



Institut Pasteur
de Saint-Pétersbourg

RAPPORT

D'ACTIVITES

20²¹
22

Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg

RAPPORT D'ACTIVITES
2021-2022

Saint-Pétersbourg
2023

Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg

Rue Mira, 14, Saint-Pétersbourg, 197101, Russie

Téléphone: +7 (812) 233-20-92

Téléfax: +7 (812) 232-92-17

E-mail: pasteur@pasteurorg.ru

Internet: <http://pasteurorg.ru>

Directeur de l'Institut – Areg TOTOLIAN

Directeur adjoint pour la science – Vladimir DEDKOV

Directeur adjoint pour les travaux innovants – Svetlana EGOROVA

Coordinateur scientifique – Galina TRIFONOVA

Coordinateur des affaires étrangères – Kseniia SMIRNOVA

Actuellement, l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg est l'un des plus grands instituts d'épidémiologie et de microbiologie en Russie, notamment dans la région Nord-Ouest de la Russie.

L'Institut dispose d'un équipement moderne et d'un personnel scientifique de qualité pour les recherches qui sont unies dans les quatre départements:

- Département de microbiologie;
- Département de virologie;
- Département d'épidémiologie;
- Département d'immunologie.

A l'Institut fonctionnent:

- Centre référence fédéral de la surveillance de la fièvre typhoïde;
- Centre référence fédéral de la surveillance des Yersinioses.
- Centre scientifique et méthodologique de surveillance des agents pathogènes des maladies infectieuses et parasitaires de II-IV groupes de pathogénicité dans le district fédéral Nord-Ouest de la Russie;
- Centre de district Nord-Ouest pour la prévention et la lutte contre le SIDA;
- Centre régional pour la surveillance épidémiologique de la poliomyélite;
- Centre régional pour la surveillance épidémiologique de la rougeole et de la rubéole.

Collaboration avec l'OMS:

- Laboratoire subnational de l'OMS pour la poliomyélite (Global Polio Laboratory Network);
 - Laboratoire subnational de l'OMS pour la rougeole et de la rubéole (European Measles Laboratory Network).
-

Table des matières

DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE	4
Laboratoire des infections intestinales	4
Laboratoire de bactériologie médicale	9
Laboratoire des zoonoses	17
DÉPARTEMENT DE VIROLOGIE	21
Laboratoire d'étiologie et de contrôle des infections virales	21
Laboratoire de virologie expérimentale	29
DÉPARTEMENT D'IMMUNOLOGIE	40
Laboratoire d'identification des pathogènes	40
Laboratoire d'immunologie moléculaire (du Pôle d'usage collectif)	42
DÉPARTEMENT D'ÉPIDÉMIOLOGIE	50
Laboratoire d'épidémiologie des maladies infectieuses et non infectieuses	50
Laboratoire des hépatites virales	60
Laboratoire d'épidémiologie moléculaire et de génétique évolutive	63
Laboratoire de surveillance génétique moléculaire	72
Laboratoire de la génétique moléculaire des microorganismes pathogènes	79
CENTRE RÉGIONAL DU DISTRICT FÉDÉRAL NORD-OUEST POUR LA PREVENTION ET LA LUTTE CONTRE LE SIDA	89
Laboratoire d'immunologie et virologie de l'infection par le VIH	89

LABORATOIRE DES INFECTIONS INTESTINALES

Chef du laboratoire: Lidia Kaftyreva

Chercheurs: Z. Matveeva, M. Makarova, E. Voitenkova, L. Souzhaeva, N. Gladysheva, M. Zhamborova

Etude de la composante aérobique du microbiote intestinal des adultes et des enfants sans pathologie infectieuse des organes digestifs. La mission consistait en caractérisation des micro-organismes pathogènes (opportunistes) et définition des facteurs de virulence et de l'antibiorésistance des souches isolées.

Méthodes utilisées: Bactériologique: identification des espaces (analyseur automatique Vitek 2 Compact, système de test EnteroTest Lachema). Définition de la sensibilité aux antibiotiques à l'aide des méthodes suivantes: diffusion sur disque, gradient de concentration, dilution en série; méthode moléculaire: test PCR avec détection des gènes de virulence et de résistance aux produits antimicrobiens par l'électrophorèse et l'hybridation-fluorescence; méthode statistique.

La conformité aux indicateurs normatifs d'absence de changements dysbiotiques dans le microbiote intestinal humain a été constatée chez 16 (6,9%) habitants de Saint-Petersbourg. Des troubles dysbiotiques de gravité variable ont été observés chez 216 sur 233 personnes (93,1%) (Tabl. 1 et 2).

La proportion d'échantillons caractérisés par l'absence de changements et la présence de troubles dysbiotiques de premier et de second degré n'était pas statistiquement différente dans le groupe des enfants âgés de moins d'un

an et plus. Les anomalies plus graves (3-ème degré) étaient statistiquement plus fréquentes chez les enfants de moins d'un an (Tabl. 1).

Des écarts insignifiants de la norme (anomalies microbiologiques de premier degré) ont été observées chez 18,0% (95% IC: 13,6–23,5) des patients examinés. Les changements étaient caractérisés par une diminution de *Bifidobacterium* spp. (jusqu'à 10^8 UFC/g), de *Lactobacillus* spp. et d'*E. coli* «typique» (jusqu'à 10^6 UFC/g).

Des troubles de la microbiocénose correspondant au deuxième degré ont été observés chez 67,8% (95% IC: 61,6–73,5) de patients examinés. Les écarts par rapport aux valeurs normales étaient caractérisés par une diminution de la teneur en *Bifidobacterium* spp. (jusqu'à 10^7 UFC/g) et en *Lactobacillus* spp. (jusqu'à 10^5 UFC/g), d'un déséquilibre dans la composition quantitative et qualitative d'*Escherichia coli* (présence de souches ayant une activité hémolytique et incapables de fermenter le lactose), l'apparition de micro-organismes opportunistes en nombre supérieur à 10^5 UFC/g.

Des troubles liés à la microbiocénose du troisième degré ont été observés chez 7,3% (95% IC: 4,6–11,4) d'habitants de Saint-Petersbourg examinés. Ces troubles se caractérisaient par une diminution marquée des taux de *Bifidobacterium* spp. — moins de 10^7 UFC/g, de *Lactobacillus* spp. — moins de 10^5 UFC/g, une augmentation de la teneur en micro-or-

Tableau 1. Troubles dysbiotiques chez les personnes des différentes catégories d'âge

Degré de dysbiose	Age						Total N = 233		
	< 1 an N = 48			≥ 1 an N = 185					
	abs.	%	95% IC	abs.	%	95% IC	abs.	%	95% IC
0	1	2,1	0,4–10,9	15	8,1	5,0–12,9	16	6,9	4,3–10,9
1	4	8,3	3,3–19,6	38	20,5	15,3–26,9	42	18,0	13,6–23,5
2	34	70,8	56,8–81,8	124	67,0	60,0–73,4	158	67,8	61,6–73,5
3	9	18,8	10,2–31,9	8	4,3	2,2–8,3	17	7,3	4,6–11,4

Tableau 2. Caractéristiques des troubles dysbiotiques

Degré	Nombre de prélèvements 233		Caractéristiques des changements
	abs. /%	95% IC	
0	16/6,9	4,3–10,9	pas de changement
1	42/18,0	13,6–23,5	- baisse du taux de: <i>Bifidobacterium</i> spp. (jusqu'à 10^8 UFC/g), CFU/g, <i>Lactobacillus</i> spp. et <i>E. coli</i> «typique» (jusqu'à 10^6 UFC/g)
2	158/67,8	61,6–73,5	- baisse du taux de: <i>Bifidobacterium</i> spp. (jusqu'à 10^7 UFC/g), <i>Lactobacillus</i> spp. (jusqu'à 10^5 UFC/g); - déséquilibre dans la composition quantitative et qualitative des <i>E. coli</i> (présence de souches à activité hémolytique, incapables de fermenter le lactose); - apparition de micro-organismes opportunistes en quantité supérieure à 10^5 UFC/g
3	17/7,3	4,6–11,4	- baisse du taux prononcée: <i>Bifidobacterium</i> spp. (moins de 10^7 UFC/g), <i>Lactobacillus</i> spp. (moins de 10^5 UFC/g); - augmentation de la teneur en micro-organismes opportunistes (opportunistic microorganisms) jusqu'à 10^6 UFC/g ou plus; - apparition de leurs associations

ganismes opportunistes jusqu'à 10⁶ UFC/g et plus, l'apparition d'associations de micro-organismes opportunistes.

Les micro-organismes pathogènes de l'infection à *Salmonella* (variantes sérologiques de *Salmonella enterica* sérovars Enteritidis et Typhimurium à hauteur de 8,0 × 10³ UFC/g) ont été isolés à partir d'échantillons de selles de deux patients (0,86%) sans manifestations cliniques de maladie diarrhéique, sans antécédents d'infection intestinale aiguë et sans contact avec des patients infectieux. La souche de *S. Typhimurium* était sensible aux céphalosporines et aux carbapénèmes et résistante aux aminosides et aux fluoroquinolones. Une souche de *S. Enteritidis* isolée d'un patient adulte (43 ans) était résistante aux fluoroquinolones.

Des micro-organismes pathogènes et leurs associations ont été détectés chez 61,2% d'individus, dont 87,8% chez les enfants de moins d'un an.

22,8% d'échantillons comprenaient des associations de *Staphylococcus aureus* avec divers membres de la famille Enterobacter (*Escherichia coli* hémolytique et lactose négatif, *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Candida* spp.).

Staphylococcus aureus a été détecté chez 40,8% des sujets. Chez les enfants de moins d'un an, il a été détecté dans 70,8% des cas et dans 33,0% des cas chez les enfants de plus d'un an (Tabl. 3). Le nombre de *Staphylococcus aureus* dans les échantillons de selles variait de 10² à 10⁶ UFC/g.

Escherichia coli négatif pour le lactose ont été détectés dans 17,6% d'échantillons testés. Le nombre d'*E. coli* dans les échantillons variait de 10² à 10¹⁰ UFC/g et dans la plupart des cas (82,9%) correspondait à 10⁷ à 10⁹ UFC/g.

Les *Escherichia coli* à activité hémolytique ont été détectés chez 16,7% de sujets. Leur nombre dans les échantillons variait de 10² à 10¹⁰ UFC/g, et dans la majorité des cas (82,1%) correspondait à 10⁷ à 10⁹ UFC/g. Les proportions d'échantillons contenant les *E. coli* des phénotypes indiqués ne différaient pas significativement chez les enfants de moins d'un an et les enfants plus âgés.

Des bactéries du genre *Klebsiella* de deux espèces (*Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca*) ont été détectées chez 40,3% de sujets, tandis que dans les échantillons fécaux des enfants de moins d'un an, elles ont été détectées dans 83,3% de cas, et chez les personnes plus âgées, dans 29,2% de cas. *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* ont été détectées plus fréquemment dans les échantillons prélevés aux enfants de moins d'un an que dans ceux de plus d'un an (17,0% et 8,0%, respectivement). Le nombre de *Klebsiella pneumoniae* dans les échantillons variait de 10⁵ à 10¹⁰ UFC/g et correspondait à 10⁶ à 10⁸ UFC/g dans la plupart des cas (82,1%). Le nombre de *Klebsiella oxytoca* dans les échantillons était compris entre 10² et 10⁸ UFC/g correspondant à 10⁵ à 10⁸ UFC/g dans la plupart des cas (93,3%).

Au total, les entérobactéries opportunistes ont été détectées dans 44,7% d'échantillons, 75,5% de cas concernant les enfants de moins d'un an.

Parmi les 95 souches de *S. aureus* examinées, 18 (18,9%) ont été identifiées comme appartenant au SARM (*S. aureus* résistant à la méthicilline). 29,5% de souches étaient résistantes à l'érythromycine (Tabl. 4).

Les bactéries du genre *Citrobacter* ont été détectées dans 8,2% d'échantillons examinés. Chez les enfants de moins d'un an, elles ont été détectées dans 14,6% d'échantillons,

Tableau 3. Micro-organismes pathogènes isolés dans le microbiote intestinal des habitants de Saint-Petersbourg

Agents pathogènes opportunistes	Age					
	< 1 an (N = 48)		≥ 1 an (N = 185)		Total (N = 233)	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
<i>Escherichia coli</i> : hém. (+)*	8	16,7	31	16,8	39	16,7
<i>Escherichia coli</i> : lac. (-)**	12	25,0	29	15,7	41	17,6
<i>Klebsiella</i> spp.	40	83,3	54	29,2	94	40,3
<i>Citrobacter</i> spp.	7	14,6	12	6,5	19	8,2
<i>Enterobacter</i> spp.	6	12,5	14	7,6	20	8,6
<i>Proteus</i> spp.	2	4,2	6	3,2	8	3,4
<i>Morganella morganii</i>	0	0	3	1,6	3	1,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	4	2,1	4	1,7
<i>Acinetobacter</i> spp.	0	0	3	1,6	3	1,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	34	70,8	61	33,0	95	40,8
<i>Candida</i> spp.	6	12,5	26	14,1	32	13,7

*provoquent une hémolyse des érythrocytes, hém. (+); **ne fermentent pas le lactose, lac. (-).

Tableau 4. Souches de micro-organismes opportunistes résistantes aux antimicrobiens

Microorganismes	Total	Céphalosporines de la troisième génération		Fluoroquinolones		Céfoxitine		Erythromycine	
		abs.	%	abs.	%	abs.	%	abs.	%
<i>Citrobacter</i> spp.	19	1	5,3	0	0	-	-	-	-
<i>Enterobacter</i> spp.	20	9	45,0	0	0	-	-	-	-
<i>Proteus</i> spp.	8	1	12,5	0	0	-	-	-	-
<i>Morganella morganii</i>	3	1	33,3	1	33,3	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	95	-	-	-	-	18	18,9	28	29,5

«-» la sensibilité à ces antibiotiques n'a pas été déterminée.

Tableau 5. Sensibilité antimicrobienne de *Klebsiella* spp.

s/o	Agents antimicrobiens	Sensibles			Résistants		
		abs.	%	IC	abs.	%	95% IC
1	Amoxicilline/clavulanate	78	82,98	74,13–89,24	16	17,02	10,76–25,87
2	Ceftazidime	86	91,49	84,10–95,62	8	8,51	4,38–15,90
3	Céfotaxime	86	91,49	84,10–95,62	8	8,51	4,38–15,90
4	Céfépime	85	90,43	82,80–94,88	9	9,57	5,12–17,20
5	Méropénème	93	98,94	94,22–99,81	1	1,06	0,19–5,78
6	Acide nalidixique	89	94,68	88,15–97,71	5	5,32	2,29–11,85
7	Ciprofloxacine	88	93,62	86,77–97,04	6	6,38	2,96–13,23
8	Tétracycline	89	94,68	88,15–97,71	5	5,32	2,29–11,85
9	Chloramphénicol	93	98,94	94,22–99,81	1	1,06	0,19–5,78
10	Nitrofurantoïne	86	91,49	84,10–95,62	8	8,51	4,38–15,90
11	Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	89	94,68	88,15–97,71	5	5,32	2,29–11,85
12	Gentamicine	89	94,68	88,15–97,71	5	5,32	2,29–11,85
13	Tobramycine	88	93,62	86,77–97,04	6	6,38	2,96–13,23
14	Amikacine	93	98,94	94,22–99,81	1	1,06	0,19–5,78

et chez les enfants de plus d'un an, dans 6,5% d'échantillons. Leur nombre dans les échantillons variait de 10^2 à 10^9 UFC/g et dans la plupart des cas (89,5%) correspondait à 10^5 à 10^8 UFC/g. La résistance aux céphalosporines de la troisième génération a été observée chez 5,3% de *Citrobacter* spp. Aucune souche résistante aux fluoroquinolones n'a été détectée.

Les bactéries du genre *Enterobacter* ont été détectées dans 8,6% d'échantillons, et dans 12,5% de cas chez des enfants de moins d'un an. La résistance aux céphalosporines de la troisième génération était présente chez 45% des souches, et toutes elles étaient sensibles aux fluoroquinolones.

Dans les échantillons ont été très rarement trouvés *Proteus* spp. (3,4%), *Morganella morganii* (1,3%), *Pseudomonas aeruginosa* (1,7%), *Acinetobacter* spp. (1,3%).

Les champignons *Candida* ont été détectés dans 13,7% d'échantillons, dont 3,8% dépassaient la norme (10^4 UFC/g).

Les associations de micro-organismes opportunistes dans diverses combinaisons ont été détectées dans le microbiote intestinal de 28,3% d'habitants examinés de la ville. Chez les enfants de moins d'un an, des associations de micro-organismes opportunistes ont été détectées dans 61,2% d'échantillons, et chez les enfants de plus d'un an, dans 19,7% des échantillons. Les associations de micro-organismes opportunistes étaient plus souvent représentées par deux micro-organismes (20,7%), les associations

de trois (7,2%) et quatre (0,4%) espèces de micro-organismes opportunistes étant moins fréquentes.

Selon les données cumulées des souches de *Klebsiella* spp. (*Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca*), 17,2% étaient résistantes à l'amoxicilline/clavulanate, 8,5% aux céphalosporines de la troisième génération et 6,4% aux fluoroquinolones. La proportion de souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes à l'amoxicilline/clavulanate était de 10,7%, aux céphalosporines de la troisième génération de 21,4% et aux fluoroquinolones de 8,9% (Tabl. 4).

Une étude détaillée de la sensibilité aux agents antimicrobiens, des gènes codant pour la résistance aux céphalosporines de 3–4-ème générations et de la virulence (11 gènes) de 94 souches de *Klebsiella* spp. (76 souches de *Klebsiella pneumoniae* et 18 souches de *Klebsiella oxytoca*) a été également réalisée.

Dans la population de souches de *Klebsiella* spp. isolées du microbiote intestinal d'individus pratiquement en bonne santé (enfants et adultes), il y avait significativement plus de souches sensibles à tous les agents antimicrobiens testés. Leur proportion à chacun de 14 agents antimicrobiens était supérieure à 80% (Tabl. 5). La proportion de souches résistantes à chaque agent antimicrobien variait de 1,06% (méropénem, chloramphénicol et amikacine) à 17,02% (amoxicilline/clavulanate). Cette tendance a été observée dans les populations de souches de *Klebsiella pneumoniae* et de *Klebsiella oxytoca*.

Tableau 6. Phénotypes de résistance des β -lactamases à spectre étendu produisant *K. pneumoniae* et *K. oxytoca*

Phénotypes de résistance	abs.	%
Amoxicilline/clavulanate + ceftazidime + céfotaxime + céfépime + acide nalidixique + ciprofloxacine + tétracycline + triméthoprim/sulfaméthoxazole + gentamicine + tobramycine	2	2,13
Amoxicilline/clavulanate + ceftazidime + céfotaxime + céfépime + acide nalidixique + ciprofloxacine + tétracycline + triméthoprim/sulfaméthoxazole + tobramycine	1	1,06
Amoxicilline/clavulanate + ceftazidime + céfotaxime + céfépime + gentamicine + tobramycine	1	1,06
Ceftazidime + céfotaxime + céfépime + acide nalidixique + ciprofloxacine + triméthoprim/sulfaméthoxazole + gentamicine + tobramycine	1	1,06
Amoxicilline/clavulanate + ceftazidime + céfotaxime + céfépime + chloramphénicol	1	1,06
Amoxicilline/clavulanate + ceftazidime + céfotaxime + céfépime + ciprofloxacine + cotrimoxazole	1	1,06
Amoxicilline/clavulanate + ceftazidime + céfotaxime + céfépime + méropénème + acide nalidixique + ciprofloxacine + nitrofurantone + gentamicine + tobramycine + amikacine	1	1,06

Huit souches (8,51%) de *Klebsiella* spp. étaient caractérisées par un phénotype de multirésistance aux produits antimicrobiens. La résistance aux céphalosporines de 3e-4e génération (ceftazidime, céfotaxime et céfépime) était due à la production de β -lactamases à spectre étendu, qui appartenaient à des céphalosporinases d'importance épidémiologique de trois familles génétiques *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA}.

Deux souches contenaient les gènes de deux β -lactamases à spectre étendu S (*bla*_{CTX-M} + *bla*_{TEM}).

Une souche, contenant les gènes de trois β -lactamases à spectre étendu (*bla*_{CTX-M} + *bla*_{TEM} + *bla*_{OXA}), était caractérisée par une résistance au mérépénem due à la production de métallo- β -lactamase (Tabl. 6).

La détection des gènes codant pour la synthèse de 11 facteurs de virulence: six antigènes de capsule (*magA*, *K2*, *K5*, *K20*, *K54*, *K57*), production de toxines (*hly*, *cnf*), adhésine (*fimH*), sidérophore (*iutA*) et régulateur du phénotype mucoïde (*rmpA*) a montré que la population des souches de *Klebsiella* était hétérogène en ce qui concerne la présence des gènes de virulence spécifiques. Le gène responsable de la régulation du phénotype mucoïde (*rmpA*) a été détecté dans 4 souches (4,30%). Les gènes responsables de la synthèse de la capsule ont été trouvés dans 11 souches (11,83%), dont le gène *magA*, ou *K1*, a été détecté dans 5 (5,38%), le gène *K2* dans 4 (4,30%), et le gène *K54* dans 1 (1,08%). Le gène *fimH* codant pour les fimbriae sensibles au mannose de type I a été trouvé dans 3 souches (3,23%). Le gène *iutA* responsable de la synthèse de la sidérophore aérobactine a été trouvé dans 9 souches (9,68%). Le gène *hly* codant pour la synthèse de la toxine α -hémolysine a été détecté dans 4 souches (4,30%). Les gènes *cnf* responsables de la synthèse du facteur cytonécrotique et codant pour les capsules *K20* et *K57* n'ont pas été détectés dans les souches étudiées.

Selon les données globales, les gènes de virulence dans la population de *Klebsiella* spp. contenaient 20 sur 94 souches étudiées (21,51%), et 78,49% de souches ne contenaient pas les gènes recherchés (Tabl. 7).

Conclusion

En 2021–2022 notre étude de la microbiocénose intestinale des personnes en bonne santé a révélé:

1. Un niveau élevé de résistance aux agents antimicrobiens des micro-organismes appartenant à la normobiote intestinale.
2. La nécessité d'appliquer des méthodes modernes de génétique moléculaire pour détecter les gènes codant pour les facteurs de virulence et de résistance aux agents antimicrobiens dans les souches de *Klebsiella* spp. —

Publications

Articles

1. Egorova S.A., Kuleshov K.V., Kaftyreva L.A., Matveeva Z.N. The antimicrobial susceptibility, resistance mechanisms and phylogenetic structure of *S. Typhi* isolated in 2005-2018 in the Russian Federation // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2020; 10 (1): 99–110. doi: 10.15789/10.15789/2220-7619-ASM-1171
2. Egorova S.A., Truong Q.N., Kaftyreva L.A., Kozhukhova E.A., Makarova M.A., Cuong Q.H., Vu H.N., Huong T.D., Lan T.Q.T., Tram K.V., Long T.N., Diep T.N.N., Tu L.K.B., Thu L.K.N. Serogroups and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolated from people and food items in southern provinces of Vietnam // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (6): 1081–1090. doi: 10.15789/2220-7619-SPA-1954
3. Kaftyreva L.A., Egorova S.A., Kameneva O.A., Kosyakova K.G., Shapar A.O., Kitsbabashvili R.V., Kamenev N.S. Using the molecular method for identification of the *S. Paratyphi B* // *Bacteriology*. 2022; 7 (2): 22–27. (In Russ.) doi: 10.20953/2500-1027-2022-2-22-27
4. Kechin A., Boldyreva D., Borobova V., Boyarskikh U., Scherbak S., Apalko S., Makarova M., Mosyakin N., Kaftyreva L., Filipenko M. An inexpensive, simple and effective method of genome DNA fragmentation for NGS libraries // *J. Biochem.* 2021; 170 (5): 675–681. doi: 10.1093/jb/mvab089

Tableau 7. Gènes codant les principaux facteurs de virulence de *K. pneumoniae* et *K. oxytoca*

Gènes codant divers facteurs de virulence		abs.	%	95% IC
Virulences présentes		20	21,51	14,38–30,90
Virulences absentes		74	78,49	69,10–85,62
Régulateur du phénotype mucoïde	<i>rmpA</i>	4	4,30	1,68–10,54
	<i>magA</i>	5	5,38	2,32–11,98
Responsable de la synthèse de la capsule	<i>K2</i>	4	4,30	1,68–10,54
	<i>K5</i>	1	1,08	0,19–5,85
	<i>K20</i>	0	0,00	0,00–3,97
	<i>K54</i>	1	1,08	0,19–5,85
	<i>K57</i>	0	0,00	0,00–3,97
Adhésine	<i>fimH</i>	3	3,23	1,11–9,07
Sidérophore	<i>iutA</i>	9	9,68	5,18–17,38
Toxines	<i>hly</i>	4	4,30	1,68–10,54
	<i>cnf</i>	0	0,00	0,00–3,97

l'un des principaux agents responsables des infections associées aux soins de santé procurés aux enfants et aux adultes.

3. Les régularités révélées correspondent à des tendances globales dans le monde, qui menacent la sécurité de la population mondiale et appellent à la résolution au niveau toujours global.
4. De nouvelles données ont été obtenues sur le potentiel pathogène des micro-organismes opportunistes présents dans le microbiote intestinal d'enfants et d'adultes pratiquement en bonne santé et résistants aux agents antimicrobiens, y compris ceux présentant le phénotype de résistance multiple typique pour les agents infectieux associés aux soins de santé.
5. Des micro-organismes pathogènes et leurs associations ont été détectés chez un patient examiné sur deux; chez les enfants de moins d'un an, ils ont été trouvés dans 87,8% de cas. Dans le normobiote intestinal des jeunes enfants (des moins de deux ans), les micro-organismes opportunistes (*Klebsiella* spp., *Staphylococcus aureus*, etc.) occupent une place importante et peuvent provoquer des troubles dysbiotiques et des diarrhées chez les personnes dont la résistance à l'infection est affaiblie. Ils peuvent être une cause fréquente d'infections nosocomiales et d'infections associées aux soins, conduisant souvent au décès dans les services d'inféctologie pédiatrique et d'obstétrique.

5. Khabalova N.R., Lyalina L.V., Kaftyreva L.A. Results of Epidemiological and Microbiological Monitoring of Healthcare-Associated Infections in the Republic of North Ossetia–Alania // *Public Health and Life Environmen*. 2022; (7): 57–65. (In Russ.) doi: 10.35627/2219-5238/2022-30-7-57-65
6. Kruglov E.E., Makarova M.A., Myakisheva Y.V., Zhestkov A.V. Phylogenetic grouping and genetic predictors of beta-lactamase activity of *Escherichia coli* strains isolated from ulcerative colitis patients // *Astrakhan Medical Journal*. 2020; 15 (4): 57–66. (In Russ.) doi: 10.17021/2020.15.4.57.66
7. Nguyen Q.T., Le H.A.T., Svetlana A.E., Lidiia A.K., Hoang Q.C. Mobile colistin resistance: Prevalence, mechanisms, and current detection methods // *Ho Chi Minh City Open University Journal of Science — Engineering and Technology*. 2022; 12 (2): 3–14. doi: 10.46223/HCMCOUJS.tech.en.12.2.2193.2022
8. Suzhaeva L.V., Egorova S.A. Strains of *Escherichia coli* resistant to antimicrobial drugs in the intestinal microbiota of young children // *Unresolved issues of etiotropic therapy: Proceedings of the All-Russian Annual Research to Practice Conference (St. Petersburg, December 5–6, 2022)*. St. Petersburg, 2022: 178–187.
9. Zabrovskaya A.V., Egorova S.A., Antipova N.A., Smirnova E.V., Semchenkova L.I., Bystraya T.E., Sokolnik S.E., Utkina N.P., Sikhando L.Y., Satosova N.V. Antimicrobial susceptibility of dominant *Salmonella* serovars, isolated in North-West federal district in 2004–2018 from different sources // *Journal Infectology*. 2022; 14 (1): 131–139. (In Russ.) doi: 10.22625/2072-6732-2022-14-1-131-139
10. Zabrovskaya A.V., Egorova S.A. Antibiotic resistance of *Salmonella* strains isolated from various sources // *Theory and Practice of Veterinary Pharmacy, Ecology and Toxicology in Agriculture: Materials of the international research to practice conference dedicated to the 100th anniversary of the Department of Pharmacology and Toxicology of St. Petersburg State Medical University*. 2021: 95–97.
11. Zabrovskaya A.V., Smirnova L.I., Egorova S.A., Antipova N.A. Resistance to antimicrobial drugs of *Salmonella* strains isolated from farm animals and from animal products // *Veterinary Medicine*. 2021; 10: 14–19. (In Russ.) doi: 10.30896/0042-4846.2021.24.10.14-19

Brevets

1. Patent No. 2744203 C1, Int. Cl. C12Q 1/04 (2020.08); C12R 1/42 (2020.08). Strain of bacteria *Salmonella enterica* sbsp_ *enterica* serovar Kentucky B-9045 of the international multiresistant clone of *Salmonella* Kentucky ST198 used as a control strain for phenotypic and molecular studies in diagnosing salmonellosis. No. 2020122129; application: 29.06.2020; date of publication 03.03.2021 / Egorova S.A., Kaftyreva L.A. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. Pastera Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchiya cheloveka» (FBUN NII epidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera) (RU)
2. Patent No. 2744205 C1, Int. Cl. C12N 1/20(2006.01); C12Q 1/04(2006.01); C12R 1/42(2006.01). Strain of bacteria *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Newport B-9044 of the international multiresistant clone of *Salmonella* newport MDR-AMPC/CMY-2, used as a control strain for phenotypic and molecular studies in diagnosing salmonellosis. No. 2020122130; application: 29.06.2020; date of publication 03.03.2021 / Egorova S.A., Kaftyreva L.A. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. Pastera Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchiya cheloveka» (FBUN NII epidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera) (RU)
3. Patent No. RU2756980 C1, Int. Cl. C12N 1/20(2006.01); C12Q 1/02(2006.01); C12R 1/19(2006.01). Strain of *Escherichia coli* serovar O26:H11 bacteria, producer of a shiga-like toxin, deposited in the state collection of pathogenic microorganisms and cell cultures «SCPM-Obolensk» under number B-8034. No. 2020134009; application: 2020.10.15; date of publication 2021.10.07 / Makarova M.A., Kaftyreva L.A. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. Pastera Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchiya cheloveka» (FBUN NII epidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera) (RU)

Programme informatique

1. Likhachev I.V. Modeling of coloring of a mixture of aqueous solutions of pH indicators / I.V. Likhachev, A.A. Samoylova, V.N. Verbov, M.A. Makarova // Certificate of software registration No. RU 2021661736, 14.07.2021; application: 31.05.2021; date of publication 14.07.2021 / Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. Pastera Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchiya cheloveka» (FBUN NII epidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera) (RU)

LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE MEDICALE

Chef du laboratoire: Lyudmila Kraeva

Chercheurs: E. Voskresenskaya, N. Kurova, G. Kokorina, E. Bogumilchik, G. Khamdulaeva, E. Kunilova, E. Rogacheva, T. Saines

Nouvelles orientations dans le diagnostic de laboratoire des infections des voies respiratoires contrôlées par les vaccins

Actualité de la recherche

Malgré la vaccination effectuée contre l'infection coquelucheuse cette dernière reste un problème d'actualité de la santé publique dans plusieurs pays du monde, y compris en Fédération de Russie. On enregistre également les cas d'affection par la coqueluche après avoir subi la maladie, ce qui veut dire qu'on ne peut pas compter sur une immunité à vie acquise après l'infection. Pour cette raison la motivation pour la mise en oeuvre des revaccinations complémentaires contre la coqueluche en Fédération de Russie se présente comme parfaitement fondée pour déterminer la stratégie de la vaccinoprophylaxie.

Grâce à la vaccination effectuée la morbidité diphtérique a diminué au cours des dernières années. Pourtant pendant la période de la pandémie de la nouvelle infection à coronavirus l'activité de la campagne de vaccination contre l'infection coquelucheuse a sensiblement diminué. Pour autant les cas d'affection par cette infection continuent à être enregistrés. Et si en 2020 il a été détecté un seul cas de la diphtérie d'un enfant vacciné, en 2021 on en a eu déjà 4 (toujours chez les enfants). Il a été révélé également 2 cas de portage des souches toxigènes de *C. diphtheriae*. Pour cette raison il est nécessaire d'effectuer une surveillance constante et assidue du degré de protection de la population contre la diphtérie de même qu'étudier d'une manière approfondie les souches des agents pathogènes pour la meilleure connaissance de l'épidémiologie de l'infection diphtérique. Il est surtout important d'étudier l'évolution de la diffusion des différents clones des bactéries en tenant compte de leurs facteurs de pathogénicité et de résistance des germes aux antibiotiques administrés comme thérapie étiologique au cas de la diphtérie et de la coqueluche.

L'accroissement de la vitesse de propagation des souches résistantes du groupe ESKAPE, y compris celles liées aux infections nosocomiales, exige l'utilisation des méthodes alternatives de lutte contre ces bactéries, en faisant recours, notamment, aux bactériophages ou à de nouveaux composés synthétisés de ciblage antibactérienne.

Objectif de la recherche. Etude de la séroprévalence face à l'agent de la coqueluche dans la population de Saint-Pétersbourg; étude des marqueurs génétiques et phénotypiques de virulence et d'antibiorésistance des souches *C. diphtheriae*, *Bordetella spp.* et des souches du groupe ESKAPE isolées dans les District Nord-Ouest au cours de 25 dernières années;

Matériels et méthodes

Pour évaluer la séroprévalence face à l'agent de la coqueluche on a utilisé les kits IFA de détection des anticorps contre la toxine coquelucheuse (IgG, IgA). Les valeurs IgG ≥ 40 UI/ml, IgA ≥ 12 UI/ml ont été adoptées comme celles du taux positif des anticorps. Le détection du taux positif IgG a été qualifiée comme marqueur de contact

avec l'agent pathogène (de la maladie) ou de la formation de l'immunité collective due à une large circulation de l'infection au cours de 1-2 dernières années, le taux élevé IgG (≥ 100 UI/ml) ou la combinaison des taux positifs IgG et IgA considérés comme signe de la coqueluche subie pendant la période de 6 à 12 mois avant l'examen. Pour le screening des souches de *Bordetella*, résistantes aux macrolides, a été pratiquée la méthode de diffusion par disque et la définition de la concentration minimale inhibitrice de l'antibiotique par E-test. Comme milieu de culture a été utilisé l'hydrolysate acide de caséine.

Dans l'étude des propriétés toxigènes des souches de *C. diphtheriae* on a pratiqué les méthodes génétiques et phénotypiques. Pour la détection du gène de la toxigénicité a été testé le nouveau kit de Lamp-PCR (fabriqué par «Innova-plus», Saint-Pétersbourg) sous contrôle du kit certifié de détection du gène de la toxigénicité par la méthode Real-time. La production phénotypique des toxines a été révélée par Elek-test et le pouvoir biofilmogène étudié avec utilisation du microscope à fluorescence.

Pour définir la sensibilité aux antibiotiques on a procédé par la méthode de diffusion par disque conformément aux Lignes directrices 4.12.1890-04 (Moscou, 2004) et aux recommandations méthodologiques «Définition de la sensibilité des micro-organismes aux germicides» (EUCAST, 2018). La sensibilité aux bactériophages a été déterminée selon les Recommandations fédérales cliniques «Utilisation rationnelle des bactériophages dans la pratique thérapeutique et antiépidémique» (2014). Ce faisant on a utilisé les produits des bactériophages fabriqués par la SA «Groupement de recherche et de production Microgène».

Essentiels résultats

1. Etude de la séroprévalence de la population de Saint-Pétersbourg face à *Bordetella pertussis*. Pour étudier la séroprévalence face à l'agent coquelucheux en 2022 ont été examinés 297 personnes adultes et 90 enfants. Le taux des personnes séropositives dans le groupe des adultes a fait 9,4% dont 1,3% ont manifesté des signes sérologiques de l'infection récemment subie. Le plus grand nombre de personnes séropositives a été révélé dans la catégorie d'âge de 18-29 ans (12,9%). Dans les catégories d'âge plus avancé le taux de ceux, qui ont contacté l'agent coquelucheux, diminuait, et dans celle de 60 ans et plus il n'a été révélé aucune personne séropositive.

Sur 90 enfants et adolescents examinés, âgés de 3-17 ans, les anticorps contre la toxine coquelucheuse ont été détectés chez 14,4% dont 2,2% manifestant les signes sérologiques de l'infection subie récemment.

2. Il a été effectué le séquençage des génomes de 20 souches *B. pertussis* et *B. parapertussis* dont les résultats sont actuellement au stade de dépouillement.

3. Evaluation de l'immunité antidiphtérique de la population de Saint-Pétersbourg. L'examen des matières biologiques prélevées à 160 enfants et adolescents au sujet de l'état de leur immunité antitoxique antidiphtérique a clairement indiqué le groupe le plus vulnérable, celui des enfants de 11-12 ans, où seulement 70% étaient protégés,

ce taux étant légèrement plus élevé (86%) dans la catégorie d'âge de 14 ans, tandis que dans celle de 16 ans — 90% possédaient le niveau des anticorps garantissant la protection, augmentant encore jusqu'à 99% dans la catégorie d'âge de 17 ans. Ces chiffres reflètent avant tout le résultat de la vaccination.

4. Sensibilité des Corynébactérium aux produits antibactériens. Les médicaments de choix dans le traitement de la diphtérie et la neutralisation des porteurs de *C. diphtheriae* sont la benzylpénicilline, l'érythromycine, la tétracycline, la rifampicine, la clarithromycine et l'azithromycine. Il a été définie la sensibilité à ces produits des souches isolées de l'agent pathogène. La plus importante baisse de sensibilité des souches a été constatée lors de l'usage de la benzylpénicilline et la tétracycline, administrées le plus souvent aux patients lors de l'isolement des souches de *C. diphtheriae*.

5. Sensibilité des bactéries du groupe ESKAPE aux antibiotiques. Il a été étudié au total 40 souches de bactéries du groupe ESKAPE isolées dans les différents établissements médicaux de Saint-Petersbourg. On a évalué leur sensibilité aux antibiotiques aux niveaux phénotypique et génétique. Le plus souvent les isolats étudiés ont manifesté leur résistance aux céphalosporines et aux fluorquinolones de même qu'aux pénicillines avec inhibiteurs de bêta-lactamases recommandées à titre de thérapie antibactérienne dans le traitement des formes compliquées de l'infection conformément aux Indications méthodologiques temporaires «Prévention, diagnostic et traitement de la nouvelle infection à coronavirus (COVID-19), version 16 (18.08.2022).

6. Examen de l'effet antibactérien des composés chimiques sur les bactéries du groupe ESKAPE. Sur l'exemple des souches bactériennes du groupe ESKAPE il a été étudié l'effet antibactérien des préantibiotiques synthétisés appartenant aux différents groupes chimiques. Ainsi les 5-amino-1,2,4-thiadiazoles effectuent une activité antibactérienne exprimée à l'égard des souches *Enterobacter cloacae* et *Pseudomonas aeruginosa*. La concentration minimale inhibitrice de ce composé s'est trouvée inférieure à celle de l'antibiotique officinal qui est la péfloxacin utilisée pour l'élimination de ces bactéries. Les bactéries gram-positives *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecium* se sont avérées sensibles aux dipeptides et depsipeptides aziriniques. Ceci étant la concentration minimale inhibitrice des composés a été comparable à celles du groupe des fluorquinolones.

7. Examen de la sensibilité des bactéries d'actualité aux bactériophages. On a étudié la sensibilité de 120 bactéries, agents des infections nosocomiales et des complications bactériennes de COVID-19, aux bactériophages correspondants. Il a été démontré que plus de 40% de souches des bactéries, résistantes aux antibiotiques, sont sensibles aux bactériophages correspondants. Pour obtenir la réponse rapide à la question de la sensibilité des bactéries aux phages, il a été élaborée une Express-méthode de définition de la sensibilité des bactéries gram-négatives aux bactériophages (avec obtention du brevet No. 2022106346/10(013228)).

Conclusion

Les données obtenues témoignent en faveur d'une vaste circulation de l'agent coquelucheux parmi les enfants et les adolescents. Ainsi, dans le groupe des enfants et adolescents de l'âge de 3 à 17 ans les anticorps contre la toxine coquelucheuse ont été détectés chez 14,4%. Il s'avère donc nécessaire de revacciner contre la coqueluche les personnes adultes âgées de plus de 60 ans vu une baisse d'ac-

tivité de l'immunité collective et l'augmentation du risque d'évolution grave et compliquée des infections dans cette catégorie d'âge.

Il est également nécessaire d'organiser un contrôle dynamique permanent de protection de la population contre la diphtérie et le portage des Corynébactérium pathogènes. La diffusion des souches de *C. diphtheriae*, résistantes aux antibiotiques utilisés pour le traitement des malades et la neutralisation des porteurs, confirme la nécessité de définir opportunément leur sensibilité aux antibiotiques et les contrôler constamment.

L'accroissement systématique de l'antibiorésistance des souches isolées dans le cadre des mesures adoptées contre les infections nosocomiales exige la recherche des moyens alternatifs de lutte contre ces souches résistantes.

Diversité des locus CRISPR des souches de *Yersinia pseudotuberculosis* et leur association avec les facteurs de pathogénicité de l'agent

Chercheurs: E. Voskresenskaya, N. Peretolchina, G. Kokorina, E. Bogumilchik, T. Saines

Introduction

Les bactéries gram-négatives de l'espèce *Yersinia pseudotuberculosis* sont classées parmi les micro-organismes psychrotrophes capables de provoquer une maladie saprozoose aiguë — la pseudotuberculose. Les cas de la pseudotuberculose sont enregistrés dans plusieurs sujets de la Fédération de Russie, mais les régions de la plus forte incidence sont les districts fédéraux de l'Extrême Orient, du Nord-Ouest et de la Sibérie. Les souches de *Y. pseudotuberculosis* se distinguent par une grande variété des facteurs qui déterminent leur virulence et la sévérité de la maladie qu'elles provoquent. Les principaux facteurs de pathogénicité de *Y. pseudotuberculosis* incluent les gènes du superantigène *ypmA*, *ypmC*, de «l'îlot de pathogénicité» HPI («îlot de forte pathogénicité») et YAPI («îlot adhésif de pathogénicité»). Sur les plasmides pYV et pVM82 sont localisés les gènes associés au parasitisme intracellulaire facultatif de la bactérie: appareil de sécrétion du III-ème type, adhésines et appareil de sécrétion du type IVB.

Un échange permanent d'information héréditaire avec la participation des éléments extrachromosomiques et transposés sert d'un des facteurs d'existence de la population hétérogène des micro-organismes dans les conditions déterminées de l'environnement. Certains clusters des gènes, codant les déterminants de pathogénicité, sont associés avec les intégrases des prophages ou éléments d'insertion contrôlant les réarrangements génomiques. Il s'en suit donc que les systèmes visant à la régulation du transfert horizontal de gènes influent sur l'évolution des bactéries. Fait partie de telles structures le système CRISPR (Clustered Regularly Interspaces Short Palindromic Repeats, courtes répétitions palindromiques divisées par les espaceurs), capable de reconnaître et annihiler le matériel génétique allochtone.

Dans les bases de données des séquences nucléotidiques les souches, isolées sur le territoire de la Fédération de Russie, sont représentées en relativement petites quantités, de même qu'est absente l'information sur le lieu d'isolement de la souche et autres données identitaires. Ainsi l'objectif de cette recherche consistait en étude des caractères moléculaires génétiques des locus CRISPR des

souches de *Y. pseudotuberculosis* circulant sur le territoire de la Fédération de Russie et de leur lien avec les facteurs de pathogénicité.

Matériels et méthodes

Il a été étudié au total 56 souches de *Y. pseudotuberculosis* isolées pendant la période de 1935 à 2014 sur les différents territoires de la Sibirie Orientale et Occidentale, d'Extrême Orient, du District fédéral Nord-Ouest et d'autres régions de la Russie, de même qu'en Mongolie, Ukraine, Bélarus, Turkménistan et Abkhazie, obtenues des différentes sources.

Le sérotype des souches étudiées a été identifié au moyen des sérums diagnostiques produits par l'Institut Pasteur de Saint-Petersbourg et de la méthode PCR multiplex (Bogdanovich T. et al., 2003).

Par la méthode PCR dans les souches de collection ont été révélés les gènes chromosomiques du superantigène *ypm A/C*, gènes des HPI (*fyuA*, *irp2*) localisés sur les «îlots de pathogénicité», *YAPI* (*pilPQ*, *api74*, *tcp*), gènes du plasmide pVM82 (*dotO*, *mucAB*).

Pour l'amplification et le séquençage des locus CRISPR ont été utilisées les amorces présentés au Tabl. 8. Les amorces internes utilisées pour le séquençage des fragments > 1000 p.n. ont été choisies expérimentalement.

Le séquençage des locus CRISPR a été effectué selon la méthode Sanger sur le séquenceur capillaire Applied Biosystems 3500 (Thermo Scientific, USA). Pour 10 souches a été effectué le séquençage génomique complet sur le séquenceur MiSeq (Illumina, USA). La préparation d'échantillons et le séquençage ont été mis en oeuvre en conformité aux instructions du fabricant.

L'assemblage et l'analyse des fragments ont été opérés à l'aide du programme Vector NTI Advance 10.3 и BioEdit 7.2. L'assemblage jusqu'au niveau des contigs a été effectué avec utilisation de l'assembleur de génomes SPAdes 3.15.4 et l'instrument de finition CONTIGuator 2.7.4. sur la base du génome de référence, La recherche et le décodage des systèmes CRISPR dans les séquences des ADN des souches utilisaient comme appui les programmes CRISPRone (<https://omics.informatics.indiana.edu/CRISPRone>), CRISPRCasFinder (<https://crisprcas.i2bc.paris-saclay.fr>) et CRISPRDetect (<http://brabtools./CRISPRDetect>). La recherche des séquences homologues de proto-espacement dans les génomes des bactériophages et plasmides a été effectuée utilisant l'algorithme de recherche BLASTn dans les bases de données GenBank, EMBL, DDBJ, PDB, RefSeq, de même que l'application en ligne CRISPRtarget dans les bases de données GenBank-Phage, RefSeq-Plasmid et Islandviewer. La recherche des prophages dans les génomes menée en usant du programme de service en ligne PHASTER.

L'analyse de données a été effectuée dans le milieu de programmation RStudio 2022.07.1+554 avec utilisation du langage de traitement statistique des données et du travail avec le matériel graphique R 4.2.2. L'analyse de variance permutée (PERMANOVA) a été mise en oeuvre pour la recherche des différences statistiquement significatives dans la structure des locus et de leur lien avec avec les différents caractères des souches dans la composition du paquet *vegan* 2.6–4. La clustérisation des souches et la conception des dendrogrammes de la présence des espaceurs ont été réalisées avec utilisation des paquets *pvclust* 2.2–0 et *ComplexHeatmap* 2.14.0 selon la méthode de la moyenne couplée non pondérée (UPGMA) avec bootstrap 1000.

Résultats

Selon les résultats d'analyse de la qualité et de l'assemblage des séquences ont été retenus 78 fragments. Il a été démontré que les souches étudiées de *Y. pseudotuberculosis* contiennent un système CRISPR qui inclue de un à trois locus: YP1, YP2, YP3. D'après la structure des répétitions (5'-GTT CAC TGC CGC ACA GGC AGC TTA GAA A — 3') tous les locus font partie du type IF. Le nombre total d'espaceurs a fait 1311. Dans le locus YP1 le nombre d'espaceurs varie de 3 à 38 (810 espaceurs au total), dans le locus YP3 — de 1 à 44 espaceurs (466 au total), le locus YP2 étant court et ne contenant qu'un ou deux espaceurs.

Composition espaceurs des locus CRISPR

Pour l'analyse de la composition espaceurs des locus CRISPR antérieurement a été créée une base de données des espaceurs des souches de *Y. pseudotuberculosis* (Database «Spacer sequences of CRISPR-Cas systems of *Yersinia pseudotuberculosis* strains»/State Register of databases, 25.12.2020, No. 2020622813).

D'une manière statistiquement authentique la composition espaceurs des locus CRISPR s'avère différente pour les souches, se distinguant par le sérotype et les facteurs de pathogénicité, isolées sur les territoires différents (Tabl. 9). L'étude des différents locus a prouvé d'une manière statistiquement authentique la différence des compositions des locus YP1 et YP3, tandis la composition du locus YP2, au contraire, est assez homogène. La composition espaceurs du locus YP1 est différente pour les souches des différents sérotypes contenant les différents déterminants de pathogénicité, en particulier pour les souches à la composition plasmidique différente (pVM82+ или pVM82-). La composition du locus YP3 est authentiquement différente pour les souches ayant dans la composition du génome un «îlot adhésif de pathogénicité» YAPI et le plasmide pVM82. Les différences authentiques dans les groupes de souches, se distinguant selon d'autres facteurs de pathogénicité (superantigène YPM, «îlot de pathogénicité» HPI), n'ont pas été révélées.

L'analyse en cluster des souches basée sur la présence d'espaceurs dans les loci permet de diviser conditionnellement les souches en 2 grands groupes (Fig. 1).

Le cluster 1 est composé de 28 souches de *Y. pseudotuberculosis* isolées principalement sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest (86%): trois souches du sérotype O:1a et 23 souches du sérotype O:1b (pour deux souches le sérotype n'est pas défini). Les souches se caractérisent par la présence du superantigène YPM (89%). Ce faisant à l'intérieur du cluster les souches se subdivisent en deux sous-clusters selon le critère d'existence de «l'îlot adhésif de pathogénicité» YAPI et du plasmide pVM82: sous-cluster 1a (YPM+YAPI-pVM82-) incluant 16 souches (57%) et sous-cluster 1b (YPM+YAPI+pVM82+) — 12 souches (43%).

