеразы производства Takara Bio Ink (США), Thermo Fisher Scientific (США), Евроген (Россия). В работе был использован амплификатор DNA Engine Bio-Rad (США). Продукты амплификации анализировали с помощью горизонтального электрофореза в 1% агарозном геле с использованием трис-боратной - ЭДТА (ТВЕ) буферной системы, pH 8,2. Ампликоны соответствующего размера были выделены и очищены путем вырезания из геля с помощью набора «Monarch ® DNA Gel Extraction Kit» (New England Biolabs, США), в соответствии с инструкцией по применению. После очистки, концентрацию целевого фрагмента в препарате определяли с помощью флуориметра Qubit (Invitrogen, Австрия**)** и набора «Qubit Fluarometric Quantitation Thermo Fischer Scientific» (США), согласно инструкции

производителя. Полученные и очищенные фрагменты использовали для секвенирования с помощью NGS-технологии.

Таблица 6 – Нуклеотидные последовательности праймеров для генотипирования по гену *UL55* (gB) ЦМВ

Наименование праймера	Нуклеотидная последовательность праймеров (5'-3')	Размер фрагмента (п.н.)	Источник
gB up1	tgg aac tgg aac gtt tgg c	305	De Albuquerque D.M. et al., 2003
gB lo1	gca cct tga cgc tgg ttt gg		
gB lo1a	gaa acg cgc ggc aat cgg		
gB up2	gat ctc ctg gga tat aca gga cg	522	Barbi M. et al., 2001
gB lo2	gaa tyg ctg arg gyt tga tct tg		
gB up3	acr ttc tgg gaa gcc tcg gaa cg		
gB lo3	gag ttc ctt gaa gac ctc tag		
gB up4	cct cat cgc tgc tgg att	238	Shepp D.H. et al., 1998
gB lo4	tga ctc cca cca cat ctc		
gB up5	att tgg ccc gcg acg aac at		
gB lo5	ctc cgt act tga ggg tag tg		
gBNF	gga tct ggt gcc tgg tag tc	301	Grosjean J. et al., 2009
gBNR	cga ata aga tcc gta ccc tg		
CLZ F	tgt tct ggc aag gta tca aga a		
CLZ R	gtg aac tgc agc tgg gcg ta		
gB1forward	tca cca ttc ctc tcr tac gac	92	de Vries J.J. et al., 2012
gB1 reverse	cac cat ggc tga ccg ttt gg		
gB2forward	ctt taa ggt acg ggt cta cca a		
gB2 reverse	gaa ctg tag cat tgg gca aac t		
gB3forward	ccg gtg tga act cca cgc g		
gB3 reverse	gat tcg ctt tca rgy gac agg		
gB4forward	tcg tgc aac ttc tact ca taa tg		
gB4 reverse	cgt tac gcg ttg aga gga gat		
gB F	tgg aac tgg aac gtt tgg c	365	Chou S. W. et al., 1991
gB R	gca cct tga cgc tgg ttt gg		

2.4. Генотипирование цитомегаловируса по гену *UL73* (gN)

Праймеры для определения геновариантов gN ЦМВ методом секвенирования, были выбраны на основе анализа данных литературы. Последовательности праймеров представлены в таблице 7.

Дизайн праймеров осуществляли с помощью программного пакета DNASTAR Lasergen 11 (DNASTAR, США) с использованием встроенных алгоритмов BLAST и Primer-BLAST для проверки специфичности праймеров. Подготовку образцов к генотипированию по гену *UL73* (gN) методом

секвенирования проводили аналогично протоколу подготовки образцов, как и при генотипировании ЦМВ по гену *UL55* (gB).

Таблица 7 – Нуклеотидные последовательности праймеров для генотипирования ЦМВ по гену *UL73* (gN)

Наименование праймера	Нуклеотидная последовательность праймеров (5'-3')	Размер фрагмента (п.н.)	Источник
gN up	tgg tgt gat gga gtg gaa c	420	Pignatelli S. et al., 2003
gN lo	tag cct ttg gtg gtg gtt gc		
gN105672F	cgc gac agt acc agt tga ga	639	Lisboa L.F. et al., 2012
gN106306R	cta cac cta cgt cac cat c		
gN105672F	cgc gac agt acc agt tga ga		
gN106179R	ctt acc ccg ccg gaa cac		
gNF	ttg ggt cgg tca aca tcg taa g	440	Grosjean J. et al., 2009
gNR	ggt ggt tgc agt aaa gtt ctg ga		

2.5. Секвенирование фрагментов генов *UL55 (gB)* и *UL73 (gN)* с использованием NGS-технологии

Секвенирование фрагментов выполнено с применением NGS-технологии на платформе MiSeq и iSeq (Illumina, США). Дизайн NGS секвенирования представлен в таблице 8.

Концентрацию ДНК в образцах определяли на флуориметре Qubit с использованием набора Qubit DNA HS Assay Kit (Thermofisher, США). Подготовку библиотеки ДНК для секвенирования осуществляли с помощью набора Nextera XT DNA Sample Preparation Kit (Illumina, США), ShotGun SG GM (ООО «Сесана», Россия) и комплекта индексированных праймеров для двойного баркодирования для секвенаторов Illumina (Raissol, Россия), согласно инструкции производителя. Оценку качества подготовленной библиотеки ДНК для секвенирования проводили на флуориметре Qubit и автоматизированной системы капиллярного гель-электрофореза QIAxcel Advanced System (QIAGEN, Германия), с приминением набора реагентов для быстрого разделения фрагментов ДНК «QIAxcel DNA Fast Analysis Kit (3000)» (QIAGEN, Германия) и программного обеспечения QIAxcel ScreenGel (QIAGEN, Германия). Для секвенирования

использовали набор MiSeq reagent kit v2 на 500 циклов и iSeq 100 i1 Reagent v2 (300-cycle) (Illumina, США).

Таблица 8 – Дизайн секвенирования

№	Этапы	Оборудование и реактивы
1	Выделение и очистка ДНК	Наборы «Ампли-Сенс ДНК сорб АМ» и «АмплиСенс ДНК-сорб В» (ЦНИИЭ, Москва)
2	Амплификация ЦМВ- специфических фрагментов ДНК генома вируса	Амплификатор Engine BioRad (США), геноспецифические праймеры, полимеразы производства Thermo Fisher Scientific (США), Евроген (Россия)
3	Очистка продуктов амплификации методом экстракции из агарозного геля	Набор New England Biolabs, Monarch® DNA Gel Extraction Kit (США)
4	Определение концентрации ДНК	Флуориметр Qubit (Invitrogen, Австрия)
5	Подготовка библиотеки ДНК для секвенирования	Набор Nextera XT Sample Preparation Kit (Illumina, США), ShotGun SG GM (ООО «Сесана», Россия
6	Оценка качества подготовленной библиотеки ДНК для секвенирования	Система капилярного гель-электрофореза QIAxcel Advanced System (QIAGEN, Германия))
7	Секвенирование ДНК-библиотек	Набор MiSeq Reagent kit v2 (500 cycle), iSeq 100 i1 Reagent v2, секвенатор MiSeq и iSeq (Illumina, США)
8	Выравнивание и сборка нуклеотидных последовательностей (ридов)	Программное обеспечение CLC Genomics Workbench 5.5 (CLC bio, США)
9 9.1 9.2	Анализ результатов: Анализ нуклеотидных последовательностей генов *UL55*(gB) и *UL73*(gN) Визуализация полученных данных	 Сервер BLAST, NCBI UGENE Unipro, MEGA 10.0 (версия 10.2.6), CLUSTALX 2.0

2.6. Биоинформатические методы исследования

Выравнивание и сборку полученных коротких чтений относительно референс-генома осуществляли с использованием встроенного в секвенатор программного обеспечения. Для выравнивания нуклеотидных последовательностей использовали программу CLC Genomics Workbench 5.5 (CLC bio, США), выравнивание *de novo*.

В качестве референс-последовательностей служили последовательности генов *UL55*(gB), *UL73*(gN) штаммов ЦМВ с известными генотипами: Human

Herpesvirus 5 Towne-BAC isolate (номер GenBank AC146851.1), Human herpesvirus 5 strain AD169 (номер GenBank FJ527563.1), Human herpesvirus 5 strain M60924 (номер GenBank M60924.1), Human herpesvirus 5 strain M60926 (номер GenBank M60926.1), Human cytomegalovirus isolate 75-94 (номер GenBank AF043074.1), Human cytomegalovirus isolate 2614-92 (номер GenBank U88697.1), Human betaherpesvirus 5 strain HANRTR8 (номер GenBank KY490076.1), Human betaherpesvirus 5 strain 94AgB6 (номер GenBank AF210790.1), Human herpesvirus 5 strain 92EgB7 (номер GenBank AF210791.1), Human herpesvirus 5 isolate Can4 (номер GeneBank AF309977.1)

Анализ последовательности генов *UL55*(gB) и *UL73*(gN) ЦМВ осуществляли с использованием алгоритма BLAST и пакета программ, представленных на сервере NCBI. Выравнивание последовательностей осуществляли с помощью программы CLUSTALX 2.0.

Дифференциацию кластеров проводили на основе сравнения уровня сходства нуклеотидных последовательностей, рассчитанного методом попарных дистанций (P-distans), как внутри, так и между отдельными кластерами. На основе выбранных последовательностей в программе MEGA-X (версия 10.2.6) были построены филогенетические деревья с использованием метода максимального правдоподобия (Maximum likelihood). При оценке различных моделей замены, наиболее подходящей оказалась K2 + G, т.к. имела самое низкое значение байесовского информационного критерия (BIC) [Dong N. et al., 2023]. Принадлежность изучаемых штаммов к филогенетическим линиям и сублиниям определяли на основе кластеризации изолятов на филогенетических деревьях с индексом поддержки узлов более 75 и высокого уровня сходства нуклеотидных последовательностей (98,5-100,0%) [Ванькова О. Е. и др., 2023, 2024].

Нуклеотидные последовательности фрагментов генома клинических изолятов ЦМВ, полученные в данной работе, размещены в базе данных GenBank под номерами: KP238130, KP260503–KP260506, OR54255–OR542558, PP997911–PP997918, PQ046717–PQ046733, PX926924–PX926935, PX951430–PX951435, PX964349 – PX964364.

2.7. Иммунологические исследования

Иммунологические исследования проводили с использованием ИФА тестов производства АО «Вектор-Бест» (Россия), включающих набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к цитомегаловирусу в сыворотке (плазме) крови «ВектоЦМВ – IgG» РУ № ФСР 2012/13834 и набор реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к цитомегаловирусу в сыворотке (плазме) крови «ВектоЦМВ – IgM» РУ № ФСР 2012/13931. Исследование индекса авидности IgG антител проводили с использованием набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-ЦМВ-G-АВИДНОСТЬ» производства ООО «НПО «Диагностические системы» (Россия). Материалом для исследования служили 90 образцов сыворотки крови, полученных от пациентов, перенесших трансплантацию органов.

2.8. Статистический анализ результатов

Статистический анализ полученных результатов выполняли с применением методов биостатистики. Качественные признаки (частоту выявления ДНК ЦМВ) представляли в виде относительных величин — долей (процентов) и их ошибок репрезентативности (% ± m). Оценку статистической значимости различий между сравниваемыми показателями частоты в группах проводили с использованием критерия хи-квадрат (χ^2) Пирсона (при объеме ожидаемых частот менее 5 применяли точный критерий Фишера). Различия считали статистически значимыми при уровне доверительной вероятности более 95% (критический уровень значимости $p < 0,05$). Статистический анализ проводили с помощью общепринятых алгоритмов в программах Microsoft office (Excel), пакета статистических программ Statz, Statistica 6,0, Biostat.

2.9. Нормативно-методические документы

При проведении исследований руководствовались следующими нормативно-методическими документами: СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», МУ 1.3.2569-09 от 29.12.2009 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности», МУ 4.2.2039–05 от

23.12.2005 г. «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», МУ 3.5.5.–1034–01 от 23.05.2001 г. «Обеззараживание исследуемого материала, инфицированного бактериями I – IV групп при работе методом ПЦР», приказом МЗ РФ № 380 от 25.12.97 «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения РФ», методическими рекомендациями (МР) «Герпесвирусная инфекция. Эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение» (М.–2007), Клинические рекомендации «Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) у взрослых» (Утв. МЗ РФ 30.12.2025 г.)

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Распространенность цитомегаловируса среди детей и взрослых реципиентов со́лидных органов

3.1.1 Частота выявления ДНК цитомегаловируса у детей

Данные о частоте обнаружения ЦМВ у детей и взрослых в работах отечественных и зарубежных авторов варьируют в диапазоне от 40 – 60% до 80% [Асранкулова Д. Б., 2020; Lisboa L. F. et al., 2012; Trincado D. E. et al., 2000; Al Mana H. et al., 2019; Бабаченко И. О., 2012]. Вероятно, такие различия могут быть связаны с выбором контингента обследуемых, биологического субстрата для исследования, используемых методов диагностики и географического региона.

Существует мнение, что для молекулярной детекции ЦМВ подходят пробы различных биологических жидкостей (кровь, моча, слюна, цервикальный секрет, СМЖ, жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ)) и тканей (биоптаты, операционный материал, аутоптаты) [Шахгильдян В. И. и др., 2011].

На первом этапе работы, с целью определения наиболее информативного биологического субстрата для выявления вируса было проведено исследование методом ПЦР проб, полученных от детей различных возрастных групп (n=2625) и взрослых (n=320), не имеющих в анамнезе диагноза «ЦМВИ». Исследовали отдельные пробы мочи, слюны, слезного отделяемого (смыв с конъюнктивы) и их сочетание, а также отдельно образцы крови и лейкоцитарной массы (Патент на изобретение №2271003 Российская Федерация, Мазепа В. Н. и др., 2006; автореферат докторской диссертации Мазепа В. Н. 2010).

Частота выявления ДНК ЦМВ в различных биологических жидкостях у детей составила в крови – 6,9±1,0%; слюне – 16,2±3,1%; слезном отделяемом (смыв с конъюнктивы) –12±5,6%; моче – 6,9±3,0%; в смеси субстратов (мочи, слюны, слезного отделяемого (смыв с конъюнктивы)) – 29±0,9 % [Ванькова О. Е. и др., 2016]. Частота выявления ДНК ЦМВ в биологических жидкостях у взрослых составила в крови – 1,6±0,7; слюне – 7,8±1,5; моче – 2,2±0,8; в смеси субстратов (мочи, слюны) – 10,6±1,7%.

При исследовании отдельных субстратов ДНК ЦМВ часто обнаруживалась в образцах слюны, реже в образцах крови. Как видно из данных, представленных в таблице 9, показатели частоты обнаружения ДНК ЦМВ в образцах смеси субстратов, были максимальными и составили 29,0±0,9% у детей и 10,6±1,7% у взрослых.

Таблица 9 – Частота выявления ДНК ЦМВ в различных субстратах у детей (n=2625) и взрослых (n=320)

Субстрат	Дети		Взрослые	
	Количество образцов (абс.)	Частота выявления (%±m)	Количество образцов (абс.)	Частота выявления (% ±m)
Кровь	2000	6,9±1,0	320	1,6±0,7
Слюна	2625	16,2±3,1	320	7,8±1,5
Слезное отделяемое (смыв с конъюнктивы)	2625	12,1±5,6	*	*
Моча	2625	6,9±3,0	320	2,2±0,8
Смесь субстратов (моча, слюна, слезное отделяемое (смыв с конъюнктивы)	2625	28,4±0,9	320	10,6±1,7

П р и м е ч а н и е * – образцы не отбирали

В соответствии с клиническими рекомендациями «Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) у взрослых (2025 г.)» наличие ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови является достоверным признаком активной репликации ЦМВ, а присутствие ДНК ЦМВ в слюне является лишь маркером инфицированности и не свидетельствует о клинически значимой вирусной активности. Наличие ДНК ЦМВ в моче доказывает факт заражения и определенную вирусную активность, но данный маркер не может быть единственным лабораторным критерием активной ЦМВИ и требует дополнительных исследований. Полученные нами результаты, согласуются с данными литературы и подтверждают высокую информативность образца, полученного путем объединения разных субстратов (Патент на изобретение №2271003 Российская Федерация, Мазепа В. Н. и др., 2006; автореферат докторской диссертации Мазепа В.Н. 2010 г.)

Манифестная ЦМВИ всегда ассоциирована с присутствием возбудителя в кровеносном русле [Cannon M. J., 2014]. Следует подчеркнуть, что четкие критерии оценки параметров циркуляции вируса в крови были предложены группой исследователей под руководством M. G. Revello еще в 2002 году. В соответствии с данными определениями, под виремией (вирусемией) понимается непосредственное нахождение вируса в крови, верифицируемое путем его репликации in vitro на диплоидных клетках человека или культуре фибробластов эмбриона. Антигенемия представляет собой выявление структурного белка оболочки вируса (pp65) в лейкоцитах периферической крови. В свою очередь, о развитии ДНК-емии свидетельствует обнаружение генетического материала ЦМВ в цельной крови (ее плазменной или лейкоцитарной фракциях) методом количественной ПЦР [Revello M. G., 2014].

В течение первого месяца с момента манифестации инфекционного процесса диагностическая значимость данных маркеров неодинакова: так, виремия позволяет выявить первичную форму инфекции в 25% случаев, антигенемия – в 50%, тогда как ДНК-емия обладает максимальной информативностью и регистрируется практически у 100% пациентов [Revello M. G. et al., 2008; 2014]. Согласно результатам других исследователей, ДНК вируса в крови у детей выявляется в 10–17% случаев, что служит маркером активной стадии инфекционного процесса [Chiopris G. et al., 2020]. После перенесенной первичной формы заболевания ДНК ЦМВ сохраняется в крови в среднем у 80% детей, а ее полная элиминация происходит в течение 12 месяцев после завершения острого периода [Sarkar A. et al., 2019].

Помимо крови, ЦМВ активно выделяется и с другими биологическими субстратами. В настоящее время приоритетным направлением является изучение возможностей ПЦР-скрининга слюны и мочи у новорожденных для диагностики врожденных форм ЦМВИ. В ряде научных работ доказано, что сам факт обнаружения ДНК ЦМВ в моче и слюне (даже без определения уровня вирусной нагрузки) достоверно указывает на наличие инфекции у данной группы пациентов [Климова Р. Р. и др., 2014; Razonable R. R. et al., 2020; Балашова Е. Н. и др., 2023].

Однако у детей старше 1 месяца однократной детекции ДНК вируса в слюне или моче без учета количественных показателей для постановки диагноза недостаточно, так как у клинически здоровых лиц частота вирусовыделения в этих субстратах может варьировать от 10% до 50%. Эта проблема остается дискуссионной; при этом получены данные о наличии прямой корреляции между уровнем вирусовыделения и серопозитивностью, а также обратной зависимости этого показателя от возраста пациента [Waters A. et al., 2014]. Частота выявления ДНК ЦМВ в образцах слюны у детей зависит от возраста обследуемого. По данным литературы, у детей в течение первого года жизни средние показатели вирусной нагрузки в слюне в 300 раз превышают аналогичные у детей в возрасте трех лет [Cannon M. J., 2014a; Ross S. A. et al., 2014].

Метод ПЦР-детекции ДНК ЦМВ с использованием смеси субстратов применили для изучения распространенности вируса среди детей, обратившихся в МО г. Нижнего Новгорода и Нижегородской области. Было проведено исследование образцов биоматериала от 2625 детей разных возрастных групп, не имеющих в анамнезе диагноза ЦМВИ. ДНК ЦМВ обнаружена в 745 случаях (28,4±0,9%) [Ванькова О. Е. и др., 2016, 2021].

Проведенные исследования выявили широкую распространенность ЦМВ у детей разных возрастных групп (рисунок 4). Высокие показатели частоты выявления ДНК ЦМВ отмечены в группе детей в возрасте 1 – 3 лет (56,4-58,5 %).

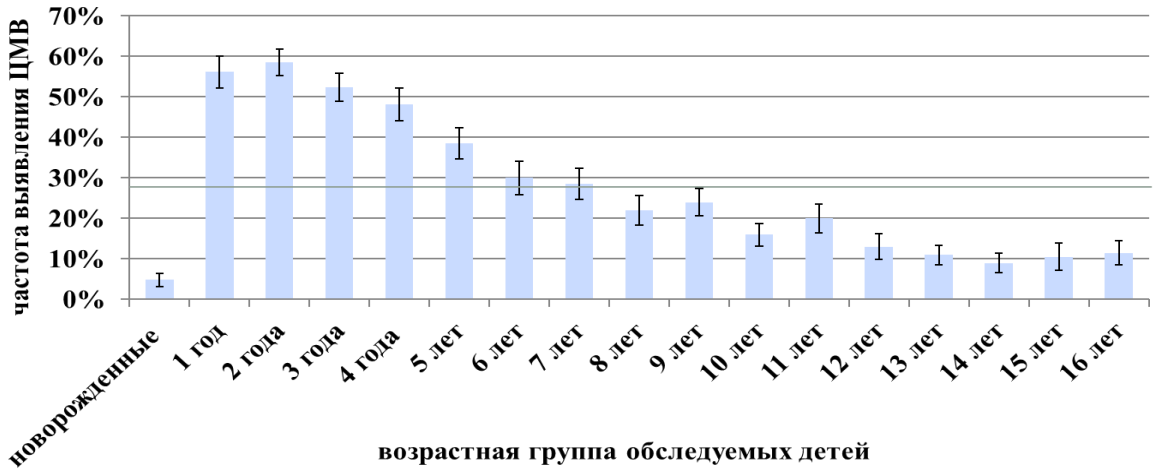


Рисунок 4 – Частота выявления ДНК ЦМВ у детей в возрасте от 0 до 16 лет, обратившихся в медицинские организации Нижнего Новгорода и Нижегородской области, (n=2625)

У детей в возрасте четырех лет и старше отмечено снижение показателей частоты обнаружения ЦМВ, частота выявления ДНК составила 9 – 11% (таблица 10) [Ванькова О. Е. и др., 2021].

Таблица 10 – Частота выявления ДНК ЦМВ у детей разных возрастных групп

Возраст (годы)	Число обследованных (абс.)	Частота выявления	
		абс.	%±m
новорожденные	188	9	4,8±1,6
1 год	156	88	56,4±3,9
2 года	224	131	58,5±3,3
3 года	210	110	52,4±3,4
4 года	149	72	48,3±4,0
5 лет	164	63	38,4±3,8
6 лет	120	36	30,0±4,2
7 лет	144	41	28,5±3,8
8 лет	128	28	22,0±3,7
9 лет	154	37	24,0±3,4
10 лет	168	27	16,0±2,8
11 лет	130	26	20,0±3,5
12 лет	160	21	13,1±3,2
13 лет	176	20	11,3±2,4
14 лет	144	13	9,0±2,4
15 лет	98	10	10,2±3,1
16 лет	112	13	11,6±3,0
Всего:	2625	745	28,4±0,9

Один из этапов работы заключался в оценке частоты выявления ЦМВ у детей с различными воспалительными заболеваниями органов дыхания, пищеварения, кроветворения, а также заболеваниями центральной нервной системы и с подозрением на внутриутробную инфекцию (ВУИ).

Всего обследовано 1284 пациента. ДНК ЦМВ в смеси субстратов обнаружена в среднем в 7,2% случаев и различалась в группах с заболеваниями различных органов [Ванькова О. Е. и др., 2021]. Частота обнаружения ЦМВ у детей с различными заболеваниями представлена в таблице 11.

Таблица 11 – Частота выявления ДНК ЦМВ у детей с различными заболеваниями (n=1284)

Заболевания	Число обследованных (абс.)	Частота выявления	
		абс.ч	%
Заболевания органов дыхания	**79**	**13**	**16,5±3,8**
ОРЗ/ОРВИ	22	2	
Бронхит	18	2	
Пневмония	20	4	
Астма	19	5	
Заболевания органов ЖКТ	**158**	**30**	**19,0±3,6**
Хронический эзофагит	32	6	
Хронический гастродуоденит	29	5	
Гастрит	25	2	
Гастроэнтерит	33	2	
Эрозивно-язвенные поражения слизистых ЖКТ	38	15	
Заболевания органов кроветворения (лейкозы)	**85**	**12**	**14,1±3,5**
Заболевания ЦНС	**98**	**5**	**5,1±2,2**
Энцефалопатия	17	3	
Гидроцефалия	12	0	
Микроцефалия	14	0	
Гнойный менингит	10	0	
Серозный менингит	15	1	
Менингоэнцефалит	8	0	
Эпилепсия	12	0	
Соматоформная вегетативная дисфункция	10	1	
Подозрение на ВУИ	**864**	**33**	**3,8±1,6**
Всего:	**1284**	**93**	**7,2±0,7**

Установлены достоверные различия частоты выявления репликации ЦМВ у детей с заболеваниями органов желудочно-кишечного тракта, дыхания, кроветворения, ЦНС и ВУИ. Как видно из данных, представленных в таблице 11, частота обнаружения ЦМВ у детей с воспалительными заболеваниями органов пищеварения составила 19,0 % [Ванькова О.Е., и др., 2021].

Частота выявления ДНК ЦМВ в группе детей с воспалительными заболеваниями органов пищеварения, дыхания и кроветворения была достоверно выше, чем в группах детей с патологией ЦНС (t=3,3) и подозрением на ВУИ (t=3,8). Полученные результаты соответствуют данным литературы [Cannon M. J. et al., 2005; Ssentongo P. et al., 2021; Rieder F. et al., 2013].

