

© Ванькова О.Е., Бруснигина Н.Ф., 2021

УДК 578.825.11+616-078

Молекулярная и филогенетическая характеристика изолятов цитомегаловируса, выделенных у детей Нижнего Новгорода

О.Е. Ванькова, Н.Ф. Бруснигина

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора,
ул. Малая Ямская, д. 71, г. Нижний Новгород, 603950, Российская Федерация

Резюме: *Введение.* Цитомегаловирусная инфекция является одной из актуальных проблем здравоохранения, принадлежит к категории социально значимых инфекций, характеризуется полиморфизмом клинических проявлений и высокой смертностью детей раннего возраста. За рубежом большое внимание уделяется проблеме генотипирования вируса и определению роли различных генотипов в развитии определенных клинических форм цитомегаловирусной инфекции, активно ведутся работы по разработке вакцины. *Цель работы* – оценить генетическое разнообразие цитомегаловирусов, циркулирующих среди детей Нижнего Новгорода. *Материалы и методы.* Объектами исследования были клинические изоляты *Cytomegalovirus*, выделенные из образцов биологических субстратов (кровь, моча, слюна) у 580 детей в возрасте от 15 дней до 16 лет, ДНК и ее фрагменты. В работе использованы молекулярно-генетические (ПЦР, ПЦР РВ, секвенирование), биоинформационные и статистические методы. *Результаты.* Установлено, что показатели частоты обнаружения *Cytomegalovirus* у детей колебались в зависимости от нозологической формы заболевания от 3,8 % до 18,9 %. Проведена оценка различных методических подходов генотипирования клинических изолятов *Cytomegalovirus*. Впервые определены генотипы российских изолятов цитомегаловируса у детей, среди которых доминирующими оказались gB1, gB2, gN4a. Установлены случаи цитомегаловирусной инфекции, обусловленной одновременным присутствием двух и трех генотипов. Проведенный филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73* свидетельствует о генетической гетерогенности российских изолятов *Cytomegalovirus*, выделенных у детей Нижегородского региона. Полученные данные могут быть использованы в системе эпидемиологического надзора за цитомегаловирусной инфекцией. *Выводы.* Получены новые данные о распространенности различных генотипов *Cytomegalovirus* среди детей Нижнего Новгорода. Результаты генотипирования и филогенетического анализа клинических изолятов *Cytomegalovirus* могут быть использованы для разработки отечественных вакцин.

Ключевые слова: цитомегаловирус, дети, распространенность, генотипирование, филогенетический анализ.

Для цитирования: Ванькова О.Е., Бруснигина Н.Ф. Молекулярная и филогенетическая характеристика изолятов цитомегаловируса, выделенных у детей Нижнего Новгорода // Здоровье населения и среда обитания. 2021. № 4 (337). С. 25–30. doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-337-4-25-30>

Информация об авторах:

✉ Ванькова Ольга Евгеньевна – ст. науч. сотр. лаборатории метагеномики и молекулярной индикации патогенов; e-mail: voe0@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9838-1133>.

Бруснигина Нина Федоровна – к.м.н., доцент, заведующий лабораторией метагеномики и молекулярной индикации патогенов; e-mail: nfbrusnigina@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4582-5623>.

Molecular and Phylogenetic Characteristics of Cytomegaloviruses Isolated from Children in Nizhny Novgorod

O.E. Vankova, N.F. Brusnigina

Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology,
71 Malaya Yamskaya Street, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation

Summary. *Introduction:* Cytomegalovirus (CMV) infection is a serious problem of modern health care. It belongs to the category of socially significant infections and is characterized by polymorphism of clinical manifestations and high child mortality. Abroad, much attention is paid to virus genotyping, determining the role of various genotypes in the development of certain clinical forms of CMV infection, and developing a vaccine against congenital human cytomegalovirus infection. The *objective* of our study was to assess the genetic diversity of cytomegaloviruses in children of Nizhny Novgorod. *Materials and methods:* We analyzed clinical CMV isolates from body fluid samples (blood, urine, and saliva), viral DNA and its fragments in 580 children aged from 15 days to 16 years. Molecular biology (PCR, RT-PCR, and sequencing), bioinformatics and statistical methods were applied in the study. *Results:* We established that CMV detection rates in children varied from 3.8 % to 18.9 % depending on the form of the disease. We assessed various method approaches to genotyping human cytomegalovirus clinical isolates, were first to determine prevalent gB1, gB2, and gN4a CMV genotypes in children in the Russian Federation, and revealed infected cases caused by two and three genotypes simultaneously. The phylogenetic analysis of *UL55* and *UL73* gene sequences indicates genetic diversity of Russian CMV isolates from children in the Nizhny Novgorod Region. *Conclusions:* New data on the prevalence of various CMV genotypes in children living in Nizhny Novgorod may be used in the system of epidemiological surveillance of cytomegalovirus infection while the results of genotyping and phylogenetic analysis of clinical CMV isolates may contribute to domestic vaccine development.

