

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВГЧ6А/В У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ

Суслов Н. А. ¹,
Филатова Е. Н. ¹,
Минаева С. В. ²,
Сахарнов Н. А.¹,
Уткин О. В. ¹

¹ ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

² ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, г. Нижний Новгород, Россия

**HHV6A/B MOLECULAR GENETIC DIVERSITY IN HIV-INFECTED
INDIVIDUALS**

Suslov N. A. ^a,

Filatova E. N. ^a,

Minaeva S. V. ^b,

Sakharnov N. A. ^a,

Utkin O. V. ^a

^a Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

^b Privolzhskiy Research Medical University, Nizhniy Novgorod, Russian Federation

Резюме

Вирусы герпеса человека 6А и 6В (ВГЧ6А, ВГЧ6В) являются повсеместно распространенными патогенами с пожизненной персистенцией в организме. ВГЧ6А/В-инфекция часто сопутствует ВИЧ-инфекции, однако сведения о взаимодействии двух вирусов носят противоречивый характер. Причиной разногласий результатов исследования влияния ВГЧ6А/В на течение ВИЧ-инфекции может служить молекулярно-генетическая изменчивость самих бета-герпесвирусов. Целью работы стала оценка молекулярно-генетического разнообразия ВГЧ6А и ВГЧ6В у взрослых ВИЧ-инфицированных лиц в Нижегородском регионе. *Материалы и методы.* Были исследованы изоляты, выделенные из лейкоцитов крови 138 ВИЧ-инфицированных пациентов (ВИЧ(+)) и 68 ВИЧ-неинфицированных (ВИЧ(-)) лиц. Видовую принадлежность ВГЧ6А/В определяли методом ПЦР с электрофорезом в агарозном геле. Нуклеотидные последовательности фрагмента гена *U90A* (206 н.о.) и *U90B* (431 н.о.) получали методом секвенирования по Сэнгеру. Внутривидовой геновариант рассматриваемых бета-герпесвирусов устанавливали на основании сигнатурных нуклеотидных замен секвенированных последовательностей и в соответствии с авторской классификацией. *Результаты.* ДНК ВГЧ6А/В была обнаружена у 39% ВИЧ(+) и 46% ВИЧ(-) обследованных лиц. ВГЧ6А (геновариант GV3a) был идентифицирован в одном ВИЧ(+) образце. Остальные образцы обеих групп содержали ВГЧ6В. В группе ВИЧ-инфицированных пациентов наблюдалось равное распределение доминирующих геновариантов GV1a, GV2b и GV2e (~30% каждый), а также был выявлен минорный GV2a (7,3%). В группе клинически здоровых вирусоносителей преобладал геновариант GV2e (72,4%), тогда как GV1a и GV2b встречались реже. Вероятность обнаружения GV2e снижалась (OR=0,18 (0,04; 0,76), p=0,031), а вариантов GV1a и GV2b увеличивалась (в обоих случаях OR=5,48 (1,31; 28,52), p=0,016) у ВИЧ(+) лиц по сравнению с контрольной группой. Анализ возрастной структуры

геновариантов ВГЧ6В показал, что в группе ВИЧ-инфицированных с уменьшением возраста пациентов снижается разнообразие геновариантов. *Заключение.* Полученные результаты свидетельствуют о необходимости изучения молекулярно-генетического разнообразия ВГЧ6А и ВГЧ6В для осуществления эффективной диагностики и интерпретации ее результатов у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Ключевые слова: ВГЧ6А, ВГЧ6В, ВИЧ, молекулярно-генетическое разнообразие, геновариант, полиморфизм.

Abstract

Human herpesviruses 6A and 6B (HHV6A, HHV6B) are ubiquitous pathogens with lifelong host persistence. HHV6A/B infection often accompanies HIV infection, however, data on the interaction between the two viruses are contradictory. The discrepancy in study results assessing an impact of HHV6A/B on the course of HIV infection may be due to the molecular genetic variability related to betaherpesviruses. The aim of this work was to assess the molecular genetic diversity of HHV6A and HHV6B in HIV-infected adults in the Nizhny Novgorod region. *Materials and methods.* Blood leukocyte isolates from the blood leukocytes collected from 138 HIV-infected patients (HIV(+)) and 68 HIV-uninfected (HIV(-)) individuals were studied. HHV6A/B species were identified by PCR with agarose gel electrophoresis. Nucleotide sequences of the *U90A* (206 bp) and *U90B* (431 bp) gene fragments were obtained by Sanger sequencing. The intra-species genovariant of the examined betaherpesviruses was determined based on signature nucleotide substitutions of the sequenced sequences and in accordance with the author's classification. *Results.* HHV6A/B DNA was detected in 39% of HIV(+) and 46% of HIV(-) examined individuals. HHV6A (genovariant GV3a) was identified in one HIV(+) sample. The remaining samples from both groups contained HHV6B. In the group of HIV-infected patients, dominant genovariants GV1a, GV2b, and GV2e (~30% each) were evenly distributed, and the minor GV2a (7,3%) was also detected. In the group of clinically healthy virus carriers, genovariant GV2e predominated (72,4%), while GV1a and GV2b were less common. The likelihood of detecting GV2e decreased (OR=0,18 (0,04; 0,76), p=0,031), whereas that of for GV1a and GV2b variants increased (in both cases OR=5,48 (1,31; 28,52), p=0,016) in HIV(+) individuals compared to control group. Analyzing age pattern for HHV6B genovariants showed that in HIV-infected patients, the diversity of genovariants declines with decreasing patient age. *Conclusion.* The data obtained evidence about a need to investigate molecular genetic diversity of HHV6A and HHV6B to effectively diagnose and interpret related results in patients with HIV infection.

Keywords: HHV6A, HHV6B, HIV, molecular genetic diversity, genovariant, polymorphism.

1 Введение

2 Проблема эпидемии вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) в России
3 остается в фокусе пристального внимания исследователей и врачей-
4 клиницистов. Вирусы герпеса человека 6А и 6В (*Roseolovirus humanbetaa*,
5 ВГЧ6А; *Roseolovirus humanbetabb*, ВГЧ6В), будучи повсеместно
6 распространенными патогенами, способными к пожизненной персистенции в
7 организме, являются частыми спутниками ВИЧ-инфекции. Их
8 пересекающиеся пути патогенеза (например, общий тропизм к CD4⁺ Т-
9 лимфоцитам) создают уникальное поле для взаимодействия [12], однако
10 вопрос о ВГЧ6А/В-ВИЧ коинфекции изучен недостаточно.

11 Результаты экспериментов *in vitro* противоречивы и часто не
12 согласуются с данными когортных наблюдений. Несколько
13 исследовательских работ *in vitro* показали способность ВГЧ6А/В и ВИЧ прямо
14 или опосредованно регулировать активность друг друга [14, 15], а также
15 способность рассматриваемых бета-герпесвирусов усиливать репликацию
16 ВИЧ и ускорять развитие заболевания [9, 10, 13]. Тем не менее, когортные
17 исследования указывали на отсутствие выраженного влияния ВГЧ6А/В на
18 течение ВИЧ-инфекции [18, 23]. Анализ механизмов взаимодействия
19 ВГЧ6А/В и ВИЧ также затруднен вследствие недостатка современных
20 фундаментальных исследований. Большинство работ, затрагивающие
21 тематику настоящего исследования, были выполнены в конце прошлого века
22 и не использовали доступные сегодня молекулярно-генетические методы.
23 Кроме того, в большинстве работ не проводили видовую дифференциацию
24 ВГЧ6А и ВГЧ6В (выделены как отдельные виды в 2012 году).