3.1.2 Частота выявления ДНК цитомегаловируса у взрослых пациентов, перенесших трансплантацию со́лидных органов

По данным литературы известно, что у пациентов, перенесших трансплантацию органов, частота выявления ЦМВ варьирует от 5% до 17%, в зависимости от длительности периода, прошедшего после операции [Carraro E., 2003; Görzer I. et al., 2010; Dieamant D. C. et al., 2013]. Причем, частота выявления возрастает по мере увеличения этого временного периода. Кроме этого, вероятность проявления ЦМВИ у реципиента органа возрастает в случае обнаружения ДНК ЦМВ у донора [Carraro E., 2003; Görzer I. et al., 2010; Dieamant D. C. et al.,2013].

В ходе работы было проведено исследование образцов биологических субстратов, полученных от 160 человек (77 мужчин и 83 женщины), перенесших трансплантацию печени (28) и почки (132), в возрасте от 22 до 64 лет. Средний возраст пациентов составил 43 года.

ПЦР детекция ЦМВ осуществлялась в образцах слюны, мочи и лейкоцитарной массы. Частота выявления ДНК вируса, выделенной из образцов смеси слюны и мочи, составила 41,8±3,8%, в образцах крови 18,1±3,0%, и достоверно выше, чем частота выяления ДНК вируса среди условно здоровых взрослых: 10,6±1,7% и 1,6±0,7 % соответственно. Полученные нами данные согласуются с данными литературы, что у здоровых серопозитивных по ЦМВ пациентов, вирус находится в латентном состоянии и ДНК вируса выявлется редко, в то время как у реципиентов орагнов, получающих иммуносупрессирующую терапию, вирус выходит из под Т-клеточного контроля и начинает активно реплицироваться [Carraro E., 2003; Gorzer I. et al., 2010; Dieamant D. C. et al., 2013; Khalafkhany D., 2016]. Частота выявления ДНК ЦМВ у пациентов, перенесших трансплантацию печени и почек, составила 28,6±3,6 % и 46,2±4,3%, соответственно [Ванькова О. Е. и др., 2022]. Для пациентов, у которых был выявлен вирус в лейкоцитах, проводилось определение титра геномных эквивалентов методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». В 14,3±2,8% и

19,7±3,0% случаев ЦМВ обнаруживался в крови в диагностически значимой концентрации ($1x10^6$– $1x10^9$ геномных эквивалентов на 10^5 лейкоцитов) (таблица 12) [Ванькова О.Е. и др., 2022].

Полученные нами результаты согласуются с данными литературы, в которых было показано, что частота выявления ДНК ЦМВ у пациентов, перенесших пересадку почки в возрасте до 65 лет, составляет 44,4 % [Leng S. X. et al., 2017; Hemmersbach-Miller M. et al., 2019; Hemmersbach-Miller M. et al., 2020].

Таблица 12 – Частота выявления ДНК ЦМВ у пациентов, перенесших пересадку органов

Пересаженный орган	Число обследованных (абс.)	Частота выявления ЦМВ (%±m)	
		в смеси субстратов	в лейкоцитарной массе
Почка	132	46,2±4,3	19,7±3,4
Печень	28	28,6±3,6	14,3±2,8
Всего:	160	43,1±3,9	18,8±3,1

П р и м е ч а н и е: $p < 0,05$

Анализ распространенности ЦМВ среди мужчин и женщин в сравнительном аспекте не выявил различий. Частота обнаружения ЦМВ в крови у мужчин после пересадки органов составила 20,0%, а у женщин – 20,8%, в образцах слюны и мочи у мужчин – 44,0%, у женщин – 41,5% [Ванькова О. Е. и др., 2022].

Частота встречаемости ЦМВ у пациентов, у которых с момента операции прошло от 1 до 12 месяцев, составила 40%, при этом у 24% вирус детектировался в лейкоцитарной массе. Среди пациентов, у которых с момента операции прошло от 1 года до 10 лет, частота встречаемости ЦМВ составила 55,0 % , у 16,0% из них вирус детектировался в лейкоцитарной массе. У пациентов, перенесших операцию по пересадке со́лидных органов более 10 лет назад, частота встречаемости ЦМВ составила 33,0%.

Полученные нами данные согласуются с данными других авторов, согласно которым, более 90% случаев заражения ЦМВ возникают в результате передачи вируса с трансплантантом, при этом в 50 – 60% случаев у серонегативных реципиентов развивается ЦМВИ [Котенко О. Н. и др., 2012; Grossi P.A. et al.,

2019; Counha L. et al., 2019]. Клиническое проявление инфекции развивается у 10 - 20% серопозитивных пациентов в зависимости от типа иммуносупрессирующей терапии. Согласно данным литературы, симптоматическая ЦМВИ встречается у 20 – 60% пациентов после трансплантации со́лидных органов, и является одной из главных причин заболеваемости и смертности среди данной категории пациентов. Колебание показателей частоты выявления ЦМВ связано с длительностью применения иммуносупрессивных препаратов, а также с различным подходом к диагностике заболевания. Особенно опасным считается первый триместр после трансплантации почки [Razonable R. R. et al., 2020; van der Heiden P. et al., 2018; Ильинский И. М. и др., 2007].

По данным литературы, в первые 6 месяцев после пересадки почки у 43,3% пациентов выявляется ЦМВ, а у 32,6% пациентов – клинические проявления заболевания [Cunha L. et al., 2019]. По мнению многих авторов, для диагностики ЦМВИ предпочтительными являются молекулярно-генетические методы, позволяющие дифференцировать форму заболевания (активную, характеризующуюся высокой вирусной нагрузкой, и латентную формы). Вместе с тем для объективной характеристики фазы ЦМВИ изолированное выявление нуклеиновых кислот целесообразно дополнять иммуноферментным анализом. [Cannon M.J. et al., 2014; Шахгильдян В. И., 2018; Razonable R. R. et al., 2020]. Так, показатель инфицированности населения ЦМВ в большинстве работ определяется по частоте обнаружения анти – ЦМВ IgG антител [Chan E. S. et al., 2024].

Нами были обследованы 90 пациентов, перенесших трансплантацию органов, на наличие антител классов IgG и IgM методом ИФА. Материалом для исследования служили образцы сыворотки крови как содержащие ДНК ЦМВ (n=53), так и не содержащие (n=37). Проведенные серологические исследования установили высокий уровень показателей серопозитивности обследуемых лиц. Антитела класса IgG к ЦМВ обнаружены у 98,8±3,2% пациентов среди которых были как ДНК-ЦМВ позитивные, так и лица, у которых вирусная ДНК методом ПЦР не определялась. Антитела класса IgM были выявлены у 12,2 ± 3,4%, при этом ДНК ЦМВ обнаружена у 36,6±14% IgM- позитивных пациентов. Среди IgM

– позитивных пациентов у троих было показано наличие ДНК вируса в клетках крови в диагностически значимом титре; у пяти – исследование на ДНК ЦМВ дало отрицательный результат. Полученные нами данные согласуются с результатами исследований, проведенных в 11 странах мира в период с 1988 г. до 2019 г., где было показано, что частота обнаружения анти – ЦМВ IgG антител варьирует от 8,7% до 99,2%. При этом у пациентов, перенесших пересадку органов или переливание крови, уровень инфецированности достигал 77%, а максимальные показатели инфицированности были зарегистрированы в возрастной группе старше 65 лет [Al Mana H. et al., 2019; Ванькова О. Е. и др., 2022].

Необходимо отметить, что для ЦМВИ не разработаны диагностические критерии оценки титров IgG-антител, поскольку их концентрация в сыворотке напрямую зависит от текущего состояния иммунной системы обследуемых лиц. Кроме того, нет доказательств прямой корреляции между ростом титра антител и интенсивностью репликации вируса в крови [Razonable R. R. et al., 2020]. ЦМВИ характеризуется нелинейной динамикой синтеза антител. В связи с этим наличие специфических IgM не может служить абсолютным критерием для разграничений стадий инфекционного процесса. Также сохраняется высокая вероятность получения ложноположительных результатов выявления IgM, обусловленных кросс-реактивностью с ревматоидным фактором класса М [Leruez-Ville M. et al., 2017; Torii Y. et al., 2019]. Для установления срока инфицирования и разграничения клинических форм заболевания (первичного заражения, реинфекции и реактивации вируса) приоритетным является тест на определение индекса авидности IgG-антител. В зависимости от данного показателя антитела разделяют на низко- и высокоавидные. Выявление низкоавидных IgG-антител указывает на первичное (недавнее) инфицирование. Наличие высокоавидных IgG свидетельствует о реинфекции или реактивации вируса. Обнаружение низких титров высокоавидных IgG-антител характерно для латентной фазы инфекционного процесса. Таким образом, оценка индекса авидности IgG-антител в сочетании с анализом других серологических маркеров (IgM) ЦМВИ позволяет

дифференцировать первичную инфекцию от реинфекции и реактивации [Алексеева М. Л. и др., 2010; Razonable R. R. et al., 2020; Chan E. S. et al., 2024].

Нами установлено, что все IgG-антитела в образцах от обследованных пациентов-реципиентов органов являются высокоавидными. Лишь у одного пациента были обнаружены низкоавидные IgG-антитела, что свидетельствует о первичной ЦМВИ, при первом тестировании ДНК цитомегаловируса у данного пациента не была обнаружена, при повторном же исследовании через пять месяцев было показано ее наличие [Ванькова О. Е. и др., 2022].

ЦМВИ у реципиентов со́лидных органов может проявляться в срок до шести месяцев после операции, но чаще в первые три месяца, что связано с высоким уровнем лекарственной иммуносупрессии в этот период [Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) у взрослых: Клинические рекомендации, 2025; Садовский Д.Н. и др., 2012; Razonable R. R. et al., 2020]. Рядом исследователей показано, что у реципиентов трансплантированных почек ЦМВИ характеризуется высоким процентом осложнений и высокой летальностью [Горяйнов В.А. и др., 2016].

Существует прямая корреляция между низкими титрами IgG-антител и отсутствием ДНК цитомегаловируса в биологических средах организма. Такое сочетание диагноситческих маркеров свидетельствует о латентном течении инфекционного процесса [Dollard S. C. et al., 2014]. Выявление же специфических IgM как в низких, так и высоких титрах далеко не всегда указывает на первичный характер инфекции. Это может быть обусловлено перекрестными реакциями с вирусом Эпштейна — Барр, наличием активной репликации других герпесвирусов, а также качеством используемых диагноситеческих тест-систем. Чувствительность и специфичность тестирования на анти-ЦМВ IgM может также зависеть от возраста, обследуемого [Dollard S. C. et al., 2014; Шахгильдян В. И. 2016]. В нашем исследовании участвовало 75% пациентов до 50 лет, и 25% старше 50 лет. Для всех возрастных категорий были показаны высокие показатели серопозитивности. При этом IgM-позитивные лица чаще регистрировались среди пациентов, перенесших трансплантацию в возрасте моложе 50 лет (64%). Анализ

результатов выявления анти-ЦМВ IgM и IgG у обследованных нами лиц не обнаружил существенных различий в зависимости от возраста [Ванькова О. Е. и др., 2022].

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить широкую распространенность ЦМВ среди детей и взрослых, в том числе у пациентов перенесших трансплантацию со́лидных органов [Ванькова О. Е. и др., 2021; 2022].

Было показано, что наиболее информативным образцом для выявления ЦМВ является смесь субстратов мочи, слюны и слезного отделяемого. Результаты проведенных исследований позволили установить частоту встречаемости ЦМВ у детей разного возраста. Установлены высокие показатели частоты выявления ДНК ЦМВ в группах детей в возрасте 1, 2 и 3 года (56,4±3,9, 58,6±3,3 и 52,4 ±3,4%, соответственно). У 4-х летних детей и детей старших возрастов отмечено снижение показателей частоты обнаружения ДНК ЦМВ. Частота выявления ДНК у детей старших возрастных групп (14 – 16 лет), варьировала от 9,0±2,4 до 11,5 ±3,0 %, что связано с укреплением иммунной системы у подростков [Ванькова О. Е. и др., 2016, 2021].

У пациентов, перенесших трансплантацию со́лидных органов, ДНК ЦМВ была обнаружена у 46,2±4,3% реципиентов почки, 28,6±3,6% – у реципиентов печени, 10,6±1,7% у условно здоровых взрослых. Следует отметить, что уровень серопозитивности у подавляющего большинства реципиентов со́лидных органов был достоверно высоким и составил 98,8±3,2% ($p \leq 0,05$). Антитела класса IgM были выявлены у 12,2±3,4%, при этом среди IgM позитивных пациентов не у всех была обнаружена ДНК вируса. Установлено, что IgG – антитела в образцах обследованных пациентов-реципиентов органов являлись высокоавидными и лишь у одного пациента были обнаружены низкоавидные IgG-антитела, что свидетельствовало о наличии у него первичной ЦМВИ [Ванькова О. Е. и др., 2022, 2023].

Выявленный в ходе нашего исследования высокий уровень инфицированности ЦМВ детского и взрослого населения, в частности, реципиентов со́лидных органов, послужил основанием для разработки

оптимального алгоритма генотипирования выявленных изолятов ЦМВ с целью их эпидемиологического маркирования, изучения спектра геновариантов и мониторинга смешанного инфицирования лиц из групп риска.

3.2 Разработка алгоритма генотипирования изолятов цитомегаловируса на основе секвенирования фрагментов генов *UL 55 и UL 73*

Для дифференциации штаммов цитомегаловируса зарубежные исследователи в качестве потенциальных эпидемиологических маркеров используют наиболее изученные гены ЦМВ: *UL55* gB, *UL73* gN, *UL73* gO, *UL144* – TNRF.

Учитывая, что большинство исследователей для генотипирования используют гены *UL55*(gB) и *UL73*(gN), а также тот факт, что разрабатываемые вакцины содержат рекомбинантный белок gB1, нами были выбраны и апробированы методом ПЦР на контрольном лабораторном штамме ЦМВ AD169 (ZeptoMetrix, США) несколько пар праймеров: для гена gB – 14 пар, для гена gN – 5 пар. Критерии отбора: соответствие праймеров анализируемой области гена, чистота нарабатываемого ПЦР фрагмента, оптимальная температура отжига праймеров, размер получаемого фрагмента. Характеристика последовательностей праймеров, опубликованных разными авторами, для генотипирования ЦМВ представлена в разделе «Материалы и методы» (таблица 5 и 6) [Ванькова О.Е. и др., 2022].

Для генотипирования по гену *UL55* (gB) рассматривали праймеры, предложенные шестью авторами. Все авторы в качестве целевого фрагмента для разделения генотипов предложили вариабельную область, расположенную на N конце белка gB. Из исследования были исключены пары праймеров, фланкирующие фрагменты размером 92 п.н., которые применялись отдельно для каждого gB варианта [Vries J. J.et al., 2012]. В этом случае, для каждого образца необходимо использовать четыре пары праймеров, что увеличивает продолжительность исследования. Такой подход оправдан при определении геновариантa методом ПЦР с электрофоретической детекцией

амплифицированных фрагментов в агарозном геле, но не подходит при определении геновариантов методом секвенирования, запланированном в нашем исследовании.

Нами был проведен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *UL55* (305 п.н.), фланкируемых праймерами, предложенными De Albuquerque D.M. с соавторами в 2003 г. (рисунок 5). Выбранная авторами вариабельная область расположена ближе к С-концу белка gB, причем нуклеотидные замены присутсвуют также и в местах посадки праймеров [Ванькова О. Е. и др., 2021; 2022; 2023].

Для оставшихся вариантов размер нарабатываемого фрагмента варьировал от 256 п.н. до 522 п.н. и захватывал примерно одну и ту же область, расположенную на N конце белка gB. Следует отметить, что пары праймеров для nested-ПЦР, предложенные Barbi M. с соавторами в 2001 г., захватывают область, предшествующую области гена *UL55*, и фланкируют самый большой фрагмент гена, равный 522 п.н.

На следующем этапе работы нами была откорректирована нуклеотидная последовательность F праймера для генотипирования по гену *UL55*(gB), предложенного Chou S. W. с соавторами в 1991 г., вариабельные нуклеотиды были заменены на вырожденные y (C/N) и v (A, C, G): 5’tggaa**y**t**v**gaacgtttggc 3’ [Ванькова О. Е. и др., 2023].

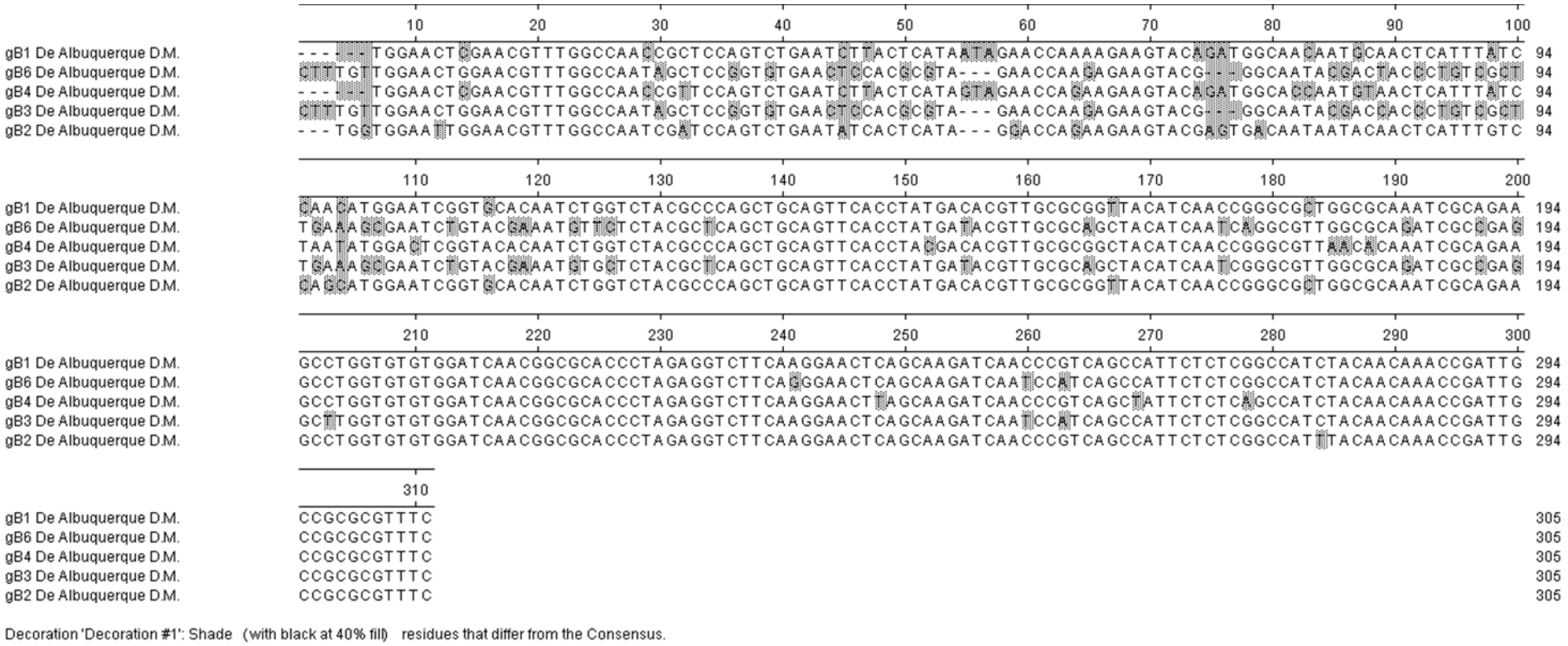
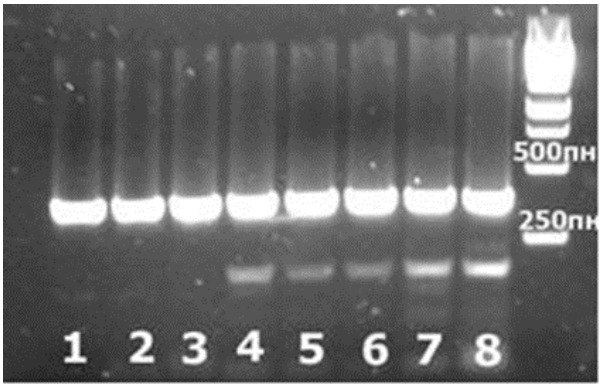


Рисунок 5 – Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *UL55* (gB) в анализируемой области. Анализ проведен с использованием пакета программ DNASTAR Lasergene 11 (США, 2018)

Все пары праймеров были апробированы на контрольном штамме ЦМВ AD169 и клинических образцах. Наилучшие результаты были получены при использовании праймеров, предложенных Chou S. W. с соавторами в 1991 г. (рисунок 6 и 7) [Ванькова О. Е., и др., 2023].



Примечание: треки 1 – 8 градиент температуры отжига праймеров от 60^0С до 50^0С с шагом 2^0С, трек 9 – маркер длины фрагментов (п.н.)

Рисунок 6 – Электрофореграмма продуктов амплификации, полученных на матрице контрольного образца ДНК ЦМВ AD169 с использованием праймеров для гена *UL55*(gB)

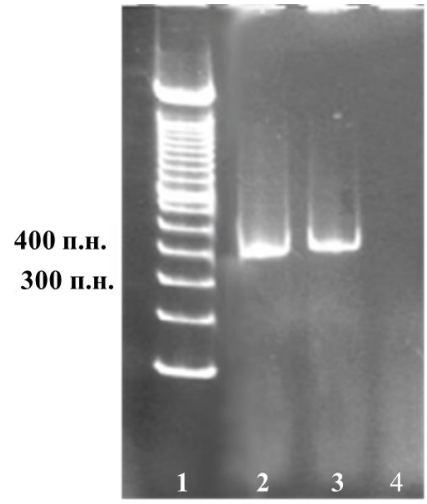
Результаты сравнения нуклеотидных последовательностей ДНК фрагментов выбранного для генотипирования гена *UL55*(gB) и референсных штаммов ЦМВ представлены на рисунке 7 [Ванькова О. Е. и др., 2022].

С целью выбора оптимальных праймеров для генотипировоания ЦМВ по гену *UL73* (gN) анализировали праймеры, предложенные тремя разными авторами. Праймеры, предложенные Lisboa L.F. с соавторами, (2012), были разработаны для проведения nested-ПЦР и при проверке оказались комплементарными области гена *UL72*, а не *UL73*, поэтому были исключены из анализа [Ванькова О. Е. и др., 2022]. Праймеры, предложенные Grosjean J. с соавторами, (2009), в целом, перекрывают ту же вариабельную область гена *UL73*, что и праймеры, предложенные Pignatelli S. с соавторами (2003), с небольшим отличием в области посадки праймера, и увеличением размера нарабатываемого фрагмента на 20 п.н.



Рисунок 7 – Сравнение референсных нуклеотидных последовательностей генома ЦМВ геновариантов gB в анализируемой области *UL 55* (1319 -1684 п.н.). Сравнение проведено с использованием пакета программ DNASTAR Lasergene 11 (США, 2018). Место посадки праймеров на последовательности гена *UL55* выделено светло-серым цветом

Сравнительный анализ работы праймеров на матрице ДНК контрольного образца ЦМВ AD169 и на клинических образцах показал, что эффективность выявления специфического фрагмента с использованием пары праймеров, предложенных Pignatelli S. с соавторами в 2003г., существенно выше (рисунок 8) [Ванькова О. Е. и др., 2023].



П р и м е ч а н и е: трек 1 – маркеры длины фрагментов в п.н.; треки 2-3 – положительные контрольные образцы, трек 4 – отрицательный контроль

Рисунок 8 − Электрофореграмма продуктов амплификации, полученных на матрице ДНК контрольного образца ЦМВ AD169, с использованием праймеров для гена *UL73* (gN)

По результатам проведенного исследования для генотипирования по гену *UL73* нами были предложены авторские праймеры, которые мы использовали в дальнейшей работе. На рисунке 9 представлены результаты сравнения референсных нуклеотидных последовательностей ДНК фрагментов гена *UL73*(gN) выбранной области. Следует отметить, что выбранные нами участки генов *UL55* и *UL73* характеризуются высоким уровнем вариабельности, это позволяет разделить изоляты на геновариванты, при этом в местах посадки праймеров количество замен минимально [Ванькова О. Е. и др., 2023].