Keywords: cytomegalovirus, children, prevalence, genotyping, phylogenetic analysis.

For citation: Vankova OE, Brusnigina NF. Molecular and phylogenetic characteristics of cytomegaloviruses isolated from children in Nizhny Novgorod. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2021; (4(337)):25–30. (In Russian). doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-337-4-25-30>

Author information:

✉ Olga E. Vankova, Senior Researcher, Laboratory of Metagenomics and Molecular Indication of Pathogens, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: voe0@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9838-1133>.

Nina F. Brusnigina, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Laboratory of Metagenomics and Molecular Indication of Pathogens, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: nfbrusnigina@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4582-5623>.

Введение. Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) является одной из актуальных проблем здравоохранения во всем мире, включая Россию. Это связано с широким ее распространением, преимущественно скрытым течением, высокой пораженностью детей младших возрастных групп, возможностью тяжелых внутриутробных поражений плода, включая его гибель, частым поражением органов зрения и слуха вплоть до развития слепоты, развитием рецидивов и тяжелым течением у больных с ВИЧ-инфекцией. Инфицирование плода цитомегаловирусом (ЦМВ) может происходить в любом триместре беременности в отличие от других инфекций группы TORCH [1–3]. По данным отечественной и зарубежной литературы, доля детей с врожденной ЦМВИ варьирует от 0,5 % до 5 %, из которых 90 % являются бессимптомными носителями. Интерес к ЦМВИ связан не только с высокой вероятностью развития тяжелых форм этого заболевания, но и с возможностью формирования прогностически неблагоприятных последствий у новорожденных и детей первого года жизни. Показатели частоты внутриутробного инфицирования плода в России варьируют от 0,1 % до 2,8 % и от 0,3 % до 3 % – в других странах мира [4, 5].

Штаммы ЦМВ различаются по степени вирулентности, уровню тропизма к клеткам и др., что обусловлено неоднородностью и динамической изменчивостью генов различных изолятов ЦМВ [6, 7]. Значительная часть генов ЦМВ кодирует белки, которые могут определять вирулентные свойства вируса путем уклонения от иммунной системы хозяина, молекулярной мимикрии или интерференции с хемокинами хозяина [6, 8].

На сегодняшний день отсутствует единая система генотипирования ЦМВ, в зарубежной литературе описаны различные варианты генотипирования, основанные на анализе полиморфных генов [7]. У ЦМВ выявлено 10 таких генов. Наиболее изученными из них и используемыми для дифференциации клинических изолятов ЦМВ являются гены *UL55* (gB), *UL73* (gN), *UL73* (gO), *UL144-TNRF* [9].

Наиболее часто исследователи проводят генотипирование по генам *UL55*(gB) и *UL73*(gN). Вероятно, одна из причин выбора данных генов связана с тем фактом, что разрабатываемые в настоящее время вакцины содержат рекомбинантный белок gB1. Известно, что в США, Австралии и Китае у детей с врожденной ЦМВИ превалирует генотип gB1, а в Мексике и Японии – gB3 и gB2 [10–13].

Генетические варианты ЦМВ-штаммов из различных географических регионов, как правило, идентичны, и существенно отличаются лишь показатели частоты их встречаемости [14]. Исследования, направленные на определение циркулирующих в Российской Федерации генотипов ЦМВ, необходимы как для сбора объективной информации о региональных особенностях, так и для решения различных задач эпидемиологического надзора за ЦМВИ, а также для оценки эффективности разрабатываемых вакцин.