25 Причиной разногласий результатов исследования влияния ВГЧ6А/В на
26 течение ВИЧ-инфекции также может служить молекулярно-генетическая
27 изменчивость самих бета-герпесвирусов. Установлено, что
28 последовательности многих вирусных генов, которые регулируют ключевые
29 этапы жизненного цикла ВГЧ6А/В, определяют клеточный тропизм вирусов и

30 механизмы их взаимодействия с иммунной системой хозяина,
31 характеризуются как межвидовой, так и внутривидовой вариабельностью [7,
32 8, 24]. На сегодняшний день генетическое разнообразие ВГЧ6А и ВГЧ6В не
33 изучено.

34 Целью данной работы явилась оценка молекулярно-генетического
35 разнообразия ВГЧ6А и ВГЧ6В у взрослых ВИЧ-инфицированных лиц в
36 Нижегородском регионе.

37 2 Материалы и методы

38 *Характеристика объектов исследования.* Были обследованы 138 ВИЧ-
39 инфицированных пациентов (ВИЧ(+)) (м=72 (52±4%), ж=66 (48±4%)) в
40 возрасте 20-69 лет, находившихся на диспансерном наблюдении в ГБУЗНО
41 «НОЦ СПИД» (г. Нижний Новгород). В качестве контрольной группы
42 выступили 68 ВИЧ-неинфицированных клинически здоровых ВГЧ6-
43 вирусносителей (ВИЧ(-)) (м=40 (59±6%), ж=28 (41±6%)) в возрасте от 20-72
44 лет, проходивших диспансеризацию в ООО «НИКА СПРИНГ НН» (г. Нижний
45 Новгород). При анализе изменения структуры геновариантов ВГЧ6В в
46 зависимости от возраста также использовали расшифрованные нами ранее
47 последовательности фрагмента гена *U90*, полученные от ВИЧ(-) детей (NCBI
48 ID: PP921947-PP922119; PV980202-PV980294) [5].

49 При разделении исследуемых лиц на возрастные группы опирались на
50 медико-биологическую периодизацию Покровского В.И. с изменениями [1]. В
51 частности, для увеличения мощности статистических критериев,
52 малочисленные возрастные группы оригинальной периодизация (**младший**
53 **школьный возраст (6/7-10/12 лет), подростковый период (девочки: 10-17/18**
54 **лет, мальчики: 12-17/18 лет) и юношеский период (юноши: 17-21 год,**
55 **девушки: 16-20 лет)) были объединены в две группы: младшие школьники (8-**
56 **10 лет), подростки и молодые люди (11-20 лет).**

57 Согласно действующей в России клинической классификации ВИЧ-
58 инфекции, среди обследованных ВИЧ(+) пациентов на стадии С3 находились

59 64 (46±4%) человека (м=31 (48±6%), ж=33 (52±4%)), а на стадии С4 - 74
60 (54±4%) человека (м=41 (55±6%), ж=33 (45±6%)). Количество CD4⁺ Т-клеток
61 в крови ВИЧ-инфицированных на стадии С3 составило 574 [303; 780]
62 клеток/мкл (медиана, первый и третий квартили); на стадии С4 - 138 [69; 333]
63 клеток/мкл. В группе ВИЧ(+) 88 (64±4%; м=43 (49±5%), ж=45 (51±5%))
64 пациентов принимали антиретровирусную терапию (АРТ); 50 (36±4%; м=29
65 (58±7%), ж=21 (42±7%)) пациентам АРТ на момент исследования не была
66 назначена. Средняя длительность АРТ составила 31 [23; 42] месяц для ВИЧ(+)
67 пациентов на стадии С3 и 34 [20; 43] месяца на стадии С4. Среди
68 обследованных ВИЧ-инфицированных отсутствовали лица с активными
69 оппортунистическими инфекциями.

70 *Типирование ВГЧ6А и ВГЧ6В.* Материалом для исследования послужила
71 цельная периферическая кровь, стабилизированная КЗЭДТА. Лейкоцитарную
72 фракцию получали из образцов крови с применением реагента «Гемолитик»
73 (ЦНИИЭ, Россия). Выделение тотальной нуклеиновой кислоты проводили с
74 помощью комплекта реагентов «РИБО-преп» (ЦНИИЭ, Россия). Выявление
75 ДНК ВГЧ6А/В в лейкоцитарной фракции выполняли методом ПЦР в реальном
76 времени с использованием тест-системы «АмплиСенс® EBV/CMV/HIV6A/B-
77 скрин-FL» (ЦНИИЭ, Россия) и амплификатора Rotor-Gene. Q 5plex HRM
78 (Qiagen, Германия) согласно инструкции производителя.

79 Раздельную детекцию ВГЧ6А и ВГЧ6В осуществляли методом ПЦР с
80 электрофорезом в агарозном геле, амплифицируя фрагмент гена *U90* (патент
81 РФ № RU2805956С1 от 20.02.2023). Амплификацию фрагмента гена *U90*
82 проводили в приборе MaxuGene Gradient (Axugen, США), используя праймеры
83 HIV6F 5'-TCA TAA GGT GCT GAG TGA TCA GTT-3' и HIV6R 5'-CCT CAG
84 TGA CAG ATC TGG GC-3'. Нарботанные ампликоны изолировали из
85 агарозного геля с применением набора «ФБиоГель» (Фрактал Био, Россия) и в
86 количестве 150-300 нг амплифицировали в присутствии флуоресцентных
87 терминальных нуклеотидов набора «Big Dye terminator v.3.1 Cycler Sequencing

88 Kit» (Applied Biosystems, США) в термоциклере «Verity» (Applied Biosystems,
89 США). Очистку меченого образца производили методом осаждения в
90 присутствии 3М ацетата натрия, гликогена и изопропанола. После очистки
91 фрагменты ДНК растворяли в HiDi формамиде. Секвенирование
92 осуществляли с использованием аппарата «AB-3500 Genetic Analyzer»
93 (Applied Biosystems, США) и оригинального программного обеспечения 500
94 Data Collection Software V.1.0.

95 *Биоинформатический анализ.* Множественное выравнивание
96 секвенированных последовательностей фрагмента гена *U90A* (206 н.о.) и *U90B*
97 (431 н.о.) реализовывали с помощью алгоритма ClustalW. Для идентификации
98 геноварианта бета-герпесвирусов применяли ранее разработанную авторскую
99 классификацию, основанную на анализе сигнатурных нуклеотидных замен [6].
100 Референсами послужили нуклеотидные последовательности, полученные из
101 банка NCBI Nucleotide, и ранее расшифрованные нами последовательности
102 нижегородских изолятов ВГЧ6А и ВГЧ6В (NCBI ID: X83413.2, KC465951.1,
103 MK630134.1, KT895199.1, KT355575.1, AF557706.1, MF511175.2, AY245913.1,
104 KY274506.2, PP922035.1). Анализ секвенированных последовательностей
105 фрагмента гена *U90A* и *U90B* выполняли с использованием программы Unipro
106 UGENE (версия 52.0, лицензия GNU GPL 2 [17]). Построение деревьев
107 методом максимального правдоподобия осуществляли с применением пакета
108 расширения R phangorn (версия 2.12.1) [21]. Создание иллюстраций
109 осуществляли с применением пакетов расширения R ggplot2 (версия 3.5.1) и
110 ggtree (версия 3.10.1) [25, 26].

111 Для определения нормальности распределения применяли критерий
112 Шапиро-Уилка. Сравнение значений количественных переменных выполняли
113 с использованием критерия Манна-Уитни. Для сравнения частот
114 качественных переменных применяли точный критерий Фишера. Силу связи
115 оценивали с применением V-критерия Крамера (cV). Расчет отношения
116 шансов (OR) осуществляли методом условной оценки максимального

117 правдоподобия (англ. conditional maximum likelihood estimate). OR указывали
118 с 95%-ным доверительным интервалом. При проведении сравнений уровень
119 статистической значимости p корректировали с помощью поправки
120 Бенджамини-Хохберга.