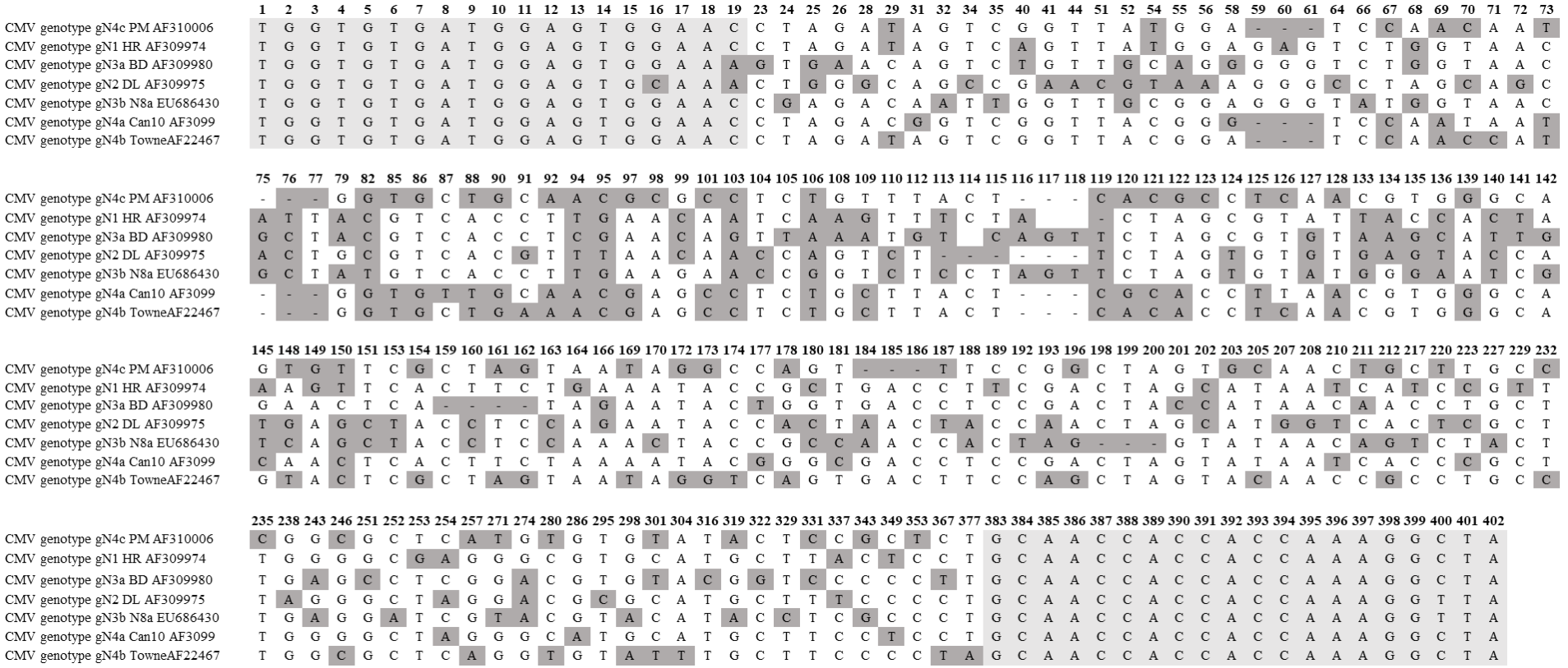


Рисунок 9 – Сравнение референсных нуклеотидных последовательностей генома ЦМВ разных геновариантов в анализируемой области гена *UL 73* (8–414 п.н.). Сравнение проведено с использованием пакета программ DNASTAR Lasergene 11 (США, 2018). Место мишени праймеров на нуклеотидные последовательности гена выделено светло-серым цветом

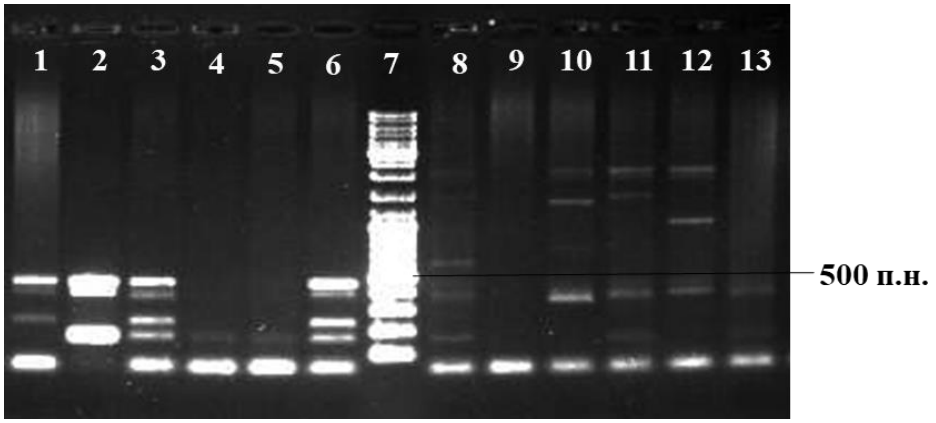
В таблице 13 представлены нуклеотидные последовательности выбранных для работы праймеров.

Таблица 13 – Нуклеотидные последовательности выбранных праймеров для генов *UL55* (gB) и *UL73* (gN)

Название праймера	Нуклеотидная последовательность прямого праймера (5’ – 3’)	Нуклеотидная последовательность обратного праймера (5’ – 3’)
праймер gB	tggaavtygaacgtttggc	gcaccttgacgctggtttgg
праймер gN	tggtgtgatggagtggaac	gcaaccaccaccaaaggcta
праймер gN *home*	agtcgattcggtcggtcaac	atgtaaaccttaccccgccg

Следующий этап работы заключался в подборе оптимальных условий постановки реакции и состава реакционной смеси для амплификации фрагментов генов *UL55* (gB) и *UL73* (gN) на образцах ДНК, выделенной из биологических субстратов детей и пациентов, перенесших пересадку органов. Учитывая данные литературы [Marti-Carreras J. et al., 2019, Ванькова О. Е. и др., 2017a] о низкой концентрации матрицы (ДНК ЦМВ) в клиническом материале, нами была проведена оценка способности полимераз различных производителей амплифицировать целевой фрагмент. В результате выполненной работы нами была выбрана полимераза Dreamtag (ThermoFisher scientific, США), которая позволила в первом раунде эффективно наработать детектируемое (видимое) количество целевого фрагмента.

Сравнение результатов амплификации с использованием двух полимераз Tersus и Dreamtag на матрице ДНК ЦМВ, выделенной из клинических образцов, представлено на рисунке 10.



П р и м е ч а н и е: треки 1 – 6 ампликоны, полученные с использованием полимеразы Tersus (Евроген, Россия); треки 8 – 13 ампликоны, полученные с использованием полимеразы Dreamtag (ThermoFicher, США); 7 – маркер длины фрагментов в п.н.

Рисунок 10 – Электрофореграмма продуктов амплификации после первого раунда. Сравнительный анализ работы двух полимераз на матрице ДНК ЦМВ, выделенной из клинических образцов, с использованием праймеров для гена *UL55*(gB), размер целевого фрагмента 365 п.н.

С целью увеличения концентрации специфического ампликона повторно проводили ПЦР с использованием тех же пар праймеров, но при более высокой температуре отжига с Taq полимеразой Tersus производства Евроген (Россия). Был определен следующий алгоритм наработки фрагмента для последующего этапа секвенирования: первый раунд амплификации с использованием полимеразы Dreamtag, затем образец (в количестве 5 мкл), полученный на первом этапе, служил матрицей для проведения второго раунда ПЦР с полимеразой Thersus (Евроген, Россия) с помощью тех же пар праймеров при более высокой температуре отжига. Выбранные условия проведения амплификации фрагментов ДНК ЦМВ представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Условия проведения амплификации фрагментов ДНК генов *UL55* и *UL73* ЦМВ

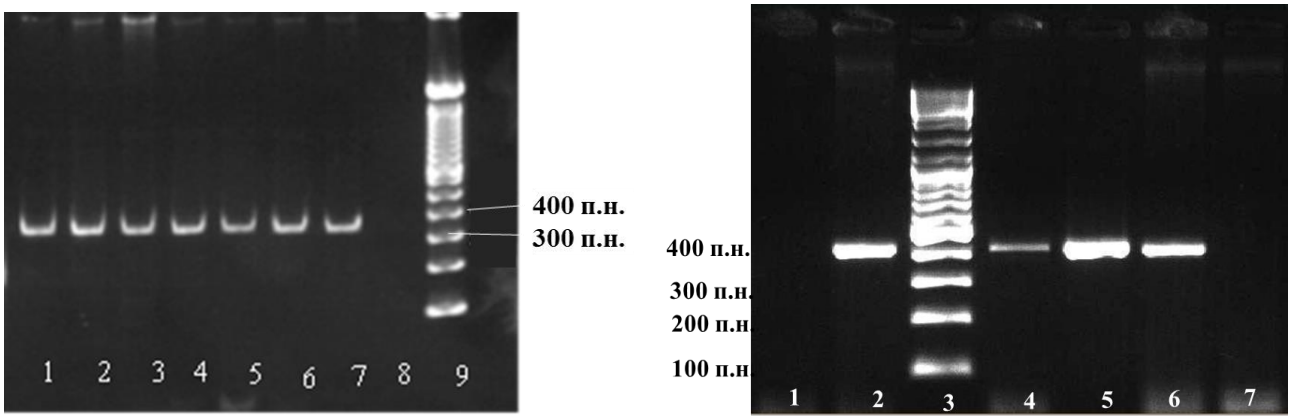
Ген	Размер амплифицируемого фрагмента (п.н.)	Условия проведения ПЦР (t – ^{0}C)	Время
1й раунд ПЦР			
UL55	366	95 ^{0}C– денатурация 55 ^{0}C– отжиг 72 ^{0}C– элонгация 40 циклов	30 сек 30 сек 1 мин
UL73	514	95 ^{0}C– денатурация 55 ^{0}C– отжиг 72 ^{0}C– элонгация 40 циклов	30 сек 30 сек 1 мин

Продолжение таблицы 14

Ген	Размер амплифицируемого фрагмента (п.н.)	Условия проведения ПЦР (t – ^{0}C)	Время
2й раунд ПЦР			
UL55	366	95 ^{0}C– денатурация 60 ^{0}C– отжиг 72 ^{0}C– элонгация 25 циклов	15 сек 15 сек 30 сек
UL73	514	95 ^{0}C– денатурация 60 ^{0}C– отжиг 72 ^{0}C– элонгация 25 циклов	15 сек 15 сек 30 сек

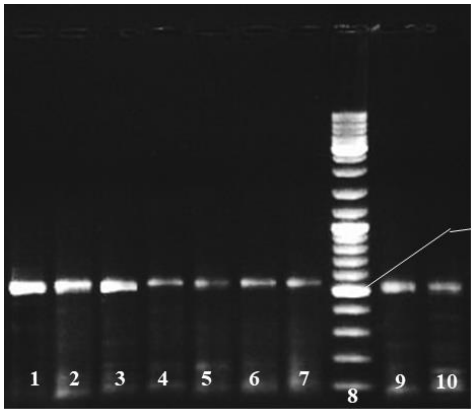
Результаты наработки фрагментов для генотипирования ЦМВ по генам *UL55* (gB) и *UL73* (gN) с использованием разработанного алгоритма представлены на рисунках 11 и 13.

А **Б**



П р и м е ч а н и е: А: треки 1-6 клинические образцы, трек 7 – положительный контрольный образец, трек 8 – отрицательный контроль, трек 9 – маркеры длины фрагментов в п.н.
Б: трек 1– отрицательный контроль, треки 2, 4-7 клинические образцы, трек 3 – маркеры длины фрагментов в п.н.

Рисунок 11 – Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК ЦМВ, полученных с использованием праймеров: А – gB для гена *UL55* (gB) на матрице ДНК ЦМВ, выделенной из клинических образцов, размер целевого фрагмента 365 п.н.; Б – gN для гена *UL73,* на матрице ДНК ЦМВ, выделенной из клинических образцов, размер целевого фрагмента 406 п.н.



П р и м е ч а н и е: треки 1–7, 9-10 клинические образцы, трек 8 – маркеры длины фрагментов в п.н.

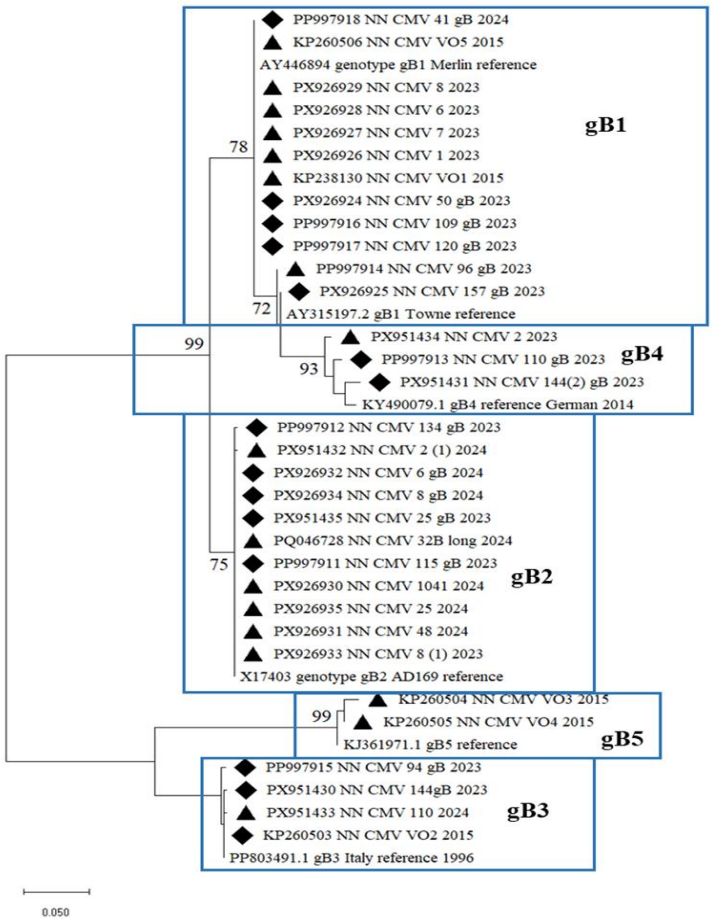
Рисунок 12 – Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК ЦМВ, полученных с использованием праймеров gN home для гена *UL73,* на матрице ДНК ЦМВ, выделенной из клинических образцов, размер целевого фрагмента 514 п.н.

Таким образом, в ходе исследования были выбраны и апробированы праймеры, подобраны оптимальные условия проведения амплификации фрагментов ДНК ЦМВ из клинического материала для последующего секвенирования, определен необходимый для исследования объем образца. Размер фрагментов генов, предназначенных для секвенирования составил для гена *UL55* (gB) 366 п.н., для гена *UL73* (gN) – 420 п.н. и 514 п.н.

3.3 Распределение gB- и gN- генотипов цитомегаловируса, выявленного у детей и взрослых реципиентов со́лидных органов

С использованием разработанного алгоритма генотипирования ЦМВ по генам *UL55* и *UL73* проведено изучение разнообразия gB и gN генотипов ЦМВ, выявленного у детей и иммунокомпрометированных взрослых [Ванькова О. Е. и др., 2024]. Из образцов биоматериала были получены 65 фрагментов ДНК (30 последовательностей из образцов биоматериала детей, 35 – из биоматриала взрослых) и определена их первичная структура. Идентификацию геновариантов ЦМВ проводили путем поиска близкородственных последовательностей с использованием онлайн-сервиса BLAST и сравнения исследуемой нуклеотидной последовательности с рефренсными генотиповыми последовательностями и

построения филогенетических деревьев. На рисунке 13 представален результат идентификации геновариантов ЦМВ по гену *UL55*.



П р и м е ч а н и е: цифры в узлах дерева обозначают уровень поддержки, полученный с помощью метода rapid bootstrap

Рисунок 13 – Филогенетическое дерево, построенное по алгоритму Maximum Likelihood на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена UL55(gB) ЦМВ, выявленного у взрослых реципиентов со́лидных органов (обозначены ромбом) и детей (обозначены треугольником) с референсными последовательностями

Для идентификации gB-генотипов ЦМВ использовали 7 референсных генотипспецифических последовательностей. Генотип gB установлен у 17 изолятов ЦМВ, выявленных у детей, и 15 изолятов, выявленных у взрослых реципиентов солидных органов. Спектр идентифицированных gB–генотипов ЦМВ у взрослых включал – 4 варианта (gB1, gB2, gB3, gB4), а у детей – 5 вариантов (gB1, gB2, gB3, gB4 и gB5) (рисунок 14)[Ванькова О. Е. и др., 2023].

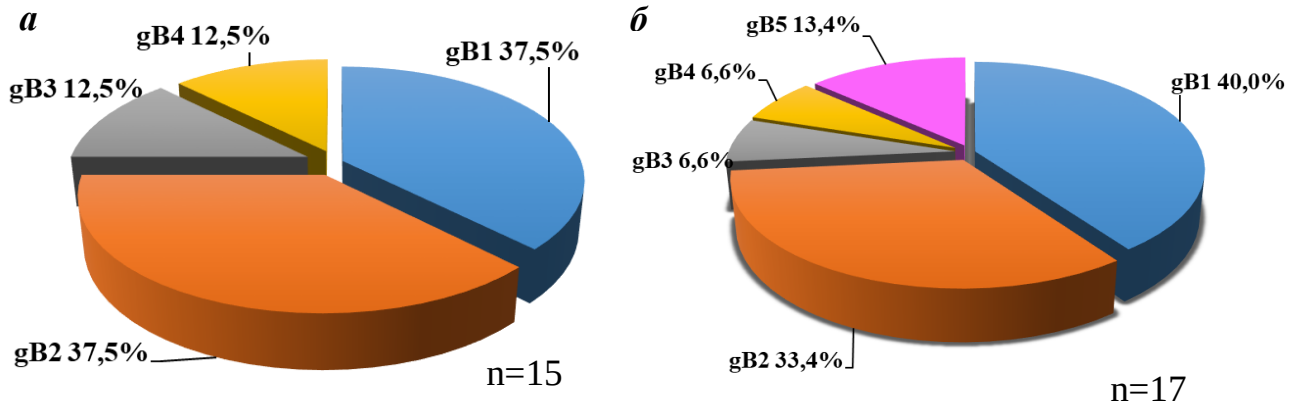
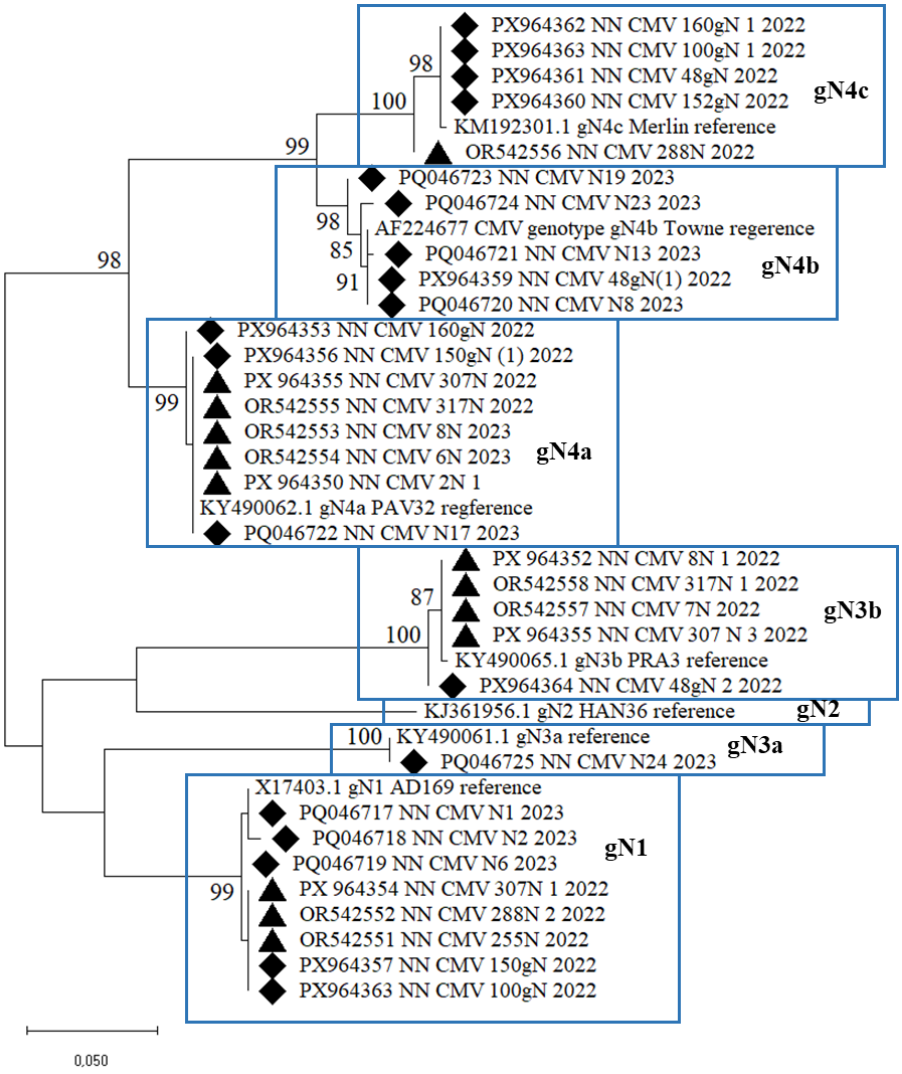


Рисунок 14 – Распределение gB–генотипов ЦМВ, обнаруженного у взрослых реципиентов солидных органов (*а*) и детей (*б*)

Как у детей, так и у взрослых в исследуемой выборке доминировал генотип gB1 (37,5% и 40,0%, соответственно), второе ранговое место занял генотип gB2 (37,5% и 33,3%, соответственно), варианты gB3 и gB4 были определены в единичных случаях. У детей также выявлен генотип gB5. Геновариванты gB-6 и gB-7 не были обнаружены. Следует отметить наличие смешанной ЦМВИ, обусловленной одновременным присутствием ЦМВ двух-трех генотипов, как у детей, так и взрослых [Ванькова О. Е. и др., 2024].

С использованием праймеров, специфичных в отношении gN–генотипов, были амплифицированы и секвенированы 19 фрагментов ДНК ЦМВ, обнаруженного у взрослых реципиентов солидных органов и 14 фрагментов ДНК ЦМВ, обнаруженного у детей. Результат идентификации генотипов ЦМВ по гену *UL73* представлен на рисунке 15.



П р и м е ч а н и е: цифры в узлах дерева обозначают уровень поддержки, полученный с помощью метода rapid bootstrap

Рисунок 15 – Филогенетическое дерево, построенное по алгоритму Maximum Likelihood на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *UL73(*gN) ЦМВ, выявленного у взрослых реципиентов со́лидных органов (обозначены ромбом) и детей (обозначены треугольником) с референсными последовательностями

Общий спектр идентифицированных gN–генотипов в анализируемой выборке был представлен 6 вариантами– gN1, gN3a, gN3b, gN4c, gN4a, gN4b. У взрослых реципиентов органов обнаружены все 6 генотипов ЦМВ, у детей – только 4 – (gN4a, gN3b, gN1, gN4c). Геновариантs gN3a и gN4b не выявлены. Следует отметить, что у детей и взрослых геновариант gN2 не был обнаружен. Показано наличие смешанного ЦМВ-инфицирования, обусловленного

одновременным присутствием 2-3 генотипов ЦМВ (рисунок 16) [Ванькова О.Е. и др., 2023, 2024].

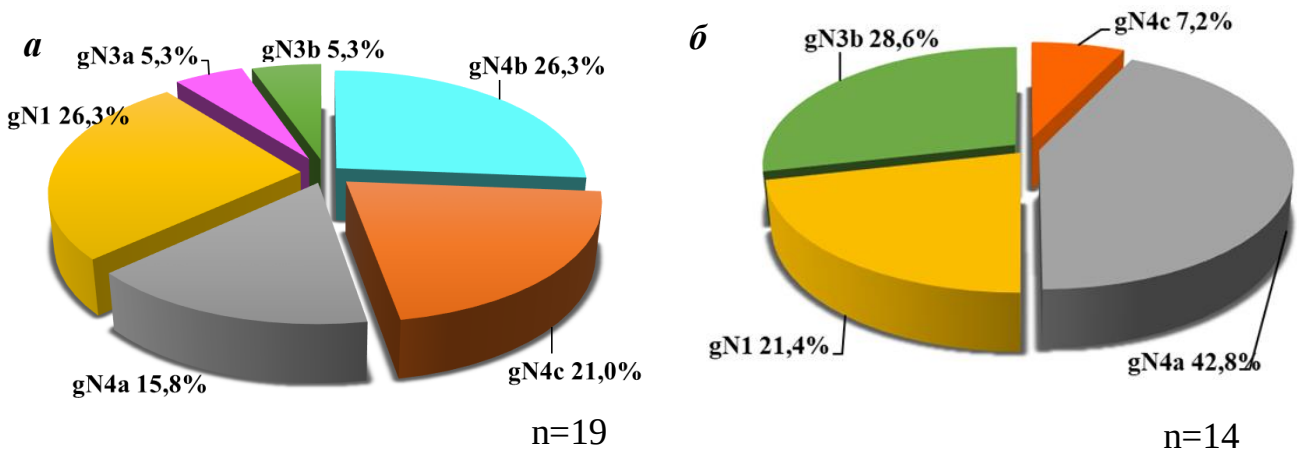


Рисунок 16 – Распределение gN–генотипов ЦМВ, обнаруженного у взрослых реципиентов органов (*а*) и детей (*б*)

Анализ распределения gB– и gN–геновариантов показал, что у детей доминировали геновариантыgB1 (40,0%), gB2 (33,3%), и gN4a (42,8%), при этом геновариант gB4 встречался только в ассоциации с gB2–вариантом [Ванькова О.Е. и др., 2023]. ГеновариантыgB6, gB7 не были обнаружены. У взрослых (реципиентов со́лидных органов) превалировали геновариантыgB1 (37,5%), gB2 (37,5%), gN1 (26,3%) и gN4b (26,3%). Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, которые показали, что в разных странах мира чаще всего превалируют геновариантыЦМВ gN1, а также gN4 и gN3 [Wang H. et al., 2021; Jankovića M. et al.,2020].