Tableau 8. Séquences des amorces aux locus CRISPR de *Y. pseudotuberculosis*

CRISPR-locus	Séquences des amorces
YP1 direct	ACATTGTGGTTATCGGTGGTCT
YP1 inverse	CAGTAATAAAAAGATGCCATTCTCCC
YP2 direct	TTGCGCTGCTAAAAGCGTTG
YP2 inverse	CCCGATTCTTGTGACCCTCT
YP3 direct	GGATTCTTAGCCTATTACA
YP3 inverse	CGATCTCTGTTTTGTGGTGA

Tableau 9. Différences de la composition espaceurs des locus CRISPR des souches de *Y. pseudotuberculosis* (p < 0,05)

Locus YP1				
Caractéristique de la souche	Df	MS	Pseudo-F	P-value
Territoire d'isolement	22	0,4668	3,9483	0,001
Sérotype	1	0,6831	5,7779	0,001
Combinaison des déterminants de la pathogénicité	3	0,554	4,6857	0,001
pVM	1	0,4659	3,9408	0,002
YAPI	1	0,2125	1,7976	0,089
Autres facteurs	10	0,1182		
Locus YP2				
Territoire d'isolement	13	0,1869	3,3647	0,215
Sérotype	3	0,0664	1,1944	0,420
Autres facteurs	3	0,0556		
Locus YP3				
Territoire d'isolement	20	0,4439	36,117	0,001
Sérotype	3	0,4352	35,402	0,001
Combinaison des déterminants de la pathogénicité	3	0,5478	44,567	0,001
pVM	1	0,1984	16,145	0,001
YAPI	1	0,3016	24,537	0,001
Autres facteurs	7	0,0123		
Tous les locus				
Territoire d'isolement	27	0,555	2,6799	0,001
Sérotype	4	0,3906	1,8858	0,001
Combinaison des déterminants de la pathogénicité	3	0,5049	2,4379	0,001
pVM	1	0,5279	2,5487	0,007
YAPI	1	0,2454	1,185	0,276
Autres facteurs	19	0,2071		

Abréviations: Df — degrés de liberté; MS — carré moyen; Pseudo-F — évaluation selon le critère Fisher; P-value — évaluation du niveau de significativité.

Le cluster 2 est composé de 23 souches de *Y. pseudotuberculosis* des différents sérotypes, pratiquement à parts égales isolés dans les différentes régions de Russie (52%) et dans d'autres états (48%). La plupart des souches se caractérise par la présence de «l'îlot de pathogénicité» HPI (83%), cinq souches (22%) possèdent le superantigène YPM, une souche (4%) — «l'îlot adhésif de pathogénicité» YAPI et encore une souche (4%) — le plasmide pVM82.

Cinq sur 56 souches étudiées (9%, No. 14, 1375, 37n, 1380, 87) se trouvent en dehors des principaux clusters. Les espaceurs, représentés dans ces souches, ne se retrouvent pratiquement pas dans d'autres systèmes CRISPR.

L'analyse comparée des fragments obtenus, contenant des séquences de génomes déposées dans les bases de données NCBI (GenBank et RefSeq), a démontré la division des souches en clusters «asiatique» (1) et «européen» (2) (Fig. 2).

Le cluster 1 est composé de 49 souches isolées principalement sur les territoires de la Russie et du Japon (73%). On s'est retrouvé également des souches (27%) isolées dans des pays différents: en Allemagne, en Afrique du Sud, au Turkménistan, en Suède, en Ukraine et en Nouvelle-Zélande. La plupart de souches de ce groupe (86%) se caractérise par la présence du gène du superantigène ypm. Environ la moitié des souches (55%) possède «l'îlot adhésif de pathogénicité» YAPI (y compris le gène tcp), tandis que le plasmide pVM82 a également été détecté dans certaines souches (22%).

Le cluster 2 est composé de 54 souches isolées dans les pays d'Europe (46%) et dans d'autres pays du monde: en Chine, en Russie, aux États-Unis, au Canada, en Nouvelle Zélande et en Australie (22%). La plupart de souches de ce groupe (59%) se caractérise par la présence de «l'îlot de pathogénicité» HPI. Un autre facteur dominant de pathogénicité est l'existence de «l'îlot de pathogénicité» YAPI (20%).

Ainsi des souches de *Y. pseudotuberculosis*, circulant sur le territoire de la Fédération de Russie et de plusieurs autres pays, ne peuvent pas être nettement divisés en clades «asiatique» et «européen» en fonction du type de locus CRISPR, ce qui est dû à la forte variabilité des souches. Pour autant la comparaison de la composition espaceurs des locus CRISPR avec les données sur l'existence des principaux facteurs de pathogénicité a permis de révéler les variantes génétiques des souches de *Y. pseudotuberculosis* dominant sur les territoires concrets. On peut en déduire que la plupart des souches, circulant sur le territoire de la Fédération de Russie, se distingue par ces marqueurs moléculaires des souches provenant d'autres pays.

Analyse des séquences proto-espaceurs dans les génomes des phages et des plasmides

En partant de la fonction immunitaire du système CRISPR a été effectuée la recherche des séquences homologues dans les génomes des principaux éléments génétiques mobiles (EGM) — bactériophages et plasmides.

20 séquences espaceurs sont homologues aux fragments de génomes des bactériophages *Yersinia* YeP3,

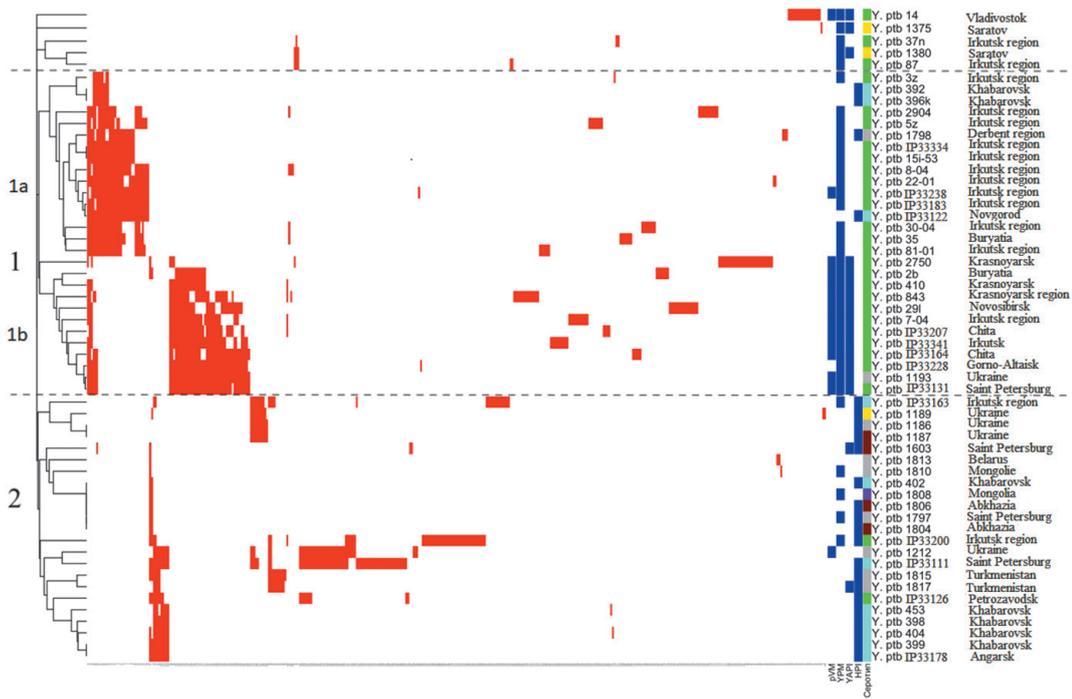


Figure 1. Clustérisation des souches de *Y. pseudotuberculosis* (n = 56) en fonction de la présence des espaces dans les locus YP1-YP3

Symbolisation par les couleurs: présence de l'espaceur — rouge; présence du facteur de pathogénéité — bleu; sérotype 1 — rouge foncé; sérotype 1a — bleu clair; sérotype 1b — vert; sérotype 3 — jaune; sérotype 4 — violet; sérotype non défini — gris.

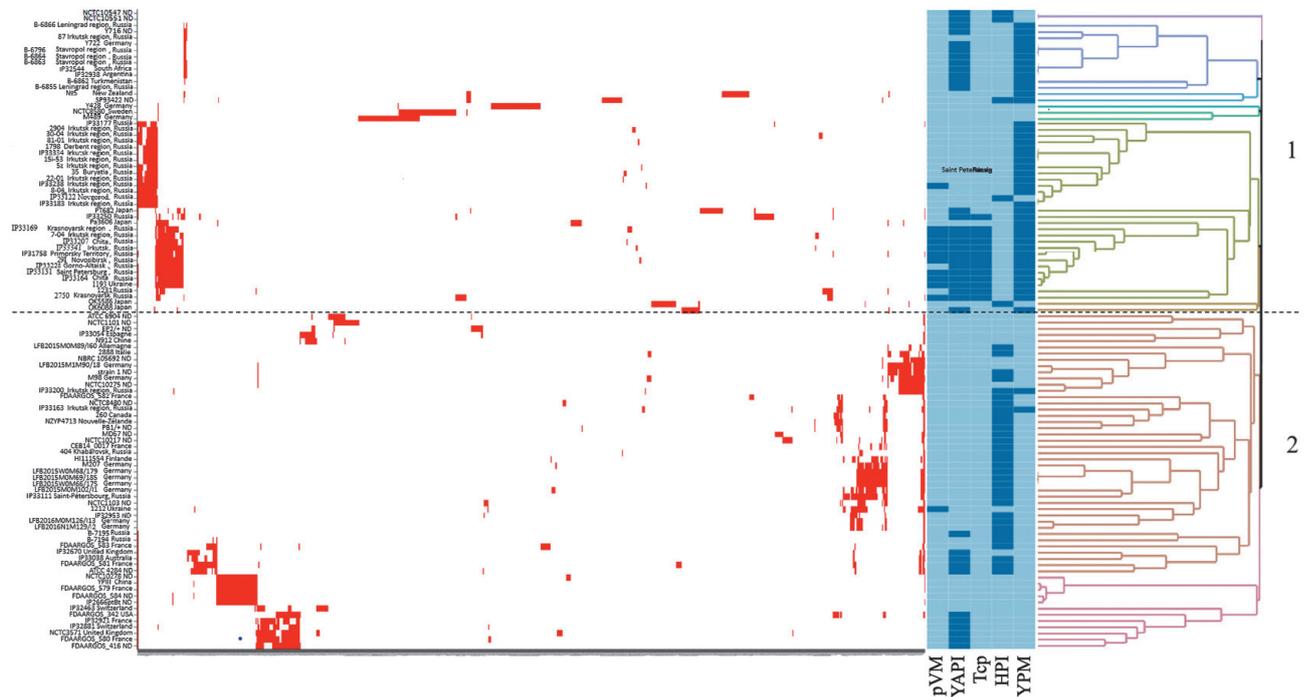


Figure 2. Clustérisation des souches de *Y. pseudotuberculosis* selon le critère de présence des espaces. Données de séquençage des locus CRISPR des souches étudiées (n = 30) et des séquences déposées dans NCBI (n = 73)

Symbolisation par les couleurs: présence de l'espaceur — rouge; présence du facteur de pathogénéité — bleu; absence du facteur de pathogénéité — bleu clair.

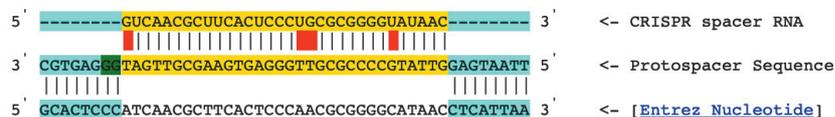


Figure 3. Séquence proto-espaceur du plasmide de *Y. pseudotuberculosis* IP31758 pVM82 (153 kb) pour l'espaceur 114 du locus YP3

Yersinia YeP2, *Yersinia* YeP1, *Yersinia* vB_YenM, *Yersinia* vB_YenS_P400 et *Klebsiella* 6991.

70 séquences espaceurs sont homologues aux enchaînements de chromosomes des différentes espèces *Yersinia*: *Y. pseudotuberculosis*, *Y. pestis*, *Y. similis*, *Y. massiliensis*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. enterocolitica*, *Y. aldovae*. Selon les résultats d'analyse des génomes avec le programme de service en ligne PHASTER les fragments de génomes, contenant les séquences proto-espaceurs, correspondent aux prophages complets. Le même espaceur peut être homologue aux fragments du génome des prophages révélés dans les différentes souches. Par ailleurs les espaceurs, représentés dans le même locus, sont capables de reconnaître les différents fragments du génome du même prophage.

Quatre espaceurs sont homologues à la séquence du plasmide cryptique pYptb32953 (27,7 kb) qui se retrouve assez rarement dans les souches des *Yersinia* pathogènes. La principale fonction de ce plasmide est sa participation à la conjugaison: dans le génome du plasmide est localisé le cluster de gènes codant les protéines indispensables à la conjugaison du plasmide.

Quatre séquences espaceurs sont homologues au fragment de génome du plasmide pVM82 des souches de *Y. pseudotuberculosis* IP31758 et de *Y. pseudotuberculosis* 598 (numéros d'accès à NCBI RefSeq: NC_009705 et NZ_CP071946) excepté 4 nucléotides (Fig. 3). Dans le génome des plasmides se localisent les gènes de l'intégrase simili-phage, ce qui peut témoigner en faveur de l'acquisition du cluster des gènes du système de sécrétion *icm/dot* du type IVP par les mécanismes de transfert horizontal.

Discussion

L'essentielle fonction des systèmes CRISPR est la reconnaissance spécifique et l'annihilation des éléments génétiques étrangers pénétrés dans la cellule bactérienne et représentant un danger potentiel pour l'existence de la population de la bactérie. Les séquences des espaceurs sont homologues aux fragments des génomes des EGM spécifiques pour les micro-organismes circulant sur les territoires concrets. La capacité d'acquérir les espaceurs en ordre chronologique et une importante part des polymorphismes permet d'utiliser les systèmes CRISPR comme instrument de typage moléculaire haute résolution des souches, qui a été démontré sur l'exemple de *Streptococcus thermophilus*, *Campylobacter jejuni*, *Corynebacterium diphtheriae* et *Y. pestis*. Il est connu que les locus CRISPR sont une structure dynamique dans laquelle les nouvelles séquences espaceurs s'associent du côté de la séquence leader. Une partie d'espaceurs, situés au milieu de la cassette, peut être perdue suite à la délétion pendant l'acquisition des nouvelles séquences des EGM. Les espaceurs, situés près de la dernière répétition polymorphe, se conservent en règle générale.

Ainsi le typage des souches selon le critère de la présence des espaceurs, situés aux extrémités des locus YP1 et YP3, permet de diviser conventionnellement les souches, qui se distinguent par le choix des déterminants de la virulence, en deux clusters: «européen» et «asiatique» (Fig. 2). 35 sur 56 souches étudiées ont été isolées sur les territoires de l'Extrême Orient et de la Sibérie Orientale et Occidentale. Cela étant s'effectue la division des souches en deux sous-groupes selon le critère de présence du plasmide pVM82 (pVM82+ et pVM82-) déterminant l'appareil

de sécrétion du type IVB et, de même que certains autres facteurs de pathogénicité, occultant le développement des formes généralisées de la pseudotuberculose (Fig. 1). Les souches isolées au Japon, capables également de provoquer l'ensemble des manifestations de l'infection systémique, appelée fièvre scarlatinoïde d'Extrême Orient, ont le motif similaire de distribution des cassettes CRISPR (Fig. 2, cluster 1).

Selon les résultats de l'analyse PERMANOVA la composition des locus YP1 et YP3 est en corrélation avec la présence dans les souches de tels facteurs de pathogénicité comme le plasmide pVM82 et «l'îlot adhésif de pathogénicité» YAPI. La haute variabilité des souches au sein d'une espèce est conditionnée par leur capacité d'acquérir de nouveaux éléments génétiques (îlots génomiques) par le transfert horizontal de gènes à l'aide des plasmides, bactériophages, intégrons et transposons. CRISPR, comme système de «l'immunité» des bactéries aux EGM, peut participer à la constitution du génotype des souches de *Y. pseudotuberculosis* qui conditionne les manifestations cliniques de la pseudotuberculose.

L'analyse des proto-espaceurs dans les génomes des bactéries, bactériophages et plasmides a révélé les espaceurs correspondant au fragment du génome du plasmide pVM82 des souches de *Y. pseudotuberculosis* IP31758 et de *Y. pseudotuberculosis* 598. Il est possible que l'acquisition de ces espaceurs est la cause d'absence du plasmide pVM82 dans les souches faisant partie du cluster «européen» (Fig. 2). Mais l'espaceur capable d'identifier le fragment du plasmide se retrouve dans le locus YP3 de la souche de *Y. pseudotuberculosis* 2750 du sérotype O:1b contenant le plasmide pVM82 et le cluster des gènes *icm/dot* (Fig. 2, cluster 1). Il est probable qu'un grand nombre de mutations dans la séquence proto-espaceur empêche l'interférence CRISPR, ou bien que cette séquence peut être présente dans le génome du bactériophage absent dans les bases de données. D'autre part, l'acquisition des espaceurs pour ses propres séquences peut servir de bascule à l'apparition de nouvelles mutations et de l'expression du nouveau phénotype se manifestant dans le changement des propriétés de virulence du micro-organisme. Conformément à une autre hypothèse les espaceurs, identifiant leurs propres séquences, servent de mécanisme de sélection des souches qui ne contiennent pas ce facteur. Ainsi le système CRISPR peut servir d'un des facteurs conditionnant l'apparition et la circulation des souches, ayant les différents potentiels pathogéniques, sur un même territoire. Combinée avec les méthodes classiques d'identification et de typage de l'agent de la pseudotuberculose, l'analyse des locus CRISPR peut être utilisée pour les besoins des recherches phylogénétiques, du suivi de circulation des souches de *Y. pseudotuberculosis* sur les différents territoires et des enquêtes des poussées épidémiques.

Conclusion

A la suite de l'analyse des locus CRISPR des souches de *Y. pseudotuberculosis* il a été établi que la composition espaceurs des locus est différente pour les souches qui se distinguent par leurs sérotypes, choix des facteurs de pathogénicité et la région de leur isolement. Les locus YP1 et YP3 ont la plus forte variabilité tandis que le locus YP2 est homogène. La composition du locus YP1 est différente dans les groupes des souches qui se distinguent par la présence du plasmide pVM82. La composition du locus YP3 est

en corrélation avec la présence du plasmide pVM82 et de «l'îlot adhésif de pathogénicité» YAPI.

Ainsi sur le territoire de la Fédération de Russie circulent les souches de *Y. pseudotuberculosis* ayant les différents choix de déterminants de la virulence et les différentes compositions espaceurs des locus CRISPR. La plupart des souches russes se distingue par ces marqueurs moléculaires des souches en provenance d'autres pays. La forte variabilité intraspécifique des souches est déterminée par leur capacité d'acquérir de nouveaux éléments génétiques par le transfert horizontal de gènes. Le système CRISPR, comme système de défense «immunitaire» des bactéries

contres les EGM, peut participer à la constitution du potentiel pathogénique des souches de *Y. pseudotuberculosis*.

Les résultats obtenus témoignent en faveur de l'opportunité d'utilisation du typage CRISPR dans le suivi des souches de *Y. pseudotuberculosis* circulant sur certains territoires et de la révélation d'une éventuelle liaison entre les caractéristiques structurales et fonctionnelles des sites des systèmes CRISPR et les manifestations cliniques de la pseudotuberculose. Les données dont on dispose déterminent la perspective d'utilisation des locus CRISPR en tant que marqueurs moléculaires spécifiques pour l'étude de la variété intraspécifique et l'évolution de *Y. pseudotuberculosis*.

Publications

Articles

1. Bidzhiev A.Z., Kraeva L.A., Burgasova O.A. Antibacterial properties of the chemokine CXCL9 // *Vrach*. 2022; 33 (3): 47–50. (In Russ.) doi: 10.29296/25877305-2022-03-09
2. Goncharov A.E., Azarov D.V., Mokhov A.S., Pochtovy A.A., Kustova D.D., Gushchin V.A., Lebedeva E.A., Kolodzhieva V.V., Kireeva A.G., Kraeva L.A., Dolinny S.V., Burgasova O.A., Goncharova A.R., Belkova E.I., Dmitriev A.V. Characterization of hypervirulent multi-antibiotic-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae* in hospital patients with severe COVID-19 // *Infectious Diseases*. 2022; 20 (2): 33–40. (In Russ.) doi: 10.20953/1729-9225-2022-2-33-4
3. Goncharov A.E., Solomennyy A.P., Panin A.L., Grigorjev S.E., Cheprasov M.Yu., Akhremenko Ya.A., Kolodzhieva V.V., Goncharov N.E., Kraeva L.A. Assessing *Serratia* spp. pathogenic potential from cryogenic habitats // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (3): 585–590. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-ASS-1593
4. Gumilevsky B.Yu., Kotiv B.N., Ivanov F.V., Kraeva L.A., Gumilevskaya O.P., Kolobov A.A., Orlov E.S. Infection associated with the provision of medical care in a surgical hospital // *Journal of New Medical Technologies*. 2022; 4: 19–23. (In Russ.) doi: 10.24412/2075-4094-2022-4-1-3
5. Kolobukhina L.V., Burgasova O.A., Kraeva L.A., Gushchin V.A., Burtseva E.I., Kruzhkova I.S., Khlopova I.N., Merkulova L.N., Krasnoslobodtsev K.G., Kuznetsova N.A., Shidlovskaya E.V., Dvorkina D.A., Tetova V.B., Bakalin V.V., Odnorolov M.A., Generalova L.V., Khayrullina A.R., Antipyat N.A., Shagaev A.V., Ambrosi O.E., Kelli E.I., Ushakova E.E., Smetanina S.V. Clinical and laboratory profile of patients with COVID-19 admitted to hospital in Moscow between May and July 2020 // *Infectious Diseases*. 2021; 19 (2): 5–15. (In Russ.) doi: 10.20953/1729-9225-2021-2-5-15
6. Konkova L.S., Kraeva L.A., Burgasova O.A., Dolinny S.V. Bacteriophages: past, present, future // *Physician*, 2022; (2): 21–26. (In Russ.) doi: 10.29296/25877305-2022-02-03
7. Koroleva I.V., Mikhaylova E.S., Zhukovskaia E.S., Kraeva L.A., Suvorov A.N. Clinical and microbiological evaluation of the efficacy of autoprobiotics in the combination treatment of chronic generalized periodontitis // *Revista Latinoamericana de Hipertension*. 2021; 16 (1): 15–27.
8. Kraeva L.A., Burgasova O.A., Petrova I.S., Samoilo A.A., Rogacheva E.V., Taranova M.V., Bespalova G.I. Evaluation of antibiotic sensitivity of *Moraxella catarrhalis* strains isolated from patients with complicated course of acute respiratory viral infections and other acute respiratory diseases // *Infectious Diseases*. 2021; 19 (3): 85–91. (In Russ.) doi: 10.20953/1729-9225-2021-3-85-91
9. Kraeva L.A., Burgasova O.A., Petrova I.S., Samoylova A.A., Rogacheva E.V., Taranova M.V., Bespalova G.I. Antibiotic resistance of *Moraxella catarrhalis* strains isolated from patients with complicated acute respiratory viral infections and other acute respiratory diseases // *Infectious Diseases*. 2021; 19 (3): 85–91. (In Russ.) doi: 10.20953/1729-9225-2021-3-85-91
10. Kraeva L.A., Panin A.L., Gumilevskiy B.Yu., Vlasov D.Yu., Goncharov A.E., Sofronova O. N. Microbiological monitoring in the Arctic as a way to preserve biological safety in the region // *Izvestiya Rossiyskoy Voenno-Meditsinskoy Akademii*. 2020; 39 (S3-2): 77–80. (In Russ.)
11. Kraeva L.A., Panin A.L., Goncharov A.E., Belov A.B., Vlasov D.Yu., Kirtsideli I.Yu., Goncharov N.E., Baranov I.V., Sboychakov V.B. Epidemiological significance of microbiote monitoring of arctic settlements along the Northern Sea Route // *Marine Medicine*. 2021; 7 (4): 23–33. (In Russ.) doi: 10.22328/2413-5747-2021-7-4-23-33
12. Kraeva L.A., Panin A.L., Goncharov A.E., Vlasov D.Yu., Goncharov N.E., Sboychakov V.B. Risk factors for the spread of infectious diseases in the Arctics // *Infectious diseases*. 2021; 19 (2): 113–118. (In Russ.) doi: 10.20953/1729-9225-2021-2-113-118
13. Kraeva L.A., Smirnova E.V., Derevyanchenko I.A. Rapid methods in the study of food // *Bacteriology*. 2020; 5 (4): 52–59. (In Russ.) doi: 10.20953/2500-1027-2020-3-52-59
14. Lukin A., Chudinov M., Vedekhina T., Rogacheva E., Kraeva L., Bakulina O., Krasavin M. Exploration of Spirocyclic Derivatives of Ciprofloxacin as Antibacterial Agents // *Molecules*. 2022; 27 (15): 4864. doi: 10.3390/molecules27154864
15. Nazarov D., Ezhov I., Yudincheva N., Shevtsov M., Rudakova A., Kalganov V., Tolmachev V., Zharova Y., Lutakov O., Kraeva L., Rogacheva E., Maximov M. Antibacterial and osteogenic properties of Ag nanoparticles and Ag/TiO₂ nanostructures prepared by atomic layer deposition // *J. Funct. Biomater*. 2022; 13 (2): 62. (In Russ.) doi: 10.3390/jfb13020062
16. Orlov A.V., Pashkevich A.A., Matveev V.S., Vainer L.B., Nachinkina T.A., Kraeva L.A., Romanyuk F.P., Shutova T.A., Kuropatenko M.V., Zhelenina L.A. Method for the prevention of hospital infection in Saint Petersburg // *Medical Academic Journal*. 2022; 22 (2): 137–146. (In Russ.) doi: 10.17816/MAJ108748
17. Sabbouh M., Nikitina A., Rogacheva E., Kraeva L., Ulasevich S.A., Skorb E.V., Nosonovsky M. Separation of motions and vibrational separation of fractions for biocide brass // *Ultrason Sonochem*. 2021; 80: 105817. doi: 10.1016/j.ultsonch.2021.105817
18. Samoilo A.A., Kraeva L.A., Likhachev I.V., Rogacheva E.V., Mikhailov N.V., Egorova S.A., Shiling E.A. Phenotypic and genotypic assessment of resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains producing carbapenemase // *Immunopathology, Allergology, Infectology*. 2022; (1): 25–31. (In Russ.) doi: 10.14427/jipai.2022.1.25

19. Samoilova A.A., Kraeva L.A., Likhachev I.V., Rogacheva E.V., Verbov V.N., Mikhailov N.V., Zueva E.V. Appraisal of the domestic kit «MICMICRO» for antimicrobial susceptibility testing by serial microdilution method // *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2020; 22 (3): 231–236. doi: 10.36488/cmac.2020.3.231-236
20. Samoilova A.A., Likhachev I.V., Zueva E.V., Kraeva L.A., Rogacheva E.V., Mikhailov N.V. Determination of sensitivity to antimicrobial drugs of microorganisms of *Klebsiella* genus by MALDI-TOF MS method // *Bacteriology*. 2020; 5 (3): 8–13. (In Russ.) doi: 10.20953/2500-1027-2020-3-8-13
21. Sapegin A., Rogacheva E., Kraeva L., Gureev M., Dogonadze M., Vinogradova T., Yablonsky P., Balalaie S., Baykov S.V., Krasavin M. Novel 5-Nitrofurantoin-Tagged Imidazo-Fused Azines and Azoles Amenable by the Groebke-Blackburn-Bienaymé Multicomponent Reaction: Activity Profile against ESKAPE Pathogens and Mycobacteria // *Biomedicines*. 2022; 10 (9): 2203. doi: 10.3390/biomedicines10092203
22. Shetnev A., Tarasenko M., Kotlyarova V., Baykov S., Geyl K., Kasatkina S., Sibirčič N., Sharoyko V., Rogacheva E.V., Kraeva L.A. External oxidant-free and transition metal-free synthesis of 5-amino-1,2,4-thiadiazoles as promising antibacterials against ESKAPE pathogen strains // *Mol. Divers.* 2023; 27 (2): 651–666. doi: 10.1007/s11030-022-10445-1
23. Sivolodskii E.P., Kraeva L.A., Starkova D.A., Mikhailov N.V., Gorelova G.V. *Acinetobacter baumannii* by *Tryptophandestruens* by nov. isolated from clinical samples // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (5): 965–972. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-ABB-1676
24. Slesarevskaya M.N., Kuzmin I.V., Kraeva L.A. Candidal balanoposthitis in type 2 diabetic patients: symptoms, clinical event and treatment // *Experimental and Clinical Urology*. 2022; 15 (1): 170–176. (In Russ.) doi: 10.29188/2222-8543-2022-15-1-170-176
25. Slesarevskaya M.N., Kuzmin I.V., Kraeva L.A., Smirnova E.V. The effectiveness of the combined dietary supplement Uronext in women with recurrent cystitis: a clinical and microbiological study // *Experimental and Clinical Urology*, 2022; 15 (2): 120–128. (In Russ.) doi: 10.29188/2222-8543-2022-15-2-120-128
26. Snetkov P., Rogacheva E., Kremleva A., Morozkina S., Uspenskaya M., Kraeva L. In vitro antibacterial activity of curcumin-loaded nanofibers based on hyaluronic acid against multidrug-resistant ESKAPE pathogens // *Pharmaceutics*. 2022; 14 (6): 1186. (In Russ.) doi: 10.3390/pharmaceutics14061186

LABORATOIRE DES ZOOANTROPOSES

Chef du laboratoire: Nikolay Tokarevitch

Chercheurs: N. Stoyanova, Yu. Panforyova, R. Baïmova, O. Blinova, S. Antonov

Etude des caractéristiques biologiques, y compris génétiques, des leptospires

Ont été poursuivies les recherches visant à la surveillance de la diffusion de l'infection leptospirosique dans les conditions de la mégapole de Saint-Pétersbourg (SPb). Dans cette optique 94 chiens domestiques ont été étudiés par le test de microagglutination. Chez 24,5% des animaux ont été détectés les anticorps anti-leptospires. Les taux des cas positifs se sont répartis par sérogroupes de manière suivante: *Icterohaemorrhagiae* (47,8%), *Canicola* (34,8%), *Grippotyphosa* (13,1%) et encore 4,3% produisant les anticorps en même temps contre *Icterohaemorrhagiae* et *Canicola*. L'étude de 87 rats gris (effectuée ensemble avec la station antipesteuse Nord-Ouest), captés sur le territoire de SPb, a permis d'isoler des reins de 6,7% d'animaux les cultures des leptospires identifiées comme *L. Icterohaemorrhagiae*.

Les résultats d'examen des propriétés biologiques de la souche *Leptospira interrogans* du séro groupe *Grippotyphosa*, sérovar *Grippotyphosa* No. 353 «Campagnol roussâtre-339», isolée du rein d'un campagnol roussâtre capté sur le territoire de l'oblast de Léningrad, et de la souche *Leptospira interrogans* du séro groupe *Icterohaemorrhagiae*, sérovar *copenhageni* No. 352 «Taganrog 2018», isolée des organes d'une personne décédée de l'infection leptospirosique, ont permis d'établir leurs particularités. Comparée à son prototype, la souche «Campagnol roussâtre-339» assure la détection la plus efficace des anticorps contre *L. grippotyphosa* et peut être utilisée pour le diagnostic sérologique de la leptospirose. La souche «Taganrog 2018» possède une virulence bien exprimée. Ces souches ont été sujettes des brevets d'invention obtenus.

Ont été également étudiées les propriétés biologiques des souches des leptospires, isolées antérieurement dans l'oblast de Kaliningrad de la Fédération de Russie, et révélées leurs certaines particularités, ce qui a permis de déposer (dans les intérêts de la procédure de brevetage) 3 souches à la Collection d'Etat des microorganismes — agents des maladies infectieuses des II–IV groupes de pathogénicité dans l'Etablissement fédéral «Centre national des recherches en épidémiologie et microbiologie de l'académicien à titre honorifique N.F. Gamaleï» sous les No. 528, 529, 530.

A été poursuivi la recherche des marqueurs génétiques pour l'étude des leptospires et effectué l'évaluation de l'efficacité de séquençage du gène 16S pARN. L'analyse comparée des séquences nucléotidiques obtenues au cours de cette étude et présentées dans la base de données a démontré la similitude à 99% du gène 16S pARN. La forte similitude des fragments 16S pARN des différents types de *Leptospira* spp. ne permet pas d'utiliser cette méthode pour le génotypage, mais elle est efficace pour le screening initial. Selon les résultats de ces recherches 4 séquences ont été déposées dans NCBI GenBank sous les numéros d'immatriculation OP861645-OP861648. Pour résoudre les problèmes de génotypage des leptospires ont été étudiés les «gènes de ménage» (housekeeping genes), utilisés dans les schémas MLST et qui sont stables et spécifiques

pour l'espèce. A titre d'objet principal de l'étude a été choisi le gène *adh* codant l'enzyme adénylate-kinase. Les séquences obtenues de ce gène ont été confrontées avec les données de la base internationale NCBI GenBank et déposées dans cette base sous les numéros d'immatriculation OP605965-OP605967.

Pour la différenciation des microorganismes du genre *Leptospira* en souches pathogènes, intermédiaires et saprophytiques a été effectuée l'optimisation des conditions de la PCR d'un fragment du gène *flaB* codant la flagelline (sous-unité polypeptidique de la classe B des flagelles periplasmiques des leptospires) qui sert de facteur de virulence.

Aux fins de contrôle et stabilité des compositions antigéniques des souches de référence, utilisées pour le diagnostic sérologique de la leptospirose, a été poursuivie l'analyse génétique des souches de la collection de l'Institut Pasteur. Ont été étudiées les séquences du gène 16S pARN de 31 souche des leptospires pathogènes. Les résultats obtenus ont été confrontés avec les données de la base internationale NCBI GenBank ce qui a permis de déposer les séquences du gène 16S pARN des souches russes dans cette base de données sous les numéros d'immatriculation OL703050-OL703069 et OL825727-OL825737. L'analyse comparée avec les séquences nucléotidiques conservées dans la base de données internationale GenBank a démontré la concordance des résultats obtenus malgré l'existence des différences dans certains nucléotides.

Etude des caractéristiques génétiques de *C. burnetii*

Ont été poursuivies les recherches visant à l'étude des caractéristiques génétiques de *C. burnetii* aux fins de perfectionnement de la détection de ces microorganismes. Pour atteindre l'objectif assigné ont été étudiés 96 tiques ixodes des genres *Ixodes persulcatus*, *Dermacentor marginatus*, *D. Reticulatus*. Au moyen de la PCR avec utilisation des amorces spécifiques de ce genre Cox1 F–Cox1 R (blast.ncbi.nlm.nih.gov, algorithme blastn) ont été révélés cinq échantillons positifs, testés par la PCR effectuée pour obtention de la séquence nucléotidique étendue du gène 16S pARN. Les amplicons obtenus ont été séquencés en deux sens avec la réalisation de l'analyse d'homologie de la séquence nucléotidique comparée avec les séquences des souches et isolats *C. burnetii* et des microorganismes simili-Coxiella publiées antérieurement. Lors de l'analyse des séquences nucléotidiques il a été établi qu'un des échantillons étudiés contenait l'ADN *C. burnetii* et l'autre — l'ADN d'un microorganisme simili-Coxiella. Dans trois échantillons a été détecté l'ADN des microorganismes génétiquement éloignés: *Pseudomonas* sp. dans deux échantillons et *Stenotrophomonas* sp. dans un échantillon. *Coxiella burnetii* et *Coxiella* sp. ont été détectés chez les tiques ixodes de l'espèce *Dermacentor marginatus*. Comparée avec d'autres souches, l'homologie de l'échantillon positif à *C. burnetii* selon le gène 16S pARN a fait 99,16–99,83% avec la similitude maximale remarquée avec

les souches d'Europe occidentale (Henzerling et Heizberg provenant respectivement d'Italie et de Grèce). Le taux de similitude de la séquence étendue du gène 16S pARN avec celle du microorganisme simili-*Coxiella* contenant *C. burnetii* a fait moins de 96%. Lors de l'analyse des séquences des gènes d'autres bactéries simili-*Coxiella*, associées aux tiques ixodes, cet échantillon a été classé ensemble avec des bactéries détectées en Europe occidentale dans les tiques ixodes *D. marginatus*, l'homologie des séquences étant 99,33%. Les résultats obtenus de la caractéristique génétique témoignent de ce que les bactéries *Coxiella* sp., associées aux ixodes *Dermacentor* sp., sont des espèces-candidates génétiquement distantes de *C. burnetii*. Ainsi sur le fondement du screening moléculaire et de l'analyse des séquences nucléotidiques du gène 16S pARN ont été étudiés les isolats non cultivés apparentés à *C. burnetii* et *Coxiella* sp. Les microorganismes simili-*Coxiella* ont été détectés pour la première fois sur le territoire de la partie européenne de Russie. Les résultats obtenus justifient l'opportunité de tenir compte du taux d'homologie du gène et de la proportion des polymorphismes dans un groupe de bactéries consanguines sur la base de comparaison des séquences nucléotidiques du gène 16S pARN dans l'étude taxonomique de la bactérie *Coxiella* sp. Les résultats de ces recherches ont été utilisés dans la rédaction des indications méthodologiques «Surveillance épidémiologique, diagnostic de laboratoire et prévention de la fièvre Q» (MP 3.1.0281-22).

Ainsi, résultant des recherches génétiques effectuées, ont été obtenues des nouvelles données sur les caractéristiques génétiques des *Coxiella burnetii* et des leptospires pathogéniques. A été justifiée l'opportunité de tenir compte du taux d'homologie du gène et de la proportion des polymorphismes dans un groupe de bactéries consanguines sur la base de comparaison des séquences nucléotidiques du gène 16S pARN dans l'étude taxonomique de la bactérie *Coxiella* sp.

Dans l'optique des nouvelles données sur les caractéristiques biologiques, y compris génétiques, des agents pathogènes de la fièvre Q et des leptospires, peuvent être élaborés les produits perfectionnés du diagnostic de ces infections.

Etude des caractéristiques épidémiologiques de la leptospirose au Vietnam (selon les données des sources littéraires)

Dans le cadre de coopération en élaboration de la méthodologie et accomplissement des travaux communs de recherches scientifiques en diagnostic et étude des caractéristiques épidémiologiques de la leptospirose en République socialiste du Vietnam ont été analysés plus de 100 ouvrages scientifiques consacrés à ce thème, ce qui a rendu possible de publier en langue anglaise un aperçu de littérature «Leptospirose au Vietnam» dans la revue Russian Journal of Infection and Immunity. Il a été démontré que les animaux rongeurs synanthropes (rats), animaux d'élevage (buffles, bovins, porcs) et animaux domestiques (chiens et chats) restent essentielle source de l'infection leptospirosique au Vietnam. L'utilisation des chats, chiens et rats en tant que denrées alimentaires dans ce pays se présente comme particularité substantielle de contamination de la population vietnamienne. Le pays

se caractérise par une grande variété des sérovars des leptospires pathogéniques. Leur «paysage» diffère considérablement d'une région à l'autre, ce qui est dû probablement à l'originalité du climat, à la configuration des reliefs, mais aussi aux activités économiques de la population. Les disparités géographiques et sociales entre les parties nord, centre et sud du Vietnam déterminent en grande mesure les caractéristiques épidémiologiques de la leptospirose servant d'argument à l'utilité d'élaborer des mesures concrètes de prévention de cette infection pour chaque territoire tenant compte de sa spécificité. Le pays se caractérise par un important hypodiagnostic de la leptospirose. En moyenne près de 10% de ses habitants sont infectés par les leptospires, le travail agricole étant, selon toute probabilité, le facteur dominant du risque d'infection. Le taux le plus élevé de séroprévalence aux leptospires y est révélé chez les fermiers. En moyenne les femmes sont plus souvent atteintes de l'infection que les hommes. Près de deux tiers des malades de la leptospirose sont des personnes d'âge actif: 24–60 ans. Chez les enfants les anticorps contre les leptospires sont détectés dans 12,8% de cas. A été établie une diversification bien exprimée des sérovars des leptospires circulant au Vietnam.

Etudes visant la détection des pathogènes véhiculés par les tiques circulant sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest de la Fédération de Russie

Aux fins de la détection des rickettsies du groupe des fièvres à tiques tachetées (FTT) à Saint-Petersbourg ont été analysés les transporteurs au sujet de la présence de l'ADN des rickettsies au moyen de test PCR en régime du temps réel (PCR TR). On a soumis à l'analyse 55 pools de larves des tiques hématophages, cueillis sur les animaux rongeurs. L'ADN des rickettsies y a été détecté dans 12% de pools. Ont été examinés 100 exemplaires de tiques adultes à jeun cueillies depuis la végétation sur la toile. L'ADN des rickettsies a été révélé chez 10% de transporteurs. La vérification des résultats de la PCR TR avec amorces pour la PCR standard, flanquant les fragments du gène *gltA* des rickettsies du groupe FTT, a donné le résultat négatif qui selon toute probabilité trahit l'existence des polymorphismes génétiques dans les points d'hybridation des amorces. Les résultats obtenus témoignent éventuellement de l'éloignement génétique de la population des rickettsies, circulant sur le territoire de la Fédération de Russie, de celle circulant au-delà de ses frontières.

La détection de l'ADN *Coxiella burnetii*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Rickettsia* species et de l'ARN du virus de l'encéphalite à tiques a été effectuée par la méthode de la réaction de polymérisation en chaîne en temps réel avec utilisation des kits de réactants RealBest fabriqués et commercialisés par le Centre de recherches d'Etat en virologie et biotechnologie «Vector». L'examen de 347 tiques à jeun, cueillis à Saint-Petersbourg, a révélé les marqueurs génétiques de *Coxiella burnetii* dans 16 échantillons (4,6%). Les tiques infectés par *Coxiella burnetii* ont été détectés dans deux arrondissements administratifs de la ville — Primorsky et Kourortny. Les tiques, cueillis dans l'oblast d'Arkhangelsk et en République de Carélie, ont été également examinés au sujet de leur infection par *C. burnetii*: les marqueurs génétiques de cet agent ont été révélés sur

2,9% du territoire de l'oblast d'Arkhangelsk et sur 4,5% du territoire de Carélie.

Afin de révéler les ADN des borrélioses de l'ensemble *Borrelia burgdorferi* sensu lato ont été analysés 792 exemplaires de tiques adultes à jeun, cueillies depuis la végétation sur la toile dans l'oblast de Léningrad (au total 540 exemplaires, dont 493 *Ixodes persulcatus* et 47 *Ixodes ricinus*), de même que 203 tiques cueillies dans l'oblast d'Arkhangelsk (137 exemplaires) et en République de Carélie (66 exemplaires). L'ADN des borrélioses a été révélé dans 165 exemplaires (20,8%), dont 42 *Ixodes ricinus* cueillis sur les deux territoires (8 dans l'oblast de Léningrad et 34 à Saint-Petersbourg) et 123 *Ixodes persulcatus* dans l'oblast de Léningrad. Le taux d'infection des tiques par *Borrelia burgdorferi* s.l. a fait 19,71% dans l'oblast d'Arkhangelsk et 15,15% en République de Carélie.

On a effectué l'étude des tiques à jeun au sujet de la présence de l'ADN *Rickettsia* species. Il a été étudié au total 548 exemplaires cueillis depuis la végétation sur la toile dans l'oblast de Léningrad (348 exemplaires dont 322 *Ixodes persulcatus* et 26 *Ixodes ricinus*) et dans l'arrondissement Kourortny de Saint-Petersbourg (200 exemplaires dont 3 *Ixodes persulcatus* et 197 *Ixodes ricinus*). Les marqueurs génétiques de *Rickettsia* species ont été détectés dans 38 échantillons (10,9%), dont 5 *Ixodes persulcatus* cueillis dans l'oblast de Léningrad et 33 *Ixodes ricinus* cueillis sur les deux territoires.

On a poursuivi l'étude de la propagation de l'encéphalite virale à tiques (EVT) dans les foyers naturels de cette infection sur le territoire de Saint-Petersbourg et de ses environs, de même que dans l'oblast d'Arkhangelsk et en République de Carélie. L'examen de 138 *Ixodes ricinus* et 329 *Ixodes persulcatus*, cueillis à Saint-Petersbourg et dans ses environs, n'a pas détecté l'ARN du virus de l'encéphalite à tiques. Le taux de contamination de 67 *Ixodes persulcatus*, cueillis sur la toile en Carélie, a fait 3,0%. Dans l'oblast d'Arkhangelsk 123 *Ixodes persulcatus* ont été cueillis depuis la végétation sur la toile et 19 — cueillis sur les grands mammifères. Le taux de leur contamination par le virus de l'encéphalite à tiques a fait respectivement 3,25% et 5,26%.

Etude de séroprévalence de la population du District fédéral Nord-Ouest de la Fédération de Russie par rapport aux infections «à tiques»

Au cours de cette étude ont été examinés les échantillons des sérums sanguins des habitants apparemment en bonne santé de 6 territoires administratifs situés dans le District fédéral Nord-Ouest de Russie: République de Carélie et République Komi, oblasts d'Arkhangelsk, de Léningrad, de Pskov et ville de Saint-Petersbourg. Les sérums sanguins des donneurs ont été étudiés par la méthode ELISA au moyen des test-systèmes commercialisés (Tabl. 10).

La détection des anticorps contre les pathogènes ixodés chez presque 22% de la population du District fédéral Nord-Ouest de Russie témoigne d'une vaste diffusion des infections dues à ces pathogènes sur le territoire donné.

A été effectuée l'analyse de l'incidence des infections véhiculées par les tiques dans la zone subarctique de la partie européenne de la Russie. Il a été établi que, sur fond de baisse globale d'incidence de l'encéphalite virale à tiques (EVT) en Russie, depuis la fin des années 90 jusqu'à présent au nord de sa partie européenne ont été enregistrés les périodes de croissance et de décroissement d'incidence de l'EVT. En République de Carélie le grand maximum d'incidence a été observé en 2003 ayant atteint le taux de 15,3 par 100 000 habitants, tandis que dans l'oblast d'Arkhangelsk les taux maximum d'incidence ont été enregistrés en 2009–2013. En République Komi la période sexennale des taux maximum d'incidence en moyenne annuelle a été observée en 2009–2014 (1,98 par 100 000 habitants). Au cours des dernières années la république connaît une baisse considérable de cet indice. Ainsi en 2020 il a constitué 0,85 par 100 000 habitants, qui est le taux comparable à celui global pour la Russie (0,66 par 100 000 habitants).

L'analyse de données, effectuée au cours de cette étude consistant en examen d'évolution de l'incidence de l'EVT et du nombre de victimes de morsures de tiques au nord de la partie européenne de la Russie a permis de formuler les conclusions suivantes: le taux d'incidence et le nombre de personnes infectées de l'EVT restent élevés excédant

Tableau 10. Résultats de détection des anticorps contre les pathogènes des infections à tiques chez les habitants du District fédéral Nord-Ouest

Territoire de résidence	Nombre d'échantillons	Échantillons positifs pour les anticorps IgG (nombre de positifs/séroprévalence, %)						
		Anticorps positif à tous les agents pathogènes TBD	Virus de l'encéphalite à tiques	<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	<i>C. burnetii</i>	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>E. chaffeensis/E. muris</i>	Anticorps contre 2 agents pathogènes à déterminer ou plus
République des Komis	659	149/22,6	83/12,6	21/3,2	23/3,5	15/2,3	7/1,1*	15/2,3
République de Carélie	292	59/20,2	38/13,0	9/3,1	9/3,1	1/0,3	2/0,7	5/1,7
AO	103	15/14,6	7/6,8	2/1,9*	1/1,0	0	5/4,9*	1/1,0
PO	98	19/19,4	11/11,2	5/5,1	0	0	3/3,1	2/2,0
LO	92	28/30,4	13/14,1	6/6,5*	3/3,3	4/4,3	2/2,2	3/3,3
Total	1244	270/21,7	152/12,2	43/3,5	36/2,9	20/1,6	19/1,5	26/2,1

Note. Lors de la comparaison des taux de séroprévalence des anticorps IgG contre les agents pathogènes TBD, des différences significatives ont été trouvées: *par rapport à *Borrelia burgdorferi* sensu lato en AO et LO: la valeur correspondante du critère de Fisher est de 1,651 (alors que pour $p = 0,01$ la valeur critique est de 1,450); **par rapport à *E. chaffeensis/E. muris* chez Komi et AO: le critère de Fisher correspondant est de 2,244 (tandis que la valeur critique pour $p = 0,01$ est de 1,450).

ceux moyens de la Russie, marqués pourtant par une tendance baissière dans la dernière décennie. Pourtant le nombre de victimes et le taux de la population mordue par les tiques restent au niveau stable et élevé sans tendance à la baisse. Selon toute probabilité dans l'oblast d'Arkhangelsk et en Carélie ce taux a atteint son maximum

sans perspective de croissance ultérieure. Le taux de la population mordue par les tiques et l'incidence progressent vers le nord occupant de nouveaux territoires dans la zone subarctique, les processus naturels d'évolution du climat restent le principal facteur de la situation épidémiologique observée au nord de la partie européenne de la Russie.