121 *Соблюдение этических требований.* Информированное согласие
122 пациентов на проведение исследовательской работы было получено
123 сотрудниками медицинских организаций в соответствии с положениями
124 Хельсинкской декларации (2013). Работа одобрена локальным этическим
125 комитетом ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной (протокол № 3 от
126 11.11.2021 г.).

127 **3 Результаты**

128 *Обнаружение ДНК ВГЧ6А и ВГЧ6В у ВИЧ-инфицированных пациентов*
129 *и клинически здоровых вирусоносителей.* ДНК ВГЧ6А/В была обнаружена в 54
130 (39%) образцах лейкоцитов периферической крови ВИЧ-инфицированных
131 пациентов, и в 31 (46%) образце клинически здоровых вирусоносителей.
132 Статистически значимые различия частот выявления ДНК ВГЧ6В между
133 ВИЧ(+) пациентами и участниками контрольной группы выявлены не были.

134 Установить видовую принадлежность ВГЧ6А/В удалось у 43 (80 %) и 29
135 (94 %) ВИЧ(+) и ВИЧ(-) обследованных соответственно. В контрольной
136 группе все выделенные изоляты принадлежали к ВГЧ6В. Среди ВИЧ-
137 инфицированных пациентов 42 (98%) изолята были определены как ВГЧ6В и
138 1 (2%) изолят как ВГЧ6А.

139 Изолят ВГЧ6А был выделен у мужчины 29 лет с ВИЧ-инфекцией.
140 Несмотря на стадию заболевания С4 и отсутствие АРТ, у пациента не были
141 обнаружены признаки иммунодефицита - уровень $CD4^+$ Т-лимфоцитов
142 превышал 500 клеток/мкл. Данный изолят был отнесен к геноварианту GV3a
143 ВГЧ6А (рис. 1) и в дальнейшем исследовании не учитывался.

144 Геновариант ВГЧ6В был определен в 98% (41/43 чел.) ВИЧ-
145 положительных образцов, в которых удалось установить видовую

146 принадлежность ВГЧ6А/В. В контрольной группе ВИЧ-неинфицированных
147 клинически здоровых вирусоносителей геновариант ВГЧ6В был
148 идентифицирован в 100% (29/29 чел.) образцов. Часть расшифрованных
149 нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *U90* нижегородских
150 изолятов ВГЧ6А и ВГЧ6В были депонированы в международном банке
151 данных NCBI Nucleotide (NCBI ID: PV972840, PV980295-PV980308).

152 Содержание ДНК ВГЧ6В в лейкоцитах крови ВИЧ(+) пациентов
153 находилось в пределах 0,14 [0,06; 0,23] копий/10⁵ клеток, тогда как у здоровых
154 вирусоносителей этот показатель составил 0,25 [0,15; 0,39] копий/10⁵ клеток.
155 Между двумя группами сравнения различия были статистически значимы
156 ($\Delta(\text{ВИЧ}(-) - \text{ВИЧ}(+)) = 0,10$ (95% ДИ: 0,03; 0,17) копий/10⁵ клеток, $p = 0,006$).
157 При этом уровень ДНК ВГЧ6В у людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), на стадиях
158 С3 и С4 статистически значимо не отличался. Также различий не было
159 установлено при дальнейшем сравнении содержания ДНК ВГЧ6В в
160 лейкоцитах крови ВИЧ(+) и ВИЧ(-) вирусоносителей, инфицированных
161 разными геновариантами ВГЧ6В. Следует отметить, что ни в одном случае
162 концентрация ДНК ВГЧ6А/В не превышала 5,5 log₁₀ копий/10⁵ клеток, что
163 позволило исключить наследуемую хромосомно-интегрированную форму
164 инфекций у обследованных нами лиц.

165 *Молекулярно-генетический полиморфизм ВГЧ6В у ВИЧ-*
166 *инфицированных пациентов и клинически здоровых вирусоносителей.* Среди
167 обследованных лиц обеих групп установлена циркуляция GV1a, GV2a, GV2b
168 и GV2e геновариантов ВГЧ6В (рис. 2), при этом геновариант GV2a выявляли
169 только в изолятах, полученных от ЛЖВ.

170 Все последовательности фрагмента *U90Vpart431*, полученные от ВИЧ-
171 инфицированных пациентов и участников контрольной группы, имели
172 сигнатурные нуклеотидные замены, определяющие их принадлежность к
173 классифицируемым геновариантам ВГЧ6В. Мутации, не описанные в рамках
174 текущей классификации, встречались единично. В частности, у двух

175 клинически здоровых вирусоносителей варианта GV2b зарегистрирована
176 замена C136406G. Поскольку для всей группы геновариантов GV2 (GV2a,
177 GV2b и GV2e) характерна нуклеотидная замена C136406A,
178 идентифицированные последовательности могут представлять собой новый,
179 ранее не описанный геновариант ВГЧ6В. Кроме того, у трех ВИЧ-
180 положительных лиц с геновариантом GV1a обнаружена комбинация двух
181 нуклеотидных замен - C136253T и T136559C; еще у трех ВИЧ(+) носителей
182 геноварианта GV2e идентифицирована замена A136346G. Примечательно, что
183 в изученных нами ранее последовательностях ВГЧ6В *U90Vpart431*,
184 полученных от детей (как клинически здоровых вирусоносителей, так и
185 пациентов с ВГЧ6В-инфекцией), аналогичные нуклеотидные замены
186 отсутствовали [5].

187 Филогенетический анализ показал, что, несмотря на наличие
188 уникальных мутаций, нижегородские изоляты ВГЧ6В, полученные от
189 пациентов с ВИЧ-инфекцией, не образовывали обособленных
190 монофилетических кластеров (рис. 3). Стоит отметить, что в базе данных
191 NCBI была обнаружена последовательность геноварианта GV2e, выделенной
192 в Нью-Йорке в 2019 году. Ранее все депонированные изоляты этого
193 геноварианта ВГЧ6В имели исключительно нижегородское происхождение.
194 Это свидетельствует о глобальном распространении данного геноварианта,
195 однако его явное доминирование в популяции в настоящее время наблюдается
196 только в Нижегородском регионе (от 29% до 100% среди локальных изолятов
197 ВГЧ6В). Для сравнения, в Нью-Йорке его доля в 2019 году составила лишь
198 около 3% (1 изолят из 33).

199 *Структура геновариантов ВГЧ6В, циркулирующих среди взрослых*
200 *ВИЧ-инфицированных пациентов и клинически здоровых вирусоносителей.*
201 Среди ВИЧ-инфицированных взрослых фиксировали доминирование трех
202 геновариантов ВГЧ6В: GV2e - 29,3±7,1% (12/41 чел.), GV1a и GV2b - каждый
203 по 31,7±7,3% (13/41 чел.) пациентов. Минорным вариантом ВГЧ6В у ЛЖВ

204 являлся GV2a (7,3±4,1% (3/41 чел.) обследованных), который не был
205 обнаружен в контрольной группе. Все трое пациентов с вариантом GV2a
206 находились на 3-й клинической стадии ВИЧ-инфекции, не имели признаков
207 иммунодефицита и получали АРТ. Следует отметить, что вариант GV2a ранее
208 регистрировался нами как у здоровых детей-носителей ВГЧ6В, так и у детей с
209 клинически выраженной ВГЧ6В-инфекцией [5]. В контрольной группе,
210 напротив, наблюдалось явное доминирование геноварианта GV2e, он был
211 выявлен у 72,4±8,3% (21/29 чел.) обследованных. Среди клинически здоровых
212 вирусоносителей также были выявлены варианты GV1a и GV2b (по 13,8±6,4%
213 (4/29 чел.) здоровых носителей каждого варианта) (рис. 4).