ГеновариантыgB1, gB2 и gB3 являются наиболее распространенными в странах Европы. Так, у пациентов с ослабленным иммунитетом, включая ВИЧ-инфицированных, наиболее часто встречался геновариант gB1, а среди пациентов, перенесших пересадку со́лидных органов, чаще обнаруживался геновариант gB2, при этом генотип gB4 присутствовал только в составе смешанной инфекции [Ciotti M. et al., 2017; Venturini C. et al., 2025].

Смешанная инфекция, обусловленная сочетанием двух и трех генотипов ЦМВ, была выявлена в 5 случаях у детей (gB4 и gB2; gB1 и gB2; gN3b и gN4a; gN1 и gN4a; gN4a, gN1 и gN3b), среди которых двое детей обратились в МО с

целью профилактического обследования, двое поступили с диагнозом лимфоаденопатия и один с диагнозом энцефалопатия. Также в 5 случаях смешанное инфицирование было выявлено у взрослых (gB4 и gB3; gN4c, gN4b и gN3b; gN4a и gN1; gN4c и gN1; gN4c и gN4a), среди них у двоих с момента операции прошел 1 месяц, у двоих с момента операции прошло 2 года и 7 лет и для одного пациента не было информации о дате операции. Сочетание трех генотипов ЦМВ обнаружено у пациента после пересадки печени, с момента операции прошел 1 месяц [Ванькова О. Е. и др., 2023]. По данным литературы, ЦМВИ, обусловленная вирусом двух и более генотипов, часто регистрируется у пациентов с иммунодефицитными состояниями различного генеза. При смешанной инфекции наблюдается более высокая вирусная нагрузка и для элиминации вируса требуется более продолжительный временной период [Manuel O. et al., 2009; Wu X. J. et al., 2013; Wang H. et al.,2021; Ванькова О. Е. и др., 2017a, 2023; 2024].

Сравнительный анализ распространенности различных геновариантов ЦМВ у детей и взрослых пациентов, перенесших пересадку органов, в разных странах мира и России по результатам собственных исследований, выявил сходство распределения геновариантов ЦМВ, циркулирующих в России, Китае и США [Ванькова О. Е. и др., 2023]. Следует отметить сходство спектров gB-геновариантов в исследуемых нами группах пациентов, исключение составил вариант gB5, который был выявлен у детей и отсутствовал у взрослых реципиентов органов. Геноварианты gB1 и gB2 доминировали как у детей, так и у взрослых, частота встречаемости других вариантов gB-геновариантов не имела существенных отличий. По данным литературы, геновариант gB1 превалирует у детей с врожденной ЦМВИ в США, Азии и большинстве стран Европы, а среди пациентов, перенесших пересадку органов, – в Канаде и Польше [Zawlinska B. et al., 2019; Puhakka L. et al., 2020; Manuel O. et al., 2009; Sarkar A. et al., 2019]. Кроме того, геновариант gB5 у детей с врожденной ЦМВИ был обнаружен в США и Индии, у взрослых реципиентов органов в минорных количествах он

был выявлен в Китае [Pati S. et al., 2014; Sarkar A. et al., 2019; Dong N. et al., 2023].

Публикации, посвященные типированию ЦМВ по гену *UL73*(gN), встречаются значительно реже, чем по гену *UL55*(gB). Вероятно, это связано с тем, что ген *UL73* является наиболее полиморфным среди генов, кодирующих поверхностные гликопротеины ЦМВ. Спектр геновариантов gN в исследуемых нами группах различался у детей и взрослых. Показано, что у детей доминировали геновариант gN4a и gN3b, а у взрослых реципиентов органов – варианты gN1 и gN4b. Следует отметить, что в публикациях зарубежных исследователей имеются противоречивые данные о распространенности разных геновариантов gN у детей и взрослых из групп риска. Ряд авторов считает, что геновариант gN равномерно распределены по всему миру, а другие отмечают географические различия в их распространенности [Venturini C. et al., 2025]. Так, по данным S. Pignatelli и соавт. (2004), в Италии у детей доминировали геновариант gN4c, gN1 и gN4a, а по данным китайских исследователей – варианты gN1 и gN3a; геновариант gN3b был обнаружен у детей в США [Pati S. et al., 2014;]. Таким образом, спектр геновариантов gN российских изолятов ЦМВ, выявленного у детей, близок спектру вариантов ЦМВ, циркулирующего в Италии и США. У пациентов – реципиентов органов, согласно данным литературы, в Китае и Сербии доминируют геновариант gN1 и gN3a [Wu X. J. et al., 2013; Jankovića M. et al.,2020]. Геновариант ЦМВ gN4b циркулировал только в Сербии. Следует отметить, что распределение геновариантов gN ЦМВ, выявленного у реципиентов со́лидных органов в проведенном нами исследовании, близко к спектру вариантов gN вируса, циркулирующего в Сербии. Изоляты с геновариантом gN3a встречались только у реципиентов со́лидных органов и не доминировали в популяции ЦМВ [Ванькова О.Е. и др., 2024]. Геновариант gN2 не был выявлен в исследуемых нами образцах. По данным литературы, геновариант ЦМВ gN2 преимущественно встречается в Северной Америке [Venturini C. et al., 2025].

Известно, что у пациентов с иммунодефицитными состояниями различного генеза часто регистрируется ЦМВИ, обусловленная одновременным присутствием двух и более геновариантов вируса [Wang H. et al., 2021]. Аналогичные результаты получены в настоящем исследовании. Так, у детей смешанная ЦМВИ выявлена в 5 случаях, у реципиентов органов тоже в 5 случаях [Ванькова О. Е. и др., 2023]. Следует отметить, что современные молекулярные технологии, такие как NGS, являются перспективными и высокоточными методами для оценки эволюционно-генетического разнообразия широкого спектра возбудителей инфекционных болезней, включая ЦМВ. Проведение таких исследований необходимо при обследовании лиц из групп риска по ЦМВ, т.к. ЦМВ-инфекция, обусловленная ассоциацией нескольких геновариантов ЦМВ, может протекать тяжелее и для элиминации вируса требуется больше времени [Ванькова О. Е. и др., 2023; 2024].

3.4 Филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей генов *UL55* (gB) и *UL73* (gN) цитомегаловируса

Для проведения филогенетического анализа из международной базы данных GenBank были отобраны нуклеотидные последовательности гена *UL55 (*gB) 9 референс-штаммов и 72 клинических изолятов ЦМВ, полученных в разных странах Европы (Германии, Франции, Италии, Бельгии, Великобритании), США, Мексике, Израиле, Африке (Замбия), а также гена *UL73* (gN) – 7 референс-штаммов и 40 клинических изолятов ЦМВ, циркулирующего в странах Европы (Германии, Италии, Испании, Бельгии, Великобритании, Нидерландов, Чешской Р.), США, Китае, Израиле, Африке (Замбия). Филогенетические деревья были построены на основе установленных в данной работе и депонированных в базе данных GenBank/NCBI нуклеотидных последовательностей генов *UL55* (gB) и *UL73* (gN) ЦМВ, выявленного у детей и взрослых реципиентов органов, в программе Мега X (версия 10.2.6) с использованием метода Maximum Likelihood (метод Максимального правдоподобия). Bootstrap-анализ осуществляли на основе 1000 репликаций. Принадлежность изучаемых изолятов вируса к филогенетическим линиям

определяли на основе их кластеризации на филогенетических деревьях с индексом поддержки узлов более 75 и высокого уровня сходства нуклеотидных последовательностей (98,5-100,0% для разных генов) [Ванькова О. Е. и др., 2024].

Филогенетический анализ позволил продемострировать генотипспецифическую кластеризацию нижегородских изолятов ЦМВ и оценить их внутригенотиповое разнообразие. Уровень сходства между отдельными кластерами геновариантов gB варьировал от 76,5 до 87,2 % н.о. (рисунок 17). С целью наглядного представления результатов, изоляты ЦМВ, циркулирующего в разных странах, на деревьях отмечены разным цветом.

Кластер, объединивший нижегородские изоляты ЦМВ генотипа gB1, выявленного у детей, разделился на два субкластера (рисунок 17А). Шесть из семи нижегородских изолятов выяленных у детей кластеризовались с референсным штаммом ЦМВ генотипа gB1 Merlin (Acc AY446894) и изолятами из стран Европы (Италия, Чехия, Германия), Великобритании и Израиля [Ванькова О. Е., и др., 2021]. Один нижегородский изолят вместе с изолятами ЦМВ выявленными во Франции, США и Великобритании, образовали субкластер с референсным штаммом ЦМВ генотипа gB1– Towne (Acc AY315197.2) с уровнем поддержки узла 98,0%. Уровень идентичности внутри группы варьировал от 97,8 до 100,0% н.о., а с другими кластерами – от 81,9 до 96,5% н.о. [Ванькова О.Е. и др., 2024].

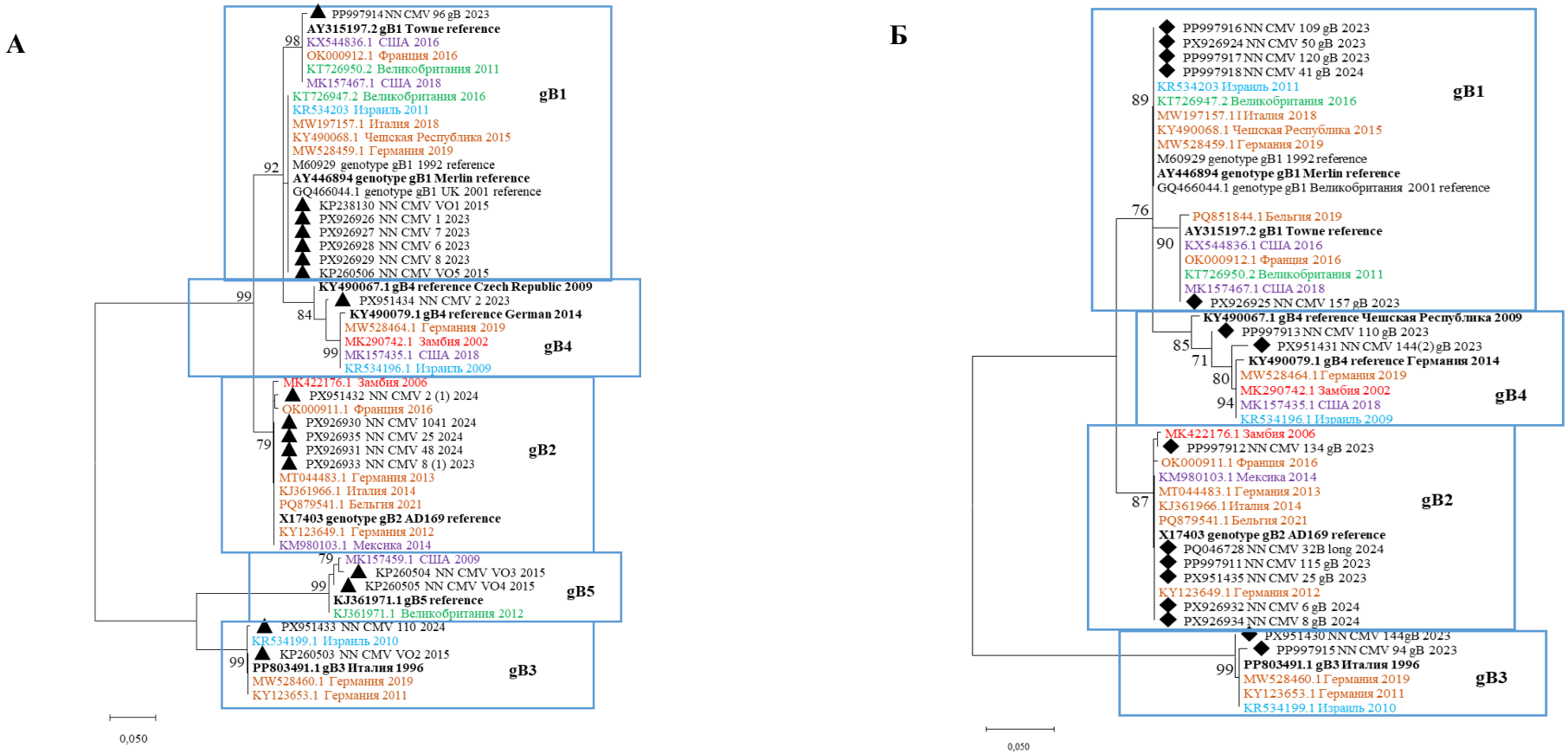
Изоляты ЦМВ генотипа gB1, обнаруженного у взрослых реципиентов, также разделились на 2 субкластера (рисунок 17Б). Четыре нижегородских изолята кластеризовались с референсным штаммом ЦМВ генотипа gB1 Merlin (Acc AY446894) и изолятами из стран Европы (Италия, Чехия, Германия), Великобритании и Израиля. В то время, как другой нижегородский изолят ЦМВ и изоляты из стран Европы (Бельгия, Франция), Великобритании и США образовали субкластер с другим референсным штаммом ЦМВ генотипа gB1 – Towne (Acc AY315197.2) с уровнем поддержки узла 90,0%.

Исследуемые изоляты ЦМВ генотипа gB2**,** обнаруженного у детей, образовали общую группу с изолятами ЦМВ из стран Европы, уровень

гомологии внутри группы составил 98,8 – 100,0% н.о. (рисунок 17А). Однако gB2 изоляты ЦМВ, выявленного у реципиентов со́лидных органов, разделились на две сублинии: 5 изолятов проявили генетическое родство с вариантами ЦМВ, циркулирующими в мире; один изолят сформировал отдельную ветвь с изолятом, выявленным в Африке (Замбия) и отличался от изолятов ЦМВ, взятых из международной базы GenBank, при их сравнении с другими кластерами, сходство варьировало в пределах от 83,0 до 96,5% н.о. (рисунок 17Б) [Ванькова О. Е. и др., 2024].

Исследуемые изоляты ЦМВ генотипа gB3 образовали общую группу с изолятами из стран Европы (Германия и Италия) и Израиля, уровень гомологии внутри группы составил 96,0 – 99,4% н.о. Изоляты ЦМВ генотипа gB4, обнаруженного как у детей, так и взрослых, имели высокий уровень гомологии нуклеотидных последовательностей с изолятами вируса, циркулирующего в Чешской Республике (уровень гомологии н.п. составил 98,0%) и сформировали отдельные линии от изолятов ЦМВ, выявленного в США, Израиле, Германии и Африке (Замбия). Уровень гомологии нуклеотидных последовательностей внутри генотипа gB4 варьировал от 98,0 до 100,0% н.о. Идентичность с другими кластерами составила 81,9 – 96,0 % н.о. (рисунки 17А и 17Б). Особый интерес представляли обнаруженные у нижегородских детей варианты ЦМВ, принадлежащие генотипу gB5. Показан высокий уровень (98,5 – 99,1% н.о.) их идентичности внутри группы с изолятами из США и Великобритании (рисунок 17А).

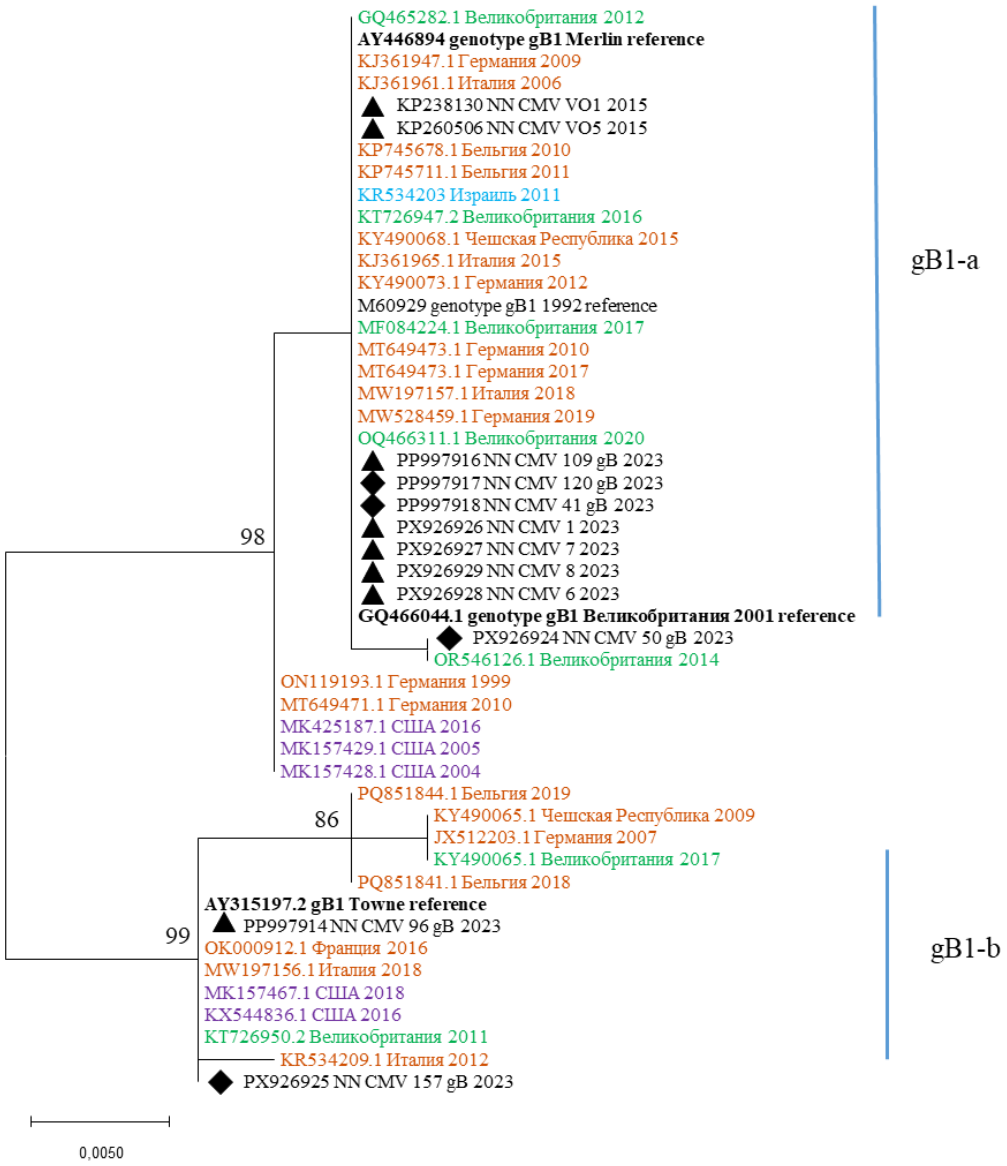
Для установления филогенетических взаимоотношений между нижегородскими изолятами ЦМВ доминирующего генотипа gB1, обнаруженного у детей и взрослых реципиентов солидных органов, дополнительно было построено дерево на основе объединенных нуклеотидных последовательностей.



П р и м е ч а н и е: цифры в узлах дерева обозначают уровень поддержки, полученный с помощью метода rapid bootstrap. Цветовое обозначение стран: Израиль, Страны Европы, Африка, США и Мексика, Великобритания

Рисунок 17 – Филогенетическое дерево, построенное по алгоритму Maximum Likelihood на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *UL55*(gB) ЦМВ, обнаруженного у детей - А (нижегородские последовательности обозначены треугольником) и взрослых-реципиентов со́лидных органов - Б (нижегородские последовательности обозначены ромбом)

Как следует из данных, представленных на рисунке 18, топология дерева с высокими индексами поддержки включает два субкластера, формирующихся на основе разных референсных штаммов – Merlin и Towne, которые мы условно обозначили, соответственно, gB1-a и gB1-b. Субкластер gB1-a сформирован европейскими изолятами из разных стран (Германия, Бельгия, Италия, Великобритания, Чехия) и нижегородскими изолятами ЦМВ, выявленного и у детей и у взрослых.



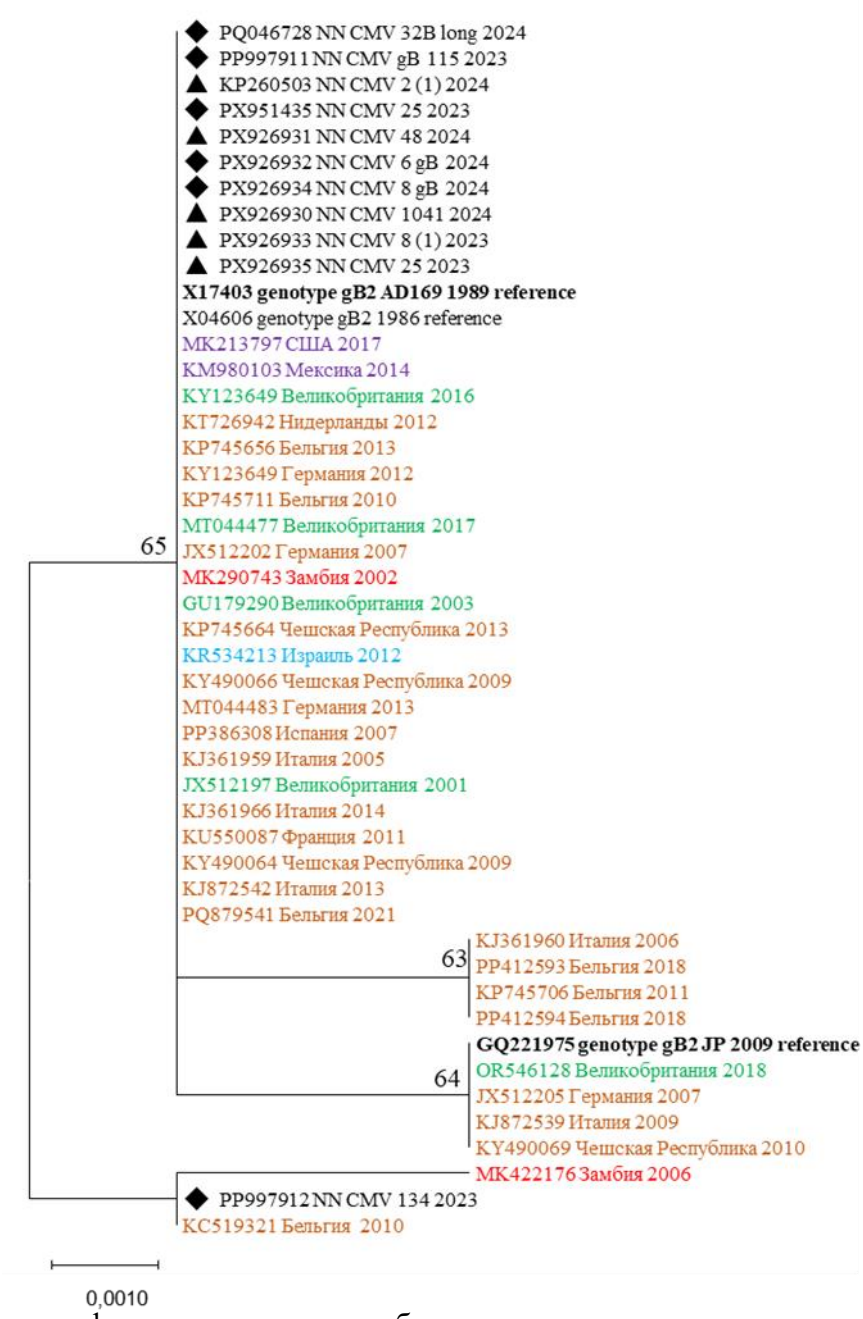
П р и м е ч а н и е: цифры в узлах дерева обозначают уровень поддержки, полученный с помощью метода rapid bootstrap. Цветовое обозначение стран: Израиль, Страны Европы, Великобритания, США

Рисунок 18 – Филогенетическое дерево, построенное по алгоритму Maximum Likelihood на основе нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *UL55* генотипа gB1 ЦМВ, выявленного у детей (обозначены треугольником) и взрослых реципиентов со́лидных органов (обозначены ромбом)

Второй субкластер (gB1-b) объединяет два нижегородских изолята ЦМВ генотипа gB1, обнаруженного у детей и взрослых, и изоляты ЦМВ из разных стран мира (США, Франция, Италия, Великобритания) с уровнем гомологии внутри группы 99,0%.

С целью проведения расширенного филогенетического анализа нижегородских изолятов ЦМВ геновариантa gB2 из международной базы GenBank были дополнительно выбраны соответствующие нуклеотидные последовательности гена *UL55* вируса, циркулирующего в мире (рисунок 20) [Ванькова О. Е. и др., 2021, 2024].

Из данных, представленных на рисунке 19, следует, что нижегородские варианты ЦМВ gB2, выявленные у детей и взрослых, образуют единый монофилетический кластер с изолятами ЦМВ из разных стран мира, несмотря на уровень поддержки ниже 70%. При этом, некоторые европейские изоляты также кластеризовались отдельно, однако уровень поддержки оказался также низким, менее 70,0%. Один нижегородский изолят ЦМВ gB2, выявленный у взрослого реципиента солидных органов, образовал общий кластер с изолятами, циркулирующими в Бельгии и Африке, уровень идентичности составил 99,0%.