Publications

Articles

1. Evengård B., Destouni G., Kalantari Z., Albihn A., Björkman C., Bylund H., Jenkins E., Koch A., Kukarenko N., Leibovici D., Lemmityinen J., Menshakova M., Mulvad G., Nilsson L.M., Omazic A., Pshenichnaya N., Quegan S., Rautio A., Revich B., Rydén P., Sjöstedt A., Tokarevich N., Thierfelder T., Orlov D. *Healthy ecosystems for human and animal health: Science diplomacy for responsible development in the Arctic // Polar Record.* 2021; 57 (e39): 1–7. doi: 10.1017/S0032247421000589
2. Gnativ B.R., Tokarevich N.K. *Long-term monitoring of tick-borne viral encephalitis and tick-borne borreliosis in the Komi Republic // Russian Journal of Infection and Immunity.* 2021; 11 (4): 707–722. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-ROL-1299
3. Leibovici D.G., Bylund H., Björkman C., Tokarevich N., Thierfelder T., Evengård B., Quegan S. *Associating land cover changes with patterns of incidences of climate-sensitive infections: an example on tick-borne diseases in the Nordic area // Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021; 18 (20): 10963. doi: 10.3390/ijerph182010963
4. Panferova Yu.A., Baimova R.R., Syuzumova E.A., Lomonosova V.I., Lunina G.A., Tokarevich N.K. *Identification of molecular genetic markers of Coxiella burnetii in ticks in forested areas on the territory of St. Petersburg // Sanitary Doctor.* 2021; 8: 15–18. (In Russ.)
5. Tokarevich N.K., Blinova O.V. *Leptospirosis in Vietnam // Russian Journal of Infection and Immunity.* 2022; 12 (6): 1019–1028. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-LIV-1988
6. Tokarevich N.K., Blinova O.V., Stoyanova N.A., Baimova R.R., Siuzumova E.A., Lomonosova V.I., Tronin A.A., Buzinov R.V., Sokolova O.V., Gnativ B.R., Buts L.V., Bubnova L.A., Safonova O.S., Stankevich A.I., Kalinina E.L., Vikse R., Andreassen A.K. *Seroprevalence of tick-borne diseases in the Northwest Federal District of the Russian Federation // Russian Journal of Infection and Immunity.* 2022; 12 (5): 891–901. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-SOT-1953
7. Tokarevich N.K., Tronin A.A., Buzinov R.V., Sokolova O.V., Unguryanu T.N. *Analyzing risks of incidence of tick-borne encephalitis in areas with different climatic and geographical conditions // Health Risk Analysis.* 2021; (4): 127–135. (In Russ.) doi: 10.21668/health.risk/2021.4.14.eng

LABORATOIRE D'ÉTIOLOGIE ET DE CONTRÔLE DES INFECTIONS VIRALES

Chef du laboratoire: Maina Bichurina

Chercheurs: N. Romanenkova, N. Rozaeva, N. Zheleznova, O. Kanaeva, O. Kubar

Surveillance de la poliomyélite et des infections à entérovirus

Le laboratoire subnational de Saint-Pétersbourg pour le diagnostic de la poliomyélite, basé à l'Institut Pasteur, fait partie du réseau de laboratoires de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) pour la poliomyélite. Dans le cadre du programme mondial d'éradication de la poliomyélite, il assure la surveillance de la poliomyélite et de la paralysie flasque aiguë dans les 14 entités constitutives de la Fédération de Russie, étant le centre régional de surveillance de la poliomyélite pour ces territoires.

Le laboratoire reçoit les échantillons primaires de matières biologiques obtenues des enfants de moins de 15 ans atteints du syndrome de paralysie flasque aiguë (PFA), des personnes les contactant, des patients diagnostiqués avec une infection à entérovirus (EV) et des enfants appartenant à des groupes de risque, y compris les enfants des familles de migrants arrivant des zones touchées par la poliomyélite. Le laboratoire assure la surveillance de la circulation des poliovirus et des entérovirus non poliomyélitiques (ENP) dans les différents groupes de population et effectue également des tests sur des échantillons environnementaux pour y détecter les poliovirus et les ENP.

Tous les tests virologiques, qui constituent l'étalon-or du Programme d'éradication de la poliomyélite, et les tests moléculaires sont effectués selon les protocoles de l'OMS et dans le respect des exigences en matière de confinement. Tous les ans le laboratoire effectue des tests professionnels envoyés par l'OMS et se soumet à la procédure d'accréditation de l'OMS. Chaque année, le personnel du laboratoire prépare des rapports résumés relatifs au maintien du statut de territoire libre de la poliomyélite pour 14 territoires administratifs de la Russie. Ces rapports sont envoyés au Service fédéral de Rospotrebnadzor pour préparer le rapport de la Fédération de Russie à l'OMS en vue de la certification de la Russie en tant que pays libre de la poliomyélite.

Entre 2021 et 2022 ont été testés 186 échantillons provenant de patients atteints du syndrome de paralysie flasque aiguë. En 2021 ont été isolés 4 poliovirus (mélange de poliovirus des types 1 et 3 provenant d'un seul patient) et, selon les résultats de la différenciation intra-type, ils ont été classés comme vaccinaux. En 2022 deux ENP du Coxsackievirus A16 ont été isolés à partir d'un cas de PFA. Dans les zones relevant de la responsabilité du Centre n'a été signalé aucun cas de la poliomyélite paralytique associée au vaccin.

Le laboratoire a également continué à tester le matériel provenant d'enfants de familles des migrants à la recherche des poliovirus et des ENP. En 2020 et 2021, en raison de la situation épidémique défavorable pour la poliomyélite dans les États voisins (flambée de la poliomyélite associée au poliovirus circulant dérivé d'une souche vaccinale du type 2 (PVDVc2) à Tadjikistan; cas de PFA causée par le PVDVc2 et isolement du PVDVc2 chez les personnes de contact en

Ukraine), le laboratoire a examiné beaucoup plus d'échantillons de cette catégorie que d'habitude. En 2021, sur le nombre total d'enfants en bonne santé issus de familles des migrants examinés (1176), les enfants de Tadjikistan prédominaient — 1018 (86,6%). Trois poliovirus du type 1, cinq poliovirus du type 2, cinq poliovirus du type 3 et trois mélanges de poliovirus des types 1 et 3 ont été isolés chez les nouveaux arrivants. Tous les poliovirus du type 2, isolés à partir des enfants de Tadjikistan, appartenaient à des souches vaccinales du nouveau vaccin oral contre le poliovirus nVOP2 utilisé à Tadjikistan pour lutter contre la flambée de la poliomyélite causée par le PVDVc2. En outre, 104 ENP de différents types ont été isolés chez des enfants migrants.

En 2022 ont été analysés au total 890 échantillons provenant d'enfants de familles des migrants. Ont été détectés onze poliovirus du type 1, onze poliovirus du type 3, cinq mélanges de poliovirus des types 1 et 3 et trente-cinq ENP. Sur 14 territoires contrôlés par le Centre les poliovirus du type 2 n'ont pas été isolés. La plupart des enfants testés venaient de Tadjikistan (597), des Républiques de Tchétchénie et de Daghestan (149) et d'Ukraine (97). En 2021 en Ukraine seuls 53% d'enfants ont bénéficié de la couverture vaccinale contre la poliomyélite, c'est pourquoi une grande attention a été accordée à l'examen des enfants d'Ukraine et des Républiques populaires de Lougansk et de Donetsk. La différence entre le nombre d'ENP, isolés en 2021 et en 2022, s'explique par la période d'échantillonnage: en 2021, la plupart d'échantillons ont été prélevés en septembre-décembre (1074 échantillons, 91%), alors qu'en 2022, au contraire, la majeure partie d'échantillons a été obtenue en janvier-juin (650 échantillons, 73%), lorsque la circulation des entérovirus dans les zones au climat tempéré est au niveau bas.

L'évaluation de l'intensité de l'immunité de la population contre les poliovirus est un élément important de la surveillance visant à confirmer que la Fédération de Russie est le territoire libre de la poliomyélite (conformément aux directives méthodologiques MU 3.1.2943-11). Un schéma séquentiel de la vaccination antipoliomyélitique est actuellement utilisé en Fédération de Russie conformément au calendrier national de vaccination, les enfants recevant les deux premières vaccinations avec le vaccin antipoliomyélitique inactivé, le vaccin antipoliomyélitique oral étant utilisé pour les quatre vaccinations suivantes.

On poursuit les études visant l'intensité de l'immunité contre les poliovirus dans la population des enfants sur un des 14 territoires contrôlés. Pendant la période de quatre ans (2017–2021) on a examiné les sérums sanguins obtenus des enfants de deux groupes indicateurs de 3–4 ans et 16–17 ans (Tabl. 11). Les données sur l'absence d'anticorps contre le poliovirus du type 2 chez certains enfants vaccinés avec le vaccin bivalent contre le poliovirus témoignent d'une baisse de l'immunité collective contre le poliovirus du type 2 qui se poursuit après son élimination du vaccin

Tableau 11. Résultats des analyses du sérum sanguin pour la recherche d'anticorps contre les poliovirus chez les enfants sur le territoire concerné en 2017–2021

Type de vaccin	Année	Nombre d'enfants	Pourcentage de sérums séronégatifs au poliovirus (PV)					
			Enfants de 3 à 4 ans			Enfants de 16 à 17 ans		
			PV 1	PV 2	PV 3	PV 1	PV 2	PV 3
VPOb	2017	204	0	0	2,0	0	0	13,0
	2018	202	0	1	2	1	2	8
	2019	200	0	2	11	0	6	19
	2021	175	0	8	2,7	0	3	20

oral contre le poliovirus. L'absence d'anticorps contre le poliovirus du type 2 chez les enfants vaccinés est un signal alarmant et à l'avenir le laboratoire poursuivra la surveillance de l'intensité de l'immunité contre ce type de virus dans les groupes indicateurs.

Entre 2021 et 2022, plus de 5000 échantillons provenant des patients atteints d'infections à entérovirus ont été testés sur 14 territoires du Centre. L'incidence des différentes formes d'infection à entérovirus en 2021 est restée faible par rapport à 2019, avec les ratios de 0,5 et 9,06 par 100 000 habitants, respectivement. En 2021, la plupart des cas concernaient des enfants (97,6%). Sur la plupart des territoires prédominaient les formes exanthématiques de la maladie. Sur deux territoires seulement, les oblasts de Vologda et de Saratov, le taux de la forme la plus grave d'infection à entérovirus qui est la méningite à entérovirus, excédait 40%. Des entérovirus non poliomyélitiques ont été isolés dans 1,5% du nombre total d'échantillons testés. Les poliovirus dérivés d'une souche vaccinale ont été rarement isolés (0,1%) chez des enfants récemment vaccinés avec le vaccin oral contre le poliovirus. Dans la plupart des cas (54,1% du nombre total de virus isolés), les entérovirus Coxsackievirus A de différents types ont été isolés chez les patients atteints d'infections à entérovirus. Les entérovirus Coxsackievirus B1–6 ont été isolés dans 24,6% des cas. Les autres entérovirus isolés appartenaient aux différents types d' ECHO (6, 11, 25), et deux souches appartenaient à EV71 et 99.

En 2022, l'incidence de l'infection à entérovirus a repris la croissance atteignant le ratio de 9,9 par 100 000 habitants. Les taux d'incidence les plus élevés ont été enregistrés dans l'oblast de Mourmansk et dans la République Komi. Les formes exanthématiques d'infection à entérovirus prédominaient toujours sur les territoires du Centre. Le taux d'isolement des ENP a augmenté pour atteindre 2,5% du nombre total d'échantillons testés en 2022, tandis que celui d'isolement des poliovirus était de 0,5%. Parmi les entérovirus isolés, le Coxsackievirus A des différents types constituait la majorité (62,9%), le Coxsackievirus B, l'ECHO 6 et l'ECHO 15 ont également été isolés. Deux isolats de Coxsackievirus A10 provenant de patients atteints d'une infection à entérovirus du même territoire présentaient déjà, lors de l'infection primaire, un effet cytopathogène caractéristique des poliovirus sur les cellules de la lignée spécialisée L20B (avec un récepteur intégré pour les poliovirus), qui est utilisée pour différencier les ENP des poliovirus. D'autres isolats du Coxsackievirus A10 précédemment isolés en laboratoire n'ont pratiquement pas eu d'effet cytopathogène sur les cellules L20B. Les isolats provenant de patients des différentes familles étaient complètement identiques au niveau du fragment VP1 déchiffré du génome. Lorsque

le diagnostic PCR a été réalisé avec des amorces typospécifiques aux poliovirus, ceux-ci se sont comportés comme des ENP, de sorte que les diagnostics PCR permettent aux laboratoires d'identifier correctement ces virus comme étant non poliomyélitiques. Néanmoins, ces phénomènes doivent faire l'objet d'un examen plus approfondi.

Un élément clé de la surveillance de la circulation des poliovirus et des ENP dans la population au cours de la phase finale du Programme d'éradication de la poliomyélite est la surveillance des sites environnementaux par l'analyse d'échantillons d'eaux usées. Le laboratoire sous-national de l'OMS pour la poliomyélite procède depuis de nombreuses années à la détection des poliovirus et des entérovirus non poliomyélitiques dans les échantillons prélevés dans l'environnement.

Entre 2021 et 2022, 3590 échantillons d'eaux usées ont fait l'objet de tests virologiques sur 14 territoires de la région. La structure des entérovirus isolés à partir d'échantillons d'eaux usées était dominée par les poliovirus, principalement de type 3 (42% et 55,3% en 2021 et 2022 respectivement). La forte proportion de poliovirus dans les échantillons d'eaux usées est liée à la vaccination systématique continue des enfants avec le vaccin oral contre le poliovirus (Fig. 4).

Selon les résultats de la différenciation intra-typique tous les poliovirus ont été classés comme poliovirus dérivés d'une souche vaccinale. Aucun poliovirus du type 2 n'a été isolé. Le Coxsackievirus B dominait parmi les entérovirus non poliomyélitiques: sa proportion était de 20% et de 14,9%. Ces virus peuvent être un facteur étiologique de la méningite entérovirale et sont également caractérisés par un portage asymptomatique. Contrairement aux échantillons provenant de patients atteints d'infection à entérovirus, les entérovirus Coxsackievirus A ont été détectés en faible quantité (6% en 2021 et 2,1% en 2022) dans les échantillons d'eaux usées. Des entérovirus ECHO de différents types ont été détectés dans 22% des échantillons en 2021 et 14,9% en 2022. Les entérovirus de type ECHO 30 n'ont pas été détectés dans les échantillons d'eaux usées en 2022.

Dans la phase de post-certification de l'éradication mondiale de la poliomyélite, l'amélioration de la surveillance de la poliomyélite et de la paralysie flasque aiguë est cruciale. L'intensification de la surveillance virologique des patients atteints de la PFA, associée à une surveillance complémentaire essentielle, telle que la surveillance des enfants à risque, des infections à entérovirus et de l'environnement, contribuera à maintenir le statut de certains territoires de Russie comme libres de la poliomyélite, tout comme aussi l'ensemble du pays, et à garantir de cette façon la mise en œuvre du Programme mondial d'éradi-

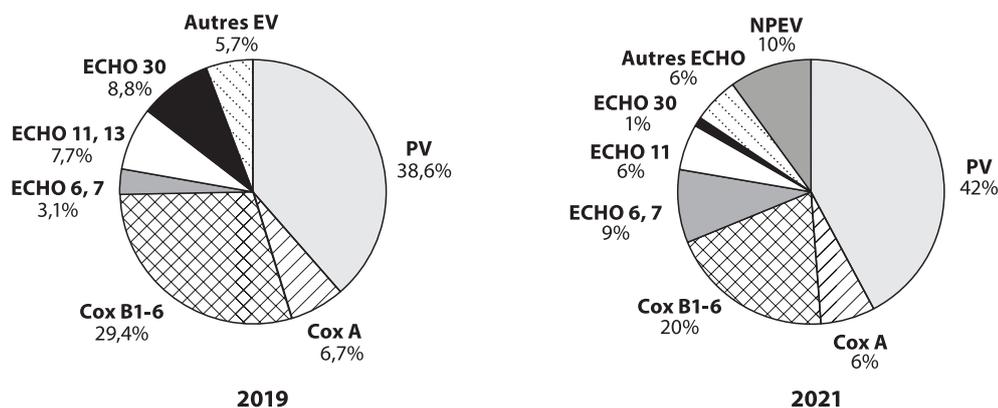


Figure 4. Détection d'entérovirus dans des échantillons d'eaux usées dans les 14 territoires du centre (2019, 2021)

cation de la poliomyélite. La connaissance des schémas de circulation des ENP au sein de la population sur différents territoires à différentes périodes, et de l'évolution des entérovirus permettra de comprendre les régularités et les caractéristiques spécifiques du développement du processus épidémique de cette infection et contribuera à améliorer la prévention de l'infection à entérovirus afin de réduire l'incidence de la maladie.

Dans le cadre de la coopération avec le réseau international des instituts Pasteur, le laboratoire coopère activement avec l'Institut Pasteur de Ho Chi Minh Ville (Vietnam). Dans le cadre du projet «Détection des entérovirus non poliomyélitiques dans les matériels biologiques provenant de patients atteints d'une infection à entérovirus», en collaboration avec des collègues vietnamiens, des entérovirus isolés chez les patients atteints de l'infection à entérovirus ont été étudiés et une analyse des caractéristiques de la circulation des différents types d'entérovirus en Russie et au Vietnam a été réalisée.

Pendant de nombreuses années, la forme la plus courante d'infection à entérovirus au Sud-Est Asiatique est la fièvre aphteuse, dont les principaux symptômes sont une éruption cutanée sur les mains et les pieds et une ulcération de la muqueuse buccale. Dans les pays chauds l'infection se complique souvent de pathologies neurologiques ou cardiovasculaires, de sorte que le diagnostic et la prévention de l'infection à entérovirus constituent une tâche urgente pour le Vietnam.

Pour étudier 87 souches d'entérovirus isolées à partir des patients atteints d'une infection à entérovirus au Sud Vietnam ont été utilisées des méthodes virologiques et moléculaires. Les séquences nucléotidiques du génome VP1 de 23 souches de Coxsackievirus A10 et de 2 souches de Coxsackievirus A2 ont été déchiffrées. Les séquences ont été déposées dans la base de données internationale GenBank. Une analyse comparative des virus Coxsackievirus A10 circulant dans les deux pays a été réalisée. Les entérovirus de ce type représentent 23% de tous les entérovirus isolés chez des patients atteints de la fièvre aphteuse au Sud Vietnam. La plupart des souches virales vietnamiennes isolées appartenaient au génotype F, principalement au sous-génotype F3; une souche isolée chez un patient atteint d'une maladie grave appartenait au sous-génotype F1 (Fig. 5).

La comparaison des souches russes et vietnamiennes de Coxsackievirus A10 utilisant l'analyse phylogénétique a révélé que les souches isolées dans l'oblast de Mourmansk appartenaient au génotype F et les souches isolées

dans l'oblast d'Arkhangelsk au génotype C. Les souches russes isolées dans les différentes périodes ont montré une affinité avec divers isolats étrangers. Des souches apparentées aux souches russes ont été identifiées dans les pays du Sud-Est Asiatique et du bassin du Pacifique. Cette hétérogénéité génétique des souches russes de CV-A10 pourrait indiquer que le virus a été introduit en Fédération de Russie à plusieurs reprises au cours de la dernière décennie.

Vingt-six souches d'entérovirus isolées au Sud Vietnam chez des patients atteints du syndrome de paralysie flasque aiguë ont également été étudiées. Ont été isolées les souches suivantes d'ENP: 1 CVA4, 1 CVB1, 3 CVB3, 15 EVA-71. Les types de ces virus ont été identifiés par séquençage. Le séquençage des souches de Coxsackievirus A2 isolées chez des enfants malades atteints du syndrome de paralysie flasque aiguë a également été réalisé. L'association des souches de Coxsackievirus A2 avec la clinique de la paralysie flasque aiguë n'avait pas été signalée auparavant en Russie. La comparaison des souches russes et vietnamiennes d'entérovirus non poliomyélitiques se poursuit. Au cours de deux ans les séquences nucléotidiques de 39 souches de Coxsackievirus A, Coxsackievirus B, ECHO, EVA-71 (OL381925-OL381924 et OP948136-OP948149) ont été déposées dans GenBank et peuvent être utilisées par d'autres chercheurs travaillant sur le thème de l'infection à entérovirus.

Du 29 novembre au 3 décembre 2021 a été organisé le séminaire de formation sur les «Méthodes virologiques et moléculaires pour la détection des entérovirus non poliomyélitiques dans les échantillons provenant de patients atteints d'une infection à entérovirus et dans les échantillons environnementaux». 40 participants s'y sont connectés en ligne de Hanoi et de Ho Chi Minh et encore 6 participants de l'Institut Pasteur de Ho Chi Minh se sont rendus à Saint-Petersbourg pour participer en personne au séminaire et discuter du sujet qui les intéressait.

En 2021–2022, le Dr T.T. Nguyen de l'Institut Pasteur de Ho Chi Minh a mené sa recherche de thèse sur le thème «Incidence et étiologie de l'infection à entérovirus dans le Sud Vietnam». Lors de ses visites à Saint-Petersbourg ont été organisées les consultations avec son directeur de thèse. La structure de la thèse a été discutée et préparés les tableaux et autres documents illustratifs. Le chapitre A a été écrit le chapitre «Matériel et méthodes» de la thèse et réalisée une analyse de la situation épidémique de la PFA depuis 2010 jusqu'à 2021. Vingt-deux souches de poliovirus et 249 souches d'ENP ont été isolées, et les patients ont été analysés en fonction de leurs caractéristiques

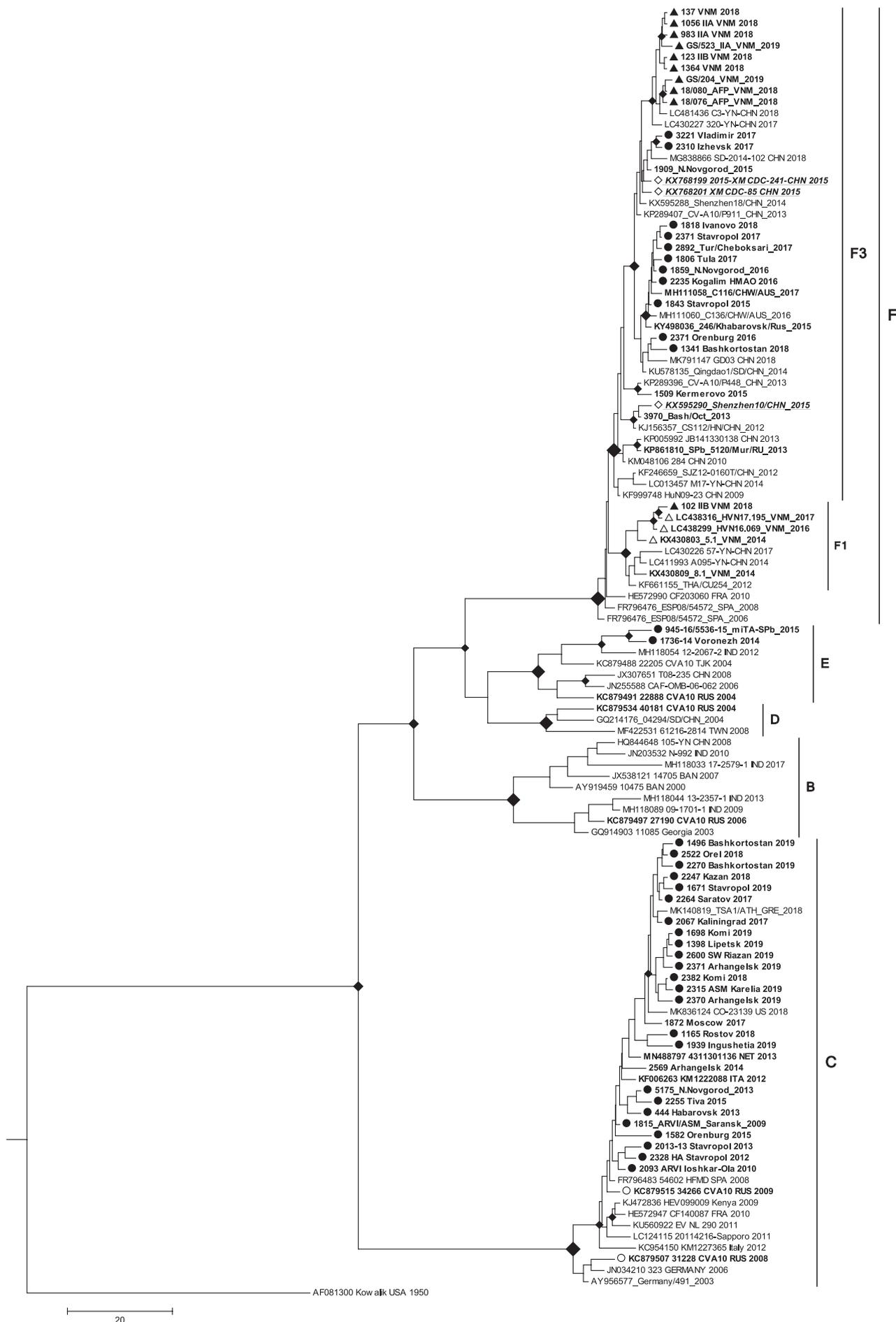


Figure 5. Arbre phylogénétique réalisé à partir de l'analyse du fragment VP1 du génome du Coxsackievirus A10

démographiques et de leur statut vaccinal. Ont été analysés les différents cas d'infection à entérovirus sous deux formes cliniques circulant de 2012 à 2021. On a analysé séparément les cas de l'infection à entérovirus qui se sont présentés cliniquement sous forme de méningite à entérovirus et/ou méningo-encéphalite; à partir de ces patients ont été isolées 244 souches d'ENP, appartenant à trois espèces d'EV (A, B et D) et à 23 types. 3700 d'ENP, appartenant à trois espèces (A, B et C) et à 13 types, ont été isolés chez les patients atteints d'une infection à entérovirus et présentant un exanthème viral. L'entérovirus EVA-71 a été le plus fréquemment isolé dans les deux formes cliniques d'infection à entérovirus. Le virus EVA-71 des deux génotypes circule le plus largement dans la population sud-vietnamienne, provoquant des maladies avec différents symptômes cliniques (Fig. 6).

Il a été établi qu'en dehors de l'EVA-71 dans la clinique de la méningite ont dominé les entérovirus de type B (CVB3, B4, B5, ECHO 11, 9, 6 et 30), tandis que les virus de type A (CVA10, A16, A4) ont dominé dans la forme exanthématique de l'infection à entérovirus. Une analyse multivariée a été réalisée sur l'influence des facteurs climatiques, démographiques, socio-hygiéniques et géographiques sur l'incidence de l'infection à entérovirus, en particulier la résidence d'environ d'un quart de la population du Vietnam dans le delta du Mékong. Le Mékong traverse cinq pays du Sud-Est Asiatique et charrie les eaux usées de tous ces pays vers le Sud Vietnam, ce qui se traduit par les taux les plus élevés de l'infection à entérovirus dans les provinces sud du pays.

En 2022 a été publié en langues russe et vietnamienne un support de formation portant le titre «Amélioration

de la surveillance épidémiologique et du diagnostic de laboratoire des infections à entérovirus dans la République socialiste du Vietnam». Cet ouvrage présente des données sur l'analyse de la morbidité de l'infection à entérovirus au Sud Vietnam et dresse une caractéristique des agents étiologiques des infections à entérovirus. Y sont formulées les recommandations pour améliorer la surveillance épidémiologique et le diagnostic de laboratoire en République socialiste du Vietnam. Cet ouvrage est d'une grande utilité pour un vaste éventail des professionnels de la santé.

Mise en oeuvre de la surveillance épidémiologique de la rougeole et de la rubéole dans la période post-pandémique

Le Centre régional de surveillance de la rougeole et de la rubéole de l'Institut Pasteur de Saint-Petersbourg supervise 11 territoires du District fédéral Nord-Ouest. Le laboratoire sous-national de virologie du Centre fonctionnant dans le cadre du Laboratoire d'étiologie et de contrôle des infections virales, accrédité par l'OMS, effectue des tests de routine sur les sérums sanguins des patients présentant les symptômes de suspicion de la rougeole et de la rubéole, ainsi que la surveillance des maladies exanthématiques.

En 2021, le laboratoire a testé 24 échantillons de sérum sanguin des patients atteints de la rougeole, 21 échantillons de sérum des patients atteints de rubéole et 239 échantillons de sérum des patients atteints des maladies exanthématiques. Dans le contexte d'une situation épidémique défavorable, provoquée par la nouvelle infection

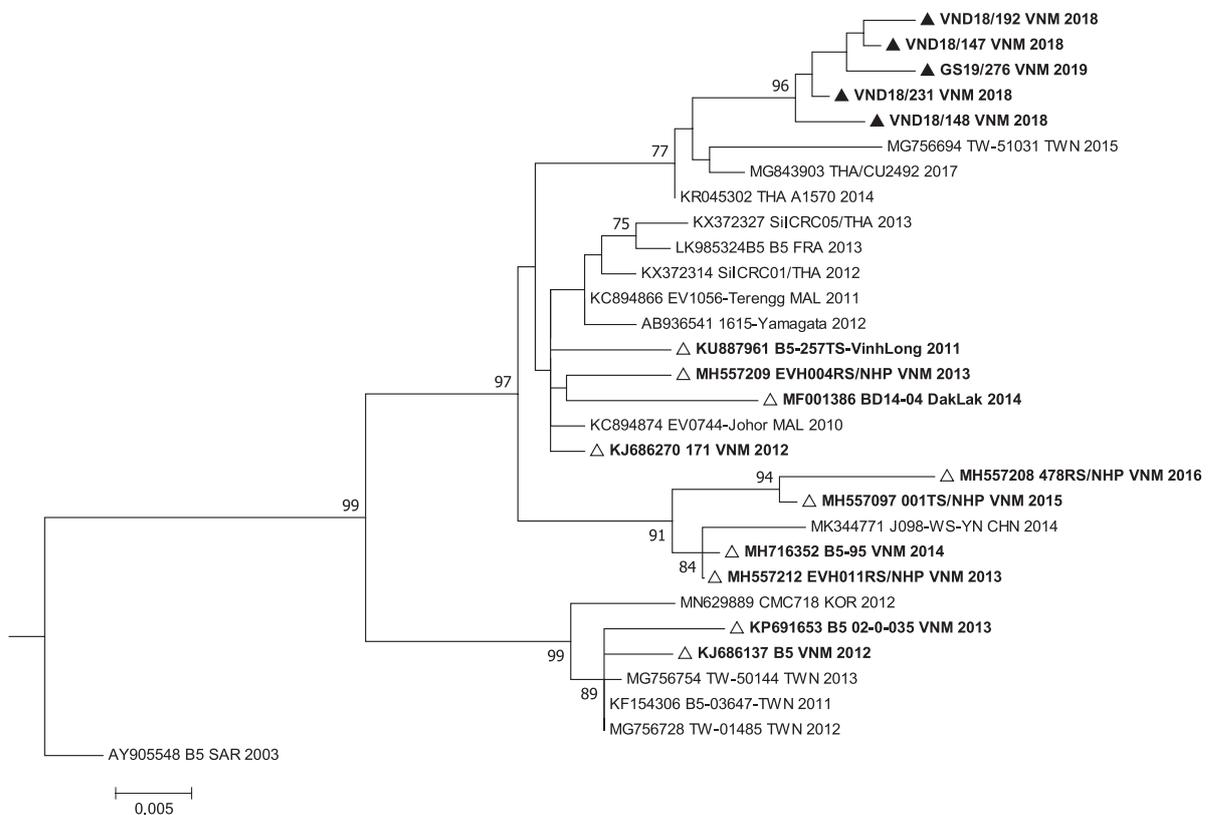


Figure 6. Arbre phylogénétique réalisé à partir de l'analyse du fragment VP1 du génome des souches EVA-71 appartenant au génotype B5

Par l'icône ▲ sont désignées les souches, isolées au Vietnam.

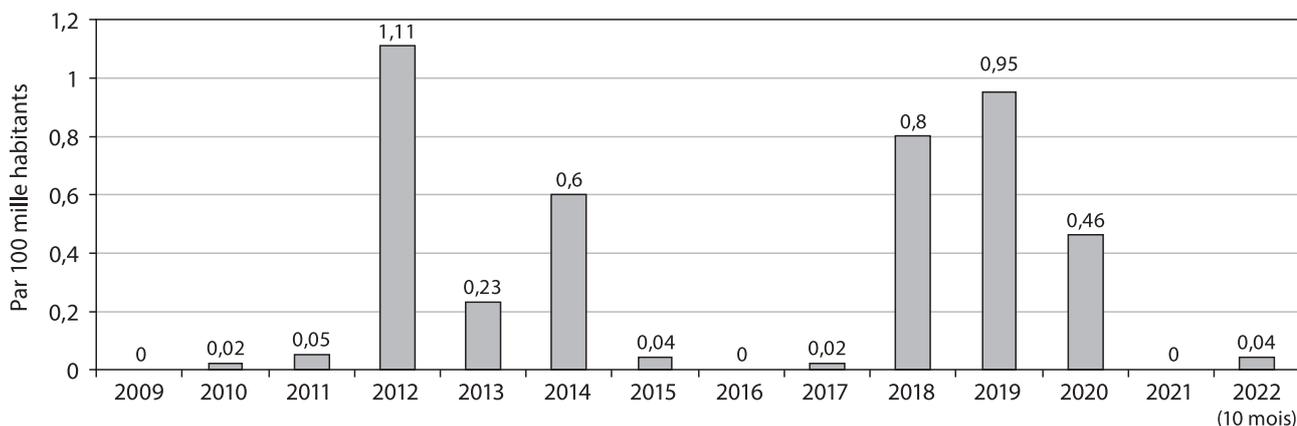


Figure 7. Incidence de la rougeole sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest en 2009–2022

a coronavirus, et les mesures restrictives, sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest en 2021 n'a été révélé aucun cas de la rougeole (Fig. 7).

En 2022 ont été soumis au test de laboratoire 23 échantillons de sérum sanguin de patients atteints de la rougeole, 15 échantillons de patients atteints de la rubéole et 244 échantillons de patients atteints des formes exanthématiques de la maladie. Suite à la levée des restrictions anti-épidémiques liées à la diffusion de COVID-19, en 2022 ont été révélés 7 cas de rougeole trahissant le taux d'incidence de 0,04 par 100 000 habitants. Les cas de la rougeole ont été enregistrés sur deux territoires du District fédéral Nord-Ouest: un à Saint-Pétersbourg et six dans l'oblast de Leningrad.

Dans tous les cas, la source d'infection se présentait sous l'aspect des ressortissants de Tadjikistan arrivés dans le District fédéral Nord-Ouest entre mai et novembre 2022. Suite à son importation, un foyer de l'infection s'est constitué qui, par la suite, s'est propagée de manière suivante: se sont trouvés contaminés 3 enfants de Tadjikistan et 2 enfants non vaccinés pour des raisons médicales, qui étaient en contact avec eux, tous résidents de l'oblast de Leningrad.

Entre 2019 et 2022, les adultes et les enfants de moins de 18 ans étaient malades de manière presque identique: la proportion d'adultes parmi les malades était de 54%. Selon le statut vaccinal, les personnes non vaccinées et celles, dont les antécédents vaccinaux étaient inconnus, représentaient 92,65%; les personnes vaccinées et revaccinées étaient malades dans 7,35% des cas.

Tous les cas détectés de la rougeole ont été confirmés par l'examen de laboratoire; les isolats du virus de la rougeole et les résultats de génotypage ont été obtenus dans tous les cas. En 2020, un foyer à Saint-Pétersbourg a été causé par le génotype du virus de la rougeole D8 Gir Somnath; tous les autres cas de la rougeole à Saint-Pétersbourg et dans l'oblast de Leningrad ont été attribués à un seul génotype: B3 Kaboul. Le dernier cas de la rougeole dans la région a été enregistré en mai 2020. Depuis mai 2022, tous les cas révélés à Saint-Pétersbourg et dans la région de Leningrad étaient dus au virus de la rougeole du génotype D8 (code de séquence MeaNS 8248), qui continue à circuler dans la République de Tadjikistan.

Surveillance de l'incidence de la rubéole sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest

En 2021–2022 sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest n'a été signalé aucun cas de la rubéole (Fig. 8).

Les travaux sont actuellement en cours pour détecter la rubéole chez les femmes enceintes et les cas de syndrome de la rubéole congénitale. En 2021–2022 ont été examinées 3 femmes enceintes avec suspicion de cette infection ou ayant eu le contact avec un cas de rubéole confirmé par l'examen de laboratoire. Le diagnostic «rubéole» a été exclu chez toutes ces femmes (absence de dynamique des IgM, présence des IgG de forte avidité).

Globalement, sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest on n'observe pas de circulation endémique du virus

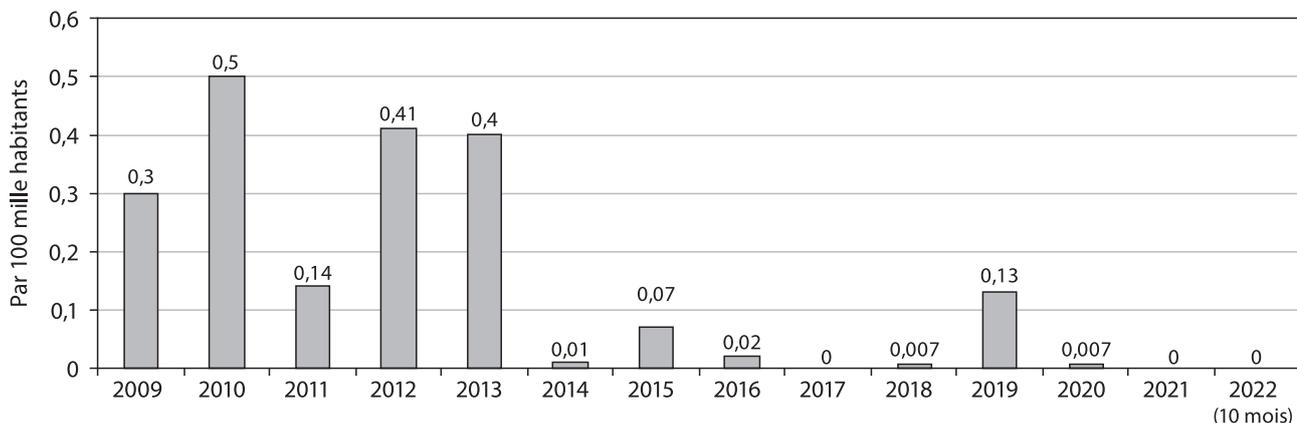


Figure 8. Incidence de la rubéole dans le District fédéral Nord-Ouest en 2009–2022

de la rougeole. La faible incidence de la rubéole dans le District fédéral Nord-Ouest en 2017–2022 et les données provenant de tests moléculaires adéquats, effectués sur le matériel biologique, obtenu de patients, indiquent que sur les territoires de ce district on assiste à l'élimination de la rubéole.

Commentaire éthique à la prophylaxie vaccinale de COVID-19 (la composante éthique de la surveillance du processus épidémique)

On a réalisé une analyse systémique du contenu éthique de la prophylaxie vaccinale de COVID-19. L'urgence du problème réside dans le fait que le concept de l'éthique vaccinale a été introduit dans la législation et la palette terminologique des documents réglementaires. Il est présent dans les publications scientifiques et les médias étant devenu un sujet de discussion entre les communautés civile et scientifique, les autorités laïques et les confessions religieuses et fait l'objet d'une attention soutenue de la part des principaux organismes internationaux: UNESCO, ONUSIDA, OMS, CDC et autres.

Une évaluation de la composante éthique des différentes étapes de la vaccination a mis en évidence un certain nombre de points critiques, parmi lesquels le déficit de connaissances scientifiques sur COVID-19 et les données insuffisantes sur les conditions technologiques de production des vaccins, sur leurs efficacité et sécurité, ainsi que sur les bases pratiques de leur application. Le compromis éthique s'est manifesté en la promotion des vaccins, accompagnée des critiques incontrôlées des vaccins par les concurrents, création d'un stéréotype de méfiance et de scepticisme et d'une pseudo interprétation du concept des droits et libertés, qui a exclu du champ de signification la nature objective de la condition de «double loyauté» et de la responsabilité sociale de l'État, inscrite dans la Constitution, de restreindre les droits et libertés d'un individu pour la protection des droits et des intérêts légitimes de la société.

La recherche s'applique à adapter d'une manière innovante le concept éthique de la vaccination contre COVID-19, afin de stabiliser l'équilibre entre la confiance et la justice sociale. Il convient d'introduire dans la pratique de la prise de décision en matière de vaccination certains principes éthiques: nécessité, proportionnalité, distinction, légalité, restriction, humanité, surveillance, prévention, correction et responsabilité pour infraction.

Les principes de nécessité et de proportionnalité visent à définir l'échelle, la durée et l'intensité de l'utilisation des vaccins spécifiques, en tenant dûment compte de la menace existante et de la dynamique des conséquences épidémiologiques et sociales. Le principe de distinction vise à établir les critères objectifs pour l'administration personnalisée des vaccins ayant des mécanismes d'action différents appliqués à des populations différentes en fonction des risques cliniques, épidémiologiques, sociaux et professionnels.

Les principes de légalité et de restriction exigent le respect de la législation en vigueur relative à l'organisation de la vaccination, réduisant au minimum les restrictions des droits et libertés qui ne sont pas justifiées par la loi et le bon sens. Le principe d'humanité consiste à respecter et à protéger les personnes considérées comme vulnérables en raison de leurs caractéristiques sociales, psychologiques, administratives, politiques et de leur âge. Les principes de surveillance, de prévention, de correction et de responsabilité impliquent le suivi dynamique des effets de la vaccination en vue d'obtention rapide des informations nécessaires et d'une rectification logistique, y compris la possibilité de substitution/suspension pour prévenir et minimiser les risques imprévus et responsabiliser les acteurs sociaux.

En conclusion générale, il convient de souligner que la mise en œuvre harmonieuse du système des repères éthiques proposé devrait contribuer à la mise en place d'une plateforme scientifiquement fondée et moralement acceptable permettant de renforcer la confiance du public et son adhésion volontaire à l'idée de l'utilité de la vaccination.

Publications

Articles

1. Basina V.V., Esaulenko E.V., Novak K.E., Bichurina M.A., Lyalina L.V. *Clinical and epidemiological features of measles by adults in modern period // Journal Infectology*. 2021; 13 (2): 70–78. (In Russ.) doi: 10.22625/2072-6732-2021-13-2-70-78
2. Bichurina M.A., Filipović-Vignjević S., Antipova A.Yu., Bančević M., Lavrentieva I.N. *A herd immunity to measles and rubella viruses in the population of the Republic of Serbia // Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (1): 171–176. doi: 10.15789/2220-7619-TTO-1496
3. Bichurina M.A., Zheleznova N.V., Sharova A.A. *Measles and rubella in the North-West of Russia in period of elimination // Journal Infectology*. 2021; 13 (4): 106–112. doi: 10.22625/2072-6732-2021-13-4-106-112
4. Gladkikh A., Dedkov V., Sharova A., Klyuchnikova E., Sbarzaglia V., Kanaeva O., Arbuzova T., Tsyganova N., Popova A., Ramsay E., Totolian A. *Epidemiological features of COVID-19 in Northwest Russia in 2021 // Viruses*, 2022; 14 (5): 931. doi: 10.3390/v14050931
5. Gladkikh A., Dolgova A., Dedkov V., Sbarzaglia V., Kanaeva O., Popova A., Totolian A. *Characterization of a novel SARS-CoV-2 genetic variant with distinct spike protein mutations // Viruses*. 2021; 13 (6): 1029. doi: 10.3390/v13061029
6. Golitsyna L.N., Zverev V.V., Ponomareva N.V., Romanenkova N.I., Nguyen T.T.T., Kanaeva O.I., Selivanova S.G., Leonov A.V., Rozaeva N.R., Kashnikov A.Yu., Bichurina M.A., Novikova N.A. *Molecular epidemiological monitoring circulation of Coxsackievirus A10 // Russian Journal of Public Health and Life Environment*. 2021; (4): 43–49. doi: 10.35627/2219-5238/2021-337-4-43-49
7. Ivanova O.E., Shakaryan A.K., Morozova N.S., Vakulenko Y.A., Ereemeeva T.P., Kozlovskaya L.I., Baykova O.Y., Shutova E.Y., Mikhailova Y.M., Romanenkova N.I., Rozaeva N.R., Japaridze N.I., Novikova N.A., Golitsyna L.N., Zverev V.V., Lukashev A.N. *Cases of acute flaccid paralysis associated with Coxsackievirus A2: finding of 20-year surveillance in the Russian Federation // Microorganisms*. 2022; 10 (1): 1–12.
8. Kubar O.I. *Vaccination against COVID-19, as a challenge to bioethics // Pedagogy and psychology in medicine: problems, innovations, achievements*. Ed. by N.P. Vanchakova. Moscow: Pero Publishing House, 2022: 85–88.
9. Kubar O.I., Bichurina M.A., Romanenkova N.I. *Second ethical comments towards COVID-19 (one year later) // Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (1): 17–24. doi: 10.15789/2220-7619-SEC-1645

10. Kubar O.I., Bichurina M.A., Romanenkova N.I. The concept of informed consent: from historical roots to the red line of modern crisis situations in infectious pathology // *Medical Ethics*. 2021; 1: 56–63.
11. Kubar O.I., Bichurina M.A., Romanenkova N.I. The value of informed consent in modern crises of infectious diseases // *EC Microbiology*. 2021; 11 (17): 11–12.
12. Kubar O.I., Mikirtichan G.L., Vladimirova E.Yu., Taghi-zade T.G., Mamedova F.M., Gadzhieva U.K., Davtyan S.A., Mavsisyan F.M., Tilekeeva U.M., Gramma R.K., Nasyrova F.Yu., Tishkova F.H., Muhamedova Z.M., Atamuradova F.S. The third ethical commentary to COVID-19 (two years later) — vaccination, solidarity, and trust // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (2): 222–238. doi: 10.15789/2220-7619-THC-1875
13. Lavrentieva I.N., Bichurina M.A., Antipova A.Yu., Camara J., Hoang M., Bancevic M.D., Zheleznova N.V., Egorova S.A., Totolian A.A. A herd immunity to rubella virus in selected geographical regions // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (5): 902–908. doi: 10.15789/2220-7619-AHI-2015
14. Lavrentieva I.N., Bichurina M.A., Antipova A.Yu., Camara J., Magassouba N'F., Egorova S.A., Totolian A.A. 2019–2020 measles in the Republic of Guinea: epidemic features and herd immunity // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (6): 1179–1184. doi: 10.15789/2220-7619-MIT-1739
15. Lavrentieva I.N., Hoang M., Antipova A.Yu., Bichurina M.A., Totolian A.A. Revealing measles cases in Vietnam during the spread of a new coronavirus infection // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (1): 105–112. doi: 10.15789/2220-7619-RMC-1806
16. Romanenkova N.I., Golitsyna L.N., Nguyen T.T.T., Ponomareva N.V., Leonov A.V., Kanaeva O.I., Zverev V.V., Selivanova S.G., Rozaeva N.R., Luong M.T., Bichurina M.A., Novikova N.A. Epidemiological and etiological aspects of enterovirus infection in Russia and Vietnam // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (5): 905–916. doi: 10.15789/2220-7619-EAE-1791
17. Romanenkova N.I., Rozaeva N.R., Bichurina M.A., Kanaeva O.I., Chkhynchzheriya I.G., Shishkina L.V., Madoyan A.G., Valdaitseva N.V. Epidemiological aspects of enterovirus infection in the Russian Federation during the period of 2018–2019 // *Journal Infectology*. 2021; 13 (1): 108–116. (In Russ.) doi: 10.22625/2072-6732-2021-13-1-108-116
18. Romanenkova N.I., Rozaeva N.R., Bichurina M.A., Kanaeva O.I., Galimov R.R., Cherkasskaya I.V., Shishko L.A. Features of the epidemic process and etiology of enterovirus infection in some territories of Russia // *Epidemiological surveillance over priority infections: new threats and challenges. Collection of research papers of the All-Russian Research to Practice Conference with international participation dedicated to the 100th anniversary of Academician I.N. Blokhina*. Ed. by N.N. Zaitseva. Nizhny Novgorod, 2021: 188–192.
19. Voloshchuk L.V., Go A.A., Pisareva M.M., Guzhov D.A., Bichurina M.A., Petrova P.A. Clinical and laboratory characteristics of influenza infection in hospitalized adult patients during the 2018–2019 epidemic season // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (1): 191–196. doi: 10.15789/2220-7619-CAL-1467
20. Vu T.L., Romanenkova N.I., Luong T.M., Nguyen T.T.T., Nguyen B.C., Huynh K.M., Le K.T., Pham V.H., Ponomareva N.V., Leonov A.V., Zverev V.V., Makhova M.A., Selivanova S.G., Do T.H., Novikova N.A., Golitsyna L.N. Study of the genetic diversity of enteroviruses circulating in the Socialist republic of Vietnam // *Journal of Tropical Science and Technology*. 2022; 26 (12): 110–117. (In Vietnamese)

LABORATOIRE DE VIROLOGIE EXPÉRIMENTALE

Chef du laboratoire: I.N. Lavrentieva

Chercheurs: V. Zarubaev, A. Slita, A. Antipova, A. Volobueva, E. Sinegubova, S. Belyaevskaya, A. Garshinina, Ya. Esaulkova, R. Kadyrova, Ya. Orshanskaya

En 2021–2022 les études au laboratoire de virologie expérimentale ont été menées sur deux thèmes de recherche:

I. Thème: «Elaboration de nouveaux produits de prévention et de traitement des maladies virales à impact social».

II. Thème: «Optimisation du système de surveillance de la rougeole et de la rubéole à l'étape de leur élimination».

Elaboration des nouveaux produits de prévention et de traitement des maladies virales à impact social

Exécutants: V. Zarubaev, A. Slita, Ya. Esaulkova, A. Volobueva, E. Sinegubova, S. Belyaevskaya, A. Garshinina, Ya. Orshanskaya

La période considérée a été marquée par la poursuite des travaux de recherche et conception de nouveaux inhibiteurs bas-moléculaires des virus de la grippe. A été démontré le haut potentiel des dérivés des tétrazoles annelés et non annelés. Sur 21 échantillons des substances testées 7 (33%) possédaient l'index de sélectivité SI 10 et plus, qui témoigne du haut potentiel de ce groupe et de la possibilité d'optimisation des structures chimiques dans l'optique d'obtention des composés ayant des caractéristiques pharmacologiques optimales (Fig. 9).