214 Обнаружены статистически значимые различия в структуре
215 геновариантов ВГЧ6В у ЛЖВ и контрольной группы ($p=0,026$, $cV=0,386$). У
216 ВИЧ-инфицированных пациентов существенно снижалась вероятность
217 обнаружения геноварианта GV2e ($OR=0,18$ (0,04; 0,76), $p=0,031$), в то время
218 как шансы выявить варианты GV1a и GV2b были повышены (в обоих случаях
219 $OR=5,48$ (1,31; 28,52), $p=0,016$).

220 С учетом данных, полученных ранее в результате изучения детской
221 популяции [5], был проанализирован возрастной аспект молекулярно-
222 генетического разнообразия ВГЧ6В у ВИЧ(+) и ВИЧ(-) лиц. В обеих группах
223 структура геновариантов демонстрировала вариабельность в зависимости от
224 возраста (рис. 5).

225 По мере уменьшения возраста обследованных лиц ВИЧ(+) и ВИЧ(-)
226 групп увеличивалось разнообразие геновариантов ВГЧ6В. Тем не менее,
227 возрастные различия частот встречаемости геновариантов ВГЧ6В в данном
228 исследовании не достигли уровня статистической значимости.

229 4 Обсуждение

230 Менее половины образцов лейкоцитов крови, полученных от ВИЧ-
231 инфицированных, содержали ДНК ВГЧ6А/В. Сведения научных публикаций
232 об инфицировании ВГЧ6А/В среди лиц с ВИЧ-инфекцией неоднозначны.

233 Серологические исследования показали, что 99% ВИЧ-инфицированных лиц
234 имеют антитела к ВГЧ6А/В [14]. Согласно мета-анализу Kostare et al. (2025),
235 который включал результаты 12 исследований, доля носителей ВГЧ6А/В в
236 группе ВИЧ(+) составляла 8% (95% ДИ: 4,4-12,4%) [11]. Авторы отмечают,
237 что большинство публикаций не вошли в анализ из-за методологических
238 различий (используемые методы, тип биоматериала), а также недостатка
239 клинико-демографических данных о пациентах (стадия ВИЧ-инфекции,
240 уровень иммуносупрессии, схема терапии, возраст и пол). Результаты ПЦР-
241 диагностики, применяемой для выявления ДНК ВГЧ6А/В, различаются в
242 зависимости от исследуемого материала. Так, в слюне ВИЧ-инфицированных
243 ДНК ВГЧ6А/В обнаруживается у 40% обследуемых [22], в клетках ротовой
244 полости - у 18% [19], а в клетках периферической крови - от 0 до 32% [11, 18,
245 20]. Кроме того, обсуждается зависимость частоты выявления ДНК ВГЧ6А/В
246 в крови ЛЖВ от уровня иммуносупрессии и приема АРТ [11, 18]. Объяснить
247 расхождения частот выявления ДНК ВГЧ6А/В также могут методологические
248 различия исследований, в частности, использование тест-систем с
249 неодинаковой аналитической чувствительностью.

250 Данные, полученные нами ранее, а также результаты другого
251 исследования [11], показывают, что у лиц с ВИЧ-инфекцией и клинически
252 здоровых вирусоносителей при отсутствии активной ВГЧ6А/В-инфекции
253 уровни концентрации ДНК рассматриваемых бета-герпесвирусов в клетках
254 крови являются крайне низкими (единицы копий/10⁵ клеток). Более того, в
255 данной работе показано, что содержание ДНК ВГЧ6В в лейкоцитах крови
256 ВИЧ(+) пациентов было ниже по сравнению с клинически здоровыми ВИЧ(-)
257 лицами. Это может быть связано с тем, что элиминация CD4⁺ Т-клеток,
258 являющихся резервуаром ВГЧ6В, способна приводить к исчезновению бета-
259 герпесвируса из крови при прогрессировании заболевания и развитии СПИДа
260 [18]. При использовании тест-систем с малой чувствительностью, низкое
261 содержание ДНК ВГЧ6А/В в крови может приводить к ложноотрицательным

262 результатам анализа, тем самым влияя на расчетные показатели частоты
263 выявления бета-герпесвирусов. Таким образом, полученные нами результаты
264 согласуются с данными других исследований.

265 Анализ молекулярно-генетического полиморфизма ВГЧ6В не выявил
266 особых мутаций и новых геновариантов у ВИЧ-инфицированных пациентов.
267 Уровень нуклеотидной изменчивости в исследуемом фрагменте гена *U90*
268 (*U90Bpart431*) соответствовал общемировой картине, ограничиваясь 1-2
269 уникальными заменами на фрагмент или их отсутствием. В образцах ВГЧ6В,
270 полученных от лиц с ВИЧ-инфекцией, также не наблюдалось увеличения
271 частоты нуклеотидных замен. Известно, что коинфекция ВИЧ и любых
272 герпесвирусов человека может взаимно усиливать репликацию обоих
273 патогенов, что потенциально приводит к росту их генетического разнообразия
274 [14]. В частности, наши предыдущие исследования показали, что у ВИЧ-
275 инфицированных в гене *LMP-1* вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) чаще возникали
276 нуклеотидные замены и делеции по сравнению с контрольной группой. Это
277 может указывать на то, что иммунокомпрометированные пациенты являются
278 резервуаром повышенной генетической изменчивости ВЭБ [3]. Однако для
279 ВГЧ6В подобного эффекта «генетической нестабильности» в условиях ВИЧ-
280 инфекции выявлено не было. Это подчеркивает важность индивидуального
281 подхода к изучению особенностей каждого представителя семейства
282 герпесвирусов во взаимосвязи с ВИЧ-инфекцией.

283 Генотипирование ВГЧ6В продемонстрировало циркуляцию
284 геновариантов GV1a, GV2a, GV2b и GV2e среди ВИЧ(-) и ВИЧ(+) населения
285 Нижегородской области. Выполненный нами ранее анализ встречаемости
286 геновариантов ВГЧ6В в популяциях стран мира показал, что вариант GV2b
287 более распространен в странах Европы и Северной Америки, GV2a - в странах
288 Азии, а GV1a - во всех выше перечисленных регионах. Геновариант GV2e на
289 текущий момент выявлен преимущественно на территории Нижегородской
290 области России [6]. Таким образом, у взрослых ВИЧ(+) и ВИЧ(-) лиц

291 нижегородского региона представлены все известные геноварианты ВГЧ6В.
292 Однако спектр геновариантов ВГЧ6В у ВИЧ(+) и ВИЧ(-) лиц отличался: GV1a
293 и GV2b преобладали у ВИЧ-инфицированных пациентов, а GV2e - у
294 клинически здоровых вирусоносителей. В обеих группах наблюдали рост
295 молекулярно-генетического разнообразия ВГЧ6В по мере уменьшения
296 возраста обследуемых. При этом геновариант GV2a, который у клинически
297 здоровых лиц был обнаружен исключительно у детей дошкольного возраста,
298 у пациентов с ВИЧ-инфекцией выявлялся в более старшей группе - от 21 до 35
299 лет.

300 Для объяснения различий в распределении геновариантов у ВИЧ-
301 инфицированных пациентов и клинически здоровых вирусоносителей нами
302 было сформулировано три гипотезы.

303 Первая гипотеза заключается в специфическом влиянии геновариантов
304 ВГЧ6В на иммунную систему ВИЧ-инфицированных пациентов. Ранее нами
305 было показано, что у детей с моноклеозоподобным синдромом геноварианты
306 ВГЧ6В вносили разный вклад в изменение лейкоцитарной формулы.
307 Например, вариант GV2b обуславливал увеличение содержания нейтрофилов,
308 а при инфицировании GV2e наблюдали рост содержания лимфоцитов [5]. При
309 ВИЧ-индуцированной дисрегуляции иммунных процессов может
310 происходить отбор определенных вариантов ВГЧ6В, которые являются более
311 приспособленными к персистенции в условиях иммунодефицита. В то же
312 время, усиливая те или иные звенья иммунитета, различные варианты ВГЧ6В
313 могут способствовать развитию иммунодефицита при ВИЧ, или
314 препятствовать ему.