Цель исследования – оценить генетическое разнообразие цитомегаловирусов, циркулирующих среди детей Нижнего Новгорода.

Материалы и методы. Объектами исследования были клинические изоляты *Cytomegalovirus*, выделенные из образцов биологических субстратов (кровь, моча, слюна) у 580 детей в возрасте от 15 дней до 16 лет, ДНК и ее фрагменты.

Отбор, транспортировку клинического материала проводили в соответствии с МУ 4.2.2039–05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории». Определение ДНК ЦМВ осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих диагностических тест-систем «АмплиСенс CMV-FL» (ЦНИИЭ, г. Москва). ДНК выделяли с применением коммерческих наборов «ДНК-сорб АМ» и «ДНК-сорб В» (ЦНИИЭ, г. Москва) в соответствии с инструкцией по применению. Согласно паспортным данным, чувствительность тест-систем составляет 1000 вирионов в 1 мл образца.

Клинические образцы, содержащие ДНК ЦМВ, были использованы для определения gB и gN генотипов ЦМВ. Конструирование праймеров проводили с использованием пакета программ DNASTAR Lasergen 11 (DNASTAR, США) и встроенных алгоритмов BLAST и Primer-BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/). Праймеры для генотипирования по генам *UL55* и *UL73* были выбраны на основе анализа данных литературы [14, 15–18]. Последовательности праймеров представлены в табл. 1.

Для получения ПЦР фрагмента были использованы Tag-полимеразы производства Takara Bio Ink и Thermo Fischer Scientific (США). Реакцию ПЦР проводили с помощью амплификатора DNA Engine Bio-Rad. Каждая ПЦР-реакция включала в себя 40 циклов, температура отжига праймеров к генам *UL55*(gB) и *UL73* (gN) составляла 55 °С. Детекцию продуктов амплификации осуществляли методом горизонтального электрофореза в агарозном геле. Выделение ампликонов соответствующего размера из геля проводили с помощью набора Wizard SV Gel и PCR Clean-UP system. После очистки концентрации целевого фрагмента в препарате оценивалась с помощью набора Qubit Fluorometric Quantitation Thermo Fischer Scientific согласно инструкции производителя. Полученные и очищенные фрагменты затем использовались в реакции секвенирования на платформе MiSeq (Illumina) с применением набора MiSeq reagent kit v2 на 500 циклов.

Полученные короткие чтения собирали и выравнивали относительно генома референс-штаммов, зарегистрированных в международной базе данных GenBank, с помощью программного обеспечения, встроенного в секвенатор. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программы CLC Genomics Workbench 5.5 (CLC bio).

В качестве референс-последовательностей были выбраны последовательности генов *UL55*(gB), *UL73*(gN) штаммов ЦМВ с известными геномами, взятыми из базы данных GenBank: GQ466044, HCU66425, HS5GLYBM, HS5GLYBL, HS5GLYBK, X04606, GQ221975, X17403, BK000394, FJ527563, HS5GLYBI, GQ121041, AY446894, M60929, HCU66425, GQ466044, EU686456, EU686440, AF309995,

Таблица 1. Сравнение отобранных праймеров для генов *UL55* (gB) и *UL73* (gN) с последовательностями изолятов ЦМВ известных генотипов

Table 1. Comparison of selected primers for *UL55* (gB) and *UL73* (gN) genes with nucleic acid sequences of CMV reference strains