A été poursuivie la recherche des inhibiteurs efficaces de reproduction du virus de la grippe dans les bibliothèques chimiques des composés d'autres classes structurées. Ainsi, au cours de la recherche a été démontré un haut potentiel anti-grippal des dérivés polyfluorés des composés hétérocycliques de même que des dérivés des composés terpéniques. Sur 93 composés étudiés de ce groupe 32 (34,4%) ont fait preuve du niveau requis d'activité anti-grippale (SI 10 et plus). Cependant 4 composés avaient SI plus haut que 100 (Fig. 10).

Pour plusieurs composés de cette bibliothèque a été étudiée leur propriété de blocage de l'hémagglutinine virale. Suite aux essais il a été démontré que les propriétés

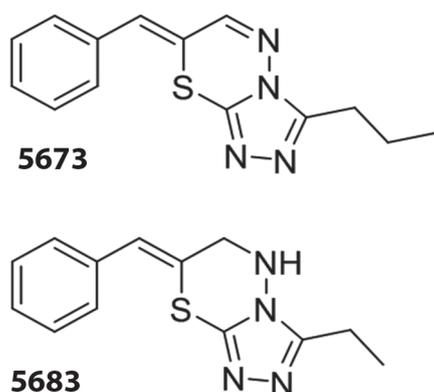


Figure 9. Dérivés des tétrazoles annelés 5673 (SI = 33) et 5683 (SI = 27), actifs contre le virus de la grippe A/Puerto-Rico/8/34 (H1N1) dans les essais *in vitro*

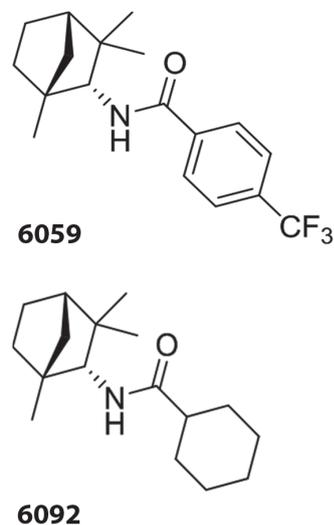


Figure 10. Dérivés des composés cycliques fluorés 6679 et 6300, actifs contre le virus de la grippe A/Puerto-Rico/8/34 (H1N1) dans les essais *in vitro*

antivirales des dérivés squelettiques de l'oxadiazole sont dues à leur capacité d'interférer avec l'activité fusogénique de l'hémagglutinine virale (Fig. 11) se liant avec le fragment proximal de la partie tige (Fig. 12).

A été poursuivie l'étude du mécanisme de l'activité antivirale du ginsamide — dérivé de ginsénol, alcool polycyclique naturel. Au moyen de la sélection et en présence de ce composé a été obtenue une souche du virus de la grippe résistante à lui, et dans la molécule d'hémagglutinine ont été localisées les mutations associées à la résistance (Fig. 13).

Au moyen de la modélisation moléculaire a été localisé le site de liaison de la molécule de ginsamide avec l'hémagglutinine virale (Fig. 14). L'analyse des données obte-

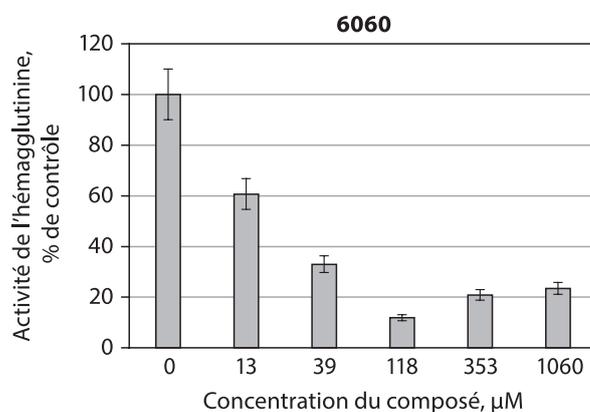


Figure 11. Activité anti-fusogénique du composé 6060 contre l'hémagglutinine du virus de la grippe A/Puerto-Rico/8/34 (H1N1)

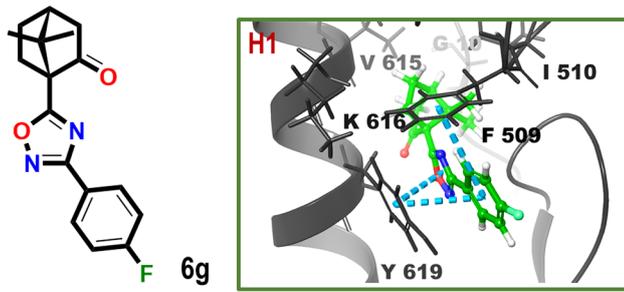


Figure 12. Modèle de la liaison du composé 6060 avec l'hémagglutinine du virus de la grippe A/Puerto-Rico/8/34 (H1N1)

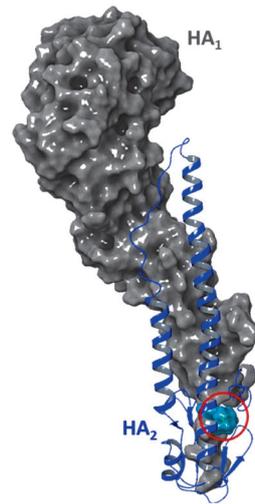


Figure 14. Localisation du site de la liaison de la molécule de ginsamide avec l'hémagglutinine virale (contournée en rouge) selon les données de modélisation moléculaire

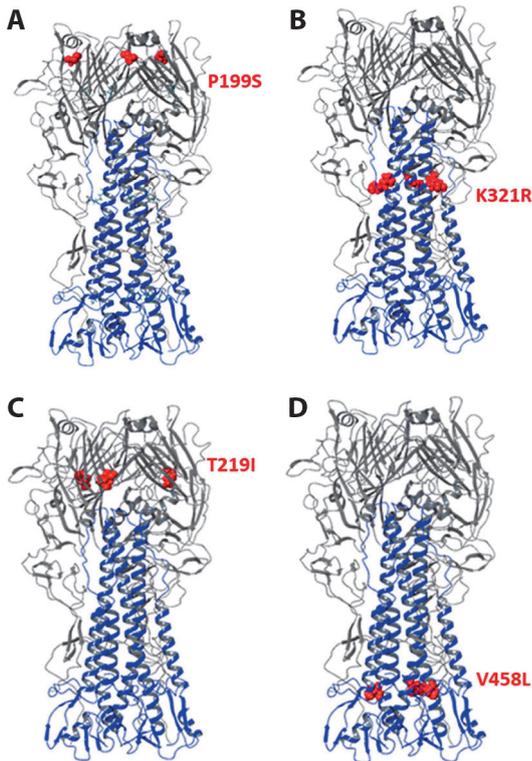


Figure 13. Mutations de résistance du ginsamide dans la molécule d'hémagglutinine du virus de la grippe A/Puerto-Rico/8/34 (H1N1)

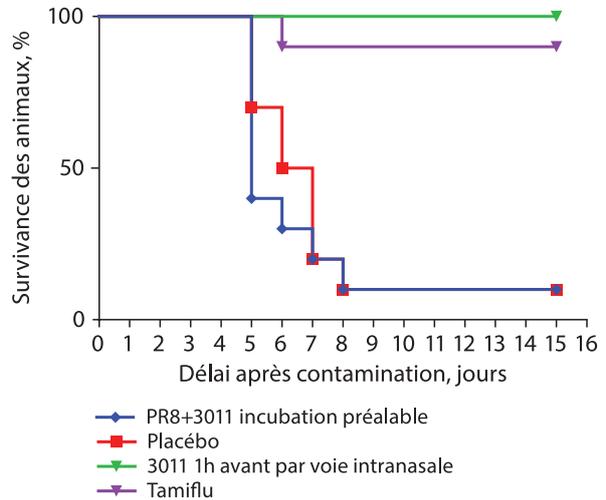


Figure 15. Dynamique des décès d'animaux atteints de la pneumonie grippale dans les conditions d'utilisation des composés polymères

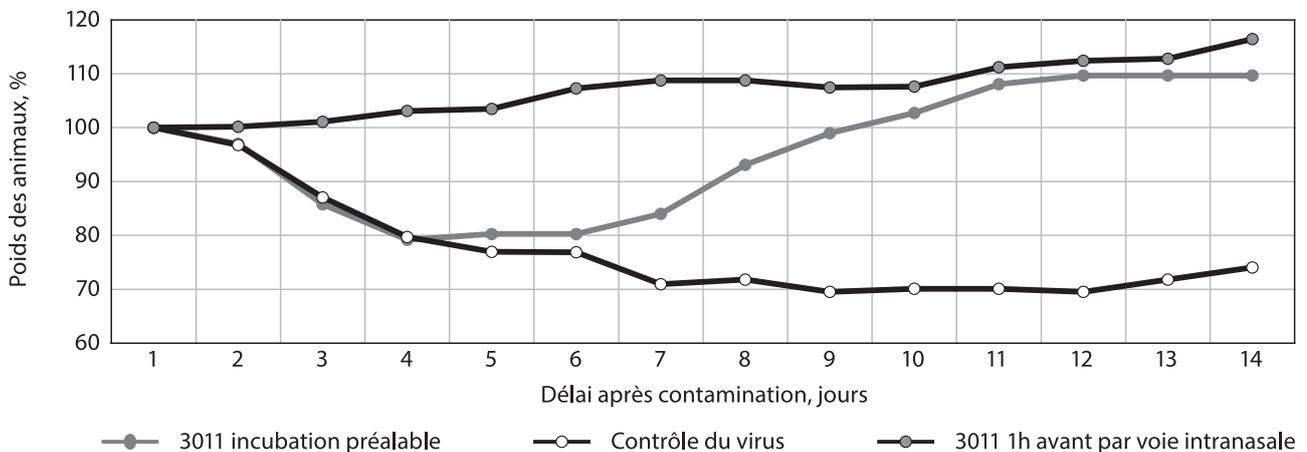


Figure 16. Dynamique des indices pondéraux des animaux atteints de la pneumonie grippale dans les conditions d'utilisation des composés polymères

nues a démontré que précisément dans ce site est localisée la mutation de la résistance V458L (Fig. 13D). Ainsi, les données obtenues par deux moyens indépendants expliquent les mécanismes de l'activité antivirale des dérivés du ginsénoïde dans l'ensemble et de ginsamide, composé de première ligne, en particulier.

A été étudiée l'activité protectrice du copolymère de l'acide vinylphosphonique avec 4-acryloylmorpholine dans les essais sur modèles animaux de l'infection grippale. Il a été démontré qu'au cas d'utilisation intranasale

le polymère sert à prévenir la mort des animaux et à normaliser leurs indices pondéraux (Fig. 15, 16). Les animaux ayant obtenu le polymère une heure avant la contamination ont tous survécu. Cependant dans l'autre groupe d'animaux, qui ont obtenu le produit comparateur Tamiflu, un souris était morte, ce qui témoigne en faveur du polymère étudié comme moyen efficace de prévention contre l'infection grippale, n'agissant pas d'ailleurs directement sur le virus mais réduisant éventuellement la réceptivité de l'organisme à l'infection virale au niveau de la porte d'entrée.

Publications

Articles

1. Andreeva O.V., Garifullin B.F., Zarubaev V.V., Slita A.V., Yesaulkova I.L., Volobueva A.S., Belenok M.G., Man'kova MA, Saifina L.F., Shulaeva M.M., Voloshina A.D., Lyubina A.P., Semenov V.E., Kataev V.E. Synthesis and Antiviral Evaluation of Nucleoside Analogues Bearing One Pyrimidine Moiety and Two D-Ribofuranosyl Residues // *Molecules*. 2021. doi: 10.3390/molecules26123678
2. Andreeva O.V., Garifullin B.F., Zarubaev V.V., Slita A.V., Yesaulkova I.L., Saifina L.F., Shulaeva M.M., Belenok M.G., Semenov V.E., Kataev V.E. Synthesis of 1,2,3-triazolyl nucleoside analogues and their antiviral activity // *Molecular Diversity*. 2021; 25 (1): 473–490. doi: 10.1007/s11030-020-10141-y
3. Belousova I.M., Kiselev V.M., Bagrov I.V., Murav'eva T.D., Starodubtsev A.M., Krisko T.K., Zhitenev O.S., Zarubaev V.V., Shtro A.A. Method of photodynamic inactivation of viruses in air // *Technical Physics*. 2022; 67 (7): 1078–1086. doi: 10.21883/TP.2022.07.54489.330-21
4. Borisevich S.S.; Gureev M., Yarovaya O.I., Zarubaev V.V., Kostin G., Porozov Y., Salakhutdinov N.F. Can molecular dynamics explain decreased pathogenicity in mutant, camphene-resistant influenza virus? // *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*. 2021: 1–12. doi: 10.1080/07391102.2020.1871414
5. Chernyshov V.V., Yarovaya O.I., Esaulkova I.L., Sinegubova E., Borisevich S.S., Popadyuk I.I., Zarubaev V.V., Salakhutdinov N.F. Novel O-acylated amidoximes and substituted 1,2,4-oxadiazoles synthesised from (+)-ketopinic acid possessing potent virus-inhibiting activity against phylogenetically distinct influenza A viruses // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2022; 55: 128465. doi: 10.1016/j.bmcl.2021.128465
6. Chukicheva I.Y., Buravlev E.V., Dvornikova I.A., Fedorova I.V., Zarubaev V.V., Slita A.V., Esaulkova Y.L., Kutchin A.V. Evaluation of antiviral activity of terpenophenols and some of their N- and O-derivatives // *Russ. Chem. Bull.* 2022; 71 (11): 2473–2481. doi: 10.1007/s11172-022-3676-y
7. Drokin R.A., Fesenko E.A., Mozharovskaia P.N., Medvedeva M.V., Svalova T.S., Kozitsina A.N., Esaulkova Ya.L., Volobueva A.S., Zarubaev V.V., Rusinov V.L. 4-hydroxy-3-nitro-1,4-dihydrotriazolo[5,1-c][1,2,4]triazines: synthesis, antiviral activity, and electrochemical characteristics // *Russian Chemical Bulletin*. 2022; 71 (11): 2460–2466.
8. Drokin R.A., Tiufiakov D.V., Voinkov E.K., Slepukhin P.A., Ulomsky E.N., Esaulkova Y.L., Volobueva A.S., Lantseva K.S., Misyurina M.A., Zarubaev V.V., Rusinov V.L. Methods of Synthesis and Antiviral Activity of New 4-Alkyl-3-Nitro-1,4-Dihydroazolo[5,1-c][1,2,4]Triazin-4-ols // *Chem. Heterocycl. Compd (NY)*. 2021; 57 (4): 473–478. doi: 10.1007/s10593-021-02926-2
9. Goryaeva M.V., Kushch S.O., Burgart Y.V., Ezhikova M.A., Kodess M.I., Slepukhin P.A., Triandafilova G., Krasnykh O., Yakovleva E., Zarubaev V.V., Sinegubova E.O., Esaulkova I.L., Shtro A.A., Galochkina A.V., Nikolaeva Y., Saloutin V.I. New heteroanalogues of tricyclic ascidian alkaloids: synthesis and biological activity // *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2021, 19 (45): 9925–9935. doi: 10.1039/d1ob101843d
10. Goryaeva M.V., Kushch S.O., Khudina O.G., Burgart Y.V., Ezhikova M.A., Kodess M.I., Slepukhin P.A., Volobueva A.S., Slita A.V., Esaulkova I.L., Misyurina M.A., Zarubaev V.V., Saloutin V.I. New multicomponent approach to pyrido[1,2-a]pyrimidine derivatives and bis-cyclohexenones // *Journal of Fluorine Chemistry*. 2021; 241: 109686. doi: 10.1016/j.jfluchem.2020.109686
11. Gyrdymova Yu., Rummyantsev R., Esaulkova I.A., Belyaevskaya S., Zarubaev V., Kayumov A., Rubtsova S. New trifluoromethylated sesquiterpenoids: synthesis, rearrangement, biological activity // *New J. Chem.* 2022; 46: 23165–23172. doi: 10.1039/D2NJ04611C
12. Ilyina I.V., Patrusheva O.S., Zarubaev V.V., Misyurina M.A., Slita A.V., Esaulkova I.L., Korchagina D.V., Gatilov Y.V., Borisevich S.S., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F. Influenza antiviral activity of F- and OH-containing isopulegol-derived octahydro-2H-chromenes // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2021; 31: 127677. doi: 10.1016/j.bmcl.2020.127677
13. Khranchikhin A.V., Skryl'nikova M.A., Esaulkova I.L., Sinegubova E.O., Zarubaev V.V., Gureev M.A., Puzyk A.M., Ostrovskii V.A. Novel [1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine and [1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazepine derivatives: synthesis, anti-viral in vitro study and target validation activity // *Molecules*. 2022; 27: 7940. doi:10.3390/molecules27227940.
14. Khranchikhin A.V., Skryl'nikova M.A., Pavlyukova Y.N., Zarubaev V.V., Esaulkova Ya.L., Muryleva A.A., Shmanyova N.T., Danagulyan G.G., Ostrovskii V.A. Synthesis of isomeric 4-(N-methyltetrazolylamino)-2-phenyl-4H-thiopyrano[2,3-b]quinoline-3-carbaldehydes and 4-hydroxy-2-phenyl-4H-thiopyrano[2,3-b]quinoline-3-carbaldehyde based on tandem thiol-Michael and (aza)-Morita-Baylis-Hillman reactions and an in vitro study of the activity of the obtained compounds against influenza virus // *Chem. Heterocycl. Compd*. 2022; 58: 267. doi: 10.1007/s10593-022-03083-w
15. Khudina O.G., Elkina N.A., Burgart Ya.V., Ezhikova M.A., Kodess M.I., Esaulkova Ya.L., Zarubaev V.V., Shtro A.A., Triandafilova G.A., Krasnykh O.P., Malysheva K.O., Gerasimova N.A., Evstigneeva N.P., Saloutin V.I. Synthesis and biological activity of 2-sulfonarylhydrazinylidene 1,3-diketones and their pyrazole derivatives // *Russian Chemical Bulletin*. 2022; 71 (12): 2670–2684. doi: 10.1007/s11172-022-3696-7
16. Kostikova V.A., Zarubaev V.V., Esaulkova I.L., Sinegubova E.O., Kadyrova R.A., Shaldaeva T.M., Veklich T.N., Kuznetsov A.A. The antiviral, antiradical, and phytochemical potential of dry extracts from *Spiraea hypericifolia*, *S. media*, and *S. salicifolia* (Rosaceae) // *South African Journal of Botany*. 2022: 1–8. doi: 10.1016/j.sajb.2022.01.013
17. Kovaleva K.S., Yarovaya O.I., Gatilov, Y.V., Slita A.V., Esaulkova Y.L., Zarubaev V.V., Rudometova N.B., Scherbakova N.S., Scherbakov D.N., Salakhutdinov N.F., Synthesis and Antiviral Activity of N-Heterocyclic Hydrazine Derivatives of Camphor and Fenchone // *Chem. Heterocycl. Compd*. 2021, 57 (4): 455–461. doi: 10.1007/s10593-021-02923-5

18. Kraevaya O.A., Bolshakova V.S., Peregudov A.S., Chernyak A.V., Slesarenko N.A., Markov V.Y., Lukonina N.S., Martynenko V.M., Sinegubova E.O., Shestakov A.F., Zarubaev V.V., Schols D., Troshin P.A. The unusual water-promoted reaction of C60Ar5Cl compounds with thiophenes delivers a new family of multifunctional fullerene derivatives with selective antiviral properties // *Organic Letters*. 2021. doi: 10.1021/acs.orglett.1c02623
19. Krasnov V.P., Musiyak V.V., Levit G.L., Gruzdev D.A., Andronova V.L., Galegov G.A., Orshanskaya I.R., Sinegubova E.O., Zarubaev V.V., Charushin V.N. Synthesis of Pyrimidine Conjugates with 4-(6-Amino-hexanoyl)-7,8-difluoro-3,4-dihydro-3-methyl-2H-[1,4]benzoxazine and Evaluation of Their Antiviral Activity // *Molecules*. 2022; 27: 4236. doi: 10.3390/molecules27134236
20. Krasnov V.P., Zarubaev V.V., Gruzdev D.A., Vozdvizhenskaya O.A., Vakarov S.A., Musiyak V.V., Chulakov E.V., Volobueva A.S., Sinegubova E.O., Ezhikova M.A., Kodess M.I., Levit G.L., Charushin V.N. Novel purine conjugates with N-heterocycles: synthesis and anti-influenza activity // *Chem. Heterocycl. Comp.* 2021; 57 (4): 498–504. doi: 10.1007/s10593-021-02930-6
21. Lavrentieva I.N., Bichurina M.A., Antipova A.Yu., Camara J., Hoang M., Bancevic M.D., Zheleznova N.V., Egorova S.A., Totolian A.A. A herd immunity to rubella virus in selected geographical regions // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (5): 902–908. doi: 10.15789/2220-7619-AHI-2015
22. Mikolaichuk O.V., Zarubaev V.V., Muryleva A.A., Esaulkova Y.L., Spasibenko D.V., Batyrenko A.A., Korniyakov I.V., Trifonov R.E. Synthesis, structure, and antiviral properties of novel 2-adamantyl-5-aryl-2H-tetrazoles // *Chem. Heterocycl. Compd (NY)*. 2021: 1–6. doi: 10.1007/s10593-021-02931-5
23. Ostrovskii V.A., Danagulyan G.G., Nesterova O.M., Pavlyukova Y.N., Tolstyakov V.V., Zarubina O.S., Slepukhin P.A., Esaulkova Y.L., Muryleva A.A., Zarubaev V.V., Trifonov R.E. Synthesis and antiviral activity of nonannulated tetrazolypyrimidines // *Chem. Heterocycl. Comp.* 2021; 57 (4): 448–454. doi: 10.1007/s10593-021-02922-6
24. Petrova A.V., Belyaevskaya S.V., Zarubaev V.V. Synthesis and Inhibition of Influenza H1N1 virus by indolo-glycyrhetic acid cyanoesters // *Molbank*. 2022; 2022 (4): M1475. doi: 10.3390/M1475
25. Savina N.N., Ekimov A.A., Trukhin V.P., Evtushenko A.E., Zhirenkina E.N., Sinegubova E.O., Slita AV Evaluation of avian adenovirus inactivation methods used in the production of influenza vaccines // *Extreme Medicine*. 2021; (3): 78–83. doi: 10.47183/mes.2021.032
26. Sedenkova K.N., Andriasov K.S., Eremenko M.G., Grishin Y.K., Alferova V.A., Baranova A.A., Zefirov N.A., Zefirova O.N., Zarubaev V.V., Gracheva Y.A., Milaeva E.R., Averina E.B. Bicyclic isoxazoline derivatives: synthesis and evaluation of biological activity // *Molecules* 2022; 27: 3546. doi: 10.3390/molecules27113546
27. Shchegolkov E.V., Burgart Y.V., Matsneva D.A., Borisevich S.S., Kadyrova R.A., Orshanskaya I.R., Zarubaev V.V., Saloutin V.I. Polyfluoroalkylated antipyridines in Pd-catalyzed transformations // *RSC Adv*. 2021; 11 (56): 35174–35181. doi: 10.1039/d1ra06967e
28. Shcherbakov K.V., Panova M.A., Burgart Y.V., Sinegubova E.O., Orshanskaya I.R., Zarubaev V.V., Gerasimova N.A., Evstigneeva N.P., Saloutin V.I. Alternative functionalization of 2-(3,4-dihalophenyl)-4H-chromen-4-ones via metal-free nucleophilic aromatic fluorine substitution and palladium-catalyzed cross-coupling reactions // *Chemistry Select*. 2022; 7 (33): e202201775, doi: 10.1002/slct.202201775
29. Shcherbakov K.V., Panova M.A., Burgart Y.V., Zarubaev V.V., Gerasimova N.A., Evstigneeva N.P., Saloutin V.I. The synthesis and biological evaluation of A- and B-ring fluorinated flavones and their key intermediates // *Journal of Fluorine Chemistry*, 2021; 249: 109857. doi: 10.1016/j.jfluchem.2021.109857
30. Shekunov E.V., Efimova S.S., Yudincheva N.M., Muryleva A.A., Zarubaev V.V., Slita A.V., Ostroumova O.S. Plant Alkaloids Inhibit Membrane Fusion Mediated by Calcium and Fragments of MERS-CoV and SARS-CoV/SARS-CoV-2 Fusion Peptides // *Biomedicines*. 2021; 9: 1434. doi: 10.3390/biomedicines9101434
31. Shetnev A.A., Volobueva A.S., Panova V.A., Zarubaev V.V., Baykov S.V. Design of 4-substituted sulfonamidobenzoic acid derivatives targeting Coxsackievirus B3 // *Life (Basel)*. 2022; 12 (11): 1832. doi: 10.3390/life12111832
32. Smirnova I., Petrova A., Giniyatullina G., Smirnova A., Volobueva A., Pavlyukova J., Zarubaev V., Van Loc T., Tran Thi Phuong T., Hau V.T.B., Nguyen Thi Thu Thuy, Myint Myint Khine, Kazakova O. Synthesis, Anti-Influenza H1N1 and Anti-Dengue Activity of A-Ring Modified Oleanonic Acid Polyamine Derivatives // *Molecules*. 2022; 27: 8499. doi: 10.3390/molecules27238499
33. Smirnova I., Petrova A., Lobov A., Minnibaeva E., Phoung T.T.T., Van L.T., Khine M.M., Esaulkova I., Slita A., Zarubaev V., Kazakova O. Azepanodipterocarpol is potential candidate for inhibits influenza H1N1 type among other lupane, oleanane, and dammarane A-ring amino-triterpenoids // *J. Antibiot. (Tokyo)*. 2022; 75 (5): 258–267. doi: 10.1038/s41429-022-00514-w
34. Sokolova A.S., Putilova V., Yarovaya O.I., Zybikina A., Mordvinov E., Zaykovskaya A., Shcherbakov D., Orshanskaya I., Sinegubova E., Esaulkova I., Borisevich S., Bormotov N., Shishkina L., Zarubaev V.V., Pyankov O., Maksyutov R.A., Salakhutdinov N.F. Synthesis and antiviral activity of camphene derivatives against different types of viruses // *Molecules*. 2021; 26: 2235. doi: 10.3390/molecules26082235
35. Sokolova A.S., Yarovaya O.I., Baranova D.V., Galochkina A.V., Shtro A.A., Kireeva M.V., Borisevich S.S., Gatilov Y.V., Zarubaev V.V., Salakhutdinov N.F. Quaternary ammonium salts based on (-)-borneol as effective inhibitors of influenza virus // *Arch. Virol.* 2021; 166 (7): 1965–1976. doi: 10.1007/s00705-021-05102-1
36. Sudarikov D.V., Gyrdymova Y.V., Borisov A.V., Lukiyanova J.M., Rummyantsev R.V., Shevchenko O.G., Baidamshina D.R., Zakarova N.D., Kayumov A.R., Sinegubova E.O., Volobueva A.S., Zarubaev V.V., Rubtsova S.A. Synthesis and Biological Activity of Unsymmetrical Monoterpenylhetaryl Disulfides // *Molecules*. 2022; 27 (16): 5101. doi: 10.3390/molecules27165101
37. Sulaiman M., Zarubaev V., Samudi C., Rahmatullah M., Jannat K., Paul A., Rajagopal M., Salvaraj M., Nissapatorn V., Suleiman M., Butler M., Wiart C. Natural products from medicinal plants in Asia and the Pacific for RNA viruses: Hercules' fifth labour // *Pharm. Biol.* 2022; 60 (1): 2049–2087. doi: 10.1080/13880209.2022.2130944
38. Tănase C., Drăghici C., Hanganu A., Pintilie L., Maganu M., Zarubaev V.V., Volobueva A., Sinegubova E. 1'-Homocarbocyclic Nucleoside Analogues with an Optically Active Substituted Bicyclo[2.2.1]Heptane Scaffold // *Chemistry Proceedings*, 2021; 3: 16. doi: 10.3390/ecsoc-24-08367
39. Tatarinov D.A., Garifullin B.F., Belenok M.G., Andreeva O.V., Strobykina I.Y., Shepelina A.V., Zarubaev V.V., Slita A.V., Volobueva A.S., Saifina L.F., Shulaeva M.M., Semenov V.E., Kataev V.E. The First 5'-Phosphorylated 1,2,3-Triazolyl Nucleoside Analogues with Ura-cil and Quinazoline-2,4-Dione Moieties: A Synthesis and Antiviral Evaluation // *Molecules*. 2022; 27 (19): 6214. doi: 10.3390/molecules27196214
40. Vafina G.F., Khanova M.D., Esaulkova Ya.L., Sinegubova E.O., Slita A.V., Zarubaev V.V. Search for compounds with antiviral activity among maleopimaric acid derivatives // *Chemistry of Natural Compounds*. 2021; 57 (2): 323–326. doi: 10.1007/s10600-021-03341-x

41. Volobueva A.S., Yarovaya O.I., Kireeva M.V., Borisevich S.S., Kovaleva K.K., Mainagashev I.Y., Gatilov Y.V., Ilyina M.G., Zarubaev V.V., Salakhutdinov N.F. Discovery of New Ginsenol-like Compounds with High Antiviral Activity // *Molecules*. 2021; 26: 6794. doi:10.3390/molecules26226794
42. Volobueva A.S., Zarubaev V.V., Lantseva K.S. Development of antiviral therapeutics combating coxsackievirus type B3 infection // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (1): 57–67. doi: 10.15789/2220-7619-DOA-1273
43. Vorozhtsov N.I., Yarovaya O.I., Roznyatovskii V.A., Tarasevich B.N., Kozlovskaya Y.A., Petkova A.I., Slita A.V., Sinigubova E.O., Zarubaev V.V., Salakhutdinov N.F., Beloglazkina E.G. Synthesis and antiviral activity of novel 3-substituted pyrazolinium salts // *Chem. Heterocycl. Compd (NY)*. 2021; 57 (4): 432–441. doi: 10.1007/s10593-021-02921-7
44. Yarovaya O.I., Kovaleva K.S., Borisevich S.S., Rybalova T.V., Gatilov Y.V., Sinigubova E.O., Volobueva A.S., Zarubaev V.V., Salakhutdinov N.F. Synthesis and antiviral properties of tricyclic amides derived from α -humulene and β -caryophyllene // *Mendeleev Commun.* 2022; 32: 609–611. doi: 10.1016/j.mencom.2022.09.013
45. Zarubaev V.V., Garshina A.V., Volobueva A.S., Slita A.V., Yarovaya O.I., Bykov V.V., Leonov K.A., Motov V.S., Khazanov V.A., Salakhutdinov N.F. Optimization of application schedule of Camphene, a novel anti-influenza compound, based on its pharmacokinetic characteristics // *Fundamental and Clinical Pharmacology*. 2022. doi: 10.1111/fcp.12750
46. Zaytsev V., Lovtsevich L., Pokazeev K., Sorokina E., Dorovatovskii P., Khrustalev V., Romanycheva, Shetnev A., Volobueva A., Esaulkova I., Slita A., Zarubaev V., Zubkov F. The IMDAV approach towards thieno- and furoisoindolo[2,1-a]quinazolines-11(13)-carboxylic acids possessing antimicrobial and antiviral activities // *Tetrahedron*. 2022: 133205. doi: 10.1016/j.tet.2022.133205
47. Zerov A., Boyarskaya I., Khoroshilova O., Lavrentieva I.N., Slita A.V., Sinigubova E.O., Zarubaev V.V., Vasilyev A. TFOH-Promoted Reactions of TMS-Ethers of CF₃-Pentenynoles with Arenes. Synthesis of CF₃-Substituted Pentenynes, Indenes and Other Carbocyclic Structures // *The Journal of Organic Chemistry*. 2021; 86: 1489–1504. doi: 10.1021/acs.joc.0c02361

Optimisation du système de surveillance de la rougeole et de la rubéole à l'étape de leur élimination

Exécutants: I. Lavrentieva, A. Antipova, E. Sinigubova, N. Jeleznova, I. Drozd

Coexécutants: Yu. Ostankova, J. Camara, M. Hoang, M. Banchevich

Actualité

Malgré le développement réussi du Programme d'élimination de la rougeole, de la rubéole et du syndrome de la rubéole congénitale ces infections restent d'actualité à cause de la situation épidémique compliquée de la rougeole en Europe, Asie, Amérique Centrale et Amérique du Sud. En Fédération de Russie la propagation du virus de la rougeole n'est pas rompue non plus. La pandémie de la nouvelle infection à coronavirus et les mesures adoptées dans plusieurs pays, y compris en Russie, contre sa propagation pouvaient exercer une influence sur la circulation du virus de la rougeole. L'analyse de cette question est importante pour la surveillance et le contrôle de l'infection.

La situation épidémiologique de la rubéole en Russie est assez calme et ne suscite pas de grosse inquiétude. Notamment, dans le District fédéral Nord-Ouest pendant plusieurs années de suite on enregistre les cas unitaires de la rubéole soit leur absence. Pourtant dans les conditions de l'incidence sporadique augmente l'importance des études screening de l'immunité collective au virus de la rubéole.

Jusqu'à présent en Fédération de Russie n'est pas organisé l'enregistrement de l'incidence de l'infection à parvovirus (IPV) particulièrement dangereuse pour les personnes faisant partie des groupes de risque. Cela étant, selon les données obtenues antérieurement, cette infection est largement répandue sur les différents territoires de la Fédération de Russie.

Ainsi, les recherches visant à perfectionner la surveillance épidémiologique et virologique de la rougeole, la rubéole et l'IPV conservent toute leur actualité.

En 2020–2021 les études sur ce thème de recherche ont été effectuées suivant les essentielles orientations suivantes:

1. Influence de la pandémie de COVID-19 sur la propagation de la rougeole dans plusieurs régions géographiques en 2020;

2. Immunité collective contre le virus de la rubéole dans certaines régions géographiques;
3. Etude de propagation des marqueurs de l'infection à parvovirus dans la population du District fédéral Nord-Ouest, y compris dans les groupes de risque;
4. Caractéristique des isolats de parvovirus B19 (PVB19) circulant sur le territoire de la République de Guinée.

Matériels et méthodes

Il a été étudié au total 3136 échantillons du sérum sanguin obtenus en 2020–2022 sur plusieurs territoires de la Fédération de Russie, du Sud Vietnam et de la République de Guinée des personnes âgées de 7 mois à 89 ans, apparemment en bonne santé, de même que des personnes révélant des symptômes exanthématiques du processus infectieux. Les échantillons ont été fournis par les laboratoires virologiques des centres régionaux de surveillance de la rougeole et la rubéole dans le District fédéral Nord-Ouest de la Fédération de Russie, en République de Serbie, au Sud Vietnam et en République de Guinée. L'étude a englobé aussi les patients de l'unité d'hémodialyse d'un des établissements hospitaliers de Saint-Petersbourg.

Analyse immuno-enzymatique. La détection des IgM-anticorps contre le virus de la rougeole et le parvovirus B19 (PVB19) a été effectuée avec utilisation des kits diagnostiques «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)» (EUROIMMUN, Allemagne) et «Anti-Parvovirus B19 ELISA IgM (EUROIMMUN, Allemagne) selon les instructions du fabricant. La présence des IgM-anticorps dans les sérums sanguins a été interprétée comme infection en phase aiguë. La détection quantitative et qualitative des IgM-anticorps contre le virus de la rubéole et le PVB19 a été effectuée avec utilisation des kits diagnostiques «Anti-Rubella Virus ELISA (IgM)» et «Anti-Parvovirus B19 ELISA IgG, fabriqués par EUROIMMUN (Allemagne), selon les instructions du fabricant.

Méthodes moléculaires génétiques. L'extraction des acides nucléiques (ADN) du plasma sanguin a été effectuée utilisant le kit commercialisé «Ampli Prime Ribo-prep» (Etablissement fédéral de recherche d'Etat — Institut central de recherches en épidémiologie de Rospotrebnadzor, Moscou) selon les instructions du fabricant. La détection et/ou identification quantitative de l'ADN PVB19 a été effectuée par la méthode PCR avec détection hybridée fluorescente en régime du temps réel utilisant le kit commercialisé «Am-

Tableau 12. Séquences nucléotidiques des amorces, utilisées complémentaires pour le séquençage de la région NS1/VP1 BVB19

Amorce	Séquence nucléotidique 5'→3'
PVB19 1F	CAATTGTACAGACACCCAGTA
PVB19 1R	ACTTAGCCAGTTGGCTATACCT
PVB19 2F	CCCGCGCTCTAGTACGCCCA
PVB19 2R	TTGCGGGGGCCAGCTTGTA

pliSens® Parvovirus B19-FL» (Etablissement fédéral de recherche d'Etat — Institut central de recherches en épidémiologie de Rospotrebnadzor, Moscou) selon les instructions du fabricant en format qualitatif ou quantitatif.

Pour l'amplification et le séquençage du produit ont été utilisées les amorces spécifiques (fabriquées par Sintol, Russie). Les séquences des amorces et sondes fluorescentes ont été empruntées aux sources littéraires ou choisies à l'aide du programme NCBI/Primer-BLAST selon les recommandations universellement admises (Tabl. 12). L'épuration des produits d'amplification et de réaction de séquençage a été effectuée utilisant le kit commercialisé de réactants Qiaquick PCR Purification kit (Qiagen, Allemagne) selon les instructions du fabricant, ou par la méthode de précipitation alcoolique en présence de l'acétate de sodium.

Séquençage de l'ADN PVB19. Pour le séquençage ont été utilisés les échantillons du plasma ayant la charge virale de non moins de 102 UI/ml. Le fragment purifié de l'ADN avec concentration 50–100ng a servi pour la mise en oeuvre des réactions de séquençage à partir des amorces directe et inverse en trois répétitions pour chaque couple d'amorces de chaque échantillon. Pour la réaction ont été utilisés les amorces PVB19 permettant d'analyser la région NS1/VP1 (locus NS1–VP1u), recommandée pour le génotypage et le sous-génotypage de PVB19, de l'étendue de près de 994 paires de base (pb), conformément à l'isolat J35 (AY386330) présenté dans la base de données internationale GenBank, ensemble avec les amorces complémentaires. Pour le contrôle complémentaire des échantillons on a choisi deux systèmes analytiques avec les réactants correspondants, utilisés selon les instructions du fabricant dans l'analyseur génétique GenomeLab GeXP (Beckman Coulter Inc., USA) et l'analyseur génétique ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, USA).

Analyse phylogénique. Pour identifier l'appartenance des isolats PVB19 aux génotypes a été choisie une partie du génome incluant un fragment conservé dans les régions NS1 et VP1 des gènes (locus NS1–VP1u), 994 pb. L'analyse primaire des fragements obtenus au cours du séquençage a été effectuée à l'aide du programme NCBI Blast comparée aux séquences nucléotidiques des échantillons de référence présentées dans la base de données internationale GenBank.

L'alignement des séquences nucléotidiques a été effectué dans le programme MEGA 7.0 utilisant l'algorithme ClustalW. Pour la construction des arbres phylogénétiques et une analyse phylogénétique ultérieure ont été examinés les distances entre séquences par la méthode de jonction des voisins (Neighbor-joining) permettant d'effectuer l'optimisation de l'arbre selon le critère «d'évolution équilibrée minimale» avec utilisation du «Maximum Composite Likelihood» modèle. Pour évaluer l'authenticité des arbres construits il a été organisée une approximation «bootstrap» pour 1000 répétitions.

Le traitement statistique des résultats a été effectué utilisant un lot de programmes MS Excel, Prism 5.0 (GraphPad Software Inc.). La comparaison des données nominales a été faite à l'aide du t-critère Seuil d'authenticité des distinctions — avec la probabilité $p < 0,05$.

Résultats

2.1. Influence de la pandémie de COVID-19 sur la propagation de la rougeole dans plusieurs régions géographiques

Conformément au plan stratégique de l'OMS vers 2020 cinq régions géographiques sur six (excepté celle du Sud-Est Asiatique — SEAR) devaient atteindre le stade d'élimination de la rougeole, à savoir les régions Américaine (AMR), Européenne (EUR), de l'Ouest-Pacifique (WRP), de la Méditerranée Orientale (EMR) et Africaine (AFR). Pourtant jusqu'à récemment la rougeole se propageait activement dans le monde. En 2019 on a enregistré 524 718 cas de cette maladie dans toutes les régions de référence contrôlées par l'OMS: AFR — 288 363 cas, EUR — 104 420 cas, WRP — 62 165 cas, SEAR — 29 599 cas, EMR — 20 629 cas, AMR — 19 541 cas. Dans la région Européenne les leaders d'incidence de la rougeole étaient l'Ukraine (57 282 cas), le Kazakhstan (13 326 cas) et la Géorgie (3920 cas). Dans la région du Sud-Est Asiatique — l'Inde (76 588 cas). Dans la région de l'Ouest-Pacifique le plus grand nombre de cas a été enregistré en 2019 aux Philippines (46 689), sur le continent Africain — à Madagascar (151 032 cas), au Nigéria (27 195 cas) et dans d'autres pays.

En 2019 en Fédération de Russie il a été détecté 4491 cas de la rougeole (dont 132 — dans le District fédéral Nord-Ouest), au Vietnam — 14 156 cas et en République de Guinée — 1301 cas, qui sont les taux d'incidence excédant le niveau nécessaire pour atteindre le stade d'élimination (moins de 1 cas par 1 mln. d'habitants). Dans la structure d'âge des malades au Vietnam et en République de Guinée dominaient les enfants de moins de trois ans et en Fédération de Russie — les personnes de plus de 18 ans. L'infection se propageait essentiellement parmi les personnes non vaccinées contre la rougeole.

En 2020, en pleine période de propagation de la nouvelle infection à coronavirus, dans ces régions continuait la circulation du virus de la rougeole. Ainsi, dans le District fédéral Nord-Ouest le taux d'incidence a fait 0,45 par 100 000 habitants et le nombre total de cas était égal à 63. Dans la structure d'âge des malades dominaient les personnes adultes. Au Sud Vietnam en 2020 on a enregistré 463 cas de la rougeole et en République de Guinée — 512 cas. Dans ces deux derniers pays la rougeole se propageait essentiellement dans la population des enfants de moins de trois ans.

Cependant en mars-avril 2020 aussi bien dans le District fédéral Nord-Ouest de la Fédération de Russie qu'au Sud Vietnam a été introduit le régime de confinement. A partir de ce moment sur les deux territoires a été constaté une baisse du taux d'incidence de la rougeole jusqu'aux cas sporadiques.

Cette tendance ne s'est pas manifestée en République de Guinée où les manifestations relatives à la pandémie de la nouvelle infection à coronavirus n'étaient pas organisées. La rougeole a été détectée dans ce pays pendant toute l'année 2020 et une baisse double du nombre de cas enregistrés par rapport à 2019 a été due probablement à une baisse naturelle de l'incidence après sa montée en 2018–2019.

Ainsi une brusque baisse d'intensivité de circulation du virus de la rougeole aussi bien dans le District fédéral Nord-Ouest de la Fédération de Russie qu'au Sud Vietnam en 2020 doit être mise, à notre sens, en corrélation avec les mesures antiépidémiques adoptées à l'époque en Fédération de Russie et au Sud Vietnam pour limiter la propagation de COVID-19. On peut donc s'attendre à une hausse d'incidence de la rougeole dans les différentes régions géographiques du monde après la levée des restrictions à cause de la réduction de l'étendue des vaccinations contre cette maladie s'expliquant par un nombre croissant d'exemptions médicales de l'immunisation planifiée pendant la pandémie et le détournement des ressources pour la vaccination contre COVID-19.

Ainsi en 2022 au Nord-Ouest de la Russie a été constaté le renouvellement de la circulation du virus de la rougeole avec 6 cas enregistrés de cette maladie: 1 cas à Saint-Petersbourg et 5 cas dans l'oblast de Léningrad. Le taux d'incidence a fait 0,04 par 100 000 habitants. Dans le groupe des malades dominaient les personnes non vaccinées contre la rougeole et celles à l'anamnèse vaccinale inconnue (83,0%). Un foyer d'infection, cause de propagation, a été enregistré. Un cas de la rougeole a été détecté chez une personne vaccinée antérieurement. Chez toutes les personnes atteintes a été identifié le génotype D8 ayant le code génétique de séquence nucléotidique MeaNS 8248 endémique pour le territoire de Tadjikistan d'où étaient arrivés les malades.

2.2. Immunité collective au virus de la rubéole dans certaines régions géographiques

Dans les conditions de la globalisation le suivi constant du taux d'immunité collective aux agents des différentes infections, y compris au virus de la rubéole, revêt une importance capitale pour la détection des groupes épidémiologiquement significatifs de la population. Un tel suivi est surtout important dans les pays où la vaccination contre la rubéole ne figure pas au Calendrier des vaccinations ou bien si le contrôle par les méthodes de prévention spécifiques y est insuffisant.

En 2020–2022 en Fédération de Russie le taux de séroprévalence de la population du District fédéral Nord-Ouest au virus de la rubéole a été de 96,6–97,7% avec une fluctuation insignifiante entre les différentes catégories d'âge. Le taux élevé stable témoigne d'une large étendue de la vaccination contre la rubéole et de l'efficacité de la prévention spécifique.

En République de Serbie le taux de séroprévalence (86,8%) s'est trouvé sensiblement plus bas qu'en Fédération de Russie. Cela étant le nombre minimum de sérums IgG-positifs (72,2%) a été enregistré dans la catégorie d'âge 2–4 ans. Ensuite le pourcentage des personnes séropositives augmentant régulièrement atteignait son maximum (90,8%) dans la catégorie d'âge 50 ans et plus. Une telle répartition par âges des personnes protégées contre l'infection est plus typique pour la constitution de l'immunité collective dans les conditions de la propagation naturelle de la rubéole. En Serbie, conformément au Calendrier national, les enfants reçoivent la première vaccination contre la rubéole à l'âge de 12–15 mois et la seconde — à 7 ans. La part minime de jeunes enfants (2–4 ans) protégés contre l'infection témoigne des insuffisances de la vaccination contre la rubéole. Cet argument est aussi appuyé par le faible taux des personnes séropositives dans les catégories d'âge de 8–14 (49%) et de 15–25 (57,3%) ans, c'est-à-dire parmi les

personnes qui, selon le Calendrier national, devaient, dans leur passé récent, être non seulement vaccinées mais aussi revaccinées contre la rubéole. Nous avons révélé antérieurement le taux insuffisant de la vaccination MMR (qui inclue la composante contre la rubéole) en étudiant l'immunité humorale de la population de Serbie au virus de la rougeole.

En République de Guinée, contrairement à d'autres régions incluses dans cette étude, la prévention spécifique de la rubéole ne se fait pas. Dans les conditions de propagation naturelle 75,2% de personnes examinées avaient les IgG-anticorps contre la rubéole, ce qui correspond à une caractéristique de l'infection comme maladie largement répandue à faible contagiosité. Le taux des personnes séropositives, aussi bien de moins de 20 ans que faisant partie de la catégorie de 20 à 49 ans, a été de 73% avec une tendance à la hausse jusqu'à 95% seulement dans la catégorie d'âge de 50 ans et plus. Ce qui veut dire que l'immunité collective au virus de la rubéole en Guinée est en train de se constituer, principalement chez les enfants et adolescents et se conserve au niveau stable dans la population. Exception faite pour la catégorie des personnes âgées où le taux plus élevé des séropositifs est dû probablement à leurs contacts plus étroits avec les enfants dans les familles. L'examen des femmes a révélé 30% de personnes non protégées dans la catégorie de l'âge reproductif le plus actif (20–29 ans), ce qui témoigne en faveur de la possibilité de leur contamination au cours de la grossesse, de même que de l'enregistrement des cas de l'infection rubéolique congénitale.

2.3. Etude de la propagation des marqueurs de l'infection à parvovirus dans la population du District fédéral Nord-Ouest, y compris dans les groupes de risque

2.3.1. Caractéristique de la propagation de l'infection à parvovirus (IPV) sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest en 2021–2022

Pendant la période de mise en oeuvre du programme de l'OMS visant à l'élimination de la rougeole et la rubéole dans les différentes régions du monde, y compris en Fédération de Russie, il est préconisé d'effectuer le diagnostic de laboratoire différencié de la rougeole, la rubéole et d'autres maladies exanthématiques, parmi lesquelles l'IPV revêt une importance médicale bien exprimée.

En 2021–2022 de nouveaux résultats ont été obtenus ayant pour objectif de caractériser la propagation de l'IPV chez les personnes en bonne santé et dans les groupes de risque du District fédéral Nord-Ouest de la Fédération de Russie. Sur 503 échantillons examinés il a été révélé 62 échantillons IgM-positifs représentant 12,3% de leur quantité totale.

Le District fédéral Nord-Ouest comprend 11 territoires administratifs. En 2021 les cas de l'IPV y ont été révélés sur sept territoires et en 2022 — sur dix. Pendant plusieurs années, suivant le rythme de constitution des nouvelles cellules familiales, l'infection se propage à Saint-Petersbourg (30–35% de tous les cas), ce qui s'explique par une forte densité de population de la mégapole et par un grand nombre d'établissements de formation, de cure et autres, où ont lieu les contacts étroits prolongés entre les personnes.

Il a été confirmé le caractère saisonnier hiver-printemps de l'affection: en 2021–2022 64% de cas se situent en période de janvier à mai de chaque année.