315 Вторая гипотеза заключается в различиях клеточного тропизма
316 геновариантов ВГЧ6В. Ранее нами был зафиксирован случай одновременного
317 инфицирования 7-летнего здорового мальчика двумя вариантами ВГЧ6В -
318 GV2a и GV2b. Примечательно, что GV2a был выделен из крови мальчика, а
319 GV2b - из слюны. Это наблюдение позволяет предположить, что некоторые

320 геноварианты ВГЧ6В могут обладать более выраженным тропизмом к клеткам
321 слюнных желез, а другие к клеткам иммунной системы, циркулирующим в
322 периферической крови [5]. Кроме того, при разработке и обосновании
323 авторской классификации нами было показано, что различные геноварианты
324 ВГЧ6А/В, классифицируемые на основе фрагмента гена *U90*, могут иметь
325 различный клеточный тропизм, благодаря особенностям структуры вирусных
326 гликопротеинов - gВ и gН (кодируются вирусными генами *U39* и *U48*
327 соответственно). Эти гликопротеины используются ВГЧ6А/В для
328 проникновения в клетку человека и определяют тропизм бета-герпесвирусов
329 [6].

330 Третья гипотеза основывается на предположении о том, что в результате
331 ослабления иммунной системы при ВИЧ-инфекции,
332 иммунокомпрометированные пациенты способны реинфицироваться
333 различными геновариантами ВГЧ6А/В в течение жизни. Способность к
334 одновременному заражению двумя типами ВЭБ была показана нами ранее в
335 популяции ВИЧ(+) пациентов [4]. Данный вирус является представителем
336 одного семейства с ВГЧ6А/В, что может говорить о наличии потенциально
337 схожего механизма коинфицирования различными геновариантами у
338 рассматриваемых бета-герпесвирусов. Кроме того, несколько исследований
339 наблюдали возможность одновременного инфицирования генетически
340 различными хромосомно-интегрированной и циркулирующей формами
341 ВГЧ6В [2, 16].

342 **5 Заключение**

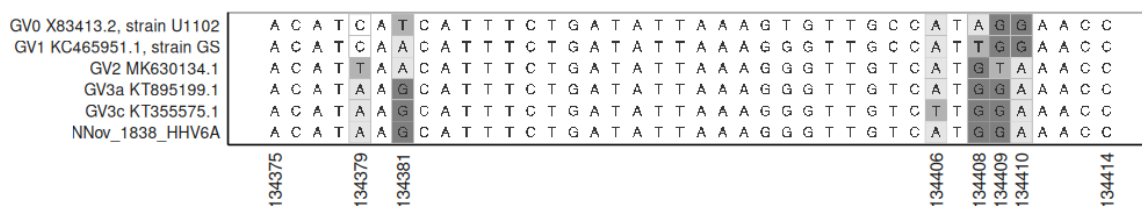
343 Впервые в России выполнен анализ молекулярно-генетического
344 разнообразия ВГЧ6А и ВГЧ6В среди взрослых ВИЧ-инфицированных
345 пациентов и клинически здоровых вирусоносителей. В результате
346 исследования были показаны различия спектра геновариантов ВГЧ6В в
347 группах сравнения. Полученные данные подчеркивают важность изучения
348 молекулярно-генетического разнообразия ВГЧ6А и ВГЧ6В для эффективной

349 диагностики и интерпретации ее результатов у иммунокомпromетированных
350 лиц с ВИЧ-инфекцией, а также могут служить обоснованием для создания
351 системы учета геновариантов рассматриваемых бета-герпесвирусов,
352 циркулирующих среди ВИЧ-инфицированных пациентов.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Фрагмент последовательности гена *U90A* изолята NNov_1838 и референсных последовательностей геновариантов ВГЧ6А с 134375 по 134414 н.о.

Figure 1. Fragment of the *U90A* gene sequence of isolate NNov_1838 and the reference sequences of the HHV6A genovariants from 134375 to 134414 nucleotide bases.



Примечание. Позиции сигнатурных нуклеотидных замен отмечены серым цветом.

Note. The positions of the signature nucleotide substitutions are marked in gray.

Рисунок 2. Дендрограмма последовательностей фрагмента гена *U90B* нижегородских изолятов ВГЧ6В, полученных из лейкоцитов периферической крови взрослых ВИЧ-инфицированных и клинически здоровых вирусоносителей

Figure 2. Dendrogram of sequences of the *U90B* gene fragment of Nizhny Novgorod isolates of HHV6B obtained from peripheral blood leukocytes of adult HIV-infected and clinically healthy virus carriers