Название штамма / Strain	Нуклеотидная последовательность прямого праймера / Nucleic acid sequence of the forward primer (f)	Нуклеотидная последовательность обратного праймера / Nucleic acid sequence of the reverse primer (r)
праймер gB / gB primer	tggaactggaacgtttggc	gcacctgacgctggttgg
gB1 Towne	tggaactggaacgtttggc	gcacctgacgctggttgg
gB2 AD169	tggaattggaacgtttggc	gcacctgacgctggttgg
gB3 H5GLYBM	tggaactggaacgtttggc	gcacctgacgctggttgg
gB4 C194A	tggaactggaacgtttggc	gcacctgacgctggttgg
gB5 MK157	tggaattagaacgtttgac	gcacctgacgctggttgg
gB6 HANRTR8	tggaactggaacgtttggc	gcacctgacactgtttgg
gB7 KF021605	tggaactggaacgtttggc	gcacctgacgctggttgg
праймер gN / gN primer	tggtgtgatggagtggaaac	gcaaccaccaccaaaaggcta
N1 AD169	tggtgtgatggagtggaaac	gcaaccaccaccaaaaggcta
N2 Merck	tggtgtgatggagtggaaa	gcgaccaccaccaaaaggcta
N3a BD	tggtgtgatggagtggaaa	gcaaccaccaccaaaaggcta
N3b N8a	tggtgtgatggagtggaaac	gcaaccaccaccaaaaggcta
N4a Can10	tggtgtgatggagtggaaac	gcgaccaccaccaaaaggcta
N4b Towne	tggtgtgatggagtggaaac	gcaaccaccaccaaaaggcta
N4c PM	tggtgtgatggagtggaaac	gcaaccaccaccaaaaggcta

AF224677, AF390785, AF309993, AF309987, EU686430, AF390802, AF309986, AF309975, AF309974, AF310006, AF309988, AF309980, AF309975, AF309969, GU647095, GU441773, GU376726, GU376725, GU376724, GU376723, GU376721, GU376720. Для анализа и визуализации полученных данных использовали программное обеспечение UGENE Unipro.

Для анализа последовательности генов *UL55*(gB) и *UL73*(gN) ЦМВ использовали алгоритм BLAST и пакет программ, представленные на сервере NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). С помощью программы CLUSTAL X 2.0 (<http://bips.ustrasbg.fr/fr/Documentation/ClustalX/>) проводили выравнивание последовательностей [19].

Анализ исследуемых нуклеотидных последовательностей генов и построение филогенетических деревьев осуществляли с помощью программного обеспечения MEGA 10.

Статистическую обработку данных проводили с помощью общепринятых алгоритмов в программах Microsoft Office (Excel), пакета статистических программ Statz, Statistica 6.0, Biostat.

Результаты. Один из этапов работы заключался в оценке распространенности ЦМВ среди детей с воспалительными заболеваниями органов пищеварения (хронический гастродуоденит, дискинезии желчевыводящих путей, эрозивно-язвенный процесс слизистых оболочек

ЖКТ), органов дыхания (пневмония, бронхит, ОРЗ/ОРВИ), с патологией центральной нервной системы и органов кроветворения, с внутриутробными инфекциями. Образцы биологических субстратов для проведения ПЦР-детекции ЦМВ отбирались у детей при наличии симптомов ЦМВИ: полилимфоаденопатии, гепатоспленомегалии, длительного субфебрилитета.

В группе детей в возрасте от двух до трех лет установлены высокие показатели частоты выявления ДНК ЦМВ (58–59 %). Показано снижение активности репликации ЦМВ у детей в возрасте четырех лет и старше. ДНК ЦМВ была обнаружена у 9,5 %, что, вероятно, связано со становлением иммунной системы.

Частота обнаружения ЦМВ у детей с различными заболеваниями представлена в табл. 2.

В группе детей с патологиями органов пищеварения, дыхания и кроветворения частота выявления ДНК ЦМВ была достоверно выше, чем в группах детей с заболеваниями ЦНС ($t = 3,3$) и ВУИ ($t = 3,8$).

Для характеристики циркулирующих клинических изолятов ЦМВ используют различные методы анализа переменных генов, такие как: генотип-специфический ПЦР анализ, анализ полиморфизма длины рестриционных фрагментов ДНК (ПДФ), секвенирование по Сэнгеру, генотип-специфический ПЦР в реальном времени, высокопроизводительное

Таблица 2. Частота выявления ЦМВ у детей с различными заболеваниями (n = 580)

Table 2. CMV detection rates in pediatric patients with various diseases (n = 580)

Форма патологии и количество обследованных / Form of the disease and the number of examined patients	Частота выявления ЦМВ (%) / CMV detection rate (%)
Заболевания органов дыхания (n = 79) / Respiratory diseases (n = 79)	16,5 ± 3,8
Патология органов пищеварения (n = 158) / Digestive disorders (n = 158)	18,9 ± 3,6
Патология органов кроветворения (n = 85) / Diseases of the hematopoietic system (n = 85)	14,1 ± 3,5
Патология ЦНС (n = 98) / Central nervous system damage (n = 98)	5,1 ± 2,2
Внутриутробное инфицирование ВУИ (n = 160) / Fetal infection (n = 160)	3,8 ± 1,6

секвенирование (NGS). Методы анализа ДНК, основанные на секвенировании, являются наиболее предпочтительными. Активное внедрение методов секвенирования в сферу научных и практических исследований позволило доказать, что в мире существует большое количество генетически разнообразных штаммов цитомегаловируса [20, 21].