Lors de l'analyse des diagnostics cliniques des malades atteints de l'IPV, confirmée par l'examen de laboratoire, il a été établi qu'elle n'a jamais été soupçonnée par les cli-

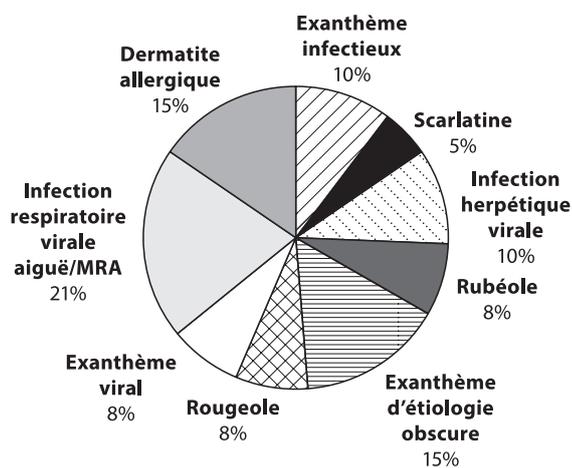


Figure 17. Diagnostics cliniques primaires des patients atteints de l'infection à parvovirus B19 confirmée par l'examen de laboratoire

niciens lors de la consultation primaire, le diagnostic clinique erroné le plus fréquent étant «infection respiratoire virale aiguë» dans 21,0% de tous les cas de l'IPV confirmés par l'examen de laboratoire. Dans 8% de cas a été posé le diagnostic primaire erroné «rougeole» ou «rubéole». L'IPV B19 a été révélée également dans 10% de cas des infections herpétiques virales soupçonnées (mononucléose infectieuse et varicelle). Dans le même pourcentage de cas l'IPV a été révélée chez les malades au diagnostic clinique «exanthème infectieux». Les anticorps IgM-PV B19 ont été découverts dans 30% d'échantillons accompagnés des prescriptions «exanthème d'étiologie obscure» et «éruption allergique/ dermatite allergique». C'est-à-dire dans un tiers de tous les cas l'IPV a été évaluée par les médecins cliniciens comme maladie non infectieuse mais somatique n'exigeant pas la mise en oeuvre des manifestations anti-épidémiques (Fig. 17).

Les résultats obtenus témoignent de ce que l'IPV B19 continue à circuler dans le District fédéral Nord-Ouest avec une éventuelle contamination des personnes faisant partie des groupes de risque.

2.3.2. Révélation des marqueurs de laboratoire de l'IPV chez les patients des unités d'hémodialyse

Les patients hémodialysés, atteints des affections rénales, font partie du groupe de risque de l'infection à parvovirus B19. La propagation de l'infection parmi ces patients peut être facilitée par de tels facteurs comme mode de traitement invasif, aphyaxies secondaires, courte vie des érythrocytes, troubles de la synthèse des érythropoïétines. D'autre part tous les patients des unités d'hémodialyse sont des récipients potentiels des organes et tissus greffés qui peuvent être infectés du parvovirus B19.

En 2022 a été effectué un examen de laboratoire de 78 patients d'une unité d'hémodialyse (23–89 ans, âge moyen 57,4 ans) en utilisant les marqueurs de laboratoire de l'IPV B19. La prise de sang et l'examen avec les marqueurs de l'IPV ont été effectués de trois à quatre fois. Le groupe de contrôle a été composé de 64 patients du service de laboratoire du centre diagnostico-thérapeutique n'obtenant pas la thérapie rénale substitutive (23–89 ans, âge moyen 60,5 ans). Dans ce groupe la prise de sang et l'examen avec les marqueurs de l'IPV ont été effectués une seule fois. Le consentement éclairé a été obtenu de tous les patients.

Il a été établi que 76,9% (60 sur 78 au total) de patients de l'unité d'hémodialyse et 75,0% (48 sur 64 au total) de personnes examinées dans le groupe de contrôle avaient les IgG-anticorps. Les anticorps de la classe IgM (marqueur de l'IPV aiguë) ont été détectés chez une personne de l'unité d'hémodialyse étant absents dans les échantillons obtenus du groupe de contrôle (Tabl. 13). Cependant dans l'échantillon de sang du patient en question étaient absentes les immunoglobulines de la classe G et l'ADN du virus caractérisant une contamination récente par le parvovirus B19. Ce patient n'avait pas de manifestations cliniques de l'IPV. Chez quatre autres patients de l'unité d'hémodialyse a été détectée l'ADN du parvovirus B19. Dans tous ces cas la charge virale a été moins de 720 UI ADN Parvovirus B19/ml. Trois échantillons ADN-positifs contenaient les IgG-anticorps à titre peu élevé: de 50 à 70 UI/ml, ce qui peut témoigner en faveur de l'évolution progressive de l'infection. Dans un cas le titre élevé des IgG-anticorps trahissait la maladie récemment subie. Les résultats obtenus confirment la propagation de l'IPV parmi les patients de l'unité d'hémodialyse et l'existence d'une circulation latente du virus.

Le statut interféronique des patients de l'unité d'hémodialyse s'est avéré sensiblement plus faible que celui des patients du groupe de contrôle. L'analyse des indices clinico-hématologiques des patients de cette unité et de ceux du groupe de contrôle fait apparaître des différences authentiques entre ces groupes: baisse de l'hémoglobine, du nombre des érythrocytes et des thrombocytes des malades en hémodialyse comparés au groupe de contrôle (Tabl. 14).

Ainsi les marqueurs de laboratoire IgM et ADN, témoignant en faveur de l'IPV aiguë, ont été détectés chez 4 sur 79 (5%) patients de l'unité d'hémodialyse et chez 1 sur 64 patients du service de laboratoire du centre diagnostico-thérapeutique (1,6%). Il a été démontré que les patients de l'unité d'hémodialyse pouvaient être porteurs du virus même en présence des anticorps de la classe IgG hautement titrés. Deux patients hémodialysés sur quatre, atteints de l'IPV, confirmée par l'examen de laboratoire,

Tableau 13. Cas de l'IPV chez les patients de l'unité d'hémodialyse

Patient No.	Diagnostic	Âge, ans	Marqueurs de l'IPV			Statut interféronique*		
			IgM	ADN (UI/ml)	IgG (UI/ml)	Se	INFαβ	INFγ
1	Réflux réno-urétéral	29	–	0	–	16	80	80
2	Maladie hypertensive	48	–	584	76,98	8	80	80
3	IgA-néphropathie	40	–	462	50,49	16	80	160
4	Glomérulonéphrite chronique	25	–	190	> Max	Non étudié		
5	Glomérulonéphrite chronique	26	–	290	60,89	8	160	160

*Valeurs de référence: Se < 10; INFαβ — 320–160; INFγ — 160–80.

Tableau 14. Résultats d'examen hématologique complet des patients sous thérapie rénale substitutive et patients non hémodialysés

Patients	Hémoglobine, g/l M±m	Erythrocytes, 10 ¹² /l M±m	Thrombocytes, 10 ⁹ /l M±m
Service de laboratoire du centre diagnostico-thérapeutique	142,4±2,51	4,76±0,071	264,4±19,94
Unité d'hémodialyse	115,3±1,79	3,79±0,068	228,4±9,15

étaient anémiques d'une manière stable, sans rémission possible, ce qui peut être symptôme d'aggravation de la maladie principale des patients souffrant d'insuffisance rénale et infectés du PVB19.

2.4. Caractéristique des isolats du parvovirus B19 circulant sur le territoire de la République de Guinée

En 2021–2022 a été poursuivie la recherche consacrée à l'étude de propagation de l'infection à parvovirus dans les différentes régions géographiques, y compris en République de Guinée.

Au cours de cette période ont été détectés et caractérisés les isolats du parvovirus B19 circulant sur le territoire de la République de Guinée. A cet effet 924 échantillons du plasma sanguin des habitants de la République de Guinée ont été étudiés par la méthode PCR. Dans 84 échantillons de sang (sur 924) des personnes apparemment en bonne santé ou atteintes de l'IPV aiguë a été détecté l'ADN du PVB19, ce qui constitue 9,1±0,95% du nombre total d'échantillons examinés de sang.

Pour le séquençage ont été utilisés les échantillons à la plus forte charge virale (Ct < 30), qui, dans la plupart d'échantillons, n'excédait pas 10³ UI ADN/ml. Pour la caractéristique génétique on a sélectionné 26 échantillons de sang des citoyens guinéens apparemment en bonne santé ou atteints de l'IPV aiguë, indépendamment de leur sexe et âge, résidant dans différentes régions du pays. Le résultat PCR positif avec différentes amorces a été obtenu pour 9 sur 26 échantillons testés. Seulement dans 5 échantillons il y avait assez de matière biologique pour le séquençage (Tabl. 15). Au tableau sont indiqués seuls les noms géographiques des territoires administratifs, où ont été isolés les échantillons, mais non leurs statuts (régions,

préfectures, sous-préfectures, districts). Les noms des séquences nucléotidiques sont donnés conformément aux recommandations de l'OMS élaborées pour désigner les isolats nouvellement obtenus du virus de la rougeole. Tous les isolats ont été obtenus à partir des échantillons de sang des patients atteints de l'IPV aiguë.

Cinq séquences génétiques obtenues sont alignés sur l'isolat de référence J35 (AY386330) et déposés dans la base de données internationale GenBank sous les numéros ON076009; ON730888; OM721657; ON788002; ON911498 (Tabl. 16). Dans un cas a été soumise au séquençage la région de 1447 à 1827 nt, qui fait partie de la région NS1 du génome du parvovirus B19. Dans d'autres cas les séquences obtenues ont été localisées dans l'intervalle de 2075 à 3177 nt qui correspond au locus NS1-VP1u.

L'analyse moléculaire génétique a été effectuée à l'aide de Neighbor joining method. L'histoire évolutionniste composée avec utilisation de la méthode de jonction des voisins. Dans l'analyse ont été étudiées 59 séquences nucléotidiques. Toutes les positions contenant des lacunes et des données manquantes ont été éliminées. L'analyse évolutionniste a été réalisée en MEGA7. La recherche effectuée a démontré qu'en République de Guinée circulent les isolats 1A2 du subgénotype du parvovirus B19.

Sur le dendrogramme sont indiqués les numéros de tous les isolats à GenBank, pays (avec utilisation du code en trois lettres Alpha3) et année d'isolement si ces données ont été publiées par leurs auteurs. Pour la construction de l'arbre phylogénétique à titre d'isolats de référence ont été choisies les séquences faisant partie des génotypes et subgénotypes connus du parvovirus B19. Les séquences de référence sont marquées par les codes de GenBank:

Tableau 15. Caractéristique des isolats obtenus sur le territoire de la République de Guinée

Dénomination de la séquence	Territoire d'isolement	Date d'obtention de la matière biologique	Sexe (m/f), âge/date de commencement de la maladie
B19V/Labe.GIN/2.2020/7775	Labé, Lélouma, Parawol	29.01.2020	F., 5 ans/26.01.2020
B19V/Kankan.GIN/9.2021/8409	Kankan, Kouroussa, Kouroussakoura	03.03.2021	M., 10 ans/03.02.2021
B19V/Labe.GIN/19.2021/8503	Labé, Lélouma, Balaya, Dar-es-Salam	05.10.2021	M., 10 mois/05.01.2021
B19V/Boke.GIN/44.2021/8850	Boke, Boké, Sangaredi, Lavage	02.11.2021	F., 35 ans/29.10.2021
B19V/Conakry.GIN/45.2021/8854	Conakry, Dixinn, Kipé	11.11.2021	M., 4 ans/06.11.2021

Tableau 16. Brève caractéristique des séquences nucléotidiques de l'ADN du parvovirus B19 déposées dans GenBank

Numéro à GenBank	Numéro de titrage	Locus du génome	Localisation	Longueur de la séquence, nt	Génotype
ON076009	7775	NS1	1447–1871	425	1A2
ON730888	8409	NS1-VP1u	2299–3047	749	1A2
OM721657	8503	NS1-VP1u	2139–3177	1039	1A2
ON788002	8850	NS1-VP1u	2075–3145	1071	1A2
ON911498	8854	NS1-VP1u	2737–3048	312	1A2

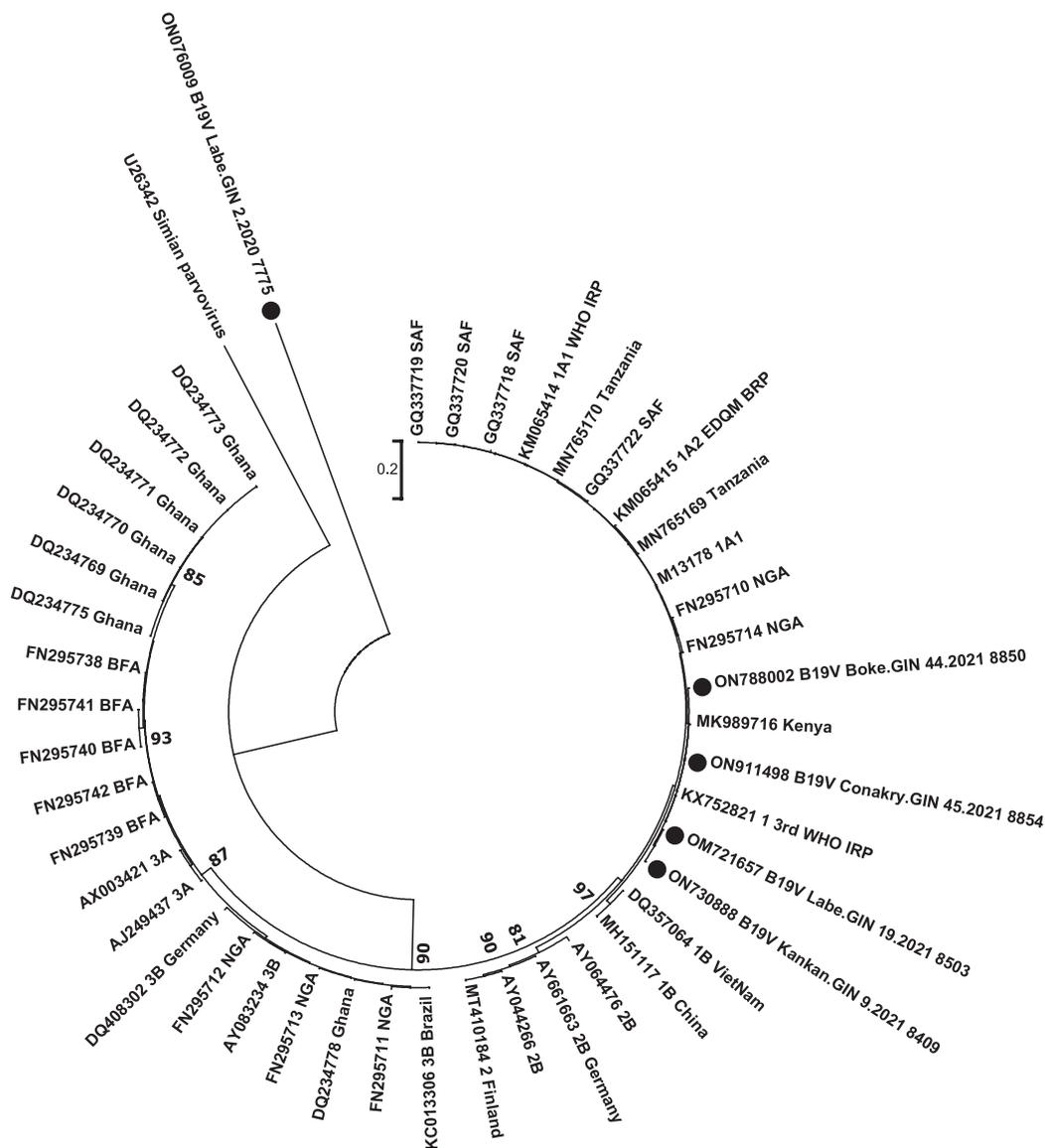


Figure 18. Analyse phylogénétique des séquences nucléotidiques des fragments des génomes (NS1 et VP1u) Human parvovirus B19, isolées à partir des échantillons de sang des personnes résidant en République de Guinée (●) comparées aux séquences de référence et séquences en provenance des pays d’Afrique, présentés dans la base de données internationale GenBank. Sont données les valeurs bootstrap ≥ 70 . KM065415

génotype 1A1 — M13178, KM065414; génotype 1A2 — KM065415; génotype 1B — DQ357064; génotype 2B — AY064476, AY044266, AY661663; génotype 3A — AJ249437, AX003421; génotype 3B — AY083234, DQ408302 (Fig. 18).

Le continent africain est représenté dans la GenBank principalement par les isolats en provenance de Burkina Faso (BFA), Gabon (GAB), Nigéria (NGA) et Afrique du Sud (ZAF). Sur le continent africain ont été détectées les variantes du parvovirus B19 de tous les génotypes connus. Les génotypes 2 et 3 sont largement représentés en Afrique, de même que le génotype 1A qui est le plus répandu au monde.

Si on veut recenser les résultats obtenus en 2021–2022, on peut conclure de manière suivante.

En 2022 dans le District fédéral Nord-Ouest de la Fédération de Russie on a détecté 7 cas de la rougeole. Dans le groupe des malades dominaient les personnes non vaccinées contre la rougeole et personnes à l’anamnèse vaccinale inconnue (83,0%). A été enregistré le foyer de l’infec-

tion qui s’est ensuite propagée. Après la levée des restrictions antiépidémiques, visant à limiter la propagation de la pandémie COVID-19, les cas d’importation de la rougeole sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest ont repris. Ce qui témoigne en faveur de la nécessité de poursuivre les efforts cohérents pour arrêter la circulation du virus de la rougeole, y compris au Nord-Ouest de Russie.

A été révélé le degré insuffisant de l’immunité collective à la rubéole dans plusieurs régions géographiques couvertes par cette étude. Ce qui peut contribuer au maintien du processus infectieux rubéoleux et à la propagation de l’infection, tandis que les opportunités offertes par la globalisations concourent à l’importation du virus dans les régions ne connaissant que le degré sporadique de l’incidence. Les résultats obtenus appuient la nécessité d’organiser des manifestations complémentaires de contrôle de l’infection à l’étape d’élimination de la rougeole et la rubéole.

Le parvovirus B19 est l’agent pathogène circulant activement dans le District fédéral Nord-Ouest. La propagation

de l'IPV continue y compris dans les groupes de risque. Dans les conditions de la propagation naturelle de l'infection les isolats PVB19 sont caractérisés par un haut degré d'homologie aussi bien entre eux, qu'avec d'autres isolats obtenus dans les régions du Sud-Est Asiatique, d'Europe

et d'Afrique, contrôlées par l'OMS. Sont aussi fortement nécessaires les recherches moléculaires génétiques ultérieures afin d'élargir les connaissances sur les caractères biologiques du parvovirus B19, les particularités de sa propagation et son évolution.

Publications

Articles

1. Antipova A.Yu., Drobysheskaia V.G., Khamitova I.V. Case of parvovirus B19 infection and immunodeficiency in the patient with Gilbert syndrome // *Medical Immunology (Russia)*. 2021; 23 (5): 1177–1182. (In Russ.) doi: 10.15789/1563-0625-COP-2325
2. Antipova A.Yu., Kamara Zh., Drozd I.V., Lavrent'eva I.N., Bichurina M.A. Genotyping of parvovirus B19 isolates from remote geographic regions (Northwest Russia and West Africa) // *Journal of Infectology*. 2022; 14 (4, suppl. 1): 12–13.
3. Bichurina M.A., Filipović-Vignjević S., Antipova A.Yu., Bančević M., Lavrentieva I.N. A herd immunity to measles and rubella viruses in the population of the Republic of Serbia // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (1): 171–176. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-TTO-1496
4. Khamitova I.V., Lavrentieva I.N., Semenov A.V. Algorithm for laboratory diagnostics of parvoviral infection in risk groups // *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2022; 67 (2): 115–122. doi: 10.51620/0869-2084-2022-67-2-115-122
5. Lavrent'eva I.N., Antipova A.Yu., Kamara Zh., Khoang M., Banchevich M.D., Zheleznova N.V., Bichurina M.A. Humoral immunity to rubella under vaccine prophylaxis and under conditions of natural spread of infection // *Journal of Infectology*. 2022; 14 (4, suppl. 1): 51–54.
6. Lavrentieva I.N., Bichurina M.A., Antipova A.Yu., Camara J., Hoang M., Bancevic M.D., Zheleznova N.V., Egorova S.A., Totolian A.A. A herd immunity to rubella virus in selected geographical regions // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (5): 902–908. doi: 10.15789/2220-7619-AHI-2015
7. Lavrentieva I.N., Bichurina M.A., Antipova A.Yu., Camara J., Magassouba N'F., Egorova S.A., Totolian A.A. 2019–2020 measles in the Republic of Guinea: epidemic features and herd immunity // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (6): 1179–1184. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-MIT-1739
8. Lavrentieva I.N., Hoang M., Antipova A.Yu., Bichurina M.A., Totolian A.A. Revealing measles cases in Vietnam during the spread of a new coronavirus infection // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (1): 105–112. doi: 10.15789/2220-7619-RMC-1806

Thèses

1. Antipova A.Yu., Zheleznova N.V., Lavrentieva I.N., Bichurina M.A. Detection of parvovirus B19 infection in persons with exanthem diseases in the period from 2014 to 2018 in the territories of the North-West Federal District // *Actual issues of epidemiological surveillance of infectious and parasitic diseases in the South of Russia. Ermolieva Readings: Proceedings of the interregional scientific-practical conference dedicated to the 100th anniversary of the formation of the State Sanitary and Epidemiological Service of Russia and the 125th anniversary of Zinaida Vissarionovna Ermolieva*. Ed. by T.I. Tverdokhlebova. Rostov-on-Don, 2022: 137–141.

Brevets

1. Patent No. RU 2 753 310 C2, CPC C12Q 1/68 (2021.02). Method for detecting parvovirus B19 in DNA biological material based on two step PCR. No. 2019121500; application: 08.07.2019; date of publication 13.08.2021 / Ostankova Yu.V., Khamitova I.V., Lavrenteva I.N., Semenov A.V. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. Pastera Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchiya cheloveka» (FBUN NII epidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera) (RU)

Département de Immunologie

LABORATOIRE D'IDENTIFICATION DES PATHOGÈNES

Chef du laboratoire: Alyona Svarval

Chercheurs: D. Neronskaya, R. Ferman, N. Gladych

Helicobacter pylori est l'agent pathogène humain parmi les plus répandus. L'infection à *H. pylori* atteint 60% de la population mondiale. Actuellement on observe une tendance à la baisse de prévalence de cette infection dans les pays développés (20–40%) tout en demeurant à un niveau élevé (80–90%) dans les pays en développement (Hooi et al., 2017). La bactérie *H. pylori* sert du facteur clé de l'étiopathogénèse de la gastrite chronique, de la maladie ulcéreuse gastrique et du duodénum, du lymphome de l'estomac de faible degré de malignité (maltome), mais aussi du cancer de l'estomac (Blaser MJ, Atherton JC, 2004, Atherton 2006). Le risque élevé de développement de cette pathologie est dû à l'expression des facteurs bactériens spécifiques de la virulence, avec des variables et particularités d'interaction entre l'agent pathogène et le macroorganisme (Mitchell H., Katelaris P., 2016). La population globale de *H. pylori* fait preuve d'un haut degré d'hétérogénéité génétique du fait des mutations et recombinaisons. On a défini une série de gènes associés à la virulence microbienne élevée (par ex., *vacA*, *cagA*) et on étudie leur rôle dans le développement des différentes pathologies du tube gastro-intestinal (Cao DM et al., 2016, Noto JM., 2017). On accumule les données sur l'irrégularité de la répartition géographique des différents génotypes de *H. pylori* et sur leur valeur épidémiologique (Pinto Ribeiro et al., 2016).

Notre travail se donnait comme objectif d'étudier la structure clonale de la population régionale de *H. pylori* se basant sur l'analyse de l'ensemble des propriétés phénotypiques et génétiques des souches isolées à partir des patients atteints des pathologies du tube gastro-intestinal.

Ont été effectués l'isolement et l'identification des cultures de *H. pylori* à partir des échantillons de biopsie de la muqueuse gastrique et du duodénum des patients souffrant des pathologies du tube gastro-intestinal (gastrite chronique, gastroduodénite, maladie ulcéreuse gastrique ou ulcère duodénal, néoformations malignes des différentes localisations), résidant à Saint-Pétersbourg. On a évalué la fréquence de détection et le polymorphisme des gènes *cagA*, *oipA*, *vacA* (de *s*-, *m*-, *i*-régions) des souches de *H. pylori*, isolées aux cas des différentes pathologies de la zone gastro-duodénale. Pour les souches de *H. pylori* a été défini l'éventail de la résistance phénotypique aux dérivés du nitroimidazole, aux macrolides, aux β -lactames et aux fluorquinolones utilisés dans les schémas d'éradication de l'hélicobactériose. Sur le fondement des résultats obtenus a été constituée la Base de données «Phénotypes et génotypes des souches de *Helicobacter pylori*, isolées à Saint-Pétersbourg» (date d'enregistrement 16.09.2021, Certificat No. 2021621974). Cette Base de données contient l'information sur les propriétés phénotypiques, sur l'antibiorésistance et sur l'existence des déterminants de la virulence de 60 souches de *H. pylori*, isolées à partir des malades atteints des pathologies gastro-duodénales sur le territoire de Saint-Pétersbourg, caractérisant la pré-

valence de l'antibiorésistance et les génotypes de l'agent de l'hélicobactériose dans cette région. Les données sont présentées à l'aide du code binaire (1/0 — présence/absence de l'indice, +/- — présence/absence du gène, S/R/NA — sensible/résistant/n'était pas défini, respectivement). Le tableau de la Base de données «Phénotypes et génotypes des souches de *Helicobacter pylori*, isolées à Saint-Pétersbourg» est présenté au format Microsoft Excel (3 planches de 62 lignes, respectivement de 5,6 et 8 colonnes). Cette Base de données est réservée à la conservation et à l'analyse des renseignements sur la prévalence des génotypes, de même que sur l'antibiorésistance des souches d'*H. pylori* isolées à Saint-Pétersbourg. Elle peut être utilisée pour l'étude de la variété globale et des particularités régionales des souches d'*H. pylori*, pour les recherches dans le domaine d'épidémiologie et de gastro-entérologie, dans l'analyse génétique et dans le système de surveillance épidémiologique.

Le polymorphisme du gène *babA2* a été évalué par la comparaison des séquences obtenues avec la base de génomes séquencés des souches d'*H. pylori* utilisant la ressource BLAST (angl. Basic Local Alignment Search Tool), NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Le degré de parenté génétique entre les souches sur la base du polymorphisme du fragment du gène *babA2* a été évalué avec utilisation de l'algorithme Neighbour joining et représenté en graphie sous forme d'un dendrogramme construit à l'aide du programme MEGA v. X. L'analyse des produits d'amplification avec utilisation de deux kits d'amorces pour détection des fragments du gène *babA2* de la taille de 832 p.n. et 271 p.n. a révélé les disparités dans les souches de *H. pylori* de ce groupe randomisé. La plus grande part de souches *babA2*-positives, 90,4% (47/52), a été révélée avec utilisation du kit d'amorces pour détection du produit d'amplification de la taille de 271 p.n. La détection du produit PCR de la taille de 832 p.n. n'a été observée que dans 51,9% de cas (27/52). Vingt-et-une souche d'*H. pylori* s'est avérée *babA2*-négative en utilisant le kit d'amorces de 832 p.n., mais ces souches ont été *babA2*-positives en utilisant le kit d'amorces de 271 p.n. Le kit de détection de 271 p.n. a donné le résultat négatif pour une des souches de 832 p.n. — positives d'*H. pylori*. Nos recherches ont démontré qu'aucun des kits d'amorces (271 p.n., 832 p.n.) n'est assez fiable pour détecter le gène *babA2* dans les isolats cliniques d'*H. pylori*. Les données obtenues posent la question de l'opportunité d'utilisation des kits d'amorces amplifiant les fragments de 271 p.n. et 832 p.n. pour la détection du gène *babA2* en but d'évaluer la virulence des souches russes d'*H. pylori*. La corrélation entre la détection de *babA2*+/*cagA*+/*vacA*s1+ souches d'*H. pylori* et les différentes manifestations cliniques de l'infection à *H. pylori* n'a pas été statistiquement significative. Sur le fondement des données obtenues au cours des travaux de recherche le 22.09.22 dans la GenBank ont été déposées les séquences nucléotidiques du gène *babA H. py-*

lori: BankIt2625127 *Helicobacter* OP499946, BankIt2625962 *Helicobacter* OP499947. Les données peuvent être utilisées pour l'étude de la variété globale et des particularités ré-

gionales des souches d'*H. pylori*, dans les recherches en épidémiologie et gastro-entérologie, dans l'analyse génétique et dans le système de contrôle épidémiologique.

Publications

Articles

1. Ermolenko E.I., Molostova A.S., Baryshnikova N.V., Svarval A.V., Gladyshev N.S., Kashchenko V.A., Suvorov A.N. The clinical effectiveness of probiotics and autoprobiotics in treatment of *Helicobacter pylori*-associated dyspepsia // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (4): 726–734. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-TCE-1927
2. Gladyshev N., Taame M., Ibiliev A., Grukhin Y., Kravtsov V. Colonization by Various Morphological Forms of *Helicobacter pylori* in the Gingival Sulcus and Antrum of the Stomach // *Recent. Adv. Antiinfect. Drug Discov*. 2022; 17 (3): 199–211. doi: 10.2174/2772434417666220903093339
3. Sorokin V.M., Svarval A.V., Vodop'janov A.S., Pisanov R.V. Geographical diversity of *Helicobacter pylori* strains circulating in the European Part of the Russian Federation // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (4): 701–706. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-GDO-1590
4. Starkova D.A., Svarval A.V. Phylogenetic structure of the global population of *Helicobacter pylori* // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (6): 1009–1018. doi: 10.15789/2220-7619-PPO-1991
5. Svarval A.V., Starkova D.A., Ferman R.S., Narvskaya O.V. Genetic polymorphisms of *Helicobacter pylori* clinical isolates in St. Petersburg, Russia // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (2): 315–322. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-GPO-1744
6. Svarval A.V., Starkova D.A., Ferman R.S. Detection of the *babA2* adhesin protein gene in *Helicobacter pylori* clinical isolates // *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2022; 67 (9): 538–543. (In Russ.) doi: 10.51620/0869-2084-2022-67-9-538-543
7. Svarval A.V., Starkova D.A., Ferman R.S. Virulence determinants and genotypes of *Helicobacter pylori* clinical isolates // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022; 99 (6): 692–700. doi: 10.36233/0372-9311-298
8. Uspenskiy Y.P., Baryshnikova N.V., Suvorov A.N., Svarval A.V. *Helicobacter pylori* infection and inflammatory bowel diseases // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (1): 68–78. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-HPI-1510

Thèses

1. Ermolenko E., Fetin P., Zorin I., Svarval A., Ferman R., Orlova V., Gladyshev N. Development of new synthetic surfactants with anti-*Helicobacter* effect // *Microb. Health Dis*. 2021; (3): 45–46. doi: 10.26355/mhd_20219_612
2. Svarval A., Starkova D., Ferman R. Prevalence of *Helicobacter pylori* *cagA*, *vacA*, *oipA* and *iceA* genotypes in Russian patients with gastroduodenal diseases // *Microb. Health Dis*. 2021; (3): 75 doi: 10.26355/mhd_20219_612
3. Svarval A.V., Starkova D.A., Ferman R.S., Narvskaya O.V. Genomic polymorphism of clinical isolates of *Helicobacter pylori* // *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2021; 31 (5): 15.
4. Svarval A.V., Starkova D.A., Ferman R.S. Identification of the *baba2* adhesion protein gene in clinical isolates of *Helicobacter pylori* // *Problems of Medical Mycology*. 2022; 24 (2): 127–128.

Oral report

1. Svarval A.V., Starkova D.A., Ferman R.S., Narvskaya O.V. Genomic polymorphism of clinical isolates of *Helicobacter pylori* // 27th United Russian Gastroenterology Week October 18–20, 2021, Moscow, online.

Poster reports

1. Ermolenko E., Fetin P., Zorin I., Svarval A., Ferman R., Orlova V., Gladyshev N. Development of new synthetic surfactants with anti-*Helicobacter* effect. // *European Helicobacter and Microbiota Study Group EHMSG 34th International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer*. Virtual conference. September 18, 2021
2. Svarval A., Starkova D., Ferman R. Prevalence of *Helicobacter pylori* *cagA*, *vacA*, *oipA* and *iceA* genotypes in Russian patients with gastroduodenal diseases. // *European Helicobacter and Microbiota Study Group EHMSG 34th International Workshop on Helicobacter & Microbiota in Inflammation & Cancer*. Virtual conference. September 18, 2021
3. Svarval A.V., Starkova D.A., Ferman R.S. Identification of adhesion protein *babA2* in clinical isolates of *Helicobacter pylori* // VI All-Russian Congress on Medical Microbiology, Clinical Mycology and Immunology, IX Russian-Chinese Conference on Medical Microbiology, Immunology and Pharmacology, XXV Kashkin's Readings, June 8–10, 2022, St. Petersburg, Russia

LABORATOIRE D'IMMUNOLOGIE MOLÉCULAIRE (DU PÔLE D'USAGE COLLECTIF)

Chef du laboratoire: Areg Totolian

Chercheurs: E. Zueva, N. Arsentieva, N. Lyubimova, O. Batsunov, Z. Korobova

L'équipe du laboratoire continue de participer à divers projets de recherche.

Dans le projet «**Système de cytokines/chimiokines dans les infections bactériennes et virales: pathogène, diagnostic et thérapie**», le contenu en cytokines et chimiokines impliqué dans la réponse immunitaire antivirale dans le sang périphérique des patients atteints de l'hépatite chronique virale B (HCVB) et de l'hépatite chronique virale C (HCVC), y compris des groupes de patients aux différents stades de fibrose hépatique, et de patients atteints d'une nouvelle infection à coronavirus, est étudié et analysé de manière comparative. Sont étudiés les mécanismes de la chronicisation et les particularités de la réponse immunitaire contre les virus de l'hépatite B et de l'hépatite C. Le travail a comme but d'étudier l'expression des récepteurs de chimiokine sur différentes sous-populations de lymphocytes. Une étude plus approfondie de l'expression des récepteurs de chimiokines et des marqueurs d'activation à la surface des cellules clés du système immunitaire impliquées dans le contrôle de l'infection virale permettra de mieux comprendre les mécanismes d'interaction entre le micro-organisme et le système immunitaire de l'hôte. Sur la base des résultats de l'étude, une méthode a été mise au point pour différencier le dévelop-

pement de la fibrose initiale (F0–F1) chez les patients atteints de l'HCVB ou de l'HCVC. Cette méthode permet de séparer les patients atteints de l'HCVB de ceux atteints de l'HCVC grâce à la détection de trois cytokines (CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2, IFN γ) dans le plasma (Fig. 19).

Des travaux sont également en cours pour déterminer la teneur en cytokines/chimiokines dans le plasma sanguin des patients atteints des lésions hépatiques auto-immunes. Les résultats de la recherche scientifique sur ce sujet ont été approuvés lors de différentes conférences scientifiques.

En collaboration avec l'Université de médecine pédiatrique de Saint-Petersbourg, nous avons étudié la teneur en chimiokines dans le plasma sanguin des patients atteints d'hépatite C. Les patients ont été divisés en deux groupes: ceux présentant une pathologie concomitante (maladies gastro-intestinales et pancréatiques, maladies du système cardiovasculaire et pathologie du système endocrinien et du métabolisme) et d'autres ne présentant pas de pathologie concomitante. Les concentrations de cytokines/chimiokines TNF α , IFN γ , CCL20/MIP-3 α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/ITAC dans le plasma sanguin ont été déterminées par l'analyse multiplex xMAP («Luminex») à l'aide des systèmes de test commerciaux Milliplex MAP (Millipore) (États-Unis) basés sur les

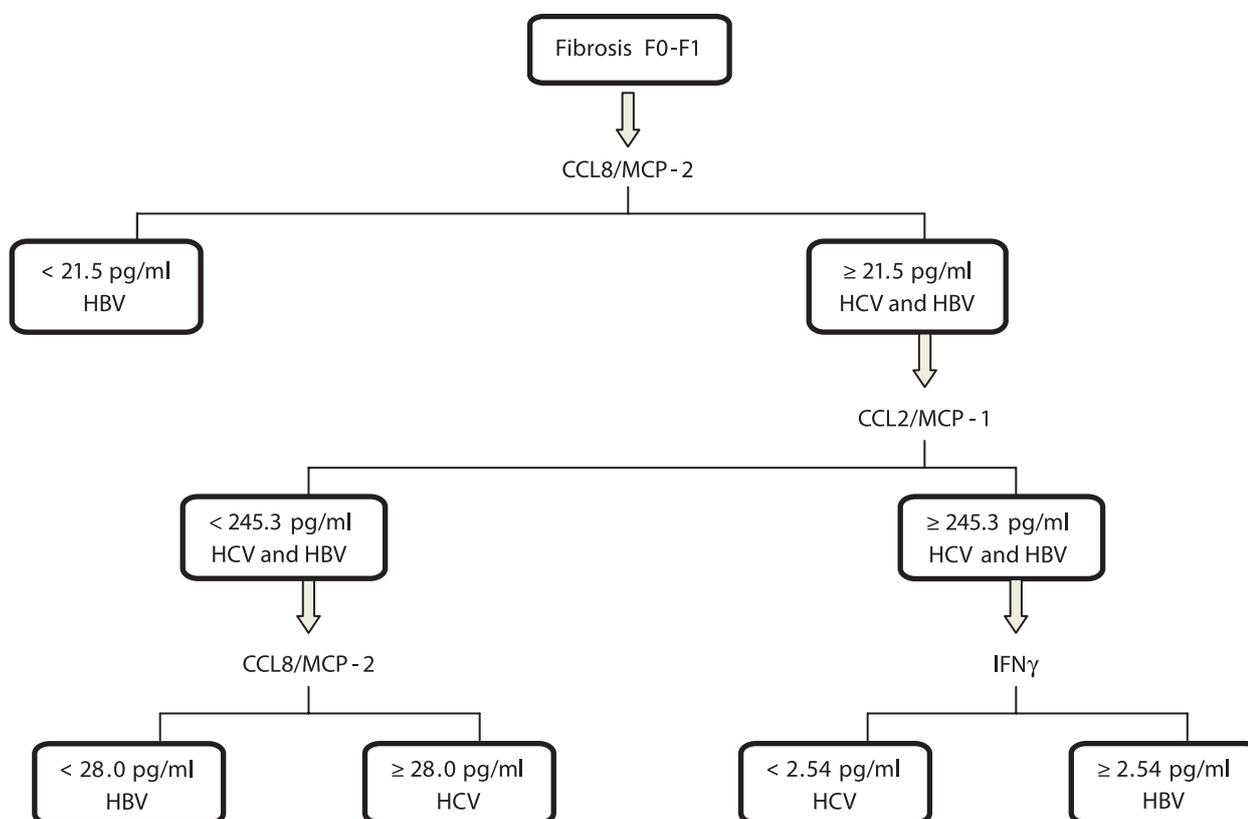


Figure 19. Algorithme de séparation des patients atteints de l'HCVB de ceux atteints de l'HCVC aux stades de fibrose hépatique F0-F1 en fonction des cytokines CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2 et IFN γ

microsphères magnétiques Milliplex Mag (États-Unis). Le profil des cytokines a montré des concentrations élevées de chimiokines CCL20/MIP-3 α et CXCL9/MIG dans le groupe de patients présentant une pathologie associée par rapport aux patients n'en présentant pas, et une prédominance de la concentration de chimiokines CCL20/MIP-3 α chez les patients présentant une pathologie endocrinienne, y compris les diabètes de type 1 et 2. Les réponses cellulaires immunitaires innées et adaptatives étaient le plus gravement déprimées dans le groupe de patients atteints du HCVC et ayant des antécédents de comorbidité.

Dans le cadre de la coopération scientifique et technique russo-guinéenne, les chercheurs du laboratoire étudient la prévalence des marqueurs sérologiques et biologiques moléculaires de l'hépatite virale (A, B, C, D, E) et du VIH chez les résidents de la République de Guinée en bonne santé et dans les groupes de risque. L'analyse de la structure génotypique/sous-génotypique et des mutations des virus identifiés est en cours.

Les études menées dans le cadre de la coopération russo-vietnamienne se concentrent également sur des maladies socialement significatives, telles que l'hépatite virale et le VIH. Les travaux se poursuivent pour évaluer la prévalence des marqueurs de l'hépatite virale entérique

et parentérale et pour analyser la structure génétique des virus de l'hépatite et du VIH au Viêt Nam.

En outre ont été déterminées les concentrations des chimiokines/cytokines dans le sang périphérique des patients atteints du COVID-19 et des personnes guéries, ainsi que chez les patients atteints de différents variants du coronavirus (Wuhan, Alpha, Delta, Omicron). Pour la première fois, il a été démontré que la phase de convalescence après l'infection par le SARS-CoV-2 est caractérisée par un niveau significativement réduit de cytokines régulant la différenciation cellulaire, l'hématopoïèse, en particulier la composante lymphocytaire (lymphocytes T, cellules NK) qui est absente dans la phase aiguë de la maladie. Ainsi, la phase de convalescence est caractérisée par les niveaux réduits de la plupart des cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires étudiées dans le plasma sanguin, et la phase aiguë par leur augmentation significative. Sur la base de données obtenues sur les niveaux de cytokines IL-6 et IL-18 dans le plasma sanguin des patients atteints d'une nouvelle infection par le coronavirus COVID-19, a été mis au point l'algorithme permettant de prédire l'issue de la phase aiguë de la maladie. En outre ont été révélées pour la première fois les différences dans le profil des cytokines chez les patients infectés par différents variants du SARS-CoV-2 (Wuhan, Alpha, Deitha, Omicron) (Fig. 20).

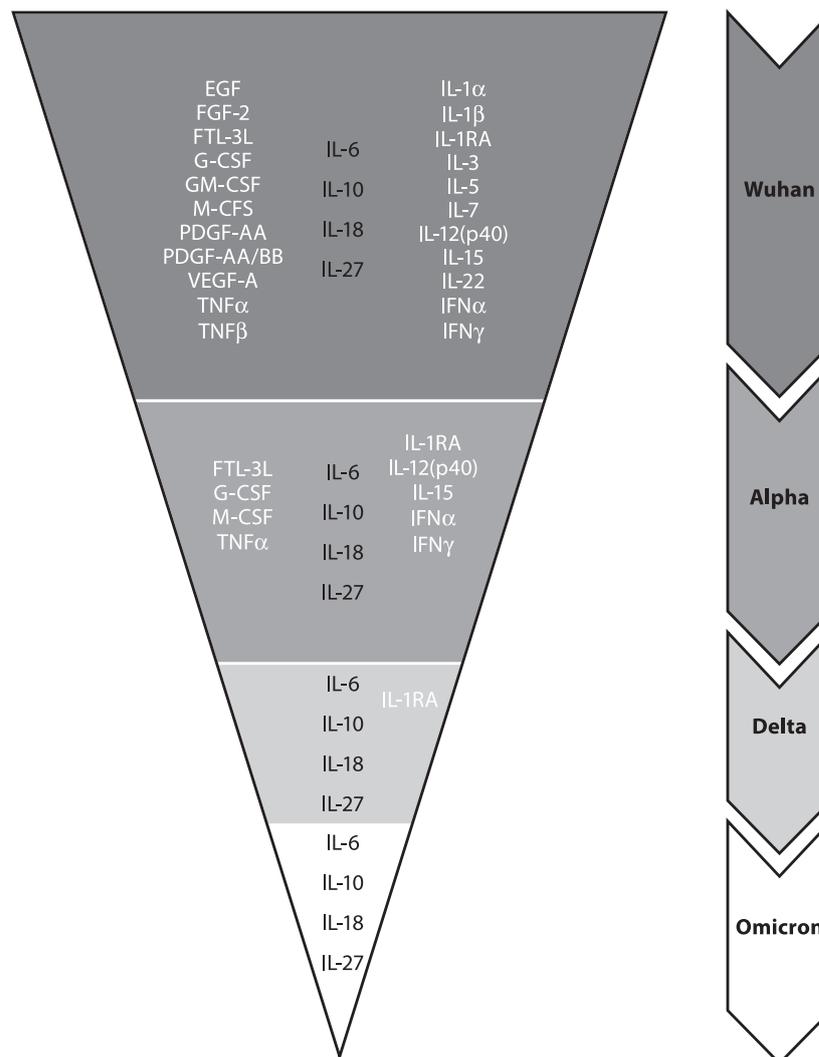


Figure 20. Eventail des cytokines pour lesquelles ont été constatés des changements statistiquement significatifs ($p < 0,01$) par rapport au groupe de donneurs en bonne santé ($n = 51$). Chaque couleur représente un des quatre variants de SARS-CoV-2



Figure 21. Kit de réactants pour la quantification immuno-enzymatique d'anticorps humains de classe IgG contre la protéine N SARS-CoV-2 (N-CoV-2-IgG PS), certificat d'enregistrement n° RZN 2022/16633, délivré le 02.03.2022

Il convient donc de noter que l'hypercytokinémie et les tempêtes de cytokines deviennent moins menaçantes à mesure que de nouvelles mutations du génome viral apparaissent. Ceci dit, certaines cytokines, qui ont été étudiées en tant que biomarqueurs potentiels, perdent leur valeur diagnostique au fur et à mesure que le virus évolue. L'éventail des marqueurs potentiels se réduit au fur et à mesure que le virus évolue. Toutefois, les IL-6, IL-18, IL-10 et IL-27 peuvent encore être considérés comme des marqueurs diagnostiques de la nouvelle infection par le coronavirus.

À l'Institut d'épidémiologie et de microbiologie Pasteur de Saint-Petersbourg a été conçu un kit de réactants «N-CoV-2-IgG PS» pour la détermination quantitative des IgG humaines à la protéine N SARS-CoV-2 (certificat d'enregistrement temporaire du Roszdravnadzor No. RZN 2021/1485) (Fig. 21).

Le kit N-CoV-2-IgG PS présente les caractéristiques fonctionnelles suivantes: la sensibilité analytique tenant compte de la dilution de 1:100 était de 3 BAU/ml, les concentrations d'anticorps IgG dans trois échantillons de sérum sanguin lors de leur dilution proportionnelle avec des échantillons à vide étaient linéaires dans la plage de 837–17 BAU/ml, la précision de la mesure étant de 90–110% et la limite de quantification étant de 16,0 BAU/ml. Lors du test du kit, il a été démontré qu'il existait une bonne relation de corrélation entre les anticorps liant les protéines N et la comparabilité du kit développé avec le test de neutralisation du virus SRAS-CoV-2. La vérification de la cohérence entre les tests a révélé l'informativité et l'efficacité du kit développé, ce qui a confirmé son potentiel pour le dépistage des anticorps IgG chez les patients atteints de COVID-19 et son utilisation dans des études de population à grande échelle pour évaluer la séroprévalence à COVID-19 dans différentes populations. L'efficacité de l'ensemble développé était de 95% et les valeurs prédictives positives et négatives étaient de 97 et 87%.

En outre, à l'aide d'une technique spéciale pour l'analyse immuno-enzymatique en laboratoire, pour la première fois a été comparée la dynamique de la concentration des sous-classes d'IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) dans le plasma sanguin des patients atteints d'une nouvelle infection par le coronavirus. Des différences statistiquement significatives dans les concentrations des différentes sous-classes d'IgG ont été observées entre les formes légères et les formes plus sévères de l'infection. L'analyse de corrélation

a révélé une association positive entre les concentrations des sous-classes d'IgG et la gravité de la maladie. L'IgG3 a montré le changement de concentration le plus significatif en réponse à COVID-19 (Fig. 22).

Dans le cadre du projet «**Étude des mécanismes de constitution de la réponse immunitaire à une nouvelle infection à coronavirus, causée par le SARS-CoV-2 dans la population du District Fédéral du Nord-Ouest**», la séroprévalence est étudiée sur 26 territoires modèles de la Fédération de Russie au cours des deux années de propagation de la nouvelle infection à coronavirus en utilisant une méthodologie unifiée développée par Rospotrebnadzor avec la participation de l'Institut d'épidémiologie et de microbiologie Pasteur de Saint-Petersbourg. (Fig. 23).

La méthode consiste à former un groupe de volontaires sur un territoire modèle de la Fédération de Russie, chez lesquels ont été déterminés les anticorps à la nucléocapside (Nc) du virus SARS-CoV2 dans le plasma sanguin veineux par la méthode immuno-enzymatique (ELISA). Pour la première fois, le niveau et la structure de l'immunité de la population contre le SARS-CoV-2 ont été déterminés dans la population de la Fédération de Russie, y compris dans la population de Saint-Petersbourg et de l'oblast de Leningrad, au cours de la propagation intense de COVID-19. Une tendance à l'augmentation de la séropositivité Nc au cours des premières étapes de la séro-surveillance a été observée, avec une diminution au cours des étapes suivantes chez les enfants et les adultes. La proportion de cas RBD séropositifs a augmenté régulièrement au cours de toutes les étapes de la séro-surveillance. La surveillance a révélé une augmentation statistiquement significative des anticorps anti-RBD ainsi qu'une diminution statistiquement significative de la proportion de personnes séropositives pour le Nc. Cette dynamique était particulièrement caractéristique pour des personnes vaccinées avec GamCOVIDVac. Avant l'utilisation des vaccins spécifiques on observait une séroprévalence des anticorps anti-Nc. Après l'administration du vaccin GamCOVIDVac, chez les adultes a été observée une diminution des taux d'anticorps anti-Nc en raison d'une augmentation de la proportion de personnes séropositives pour le RBD. Chez les enfants résidant en Fédération de Russie, on a constaté une prédominance statistiquement significative des anticorps anti-RBD sur les anticorps anti-Nc et leur contribution majeure au niveau de l'immunité humorale contre le SARS-CoV-2. Les résultats présentés démontrent le rôle important de la vaccination dans la formation de l'immunité grégaire.