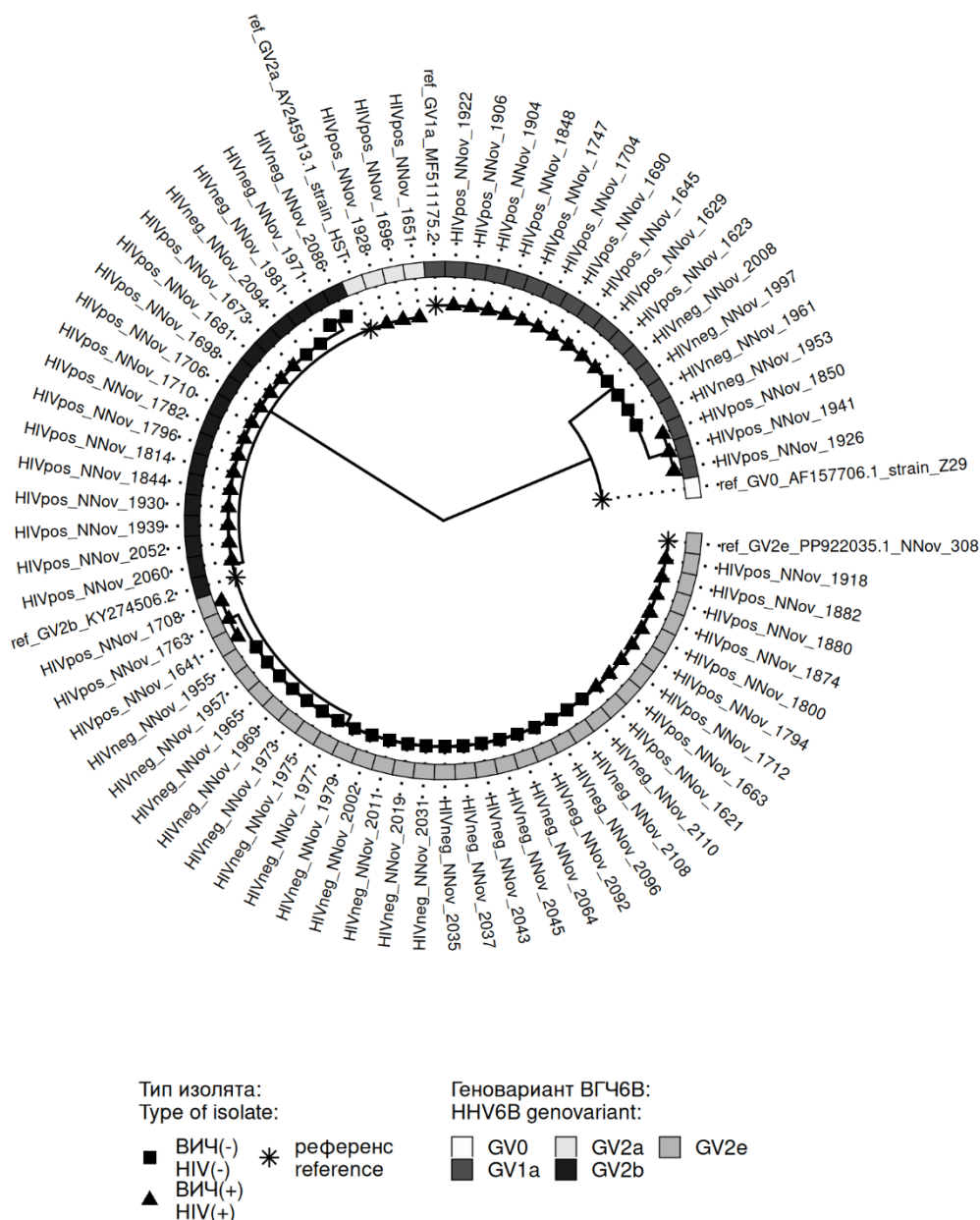
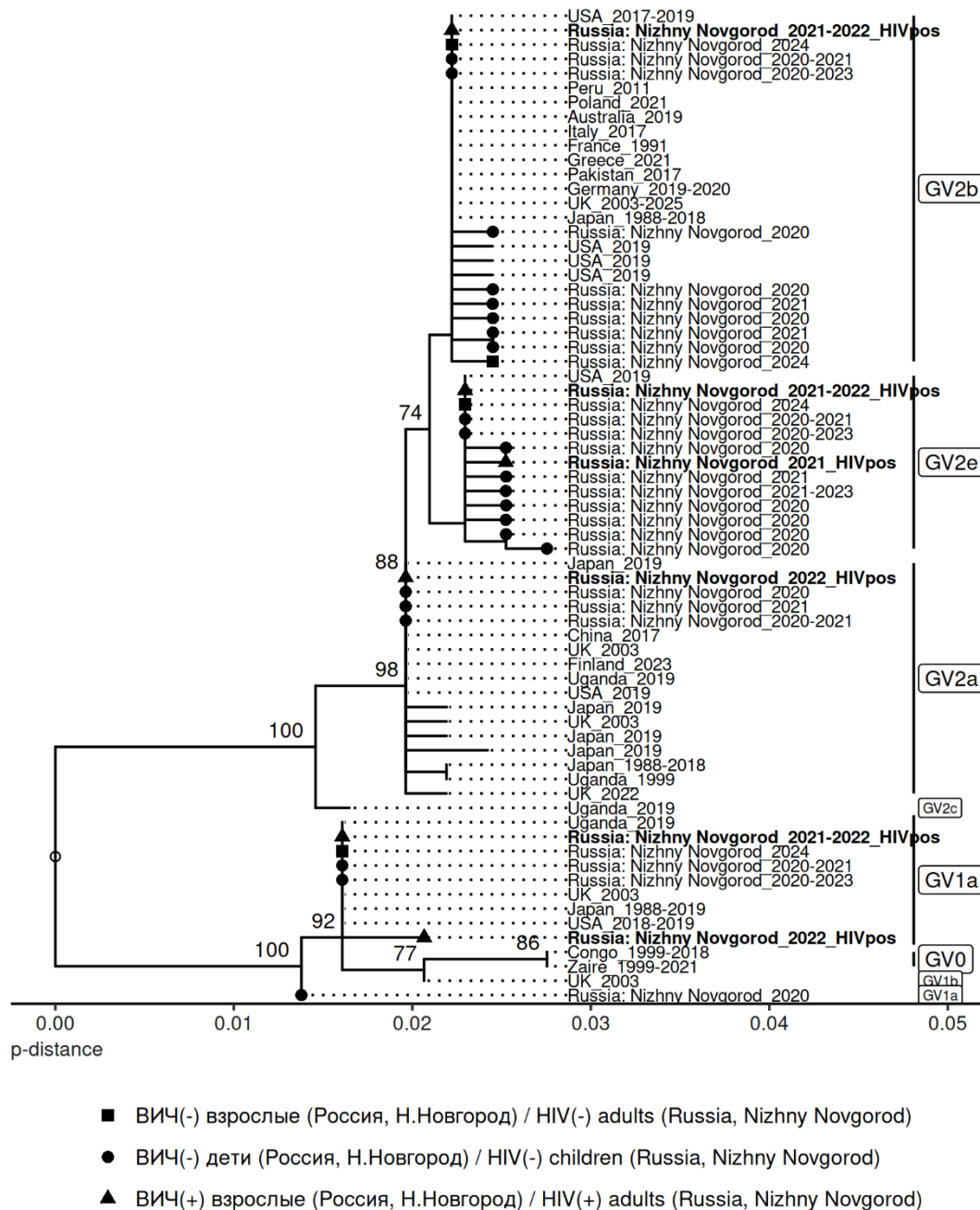


Рисунок 3. Филограмма последовательностей фрагмента гена *U90B* 33 нижегородских и 36 мировых изолятов ВГЧ6В

Figure 3. Sequence phylogram of the *U90B* gene fragment from 33 Nizhny Novgorod and 36 world isolates of HHV6B



Примечание. Цифры в узлах дерева соответствуют значению бутстреп-поддержки.

Note. The numbers in the tree nodes correspond to the bootstrap support value.

Рисунок 4. Структура геновариантов ВГЧ6В, выявленных у взрослых ВИЧ-инфицированных пациентов и клинически здоровых вирусоносителей

Figure 4. The structure of HHV6B genovariants detected in adult HIV-infected patients and clinically healthy virus carriers