Проведено генотипирование изолятов ЦМВ по генам *UL55* (gB) и *UL73* (gN) с использованием праймеров, предложенных Chou S. с соавторами в 1991 году, и Pignatelli S. et al. в 2003 г. соответственно [14, 17].

Результаты секвенирования нуклеотидных последовательностей гена *UL55* (gB) клинических изолятов ЦМВ, изолированных у детей, позволили выявить 5 gB-генотипов ЦМВ, циркулирующих среди детей Нижнего Новгорода: gB1, gB2, gB3, gB4, gB5. При этом генотип gB4 встречался лишь в ассоциации с gB2-генотипом. Следует отметить, что в генотиповой структуре доминировали генотипы gB1 (43,7 %) и gB2 (37,5 %). В двух случаях была обнаружена смешанная инфекция, обусловленная сочетанием двух генотипов: gB4 и gB2; gB1 и gB2.

Секвенирование фрагментов гена *UL73* (gN) ЦМВ, позволило обнаружить 4 генотипа: gN4a, gN3b, gN1, gN4c с доминированием генотипа gN4a (46,6 %). В четырех случаях была установлена смешанная инфекция, обусловленная сочетанием двух и трех gN-генотипов. Обнаружены следующие варианты микст-инфекции: gN3b и gN4a; gN1 и gN4a; gN1, gN4a и gN3b. У иммунокомпетентных пациентов (ВИЧ-инфицированные и пациенты, перенесшие пересадку солидного органа) и новорожденных детей с врожденной ЦМВИ часто наблюдается инфицирование несколькими штаммами ЦМВ разных генотипов. В этом случае отмечается более высокая вирусная нагрузка, а для элиминации вируса требуется более продолжительный временной период [21].

С целью определения эволюционного разнообразия клинических изолятов ЦМВ, выделенных у детей с клиническим и лабораторно подтвержденным диагнозом ЦМВИ, был проведен филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73*. Для сравнительного анализа из международной базы данных GenBank были отобраны нуклеотидные последовательности гена *UL55* (gB) 49 референс-штаммов и клинических изолятов, циркулирующих в разных странах Европы (Италия, Испания, Бельгия, Великобритания), США, Китае, Мексике, Индии, Египте, а также нуклеотидные последовательности гена *UL73* (gN) 46 референс-штаммов и клинических изолятов, циркулирующих в странах Европы (Италия, Испания, Великобритания), США, Китае, Индии.

В результате проведенного филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей гена *UL55* установлено, что нижегородские изоляты ЦМВ, выделенные у детей, разделились на пять основных кластеров и располагаются ближе к изолятам ЦМВ, циркулирующим на территории Великобритании и США, а один изолят ЦМВ генотипа gB2 филогенетически находится ближе к штамму, выделенному на территории Китая. Филогенетический анализ нуклеотидных по-

следовательностей гена *UL73* (gN) показал, что нижегородские изоляты ЦМВ распределились на 4 основных кластера и располагаются ближе всего к изолятам ЦМВ, выделенным в Италии, Испании и Великобритании. Клинические изоляты ЦМВ генотипов gN4c и gN3b оказались ближе к изолятам, выделенным в Китае и США. На рисунке представлена дендрограмма нуклеотидных последовательностей генов *UL55* (gB) и *UL73* (gN) исследуемых штаммов ЦМВ и депонированных в базе данных GenBank/NCBI.