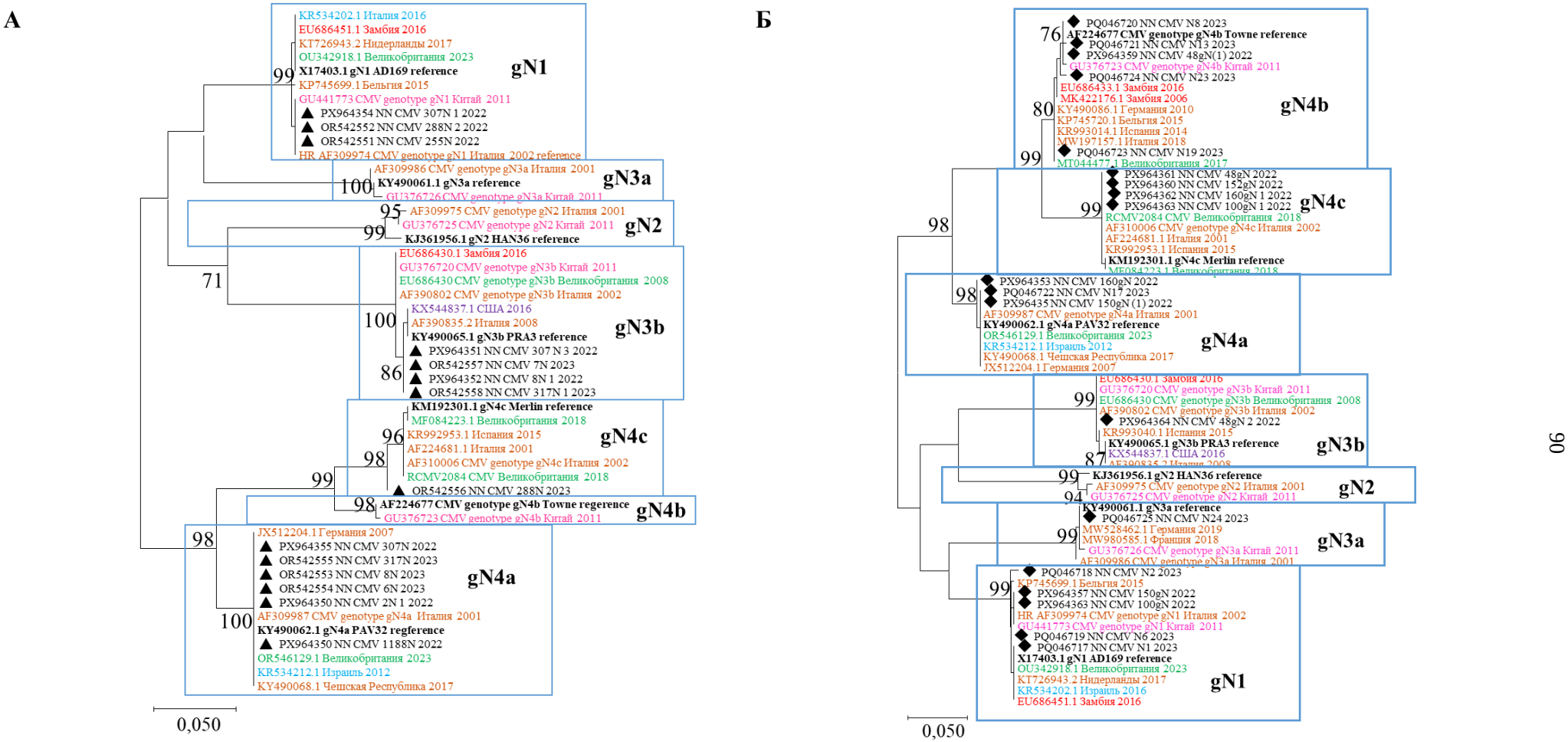
П р и м е ч а н и е: цифры в узлах дерева обозначают уровень поддержки, полученный с помощью метода rapid bootstrap. Цветовое обозначение стран: Израиль, Страны Европы, Великобритания, США и Мексика, Африка

Рисунок 19 – Филогенетическое дерево, построенное по алгоритму Maximum Likelihood на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *UL55*(gB) ЦМВ геновариантa gB2, выявленного у взрослых реципиентов со́лидных органов (обозначены ромбом) и детей (обозначены треугольником)

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *UL73* (gN) показал, что уровень идентичности между отдельными кластерами варьировал от 74,8 до 87,7% н.о. Нижегородские изоляты ЦМВ генотипа gN4c,

выявленного у детей и взрослых, образовали общую группу с изолятами вируса, циркулирующего на территории Великобритании и Италии, уровень гомологии внутри группы составил 99,8 – 100,0% н.о. Нижегородские изоляты ЦМВ генотипа gN3b вошли в общую группу с изолятами ЦМВ, циркулирующего в странах Африки, Европы, Китае и США [Ванькова О. Е. и др., 2021], уровень гомологии нуклеотидных последовательностей внутри каждой группы составил 99,8 – 100,0 % н.о. Также установлен высокий уровень гомологии (99,5 – 100,0% н.о.) исследуемых нами изолятов вируса генотипа gN4a, выявленного у детей и взрослых, с вариантами ЦМВ, циркулирующими в странах Европы, Израиле и Великобритании (рисунки 20А и 20Б) [Ванькова О. Е. и др., 2023, 2024].

Варианты ЦМВ генотипов gN4b и gN3a, выявленных у взрослых реципиентов со́лидных органов, образовали общую группу с вариантами, выделенными в странах Европы, Африки и Китае. Уровень сходства внутри группы варьировал в пределах 93,4 – 100,0% н.о. (рисунок 20Б). Изоляты ЦМВ генотипа gN1, обнаруженного как у детей, так и взрослых, характеризовались высоким уровнем идентичности (99,7 – 100,0%) нуклеотидных последовательностей гена *UL73* и образовали общую группу с изолятами ЦМВ, полученными в Китае, странах Еропы и Израиле (рисунки 20А и 20Б) [Ванькова О. Е. и др., 2023, 2024].



П р и м е ч а н и е: цифры в узлах дерева обозначают уровень поддержки, полученный с помощью метода rapid bootstrap. Цветовое обозначение стран: Израиль, Страны Европы, Африка, США и Мексика, Великобритания, Китай

Рисунок 20 – Филогенетическое дерево, построенное по алгоритму Maximum Likelihood на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *UL73*(gN) ЦМВ, обнаруженного у детей - А (нижегородские последовательности обозначены треугольником) и взрослых - реципиентов со́лидных органов - Б (нижегородские последовательности обозначены ромбом)

Таким образом, филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73* показал, что исследуемые нижегородские нуклеотидные последовательности распределились по кластерам, соответствующим определенным генотипам ЦМВ, где сходство нуклеотидных последовательностей не зависит от географического положения изолята вируса. Российские (нижегородский регион) нуклеотидные последовательности гена *UL55* кластеризовались с последовательностями 5-ти генотипов, определенными во многих странах мира, в основном в Европе, Великобритании и США [Ванькова О.Е. и др., 2024].

В нашем исследовании установлено, что нижегородские варианты ЦМВ, относящиеся к генотипу gB1, образовали два субкластера. Один субкластер формировался нижегородскими последовательностями, идентифицированными как у детей, так и у взрослых, и последовательностями гена *UL55* ЦМВ, циркулирующего в разных странах Европы. Второй субкластер объединил нижегородские последовательности и *UL55*-последовательности ЦМВ, циркулирующего в разных странах мира (США, Франция, Италия, Великобритания) [Ванькова О. Е. и др., 2024].

Проведенный филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *UL73* продемонстрировал наличие общих кластеров, объединивших нижегородские изоляты ЦМВ и изоляты ЦМВ, циркулирующего в разных странах Европы, США, Израиле и Китае [Ванькова О. Е. и др., 2021, 2022].

Сравнительный анализ распространенности геновариантов gB и gN ЦМВ показал, что предпочтительным является способ генотипирования ЦМВ по гену *UL55*. Следует отметить, что поверхностный гликопротеин gB, как мишень для нейтрализующих антител и цитотоксических Т-клеток, является основным компонентом при разработке вакцин. Как эпидемиологический маркер он интересен еще и тем, что участвует не только в процессе проникновения вируса в клетку, но и в распространении вируса от клетки к клетке [Ye L. et al., 2020; Ванькова О. Е. и др., 2024].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цитомегаловирусная инфекция остается одной из ведущих проблем современного здравоохранения. Она представляет собой серьезную медико-социальную и экономическую проблему в связи с высокой инфицированностью как детского, так и взрослого населения. Заболевание характеризуется выраженным полиморфизмом клинических проявлений, а также многообразием путей и факторов передачи возбудителя. Серьезной проблемой является заражение ЦМВ пациентов, относящихся к группам риска. ЦМВИ имеет самый высокий удельный вес среди врожденных инфекций. Несмотря на высокую медицинскую и социальную значимость, в Российской Федерации отсутствуют системы эпидемиологического надзора и контроля за ЦМВИ в том виде, в каком они традиционно разработаны для других актуальных инфекций. Официальная регистрация ЦМВИ в РФ ведется с 1993 года в рамках федерального статистического наблюдения (форма № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях»). При этом до сих пор отсутствует всеобщий обязательный скрининг на ЦМВ среди беременных женщин и новорожденных, а тестирование донорской крови носит селективный характер, за исключением обязательного обследования доноров органов, тканей и гемопоэтических стволовых клеток.

В современных зарубежныах исследованиях особое внимание уделяется молекулярному генотипированию возбудителя и оценке патогенетической роли его полиморфных вариантов в формировании различных клинических фенотипов ЦМВИ. Полиморфные гены используются как эпидемиологический маркер при изучении циркуляции вируса в человеческой популяции. Всемирной организацией здравоохранения признана приоритетной задача разработки вакцины для профилактики врожденной ЦМВИ. В качестве целевой группы для вакцинации международными экспертами рассматриваются женщины фертильного возраста, в первую очередь — серонегативные до зачатия. Однако, по мнению многих авторов, эффективный препарат должен не только

предотвращать первичное инфицирование во время беременности, но также защищать иммунокомпрометированных лиц от эндогенной реактивации или суперинфекции другими штаммами ЦМВ. Таким образом, при создании универсальной вакцины необходимо учитывать широкий спектр геновариантов ЦМВ и региональные особенности их циркуляции. В этом аспекте исследования, посвященные изучению разнообразия геновариантов и характеристике генотиповой структуры популяции цитомегаловируса, циркулирующего среди населения одного из регионов Центральной России, являются чрезвычайно актуальными.

В России масштабные работы по генотипированию ЦМВ до настоящего времени не проводились, в основном, исследования направлены на изучение клинических и патогенетических аспектов ЦМВИ среди различных групп населения. Только в последние годы стали появляться работы по исследованию устойчивости клинических изолятов ЦМВ к ганцикловиру, и по исследованию генотипового разнообразия вируса.

Результаты проведенных исследований позволили установить распространенность ЦМВ у детей различных возрастов. Высокие показатели частоты выявления ДНК ЦМВ отмечены в группе детей в возрасте от 1 до 3 лет (56,0–59,0%). У 4-х летних детей и детей старших возрастов установлено снижение частоты выявления ДНК, которая составила 8,0-11,0%. Показатели частоты обнаружения ЦМВ у детей с различными заболеваниями органов дыхания, пищеварения, ЦНС, кроветворения варьировали от 3,8±3,6% до 19,0±3,6%.

Частота выявления ДНК ЦМВ у пациентов, перенесших трансплантацию печени и почек, составила 28,6±3,6% и 46,7±3,9% соответственно. При этом в 72,4% ±5,4% случаях у ЦМВ-позитивных лиц зарегистрирована диагностически значимая концентрация (10^6 - 10^9 копий ДНК ЦМВ/мл пробы) ДНК ЦМВ в образцах лейкоцитарной массы, что говорит о наличии острой формы инфекции. Частота обнаружения ДНК ЦМВ у здоровых взрослых составила 10,6%. Уровень серопозитивности у подавляющего большинства реципиентов со́лидных органов

оказался высоким и составил 98,8±3,2%. Антитела класса IgM выявлены методом ИФА у 12,2±3,4%, при этом не у всех IgM позитивных пациентов была обнаружена вирусная ДНК.

Проведена сравнительная оценка различных методических подходов к генотипированию ЦМВ на основе генов *UL55* и *UL73*. На основании анализа данных литературы были выбраны и апробированы на контрольном штамме ЦМВ AD169 несколько пар праймеров: для гена *UL55 (*gB) – 14 пар, для гена *UL73* (gN) – 5 пар. В ходе исследования были предложены 3 пары авторских праймеров для типирования ЦМВ по генам *UL55 (*gB) и *UL73* (gN), подобраны оптимальные условия проведения ПЦР, определен необходимый для исследования объем образца.

В результате секвенирования фрагмента (365 п.н.) гена *UL55* (gB) выявлено пять генотипов ЦМВ, циркулирующего среди детей – gB1, gB2, gB3, gB4 и gB5. Геноварианты вируса gB6, gB7 не обнаружены. Следует отметить, что наиболее часто встречались варианты ЦМВ генотипов gB1 и gB2. В результате секвенирования фрагмента (514 п.н.) гена *UL73* (gN) ЦМВ у детей идентифицированы геноварианты четырех генотипов: gN4c, gN4a, gN3b, gN1c, с доминированием генотипа gN4a. В 16% случаях у детей была установлена смешанная инфекция, обусловленная сочетанием двух и трех геновариантов. Обнаружены следующие варианты микст инфекции: gB4 и gB2; gB1 и gB2; gN3b и gN4a; gN1 и gN4a; gN4a, gN1 и gN3b.

В группе пациентов, перенесших трансплантацию со́лидных органов, обнаружен ЦМВ генотипов gB1, gB2, gB3, gB4, с превалированием gB1 и gB2 также, как у детей. Нуклеотидные последовательности ЦМВ генотипа gB1, как у детей, так и у взрослых, на филогенетическом дереве сформировали два субкластера с уровнем различия 2,0%. Анализ результатов секвенирования фрагмента гена *UL73* ЦМВ, выявленного у пациентов-реципиентов со́лидных органов, позволил обнаружить следующие геноварианты gN1, gN3a, gN3b, gN4a, gN4b, gN4c. У некоторых реципиентов печени была обнаружена ЦМВИ, обусловленная одновременным присутствием двух и трех вариантов вируса*:*

gN4c, gN4b и gN3b; gN4a и gN1; gN4c и gN1; gN4c и gN4a. Установлено доминирование геновариантов двух генотипов gN1 и gN4b у реципиентов сóлидных органов, что согласуется с данными литературы. Также в 25% случаев установлено смешанное инфицирование, обусловленная сочетанием двух и трех геновариантов: gB4 и gB3; gN4c, gN4b и gN3b; gN4a и gN1; gN4c и gN1; gN4c и gN4a

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *UL55* ЦМВ, выявленного как у детей, так и у взрослых реципиентов солидных органов, в России (нижегородский регион) и в разных странах мира, позволил установить, что большинство российских изолятов ЦМВ образовали общую группу с изолятами ЦМВ, циркулирующего на территории Европы, Великобритании и США, уровень идентичности внутри группы составил 98 – 100,0%. Показано, что внутри геновариант gB1 нижегородские изоляты ЦМВ образовали два субкластера, в один из которых вошли нижегородские и циркулирующие в Европе и Израиле варианты вируса, а второй кластер объединил два нижегородских изолята и изоляты, полученные в США, Франции, Италии, Великобритании (уровень гомологии внутри группы составил 99,0%). Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *UL73* изолятов ЦМВ, обнаруженного у детей и взрослых пациентов-реципиентов сóлидных органов, показал, что российские изоляты образовали общие группы с изолятами, из Европы, Великобритании, США и Китая, степень сходства внутри групп варьировала от 99,5 до 100,0%.

Таким образом, в нашем исследовании показано, что на территории нижегородского региона циркулируют варианты ЦМВ, имеющие близкое родство с циркулирующими в странах Европы, США, Великобритании и Китае.

Результаты проведенных исследований позволили получить новые знания о генотипной структуре популяции ЦМВ, циркулирующего на территории центральной России (нижегородский регион), необходимые для оценки и прогнозирования эпидемиологической ситуации и разработки комплекса мер для эпидемиологического контроля ЦМВИ, а так же оценить целесообразность

использования на территории России разрабатываемых за рубежом вакцин против этой инфекции. Кроме этого, полученные результаты в дальнейшем послужат основой для разработки отечественных вакцин и иммунобиологических препаратов. Впервые показано, что у реципиентов со́лидных органов зачастую регистрируется ЦМВИ, обусловленная ассоциацией различных геновариантов ЦМВ, что существенно влияет на тяжесть течения инфекции и на выбор этиотропной терапии пациента.

Использование NGS-технологии для изучения генетического разнообразия цитомегаловируса дает возможность оптимизировать молекулярный мониторинг возбудителя цитомегаловирусной инфекции, проводить динамический контроль беременных, новорожденных, и пациентов с различными видами иммунодефицитных состояний, прогнозировать эпидемиологическую ситуацию по цитомегаловирусной инфекции, а также послужит основой для разработки комплекса мер для эпидемиологического контроля за ЦМВИ.

Результаты выполненных исследований использованы при разработке информационно-методического письма «Новые данные о распространенности различных генотипов цитомегаловирусов среди населения Нижнего Новгорода» (направлено в Роспотребнадзор, Исх. № 969 от 31.10. 2017 г.).

Полученные нуклеотидные последовательности фрагментов генома российских 65 изолятов *Cytomegalovirus* депонированы в международную базу GenBank под номерами KP238130, KP260503–KP260506, OR54255–OR542558, PP997911– PP997918, PQ046717–PQ046733, PX926924–PX926935, PX951430–PX951435, PX964349 – PX964364.

ВЫВОДЫ

1. Установлена высокая частота выявления ДНК цитомегаловируса в группе детей от 1 до 3 лет (56,0-59,0%). Частота обнаружения ДНК цитомегаловируса у пациентов, перенесших трансплантацию печени и почек, составила 28,6±3,6% и 46,2±3,9%, соответственно, у здоровых взрослых - 10,6±1,7%.

2. Разработан алгоритм NGS-типирования цитомегаловируса по генам *UL55* (gB) и *UL73* (gN) с использованием усовершенствованных и авторских праймеров, соответственно, включающий этап увеличения концентрации фрагментов для секвенирования за счет введения второго раунда ПЦР в оптимизированных условиях проведения реакции.

3. Определены спектры gB и gN генотипов ЦМВ, циркулирующего среди детей и взрослых нижегородского региона, с использованием предложенного алгоритма генотипирования. Показано, что в группе обследованных детей доминируют генотипы gB1, gB2 и gN4a, в группе взрослых пациентов, перенесших трансплантацию со́лидных органов, превалируют: gB1, gB2, gN1 и gN4b. В 16% случаях у детей и 25% взрослых обнаружена цитомегаловирусная инфекция, обусловленная ассоциацией двух, реже трех геновариантов.

4. Показано филогенетическое родство нижегородских вариантов ЦМВ, выявленного у детей и иммунокомпрометированных взрослых, и вируса, циркулирующего в странах Европы, США, Африки, Китае (идентичность н.п. 96,0–100,0%).

5. Установлено, что нижегородские варианты цитомегаловируса доминирующего генотипа gB1 сформировали внутригенотиповые субкластеры с уровнем различий 2%. Один субкластер включал европейские нуклеотидные последовательности и последовательности цитомегаловируса, обнаруженного у детей и взрослых пациентов в нижегородском регионе. Второй субкластер объединил последовательности генома цитомегаловируса, обнаруженные в нижегородсоком регионе, и последовательности из разных стран мира (США, Франция, Италия, Великобритания) с уровнем гомологии внутри группы 99,0%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения качества диагностики ЦМВИ, эффективного контроля групп риска и разработки комплекса мер для эпидемиологического надзора за данной инфекцией рекомендуется осуществлять исследования, направленные на изучение распространенности различных геновариантов цитомегаловируса у детей и взрослых. Сведения о генетическом разнообразии ЦМВ, циркулирующего на территории Российской Федерации, необходимы для мониторинга смешанного инфицирования лиц из групп риска, создания вакцин и иммунобиологических препаратов, а также для оценки целесообразности использования в России разрабатываемых за рубежом вакцин против данной инфекции.

2. Информирование практикующих врачей о современных возможностях лабораторной диагностики ЦМВИ, включая определение геновариантa вируса, необходимо для оптимизации системы мониторинга циркуляции ЦМВ.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективным научно-практическим направлением дальнейших исследований является молекулярно-биологический мониторинг актуальных изолятов и геновариантов ЦМВ. Немаловажное значение имеет продолжение комплексного анализа генетического полиморфизма ЦМВ, циркулирующего в Российской Федерации. Систематизация данных о молекулярно-генетической гетерогенности вирусной популяции может послужить теоретической основой для разработки системы эпидемиологического надзора за ЦМВИ, а также для детерминации мишеней при создании отечественной вакцины против этого вируса.

В перспективе планируется создание базы данных полных нуклеотидных последовательностей генома российских изолятов цитомегаловируса, циркулирующего среди населения Приволжского федерального округа.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

а.о. – аминокислотные остатки

БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж

БАЛЖ – жидкость бронхоальвеолярного лаважа

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВУИ – внутриутробная инфекция

ДВС синдром – синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИФА – иммуноферментный анализ

кб – килобазы

МО – медицинские организации

МР – методические рекомендации

н.о. – нуклеотидные основания

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

п.н. – пары нуклеотидов

п.о. – пары оснований

ПФО – Приволжский Федеральный Округ

РИФ – реакция иммунофлуоресценции

СМЖ – спинномозговая жидкость

т.п.н. – тысяч пар нуклеотидов

ЦМВ – цитомегаловирус

ЦМВИ – цитомегаловирусная инфекция

ЦНС – центральная нервная система

BIC – Bayesian Information Criterion (байесовский информационный критерий)

HSV – Herpes Simplex Virus (Вирус простого герпеса)

HLA-I – главный комплекс гистосовместимости I

ICTV – International Committee on Taxonomy of Viruses (Международный комитет по таксономии вирусов)

NGS – Next Generations Sequencing (массовое параллельное секвенирование)

nested-ПЦР – вложенная ПЦР или гнездовая ПЦР

НК – клетки – естесственные киллеры или натуральные киллеры

ORF – open reading frame (открытая рамка считывания)

TORCH – аббревиатура из первых букв наиболее часто встречающихся внутриутробных инфекций (Toxoplasmosis – Other (микоплазма, сифилис, гепатиты, стрептококки, кандида) – Rubella – Cytomegalovirus – Herpes)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеева М. Л. Подходы к диагностике цитомегаловирусной инфекции в акушерстве и неонатологии / М. Л. Алексеева, А. Н. Екимов, В. Е. Екимова [и др.] // Проблемы репродукции. – 2010. – № 5. – С. 52–56.

2. Асранкулова Д. Б. Беременность и острая цитомегаловирусная инфекция / Д.Б. Асранкулова // Re-Health Journal. – 2020. – № 2-2(6). – С. 1–4. – DOI: 10.24411/2181- 0443/2020-10039. – EDN PYTTJS

3. Бабаченко А. В. Цитомегаловирусная инфекция у часто болеющих детей / А. В. Бабаченко, О. В. Мельник, А. С. Левина // Лечение и профилактика. – 2012. – № 3 (4). – С. 19–24.

4. Балашова Е. Н. Врожденная цитомегаловирусная инфекция (клинические рекомендации) / Е. Н. Балашова, В. В. Васильев, Н. П. Вайнштейн [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2023. – Т. 11. – № 4 (42). – С. 68–87. – DOI: 10.33029/2308-2402-2023-11-4-68-87. – EDN: SMQCPI.

5. Ванькова О. Е. Различные подходы к генотипированию цитомегаловирусов / О. Е. Ванькова, Н. Ф. Бруснигина, Г. И. Григорьева // Современные технологии в эпидемиологическом надзоре за актуальными инфекциями : Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 95-летию со дня рождения академика РАМН И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, 25 мая 2016 года / Редакционная коллегия: Е.И. Ефимов, Г.И. Григорьева, Н.Н. Глухов, Е.Н. Филатова, В.В. Королева. – Нижний Новгород: Растр-НН, 2016. – С. 136-140. – EDN VXAFDR.

6. Ванькова О. Е. / Генетическое разнообразие цитомегаловирусов / О.Е. Ванькова, Н.Ф. Бруснигина // Журнал инфектологии. – 2017.– Т. 9. – № 2. – С. 5 – 12. DOI: 10.22625/2072-6732-2017-9-2-5-12

7. Молекулярное типирование цитомегаловирусов, циркулирующих среди населения Нижнего Новгорода / О. Е. Ванькова, А. Е. Алексеева, Н. Ф. Бруснигина [и др.] // Молекулярная диагностика 2017 : сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием,

Москва, 18–20 апреля 2017 года. Том 2. – Москва: ООО фирма «Юлис», 2017а. – С. 310-311. – EDN ZOIGVF.

8. Ванькова О. Е. К вопросу генотипирования цитомегаловирусов / О. Е. Ванькова, Н. Ф. Бруснигина, Г. И. Григорьева // Журнал МедиАль. – 2017б. – № 2(20). – С. 65-72. – EDN ZSSCIX.