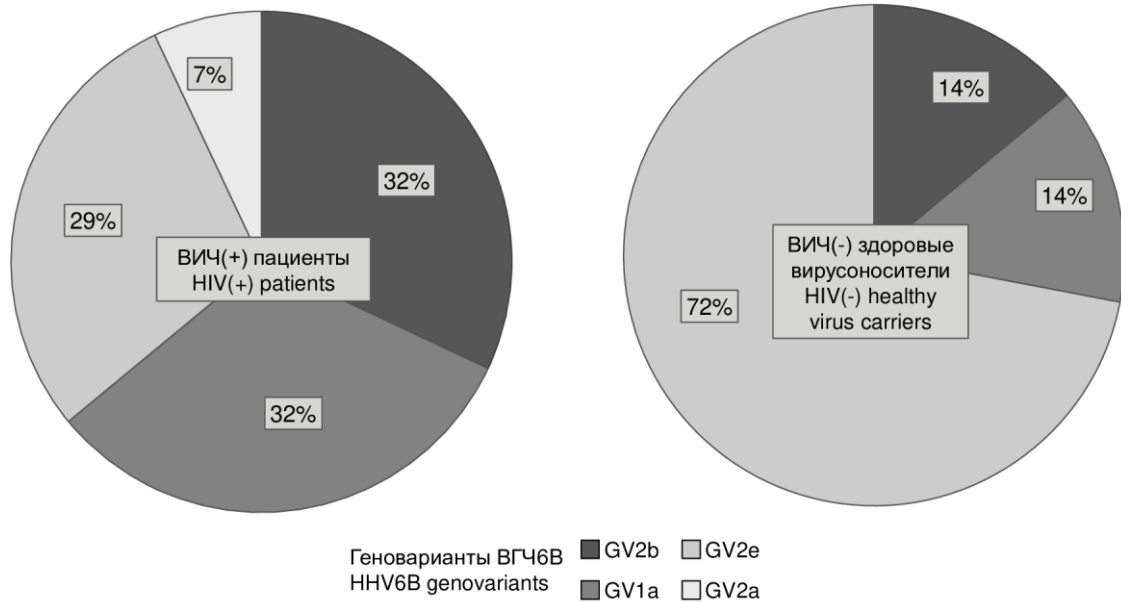
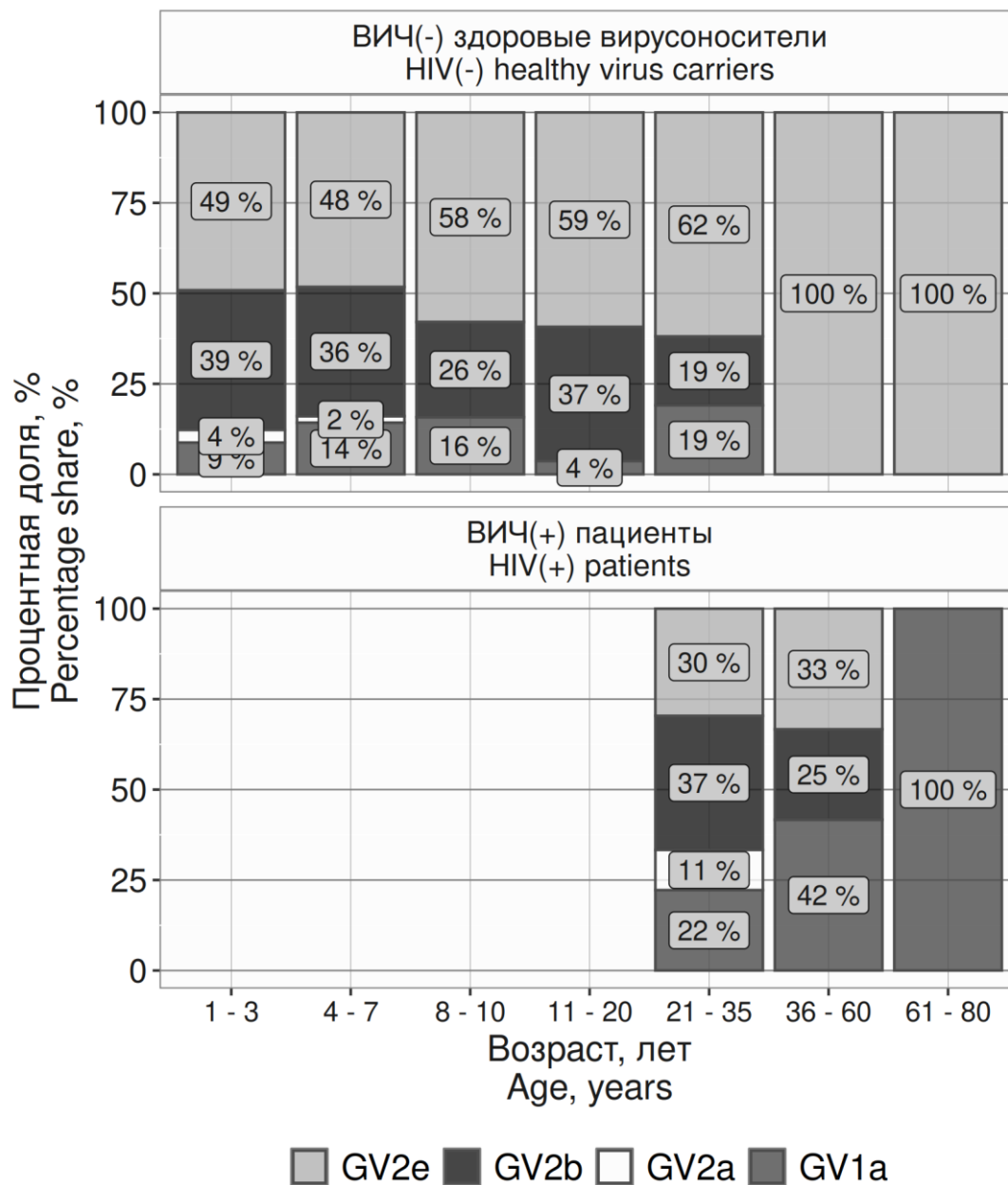


Рисунок 5. Возрастная структура геновариантов ВГЧ6В, выявленных у ВИЧ-инфицированных пациентов и клинически здоровых вирусоносителей

Figure 5. The age structure of HHV6B genovariants detected in HIV-infected patients and clinically healthy virus carriers



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Суслов Никита Алексеевич, лаборант лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

Адрес: 603950, Россия, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Тел.: 8 (831) 469-79-46

Факс: 8 (831) 469-79-20

Email: suslovnikita.2000@mail.ru

Suslov Nikita Alekseevich, Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Address: 603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod, Malaya Yamskaya str., 71
telephone: 8 (831) 469-79-46

fax: 8 (831) 469-79-20

Email: suslovnikita.2000@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Филатова Елена Николаевна, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

Filatova Elena Nikolaevna, PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Минаева Стелла Валерьевна, к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, г. Нижний Новгород, Россия

Minaeva Stella Valeryevna, PhD (Medicine), Associate Professor of the Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine Department, Privolzhskiy Research Medical University, Nizhniy Novgorod, Russian Federation

Сахарнов Николай Александрович, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

Sakharnov Nikolai Alexandrovich, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Уткин Олег Владимирович, к.б.н., зав. лабораторией молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

Utkin Oleg Vladimirovich, PhD (Biology), Head of the Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Блок 3. Метаданные статьи

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВГЧ6А/В У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ

MOLECULAR GENETIC DIVERSITY OF HHV6A/B IN HIV-INFECTED INDIVIDUALS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ВГЧ6А/В У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ

HHV6A/B IN HIV-INFECTED INDIVIDUALS

Ключевые слова: ВГЧ6А, ВГЧ6В, ВИЧ, молекулярно-генетическое разнообразие, геновариант, полиморфизм.

Keywords: HHV6A, HHV6B, HIV, molecular genetic diversity, genovariant, polymorphism.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 12,

количество таблиц – 0,

количество рисунков – 5.

05.02.2026

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1	Возраст // Малая медицинская энциклопедия. Под ред. В.И. Покровского. 1991. Т. 1. С. 358-359.	<i>Age. In Pokrovskiy V.I., editor. Malaya meditsinskaya entsiklopediya = Small Medical Encyclopedia, 1991, vol. 1, pp. 358-359.</i>	-
2	Никольский М.А., Голубцова В.С. Хромосомно-интегрированный вирус герпеса человека 6 типа // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5. №1. С. 7-14.	Nikolskiy M.A., Golubcova V.S. Chromosomally integrated human herpesvirus 6. <i>Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 7-14.</i>	<i>doi: 10.15789/2220-7619-2015-1-7-14</i>

3	Попкова М.И., Филатова Е.Н., Минаева С.В., Сахарнов Н.А., Уткин О.В. Молекулярно-генетическая характеристика изолятов вируса Эпштейна–Барр у взрослых пациентов с ВИЧ-инфекцией в Нижегородской области // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15. №1. С. 88-102.	Popkova M.I., Filatova E.N., Minaeva S.V., Sakharnov N.A., Utkin O.V. Molecular and genetic characteristics of Epstein-Barr virus isolates in adult patients with HIV infection in Nizhny Novgorod region. <i>Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity</i> , 2025, vol. 15, no. 1, pp. 88-102.	doi: 10.15789/2220-7619-MAG-17562
4	Попкова М.И., Филатова Е.Н., Минаева С.В., Сахарнов Н.А., Уткин О.В. Оценка взаимосвязи основных типов и геновариантов вируса Эпштейна–Барр с клинико-лабораторными показателями у ВИЧ-инфицированных взрослых // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14. №5. С.	Popkova M.I., Filatova E.N., Minaeva S.V., Sakharnov N.A., Utkin O.V. Assessment of the relationship between Epstein–Barr virus major types and genovariants as well as clinical and laboratory parameters in HIV-infected adults.	doi: 10.15789/2220-7619-AOT-17623