Обсуждение. Проведенные исследования показали, что частота обнаружения ЦМВ у детей с заболеваниями органов пищеварения (гастрит, панкреатит, холецистит) была высокой и составила 18,9 %, с заболеваниями органов дыхания (пневмония, бронхит) – 16,5 %, с заболеваниями органов кроветворения – 14,1 %. У детей при разных формах патологии органов дыхания, пищеварения, кроветворения, ЦНС установлены достоверные различия в частоте выявления ЦМВ, что согласуется с данным литературы [22–24]. Высокая частота обнаружения ЦМВ у детей различных возрастных групп, проживающих в Нижнем Новгороде, свидетельствует о необходимости их обследования на инфицированность ЦМВ с целью ранней диагностики ЦМВИ и назначения эффективной этиотропной противовирусной и иммуномодулирующей терапии.

Сравнительный анализ полученных нами результатов с данными аналогичных исследований, проводимых в других странах, представлен в табл. 3. В России так же, как и в США, у детей доминируют генотипы ЦМВ gB1 и gB2 [25]. Следует отметить, что среди детей в других странах (Китай, Япония, Австралия) доминируют генотипы ЦМВ gB1 и gB3 [10, 11]. Результаты генотипирования изолятов ЦМВ по гену gN согласуются с результатами, полученными другими исследователями. Так, при изучении генетического разнообразия 270 клинических изолятов ЦМВ, выделенных у новорожденных с врожденной ЦМВИ в Италии, Pignatelli S. с соавторами было установлено 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 % [26]. А в исследовании, проведенном Ross S.A. с соавторами, показано, что среди новорожденных с врожденной ЦМВИ превалирует генотип gN3a (32 %) [25]. По нашим данным, среди детей доминировали генотипы gN1 и gN4a, также превалировал и генотип gN3b, в то время как в исследовании Pignatelli S. с соавторами он относился к минорным.

Проведенный филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73* показал, что большинство нижегородских изолятов ЦМВ, выделенных у детей, располагаются ближе к изолятам ЦМВ, циркулирующим на территории Великобритании, в США и Китае.

Несмотря на то, что роль генетической вариативности ЦМВ в развитии инфекционного процесса до конца не определена, исследования, направленные на изучение спектра циркулирующих в Российской Федерации генотипов ЦМВ, являются актуальными и необходимыми как для получения достоверной информации о



Рисунок. Дендрогаммы нуклеотидных последовательностей генов UL55(gB) и UL73 (gN) исследуемых штаммов ЦМВ и депонированных в базе данных GenBank/NCBI, построенные с использованием метода максимального правдоподобия

Примечание: цифры в узлах дерева обозначают уровень поддержки, полученный с помощью алгоритма быстрой загрузки

Figure. Dendrograms of UL55 (gB) and UL73 (gN) gene nucleotide sequences of CMV isolates studied and deposited in the GenBank/NCBI database built using a maximum likelihood method

Notes: The numbers in the nodes represent the level of support obtained using the rapid bootstrap algorithm

Таблица 3. Частота встречаемости различных генотипов ЦМВ среди детей с ЦМВИ в мире и в России

Table 3. Frequency of various CMV genotypes in children with CMV infection in different countries of the world and in Russia

Контингент – дети с ЦМВИ / Children with CMV infection	Генотип / Genotype	Частота встречаемости различных генотипов, % / Frequency of genotypes, %	Страна, ссылка / Country, references
По данным литературы / Published data	gB	gB1(50,63%), gB2(17,72%), gB3(21,52%), mix(10,3%)	Китай / China [12]
		gB2(76,5%), gB1(5,9%), gB3(11,8%), mix(5,9%)	Мексика / Mexico [11]
	gB3	gB1(39%), gB3(30%),	Австралия / Australia [13]
		gB1(42%), gB2(23%), gB5(1%)	Япония / Japan [10]
	gN	gN4c(22,9%), gN4a(20,3%), gN1(20,3%), gN4b(13,5%), gN2(8,1%), gN3a(8,1%), gN3b(6,8%)	Италия / Italy [26]
По результатам собственных исследований / Own research results	gB	gB2 (43,7%), gB1(37,5%), gB3(6,3%), gB4(6,3%), gB5(6,3%)	Россия / Russia
	gN	gN4a (46,6%), gN3b (26,6%), gN1 (20%), gN4c (6,6%)	

региональных особенностях, так и для решения различных эпидемиологических задач, включая установление источников, путей и факторов передачи инфекции, а также для создания эффективной вакцины.