9. Ванькова О. Е. Молекулярная и филогенетическая характеристика изолятов цитомегаловируса, выделенных у детей Нижнего Новгорода / О.Е. Ванькова, Н. Ф. Бруснигина // ЗНиСО. – 2021. – № 4 (337). – С.25-30 DOI: 10.35627/2219-5238/2021-337-4-25-30

10. Ванькова О. Е. Генотипирование клинических изолятов цитомегаловируса, выделенных у реципиентов со́лидных органов/ О.Е. Ванькова, Н.Ф. Бруснигина // Инфекция и иммунитет. – 2022. – Том 12. – №1. – С. 59-68 DOI: 10.15.15789/2220-7619-GCC-1653

11. Ванькова О. Е. NGS технология в мониторинге генетического разнообразия штаммов цитомегаловируса./ О.Е. Ванькова, Н.Ф. Бруснигина, Н.А. Новикова // Современные технологии в медицине. – 2023. – Том 15. – №2. – С. 41 DOI: 10.17691/stm2023.15.02.04

12. Ванькова О. Е. Распространение и филогенетический анализ геновариантов цитомегаловируса (Orthoherpesviridae: Betaherpesvirinae: Cytomegalovirus: Human betaherpesvirus 5) у детей и иммунокомпромисных пациентов в центральной части России / О.Е. Ванькова, Н.Ф. Бруснигина, Н. А. Новикова // Вопросы вирусологии. – 2024. – 69(6). – С. 535 –545 DOI: 10.36233/0507-4088-277

13. Васильев В. В. Клинические рекомендации и реальная клиническая практика в диагностике и лечении цитомегаловирусной инфекции у беременных и новорожденных / В. В. Васильев, В. Н. Тимченко, Архипова О. А. [et al.] // Журнал инфектологии. – 2021. – Т. 13. – № 4. – С. 112–119.

14. Воронцова Ю. Н. Сравнительный анализ клинических и лабораторных характеристик врожденной цитомегаловирусной инфекции у недоношенных

детей / Ю. Н. Воронцова, Н. Н. Володин [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2004. – № 2. – С. 60–65.

15. Горяйнов В. А. Резистентная цитомегаловирусная инфекция у реципиентов аллогенных почек от родственных доноров / В. А. Горяйнов, М. М. Каабак, Н. Н. Бабенко [и др.] // Терапевтический архив. – 2016. – № 6. – С. 73–76. DOI: 10.17116/terarkh201688673-76

16. Гусейнова З. Н. Серологические и молекулярно-биологические маркеры цитомегаловирусной инфекции у женщин в городе Баку / З. Н. Гусейнова // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. – 2024. – Т. 16. – № 1. – С. 297-305. – DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-1-1066. – EDN SLHQNL.

17. Демин М. В. Цитомегаловирус после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: реактивация или реинфекция новым штаммом? / М. В. Демин, Д. С. Тихомиров, Б. В. Бидерман [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2021. – Т. 23. – № 2. – С. 138-145. – DOI: 10.36488/cmac.2021.2.138-145. – EDN BJPJKZ.

18. Демин М. В. Мутации в гене UL97 цитомегаловируса (Herpesvirales: Herpesviridae: Cytomegalovirus: Human betaherpesvirus 5), ассоциированные с устойчивостью к ганцикловиру, у реципиентов аллогенных стволовых гемопоэтических клеток / М. В. Демин, Д. С. Тихомиров, Б. В. Бидерман [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2022. – Т. 67. – № 1. – С. 37–47. DOI: 10.36233/0507-4088-90

19. Дмитраченко Т. И. Реактивация цитомегаловирусной инфекции у пациентов в критическом состоянии / Т. И. Дмитраченко, В. В. Горбачев, В. М. Семенов [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2018. – Т. 17. – № 3. – С. 25–37. DOI: 10.22263/2312-4156.2018.3.25

20. Дьячук Е. В. Клинико-лабораторная характеристика цитомегаловирусной инфекции у беременных и детей первого года жизни : автореф. дис. канд. мед. наук : 14.01.09 / Дьячук Елена Владимировна ; [Место защиты: ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ]. – Санкт-Петербург, 2012. – 17 с.

21. Дубаносова Е. Ю. Распространенность цитомегаловирусной инфекции среди подростков в Российской Федерации: результаты одномоментного популяционного анализа серопревалентности / Е. Ю. Дубаносова, Л. С. Намазова-Баранова, Е. А. Вишнева [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2021. – Т. 18. – № 6. – С. 451–459. DOI: 10.15690/pf.v18i6.2297.

22. Иванова В. В. Инфекционный мононуклеоз: клиника, патогенез, новое в диагностике и терапии / В. В. Иванова, Г. Ф. Железникова, О. А. Аксенов [и др.] // Инфекционные болезни. – 2004. – № 4. – С. 5–12. DOI: 10.12737/5932

23. Иголкина А. А. Распределение генотипов цитомегаловируса, циркулирующих среди новорожденных детей Санкт-Петербурга / А. А. Иголкина, А.В. Кусакин, И.В. Маркин [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2026. – Т. 16. – №1. – С. 105-116. DOI: 10.15789/2220-7619-DOC-17814

24. Избранные вопросы терапии инфекционных больных: руководство для врачей: учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей / Ю. В. Лобзин, В. С. Антонов, В. Н. Болехан [и др.]. – Санкт-Петербург : Фолиант, 2005. – 912 с. ISBN 5-93929-108-2. — Текст : электронный //Лань : электронно-библиотечная система. — URL: ttps://e.lanbook.com/book/70482 (дата обращения: 25.03.2025)

25. Ильинский И. М. Цитомегаловирусная инфекция у больных после трансплантации почки / И. М. Ильинский, И. Д. Ротова // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2007. – № 9. – С. 56–66.

26. Исаков В. А. Герпесвирусные инфекции человека / В. А. Исаков, Е. И. Архипова, Д. В. Исаков. – 2-е изд., перераб. и доп. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2013. – 670 с. : ил. — ISBN 9785299004540

27. Климова Р. Р. Частота обнаружения маркеров герпесвирусных инфекций у часто болеющих детей с острой респираторной инфекцией / Р. Р. Климова, Н. В. Околышева, Е. В. Чичев [и др.] // Педиатрия. – 2014. – Т. 93. – № 1. – С. 44–49.

28. Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) у взрослых : клинические рекомендации : ID 1009_1 / Министерство здравоохранения Российской

Федерации, Российское общество акушеров-гинекологов, Национальная ассоциация специалистов по инфекционным болезням имени академика В. И. Покровского. – 2025. – 72 с. – URL: https://endoexpert.ru/dokumenty-i-prikazy/tsmvi-2027/. – Текст : электронный.

29. Кочкина С. С. Цитомегаловирусная инфекция у детей / С. С. Кочкина, Е. П. Ситникова // Детские инфекции. – 2016. – № 1. – С. 39–44.

30. Котенко О. Н. Валганцикловир в профилактике цитомегаловирусной инфекции после трансплантации со́лидных органов / О. Н. Котенко, Н. Ф. Фролова // Клиническая фармакология и терапия. – 2012. – Т. 21. – № 5. – С. 53–58.

31. Мазепа В. Н. Оптимизация и комплексное использование полимеразной цепной реакции в диагностике актуальных инфекционных заболеваний на модели острых кишечных, хеликобактерной, негонококковых урогенитальных инфекций и вирусных гепатитов : автореф. дис. д-ра биол. наук : 03.02.03 – микробиология / В. Н. Мазепа. – Москва, 2010. – 47 с.

32. Марданлы С. Г. Частота выявления антител к возбудителям инфекций TORCH-группы у жителей отдельных регионов Российской Федерации / С. Г. Марданлы, А. С. Авдонина, С. В. Ротанов [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2015. – № 5. – С. 17–26.

33. Нисевич Л. Л. Значение различных вирусных инфекций в невынашивании, мертворождении, перинатальной и младенческой смерти / Л. Л. Нисевич // Педиатрия. – 1999. – № 1. – С. 4–10.

34. Ожегов А. М. Рабочий вариант классификации цитомегаловирусной инфекции у детей / А. М. Ожегов, С. В. Мальцев, Э. М. Шакиров // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2000. – № 4. – С. 21–23.

35. Орехов К. В. Врожденная цитомегаловирусная инфекция / К. В. Орехов, М. В. Голубева, Л. Ю. Барычева // Детские инфекции. – 2004. – № 1. – С. 53–57

36. Патент 2003132188 RU. Способ выявления наиболее значимых возбудителей негонококковых урогенитальных инфекций (Chlamydia trachomatis,

Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, Cytomegalovirus, Herpes symplex I/II) у детей с использованием метода ПЦР : № 2271003 : заявл. 03.11.2003 : опубл. 20.04.2005 / В. Н. Мазепа, Г. А. Шипулин, Н. Ф. Бруснигина [и др.]. – 7 с.

37. Петрова К. К. Оценка относительного риска внутриутробной инфекции плода при цитомегаловирусной инфекции на ранних сроках беременности / К. К. Петрова // Acta Biomedica Scientific. – 2019. – № 4 (3). – С. 45–51. DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.6

38. Рыбалкина Т. Н. Формирование очагов герпесвирусных инфекций в семьях / Т. Н. Рыбалкина, Н. В. Каражас, М. Ю. Лысенкова [и др.] // Инфекционные болезни. – 2020. – Т. 18. – № 3. – С. 119-125. – DOI: 10.20953/1729-9225-2020-3-119-125. – EDN GDEESU.

39. Садовский Д. Н. Цитомегаловирусная инфекция при трансплантации почки / Д. Н. Садовский, О. В. Калачик, Н. Юнис [и др.] // Медицинский журнал. – 2012. – № 4 (42). – С. 85–88. – EDN RSKPVN.

40. Тихомиров Д. С. Мутации в гене UL97 цитомегаловируса (Orthoherpesviridae: Herpesvirales: Cytomegalovirus humanbeta 5) увеличивают продолжительность виремии и снижают противовирусный ответ у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток / Д. С. Тихомиров, М. В. Демин, А. А. Серикова [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2024. – Т. 69. – № 5. – С. 449–458. DOI: 10.36233/0507-4088-251

41. Инфекционные болезни у детей : учебник для педиатрических факультетов медицинских вузов / В. Н. Тимченко, И. Д. Анненкова, И. В. Бабаченко [и др.]. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2012. – 623 с. ISBN 978-5-299-00493-9

42. Фризе К. Инфекционные заболевания беременных и новорожденных: пер. с нем. / К. Фризе, В. Кахель. – Москва: Медицина, 2003. – 424 с. – ISBN: 5-225-03617-1

43. Харламова Ф. С. Роль герпесвирусной инфекции IV, V и VI типов в инфекционной и соматической патологии у детей / Ф. С. Харламова, Н. Ю.

Егорова, О. В. Шамшева [и др.] // Педиатрия. – 2017. – Т. 96. – № 4. – С. 42–47. DOI: 10.24110/0031-403X-2017-96-4-42-47

44. Цитомегаловирусная инфекция у взрослых (исключая больных ВИЧ-инфекцией) : клинические рекомендации / Некоммерческое партнерство «Национальное научное общество инфекционистов» ; под редакцией И. В. Шестаковой. – Москва : ННОИ. – 2014. – 74 с. – URL: http://nnoi.ru/uploads/files/protokoly/CMV_adult.pdf. – Текст : электронный.

45. Шахгильдян В. И. Лабораторная диагностика цитомегаловирусной инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов / В. И. Шахгильдян, О. Ю. Шипулина, Н. В. Каражас [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2011. – № 1. – С. 36–40.

46. Шахгильдян В. И. Клиническое значение, подходы к диагностике и лечению цитомегаловирусной инфекции у беременных и новорожденных / В. И. Шахгильдян // Медицинский совет. – 2016. – № 12. – С. 62–72.

47. Шахгильдян В. И. Диагностика и лечение цитомегаловирусной инфекции у беременных и новорожденных / В. И. Шахгильдян // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2017. – № 3 (17). – С. 70–82.

48. Шахгильдян В. И. Лекция 23. Цитомегаловирусная инфекция // Лекции по ВИЧ-инфекции / под ред. В. В. Покровского. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 848 с.

49. Шахгильдян В. И. Диагностическое значение качественного и количественного определения ДНК ЦМВ в биологических материалах у больных ВИЧ-инфекцией с легочной патологией / В.И. Шахгильдян, Э.А. Домонова, М.С. Ядрихинская [и др.] // Лабораторная служба. – 2023. – № 12 (1).– С. 7–13. DOI: 10.17116/labs2023120117

50. Яцык Г. В. Цитомегаловирусная инфекция / Г. В. Яцык, Н. Д. Одинаева, И. А. Беляева // Практика педиатра. – 2009. – № 10. – С. 5–11.

51. Adler S. P. Phase 1 Clinical Trial of a Conditionally Replication-Defective Human Cytomegalovirus (CMV) Vaccine in CMV-Seronegative Subjects / S. P.

Adler, N. Lewis, A. Conlon [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2019. – Vol. 220. – № 3. – P. 411–419. DOI: 10.1093/infdis/jiz141

52. Ahmed S. A. The prevalence of human cytomegalovirus seropositivity among blood donors at the Unit of Blood Transfusion Medicine, Hospital University Saints Malaysia / S. A. Ahmed, F. S. Al-Joudi, A. W. Zaidah [et al.] // Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. – 2006. – Vol. 37. – P. 294–296.

53. Al Mana H. Current Status of Cytomegalovirus (CMV) Prevalence in the MENA Region: A Systematic Review / H. Al Mana, H. M. Yassine, N. N. Younes [et al.] // Pathogens. – 2019. – Vol. 8. – № 4. – P. 1–15. DOI: 10.3390/pathogens8040213

54. de Albuquerque D.M. Genotyping of human cytomegalovirus using non-radioactive single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis / D. M. de Albuquerque, S. C. Costa // Journal of Virological Methods. – 2003. – Vol. 110. – № 1. – P. 25–28. DOI: 10.1016/s0166-0934(03)00094-6

55. Arav-Boger R. Polymorphisms of the cytomegalovirus (CMV) - encoded tumor necrosis factor alpha and beta chemokine receptors in congenital CMV disease / R. Arav-Boger R. E. Willoughby, R. F. Pass [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2002. – Vol. 186. – P. 1057–1064. DOI: 10.1086/344238

56. Arav-Boger R. Cytomegalovirus (CMV)–Encoded UL144 (Truncated Tumor Necrosis Factor Receptor) and Outcome of Congenital CMV Infection / R. Arav-Boger, C. A. Battaglia, T. Lazzarotto [et al.] // The Journal of Infectious Diseases. – 2006. – P. 464–473. DOI: 10.1086/505427

57. Arellano-Galindo J. Detection and gB genotyping of CMV in Mexican preterm infants in the context of maternal seropositivity / J. Arellano-Galindo, J. Villanueva-García, J. L. Cruz-Ramirez [et al.] // Infection, Genetics and Evolution. – 2014. – № 8 (6). – P. 758–767. DOI: 10.3855/jidc.3501

58. Arcangeletti M. C. Combined genetic variants of human cytomegalovirus envelope glycoproteins as congenital infection markers / M. C. Arcangeletti, R. V. Simone, I. Rodighiero [et al.] // Journal of Virology. – 2015. – № 12. – P. 1–11. DOI: 10.1186/s12985-015-0428-8

59. Aquino V. H. High prevalence of renal transplant recipients infected with more than one cytomegalovirus glycoprotein B genotype / V. H. Aquino, L. T. Figueiredo // Journal of Medical Virology. – 2000. – T. 61. – № 1. – P. 138–142. PMID:10745246

60. Bale J. F. Intrauterine cytomegalovirus infection and glycoprotein B genotypes / J. F. Bale, J. R. Murph, G. J. Demmler [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2000. – № 182. – P. 933–936. DOI: 10.1086/315770

61. Bale J. F. Human cytomegalovirus a sequence and UL144 variability in strains from infected children / J. F. Bale, S. J. Petheram, M. Robertson [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2001. – T. 65. – № 1. – P. 90–96. PMID: 11505449

62. Bale J. F. Congenital cytomegalovirus infection / J. F. Bale // Handbook of Clinical Neurology (3rd series) Neurovirology. – 2014. – T. 123. – P. 319–326. DOI: 10.1016/B978-0-444-53488-0.00015-8

63. Bankier A. T. The DNA sequence of the human cytomegalovirus genome / A. T. Bankier, S. Beck, R. Bohni [et al.] // DNA Sequencing and Mapping. – 1991. – T. 2. – № 1. – P. 1–12. DOI: 10.3109/10425179109008433

64. Bar M. Differentiation of human cytomegalovirus genotypes in immunocompromised patients on the basis of UL4 gene polymorphisms / M. Bar, C. Shannon-Lowe, A. P. Geballe // Journal of Infectious Diseases. – 2001. – T. 183. – № 2. – P. 218–225. DOI: 10.1086/317939

65. Barbi M. Multicity Italian study of congenital cytomegalovirus infection / M. Barbi, S. Binda, S. Caroppo [etal.] // Pediatric Infectious Disease Journal. – 2006. – № 25. – P. 156–159. DOI: 10.1097/01.INF.0000199261.98769.29

66. Barrado L. Detection of glycoproteins B and H genotypes to predict the development of Cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients / L. Barrado, C. Prieto, S. Hernando [et al.] // Journal of Clinical Virology. – 2018. – № 109. – P. 50–56. DOI: 10.1016/J.JCV.2018.11.001

67. Bradley A. J. Genotypic analysis of two hypervariable human cytomegalovirus genes / A. J. Bradley, I. J. Kovács, D. Gatherer [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2008. – T. 80. – № 9. – P. 1615–1623. DOI: 10.1002/JMV.21241

68. Brait N. Long range PCR-based deep sequencing for haplotype determination in mixed HCMV infections / N. Brait, B. Külekçi, I. Goerzer // BMC Genomics. – 2022. – T. 23. – № 1. – P. 31. DOI: 10.1186/S12864-021-08272-Z.

69. Britt W. J. Human cytomegalovirus glycoproteins / W. J. Britt, M. Mach // Intervirology. – 1996. – № 9. – P. 401–412. DOI: 10.1159/000150510

70. Burkhardt C. Glycoprotein N subtypes of human cytomegalovirus induce a strain-specific antibody response during natural infection / C. Burkhardt, S. Himmelein, W. Britt [et al.] // Journal of General Virology. – 2009. – T. 90. – № 8. – P. 1951–1956. DOI: 10.1099/VIR.0.010967-0.

71. Cannon M. J. Washing our hands of the congenital cytomegalovirus disease epidemic / M. J. Cannon, K. F. Davis // BMC Public Health. – 2005. – № 5. – P. 70. DOI: 10.1186/1471-2458-5-70

72. Cannon M. J. Universal newborn screening for congenital CMV infection: what is the evidence of potential benefit / M. J. Cannon, P. D. Griffiths, V. Aston [et al.] // Reviews in Medical Virology. – 2014. – T. 24. – № 5. – P. 291–307. DOI: 10.1002/RMV.1790

73. Cannon M. J. Repeated measures study of weekly and daily cytomegalovirus shedding patterns in saliva and urine of healthy cytomegalovirus-seropositive children / M. J. Cannon, J. D. Stowell, R. Clark [et al.] // BMC Infectious Diseases. – 2014. – № 14 (569). – P. 1–9. DOI: 10.1186/S12879-014-0569-1

74. Carraro E. Single human cytomegalovirus gB genotype shed in multiple sites at the time of diagnosis in renal transplant recipients / E. Carraro, C. F. Granato // Journal of Medical Virology. – 2003. – T. 70. – № 2. – P. 240–243. DOI: 10.1002/JMV.10383.

75. Chaer F. E. How I treat resistant cytomegalovirus infection in hematopoietic cell transplantation recipients / F. E. Chaer, D. P. Shah, R. F. Chemaly // Blood. – 2016. – T. 128. – № 23. – P. 2624–2636. DOI: 10.1182/BLOOD-2016-06-688432

76. Chan E. S. Maternal Cytomegalovirus (CMV) Serology: The Diagnostic Limitations of CMV IgM and IgG Avidity in Detecting Congenital CMV Infection / E.

S. Chan, I. Suchet, D. Somerset [et al.] // Pediatric and Developmental Pathology. – 2024. – Vol. 27, № 6. – P. 530–544. DOI: 10.1177/10935266241253477

77. Charles O. J. Genomic and geographical structure of human cytomegalovirus / O. J. Charles, C. Venturini, S. Gantt [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2023. – T. 120. – № 30. – P. 1–11. DOI: 10.1073/pnas.2221797120

78. Chee M. S. Analysis of the protein-coding content of the sequence of human cytomegalovirus strain AD169 / M. S. Chee, A. T. Bankier, S. Beck [et al.] // Current Topics in Microbiology and Immunology. – 1990. – T. 154. – P. 125–169. DOI: 10.1007/978-3-642-74980-3_6.

79. Chen H. P. The type-2 variant of human cytomegalovirus glycoprotein N (gN-2) is not the rarest in the Chinese population of Taiwan: influence of primer design / H. P. Chen, J. C. Lin, S. P. Yang [et al.] // Journal of Virological Methods. – 2008. – T. 151. – P. 161–164. DOI: 10.1016/J.JVIROMET.2008.03.018

80. Chen J. Y. Human cytomegalovirus prevalence and distribution of glycoprotein B, O genotypes among hospitalized children with respiratory infections in West China, 2009–2014 / J. Y. Chen, T. L. Zheng, T. Zhou [et al.] // Tropical Medicine & International Health. – 2016. – T. 21. – P. 1428–1434. DOI: 10.1111/tmi.12770

81. Chou S. W. Reactivation and recombination of multiple cytomegalovirus strains from individual organ donors / S. W. Chou // Journal of Infectious Diseases. – 1989. – T. 160. – № 1. – P. 11–15. DOI: 10.1093/INFDIS/160.1.11

82. Chou S.W. Analysis of interstrain variation in cytomegalovirus glycoprotein B sequences encoding neutralization related epitopes / S. W. Chou, K. M. Dennison // Journal of Infectious Diseases. – 1991. – T. 163. – № 6. – P. 1229–1234. DOI: 10.1093/INFDIS/163.6.1229

83. Chiopris G. Congenital Cytomegalovirus Infection: Update on Diagnosis and Treatment / G. Chiopris, P. Veronese, F. Cusenza [et al.] // Microorganisms. – 2020. – Vol. 8. – № 10. – P. 1516. DOI: 10.3390/microorganisms8101516

84. Coll O. Working Group. Guidelines on CMV congenital infection / O. Coll, G. Benoist, Y. Ville [et al.] // Journal of Perinatal Medicine. – 2009. – T. 37. – P. 433–445. DOI: 10.1515/JPM.2009.127

85. Coleman S. Viral Glycoprotein Complex Formation, Essential Function and Immunogenicity in the Guinea Pig Model for Cytomegalovirus / S. Coleman, J. Horning, S. Maddux [et al.] // PLoS One. – 2015. – T. 10. – №8. – P. e0135567. DOI: 10.1371/journal.pone.0135567

86. Coleman J. L. Preventing Congenital Cytomegalovirus Infection / J. L. Coleman, R. Steele // Clinical Pediatrics. – 2017. – T. 56. – № 12. – P. 1085–1094. DOI: 10.1177/0009922817724400

87. Conde-Glez C. Seroprevalences of varicella-zoster virus, herpes simplex virus and cytomegalovirus in a cross-sectional study in Mexico / C. Conde-Glez, E. Lazcano-Ponce, R. Rojas [et al.] // Vaccine. – 2013. – T. 31. – № 44. – P. 5067–5074. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.08.077

88. Connolly S. A. The structural basis of herpesvirus entry / S. A. Connolly, T. S. Jardetzky, R. Longnecker // Nature Reviews Microbiology. – 2021. – T. 19. – № 2. – P. 110–121. DOI: 10.1038/s41579-020-00448-w

89. Cunha L. Late Cytomegalovirus Infection in Kidney Transplant Recipients after a Six-Month Prevention Protocol / L. Cunha, I. Laranjinha, R. Birne [et al.] // International Journal of Organ Transplantation Medicine. – 2019. – T. 10. – № 1. – P. 1–12. PMCID: PMC6416999

90. Dal Monte P. The product of human cytomegalovirus (HCMV) UL73 is a new polymorphic structural glycoprotein (gpUL73) / P. Dal Monte, S. Pignatelli, M. Mach [et al.] // Journal of Human Virology. – 2001. – T. 4. – P. 26–33. PMID:11213930

91. Damme E. V. Functional annotation of human cytomegalovirus gene products: an update / E. V. Damme, M. V. Loock // Frontiers in Microbiology. – 2014. – T. 5. – P. 218. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00218

92. Dieamant D. C. Cytomegalovirus (CMV) genotype in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / D. C. Dieamant, S. H. Bonon, R. M. Peres [et al.] // BMC Infectious Diseases. – 2013. – T. 13. – P. 310. DOI: 10.1002/rmv.1873

93. Dhingra A. Human cytomegalovirus multiple-strain infections and viral population diversity in hematopoietic stem cell transplant recipients analyzed by high-throughput sequencing / A. Dhingra, J. Götting, P. R. Varanasi [et al.] // Medical Microbiology and Immunology. – 2021. – T. 210. – P. 291–304. DOI: 10.1007/s00430-021-00722-5

94. Dobbins G. C. Association of CMV genomic mutations with symptomatic infection and hearing loss in congenital CMV infection / G. C. Dobbins, A. Patki, D. Chen [et al.] // BMC Infect. Dis. – 2019. – T. 19 – P. 1046. DOI: 10.1186/s12879-019-4681-0

95. Dolan A. Genetic content of wild-type human cytomegalovirus / A. Dolan, C. Cunningham, R. D. Hector [et al.] // Journal of General Virology. – 2004. – T. 85. – № 5. – P. 1301–1312. DOI: 10.1099/vir.0.79888-0.