	936-950.	<i>Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2024, vol. 14, no. 5. pp. 936-950.</i>	
5	Филатова Е.Н., Сахарнов Н.А., Суслов Н.А., Попкова М.И., Уткин О.В. Первые данные о молекулярно-генетическом разнообразии ВГЧ6В и его влиянии на клинико-лабораторное течение мононуклеозоподобного синдрома у детей // Инфекция и иммунитет. 2025. Т.15. №3. С. 476-488.	Filatova E.N., Sakharnov N.A., Suslov N.A., Popkova M.I., Utkin O.V. First data on the molecular genetic diversity of HHV6B and its impact on the clinical and laboratory course of mononucleosis-like syndrome in children. <i>Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 476-488. (In Russ.)</i>	<i>doi:10.15789/2220-7619-FDO-17827</i>
6	Филатова Е.Н., Уткин О.В., Хрулев А.Е., Зайцева Н.Н. Разработка и обоснование внутривидовой классификации молекулярно-генетического разнообразия	Filatova E.N., Utkin O.V., Khrulev A.E., Zaitseva N.N. Development and validation for intra-species classification of HHV6A and	<i>doi: 10.15789/2220-7619-DAV-17810</i>

	ВГЧ6А и ВГЧ6В // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15. №6. С. 1087-1100.	HHV6В molecular genetic diversity. <i>Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity</i> , 2025, vol. 15, no. 6. pp. 1087-1100.	
7	Ablashi D., Agut H., Alvarez-Lafuente R., Clark D.A., Dewhurst S., DiLuca D., Flamand L., Frenkel N., Gallo R., Gompels U.A., Höllsberg P., Jacobson S., Luppi M., Lusso P., Malnati M., Medveczky P., Mori Y., Pellett P.E., Pritchett J.C., Yamanishi K., Yoshikawa T. Classification of HHV-6A and HHV-6B as distinct viruses. <i>Arch. Virol.</i> , 2014, vol. 159, no. 5, pp. 863-870.	-	doi: 10.1007/s00705-013- 1902-5
8	Dominguez G., Dambaugh T.R., Stamey F.R., Dewhurst S., Inoue N., Pellett P.E. Human herpesvirus 6B genome sequence: coding	-	doi: 10.1128/JVI.73.10.8040- 8052.1999

	content and comparison with human herpesvirus 6A. <i>J. Virol.</i> , 1999, vol. 73, no. 10, pp. 8040-8052.		
9	Ensoli B., Lusso P., Schachter F., Josephs S.F., Rappaport J., Negro F., Gallo R.C., Wong-Staal F. Human herpes virus-6 increases HIV-1 expression in co-infected T cells via nuclear factors binding to the HIV-1 enhancer. <i>EMBO J.</i> , 1989, vol. 8, no. 10, pp. 3019-3027.	-	doi: 10.1002/j.1460-2075.1989.tb08452.x
10	Grivel J.C., Ito Y., Fagà G., Santoro F., Shaheen F., Malnati M.S., Fitzgerald W., Lusso P., Margolis, L. Suppression of CCR5- but not CXCR4-tropic HIV-1 in lymphoid tissue by human herpesvirus 6. <i>Nat Med.</i> , 2001, vol. 7, no. 11, pp. 1232-1235.	-	doi: 10.1038/nm1101-1232

11	Kostare G., Kostares E., Kostares M., Halkitis P. N., Tsakris A., Xanthos T., Kantzanou M. Prevalence of HHV-6 Detection Among People Living with HIV: A Systematic Review and Meta-Analysis. <i>Viruses</i> , 2025, vol. 17, no. 4: 531.	-	doi: 10.3390/v17040531
12	Lusso P. HHV-6 and HIV-1 Infection. <i>Perspectives in Medical Virology</i> , 2006, vol. 12, pp. 263-277.	-	doi: 10.1016/S0168-7069(06)12021-2
13	Lusso P., Ensoli B., Markham P.D., Ablashi D.V., Salahuddin S.Z., Tschachler E., Wong-Staal F., Gallo R.C. Productive dual infection of human CD4+ T lymphocytes by HIV-1 and HHV-6. <i>Nature</i> , 1989, vol. 337, no. 6205, pp. 370-373.	-	doi:10.1038/337370a0
14	Munawwar A., Singh S. Human Herpesviruses as Copathogens of HIV Infection, Their Role	-	doi: 10.4103/0974-2727.176228

	in HIV Transmission, and Disease Progression. <i>J. Lab. Physicians</i> , 2016, vol. 8, no. 1, pp. 5-18.		
15	Murphy P.M. Viral exploitation and subversion of the immune system through chemokine mimicry. <i>Nat. Immunol.</i> , 2001, vol. 2, no. 2, pp. 116-122.	-	<i>doi: 10.1038/84214</i>
16	Pantry S.N., Medveczky P.G. Latency, Integration, and Reactivation of Human Herpesvirus-6. <i>Viruses</i> , 2017; vol. 9, no. 7: 194.	-	<i>doi: 10.3390/v9070194</i>
17	Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. <i>Bioinformatics</i> , 2012, vol. 28, no. 8, pp. 1166-1167.	-	<i>doi: 10.1093/bioinformatics/bts091</i>

18	Oktafiani D., Megasari N.L.A., Ana E. F., Nasronudin Lusida M.I., Soetjipto. First Report on HHV-6 Infection Among HIV-Infected Individuals Residing in Surabaya, Indonesia. <i>HIV AIDS</i> , 2020, vol. 12, pp. 107-112.	-	<i>doi: 10.2147/HIV.S232146</i>
19	Pinheiro R.dosS., Ferreira D.deC., Nóbrega F., Santos N.S., Souza I.P., Castro G.F. Current status of herpesvirus identification in the oral cavity of HIV-infected children. <i>Rev. Soc. Bras. Med. Trop.</i> , 2013, vol. 46, no. 1, pp. 15-19.	-	<i>doi: 10.1590/0037-868217172013</i>
20	Ren L., Wang B., Miao Z., Liu P., Zhou S., Feng Y., Yang S., Xia X., Wang K.A correlation analysis of HHV infection and its predictive factors in an HIV-seropositive population in Yunnan, China. <i>J. Med. Virol.</i> ,	-	<i>doi: 10.1002/jmv.25609</i>

	<i>2020, vol. 92, no. 3, pp. 295-301.</i>		
21	Schliep K.P. phangorn: phylogenetic analysis in R. <i>Bioinformatics</i> , 2011, vol. 27, no. 4, pp. 592-593.	-	<i>doi: 10.1093/bioinformatics/btq706</i>
22	Sufiawati I., Harmiyati R., Nur'aeny N., Indrati A. R., Lesmana R., Wisaksana R., Amalia R. Detection of Human Herpesviruses in Sera and Saliva of Asymptomatic HIV-Infected Individuals Using Multiplex RT-PCR DNA Microarray. <i>Pathogens</i> , 2023, vol. 12, no. 8: 993.	-	<i>doi: 10.3390/pathogens12080993</i>
23	Suligoi B., Dorrucchi M., Uccella I., Andreoni M., Rezza G., Italian Seroconversion Study. Effect of multiple herpesvirus infections on the progression of HIV disease in a cohort of	-	<i>doi: 10.1002/jmv.10281</i>

	HIV seroconverters. <i>J. Med. Virol.</i> , 2003, vol. 69, no. 2, pp. 182-187.		
24	Tweedy J., Spyrou M.A., Pearson M., Lassner D., Kuhl U., Gompels U.A. Complete Genome Sequence of Germline Chromosomally Integrated Human Herpesvirus 6A and Analyses Integration Sites Define a New Human Endogenous Virus with Potential to Reactivate as an Emerging Infection. <i>Viruses</i> , 2016, vol. 8, no. 1: 19.	-	<i>doi: 10.3390/v8010019</i>
25	Wickham H. ggplot2: elegant graphics for data analysis. <i>Springer New York</i> , 2016.	-	-
26	Xu S., Lin L., Luo X., Chen M., Tang W., Zhan L., Dai Z., Lam T. T., Guan Y., Yu G. Ggtree: A serialized data object for	-	<i>doi: 10.1002/imt2.56</i>

	visualization of a phylogenetic tree and annotation data. <i>iMeta</i> , 2022, vol. 1, no. 4: e56.		
--	--	--	--