Заключение

Таким образом, впервые получены оригинальные данные о пейзаже и долевого распределения генотипов ЦМВ, циркулирующих среди детей Нижнего Новгорода. Установлено, что в группе детей, преобладают генотипы gB1, gB2, gN4a. В 16 % случаев у пациентов обнаружена ЦМВИ, обусловленная ассоциацией двух и трех генотипов ЦМВ. Проведенный филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей генов *UL55* и *UL73* свидетельствует о генетической гетерогенности нижегородских изолятов ЦМВ.

Сведения о генотипах ЦМВ, циркулирующих в России и, в частности, на территории Нижегородской области, необходимы для оценки эпидемиологической ситуации по ЦМВИ, прогнозирования ее развития, совершенствования эпидемиологического надзора за данной инфекцией и могут быть полезны при решении вопроса о целесообразности использования на территории России активно разрабатываемых за рубежом вакцин против ЦМВ. Впервые нуклеотидные последовательности генома российских изолятов цитомегаловируса зарегистрированы в Международной базе данных GenBank/EMBL/DBJ.

Информация о вкладе авторов: Ванькова О.Е. — разработка дизайна исследования, проведение экспериментальных исследований, анализ полученных данных, написание текста рукописи; Бруснигина Н.Ф. — обсуждение дизайна исследования и полученных результатов, написание текста рукописи.

Финансирование: исследование проводилось в рамках целевой научно-исследовательской программы 2016–2020 «Проблемно-ориентированные научные исследования в области эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями».

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы (пп. 2–3, 5–26 см. References)

1. Григорьев К.И. Внутриутробные и неонатальные инфекции // Медицинская помощь. 2004. № 5. С. 7–15.
4. Кочкина С.С., Ситникова Е.П. Цитомегаловирусная инфекция у детей // Детские инфекции. 2016. Т. 15. № 1. С. 39–44.

References

1. Grigoryev KI. Intrauterine and neonatal infections. *Meditsinskaya Pomoshch.* 2004;(5):7–15. (In Russian).
2. Mendelson E, Aboudy Y, Smetana Z, Tepperberg M, Grossman Z. 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). *Reprod Toxicol.* 2006;21(4):350–382. doi: 10.1016/j.reprotox.2006.02.001
3. Marsico C, Kimberlin DW. Congenital Cytomegalovirus infection: advances and challenges in diagnosis, prevention and treatment. *Ital J Pediatr.* 2017;43(1):38. doi: 10.1186/s13052-017-0358-8
4. Kochkina SS, Sitnikova EP. Cytomegalovirus infection in children. *Detskie Infektsii.* 2016;15(1):39–44. (In Russian). doi: 10.22627/2072-8107-2016-15-1-39-44
5. Al Mana H, Yassine HM, Younes NN, Al-Mohannadi A, Al-Sadeq DW, Alhababi D, et al. The current status of cytomegalovirus (CMV) prevalence in the MENA Region: A systematic review. *Pathogens.* 2019;8(4):213. doi: 10.3390/pathogens8040213
6. Pignatelli S, Dal Monte P, Rossini G, Landini MP. Genetic polymorphisms among human cytomegalovirus (HCMV) wild-type strains. *Rev Med Virol.* 2004;14(6):383–410. doi: 10.1002/rmv.438