96. Dollard S. C. Cytomegalovirus viral and antibody correlates in young children / S. C. Dollard, H. Keyserling, K. Radford [et al.] // BMC Research Notes. – 2014. – T. 7. – P. 776. DOI: 10.1186/1756-0500-7-776.

97. Dong N. Distribution of CMV envelope glycoprotein B, H and N genotypes in infants with congenital cytomegalovirus symptomatic infection / N. Dong, L. Cao, D. Zheng [et al.] // Frontiers in Pediatrics. – 2023. – T. 11. – P. 1112645. DOI: 10.3389/fped.2023.1112645

98. Dorado G. Analyzing Modern Biomolecules: The Revolution of Nucleic-Acid Sequencing – Review / G. Dorado, S. Gálvez, T. E. Rosales [et al.] // Biomolecules. – 2021. – T. 11. – № 8. – P. 1111. DOI: 10.3390/biom11081111

99. Drew W. L. Cytomegalovirus glycoprotein B groups in human immunodeficiency virus-infected patients with incident retinitis / W. L. Drew, S. Chou, R. C. Miner [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2002. – T. 186. – № 1. – P. 114–117. DOI: 10.1086/341071

100. Fidouh-Houhou N. Salivary cytomegalovirus (CMV) shedding, glycoprotein B genotype distribution, and CMV disease in human immunodeficiency virus-seropositive patients / N. Fidouh-Houhou, X. Duval, F. Bissuel [et al.] // Clinical Infectious Diseases. – 2001. – T. 15. – P. 1406–1411. DOI: 10.1086/322630

101. Fields Virology, 6th Edition / edited by David M. Knipe, Peter M. Howley. – USA : Lippincott Williams & Wilkins, 2013. – 2456 p.

102. Flowler K. A systematic literature review of the global seroprevalence of cytomegalovirus: possible implications for treatment, screening and vaccine development / K. Fowler, J. Mucha, M. Neumann [et al.] // BMC Public Health. – 2022. – T. 22. – P. 1659. DOI: 10.1186/s12889-022-13971-7

103. Gandhoke I. Glycoprotein B genotyping in congenital/perinatal cytomegalovirus infection in symptomatic infants / I. Gandhoke, S. A. Hussain, S. T. Pasha [et al.] // Indian Pediatrics. – 2013. – T. 50. – P. 663–667. DOI: 10.1007/s13312-013-0199-5

104. Garcia de Figueiredo G. Is the mixture of human cytomegalovirus genotypes frequent in infants with congenital infection at birth in a high seroprevalence population? / G. Garcia de Figueiredo, A. A. Marques, M. M. Mussi-Pinhata [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2018. – T. 90. – № 8. – P. 1389–1397. DOI: 10.1002/jmv.25205

105. Grossi P. A. CMV infection management in transplant patients in Italy / P. A. Grossi, F. Baldanti, M. Andreoni [et al.] // Journal of Clinical Virology. – 2019. – T. 9. – P. 104–108. DOI: 10.1016/j.jcv.2019.104211

106. Gerna G. Human Cytomegalovirus Cell Tropism and Host Cell Receptors / G. Gerna, A. Kabanova // Vaccines. – 2019. – T. 7. – № 3. – P. 70. DOI: 10.3390/vaccines7030070

107. Ggaytant M. A. The incidence of congenital cytomegalovirus infection in The Netherlands/ M. A. Ggaytant, J. M. Galama, B. A. Semmekrot et al// J. Med. Virol. –2005. – №76. – P.71-75. PMID: 30671581

108. Goossens V. J. CMV DNA levels and CMV gB subtypes in ART-naive HAART-treated patients: a 2-year follow-up study in The Netherlands / V. J.

Goossens, P. F. Wolffs, I. H. Loo [et al.] // AIDS. – 2009. – T. 23. – № 11. – P. 1425–1429. DOI: 10.1097/QAD.0b013e32832c165c.

109. Görzer I. Deep sequencing reveals highly complex dynamics of human cytomegalovirus genotypes in transplant patients over time / I. Görzer, C. Guelly, S. Trajanoski [et al.] // Journal of Virology. – 2010. – T. 84. – № 14. – P. 7195–7203. DOI: 10.1128/JVI.00475-10

110. Görzer I. Analysis of human cytomegalovirus strain population in urine samples of newborns by ultra deep sequencing / I. Görzer, S. Trajanoski, T. Popow-Kraupp, E. Puchhammer-Stöckl // Journal of Clinical Virology. – 2015. – № 73. – P. 101–104. DOI: 10.1016/j.jcv.2015.11.003

111. Gratacap-Cavallier B. Cytomegalovirus seroprevalence in French pregnant women: parity and place of birth as major predictive factors / B. Gratacap-Cavallier, J. L. Bosson, P. Morand // European Journal of Epidemiology. – 1998. – № 14. – P. 147–152. DOI: 10.1023/a:1007450729633.

112. Grosjean J. I. Direct genotyping of cytomegalovirus envelope glycoproteins from toddler's saliva samples / J. I. Grosjean, S. Hantz, S. Cotin [et al.] // Journal of Clinical Virology. – 2009. – № 46. – P. 43–48. DOI: 10.1016/j.jcv.2009.08.018

113. Gyulai Z. Cytotoxic T lymphocyte (CTL) responses to human cytomegalovirus pp65, IE1-Exon4, gB, pp150, and pp28 in healthy individuals: reevaluation of prevalence of IE1-specific CTLs / Z. Gyulai, V. Endresz, K. Burian [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2000. – T. 181. – № 5. – P. 1537–1546. DOI: 10.1086/315445

114. Haberland M. Variation within the glycoprotein B gene of human cytomegalovirus is due to homologous recombination / M. Haberland, U. Meyer-König, F. T. Hufert // Journal of General Virology. – 1999. – T. 80. – № 6. – P. 1495–1500. DOI: 10.1099/0022-1317-80-6-1495

115. Hancock M. H. Human Cytomegalovirus UL7, miR-US5-1, and miR-UL112-3p Inactivation of FOXO3a Protects CD34(+) Hematopoietic Progenitor Cells

from Apoptosis / M. H. Hancock, L. B. Crawford, W. Perez [et al.] // mSphere. – 2021. – T. 6. – P. e00986-20. DOI: 10.1128/mSphere.00986-20

116. Hassan-Walker A. F. Sequence variability of the alpha-chemokine UL146 from clinical strains of human cytomegalovirus / A. F. Hassan-Walker, S. Okwuadi, L. Lee [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2004. – T. 74. – № 4. – P. 573–579. DOI: 10.1002/jmv.20210

117. Hayajneh W. A. The sequence and antiapoptotic functional domains of the human cytomegalovirus UL37 exon 1 immediate early protein are conserved in multiple primary strains / W. A. Hayajneh, A. M. Colberg-Poley, A. Skaletskaya [et al.] // Virology. – 2001. – № 5. – P. 233–240. DOI: 10.1006/viro.2000.0726.

118. Hayajneh W. A. The carboxyl terminus of the human cytomegalovirus UL37 immediate-early glycoprotein is conserved in primary strains and is important for transactivation / W. A. Hayajneh, D. G. Contopoulos-Ioannidis, M. M. Lesperance [et al.] // Journal of General Virology. – 2001. – T. 82. – № 7. – P. 1569–1579. DOI: 10.1099/0022-1317-82-7-1569

119. He R. Characterization of the transcripts of human cytomegalovirus UL144 / R. He, Y. Ma, Y. Qi [et al.] // Virology Journal. – 2011. – № 14. – P. 299. DOI: 10.1186/1743-422X-8-299

120. Hebart H. Interstrain variation of immediate early DNA sequences and glycoprotein B genotypes in cytomegalovirus clinical isolates / H. Hebart, M. Greif, H. Krause [et al.] // Medical Microbiology and Immunology. – 1997. – T. 186. – № 2-3. – P. 135–138. DOI: 10.1007/s004300050055

121. van der Heiden P. Control of Cytomegalovirus Viremia after Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Review on CMV-Specific T Cell Reconstitution / P. van der Heiden, E. Marijt, F. Falkenburg, I. Jedema // Biology of Blood and Marrow Transplantation. – 2018. – T. 24. – № 9. – P. 1776–1782. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.03.028

122. Hemmersbach-Miller M. Single-center analysis of infectious complications in older adults during the first year after kidney transplantation / M. Hemmersbach-Miller, B. D. Alexander, D. L. Sudan [et al.] // European Journal of

Clinical Microbiology & Infectious Diseases. – 2019. – T. 38. – № 1. – P. 141–148. DOI: 10.1007/s10096-018-3405-5

123. Hemmersbach-Miller M. Age matters: older age as a risk factor for CMV reactivation in the CMV serostatus-positive kidney transplant recipient / M. Hemmersbach-Miller, B. D. Alexander, C. F. Pieper, K. E. Schmader // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. – 2020. – T. 39. – № 3. – P. 455–463. DOI: 10.1007/s10096-019-03744-3

124. Heo J. Polymorphisms within human cytomegalovirus chemokine (UL146/UL147) and cytokine receptor genes (UL144) are not predictive of sequelae in congenitally infected children / J. Heo, S. Petheram, G. Demmler [et al.] // Virology. – 2008. – № 15. – P. 86–96. DOI: 10.1016/j.virol.2008.05.002.

125. Hjort G. M. Human cytomegalovirus chemokine receptor US28 induces migration of cells on a CX3CL1-presenting surface / G. M. Hjort, K. Kiilerich-Pedersen, D. Selmeczi [et al.] // Journal of General Virology. – 2013. – T. 94. – № 5. – P. 1111–1120. DOI: 10.1099/vir.0.047290-0

126. Hobom U. Fast screening procedures for random transposon libraries of cloned herpesvirus genomes: mutational analysis of human cytomegalovirus envelope glycoprotein genes / U. Hobom, W. Brune, M. Messerle [et al.] // Journal of Virology. – 2000. – T. 74. – P. 7720–7729. DOI: 10.1128/jvi.74.17.7720-7729.2000.

127. Huang I. Maternal CMV seroprevalence rate in early gestation and congenital cytomegalovirus infection in a Chinese population / I. Huang, T. Li, H. Yu [et al.] // Emerging Microbes & Infections. – 2021. – T. 10. – P. 1824–1831. DOI: 10.1080/22221751.2021.1969290.

128. Ikuta K. A novel real-time PCR method for determination and quantification of each cytomegalovirus glycoprotein H subtype in clinical samples / K. Ikuta, K. Ishioka, Y. Sato [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2012. – T. 50. – № 2. – P. 499–501. DOI: 10.1128/JCM.06032-11

129. Janković M. Cytomegalovirus glycoprotein B and N genotypes in pediatric recipients of the hematopoietic stem cell transplant / M. Janković, M. Ćupić,

A. Knežević [et al.] // Journal of Virology. – 2020. – T. 548. – P. 168–173. DOI: 10.1016/j.virol.2020.07.010

130. Jiang X. J. UL74 of human cytomegalovirus reduces the inhibitory effect of gH-specific and gB-specific antibodies / X. J. Jiang, K. L. Sampaio, N. Ettischer [et al.] // Archives of Virology. – 2011. – T. 156. – № 12. – P. 2145–2155. DOI: 10.1007/s00705-011-1105-x

131. Jiang X. J. Human cytomegalovirus glycoprotein polymorphisms and increasing viral load in AIDS patients / X. J. Jiang, J. Zhang, Y. Xiong [et al.] // PLoS ONE. – 2017. – T. 12. – P. 1–14. DOI: 10.1371/journal.pone.0176160

132. Joseph S. A. Risk factors for cytomegalovirus seropositivity in a population of day care educators in Montreal, Canada / S. A. Joseph, C. Beliveau, C. J. Muecke [et al.] // Occupational Medicine. – 2005. – T. 55. – P. 564–567. DOI: 10.1093/occmed/kqi121.

133. Kaori T. Human Cytomegalovirus Genetic Variability in Strains Isolated From Japanese Children During 1983–2003 / T. Kaori, K. Numazaki, H. Tsutsumi // Journal of Medical Virology. – 2005. – T. 76. – P. 356–360. DOI: 10.1002/jmv.20366.

134. Khalafkhany D. Prevalence and genotype distribution of cytomegalovirus UL55 sequence in renal transplant recipients in north west of Iran / D. Khalafkhany, R. Makhdoomi, A. Taghizadeh Afshari [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2016. – T. 88. – № 9. – P. 1622–1627. DOI: 10.1002/jmv.24509.

135. Knowles S. J. Low cytomegalovirus sero-prevalence in Irish pregnant women / S. J. Knowles, K. Grundy, I. Cahill [и др.] // Irish Medical Journal. – 2005. – T. 98. – P. 210–212.

136. Kowalzik F. Seroprevalence and seroconversion of cytomegalovirus in a large group of healthy, German blood donors: potential contribution to transfusion transmitted infections / F. Kowalzik, W. Hitzler, S. Runkel [et al.] // Clinical Laboratory. – 2020. – T. 66. – № 4. – P. 190901. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2019.190901.

137. Lukácsi A. Human cytomegalovirus gB genotype 1 is dominant in congenital infections in South Hungary / A. Lukácsi, B. Taródi, E. Endreffy [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2001. – T. 65. – № 3. – P. 537–542. PMID: 11596091

138. Lankina A. Developing a vaccine against human cytomegalovirus: identifying and targeting HCMV's immunological achilles' heel / A. Lankina, M. Raposo, A. Hargreaves [et al.] // Vaccines (Basel). – 2025. – T.13(5). – P. 1–26. DOI: 10.3390/vaccines13050435

139. Lanzieri T. M. Systematic review of the birth prevalence of congenital cytomegalovirus infection in developing countries / T. M. Lanzieri, S. C. Dollar, S. R. Bialek [et al.] // International Journal of Infectious Diseases. – 2014. – P. 44–48. DOI: 10.1016/j.ijid.2013.12.010

140. Lele Y. Functional Profile of Human Cytomegalovirus Genes and Their Associated Diseases: A Review / Y. Lele, Y. Qian, W. Yu [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2020. – T. 11. – P. 1–13. DOI: 10.3389/fmicb.2020.02104

141. Leng S. X. Recent advances in CMV tropism, latency, and diagnosis during aging / S. X. Leng, J. Kamil, J. G. Purdy [et al.] // GeroScience. – 2017. – T. 39. – № 3. – P. 251–259. DOI: 10.1007/s11357-017-9985-7.

142. Lengerova M. Real-time PCR diagnostics failure caused by nucleotide variability within exon 4 of the human cytomegalovirus major immediate-early gene / M. Lengerova, Z. Racil, P. Volfova [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2007. – T. 45. – № 3. – P. 1042–1044. DOI: 10.1128/JCM.01109-06.

143. Leruez-Ville M. Fetal cytomegalovirus infection / M. Leruez-Ville, Y. Ville // Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology. – 2017. – T. 38. – P. 97–107. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2016.10.005

144. Lino K. Pp65 antigenemia and cytomegalovirus diagnosis in patient with lupus nephritis: report of a series / K. Lino, N. Trizzotti, F. R. Carvalho [et al.] // Jornal Brasileiro de Nefrologia. – 2018. – T. 40. – № 1. – P. 44–52. DOI: 10.1590/2175-8239-JBN-3838

145. Li W. Epidemiological characteristics of human cytomegalovirus infection and glycoprotein H genotype in Chinese children / W. Li, L. Liu, R. Tao [et al.] // Pediatrics & Neonatology. – 2020. – T. 61. – P. 63–67. DOI: 10.1016/j.pedneo.2019.06.010

146. Lisboa L. F. Analysis and clinical correlation of genetic variation in cytomegalovirus / L. F. Lisboa, Y. Tong, D. Kumar [et al.] // Transplant Infectious Diseases. – 2012. – T. 14. – P. 132–140. DOI: 10.1111/j.1399-3062.2011.00685.x

147. Lombardi G. Congenital cytomegalovirus infection: treatment, sequelae and follow-up / G. Lombardi, F. Garofoli, M. Stronati // Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. – 2010. – T. 23. – № 1. – P. 45–48. DOI: 10.3109/14767058.2010.506753

148. Lynn M. K. TORCH congenital syndrome infection in Central America's Northern Triangle / M. K. Lynn, M. S. R. Aquino, S. C. W. Self [et al.] // Microorganisms. – 2023. – T. 11. – № 2. – P. 257. DOI: 10.3390/microorganisms11020257.

149. Lurain N. S. Human cytomegalovirus UL144 open reading frame: sequence hypervariability in low-passage clinical isolates / N. S. Lurain, K. S. Kapell, D. D. Huang [et al.] // Journal of Virology. – 1999. – T. 73. – P. 10040–10050. DOI: 10.1128/JVI.73.12.10040-10050.1999

150. Lurain N. S. Analysis of the human cytomegalovirus genomic region from UL146 through UL147A reveals sequence hypervariability genotypic stability, and overlapping transcripts / N. S. Lurain, A. M. Fox, H. M. Lichy [et al.] // Virology Journal. – 2006. – T. 3. – P. 4. DOI: 10.1186/1743-422X-3-4

151. Malito E. From recognition to execution-the HCMV Pentamer from receptor binding to fusion triggering / E. Malito, S. Chandramouli, A. Carfi // Current Opinion in Virology. – 2018. – T. 31. – P. 43–51. DOI: 10.1016/j.coviro.2018.05.004

152. Manuel O. Impact of genetic polymorphisms in cytomegalovirus glycoprotein B on outcomes in solid-organ transplant recipients with cytomegalovirus disease / O. Manuel, A. Asberg, X. Pang [et al.] // Clinical Infectious Diseases. – 2009. – T. 49. – № 8. – P. 1160–1166. DOI: 10.1086/605633

153. Mao Z. Q. The relationship between polymorphisms of HCMV UL144 ORF and clinical manifestations in 73 strains with congenital and/or perinatal HCMV infection / Z. Q. Mao, R. He, M. Sun [et al.] // Archives of Virology. – 2007. – T. 152. – № 1. – P. 115–124. DOI: 10.1007/s00705-006-0826-8

154. Mao Z. Q. Genetic polymorphism of UL144 open reading frame of human cytomegalovirus DNA detected in colon samples from infants with Hirschsprung's disease / Z. Q. Mao, Y. Huang, M. Sun [et al.] // World Journal of Gastroenterology. – 2007. – T. 13. – № 32. – P. 4350–4354. DOI: 10.3748/wjg.v13.i32.4350

155. Marshall G. S. Antibodies to the major linear neutralizing domains of cytomegalovirus glycoprotein B among natural seropositive and CMV subunit vaccine recipients / G. S. Marshall, M. Li, G. G. Stout [et al.] // Viral Immunology. – 2000. – T. 13.– № 3. – P. 329–341. DOI: 10.1089/08828240050144653.

156. Marti-Carreras J. Human cytomegalovirus genomics and transcriptomics through the lens of next-generation sequencing: revision and future challenges / J. Marti-Carreras, P. Maes // Virus Genes. – 2019. – T. 55. – № 2. – P. 138–164. DOI: 10.1007/s11262-018-1627-3

157. Mattick C. Linkage of human cytomegalovirus glycoprotein gO variant groups identified from worldwide clinical isolates with gN genotypes, implications for disease associations and evidence for N-terminal sites of positive selection / C. Mattick, D. Dewin, S. Polley [et al.] // Virology. – 2004. – T. 318. – P. 582–597. DOI: 10.1016/j.virol.2003.09.036

158. Melaiu O. Impact of natural occurring ERAP1 single nucleotide polymorphisms within miRNA-Binding sites on HCMV infection / O. Melaiu, S. D'Amico, P. Temora [et al.] // Int. J. Molecular Science. – 2020. – T. 21. – P. 1–19. DOI:10.3390/ijms21165861

159. Mendelson E. Laboratory assessment and diagnosis of congenital viral infections: Rubella, cytomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus (VZV), herpes simplex virus (HSV), parvovirus B19 and human immunodeficiency virus (HIV) / E. Mendelson, Y. Aboudy, Z. Smetana [et al.] // Reproductive Toxicology. – 2006. – T. 21. – № 4. – P. 350–382. DOI: 10.1016/j.reprotox.2006.02.001

160. Mocarski E. S. Cytomegaloviruses and their replication in Virology / E. S. Mocarski, B. H. Fields, D. M. Knipe [et al.] // Lippincott-Raven: Philadelphia. – 2001. – T. 184. – № 14. – P. 3774-3793. DOI: 10.1016/j.cell.2021.05.009

161. Morris D. J. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection after maternal recurrent infection / D. J. Morris // Pediatric Infectious Disease Journal. – 2004. – T. 13. – № 1. – P. 61–64. DOI: 10.1097/00006454-199401000-00013

162. Mousavi-Jazi M. Growth phenotypes of cytomegalovirus isolates do not correlate with glycoprotein B, major immediate early genotypes or antiviral sensitivity / M. Mousavi-Jazi, V. A. Sundqvist, A. Linde [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2000. – T. 62. – № 2. – P. 117–126. PMID: 11002239

163. Muñoz I. Lack of association between the kinetics of human cytomegalovirus (HCMV) glycoprotein B (gB)-specific and neutralizing serum antibodies and development or recovery from HCMV active infection in patients undergoing allogeneic stem cell transplant / I. Muñoz, A. Gutiérrez, C. Gimeno [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2001. – T. 65. – № 1. – P. 77–84. PMID: 11505447

164. Murayama T. Analysis of human cytomegalovirus UL144 variability in low-passage clinical isolates in Japan / T. Murayama, M. Takegoshi, J. Tanuma [et al.] // Intervirology. – 2005. – T. 48. – № 2-3. – P. 201–206. DOI: 10.1159/000081749

165. Murrell I. Impact of sequence variation in the UL128 locus on production of human cytomegalovirus in fibroblast and epithelial cells / I. Murrell, P. Tomasec, G. S. Wilkie [et al.] // Journal of Virology. – 2013. – T. 87. – P. 10489–10500. DOI: 10.1128/JVI.01546-13

166. Murphy E. Human cytomegalovirus genome / E. Murphy, T. Shenk // Current Topics in Microbiology and Immunology. – 2008. – T. 325. – P. 1–19. DOI: 10.1007/978-3-540-77349-8_1

167. Murthy S. Detection of a Single Identical Cytomegalovirus (CMV) Strain in Recently Seroconverted Young Women / S. Murthy, G. S. Hayward, S. Wheelan [et al.] //PLoS ONE. – 2011. – T. 6. – № 1. – P. 149–159. DOI: 10.1371/journal.pone.0015949

168. Navarro-Rodriguez V. Risk factors for cytomegalovirus disease in seropositive renal transplant recipients; a single-center case-controlled study / V. Navarro-Rodriguez, A. Herrera-Munoz, A. Castro [et al.] // Journal of Nephropathology. – 2017. – T. 6. – № 3. – P. 240–247. DOI: 10.15171/jnp.2017.39

169. Nogueira E. Clinical correlations of human cytomegalovirus strains and viral load in kidney transplant recipients / E. Nogueira, K. S. Ozaki, H. Tomiyama [et al.] // International Immunopharmacology. – 2009. – T. 9. – № 1. – P. 26–31. DOI: 10.1016/j.intimp.2008.08.020

170. Novak Z. Cytomegalovirus strain diversity in seropositive women / Z. Novak, S. A. Ross, R. K. Patro [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2008. – T. 46. – № 3. – P. 882–886. DOI: 10.1128/JCM.01079-07

171. Novak Z. Diagnostic consequences of cytomegalovirus glycoprotein B polymorphisms / Z. Novak, N. Chowdhury, A. Shannon [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2011. – P. 3033–3035. DOI: 10.1128/JCM.01039-11

172. Pande H. Direct DNA immunization of mice with plasmid DNA encoding the tegument protein pp65 (ppUL83) of human cytomegalovirus induces high levels of circulating antibody to the encoded protein / H. Pande, K. Campo, B. Tanamachi [и др.] // Scandinavian Journal of Infectious Diseases. – 1998. – T. 99. – P. 117–120.

173. Paradowska E. Cytomegalovirus glycoprotein H genotype distribution and the relationship with hearing loss in children / E. Paradowska, A. Jabłońska, M. Studzińska [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2014. – T. 86. – № 8. – P. 1421–1427. DOI: 10.1002/jmv.23906

174. Pass R. F. Vaccine prevention of maternal cytomegalovirus infection / R. F. Pass, C. Zhang, A. Evans [et al.] // New England Journal of Medicine. – 2009. – T. 360. – P. 1191–1199. DOI: 10.1056/NEJMoa0804749

175. Pati S. K. Strain-specific neutralizing antibody responses against human cytomegalovirus envelope glycoprotein N / S. K. Pati, Z. Novak, M. Purser [et al.] // Clinical and Vaccine Immunology. – 2012. – T. 19. – № 6. – P. 909–913. DOI: 10.1128/CVI.00092-12

176. Pati S. Genotypic diversity and mixed infection in newborn disease and hearing loss in congenital cytomegalovirus infection / S. K. Pati, S. Pinninti, Z. Novak [et al.] // Pediatric Infectious Disease Journal. – 2014. – T. 32. – № 10. – P. 1050–1054. DOI: 10.1097/INF.0b013e31829bb0b9

177. Penfold M. E. Cytomegalovirus encodes a potent alpha chemokine / M. E. Penfold, D. J. Dairaghi, G. M. Duke [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1999. – T. 96. – № 17. – P. 9839–9844. DOI: 10.1073/pnas.96.17.9839

178. Pepperl S. Dense bodies of human cytomegalovirus induce both humoral and cellular immune responses in the absence of viral gene expression / S. Pepperl, J. Munster, M. Mach [et al.] // Journal of Virology. – 2000. – T. 74. – P. 6132–6146. DOI: 10.1128/jvi.74.13.6132-6146.2000

179. Picone O. Human cytomegalovirus UL144 gene polymorphisms in congenital infections / O. Picone, J. M. Costa, M. L. Chaix [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2005. – T. 43. – P. 25–29. DOI: 10.1128/JCM.43.1.25-29.2005.