Actuellement sont en cours les études sur l'immunité de population à une nouvelle infection par le coronavirus dans des conditions de pandémie dans les populations des républiques de Kazakhstan, de Turkménistan, de Kirghizistan, d'Ouzbékistan et de Belarus (Fig. 24).

En collaboration avec l'Institut de médecine expérimentale, les sous-populations des cellules de mémoire B et cellules T ont été examinées par la cytométrie de flux chez des patients atteints de COVID-19 et chez les reconvalescents. Les patients en phase aiguë de COVID-19 présentaient un niveau réduit de sous-populations des cellules de mémoire B et une proportion accrue de précurseurs des cellules plasmiques par rapport aux patients en voie de convalescence. Dans le même temps, le taux de plasmoblastes/plasmocytes circulants était plus élevé. En outre, les patients atteints de COVID-19 présentaient un pourcentage plus élevé de sous-populations des cel-

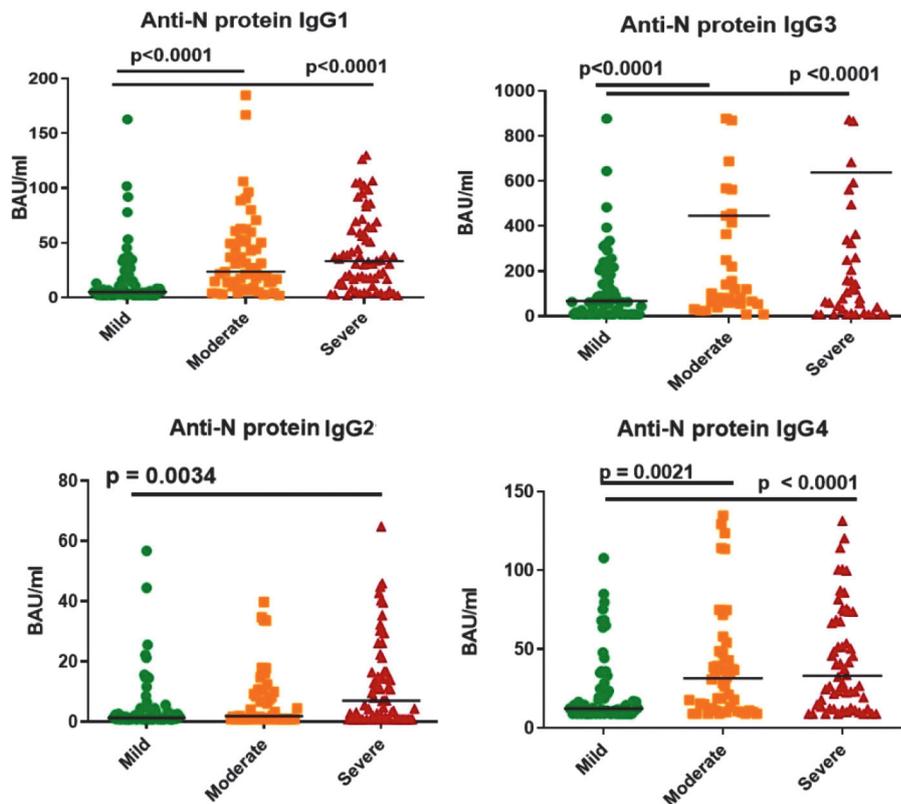


Figure 22. Différences des concentrations de sous-classes spécifiques d'IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) à la protéine N SARS-CoV-2 en fonction de la gravité de la maladie

lules B activées — plasmoblastes circulants et cellules B transitoires — par rapport aux donneurs en bonne santé. Pendant la phase aiguë de COVID-19, le nombre de cellules du type Tfh1 (CXCR3+CCR6-) était réduit et celui de cellules du type Tfh17 (CXCR3-CCR6+) augmenté par rapport aux cellules des patients témoins et des convalescents (Fig. 25). Les deux groupes de patients présentaient une distribution

aberrante des sous-ensembles circulants de cellules mémoires Tfh, qui pourrait être liée à une distribution anormale des cellules B dans le sang périphérique.

En outre, le laboratoire continue à étudier le statut immunitaire des patients atteints d'immunodéficience primaire et secondaire. A été élaborée une méthode de haute sensibilité pour évaluation en laboratoire du sta-

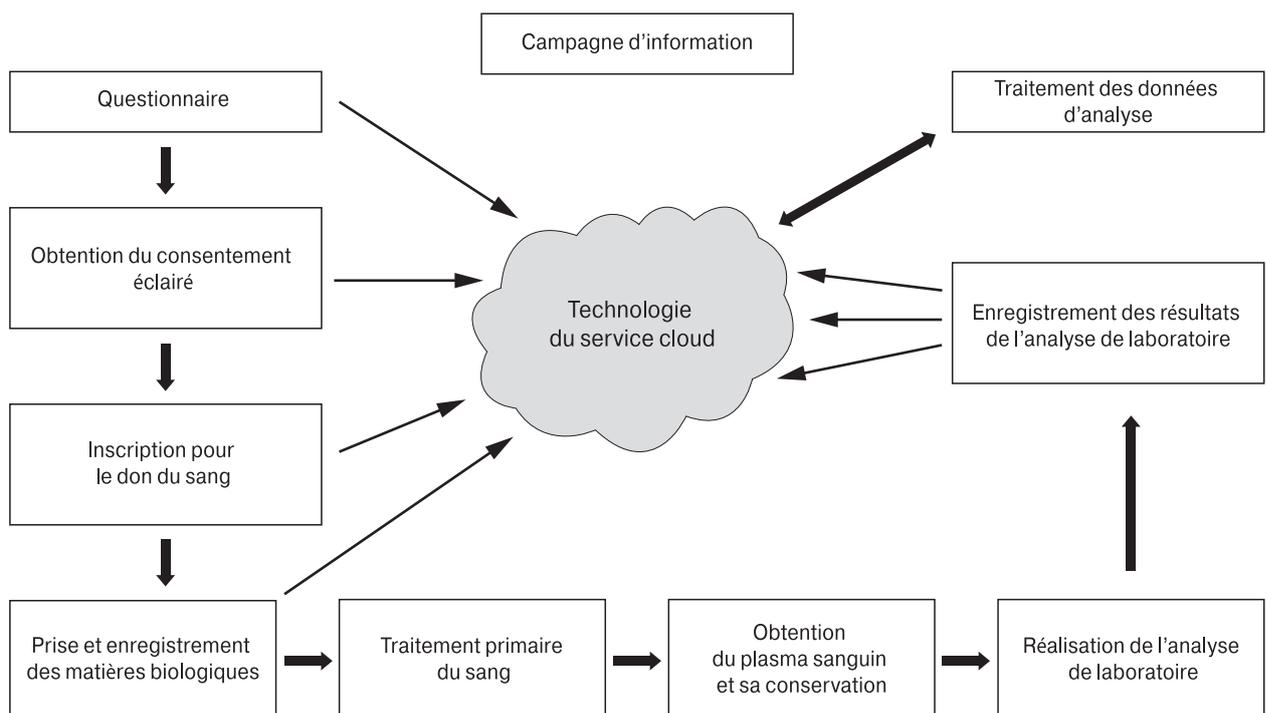


Figure 23. Algorithme pour la mise en œuvre des étapes de l'évaluation de l'immunité de la population à l'aide du service cloud

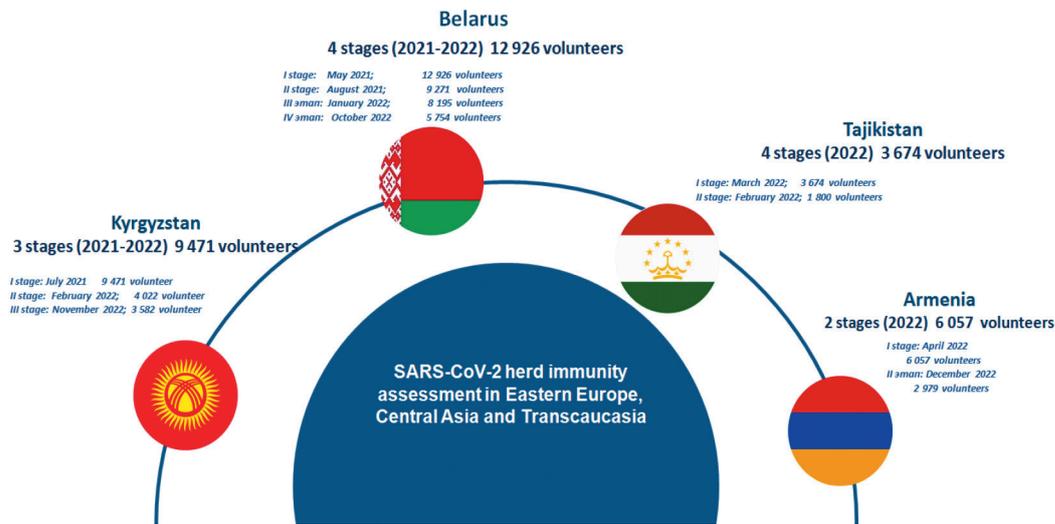


Figure 24. Résumé de l'étude sur l'immunité grégaire en Europe de l'Est, en Asie centrale et en Transcaucasie

tut immunitaire des patients à l'aide de la PCR en temps réel, basée sur la définition des concentrations des cercles d'excision TREC et KREC chez les enfants et les adultes. Ont été déterminés les intervalles de référence pour la teneur en TREC et KREC dans le sang périphérique des habitants de Saint-Petersbourg. À cette fin, nous avons utilisé les échantillons de sang total prélevés auprès de 717 volontaires conventionnellement en bonne santé, âgés de 0 à 108 ans, dans le cadre du programme d'évaluation de l'immunité grégaire de Saint-Petersbourg. La quantifi-

cation des fragments d'ADN TREC et KREC cibles a été réalisée à l'aide d'un kit de réactifs pour la quantification des cercles d'excision TREC et KREC par méthode de réaction en chaîne par polymérase avec détection en temps réel. Les intervalles de référence ont été déterminés par la méthode directe conformément aux recommandations de la Fédération internationale de chimie clinique et à la norme nationale (GOST) R 53022.3-2008. Dans le cadre de l'étude les volontaires ont été répartis en six catégories d'âge: 18-29 ans, 30-39 ans, 40-49 ans, 50-59 ans, 60-69 ans

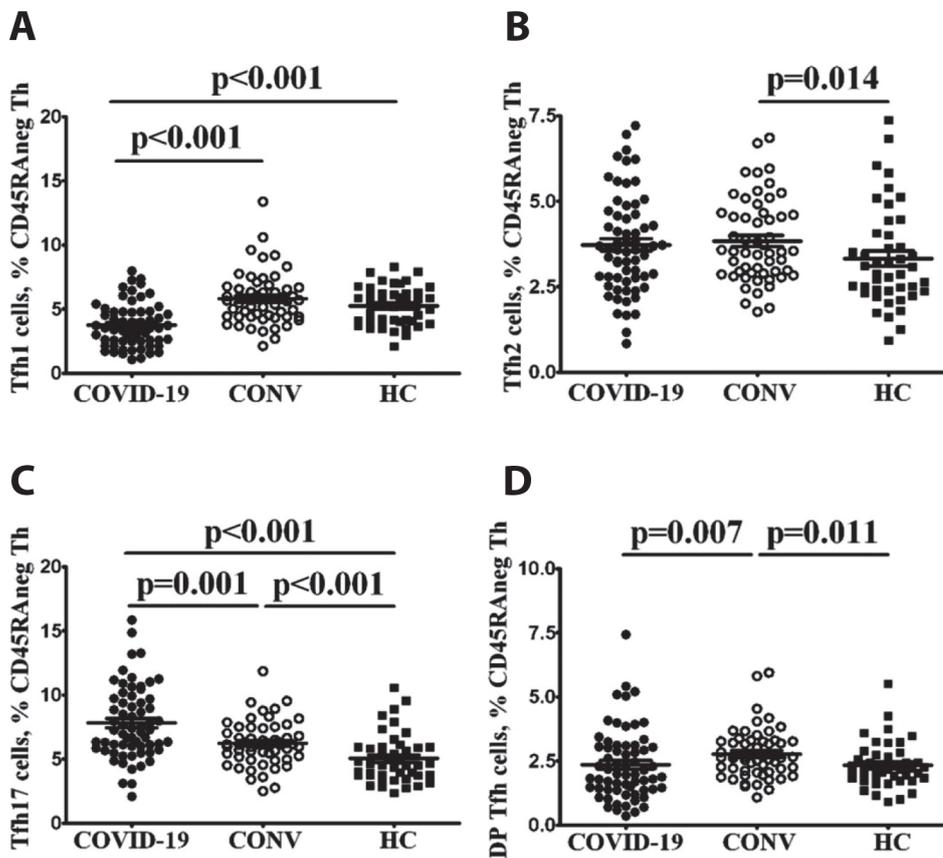


Figure 25. Déséquilibre du système de cellules Tfh chez les patients atteints de l'infection aiguë à coronavirus, chez les reconvalescents et les donneurs en bonne santé, en fonction de la sous-population cellulaire (Tfh1, Thf2, Thf17, Tfh double positif)

et plus de 70 ans. L'analyse de corrélation a révélé une corrélation négative entre la concentration des molécules TREC dans les échantillons de sang et l'âge des participants de l'étude. Des disparités authentiques des niveaux de TREC ont été révélées entre les différents groupes d'âge. Aucune corrélation n'a été établie entre la teneur en molécules KREC des échantillons sanguins et les différences entre les catégories d'âge. Des intervalles de référence des niveaux de TREC ont été déterminés pour chaque catégorie d'âge sélectionnée. Un seul intervalle de référence pour les niveaux de KREC a été établi pour tous les groupes. Les résultats obtenus, qui ont permis d'établir des intervalles de référence pour les niveaux de TREC et de KREC chez les adultes, contribueront à un diagnostic de laboratoire personnalisé efficace des conditions d'immunodéficience de genèse diverse.

Le laboratoire poursuit l'étude de la nature génétique des immunodéficiences primaires. Il existe un besoin évident d'identifier des gènes candidats susceptibles de conduire au développement d'une immunodéficience primaire particulière. L'angio-œdème héréditaire (AOH) est une maladie rare génétiquement déterminée qui s'accompagne d'un œdème récurrent des tissus mous et des sous-muqueuses qui met la vie des patients en danger. On a réalisé une analyse bioinformatique des gènes candidats pour le développement/pathogenèse de l'AOH. Un groupe de gènes dont les mutations ont été significativement associées à l'AOH a été utilisé comme base d'analyse: SERPING1, F12, PLG, ANGPT1, KNG1, MYOF, HS3ST6. Nous avons utilisé plusieurs ressources web, telles que HumanNetv3, GeneMania et FUMA GWAS en mode GENE2FUNC pour construire des réseaux génétiques et protéiques et identifier le contexte biologique des gènes candidats sélectionnés. Nous avons obtenu des données sur la localisation d'une protéine particulière dans les composants cellulaires à partir de la localisation extracellulaire (HSPG2, SDC3, F2, SERPING1, KRT1, GPC5, GPC6, THBS1, IGFALS, SERPINF2,

GP1BA, APOH, LAMA3, ELANE, GPC1, CLEC3B, HRG, GPC2, PCOLCE, SERPINE1, SDC2, MATN2, GPC4, GPC3 jusqu'à la disposition dans des granules spécifiques des cellules (PLAU, ELANE, PLAUR, CD93). Cependant dans la plupart des composants cellulaires, les protéines SERPING1, KNG1, PLG, F12 sont largement représentées, avec des mutations associées aux types les plus courants de d'AOH. Pour la première fois ont été identifiés 100 gènes candidats potentiels, dont les mutations peuvent être associées à l'AOH. A été déterminé le contexte biologique des gènes identifiés. Les données sur le contexte biologique, les interactions génétiques et protéine-protéine ont permis d'exclure un certain nombre de gènes de la liste des participants les plus probables à la pathogenèse et de diviser les gènes restants en groupes ayant un potentiel d'implication plus ou moins important.

Le Centre à usage collectif «Cytométrie et biomarqueurs», basé au Laboratoire d'immunologie moléculaire, mène une collaboration scientifique avec les organismes suivants de Saint-Petersbourg:

- «Institut de médecine expérimentale» (Département d'immunologie);
- «Université d'État de médecine pédiatrique de Saint-Petersbourg» (Département des maladies infectieuses des adultes et de l'épidémiologie);
- «Université d'État médicale I.P. Pavlov de Saint-Petersbourg» (Département des maladies infectieuses, pneumologie, oto-rhino-laryngologie, centre de médecine moléculaire) (Université Pavlov);
- Académie militaire de médecine S.M. Kirov (Département des maladies infectieuses).

Deux thèses de candidat en sciences biologiques planifiées sont en état de rédaction par leurs postulants chercheurs du laboratoire.

Le collectif du laboratoire participe activement à la présentation des résultats scientifiques dans le cadre des principales conférences russes et internationales.

Publications

Articles

1. Arsentieva N., Liubimova N., Batsunov O., Korobova Z., Kuznetsova R., Rubinstein A., Stanevich O., Lebedeva A., Vorobyov E., Vorobyova S., Kulikov A., Gavrilova E., Pevtsov D., Polushin Yu., Shlyk I., Totolian A. Predictive value of specific cytokines for lethal COVID-19 outcome // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (5): 859–868. doi: 10.15789/2220-7619-PVO-2043
2. Arsentieva N.A., Liubimova N.E., Batsunov O.K., Korobova Z.R., Stanevich O.V., Lebedeva A.A., Vorobyov E.A., Vorobyova S.V., Kulikov A.N., Lioznov D.A., Sharapova M.A., Pevtsov D.E., Totolian A.A. Plasma cytokines in patients with COVID-19 during acute phase of the disease and following complete recovery // *Medical Immunology (Russia)*. 2021; 23 (2): 311–326. (In Russ.) doi: 10.15789/1563-0625-PCI-2312
3. Bakin E.A., Stanevich O.V., Chmelevsky M.P., Belash V.A., Belash A.A., Savateeva G.A., Bokina V.A., Arsentieva N.A., Sayenko L.F., Korobkov E.A., Lioznov D.A., Totolian A.A., Polushin Y.S., Kulikov A.N. A novel approach for COVID-19 patient condition tracking: from instant prediction to regular monitoring // *Front. Med. (Lausanne)*. 2021; 8: 744652. doi: 10.3389/fmed.2021.744652
4. Basina V.V., Arsent'eva N.A., Novak K.E., Totolian A.A. Chemokine receptors and their ligands in peripheral blood of patients with chronic hepatitis C and aggravated comorbid background // *Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences*. 2022; (126): 15–24. doi: 10.34680/2076-8052.2022.1(126).15-24
5. Korobova Z.R., Arsentieva N.A., Liubimova N.E., Batsunov O.K., Dedkov V.G., Gladkikh A.S., Sharova A.A., Adish Z., Chernykh E.I., Kaschenko V.A., Ratnikov V.A., Gorelov V.P., Stanevich O.V., Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Totolian A.A. Cytokine profiling in different SARS-CoV-2 genetic variants // *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23 (22): 14146. doi: 10.3390/ijms232214146
6. Korobova Z.R., Arsentieva N.A., Liubimova N.E., Dedkov V.G., Gladkikh A.S., Sharova A.A., Chernykh E.I., Kashchenko V.A., Ratnikov V.A., Gorelov V.P., Stanevich O.V., Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Totolian A.A. A Comparative Study of the Plasma Chemokine Profile in COVID-19 Patients Infected with Different SARS-CoV-2 Variants // *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23 (16): 9058. doi: 10.3390/ijms23169058
7. Korobova Z.R., Zueva E.V., Arsentieva N.A., Batsunov O.K., Liubimova N.E., Khamitova I.V., Kuznetsova R.N., Rubinstein A.A., Savin T.V., Stanevich O.V., Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Totolian A.A. Changes in anti-SARS-CoV-2 IgG subclasses over time and in association with disease severity // *Viruses*. 2022; 14 (5): 941. doi: 10.3390/v14050941
8. Kudryavtsev I.V., Isakov D.V., Batsunov O.K., Kuznetsova R.N., Rubinstein A.A., Stanevich O.V., Lebedeva A.A., Vorobyov E.A., Vorobyova S.V., Kulikov A.N., Sharapova M.A., Pevtsov D.E., Totolian A.A., Arsentieva N.A., Korobova Z.R., Khamitova I.V. Alterations in B cell and follicular T-helper cell subsets in patients with acute COVID-19 and COVID-19 convalescents // *Current Issues in Molecular Biology*. 2022; 44 (1): 194–205. doi: 10.3390/cimb44010014

9. Lazareva N.M., Baranova O.P., Kudryavtsev I.V., Arsentieva N.A., Liubimova N.E., Ses' T.P., Ilkovich M.M., Totolian A.A. CXCR3 chemokine receptor ligands in sarcoidosis // *Medical Immunology (Russia)*. 2021; 23 (1): 73–86. (In Russ.) doi: 10.15789/1563-0625-CCR-2181
10. Pechnikova N.A., Ostankova Yu.V., Totolian A.A. Application of bioinformatical analysis to identify candidate genes associated with hereditary angioedema // *Medical Immunology (Russia)*. 2022; 24 (5): 1027–1046. doi: 10.15789/1563-0625-AOB-2579
11. Popova A.Yu., Smirnov V.S., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Samoilo L.V., Lyalina L.V., Semenova E.V., Gurskiy M.A., Aksenova E.A., Arbuzova T.V., Totolian A.A. Herd immunity to SARS-CoV-2 in the Novosibirsk Region population amid the COVID-19 pandemic // *Problems of Virology*. 2021; 66 (4): 299–309. doi: 10.36233/0507-4088-54
12. Popova A.Yu., Andreeva E.E., Babura E.A., Balakhonov S.V., Bashketova N.S., Bulanov M.V., Valeullina N.N., Goryaev D.V., Detkovskaya N.N., Ezhlova E.B., Zaitseva N.N., Istorik O.A., Kovalchuk I.V., Kozlovskikh D.N., Kombarova S.V., Kurganova O.P., Kuttyrev V.V., Lomovtsev A.E., Lukicheva L.A., Lyalina L.V., Melnikova A.A., Mikailova O.M., Noskov A.K., Noskova L.N., Oglezneva E.E., Osmolovskaya T.P., Patyashina M.A., Penkovskaya N.A., Samoilo L.V., Smirnov V.S., Stepanova T.F., Trotsenko O.E., Totolian A.A. Features of developing SARS-CoV-2 nucleocapsid protein population-based seroprevalence during the first wave of the COVID-19 epidemic in the Russian Federation // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (2): 297–323. doi: 10.15789/2220-7619-FOD-1684
13. Popova A.Yu., Andreeva E.E., Babura E.A., Balakhonov S.V., Bashketova N.S., Bugorkova S.A., Bulanov M.V., Valeullina N.N., Goryaev D.V., Detkovskaya N.N., Ezhlova E.B., Zaitseva N.N., Istorik O.A., Kovalchuk I.V., Kozlovskikh D.N., Kombarova S.Yu., Kurganova O.P., Lomovtsev A.E., Lukicheva L.A., Lyalina L.V., Melnikova A.A., Mikailova O.M., Noskov A.K., Noskova L.N., Oglezneva E.E., Osmolovskaya T.P., Patyashina M.A., Penkovskaya N.A., Samoilo L.V., Smirnov V.S., Stepanova T.F., Trotsenko O.E., Totolian A.A. Peculiarities of SARS-CoV-2 nucleocapsid in children during the COVID-19 epidemic of 2020 // *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*. 2021; 100 (3): 97–106.
14. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Lukicheva L.A., Nikitina N.I., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Koltsov N.S., Ermakova M.V., Kubashev A.K., Kuznetsova V.V., Denisova T.V., Gurina N.V., Ziborov I.V., Gryazova I.V., Pankova N.A., Konoshkin P.I., Mikheeva N.I., Sharova A.A., Totolian A.A. Humoral immunity to SARS-CoV-2 among the population of Murmansk region amid COVID-19 epidemic // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13 (1): 17–27. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-1-17-27
15. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Smirnov V.S., Lyalina L.V., Kozlovskikh D.N., Luchinina S.V., Romanov S.V., Valeullina N.N., Dikonskaya O.V., Chirkova G.G., Malykh O.L., Ponomareva A.V., Chistyakova I.V., Kilyachina A.S., Yurovskikh A.I., Kotova A.A., Totolian A.A. Peculiarities of Seroprevalence to SARS-CoV-2 in the Population of the Middle and Southern Urals in the Early Period of the COVID-19 Pandemic. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2021; 20 (3): 8–18. (In Russ.) doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-3-8-18
16. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Smirnov V.S., Lyalina L.V., Goryaev D.V., Khodov D.A., Chepizhko T.G., Rusin M.V., Kuznetsova N.N., Bezruchko E.Yu., Kochergina A.S., Karimov V.R., Sharova A.A., Vetrov V.V., Totolian A.A. Structure of herd immunity to SARS-CoV-2 in the Krasnoyarsk region population in the COVID-19 epidemic // *Acta Biomedica Scientifica*. 2021; 6 (3): 227–238. (In Russ.) doi: 10.29413/ABS.2021-6.3.23
17. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Smirnov V.S., Lyalina L.V., Efimov E.I., Kucherenko N.S., Zaitseva N.N., Sadykova N.A., Sarskov S.A., Chekhova G.A., Arbuzova T.V., Vetrov V.V., Totolian A.A. The herd immunity to SARS-CoV-2 among the population of the Nizhny Novgorod region amid the COVID-19 epidemic // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13 (3): 30–39. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-3-30-39
18. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Trotsenko O.E., Zaitseva T.A., Lyalina L.V., Garbuz Y.A., Smirnov V.S., Lomonosova V.I., Balakhontseva L.A., Kotova V.O., Bazykina E.A., Butakova L.V., Sapega E.Y., Aleinikova N.V., Bebenina L.A., Loseva S.M., Karavyanskaya T.N., Totolian A.A. The seroprevalence of SARS-CoV-2 among residents of the Khabarovsk Krai during the COVID-19 epidemic // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021; 98 (1): 7–17. doi: 10.36233/0372-9311-92
19. Popova A.Yu., Smirnov V.S., Andreeva E.E., Arbuzova T.V., Babura E.A., Balakhonov S.V., Bashketova N.S., Bugorkova S.A., Bulanov M.V., Valeullina N.N., Goryaev D.V., Gubanov A.V., Detkovskaya N.N., Ezhlova E.B., Zhimbayeva O.B., Zaitseva N.N., Zueva E.V., Ivanov V.A., Istorik O.A., Kovalchuk I.V., Kozlovskikh D.N., Kombarova S.Y., Kurganova O.P., Lomovtsev A.E., Lukicheva L.A., Melnikova A.A., Mikailova O.M., Milichkina A.M., Noskov A.K., Noskova L.N., Oglezneva E.E., Osmolovskaya T.P., Patyashina M.A., Penkovskaya N.A., Petrova O.A., Razumovskaya A.P., Samoilo L.V., Stepanova T.F., Trotsenko O.E., Khamitova I.V., Totolian A.A. Seroprevalence of antibodies to SARS-CoV-2 in children against the background of the COVID-19 epidemic in the Russian Federation // *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*. 2022; 101 (3): 85–97. doi: 10.24110/0031-403X-2022-101-3-85-97
20. Popova A.Yu., Smirnov V.S., Andreeva E.E., Babura E.A., Balakhonov S.V., Bashketova N.S., Bugorkova S.A., Bulanov M.V., Valeullina N.N., Vetrov V.V., Goryaev D.V., Detkovskaya T.N., Ezhlova E.B., Zaitseva N.N., Istorik O.A., Kovalchuk I.V., Kozlovskikh D.N., Kombarova S.Y., Kurganova O.P., Lomovtsev A.E., Lukicheva L.A., Lyalina L.V., Melnikova A.A., Mikailova O.M., Noskov A.K., Noskova L.N., Oglezneva E.E., Osmolovskaya T.P., Patyashina M.A., Penkovskaya N.A., Samoilo L.V., Stepanova T.F., Trotsenko O.E., Totolian A.A. SARS-CoV-2 Seroprevalence Structure of the Russian Population during the COVID-19 Pandemic // *Viruses*. 2021; 13 (8): 1648. doi: 10.3390/v13081648
21. Popova A.Yu., Smirnov V.S., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Trotsenko O.E., Kurganova O.P., Detkovskaya T.N., Lyalina L.V., Abbassova E.I., Yurgina O.M., Romanova O.B., Pyatyrova E.V., Burdinskaya E.N., Solokhin A.S., Bogdan E.V., Bazykina E.A., Totolian A.A. Herd immunity to SARS-CoV-2 in the population of the Southern regions of the Far East of Russia // *Acta Biomedica Scientifica*. 2021; 6 (5): 253–273. (In Russ.) doi: 10.29413/ABS.2021-6.5.25
22. Popova A.Yu., Smolenski V.Y., Kasymov O.T., Nurmatov Z.S., Suranbaeva G.S., Kuchuk T.E., Nuridinova Z.N., Derkenbaeva A.A., Sattarova G.Z., Kaliev M.T., Smirnov V.S., Egorova S.A., Milichkina A.M., Khamitova I.V., Zueva E.V., Ivanov V.A., Drobyshevskaya V.G., Gubanov A.V., Zhimbaeva O.B., Razumovskaya A.P., Verbov V.N., Likhachev I.V., Krasnov A.V., Totolian A.A. SARS-CoV-2 herd immunity of the Kyrgyz population in 2021 // *Medical Microbiology and Immunology*. 2022; 211: 195–210. doi: 10.1007/s00430-022-00744-7
23. Popova A.Yu., Tarasenko A.A., Smolenskiy V.Yu., Egorova S.A., Smirnov V.S., Dashkevich A.M., Svetogor T.N., Glinkaya I.N., Skuranovich A.L., Milichkina A.M., Dronina A.M., Samoilovich E.O., Khamitova I.V., Semeiko G.V., Amvroseyeva T.V., Shmeleva N.P., Rubanik L.V., Esmanchik O.P., Karaban I.A., Drobyshevskaya V.G., Sadovnikova G.V., Shilovich M.V., Podushkina E.A., Kireichuk V.V., Petrova O.A., Bondarenko S.V., Salazhkov I.F., Tkach L.M., Shepelevich L.P., Avtukhova N.L., Ivanov V.M., Babilo A.S., Navysnaya M.V., Belyaev N.N., Zueva E.V., Volosar L.A., Verbov V.N., Likhachev I.V., Zagorskaya T.O., Morozova N.F., Korobova Z.R., Gubanov A.V., Totolian A.A. Herd immunity to SARS-CoV-2 among the population of the Republic of Belarus amid the COVID-19 pandemic // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (5): 887–904. doi: 10.15789/2220-7619-HIT-1798A

24. Popova A.Yu., Yezhlova E.B., Melnikova A.A., Danilova T.E., Bulanov M.V., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Totolian A.A. Analysis of seroprevalence to SARS-CoV-2 among the population of the Vladimir region during the COVID-19 epidemic // *Epidemiology and Infectious Diseases*. Current Items. 2021; 11(2): 29–35 doi: 10.18565/epidem.2021.11.2.29–35
25. Popova A.Yu., Yezhlova E.B., Melnikova A.A., Oglezneva E.E., Krasnoperov A.S., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Demin A.D., Kobrinets Zh.V., Chirkova A.Yu., Zhidkov V.A., Velitchenko D.A., Arbuzova T.V., Lomonosova V.I., Totoyan A.A. Seroprevalence to SARS-CoV-2 among the population of the Belgorod region against the background of the COVID-19 epidemic // *Epidemiology and Infectious Diseases*. Current Items. 2021; 11 (1): 18–24 doi: 10.18565/epidem.2021.11.1.18-24
26. Saitgalina M.A., Liubimova N.E., Ostankova Yu.V., Kuznetsova R.N., Totolian A.A. Determination of reference values for TREC and KREC in circulating blood of the persons over 18 years // *Medical Immunology (Russia)*. 2022; 24 (6): 1227–1236. (In Russ.) doi: 10.15789/1563-0625-DOR-2587
27. Saitgalina M.A., Ostankova Yu.V., Liubimova N.E., Semenov A.V., Kuznetsova R.N., Totolian A.A. Modified quantitative approach for assessing peripheral blood TREC and KREC levels in immunodeficient patients // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (5): 981–996. doi: 10.15789/2220-7619-MMF-2039
28. Sivolodskii E.P., Zueva E.V. Method for phenotypic identification of *Acinetobacter nosocomialis* bacteria // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (3): 591–596. doi: 10.15789/2220-7619-MFP-1422
29. Smirnov V.S., Lyalina L.V., Milichkina A.M., Khamitova I.V., Zueva E.V., Ivanov V.A., Zaguzov V.S., Totolian A.A. Longitudinal Randomized Cohort Study of SARS-CoV-2 Antibody Seroprevalence in the St. Petersburg Population // *Viruses*. 2022; 14 (5): 913. doi: 10.3390/v14050913
30. Zueva E.V., Belyaev N.N., Verbov V.N., Likhachev I.V., Bachinin I.A., Khamitova I.V., Korobova Z.R., Arsentieva N.A., Totolian A.A. Characterizing a «N-CoV-2-IgG PS» diagnostic kit to quantify SARS-CoV-2 nucleocapsid protein-specific human IgG antibodies // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (4): 771–778. doi: 10.15789/2220-7619-CAN-1904

Brevets

1. Arsentieva N.A., Lyubimova N.E., Batsunov O.K., Korobova Z.R., Kuznetsova R.N., Rubinstein A.A., Stanevich O.V., Lebedeva A.A., Vorobyev E.A., Vorobyeva S.V., Kulikov A.N., Gavrilova E.G., Polushin Y.S., Shlyk I.V., Totolian A. A. Method of predicting the outcome of acute illness caused by a new coronavirus infection COVID-19. Application: 2021122630, 07/28/2021. Patent No. 2766347. Patentee: Saint-Petersburg Pasteur Institute. The date of the start of the patent validity period: 8.07.2021. Registration date: 03/15/2022. Published: 03/15/2022
2. Batsunov O.K., Semenov A.V., Arsentieva N.A., Lyubimova N.E., Ostankova Yu.V., Esaulenko E.V., Totolian A.A. Method of differentiation of the causes of liver fibrosis of the initial level in chronic viral Hepatitis B and C. Application No. 2019141709/10(081287). Patentee: Saint-Petersburg Pasteur Institute. The application submission date is 12.12.2019. The decision to grant a patent 15.07.2021
3. Ostankova Yu.V., Saitgalina M.A., Lyubimova N.E., Totolian A.A. A method of laboratory personalized diagnostics of the state of immunity of patients and a set of oligodeoxyribonucleotide primers and fluorescently labeled probes, and reference samples. Patentee: Saint-Petersburg Pasteur Institute. Application: 2022107106. Issued on 1.11.22.

LABORATOIRE D'ÉPIDÉMIOLOGIE DES MALADIES INFECTIEUSES ET NON INFECTIEUSES

Chef du laboratoire: Liudmila Lyalina

Chercheurs: V. Zagousov, E. Gorziy, V. Vetrov, S. Golubkova

En 2021–2022 le Laboratoire d'épidémiologie des maladies infectieuses et non infectieuses a pris part à la réalisation des travaux de recherche selon les thématiques suivantes:

- Caractéristique moléculaire génétique et prévalence du virus du papillome humain à haut risque cancérigène dans les conditions de vaccinoprophyllaxie de l'infection par le virus du papillome
- Épidémiologie et vaccinoprophyllaxie de COVID-19 sur les territoires du Nord-Ouest de Russie
- Réalisation du programme d'élimination de la rougeole, la rubéole et accession au niveau d'incidence sporadique de la parotidite épidémique sur les territoires du Nord-Ouest de la Russie
- Mise en oeuvre des mesures de prévention de la poliomyélite et d'organisation de la surveillance épidémiologique de l'infection entérovirale (non polio) sur 14 territoires de Russie supervisés par le Centre régional de Saint-Pétersbourg
- Réalisation du programme d'élimination de l'hépatite virale B aiguë sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest (DFNO) de Russie.

Infection par le virus du papillome

L'infection par le virus du papillome fait partie des problèmes socialement significatifs d'actualité dans le monde et en Fédération de Russie. Sa particularité consiste en un grand nombre de génotypes du virus du papillome humain (VPH) et en existence d'un potentiel cancérigène de plusieurs génotypes, en vaste prévalence, diversité des sources et voies de transmission de l'agent pathogène, prédominance des formes asymptomatiques et en polymorphisme des manifestations cliniques, y compris apparition des néoformations malignes de localisation spécifique. En 2020 l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a pu-

blié la Stratégie d'élimination du cancer du col de l'utérus comme problème de la santé publique sur la base de la vaccination contre le VPH d'au moins de 90% de jeunes filles de l'âge de moins de 15 ans.

Le 20 septembre 2020 en Fédération de Russie a été validée la Stratégie de développement d'immunoprophyllaxie des maladies infectieuses jusqu'à 2035 qui prévoit le perfectionnement du Calendrier national de vaccination en y intégrant le vaccin préventif contre l'infection par le virus du papillome. Par conséquent l'analyse de la prévalence des différents génotypes du VPH et l'étude approfondie de l'hétérogénéité génétique des populations des génotypes d'actualité dans les conditions de la couverture vaccinale existante sont d'une grande importance pour le développement du système de screening du VPH, du contrôle, de la surveillance épidémiologique et de la vaccinoprophyllaxie des maladies associées au virus du papillome humain.

Les résultats de surveillance épidémiologique de la prévalence des génotypes du VPH à haut risque cancérigène parmi les patients atteints par les affections gynécologiques, urologiques, cutanéovénériennes et oncologiques, effectuée sur deux territoires du District fédéral Nord-Ouest en 2021–2022, ont confirmé la forte pertinence du problème. L'étude a englobé les patients des deux sexes qui se sont adressés dans les organismes médicaux de Saint-Pétersbourg (un Centre médical d'un organisme de recherche — 606 personnes, un Dispensaire antivénérien — 695 personnes, un Centre de planning familial et de reproduction — 2296 personnes, la policlinique municipale No. 107 — 14 451 personne, le Dispensaire municipal clinique d'oncologie — 80 personnes) et de l'Oblast de Kaliningrad (Centre d'aide médicale spécialisée — 238 personnes). La matière biologique d'examen a été prélevée avec la brosse cervicale du col cervical, de l'urètre et des masses tumorales. Ont été analysés les résultats de l'étude cytologique de 158 patients ayant fourni la réponse positive à l'examen du VPH à haut risque cancérigène.

L'évaluation des résultats de la recherche, effectuée en 2021–2022, a démontré une forte activité de développement du processus épidémique latent de l'infection par le virus du papillome. La fréquence de détection du VPH à haut risque cancérigène parmi les patients examinés, présentant les symptômes des affections gynécologiques, urologiques et cutanéovénériennes à Saint-Pétersbourg a fait 16,1% et 18,5% au Centre médical de l'institut de recherche, 16,7% et 19,3% au Centre de planning familial et de reproduction, 18,9% et 19,9% au Dispensaire antivénérien No. 8 de même que 21,8% et 23,6% dans la Policlinique municipale No. 107 (Fig. 26). Dans la plupart des cas l'écart des taux de prévalence du VPH à haut risque cancérigène n'est pas statistiquement significatif ($p > 0,05$), excepté les résultats d'examen des patients de la policlinique municipale No. 107 où la fréquence de détection du VPH a été sensiblement plus élevée qu'au Centre médical de l'institut de re-

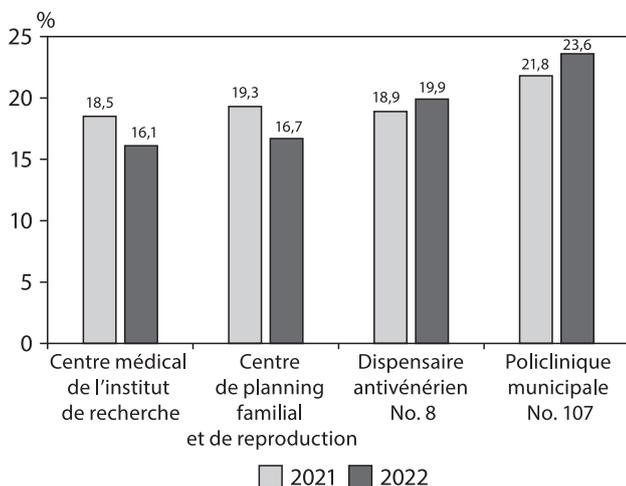


Figure 26. Prévalence du virus du papillome humain à haut risque cancérigène à Saint-Pétersbourg en 2021–2022

cherche et qu'au Centre de planning familial et de reproduction. Aucun patient faisant partie du groupe examiné n'a été vacciné contre l'infection par le virus du papillome.

L'évaluation comparée de la prévalence du VPH à haut risque cancérogène et des intervalles de confiance (IC) des indices parmi les personnes des deux sexes à Saint-Petersbourg n'a pas révélé d'écarts statistiquement significatifs ($p > 0,05$). A titre d'exemple au Tabl. 17 sont présentés les résultats d'examen des patients du Centre de planning familial et de reproduction. Parmi les femmes et les hommes, examinés au Centre médical de l'institut de recherche en 2022, le VPH à haut risque cancérogène a été détecté dans 13,2% et 20,4% de cas ($p > 0,05$), parmi celles et ceux, examinés dans la Polyclinique No.107, la fréquence de détection a été aussi quasiment la même — 23,6% et 19,6% avec l'écart statistiquement insignifiant ($p > 0,05$). Chez les femmes le taux de décelabilité du VPH le plus élevé a été constaté dans la catégorie d'âge de 20–29 ans, soit 30% du nombre total de personnes examinées dans cette catégorie. Les génotypes du VPH, détectés le plus fréquemment, étaient le 16 (24,8%) et le 31 (12,4%). Chez les patients examinés au Dispensaire antivénérien No.8 les taux de prévalence ont fait respectivement 20,2% et 19,5% ($p > 0,05$).

Dans l'Oblast de Kaliningrad les taux de prévalence du VPH à haut risque cancérogène ont été sensiblement plus élevés atteignant dans le système d'examen routinier globalement 32,8% (22,97% chez les hommes et 32,2% chez les femmes). Il convient de remarquer que les résultats d'étude d'incidence du cancer du col de l'utérus en 2011–2021 ont démontré que les taux d'incidence dans l'Oblast de Kaliningrad pendant toute la période d'observation ont été sensiblement plus élevés par rapport à ceux de Saint-Petersbourg, et que parmi les femmes âgées de 30 à 39 ans a été établie la tendance à l'accroissement de l'incidence qui est corrélée au taux plus élevé de prévalence du VPH dans la catégorie d'âge de 18–29 ans — 38,5%. A Saint-Petersbourg la fréquence de détection du VPH parmi les femmes de cette catégorie d'âge a fait 20,4% en 2022.

L'analyse des résultats de l'examen cytologique du liquide, effectué en 2022 à Saint-Petersbourg, a révélé les différents types de pathologie dans 6,6% de cas. Chez deux patientes (1,3%), dont l'une âgée de moins de 40 ans, a été diagnostiqué le cancer du col de l'utérus. Dans 43,5% de cas ont été détectées les cellules atypiques d'épithélium squameux témoignant des néoplasies intraépithéliales des différents degrés de gravité. Dans 50% de cas l'âge moyen des patientes atteintes des graves lésions intraépithéliales de l'épithélium squameux a été de moins de 40 ans.

Tableau 17. Prévalence du VPH à haut risque cancérogène des génotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 parmi les patients du Centre de planning familial et de reproduction à Saint-Petersbourg, 2021–2022

Année	Sexe	Nombre d'examinés	Dont infectés par le VPH	% (IC 95%)
2021	Femmes	932	178	19,1 (16,6–21,8)
	Hommes	39	9	23,1 (11,1–39,3)
	Total	971	187	19,3 (16,8–21,9)
2022	Femmes	1250	209	16,7 (14,7–18,9)
	Hommes	75	12	16,0 (8,6–23,6)
	Total	1325	221	16,7 (14,7–18,8)

L'examen de prévalence des génotypes concrets du VPH à haut risque cancérogène, effectué en 2022 dans le groupe de patients du Centre de planning familial et de reproduction, a démontré que le premier rang revient au VPH du génotype 16: 21,1% de cas (95% IC: 15,88–27,12). Les génotypes apparentés du nombre de ceux définis au moyen des test-systèmes utilisés (31, 33, 35, 52, 58) ont été détectés globalement dans 39,9% de cas, le génotype 18 ayant été détecté beaucoup plus rarement — dans 6,4% de cas (95% IC: 3,56–10,54). La différence par rapport à la fréquence de détection du génotype 16 y est statistiquement significative ($p < 0,05$).

Les résultats d'examen de 80 patients du Dispensaire municipal clinique d'oncologie de Saint-Petersbourg ont prouvé que la fréquence de détection du VPH à haut risque cancérogène chez les patients oncologiques variait en fonction de la localisation de la néoformation. Elle a été de l'ordre de 100% au cas de cancer de l'anus, 94,6% — des organes génitaux féminins, 76,2% — de cancer oropharyngé. Dans les cas de dysplasie grave du col de l'utérus le VPH à haut risque cancérogène a été détecté dans 83,3% de cas (Fig. 27).

Chez tous les patients aux néoformations malignes, associées au VPH à haut risque cancérogène, a été décelé le VPH du génotype 16. Dans 14,1% de cas a été diagnostiquée une infection mixte. Ensemble avec le génotype 16 ont été décelés dans les différentes combinaisons les génotypes 18, 31, 35, 39 et 45 du VPH. Aucun patient n'a été vacciné contre le VPH. L'étude du statut physique de l'ADN

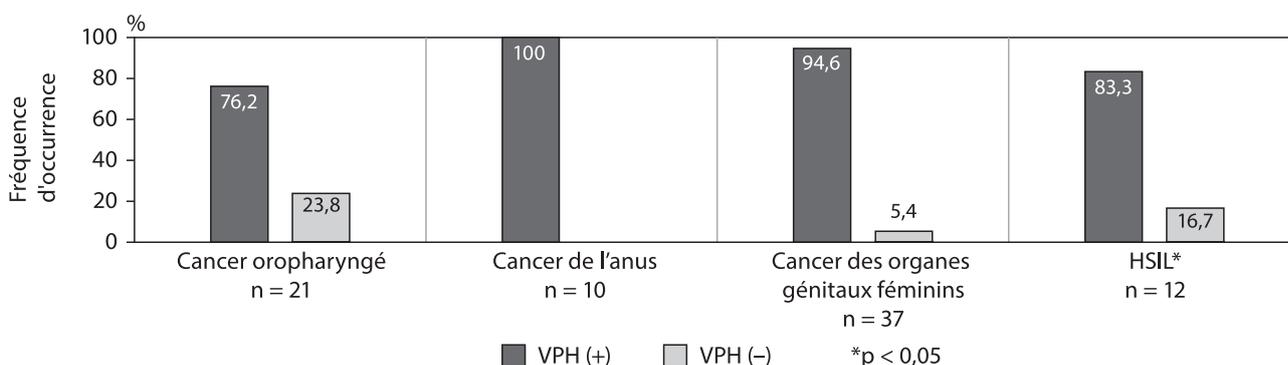


Figure 27. Décelabilité du VPH dans les échantillons des tissus des néoformations malignes des différentes localisations et de dysplasie grave du col de l'utérus, Saint-Petersbourg, 2022

du virus n'a pas révélé de forme épisomale dans les échantillons et tissus des néoformations malignes. La forme partiellement intégrée («mixte») de l'ADN du virus a été établie dans 86,4% et la forme intégrée — dans 13,4% de cas.

Les résultats d'étude de prévalence du VPH à haut risque cancérigène dans le cadre du système nouvellement organisé de surveillance épidémiologique ont permis d'obtenir de nouvelles données sur la fréquence de déclétement et sur les génotypes circulants du virus dans les conditions d'une faible couverture vaccinale contre l'infection par le virus du papillome. Les résultats obtenus trahissent une forte intensité du processus épidémique latent de cette infection et caractérisent le polymorphisme de ses manifestations cliniques. Les données obtenues sur l'à peu près égale prévalence du virus du papillome humain parmi les hommes et les femmes témoignent en faveur d'une stratégie de genre neutre à adopter dans la vaccination contre cette infection.

Les résultats d'étude du statut physique de l'ADN du VPH des malades au diagnostic confirmant les néoformations malignes de différente localisation associées au VPH, ont démontré le degré d'intégration du virus dans le génome des cellules de l'homme. Ces données peuvent être utilisées pour pronostiquer la gravité de l'évolution clinique de la maladie, définir la stratégie thérapeutique et les groupes de risque pour la vaccination contre l'infection par le virus du papillome selon les indications épidémiques.

Infection à coronavirus

À la fin de l'année 2019 a été identifié le nouveau type de coronavirus auquel le Comité international de taxonomie des virus a attribué le nom SARS-CoV-2. Il fait partie des virus contenant l'ARN, famille *Coronaviridae*, lignée Beta-CoV B. Il a été inscrit au II-ème groupe de pathogénicité, tout comme certains autres représentants de cette famille (virus SARS-CoV, MERS-CoV). La séquence génétique de SARS-CoV-2 est similaire à celle de SARS-CoV pour, au moins, 79%.

Les recherches visant à l'étude de SARS-CoV-2 ont démontré que ce virus est non seulement capable de provoquer des formes sévères d'évolution de l'infection dans certaines populations, aboutissant souvent à l'issue léthale, mais se caractérise aussi par une grande vitesse de sa diffusion qui a servi d'argument à l'OMS pour annoncer l'état d'urgence, due à la pandémie, dans le domaine de santé publique.