7. Pignatelli S. [Recent knowledges on the linkage of strain specific genotypes with clinical manifestations of human cytomegalovirus disease]. *Recenti Prog Med.* 2011;102(1):5–10. (In Italian).
8. Penfold ME, Dairaghi DJ, Duke GM, Saederup N, Mocarski ES, Kemble GW, et al. Cytomegalovirus encodes a potent alpha chemokine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(17):9839–44. doi: 10.1073/pnas.96.17.9839
9. Pignatelli S, Maurizio D, Ladini MP, Dal Monte P. Development of a multiplex PCR for the simultaneous amplification and genotyping of glycoprotein N among human cytomegalovirus strains. *New Microbiol.* 2010;33(3):257–62.
10. Yan H, Koyano S, Inami Y, Yamamoto Y, Suzutani T, Mizuguchi M, et al. Genetic variations in the gB, UL144 and UL149 genes of human cytomegalovirus strains collected from congenitally and postnatally infected Japanese children. *Arch Virol.* 2008;153(4):667–74. doi: 10.1007/s00705-008-0044-7
11. Arellano-Galindo J, Villanueva-Garcia D, Cruz-Ramirez JL, Yalaupari-Mejma JP, Uribe-Gutiérrez G, Velazquez-Guadarrama N, et al. Detection and gB genotyping of CMV in Mexican preterm infants in the context of maternal seropositivity. *J Infect Dev Ctries.* 2014;8(6):758–67. doi: 10.3855/jidc.3501
12. Yu ZS, Zou CC, Zheng JY, Zhao ZY. Cytomegalovirus gB genotype and clinical features in Chinese infants with congenital infections. *Intervirology.* 2006;49(5):281–5. doi: 10.1159/000093458
13. Trincado DE, Scott GM, White PA, Hunt C, Rasmussen L, Rawlinson WD. Human cytomegalovirus strains associated with congenital and perinatal infections. *J Med Virol.* 2000;61(4):481–7. doi: 10.1002/1096-9071(200008)61:4<481::aid-jmv11>3.0.co;2-h
14. Pignatelli S, Dal Monte P, Rossini G, Chou S, Gojbori T, Hanada K, et al. Human cytomegalovirus glycoprotein N (gpUL73-gN) genomic variants: identification of a novel subgroup, geographical distribution and evidence of positive selective pressure. *J Gen Virol.* 2003;84(Pt3):647–655. doi: 10.1099/vir.0.18704-0
15. Barbi M, Binda S, Caroppo S, Calvario A, Germinario C, Bozzi A, et al. Multicity Italian study of congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Infect Dis J.* 2006;25(2):156–9. doi: 10.1097/01.inf.0000199261.98769.29
16. de Vries JJC, Wessels E, Korver AMH, van der Eijk AA, Rusman LG, Kroes ACM, et al. Rapid genotyping of cytomegalovirus in dried blood spots by multiplex real-time PCR assays targeting the envelope glycoprotein gB and gH genes. *J Clin Microbiol.* 2012;50(2):232–7. doi: 10.1128/JCM.05253-11
17. Chou SW, Dennison KM. Analysis of interstrain variation in cytomegalovirus glycoprotein B sequences encoding neutralization-related epitopes. *J Infect Dis.* 1991;163(6):1229–34. doi: 10.1093/infdis/163.6.1229
18. Lisboa LF, Tong Y, Kumar D, et al. Analysis and clinical correlation of genetic variation in cytomegalovirus. *Transpl Infect Dis.* 2012;14(2):132–40. doi: 10.1111/j.1399-3062.2011.00685.x
19. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 1994;22(22):4673–80. doi: 10.1093/nar/22.22.4673
20. Dolan A, Cunningham C, Hector RD, Hassan-Walker AF, Lee L, Addison C, et al. Genetic content of wild-type human cytomegalovirus. *J Gen Virol.* 2004;85(Pt 5):1301–1312. doi: 10.1099/vir.0.79888-0
21. Görzer I, Guelly C, Trajanoski S, Puchhammer-Stöckl E. Deep sequencing reveals highly complex dynamics of human cytomegalovirus genotypes in transplant patients over time. *J Virol.* 2010;84(14):7195–203. doi: 10.1128/JVI.00475-10
22. Cannon MJ, Davis KF. Washing our hands of the congenital cytomegalovirus disease epidemic. *BMC Public Health.* 2005;5:70. doi: 10.1186/1471-2458-5-70
23. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Rev Med Virol.* 2007;17(4):253–76. doi: 10.1002/rmv.535
24. Rieder F, Steininger C. Cytomegalovirus vaccine: phase II clinical trial results. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(Suppl 5):95–102. doi: 10.1111/1469-0691.12449
25. Ross SA, Novak Z, Pati S, Boppana SB. Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. *Infect Disord Drug Targets.* 2011;11(5):466–74. doi: 10.2174/187152611797636703
26. Pignatelli S, Lazzarotto T, Gatto MR, Monte PD, Landini MP, Faldella G, et al. Cytomegalovirus gN genotypes distribution among congenitally infected newborns and their relationship with symptoms at birth and sequelae. *Clin Infect Dis.* 2010;51(1):33–41. doi: 10.1086/653423