180. Pignatelli S. gpUL73 (gN) genomic variants of human cytomegalovirus isolates are clustered into four distinct genotypes / S. Pignatelli, P. Dal Monte, M. P. Landini // Journal of General Virology. – 2001. – T. 82. – № 11. – P. 2777–2784. DOI: 10.1099/0022-1317-82-11-2777

181. Pignatelli S. Human cytomegalovirus glycoprotein N (gpUL73-gN) genomic variants: identification of a novel subgroup, geographical distribution and evidence of positive selective pressure / S. Pignatelli, P. Dal Monte, G. Rossini [et al.] // Journal of General Virology. – 2003. – T. 84. – № 3. – P. 647–655. DOI: 10.1099/vir.0.18704-0

182. Pignatelli S. Human cytomegalovirus glycoprotein N (gN) genotypes in AIDS patients / S. Pignatelli, P. Dal Monte, G. Rossini [et al.] // AIDS. – 2003. – T. 17. – P. 761–763. DOI: 10.1099/vir.0.18704-0

183. Pignatelli S. Genetic polymorphisms among human cytomegalovirus (HCMV) wild-type strains / S. Pignatelli, P. Dal Monte, G. Rossini [et al.] // Reviews in Medical Virology. – 2004. – T. 14. – № 6. – P. 383–410. DOI: 10.1002/rmv.438

184. Pignatelli S. Epidemiology of human cytomegalovirus strains through comparison of methodological approaches to explore gN variants / S. Pignatelli, P. Dal Monte // New Microbiologica. – 2009. – T. 32. – № 1. – P. 1–10. PMID 19382663

185. Pignatelli S. Development of a multiplex PCR for the simultaneous amplification and genotyping of glycoprotein N among human cytomegalovirus strains

/ S. Pignatelli, D. Maurizio, M. P. Ladini [et al.] // New Microbiologica. – 2010. – T. 33. – № 3. – P. 257–262. PMID 20954445

186. Pignatelli S. Cytomegalovirus gN genotypes distribution among congenitally infected newborns and their relationship with symptoms at birth and sequelae / S. Pignatelli, T. Lazzarotto, M. R. Gatto [et al.] // Clinical Infectious Diseases. – 2010a. – T. 51. – № 1. – P. 33–41. DOI: 10.1086/653423

187. Pignatelli S. Recent knowledges on the linkage of strain specific genotypes with clinical manifestations of human cytomegalovirus disease / S. Pignatelli // Recenti Progressi in Medicina. – 2011. – T. 102. – P. 5–10. DOI: 10.1701/545.6466

188. Plotkin S. A. Effect of Towne live vaccine on cytomegalovirus disease after renal transplant. A controlled trial / S. A. Plotkin, S. E. Starr, H. M. Friedman [et al.] // Annals of Internal Medicine. – 1991. – T. 114. – P. 525–531. DOI: 10.7326/0003-4819-114-7-525

189. Plotkin S. A. Vaccination against cytomegalovirus / S. A. Plotkin // Archives of Virology. – 2001. – T. 17. – P. 121–134. DOI: 10.1016/ j.vaccine.2018.02.089

190. Plotogea M. An overview of cytomegalovirus infection in pregnancy / M. Plotogea, A. J. Isam, F. Frincu [et al.] // Diagnostics. – 2022. – T. 12. – № 10. – P. 2429. DOI: 10.3390/diagnostics12102429.

191. Preston H. Human cytomegalovirus immune evasion of natural killer cells; a virus for all seasons? / H. Preston, R. Casey, E. Ferris [et al.] // Pathogens. – 2025. – T. 14. – № 629. – P. 1–33 DOI: 10.3390/pathogens14070629

192. Puchhammer-Stöckl E. Emergence of multiple cytomegalovirus strains in blood and lung of lung transplant recipients / E. Puchhammer-Stöckl, I. Görzer, A. Zoufaly [et al.] // Transplantation. – 2006. – T. 81. – № 2. – P. 187–194. DOI: 10.1097/01.tp.0000194858.50812.cb

193. Puhakka L. Viral shedding and distribution of cytomegalovirus glycoprotein H(UL75), glycoprotein B (UL55), and glycoprotein N(UL73) genotypes in congenital cytomegalovirus infection / L. Puhakka, S. Pati, M. Lappalainen [et al.] //

Journal of Clinical Virology. – 2020. – T. 125. – P. 104287. DOI: 10.1016/ j.jcv.2020.104287

194. Qi Y. Human cytomegalovirus (HCMV) UL139 open reading frame: Sequence variants are clustered into three major genotypes / Y. Qi, Z. Q. Mao, Q. Ruan [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2006. – T. 78. – № 4. – P. 517–522. DOI: 10.1002/jmv.20571

195. Qi Y. Characterization of 3' termini of human cytomegalovirus UL138-UL145 transcripts in a clinical strain / Y. Qi, Y. Ma, R. He [et al.] // Microbiology and Immunology. – 2011. – T. 55. – № 2. – P. 95–99. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2010.00294.x

196. Rahave G. Primary versus nonprimary cytomegalovirus infection during pregnancy / G. Rahave, R. Gabbay, A. Ornoy [et al.] // Emerging Infectious Diseases. – 2007. – T. 13. – № 11. – P. 1791–1793. DOI: 10.3201/eid1311.061289

197. Rasmussen L. The genes encoding the gCIII complex of human cytomegalovirus exist in highly diverse combinations in clinical isolates / L. Rasmussen, A. Geissler, C. Cowan [et al.] // Journal of Virology. – 2002. – T. 76. – № 21. – P. 108–418. DOI: 10.1128/jvi.76.21.10841-10848.2002

198. Rasmussen L. Inter- and intragenic variations complicate the molecular epidemiology of human cytomegalovirus / L. Rasmussen, A. Geissler, M. Winters // Infectious Diseases. – 2003. – T. 187. – P. 809–819. DOI: 10.1086/367900

199. Razonable R. R. Clinical diagnostic testing for Human cytomegalovirus infections / R. R. Razonable, N. Inoue, S. G. Pinninti [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2020. – T. 221. – № 1. – P. 74–85. DOI: 10.1093/infdis/jiz601

200. Revello M. G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant / M. G. Revello // Clinical Microbiology Reviews. – 2002. – T. 15. – № 4. – P. 680–715. DOI: 10.1128/CMR.15.4.680-715.2002

201. Revello M. G. Molecular epidemiology of primary human cytomegalovirus infection in pregnant women and their families / M. G. Revello, G.

Campanini, A. Piralla [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2008. – T. 80. – № 8. – P. 1415–1425. DOI: 10.1002/jmv.21243.

202. Revello M. G. Cytomegalovirus DNAemia in pregnant women / M. G. Revello, M. Furione, V. Rognoni [et al.] // Journal of Clinical Virology. – 2014. – T. 61. – № 4. – P. 590–596. DOI: 10.1016/j.jcv.2014.10.002

203. Rieder F. CMV vaccine: phase II clinical trial results / F. Rieder, C. Steininger // Vaccines Supplement. – 2014. – T. 5. – P.95-102. DOI: 10.1111/1469-0691.12449

204. Riley H. D. History of the cytomegalovirus / H. D. Riley // Southern Medical Journal. – 1997. – T. 90. – № 2. – P. 184–190. DOI: 10.1097/00007611-199702000-00004

205. Robinson L. G. Predictors of cytomegalovirus disease among pediatric transplant recipients within one year of renal transplantation / L. G. Robinson, J. Hilinski, F. Graham [et al.] // Pediatric Transplantation. – 2002. – T. 6. – № 2. – P. 111–118. DOI: 10.1034/j.1399-3046.2002.01049.x

206. Ross S. A. Detection of congenital cytomegalovirus infection by real-time polymerase chain reaction analysis of saliva or urine specimens / S. A. Ross, A. Ahmed, A. L. Palmer [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2014. – T. 210. – № 9. – P. 141–158. DOI: 10.1093/infdis/jiu263

207. Rossini G. Monitoring for human cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients through antigenemia and glycoprotein N (gN) variants: evidence of correlation and potential prognostic value of gN genotypes / G. Rossini, S. Pignatelli, P. Dal Monte [et al.] // Microbes and Infection. – 2005. – T. 7. – P. 890–896. DOI: 10.1016/j.micinf.2005.01.016

208. Roubalova K. Genetic variability of cytomegalovirus glycoprotein O in hematopoietic stem cell transplant recipients / K. Roubalova, O. Strunecky, A. Vitek [et al.] // Transplant Infectious Diseases. – 2011. – T. 13. – № 3. – P. 237–243. DOI: 10.1111/j.1399-3062.2011.00625.x.

209. Roubalová K. Genotyping of viral glycoprotein B (gB) in hematopoietic stem cell transplant recipients with active cytomegalovirus infection: analysis of the

impact of gB genotypes on the patients' outcome / K. Roubalová, O. Strunecký, S. Zufanová [et al.] // Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie. – 2010. – T. 59. – № 2. – P. 92–99. PMID:20586171

210. Roubalová K. Prevalence of glycoprotein B (gB) genotypes in the patients with high risk of symptomatic cytomegalovirus infection / K. Roubalová, S. Zufanová, A. Vitek [et al.] // Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie. – 2009. – T. 58. – № 4. – P. 148–153. PMID:21114002

211. Ryckman B. J. Characterization of the human cytomegalovirus gH/gL/UL 128-131 complex that mediates entry into epithelial and endothelial cells / B. J. Ryckman, B. L. Rainish, M. C. Chase [et al.] // Journal of Virology. – 2008. – T. 82. – P. 60–70. DOI: 10.1128/JVI.01910-07

212. Ryckman B. J. HCMV gH/gL/UL 128-131 interferes with virus entry into epithelial cells: Evidence for cell type-specific receptors / B. J. Ryckman, M. C. Chase, D. C. Johnson // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2008. – T. 105. – P. 14118–14123. DOI: 10.1073/pnas.0804365105.

213. Saira I. Sociodemographic factors associated with IgG and IgM seroprevalence for human cytomegalovirus infection in adult populations of Pakistan: a seroprevalence survey / I. Saira, A. S. Anwar, R. S. Amna [et al.] // BMC Public Health. – 2016. – T. 16. – P. 1112. DOI: 10.1186/s12889-016-3772-8

214. Sarkar A. Genotypes of glycoprotein B gene among the Indian symptomatic neonates with congenital CMV infection / A. Sarkar, D. Das, S. Ansari [et al.] // BMC Pediatrics. – 2019. – T. 19. – P. 1–12. DOI: 10.1186/s12887-019-1666-5.

215. Seale H. National serosurvey of cytomegalovirus in Australia / H. Seale, C. R. MacIntyre, H. F. Gidding [et al.] // Clinical and Vaccine Immunology. – 2006. – T. 13. – P. 1181–1184. DOI: 10.1128/CVI.00203-06

216. Schleiss M. R. Cytomegalovirus vaccine development / M. R. Schleiss // Current Topics in Microbiology and Immunology. – 2008. – T. 325. – P. 361–382. DOI: 10.1007/978-3-540-77349-8_20.

217. Schoppel K. Antibodies specific for the antigenic domain 1 of glycoprotein B (gpUL55) of human cytomegalovirus bind to different substructures / K. Schoppel, E. Hassfurther, W. Britt [et al.] // Virology. – 1996. – T. 216. – № 1. – P. 133–145. DOI: 10.1006/viro.1996.0040

218. Schrader J. W. Location, location, timing: analysis of cytomegalovirus epitopes for neutralizing antibodies / J. W. Schrader, G. R. McLean // Immunology Letters. – 2007. – T. 112. – № 1. – P. 58–60. DOI: 10.1016/j.imlet.2007.07.001

219. Shepp D. H. A fifth human cytomegalovirus glycoprotein B genotype / D. H. Shepp, M. E. Match, S. M. Lipson [et al.] // Research in Virology. – 1998. – T. 149. – № 2. – P. 109–114. DOI: 10.1016/s0923-2516(98)80086-1.

220. Shleiss M. R. Cytomegalovirus in the Neonate: immune correlates of infection and protection / M. R. Shleiss // Clinical and Developmental Immunology. – 2013. – 14 p. DOI: 10.1155/2013/501801

221. Sijmons S. Genomic and Functional characteristics of human cytomegalovirus revealed by next-generation sequencing / S. Sijmons, M. V. Rants, P. Maes // Viruses. – 2014. – T. 6. – № 3. – P. 1049–1072. DOI: 10.3390/v6031049

222. Soleimani A. R. The incidence of cytomegalovirus glycoprotein B genotypes in kidney transplantant recipients in Iran / A. R. Soleimani, M. Jafari, A. Piroozmand [et al.] // Journal of Organ Transplantation Medicine. – 2018. – T. 9. – P. 173–177.

223. Speckner A. Antigenic domain 1 of human cytomegalovirus glycoprotein B induces a multitude of different antibodies which, when combined, results in incomplete virus neutralization / A. Speckner, D. Glykofrydes, M. Ohlin [et al.] // Journal of General Virology. – 1999. – T. 80. – № 8. – P. 2183–2191. DOI: 10.1099/0022-1317-80-8-2183

224. Ssentongo P. Congenital cytomegalovirus infection burden and epidemiologic risk factors in countries with universal screening: a systematic review and meta-analysis / P. Ssentongo, C. Hehnly, P. Birungi [et al.] // JAMA Network Open. – 2021. – T. 4. – № 8. – P. 2120736. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.20736.

225. Steven S. Genomic and Functional Characteristics of Human Cytomegalovirus Revealed by Next-Generation Sequencing / S. Steven, R. Van, M. Piet // Viruses. – 2014. – T. 6. – № 3. – P. 1049–1072. DOI: 10.3390/v6031049

226. Sung H. Update on the current status of cytomegalovirus vaccines / H. Sung, M. R. Schleiss // Expert Review of Vaccines. – 2010. – T. 9. – № 11. – P. 1303–1314. DOI: 10.1586/erv.10.125.

227. Sunil K. P. Genotypic Diversity and Mixed Infection in Newborn Disease and Hearing Loss in Congenital Cytomegalovirus Infection / K. P. Sunil, S. Pinninti, Z. Novak [et al.] // Pediatric Infectious Disease Journal. – 2013. – T. 32. – № 10. – P. 1050–1054. DOI: 10.1097/INF.0b013e31829bb0b9.

228. Suarez N. M. Human cytomegalovirus genomes sequenced directly from clinical material: variation, multiple-strain infection, recombination, and gene loss / N. M. Suarez, G. S. Wilkie, E. Hage [et al.] // Journal of Infectious Diseases. – 2019. – T. 220. – № 5. – P. 781–791. DOI: 10.1093/infdis/jiz208.

229. Swanson E. C. Congenital cytomegalovirus infection: new prospects for prevention and therapy / E. C. Swanson, M. R. Schleiss // Pediatric Clinics of North America. – 2013. – T. 60. – № 2. – P. 335–349. DOI: 10.1016/j.pcl.2012.12.008.

230. Tai-Schmiedel J. Human cytomegalovirus long noncoding RNA4.9 regulates viral DNA replication / J. Tai-Schmiedel, S. Karniely, B. Lau [et al.] // PLoS Pathogens. – 2020. – T. 16. – P. e1008390. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008390

231. Tarrant-Elorza M. Maintenance and replication of the human cytomegalovirus genome during latency / M. Tarrant-Elorza, C. C. Rossetto, G. S. Pari // Cell Host & Microbe. – 2014. – T. 16. – № 1. – P. 43–54. DOI: 10.1016/j.chom.2014.06.006.

232. Thompson J. D. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice / J. D. Thompson, D. G. Higgins, T. J. Gibson // Nucleic Acids Research. – 1994. – T. 22. – P. 4673–4680. DOI: 10.1093/nar/22.22.4673.

233. Torii Y. Serological screening of immunoglobulin M and immunoglobulin G during pregnancy for predicting congenital cytomegalovirus infection / Y. Torii, S. Yoshida, Y. Yanase [et al.] // BMC Pregnancy and Childbirth. – 2019. – T. 19. – № 1. – P. 205. DOI: 10.1186/s12884-019-2360-1.

234. Torok-Storb B. Association of specific cytomegalovirus genotypes with death from myelosuppression after marrow transplantation / B. Torok-Storb, M. Boeckh, C. Hoy [et al.] // Blood. – 1997. – T. 90. – № 5. – P. 2097–2102.

235. Trincado D. E. Human cytomegalovirus strains associated with congenital and perinatal infections / D. E. Trincado, G. M. Scott, P. A. White [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2000. – T. 61. – № 4. – P. 481–487. DOI: 10.1002/1096-9071(200008)61.

236. Tugizov S. Function of human cytomegalovirus glycoprotein B: syncytium formation in cells constitutively expressing gB is blocked by virus-neutralizing antibodies / S. Tugizov, D. Navarro, P. Paz [et al.] // Virology. – 1994. – T. 201. – P. 263–276. DOI: 10.1006/viro.1994.1291.

237. Urban M. Glycoprotein H of human cytomegalovirus is a major antigen for the neutralizing humoral immune response / M. Urban, M. Klein, W. J. Britt [et al.] // Journal of General Virology. – 1996. – T. 77. – P. 1537–1547. DOI: 10.1099/0022-1317-77-7-1537.

238. Yamamoto A. Y. Human cytomegalovirus reinfection is associated with intrauterine transmission in a highly cytomegalovirus-immune maternal population / A. Y. Yamamoto, M. M. Mussi-Pinhata, S. B. Boppana // American Journal of Obstetrics and Gynecology. – 2010. – T. 202. – № 3. – P. 2971–2978. DOI: 10.1016/j.ajog.2009.11.018

239. Yan H. Genetic variations in the gB, UL144 and UL149 genes of human cytomegalovirus strains collected from congenitally and postnatally infected Japanese children / H. Yan, S. Koyano, Y. Inami [et al.] // Archives of Virology. – 2008. – T. 153. – № 4. – P. 667–674. DOI: 10.1007/s00705-008-0044-7

240. Yan H. Genetic linkage among human cytomegalovirus glycoprotein N (gN) and gO genes, with evidence for recombination from congenitally and post-

natally infected Japanese infants / H. Yan, S. Koyano, Y. Inami [et al.] // Journal of General Virology. – 2008. – T. 89. – № 9. – P. 2275–2279. DOI: 10.1099/vir.0.83685-0.

241. Ye L. Functional profile of human cytomegalovirus genes and their associated diseases: A review / L. Ye, Y. Qian, G. Guo [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2020. – T. 11. – P. 1–11. DOI: 10.3389/fmicb.2020.02104

242. Yu Z. S. Cytomegalovirus gB genotype and clinical features in Chinese infants with congenital infection / Z. S. Yu, C. C. Zou, J. Y. Zheng [et al.] // Intervirology. – 2006. – T. 49. – № 5. – P. 281–285. DOI: 10.1159/000093458.

243. Vaudry W. Congenital cytomegalovirus infection in high-risk Canadian infants: Report of a pilot screening study / W. Vaudry, R. J. Rosychuk, B. E. Lee [et al.] // Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology. – 2010. – T. 21. – P. 12–19. DOI: 10.1155/2010/942874

244. Venturini C. Cytomegalovirus Genetic Diversity and Evolution: Insights into Genotypes and Their Role in Viral Pathogenesis / C. Venturini, J. Breuer // Pathogens. – 2025. – T. 14(1). – P. 1–27. DOI: 10.3390/pathogens14010050

245. Vogel J. U. Role of human cytomegalovirus genotype polymorphisms in AIDS patients with cytomegalovirus retinitis / J. U. Vogel, J. Otte, F. Koch [et al.] // Medical Microbiology and Immunology. – 2013. – T. 202. – № 1. – P. 37–47. DOI: 10.1007/s00430-012-0244-3

246. Vries J. J. Rapid genotyping of cytomegalovirus in dried blood spots by multiplex real-time PCR assays targeting the envelope glycoprotein gB and gH genes / J. J. Vries, E. Wessels, A. M. Korver [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2012. – T. 50. – № 2. – P. 232–237. DOI: 10.1128/JCM.05253-11

247. Vueba A. Seroepidemiology study of Cytomegalovirus and Rubella in pregnant women in Luanda, Angola: geospatial distribution and its association with socio-demographic and clinical-obstetric determinants / A. Vueba, C. Faria, R. Almendra [et al.] // BMC Infectious Diseases. – 2022. – T. 22. – P. 224. DOI: 10.1186/s12879-022-07087-x.

248. Wang H. Immunization with cytomegalovirus envelope glycoprotein M and glycoprotein N DNA vaccines can provide mice with complete protection against a lethal murine cytomegalovirus challenge / H. Wang, Y. Yao, C. Huang [et al.] // Virologica Sinica. – 2013. – T. 28. – № 3. – P. 174–182. DOI: 10.1007/s12250-013-3330-9

249. Wang H. Common polymorphisms in the glycoproteins of human cytomegalovirus and associated strain-specific immunity / N. Wang, S. M. Valencia, S. P. Preifer [et al.] // Viruses. – 2021. – T. 13. – P. 1106. DOI: 10.3390/v13061106.

250. Warnecke J. M. Seroprevalences of antibodies against ToRCH infectious pathogens in women of childbearing age residing in Brazil, Mexico, Germany, Poland, Turkey and China / J. M. Warnecke, M. Pollmann, V. Borchardt-Lohölter [et al.] //Epidemiol Infect. – 2020. – T. 148. – P. 1–8. DOI: 10.1017/S0950268820002629

251. Waters A. Human Cytomegalovirus UL144 Is Associated with Viremia and Infant Development Sequelae in Congenital Infection / A. Waters, J. Hassan, C. Gascun [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2010. – P. 3956–3962. DOI: 10.1128/JCM.01133-10

252. Waters A. Incidence of congenial cytomegalovirus infection in Ireland: implication for screening and diagnosis / A. Waters, K. Jennings, E. Fitzpatick [et al.] // Journal of Clinical Virology. – 2014. – T. 59. – № 3. – P. 156–160. DOI: 10.1016/j.jcv.2013.12.007

253. Wille P. T. Human cytomegalovirus gO-null mutant fails to incorporate gH/gL into the virion envelope and is unable to enter fibroblasts and epithelial and endothelial cells / P. T. Wille, A. J. Knoche, J. A. Nelson [et al.] // Journal of Virology. – 2010. – T. 84. – P. 2585–2596. DOI: 10.1128/JVI.02249-09

254. Wille P. T. Human cytomegalovirus (HCMV) glycoprotein gB promotes virus entry in trans acting as the viral fusion protein rather than as a receptor-binding protein / P. T. Wille, T. W. Wisner, B. Ryckman [et al.] // mBio. – 2013. – P. 332–342. DOI: 10.1128/mBio.00332-13.

255. Wilms I. R. Cytomegalovirus infections among African-Americans / I. R. Wilms, A. M. Best, S. P. Adler // BMC Infectious Diseases. – 2008. – T. 8. – P. 107. DOI: 10.1186/1471-2334-8-107.

256. Wu X. J. The correlation of cytomegalovirus gB genotype with viral DNA load and treatment time in patients with CMV infection after hematopoietic stem cell transplantation / X. J. Wu, Y. Wang, Z. L. Zhu [et al.] // Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi. – 2013. – T. 34. – № 2. – P. 109–112.

257. Xia C. S. Analysis of human cytomegalovirus glycoprotein N genotypes in Chinese hematopoietic stem cell transplant recipients / C. S. Xia, Z. Zhang // Archives of Virology. – 2011. – T. 156. – № 1. – P. 17–23. DOI: 10.1007/s00705-010-0811-0

258. Zhang L. MicroRNAs expressed by human cytomegalovirus / L. Zhang, J. Yu, Z. Liu // Journal of Virology. – 2020. – P. 17:34. DOI: 10.1186/s12985-020-1296-4.

259. Zawlinska B. Multiplex real-time PCR to identify a possible reinfection with different strains of human cytomegalovirus in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients / B. Zawlinska, S. Szostek, J. Kopes [et al.] // Acta Biochimica Polonica. – 2016. – T. 63. – P. 161–166. DOI: 10.18388/abp.2015_1162.

260. Zhou L. Genetic variation within the glycoprotein B and H genes of human cytomegalovirus in solid organ transplant recipients / L. Zhou, J. Fan, S. S. Zheng [et al.] // Transplant Infectious Diseases. – 2007. – T. 9. – P. 73–77. DOI: 10.1111/j.1399-3062.2006.00173.x.

261. Zhou M. Comparative analysis of gO isoforms reveals that strains of human cytomegalovirus differ in the ratio of gH/gL/gO and gH/gL/UL128-131 in the virion envelope / M. Zhou, Q. Yu, A. Wechsler [et al.] // Journal of Virology. – 2013. – T. 87. – № 17. – P. 9680–9690. DOI: 10.1128/JVI.01167-13