Vu la variabilité rapide de l'agent pathogène de la nouvelle infection à coronavirus (COVID-19), l'évaluation du rythme de propagation des souches connues et des souches neuves du virus se présente comme un élément d'extrême importance de la surveillance dans le cadre de laquelle les spécialistes des organismes de recherche font recours aux moyens bio-informatiques d'analyse de données pour la mise à jour des géovariants et leurs sous-lignées épidémiologiquement significatifs.

Le premier cas de la nouvelle infection à coronavirus, provoquée par le virus SARS-CoV-2, a été enregistré en Fédération de Russie le 1 mars 2020. Les résultats d'analyse de l'incidence de COVID-19 sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest, effectuée en 2021–2022, ont démontré que les taux les plus élevés ont été atteints dans les conditions de la mégapole de Saint-Pétersbourg (Fig. 28).

Comparés à 2021, en 2022 sur 10 territoires du District a été notée une hausse d'incidence de COVID-19. Les taux d'incidence par 100 mille habitants s'y sont présentés comme suit: à Saint-Pétersbourg — 18 120,64 (95% IC: 18 088,1–18 153,2), dans l'Oblast d'Arkhangelsk — 13 190,97 (95% IC: 13 128,6–13 253,6), en République Carélie — 11 895,82 (95% IC: 11 814,6–11 977,4), en République Komi — 11 712,78 (95% IC: 11 643,0–11 782,9), dans l'Oblast de Kaliningrad — 10 909,32 (95% IC: 10 848,8–10 970,0), dans le District autonome de Nenetsk — 10 908,11 (95% IC: 10 619,5–11 201,8), dans l'Oblast de Vologda — 10 130,91 (95% IC: 10 075,8–10 186,2), dans l'Oblast de Pskov — 8 812,11 (95% IC: 8 741,7–8 882,9), dans l'Oblast de Novgorod — 8 671,62 (95% IC: 8 600,1–8 743,6), dans l'Oblast de Léningrad — 7 340,37 (95% IC: 7 303,3–7 377,6), dans l'Oblast de Mourmansk — 7 337,39 (95% IC: 7 277,8–7 397,3).

Les résultats d'analyse des issues léthales de COVID-19 ont démontré qu'en trois ans de l'épidémie (2020–2022) dans le District fédéral Nord-Ouest ont été enregistrés 59 223 cas de décès de cette maladie. Comparé à 2021, en 2022 est notée une baisse statistiquement significative de la léthalité sur tous les territoires du District (Fig. 29). En 2022 le taux de léthalité de COVID-19 dans le District fédéral Nord-Ouest a constitué 0,75% (95% IC: 0,74–0,76). Sur les territoires du District les taux de léthalité se présentent de manière suivante: Oblast de Pskov — 1,28% (95% IC: 1,19–1,38); Oblast de Mourmansk — 1,16% (95% IC: 1,08–1,26); Saint-Pétersbourg — 0,88% (95% IC: 0,86–0,89); Oblast de Vologda — 0,80% (95% IC: 0,75–0,85); Oblast

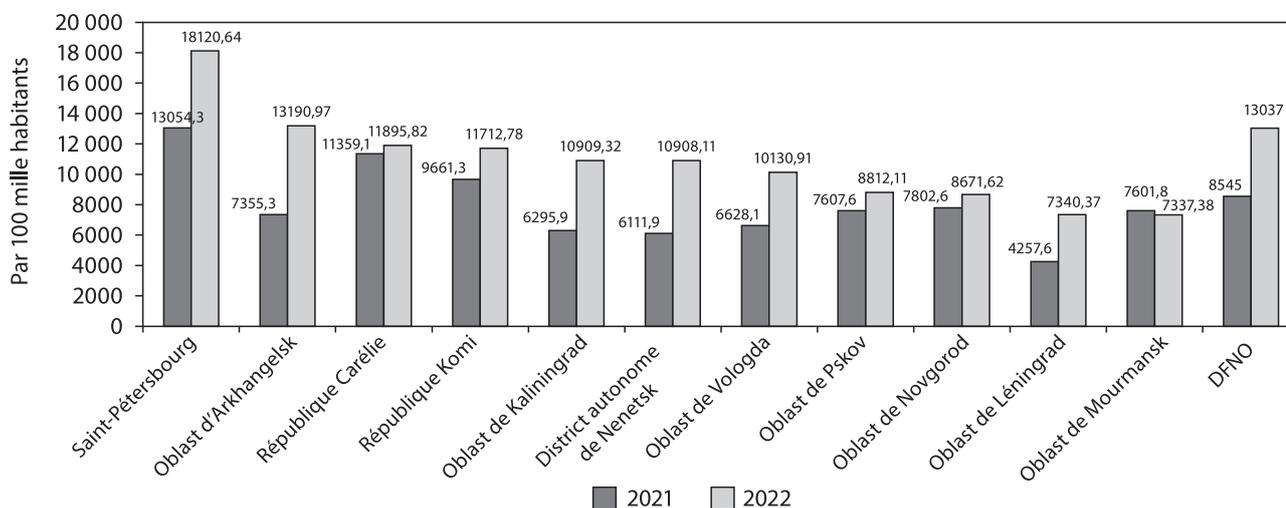


Figure 28. Classement des territoires du District fédéral Nord-Ouest selon le niveau d'incidence de COVID-19 en 2021–2022

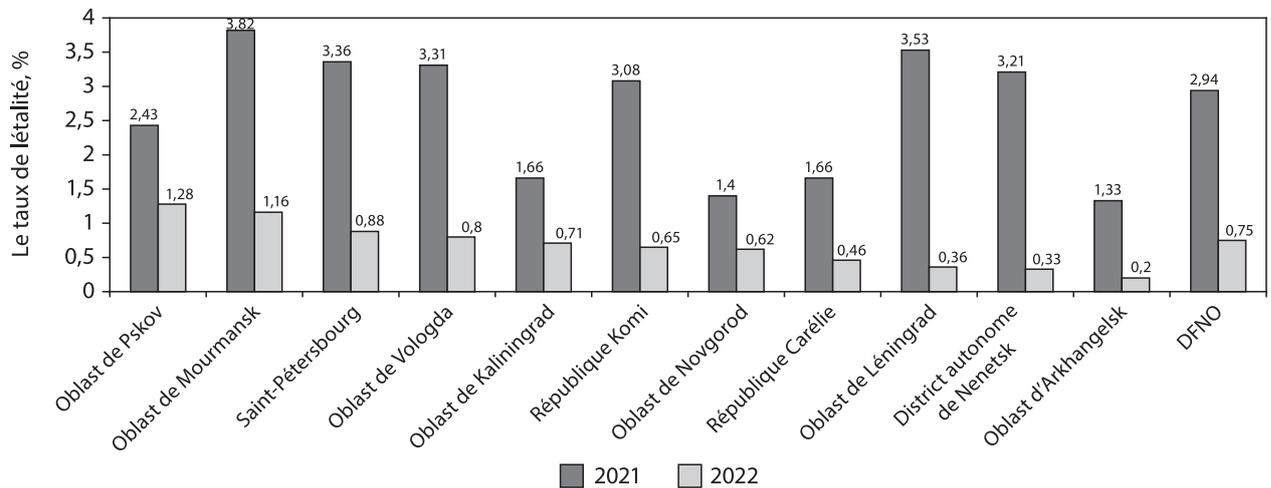


Figure 29. Léthalité de COVID-19 sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest en 2021–2022

de Kaliningrad — 0,71% (95% IC: 0,66–0,76); République Komi — 0,65% (95% IC: 0,60–0,71); Oblast de Novgorod — 0,62% (95% IC: 0,55–0,69); République Carélie — 0,46% (95% IC: 0,41–0,51); Oblast de Léningrad — 0,36% (95% IC: 0,33–0,40); District autonome de Nenetsk — 0,33% (95% IC: 0,21–0,50); Oblast d'Arkhangelsk — 0,20% (95% IC: 0,17–0,22).

La baisse de létalité a été peut-être liée à l'évolution du géovariant du virus circulant. En mai 2021 sur le territoire du District a été détectée la souche «Delta». Dans l'Oblast de Kaliningrad sur tous les tests positifs, étudiés en 2021, 194 ont marqué les mutations (186 — «Delta», 6 — «Alpha», 1 — souche dite de nord-ouest, 1 — «Bêta»). Etant dominante en 2021, en 2022 la part de ce géovariant n'a fait que 1,0%.

Au début de l'année 2022 sur le territoire du District a été détectée la souche «Omicron» qui, par la suite, a occupé la place dominante dans la structure des géovariants circulants du virus. Parmi les tests positifs présentant des mutations, étudiés en 2022 dans l'Oblast de Kaliningrad, dans 483 a été détectée la souche «Omicron» et seulement dans 5 — la souche «Delta». Pendant la période du janvier à juin 2022 ont été révélées les sous-lignées BA1 et BA2, substituées par la suite par les variants BA4 et BA5. La confrontation de l'évolution de l'incidence mensualisée avec la structure mensualisée des géovariants du virus, circu-

lant dans l'Oblast de Kaliningrad, a révélé la concordance des périodes de montée d'incidence et de celles d'apparition des nouvelles souches circulantes de SARS-CoV-2.

La vaccinoprophyllaxie sert d'instrument important de contrôle du processus épidémique de COVID-19, la vaccination étant organisée en Russie depuis décembre 2021. L'évaluation de l'efficacité de la vaccination comme moyen de prévention spécifique contre l'infection est d'une importance incontestable pour la recherche et pour l'activité pratique. Dans notre étude est faite une évaluation de l'efficacité épidémiologique de la vaccination contre COVID-19 sur trois territoires du District fédéral Nord-Ouest de Russie.

En 2022 sur la plupart des territoires du District le taux de couverture vaccinale de la population a atteint 80% et plus. En 2021–2022 l'incidence parmi les personnes vaccinées et non vaccinées sur les différents territoires s'est résumée en chiffres suivants: Oblast de Léningrad — 1008,3 (95% IC: 991,6–1025) et 26 510,6 (95% IC: 26 381,9–26 639,3), Oblast de Pskov — 5486,0 (95% IC: 5421,8–5550,3) et 54 656,0 (95% IC: 54 366,0–54 946,0), Oblast de Kaliningrad — 6266,3 (95% IC: 6207,5–6325) et 84 335,0 (95% IC: 84 161,2–84 508,7) respectivement par 100 mille habitants présentant des différences statistiquement significatives (Fig. 30).

Les taux de létalité de COVID-19 en 2021–2022 parmi les personnes vaccinées et non vaccinées étaient, eux aus-

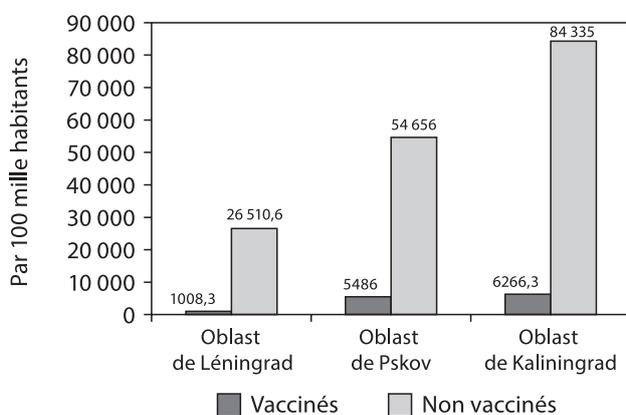


Figure 30. Incidence de COVID-19 parmi les personnes vaccinées et non vaccinées dans les Oblasts de Léningrad, Pskov et Kaliningrad en 2021–2022

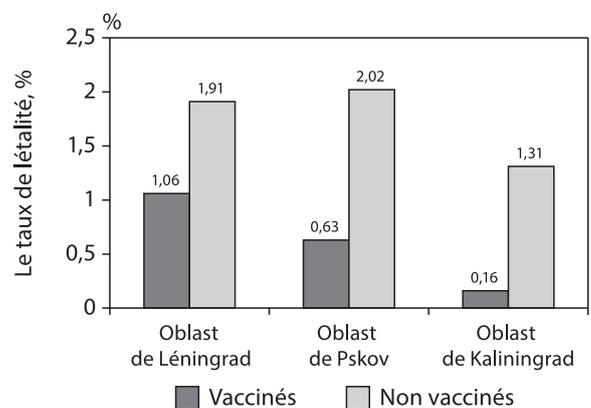


Figure 31. Léthalité de COVID-19 parmi les personnes vaccinées et non vaccinées dans les Oblasts de Léningrad, Pskov et Kaliningrad en 2021–2022

si, sensiblement différents et se sont exprimés en chiffres suivants: Oblast de Léningrad — 1,06% (95% IC: 0,87–1,25) et 1,91% (95% IC: 1,83–1,98), Oblast de Kaliningrad — 0,16% (95% IC: 0,12–0,2) et 1,31% (95% IC: 1,25–1,38), Oblast de Pskov — 0,63 (95% IC: 0,55–0,71) et 2,02 (95% IC: 1,92–2,12) (Fig. 31).

Comparé à 2021, en 2022 le taux des pneumonies a été en baisse: dans l'Oblast de Léningrad de 6,5% (95% IC: 6,03–6,97) à 2,0% (95% IC: 1,91–2,09), dans l'Oblast de Kaliningrad de 9,2% (95% IC: 8,97–9,43) à 1,0% (95% IC: 0,94–1,06), dans l'Oblast de Pskov de 18,1% (95% IC: 17,75–18,45) à 3,5% (95% IC: 3,34–3,66). Parmi tous les cas des pneumonies, attribuées à COVID-19, dans l'Oblast de Kaliningrad le taux des personnes vaccinées a fait 5,7% (95% IC: 5,15–6,25), non vaccinées — 94,3% (95% IC: 93,75–94,85).

Résultant de l'étude effectuée, ont été établies les particularités régionales de l'épidémie de COVID-19 sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest de Russie et la haute efficacité de la vaccinoprophyllaxie de l'infection.

Réalisation du Programme d'élimination de la rougeole et la rubéole, atteinte du niveau d'incidence sporadique de la parotidite épidémique dans le District fédéral Nord-Ouest

En 2021–2022 ont été poursuivies les études selon le programme d'élimination de la rougeole et la rubéole en Fédération de Russie en y ajoutant en 2021 la parotidite épidémique. Le travail de recherche est effectué dans le cadre des activités du Centre régional de surveillance de la rougeole, la rubéole et la parotidite épidémique qui fonctionne sur la base de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg. Le Centre effectue la supervision de 11 territoires du District fédéral Nord-Ouest de Russie comptant 13,5 mln d'habitants. Les fonctions des chercheurs permanents de son laboratoire d'épidémiologie des maladies infectieuses et non infectieuses sont composées de:

- contrôle dynamique de l'incidence de la rougeole, la rubéole et la parotidite épidémique, rédaction des rapports mensuels d'enregistrement de ces infections sur les territoires du District et l'envoi de ces rapports au Centre national de recherche et de méthode de surveillance de la rougeole, la rubéole et la parotidite épidémique (Moscou);
- visites des territoires supervisés pour octroi de l'aide de consultation et méthode avec contrôle routinier de réalisation du Programme d'élimination de la rougeole, la rubéole et d'atteinte du niveau d'incidence sporadique de la parotidite épidémique; à cause de l'épidémie de COVID-19 en 2021 les visites des territoires supervisés étaient annulées; en juin 2022 a été effectué le contrôle des établissements de Rospotrebnadzor de l'Oblast de Novgorod relatif aux questions de la surveillance épidémiologique et de la prévention de la rougeole, la rubéole et de la parotidite épidémique;
- participation à la rédaction des documents normatifs et de méthode; ensemble avec les spécialistes de l'Institut de recherches en épidémiologie et microbiologie G.N. Gabrichevsky de Moscou ont été composées les recommandations de méthode «Organisation de contrôle interne de la qualité dans les laboratoires effectuant les études sérologiques de la rougeole» (validés par le Service fédéral de Rospotrebnadzor en 2022);

- introduction des informations des fiches d'examen épidémiologique des foyers de la rougeole et de la rubéole au Système informatique central des maladies infectieuses (CISID);
- analyse d'incidence de la rougeole, la rubéole et la parotidite épidémique sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest de Russie;
- rédaction des rapports sur les résultats de la surveillance épidémiologique de la rougeole, la rubéole et la parotidite épidémique sur les territoires supervisés pour les rencontres annuelles des spécialistes de la Fédération de Russie et des pays de la CEI;
- rédaction des comptes rendus annuels de mise en oeuvre du programme d'élimination de la rougeole et de la rubéole sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest de Russie;

En 2021 sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest n'a été enregistré aucun cas de la rougeole ni de la rubéole (Fig. 32). En 2022 sur deux territoires ont été enregistrés 7 cas de la rougeole. Le taux d'incidence de la rougeole dans le District a fait 0,04 par 100 mille habitants, la grande majorité des malades étant enregistrée dans l'Oblast de Léningrad — 6 cas (0,3 par 100 mille habitants).

Tous les cas de la rougeole ont été importés d'autres pays du monde ou d'autres régions de Russie. Chez tous les malades a été révélé le virus de la rougeole du génotype D8 MeaNS 8248. Cette variété du virus a été importée sur le territoire de Russie depuis le Tadjikistan.

Dans la structure d'âge des malades de la rougeole, enregistrés dans le District fédéral Nord-Ouest de Russie en 2019–2022, dominait la population adulte de 18 ans et plus (54%). La part des enfants et adolescents a fait 46% (Fig. 33).

La majeure partie des cas a été enregistrée parmi les patients non vaccinés contre la rougeole (70,59%) ou parmi ceux dont le statut vaccinal était inconnu (22,06%). La part des personnes revaccinées contre la rougeole a été de 7,35% (Fig. 34).

Depuis 2014 l'incidence de la rubéole sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest de Russie est de moins de 1,0 par 1 mln.d'habitants, excepté 2019 (Fig. 35). En 2021–2022 sur les territoires du District n'a été enregistré aucun cas de la rubéole. On effectue la supervision de la rubéole chez les femmes enceintes et du syndrome de la rubéole congénitale (SRC). Depuis 2008 aucun cas du SRC n'a été révélé dans le District. En 2022 le taux de couverture vaccinale contre la rougeole et la rubéole dans les groupes ciblés de la population a fait 95,0% et plus. Ce n'est que sur 2 territoires dans les catégories d'âge de 1 an et de 6 ans il a été inférieur par rapport au taux réglementé. Les résultats du contrôle sérologique de l'immunité au virus de la rubéole sont meilleurs qu'au virus de la rougeole. En 2021–2022 sur tous les territoires du District fédéral Nord-Ouest dans toutes les catégories d'âge le taux des personnes séronégatives au virus de la rubéole a été moins de 7%.

Au Fig. 36 est représentée l'incidence de la parotidite épidémique dans le District fédéral Nord-Ouest de Russie. En 2021–2022 les cas de cette maladie n'ont été enregistrés qu'à Saint-Pétersbourg: en 2021 ont été révélés 9 cas de la parotidite épidémique (0,16 par 100 mille habitants) et 11 cas en 2022 (0,2 par 100 mille habitants). En 2014–2022 aucun cas de la parotidite épidémique n'a été enregistré en République Komi, au District autonome de Nenetsk, dans les Oblasts d'Arkhangelsk, Vologda, Kaliningrad et Pskov.

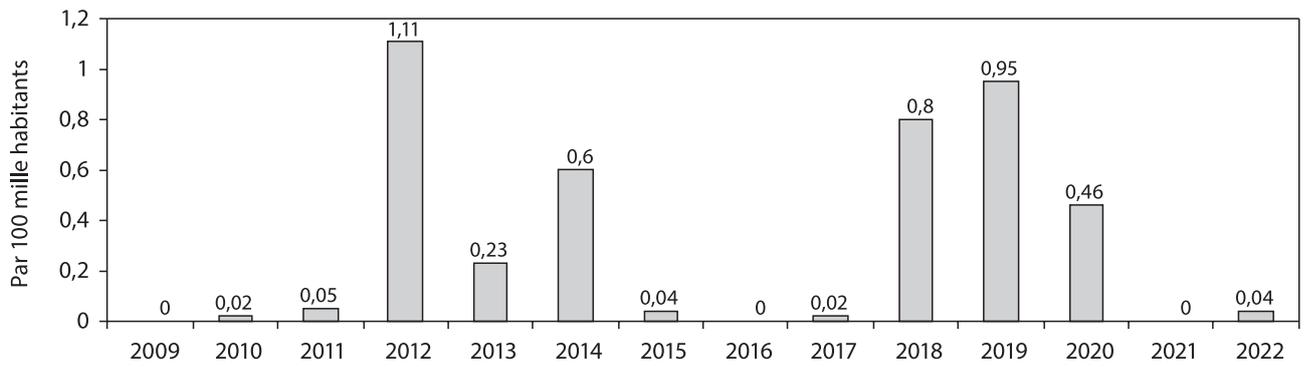


Figure 32. Incidence de la rougeole sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest de Russie en 2009–2022

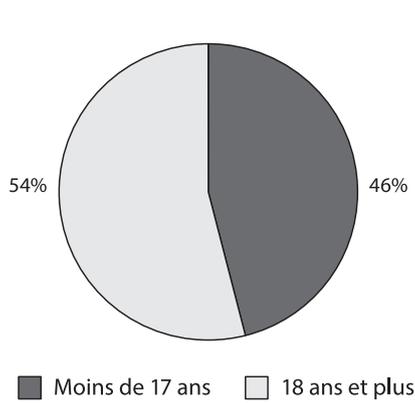


Figure 33. Structure des malades de la rougeole par catégories d'âge sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest en 2019–2022

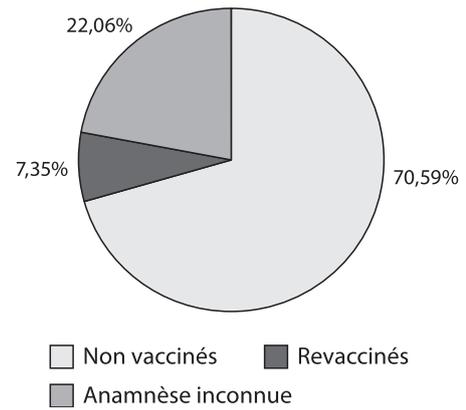


Figure 34. Structure des malades de la rougeole en fonction de leur statut vaccinal sur les territoires supervisés par le Centre régional de Saint-Petersbourg en 2020–2022

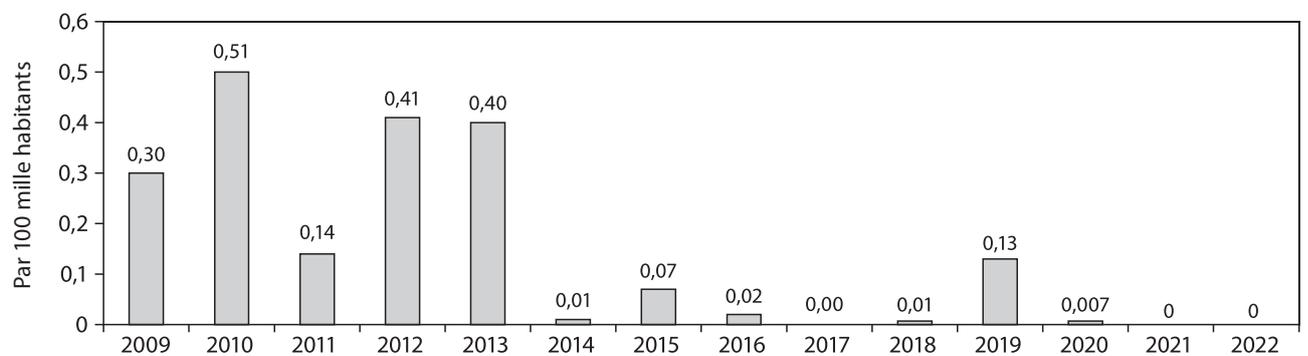


Figure 35. Incidence de la rubéole sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest de Russie en 2009–2022

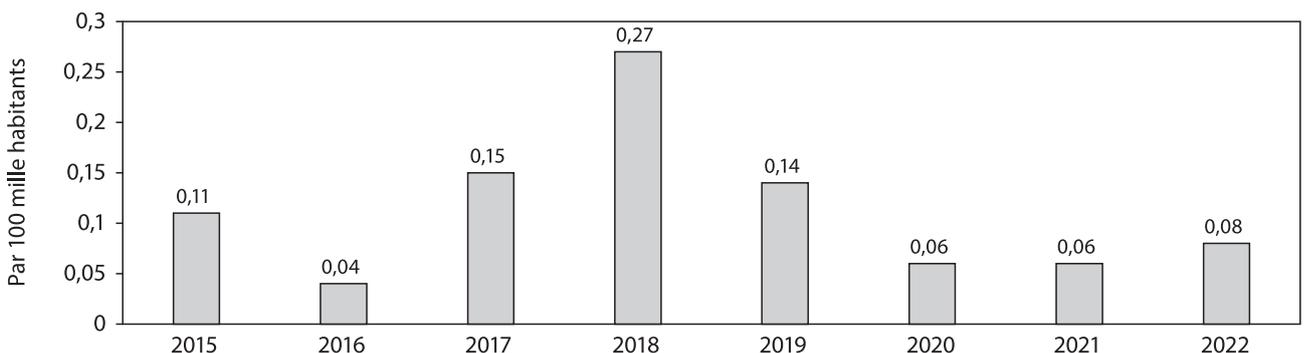


Figure 36. Incidence de la parotidite épidémique sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest de Russie en 2015–2022

Surveillance épidémiologique de la poliomyélite et l'infection entérovirale (non polio)

Conformément au plan d'activités visant au maintien du statut de la Fédération de Russie comme territoire libre de la poliomyélite, le Centre régional de Saint-Pétersbourg, basé depuis 1998 à l'Institut de recherches en épidémiologie et microbiologie Pasteur, effectue la supervision de 14 territoires de la Fédération de Russie (11 territoires du District fédéral Nord-Ouest, 1 territoire du District fédéral Central (Oblast de Kostroma) et 2 territoires du District fédéral de la Volga (Oblasts de Nijni Novgorod et de Saratov). Les principales missions du Laboratoire d'épidémiologie des maladies infectieuses et non infectieuses consistent en mise en oeuvre de la surveillance épidémiologique des maladies au syndrome de la paralysie flasque aiguë (PFA) et de l'infection entérovirale (non polio), voyages de mission consultative, de méthode et de contrôle de qualité de prévention de la poliomyélite sur les territoires supervisés par le Centre, participation aux réunions consultatives régionales des spécialistes avec interventions sur les résultats du travail, rédaction des rapports annuels dressant le bilan de réalisation du plan d'activités visant au maintien du statut des territoires supervisés libres de la poliomyélite.

En 2021 les taux d'incidence de la PFA 1,0 et plus par 100 mille enfants de moins de 15 ans ont été enregistrés sur 6

territoires supervisés par le Centre, ce qui témoigne de la qualité satisfaisante de la surveillance épidémiologique de la poliomyélite à l'étape d'éradication de l'infection. Les taux proches à 1,0 (0,95–0,96 par 100 mille personnes) ont été constatés sur 2 territoires. Sur 3 territoires le nombre de cas de maladie avec syndrome de la PFA a été considéré comme «insuffisant» et encore 3 territoires ont été caractérisés comme «silencieuses» vu l'absence d'enregistrement des cas de la PFA sur eux (Fig. 37). En 2022 11 territoires se caractérisaient comme ceux à la situation satisfaisante à en juger d'après le nombre d'enregistrements de la PFA et, comme il a été noté plus haut, sur 3 territoires le nombre de cas détectés a été jugé «insuffisant». Le taux élevé d'incidence de la PFA dans le District autonome de Nenetsk (9,88 par 100 mille) est dû à une faible population enfantine (moins de 10 000 personnes). En 2021 sur les territoires supervisés ont été détectés 6 cas «brûlants» (avec suspicion de la poliomyélite) et encore 8 cas en 2022. Dans aucun de ces cas la poliomyélite n'a pas été confirmée.

En 2022 l'incidence de l'infection entérovirale (non polio) sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest de Russie a fait globalement 9,99 par 100 mille habitants. Avec les taux les plus élevés dans l'Oblast de Mourmansk — 46,6 par 100 mille habitants (95% IC: 41,62–51,71), en République Komi — 43,7 par 100 mille habitants (95% IC: 35,05–43,86) et dans l'Oblast d'Arkhangelsk — 13,2 (95% IC: 10,89–15,19). Sur le Fig. 38 est représenté le classement des territoires

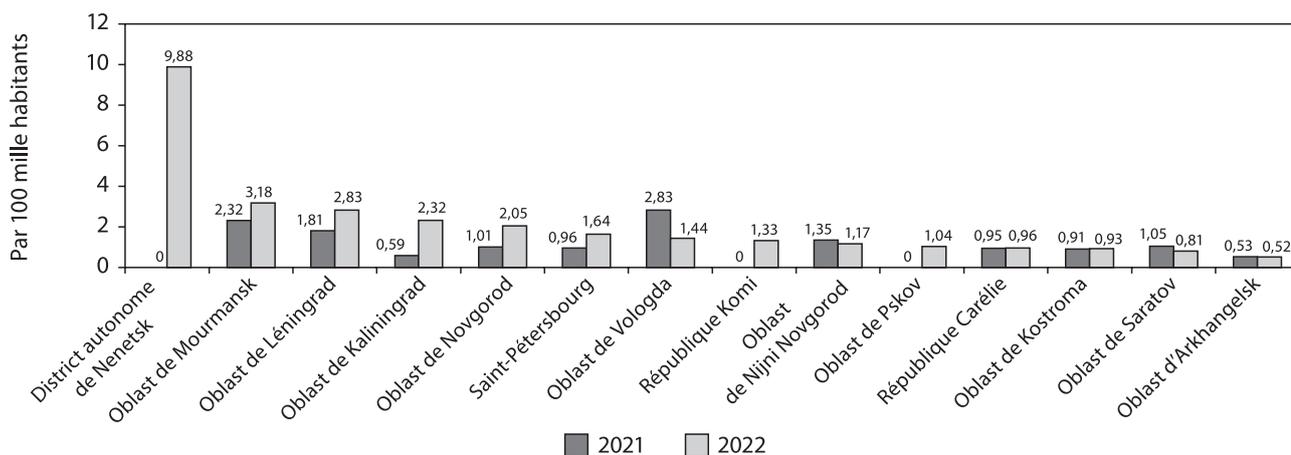


Figure 37. Enregistrement des cas de maladies avec syndrome de la PFA parmi les enfants de moins de 15 ans sur les territoires supervisés par le Centre régional de Saint-Pétersbourg en 2021–2022

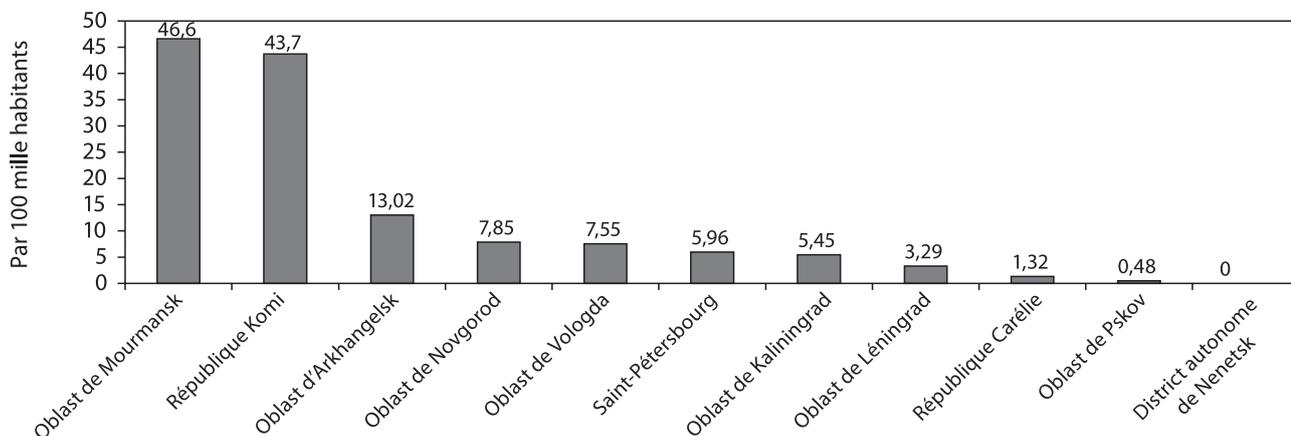


Figure 38. Classement des territoires du District fédéral Nord-Ouest selon les taux d'incidence de l'infection entérovirale (non polio) en 2022

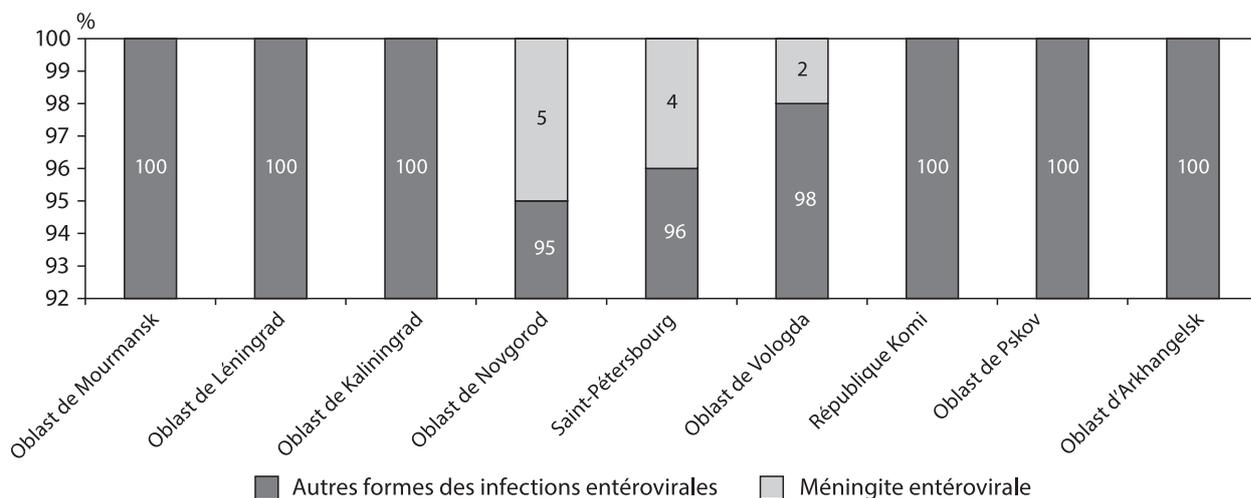


Figure 39. Enregistrement des cas de la méningite sévère dans la structure des infections entérovirales sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest de Russie en 2021

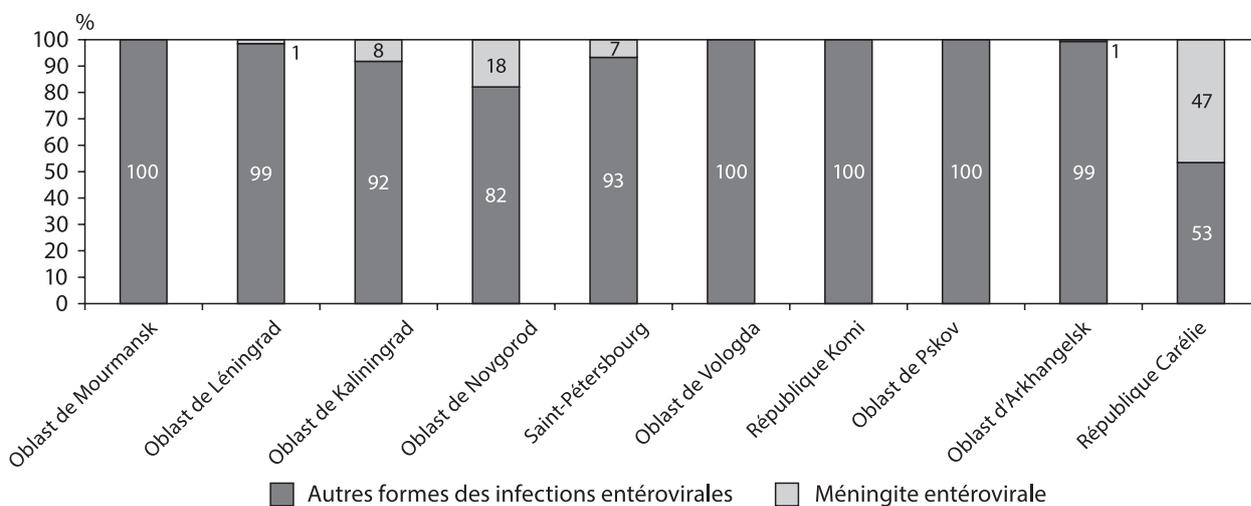


Figure 40. Enregistrement des cas de la méningite sévère dans la structure des infections entérovirales sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest de Russie en 2022

du District fédéral Nord-Ouest selon les taux d'incidence de l'infection entérovirale (non polio) en 2022.

En 2021 les formes graves de l'infection entérovirale (méningites entérovirales) ont été enregistrées sur 3 territoires. La part des méningites entérovirales parmi toutes les formes des infections entérovirales a été dans les limites de 2–5% (Fig. 39).

En 2022, l'incidence de la méningite à entérovirus dans les territoires du District fédéral du Nord-Ouest était de 0,34 pour 100 000 habitants. Les taux les plus élevés ont été enregistrés dans la région de Novgorod — 1,71 pour 100 000 habitants (95% IC: 0,64–2,78), dans la République de Carélie — 1,15 pour 100 000 (95% IC: 0,28–2,02) et dans la région de Kaliningrad — 0,49 pour 100 000 (95% IC: 0,05–0,93). La méningite à entérovirus a été enregistrée dans 6 territoires du district, la proportion de cette forme parmi toutes les formes des infections entérovirales variait de 1% à 47% (Fig. 40).

Les différents taux d'enregistrement des infections entérovirales sur les différents territoires peuvent être liés avec la structure étiologique des entérovirus. Par exemple, en 2021–2022 aucun cas de l'infection entérovirale n'a été révélé sur le territoire du District autonome de Nenetsk. Dans la structure d'âge des malades, atteints de cette infection,

sur les territoires supervisés par le Centre régional en 2021 la majorité était composée des enfants de moins de 17 ans (97%). Les résultats de l'étude ont démontré la nécessité de continuer les efforts visant au contrôle épidémiologique et prévention de la poliomyélite et de l'infection entérovirale (non polio).

Mise en oeuvre du programme d'élimination de l'hépatite virale aiguë B sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest de la Fédération de Russie

Le programme d'élimination de l'hépatite virale aiguë B a été élaboré sur l'initiative de l'Institut Pasteur de Saint-Petersbourg sous l'autorité de son directeur, professeur A. Jebrun en 2010–2012 et validé le 14 août 2013 par le chef médecin hygiéniste d'Etat, responsable du Service fédéral de supervision dans la sphère de protection des droits des consommateurs et du bien-être de l'homme. Le travail a été divisé en étapes dont chacune comprenait l'atteinte des objectifs concrets permettant de définir les problèmes essentiels de la période suivante. En 2021–2022 a été poursuivie la réalisation de ce programme au Nord-Ouest de Russie (la population de ce district est de près de 14 mln. de personnes).

Tableau 18. Incidence de l'hépatite aiguë B sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest en 2018–2022

Territoire	2018		2019		2020		2021		2022	
	nombre absolu	par 100 mille hab.								
District fédéral Nord-Ouest	52	0,37	64	0,46	40	0,29	39	0,28	40	0,18
République Carélie	1	0,16	1	0,16	2	0,32	2	0,33	1	0,20
République Komi	3	0,35	4	0,48	0	0	1	0,12	2	0,27
Oblast d'Arkhangelsk	4	0,36	0	0	1	0,09	0	0	0	0
District autonome de Nenetsk	1	2,27	0	0	0	0	0	0	0	0
Oblast de Vologda	1	0,08	10	0,85	2	0,17	1	0,09	2	0,18
Oblast de Kaliningrad	2	0,2	5	0,5	4	0,4	0	0	5	0,48
Oblast de Léningrad	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,25
Oblast de Mourmansk	2	0,26	3	0,41	0	0	1	0,14	0	0
Oblast de Novgorod	2	0,33	3	0,5	1	0,17	1	0,17	0	0
Oblast de Pskov	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Saint-Petersbourg	36	0,68	38	0,71	30	0,56	33	0,61	28	0,50

Parmi les objectifs de la III^{ème} étape de mise en oeuvre du programme on peut mentionner l'activité organisationnelle et consultative de même que l'obtention du taux d'incidence de l'hépatite virale aiguë B sur les territoires du District moins de 1,0 par 100 mille habitants ou absence totale des cas de cette maladie enregistrés, baisse d'incidence de l'hépatite chronique B, couverture vaccinale de la population adulte (moins de 55 ans) contre cette infection au niveau de 90%. Chaque année ont été organisés les conférences des spécialistes, participant à la mise en oeuvre du programme, afin de dresser le bilan du travail accompli et définir les objectifs pour la période suivante.

Tous les objectifs fixés ont été atteints. Grâce à la vaccination de la population contre l'hépatite B un progrès important a été réalisé en baisse d'incidence de l'hépatite virale aiguë B sur le territoire de la Fédération de Russie généralement et sur celui du District fédéral Nord-Ouest en particulier. En 2021 et 2022 globalement dans le District les taux d'incidence ont fait respectivement 0,28 et 0,18 par 100 000 habitants (0,29 par 100 000 habitants en 2020). En 2022 sur 5 territoires du District fédéral Nord-Ouest aucun cas de l'hépatite aiguë B n'a été enregistré (Tabl. 18).

En même temps l'incidence de l'hépatite chronique virale B dans la population diminue beaucoup plus len-

tement et sur certains territoires ne manifeste aucune tendance substantielle à la baisse. L'analyse des cas, où la source de l'infection a été établie, a démontré que tous les patients atteints de l'hépatite aiguë B étaient les malades chroniques.

Le Fig. 41 présente l'évolution de l'incidence de l'hépatite chronique B en Fédération de Russie, dans le District fédéral Nord-Ouest et à Saint-Petersbourg en 2010–2021. La tendance à la baisse d'incidence est constatée sur tous les territoires objet de l'étude. En 2020 dans le contexte de l'épidémie de COVID-19 a été enregistré le plus faible taux d'incidence. Au fur et à mesure de la levée des restrictions on observe l'augmentation des taux sans que pour autant l'incidence excède le niveau de la période avant l'épidémie. En 2019 et 2022 en Russie globalement les taux d'incidence ont fait respectivement 8,7 et 6,3 par 100 mille habitants, sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest — 21,0 et 18,8 par 100 mille habitants, à Saint-Petersbourg — 43,5 et 38,4 par 100 mille habitants.

Les résultats de l'étude témoignent de la nécessité de continuer à mettre en oeuvre le programme d'élimination de l'hépatite virale B sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest de Russie tout en actualisant les objectifs de lutte contre les formes chroniques de l'infection et de leur prévention.

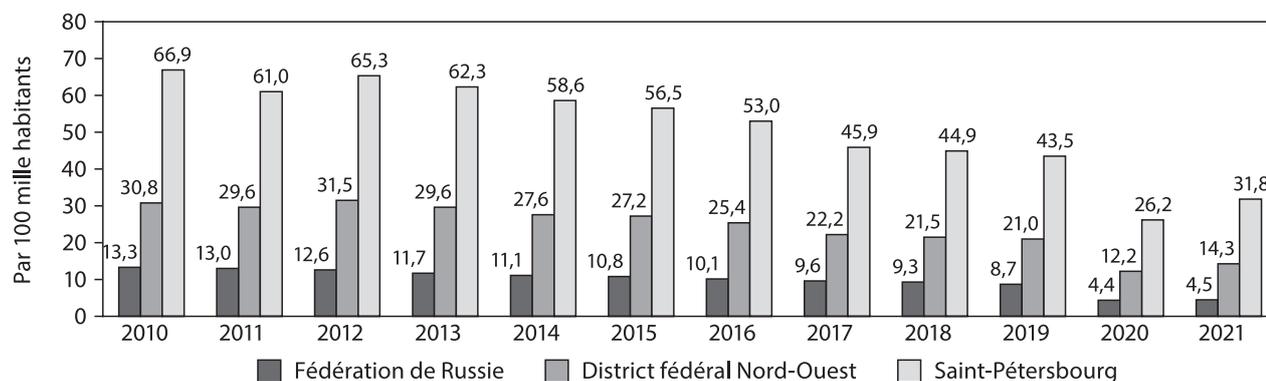


Figure 41. Incidence des hépatites chroniques B sur le territoire de la Fédération de Russie, du District fédéral Nord-Ouest et à Saint-Petersbourg en 2010–2021

Publications

Articles

1. Basina V.V., Esaulenko E.V., Novak K.E., Bichurina M.A., Lyalina L.V. Clinical and epidemiological features of measles by adults in modern period // *Journal Infectology*. 2021; 13 (2): 70–78. (In Russ.) doi: 10.22625/2072-6732-2021-13-2-70-78
2. Kholopov D.V., Lyalina L.V., Khizha V.V., Topuzov E.E., Kasatkin E.V., Goryaev E.A., Zadorkina T.G., Chugunova G.V. Malignant Neoplasms Associated with Human Papillomavirus Infection in the Northwestern Federal District of Russia: Morbidity, Mortality, Vaccination // *Public Health and Life Environment*. 2022; (8): 73–81. (In Russ.) doi: 10.35627/2219-5238/2022-30-8-73-81
3. Kholopov D.V., Vyazovaya A.A., Topuzov E.E., Alekseeva D.A., Molchanov S.V., Lyalina L.V. Detection of Human papillomavirus, viral load and risk factors in patients with precancerous diseases and malignant neoplasms in St. Petersburg // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (4): 735–744. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-DOH-1981
4. Khorkova E.V., Lyalina L.V., Mikailova O.M., Kovelonov A.Yu., Ostankova Yu.V., Valutite D.E., Stasishkis T.A., Tsvetkov V.V., Novak K.E., Rishnyak O.Yu., Kritskaya I.V., Buts L.V., Tyagunov D.S. Current Issues of Epidemiological Surveillance of Chronic Viral Hepatitis B, C, D and Hepatocellular Carcinoma at the Regional Level // *Public Health and Life Environment*. 2021; 29 (8): 76–84. (In Russ.) doi: 10.35627/2219-5238/2021-29-8-76-84
5. Lyalina L.V., Esaulenko E.V., Khorkova E.V., Novak K.E., Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Vasiliev D.V., Gorziy E.S., Butskaya M.J., Kritskaya I.V., Buts L.V., Grebenkina E.V., Baydakova E.V., Smirnova N.A., Krasnoperova M.A., Koltsov N.S., Kotovich L.M., Kalinina E.L., Galimov R.R., Kirkhar N.V., Cherepanova E.A., Totolian A.A. Results of implementation of viral Hepatitis B elimination program in the North-West Russia // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (5): 875–886. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-ROT-1785
6. Lyalina L.V., Kholopov D.V., Khizha V.V., Kasatkin E.V., Topuzov E.E. Gender features of malignant neoplasms associated with human papillomavirus in St. Petersburg // *Perm Medical Journal*. 2022; 39 (4): 144–154. (In Russ.) doi: 10.17816/pmj394144-154
7. Popova A.Yu., Andreeva E.E., Babura E.A., Balakhonov S.V., Bashketova N.S., Bulanov M.V., Valeullina N.N., Goryaev D.V., Detkovskaya N.N., Ezhlova E.B., Zaitseva N.N., Istorik O.A., Kovalchuk I.V., Kozlovskikh D.N., Kombarova S.Yu., Kurganova O.P., Kutyrev V.V., Lomovtsev A.E., Lukicheva L.A., Lyalina L.V., Melnikova A.A., Mikailova O.M., Noskov A.K., Noskova L.N., Oglezneva E.E., Osmolovskaya T.P., Patyashina M.A., Penkovskaya N.A., Samoilo L.V., Smirnov V.S., Stepanova T.F., Trotsenko O.E., Totolian A.A. Features of developing SARS-CoV-2 nucleocapsid protein population-based seroprevalence during the first wave of the COVID-19 epidemic in the Russian Federation // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (2): 297–323. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-FOD-1684
8. Popova A.Yu., Andreeva E.E., Babura E.A., Balakhonov S.V., Bashketova N.S., Bugorkova S.A., Bulanov M.V., Valeullina N.N., Goryaev D.V., Detkovskaya N.N., Ezhlova E.B., Zaitseva N.N., Istorik O.A., Kovalchuk I.V., Kozlovskikh D.N., Kombarova S.Yu., Kurganova O.P., Lomovtsev A.E., Lukicheva L.A., Lyalina L.V., Melnikova A.A., Mikailova O.M., Noskov A.K., Noskova L.N., Oglezneva E.E., Osmolovskaya T.P., Patyashina M.A., Penkovskaya N.A., Samoilo L.V., Smirnov V.S., Stepanova T.F., Trotsenko O.E., Totolian A.A. Peculiarities of SARS-CoV-2 nucleocapsid in children during the COVID-19 epidemic of 2020 // *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*. 2021; 100 (3): 97–106. (In Russ.) doi: 10.24110/0031-403X-2021-100-3-97-106
9. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Danilova T.E., Bulanov M.V., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Totolian A.A. Analysis of SARS-CoV-2 seroprevalence among the population of the Vladimir Region during the COVID-19 epidemic // *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*. 2021; 11 (2): 29–35. (In Russ.) doi: 10.18565/epidem.2021.11.2.29-35
10. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Lukicheva L.A., Nikitina N.I., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Koltsov N.S., Ermakova M.V., Kubashev A.K., Kuznetsova V.V., Denisova T.V., Gurina N.V., Ziborov I.V., Gryazova I.V., Pankova N.A., Konoshkin P.I., Mikheeva N.I., Sharova A.A., Totolian A.A. Humoral immunity to SARS-CoV-2 among the population of Murmansk region amid COVID-19 epidemic // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13 (1): 17–27. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-1-17-27
11. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Trotsenko O.E., Zaitseva T.A., Lyalina L.V., Garbuz Yu.A., Smirnov V.S., Lomonosova V.I., Balakhontseva L.A., Kotova V.O., Bazykina E.A., Butakova L.V., Sapega E.Yu., Aleinikova N.V., Bebenina L.A., Loseva S.M., Karavyanskaya T.N., Totolian A.A. The seroprevalence of SARS-CoV-2 among residents of the Khabarovsk Krai during the COVID-19 epidemic // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021; 98 (1): 7–17. (In Russ.) doi: 10.36233/0372-9311-92
12. Smirnov V.S., Lyalina L.V., Milichkina A.M., Khamitova I.V., Zueva E.V., Ivanov V.A., Zaguzov V.S., Totolian A.A. Longitudinal Randomized Cohort Study of SARS-CoV-2 Antibody Seroprevalence in the St. Petersburg Population // *Viruses*. 2022; 14 (5): 913. doi: 10.3390/v14050913

Monographs

1. *Modern medical organization: trends, strategies, projects*. Tyumen: RITs «Aivex», 2022: 312.

Guidelines and regulations

1. *Laboratory diagnostics of acute respiratory infections, including influenza and COVID-19 in conditions of their co-circulation: methodological recommendations* / V.G. Akimkin, V.V. Maleev, A.V. Gorelov, A.A. Ploskireva, Zh.B. Ponezheva, S.B. Yatsyshina, N.Yu. Pshenichnaya, A.V. Tutelyan, L.V. Lyalina, E.V. Esaulenko et al. Moscow, 2022: 11.
2. Lyalina L.V., Golubkova S.M., Vasil'eva Yu.A., Kholopov D.V., Vyazovaya A.A., Zolotarev A.Yu., Kaziakhmedova V.V., Shchederkina E.E., Kasatkin E.V., Zadorkina T.G., Sokurova A.M., Chugunova G.V. Prevalence of high cancer risk human papillomavirus genotypes in the territories of North-West Russia: information and expertise letter. St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2022: 16.
3. Zadorkina T.G., Lyalina L.V. Clinical and epidemiological substantiation of the development and implementation of a human papillomavirus testing program for the female population within the framework of combined cervical cancer screening in the Kaliningrad region: information and expertise letter. St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2021: 16.

LABORATOIRE DES HÉPATITES VIRALES

Chef du laboratoire: Elena Esaoulenko

Chercheurs: A. Ibrokhimova, V. Skvoroda

Hépatites virales aiguës

L'incidence des formes aiguës des hépatites virales (HVA) en Fédération de Russie manifeste une tendance soutenue à la baisse. En 2022 dans la structure étiologique de l'HVA la part la plus importante revenait à l'hépatite A (HA) — 58%, dont l'importance relative a diminué de 3,6 fois (65% en 2013). Au cours des dix dernières années (2013-2022) l'importance relative de l'hépatite aiguë B (HAB) a diminué de 4,6 fois pour représenter en 2022 11% du nombre de tous les cas enregistrés de cette maladie (15% en 2013). Par contre l'importance relative de l'hépatite aiguë C (HAC) a augmenté de 1,9 fois pour représenter en 2022 27% (16% en 2013), et celle de l'hépatite aiguë E (HAE) a représenté en 2022 2% (1% en 2013). Les 2% restants revenant à d'autres HVA (5% en 2013).

Actuellement est accumulé un volume important de connaissances sur les hépatites entérales A et E. Le pronostic de la maladie étant d'habitude favorable, ses conséquences socio-économiques sont négatives et représentent une charge importante pour le système de la santé. La mondialisation et l'amélioration générale du contexte sanitaire ont provoqué des changements importants dans l'épidémiologie de l'HA. Les moyens les plus efficaces de lutte contre les hépatites entérales sont l'amélioration des conditions sanitaires, en particulier de la qualité d'approvisionnement en eau, et la sécurité nutritionnelle des denrées alimentaires, tandis que pour l'HA c'est l'augmentation de l'étendue de la couverture vaccinale.

L'HA se transmet avec l'eau, la nourriture et les objets conservant les microparticules des masses fécales du malade. Les recherches du type « cas-contrôle » ont confirmé l'idée que la contamination par le virus de l'HA est due justement à un tel élément d'hygiène comme le non lavage des mains après la visite des toilettes ou avant les manipulations avec les produits alimentaires et l'usage collectif des aiguilles des seringues. L'analyse rétrospective des voies de transmission de l'HA effectuée auprès des patients hospitalisés (n = 420) en 2018-2022 a démontré que dans 32,7% de cas ces voies restent inconnues. Parmi celles connues les plus fréquentes étaient la transmission avec l'eau et la nourriture constituant respectivement 27,4% et 24,2% de cas. 15% de patients indiquaient la voie de transmission par contacts sociaux.

L'évolution de l'incidence de l'HA, observée pendant plusieurs années, est caractérisée par la tendance à la baisse. En 2022 en Fédération de Russie ont été enregistrés 2310 cas de l'HA avec le taux d'incidence 1,6 par 100 mille habitants. Dans la structure d'âge des malades dominait la population adulte, la part des enfants de moins de 17 ans étant égale à 43% (3,3 par 100 mille habitants). Le plus haut taux d'incidence a été enregistré dans l'oblast de Ryazan (18,1 par 100 mille habitants en 2022 et 18,4 par 100 mille habitants en 2021). Une incidence élevée a été également constatée dans l'oblast de Kalouga et dans le district autonome de Khanty-Mansiysk. En 2022 aucun cas de l'HA n'a été enregistré dans 12 sujets de la Fédé-

ration de Russie (en 2021 — dans 9): républiques de Kalmoukie, Adyguée, Ingouchie, Altaï, Tyva, Kabardino-Balkarie, Karatchaïévo-Tcherkessie, Ossétie du Nord, dans les districts autonomes de Nénetsk et de Tchoukotka, dans la ville de Sébastopol et l'oblast d'Astrakhan. Dans les républiques de Kalmoukie, Tyva, Kabardino-Balkarie, oblast autonome juif et district autonome de Nénetsk cette tendance se maintient pendant plusieurs années. En 2022 ont été enregistrés 5 foyers de morbidité collective (dans les oblasts de Ryazan et de Tchéliabinsk, à Saint-Petersbourg, dans le district autonome de Khanty-Mansi et la République d'Altaï) où au total ont été malades 63 personnes. Comparé à 2021 (76,9%), on constate une diminution considérable (jusqu'à 20,6%) du taux des enfants dans la structure d'âge des malades. En 2022 en Fédération de Russie ont été vaccinées 431 283 personnes, dont 165 932 enfants de moins de 17 ans. Le plus grand nombre de personnes vaccinées est constaté à Moscou (155 295), dans les oblasts de Sverdlovsk (39 937), Novosibirsk (18 537), Omsk (17 591) et en République de Crimée (15 799).

En 2022 sur 27 territoires de la Fédération de Russie ont été enregistrés 76 cas de l'hépatite E (HE) (en 2021 — 57 cas sur 19 territoires) qui ont donné le taux d'incidence 0,05 par 100 mille habitants. L'enregistrement des cas de l'HE n'est toujours pas organisé dans le District fédéral du Caucase du Nord. Il est à noter que la qualité et l'accessibilité du diagnostic de laboratoire en grande partie sont responsables de la fréquence des enregistrements de l'HE. Auxquelles il faut ajouter la circonspection des médecins à l'égard de cette infection. En 2021-2022 le diagnostic HE, précisé comme HVE Ab IgM, a donné respectivement 74,5% et 86,2%.

Suite à la mise en oeuvre du programme d'immunisation massive de la population de la Fédération de Russie contre l'hépatite B un progrès significatif a été réalisé dans la lutte contre l'hépatite aiguë B (HAB). Au cours de la dernière décennie (2013-2022) l'incidence de l'HAB a diminué de 4,6 fois (de 1,3 à 0,3 par 100 mille habitants). En 2022 sur 13 territoires de la Fédération de Russie ont été enregistrés 15 cas de l'HAB chez les enfants de moins de 17 ans (0,1 par 100 mille enfants): dans les oblasts de Moscou, Toula, Samara, Novosibirsk; dans les républiques de Carélie, Daghestan, Ingouchie, Tchétchénie, Oudmourtie, Tchouvachie; à Saint-Petersbourg, dans le kraï de Krasnodar et le district autonome de Hanty-Mansi. Comparée à 2021, l'incidence de la population infantile (avec le taux de 0,04 par 100 mille enfants) a légèrement augmenté. En 2022 sur 59 territoires de la Fédération de Russie il n'a été enregistré aucun cas de l'HAB (sur 53 territoires en 2021). Sur 7 territoires le taux d'incidence de l'HAB excède de 2 fois celui moyen de la Russie. La vaccination de la population reste la principale mesure de prévention contre l'hépatite B. En 2022 en Fédération de Russie 2,1 mln de personnes ont été vaccinées contre l'hépatite B, dont 1,4 mln. d'enfants (en 2021 ont été vaccinées au total 2,3 mln de personnes). En 2022 le taux de la couverture vaccinale des enfants de 12 mois contre l'hépatite B a fait 96,92% (96,9% en 2021). Chaque année augmente le taux

d'immunisation de la population adulte. En 2022 la couverture vaccinale de la catégorie d'âge de 18–35 ans a fait 97,5%, de celle de 36–59 ans — 91,1%, et des personnes de plus de 60 ans — 39,7%.

Depuis l'an 2000 jusqu'à 2022 l'incidence de l'hépatite aiguë C (HAC) en Fédération de Russie a diminué de 35 fois. En 2021 et 2022 les taux d'incidence ont fait respectivement 0,6 et 0,8 par 100 mille habitants, la mise en oeuvre d'un ensemble des manifestations antiépidémiques et préventives et le déploiement des efforts des différentes structures d'Etat et des professionnels de la santé ayant sans doute concouru à une baisse d'intensité d'implication de nouveaux patients au processus épidémique. Selon toute probabilité la décroissance rapide des indices épidémiologiques de base en 2021–2022 est due à une baisse de demande de soins ambulatoires et de screening pendant la période des manifestations antiépidémiques de COVID-19 dans les conditions de la pandémie. Le taux d'incidence de l'HAC parmi les enfants de moins de 17 ans a fait 0,17 par 100 mille personnes de la population infantile. En 2021 il a été au niveau de 0,10 par 100 mille enfants. Dans la structure de morbidité de l'HAC la part des enfants a constitué 4,9% (3,5% en 2021). Celle des enfants de moins d'un an dans l'ensemble de tous les enfants malades de l'HAC en 2022 a fait 45,3%, ce qui est moins que dans l'année précédente (53,3% en 2021). Sur cinq territoires de la Fédération de Russie l'incidence de l'HAC excédait le taux moyen du pays de 2,0 à 2,7 fois: à Saint-Petersbourg (2,03 par 100 mille habitants), dans le district autonome de Yamalo-Nenetsk (1,64), à Moscou (1,62), dans les oblasts d'Ivanovo (1,53) et de Tchéliabinsk (1,52).

Selon les données des résultats de l'analyse des échantillons du virus de l'HC en 2021–2022 il n'y a pas eu de changements significatifs. Sur 44 196 échantillons étudiés au total le génotype 1 était dominant dans 51,8% (22 877

échantillons) avec prévalence du sous-type 1b (10 037 échantillons — 43,9%), le génotype 3 étant révélé dans 16 558 échantillons (37,5%) et le génotype 2 dans 4436 échantillons (10,2%).

Hépatites virales chroniques

Malgré la baisse d'incidence des formes aiguës des hépatites B et C sur le territoire de la Fédération de Russie est toujours constaté un niveau élevé du nombre de nouveaux cas des formes chroniques des hépatites virales (HVC). En 2022 le taux d'incidence des HVC primo diagnostiquées a été 29,72 par 100 mille habitants, qui est 1,6 fois inférieur de celui moyen de plusieurs années (48,47 par 100 mille habitants), tandis que le taux d'incidence chez les enfants de moins de 17 ans était de 1,3 par 100 mille enfants. Dans la structure étiologique des cas des HVC primo diagnostiquées domine l'hépatite chronique C (HCC) dont la part représente 78,1% de tous les HVC. En 2022 l'incidence de l'HCC était 3,6 fois supérieure de celle de HCB.

Au cours de la dernière décennie (2013–2022) l'incidence de l'HCC a diminué de 1,7 fois (de 39,2 à 23,2 par 100 mille habitants). Le taux d'incidence de l'HCC étant de 23,2 par 100 mille habitants en 2022, il s'est trouvé 1,6 fois inférieur de celui moyen de plusieurs années (37,03 en 2010–2019). En 2022 les taux élevés d'incidence, excédant de 2 fois ceux moyens de la Russie, ont été enregistrés à Moscou et à Saint-Petersbourg.

En 2022 le taux d'incidence de l'hépatite chronique B (HCB) a été de 6,4 par 100 mille habitants, soit de 1,7 fois inférieur à celui moyen de plusieurs années (11,01 par 100 mille habitants). Au cours de la dernière décennie le taux d'incidence de l'HCB a diminué de 1,8 fois (11,7 par 100 mille habitants en 2013) tout en augmentant de 42,5% comparé à 2021 (4,5 par 100 mille habitants en 2021).

Publications

Articles

1. Basina V.V., Dzemova A.A., Arsent'eva N.A., Novak K.E., Esaulenko E.V., Totolian A.A. *Dinical and immunological status of patients with chronic hepatitis C on the background of comorbidity // Consilium Medicum. 2021; 23 (5): 428–433. (In Russ.) doi: 10.26442/20751753.2021.5.200909*
2. Belyakov N.A., Boeva E.V., Simakina O.E., Svetlichnaya Yu.S., Ogurtsova S.V., Serebryakova S.L., Esaulenko E.V., Zagdyn Z.M., Yazenok A.V., Lioznov D.A., Stoma I.O. *COVID-19 pandemic and its impact on other infections in Northwest Russia // HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2022; 14 (1): 7–24. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-1-7-24*
3. Boumbaly S., Balde T.A.L., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Naidenova E.V., Valutite D.E., Shchemelev A.N., Zueva E.B., Esaulenko E.V., Totolian A.A. *Prevalence of viral Hepatitis B markers among blood donors in the Republic of Guinea // Problems of Virology. 2022; 67: 59–68. (In Russ.)*
4. Butskaya MYu., Bushmanova A.D., Priyma E.N., Ogurtsova S.V., Novak K.E., Esaulenko E.V. *Current epidemiological aspects of acute viral hepatitis in Russia // Epidemiology and Infectious Diseases. 2021; 26 (2): 67–74. doi: 10.17816/EID105585*
5. Chulanov V.P., Gorodin V.N., Sagalova O.I., Ivanova M.R., Kravchenko I.E., Simakova A.I., Tragira I.N., KhabudaeV.V.A., Esaulenko E.V., Shestakova I.V. *Hepatitis C disease burden in the Russian Federation: from the real-life situation to strategy // Infectious Diseases. 2021; 19(4): 52–63. (In Russ.) doi: 10.20953/1729-9225-2021-4-52-63*
6. Esaulenko E.V., Butskaya M.Y., Skvoroda V.V., Ibrokhimova A.D., Priima E.N. *The epidemic situation of hepatitis A in the first twenty years of the twenty first century in the Northwestern Federal District // Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items. 2022; 12 (4): 11–18. (In Russ.) doi: 10.18565/epidem.2022.12.3.11-8*
7. Esaulenko E.V., Dzemova A.A., Novak K.E., Bushmanova A.D., Ostankova Yu.V., Valutite D.E., Chernoguz Yu.A., Zueva E.B., Yushina E.Yu., Tyurenkova N.V. *Analysis of long-term results of effective etiotropic therapy of chronic hepatitis C // Therapy. 2022; 8 (3): 50–58. (In Russ.)*
8. Esaulenko E.V., Dzemova A.A., Trifonova G.F., Bushmanova A.D., Novak K.E., Ogurtsova S.V., Butskaya M.Yu. *Hepatitis C in Russia and the Northwest federal region of Russia: results of the first stage the global programme of infection elimination // HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2021; 13 (3): 40–51. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-3-40-51*
9. Esaulenko E.V., Novak K.E., Basina V.V., Dzemova A.A., Ganchenko R.A. *Prevalence of comorbidity in chronic HCV-infection // Medical Alphabet. 2021; (1): 66–70. (In Russ.) doi: 10.33667/2078-5631-2021-1-66-70*

Thèses

1. *Bumbali S., Butskaya M.Yu., Skvoroda V.V., Esaulenko E.V. Prevalence of enteral hepatitis in the Republic of Guinea in children and adults // Infectious diseases in the Modern World: Evolution, Current and Future Threats: Proceedings of the XIV Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases named after Academician V.I. Pokrovsky, Moscow, March 28–30, 2022. Moscow: LLC «Meditsinskoye Marketingovoe Agentstvo», 2022: 33–34. (In Russ.)*
2. *Lyalina L.V., Esaulenko E.V., Khorkova E.V., Plavinskii S.R., Rishnyak O.Yu., Novak K.E., Totolian A.A. Implementation of the viral Hepatitis B elimination program in the North-West of Russia: results and prospects // Proceedings of the XII Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists, Moscow, October 26–28, 2022 / Eds A.Yu. Popova, V.G. Akimkin. Moscow: Federal Budgetary Institution of Science «Central Research Institute of Epidemiology» of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, 2022: 423. (In Russ.)*

Brevets

1. *Patent No. 2759672 C2, Russian Federation, IPC G01N 33/53. Method for differentiating causes of development of initial stage of hepatic fibrosis in chronic viral hepatitis B and C. No. 2019141709; application: 2019.12.12; date of publication 16.11.2021 / Batsunov O.K., Semenov A.V., Arsenteva N.A., Lyubimova N.E., Ostankova Y.V., Esaulenko E.V., Totolian A.A. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. Pastera Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitel'j i blagopoluchiya cheloveka» (FBUN NII epidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera)*

LABORATOIRE D'ÉPIDÉMIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET DE GÉNÉTIQUE ÉVOLUTIVE

Chef du laboratoire: Igor Mokrousov

Chercheurs: O. Narvskaya, O. Kalinina, A. Vyazovaya, D. Starkova, A. Gerasimova, E. Lichnaya, V. Molchanov, R. Mudarisova, D. Terentierva

Tuberculose et mycobactéries

Projets et collaborations

Funded Projects

- Projet avec l'Institut national de la santé publique et de l'environnement (RIVM, Bilthoven, Pays-Bas) sur la tuberculose résistante aux médicaments, 2018–2020 (co-PI: I. Mokrousov et R. Anthony). 2018–2021.
- Russian Science Foundation, projet 19-14-00013 («Trajectoire évolutive et épidémique inégale du sous-type ancien paradoxal de la lignée est-asiatique de *Mycobacterium tuberculosis*: fluctuations stochastiques ou corrélations causales?» PI — Igor Mokrousov), 2019–2021. Le financement s'est poursuivi pour 2022–2023.
- Russian Science Foundation, projet 19-15-00028 («Développement de nouvelles substances efficaces contre *Mycobacterium tuberculosis* résistant aux médicaments en tenant compte de la structure de la population de l'agent pathogène» PI — Anna Vyazovaya), 2019–2021.
- Projet soutenu par le programme PTR de l'Institut Pasteur Paris «Réponse transcriptionnelle pour la détection de la résistance antimicrobienne dans la tuberculose» (Coordinateur — An van den Bossche, Belgique; PI russe — Igor Mokrousov). 2019–2022.
- Russian Foundation for Basic Research, projet 20-04-00686 «Deep machine learning methods in *Mycobacterium tuberculosis* genomics for the building of an open platform for the analysis of the pathogen's evolutionary signatures» (PI — E. Shitikov, Center of Physico-Chemical médecine, Moscou), 2020–2022.
- Russian Foundation for Basic Research, projet 19-515-55009 (projet conjoint cofinancé par la Fondation nationale des sciences naturelles de Chine) «Aperçu intégral du développement de la tuberculose résistante aux médicaments chez les adultes par rapport aux enfants: impact de la souche bactérienne et du microbiome environnant» (PI — Dr Zhdanova, Centre scientifique pour les problèmes de santé familiale et de reproduction humaine, Irkoutsk, Russie), 2020–2022.
- Russian Foundation for Basic Research, projet 20-515-80006 dans le cadre du programme-cadre BRICS STI Réponse à la pandémie mondiale de COVID-19 (PI — Prof. Y. Schwartz, Institut de recherche sur la tuberculose, Novosibirsk) 2021–2022.
- Russian Science Foundation, projet 22-15-00432 «Le développement de méthodes de diagnostic de sources de mycobactéries» (PI — Danila Zimenkov, Institut de biologie moléculaire Engelhardt RAS, Moscou). 2022–2024.

Collaborations internationales

Institut national de la santé publique et de l'environnement, RIVM (2018–2021), Hôpital pour les enfants de Pékin, Chine (2017–2021), Institut de microbiologie Stephan Angeloff et Institut de chimie organique avec centre de phytochimie, Académie bulgare des sciences (Sofia, Bulgarie),

Laboratoire national de référence pour la tuberculose, Hôpital universitaire Shefqet Ndroqi (Tirana, Albanie), Département de microbiologie appliquée, Faculté de biologie, Université de Varsovie (Pologne), Instituto de Investigação do Medicamento, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa (Lisbonne, Portugal).

Collaborations nationales

Université médicale d'État d'Omsk, Centre scientifique de la santé familiale et des problèmes de reproduction (Irkoutsk), Université d'État de Bouriatie (Ulan-Ude), Institut de recherche de l'Oural en phthisiopulmonologie (Ekaterinbourg), Université médicale du Nord (Archangelsk), Dispensaires antituberculeux à Kaliningrad, Petrozavodsk (Carélie), Syktyvkar (Komi), Mourmansk, Pskov, Omsk, Novgorod.

Principaux résultats de recherche

Surveillance moléculaire de *Mycobacterium tuberculosis* dans la région de Mourmansk, Russie

Dans l'oblast de Mourmansk, les premières études de génétique moléculaire des souches circulantes de *Mycobacterium tuberculosis* ont été réalisées au cours des années d'augmentation de l'incidence de la tuberculose (TB) (2003–2006). L'objectif de notre nouvelle étude était de réaliser une caractérisation génotypique de *M. tuberculosis* dans l'oblast de Mourmansk et une analyse des changements de sa structure sur 15 derniers ans. Soixante-sept souches de *M. tuberculosis* provenant de nouveaux cas de la tuberculose diagnostiqués en 2017 ont été étudiées. Les souches ont été attribuées au génotype Beijing et à ses principaux groupes sur la base de l'analyse de marqueurs spécifiques. Les souches de génotype Beijing ont été typées par 24 locus MIRU-VNTR. Toutes les souches non-Beijing ont été soumises à un spoligotypage. Des génotypes suivants de *M. tuberculosis* ont été identifiés: Beijing (52,2%), Ural (19,4%), T (9,0%), LAM (7,5%), Haarlem (3,0%) et X (1,5%). Parmi les souches de Beijing, le groupe Central Asian/Russian avec des profils MIRU-VNTR hétérogènes était prédominant: 34,3% (23/67). La multirésistance (multidrug resistance, MDR) — causée par les mutations *rpoB* Ser-531Leu (TCG → TTG) et *katG* Ser315Thr (AGC → ACC) — a été détectée dans 26,9% des souches; la plus grande proportion de souches MDR a été trouvée dans le cluster Beijing B0/W148 (85,7%), représenté principalement par le profil MIRU-VNTR 100-32. En conclusion, une dominance constante du génotype Beijing en 2003–2017, avec une tendance à une augmentation de 44,0 à 52,2% a été observée. La proportion de souches MDR dans le groupe B0/W148 Beijing a été augmentée par 3,5, ce qui indique la sélection et l'accumulation de cette variante épidémiologiquement et cliniquement défavorable de l'agent pathogène de la tuberculose dans l'oblast de Mourmansk (Tabl. 19).

Tableau 19. Génotypes et pharmacorésistance des souches de *M. tuberculosis* dans la région de Mourmansk en Russie

Genotype	Sensible (n = 41)	Mono/polyrésistant (n = 8)	MDR (n = 18)	Total (n = 67)
Beijing	17	3	15	35
Beijing B0/W148	0	1	6	7
Central-Asian/Russian	13	2	8	23
Beijing, other	4	0	1	5
Non-Beijing	24	5	3	32
Ural	9	4	0	13
T	6	0	0	6
LAM	5	0	0	5
Haarlem	1	1	0	2
X	1	0	0	1
Inconnu	2	0	3	5

Analyse moléculaire de la résistance de *Mycobacterium tuberculosis* aux amides de nitrofuranyle obtenu grâce à une analyse métagénomique de mutants spontanés (projet de collaboration avec l'Institut de chimie organique avec le Centre de phytochimie et l'Institut de Microbiologie Stephan Angeloff, Académie bulgare des sciences)

Les informations sur le mode d'action du nitrofurane sur les mycobactéries et le mécanisme moléculaire de la résistance des mycobactéries aux nitrofuranes sont limitées. Différentes mutations spontanées émergent dans la population de *M. tuberculosis* et peuvent être sélectionnées et fixées si elles sont suffisamment bénéfiques pour la survie, l'adaptation et la forme physique des bactéries. Dans cette étude, nous décrivons la synthèse des nouveaux amides de nitrofuranyle et étudions leur activité antituberculeuse et leur possible mécanisme d'action/résistance par séquençage du génome entier de mutants spontanés de *M. tuberculosis*. Nous

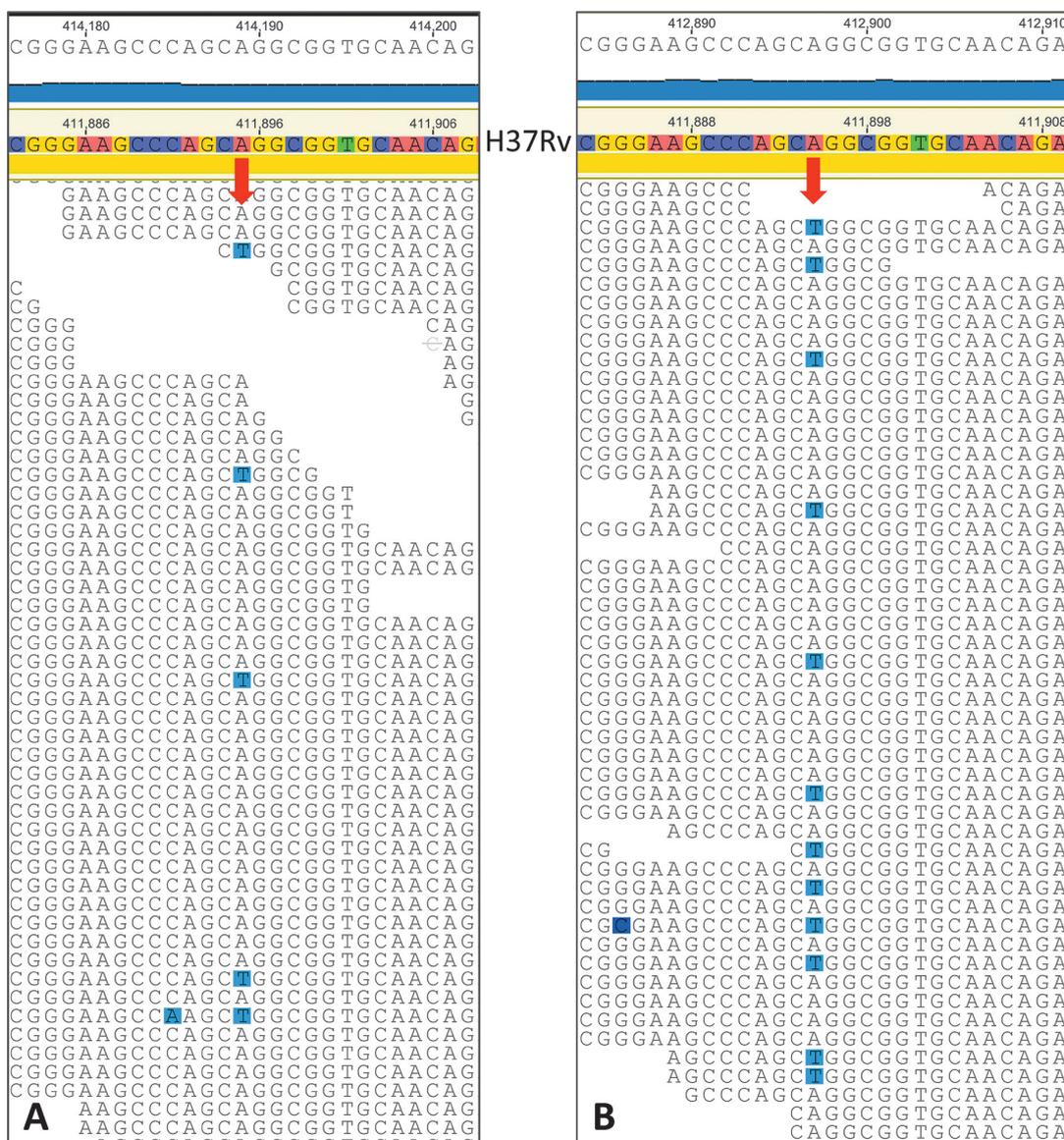


Figure 42. Exemple de la position mutante (position du génome 411895 A>T, gène *iniA*) avec des allèles mixtes de type sauvage et mutants, avec un pourcentage croissant d'allèles mutants dans les sous-cultures de *M. tuberculosis* H37Rv cultivées sous des concentrations plus élevées (2x et 8x MIC) du composé 11 — 1,0 µM (A) et 4,0 µM (B). Les reads ont été alignés sur le génome de référence H37Rv (NC_000962.3). La flèche rouge indique la position

nous sommes concentrés sur les amides de nitrofuranyl car ils possèdent une forte activité antituberculeuse et antibactérienne. Cependant surtout en cas d'activité antituberculeuse, leur mécanisme d'action est encore largement méconnu.

Méthodes. Une série de six nouveaux nitrofuranyl amides a été synthétisée par réaction du chlorure de 5-nitrofurane-2-carbonyl avec différentes amines. L'activité *in vitro* a été évaluée sur la souche de référence *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Le composé 11 ((4-(3-Hydroxyphenyl)piperazin-1-yl)(5-nitrofurane-2-yl)méthanone) était le plus actif et a été utilisé pour la sélection *in vitro* des mutants résistants spontanés. La souche H37Rv a été cultivée à des concentrations élevées de 11 et l'ADN des colonies a été soumis à une analyse WGS (whole genome sequencing) suivie d'une analyse bioinformatique.

Résultats. Les mêmes mutations dans six gènes ont été détectées dans des cultures bactériennes cultivées sous des concentrations élevées de 11 (2x, 4x, 8x MIC). Les positions mutantes ont été présentées sous forme d'allèles mixtes de type sauvage et mutant, tandis que l'augmentation de la concentration du composé a entraîné une augmentation semi-proportionnelle et significative (dans 4 cas) des allèles mutants (voir la Fig. 42 à titre d'exemple). Les gènes identifiés appartiennent à différentes catégories et voies biochimiques. Certains d'entre eux ont été précédemment signalés comme médiateurs de la résistance ou de la tolérance aux médicaments et contrecarrant le stress oxydatif et nitrosatif, en particulier: *Rv0224c* (réponse au stress oxydatif), *fbiC* (voie de biosynthèse du F420 qui comprend la nitroréductase Ddn qui active le nitrofurane), *iniA* et *Rv1592c* (pompe à efflux, maintien de l'intégrité de la membrane plasmique). Cinq des six mutations n'étaient pas synonymes et certaines ont probablement entraîné des changements importants dans la structure des protéines. L'analyse de l'interaction de l'ensemble de gènes a révélé une certaine interaction faible pour les paires de gènes *Rv1592-Rv1639c* et *Rv1592-Rv0224c*.

Conclusions. En conclusion, cette étude a démontré expérimentalement une réponse génétique complexe de *M. tuberculosis* à l'action du nitrofuranyl amide qui concernait plusieurs gènes et différentes voies. Six gènes contenaient des mutations qui ont émergé dans des cultures bactériennes cultivées sous des concentrations accrues de nitrofurane. De plus, les concentrations croissantes ont conduit à une proportion plus élevée d'allèles mutants. Les gènes identifiés appartiennent à différentes catégories et voies de gènes. Les mêmes mutations ont été détectées dans différentes expériences indépendantes qui confirment une corrélation entre l'action du composé et un éventuel mécanisme de résistance. De plus, l'augmentation de la concentration en composé du composé a conduit à une augmentation semi-proportionnelle et significative (dans 4 cas) des allèles mutants. Cinq des six mutations n'étaient pas synonymes et certaines pourraient probablement entraîner des changements significatifs dans la structure des protéines, en particulier des mutations dans *iniA* et *fbiC* avec des scores PAM1 et SIFT significatifs de manière concordante.

Un cluster de *Mycobacterium tuberculosis* extrêmement lethal et hypervirulent en Extrême-Orient, en Russie (projet collaboratif avec l'Institut de phthisiopulmonologie de Saint-Petersbourg)

Auparavant, les souris résistantes C57BL/6 infectées par la souche hautement virulente de *M. tuberculosis* ont été présentées comme un modèle de tuberculose reproduisant une réponse inflammatoire exacerbée chez un hôte

résistant aux mycobactéries hypervirulentes, entraînant des lésions pulmonaires nécrotiques irréversibles. Les propriétés des souches de Beijing ont déjà été étudiées dans ce modèle, y compris les sous-lignées anciennes et modernes de différents pays. Cependant, seules les souches modernes de la sous-lignée Beijing de Russie ont été analysées dans ces études. Dans notre étude, nous avons cherché à étudier les propriétés de virulence des souches de *M. tuberculosis* des anciens/ancestrales clusters de Beijing récemment décrits et associés à la MDR en Russie (Fig. 43) dans le modèle de souris C57BL/6.

Dans le modèle murin, les souches 396 (groupe 14717-15, de Bouriatie, Extrême-Orient) et 6691 (groupe 1071-32, d'Omsk, Sibérie) ont démontré des propriétés contrastées. Le groupe de souris infectées par souche 396 présentait une mortalité significativement plus élevée, une perte de poids plus importante, une charge bactérienne plus élevée et une pathologie pulmonaire plus grave (Fig. 44 and 45). De plus, par rapport aux données précédemment publiées sur d'autres souches épidémiques russes de Beijing (B0/W148, CAO, Central Asian/Russian), la souche 396 a démontré la mortalité la plus élevée.

La souche 6691 appartient au cluster Beijing 1071-32 répandu dans différents pays de ex-l'URSS mais à faible prévalence et n'est relativement visible qu'à Omsk, en Sibérie occidentale (7%). Cette situation suit une hypothèse traditionnelle selon laquelle de multiples mutations de résistance aux médicaments réduisent la forme physique et la virulence. En revanche, la souche 396 hautement létale et hypervirulente représente un cluster Beijing 14717-15 prédominant uniquement en Bouriatie, en Extrême-Orient (16%), trouvé sporadiquement au-delà, mais ne formant pas de clusters de transmission. Ce cas spécifique ne correspond pas à une théorie de la souche à la fois hautement virulente et hautement transmissible. Nous appelons ce groupe 14717-15 conditionnellement transmissible car il n'est répandu de manière endémique qu'à un seul region. Les raisons peuvent résider dans l'interaction particulière du système immunitaire humain et du patrimoine génétique de cette souche, et une étude plus approfondie est justifiée.

Impact de la diversité pathobiologique de *Mycobacterium tuberculosis* sur les caractéristiques cliniques de la tuberculose (projet de collaboration avec l'Université médicale d'État d'Omsk et le Dispensaire clinique de la tuberculose, Omsk)

La reconnaissance de l'importance clinique de la diversité des populations de *Mycobacterium tuberculosis* est la question clé de l'épidémiologie moléculaire et de la médecine personnalisée de la tuberculose (TB). Les souches de différentes lignées génétiques de *M. tuberculosis* présentent une variabilité de certaines propriétés biologiques telles que le taux de croissance *in vitro*, la virulence dans les modèles animaux, la capacité à acquérir une résistance aux médicaments. L'issue de la maladie, favorable ou défavorable, dépend d'un certain nombre de facteurs qui agissent de manière indépendante ou synergique et comprennent non seulement la virulence de la souche, mais aussi la génétique humaine, la co-infection par le VIH, l'immunosuppression, la durée de la maladie tuberculeuse, la rapidité du diagnostic, l'efficacité de traitement et les facteurs sociaux et environnementaux. La population de *Mycobacterium tuberculosis* en Russie est dominée par le génotype Beijing dont les variantes majeures sont caractérisées par des propriétés

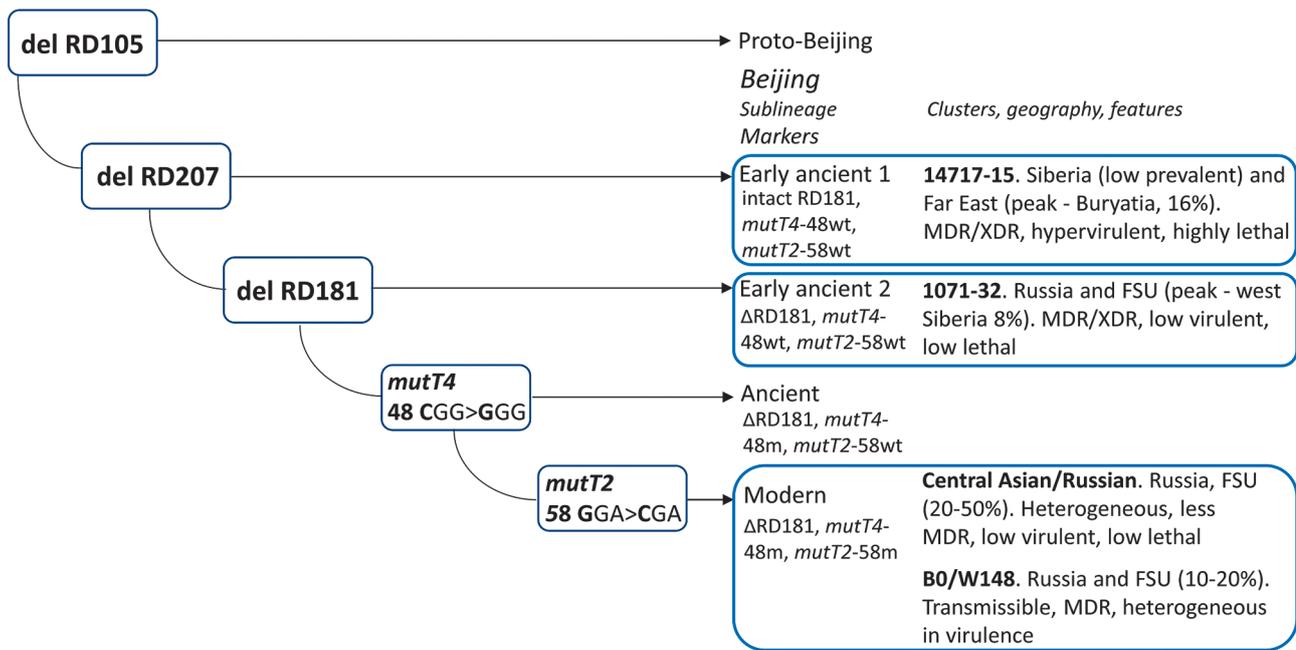


Figure 43. Evolution simplifiée du génotype Beijing avec des informations sur les sous-types russes

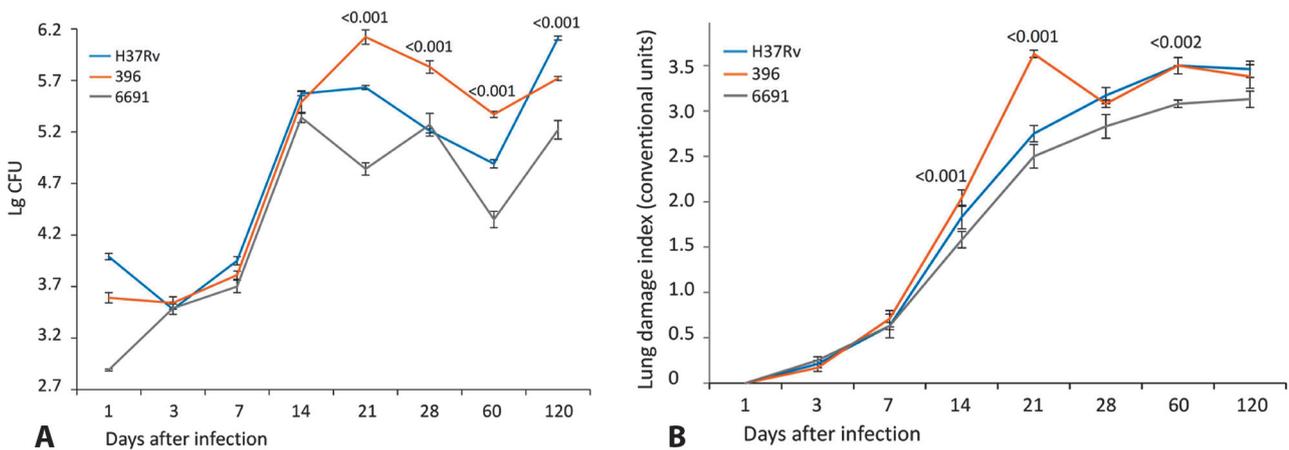


Figure 44. (A) Charge bactérienne dans les poumons de souris infectées par des souches de *M. tuberculosis* déterminées à différents moments. (B). Scores de pathologie pulmonaire de souris infectées par des souches de *M. tuberculosis* déterminés à différents moments

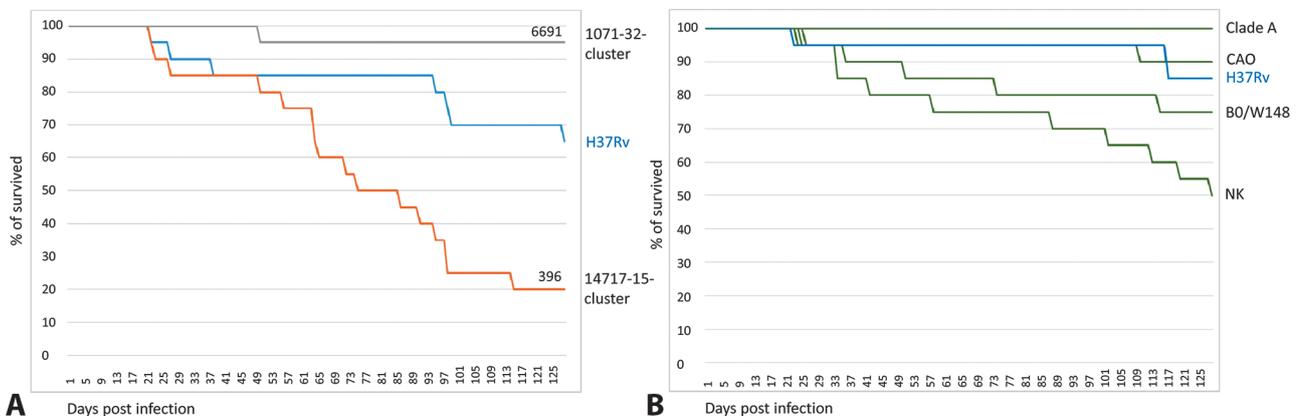


Figure 45. Comparaison de la survie des souris après infection par des souches de *M. tuberculosis* dans les 125 jours p.i. La même souche H37Rv a été utilisée comme référence. (A) Ancienne sous-lignée de Beijing (cette étude). La souche 6691 appartient au cluster 1071-32 (RD181 supprimé), la souche 396 appartient au cluster 14717-15 (RD181 intact). (B) Sous-lignée de Beijing moderne (adapté de Bespyatykh et al., 2019)

contrastées de résistance et de virulence. La voie évolutive simplifiée du génotype Beijing avec des informations sur les sous-types ci-dessus est illustrée à la Fig. 43.

Nous avons étudié comment ces caractéristiques de souche pourraient avoir un impact sur la progression de la tuberculose pulmonaire (TB) concernant la manifestation clinique et l'issue létale.

Résultats. La collection de l'étude comprenait 548 isolats de *M. tuberculosis* provenant de 548 patients atteints de tuberculose pulmonaire nouvellement diagnostiquée à Omsk, en Sibérie occidentale, en Russie. Les souches ont été soumises à des tests de sensibilité aux médicaments et à un génotypage pour détecter les lignées, les sous-lignées et les sous-types (dans le génotype de Beijing). Le génotype Beijing a été détecté dans 370 (67,5%) des souches étudiées. L'association la plus forte avec la multirésistance (MDR) a été trouvée pour le cluster épidémique Beijing B0/W148 (sous-lignée moderne) et deux clusters MDR récemment découverts 1071-32 et 14717-15 de l'ancienne sous-lignée Beijing. Le groupe de patients infectés par le Beijing 14717-15 hypervirulent et hautement létal (dans un modèle murin) a montré le taux le plus élevé d'issue létale (58,3%) par rapport au groupe Beijing B0/W148 (31,4%; $P = 0,06$), Beijing Central Asian/ Russe (29,7%, $P = 0,037$) et souches non-Beijing (15,2%, $P = 0,001$). Le groupe 14717-15 comprenait principalement des isolats de patients atteints de tuberculose infiltrante mais pas de tuberculose fibreuse-caverneuse et disséminée. En revanche, un groupe infecté par le cluster 1071-32 à faible virulence présentait le taux le plus élevé de tuberculose fibreuse-caverneuse, reflétant peut-être la capacité de ces souches à survivre et à prolonger la chronicité du processus de tuberculose.

Conclusions. Cette étude montre indirectement que l'approche traditionnelle d'évaluation de la virulence et de la létalité dans les modèles murins reste utile. Le groupe infecté par le cluster hypervirulent et hautement létal dans le modèle murin 14717-15 avait le taux le plus élevé d'issue létale (58,3%) par rapport aux groupes Beijing B0/W148 (31,4%) et non-Beijing (15,2%).

En Russie, pays avec un taux très élevé de MDR primaire, le traitement est empirique et prend en compte une forte probabilité de MDR primaire pour certains génotypes. Il est maintenant temps d'essayer de considérer également d'autres caractéristiques des souches infectantes. Non seulement la résistance aux médicaments mais aussi la virulence des souches doivent être prises en compte dans la médecine personnalisée et le traitement de la tuberculose.

Approche pratique de la détection et de la surveillance de *Mycobacterium tuberculosis* Beijing 1071-32-cluster multirésistant

Le variant génétique récemment découvert *Mycobacterium tuberculosis* Beijing 1071-32 se caractérise par une multirésistance. Des isolats de Beijing 1071-32 ont été identifiés en Sibérie (la région la plus probable de son origine), mais aussi en Russie européenne, en Asie centrale, en Transcaucasie et dans les pays des Balkans. Nous avons développé une méthode moléculaire de détection rapide des souches de ce génotype et appliquée à la grande collection d'ADN.

Sur la base de l'analyse phylogénétique des données génomiques, nous avons identifié trois SNP synonymes spécifiques au cluster dans les gènes *Rv0144*, *Rv0373c* et *Rv0334* et ont développé et validé le test PCR en temps réel pour

leur détection. L'analyse de la collection génétiquement et géographiquement diversifiée d'environ 2400 isolats de *M. tuberculosis* de 1996 à 2020 (parties européenne et asiatique de la Russie, pays de l'ex-Union soviétique, Albanie, Grèce, Chine, Vietnam, Japon et Brésil), a confirmé une spécificité de 100% et la sensibilité de ce test.

Tous les isolats de Beijing 1071-32 portaient une signature caractéristique de six mutations qui confèrent une résistance aux quatre antibiotiques de première ligne. Cette combinaison comprend les mutations les plus fréquentes et les plus efficaces (*rpoB450*, *katG315*, *rpsL43*), la mutation rare (*embB497*) et les mutations compensatoires (*rpoC485*, *katG335*). L'interaction épistatique de toutes ces mutations pourrait avoir influencé la propagation de ce cluster génétique.

En plus de la présence attendue du Beijing 1071-32 en Sibérie et dans la partie européenne de la Russie, ces souches ont été trouvées en Asie centrale, en Transcaucasie, et aussi, de manière tout à fait inattendue, dans les pays des Balkans — Albanie, Grèce, Serbie. On ne sait pas si ce dernier reflète déjà la circulation locale dans les Balkans de cette souche ou des événements indépendants de son introduction depuis les pays de l'ex-URSS (Fig. 46).

De manière énigmatique, tous les isolats géographiquement éloignés de ce cluster Beijing 1071-32 ont le même ensemble de six mutations de résistance. Aucune souche intermédiaire avec certaines, mais pas toutes ces mutations n'a été trouvée à ce jour. De manière spéculative, l'acquisition de nouvelles mutations a rendu la souche plus adaptable par rapport aux variantes intermédiaires qui ont ensuite disparu de la population.

Dynamique spatio-temporelle de *Mycobacterium tuberculosis* en Estonie (projet de collaboration avec la North Estonian Medical Center Foundation et Estonian Tuberculosis Registry, Tallinn, Estonie)

Des tendances différentes et contrastées liées à la migration humaine et à la mise en œuvre de programmes de contrôle sanitaire influencent la propagation de la tuberculose (TB) résistante aux médicaments. Nous avons analysé la structure de la population de *Mycobacterium tuberculosis* en Estonie, afin de détecter les changements dynamiques. La collection de l'étude comprenait 278 isolats de *M. tuberculosis* récupérés en 1999 et 2014–2015. Les isolats ont été soumis à des tests de sensibilité aux médicaments, au génotypage et à l'analyse des marqueurs spécifiques aux sous-lignées/clusters et aux mutations de résistance aux médicaments. Le génotype Pékin était le plus répandu et son taux est passé de 28,6% en 1999 à 38,5% en 2015 ($P = 0,09$). Les souches non-Beijing représentaient la lignée euro-américaine (génotypes LAM, Ural, Haarlem, T, X) et indo-océanique (un isolat EAI-IND) (Fig. 47). La proportion d'isolats résistants à deux médicaments ou plus est passée de 22,4% à 29,1% ($P = 0,1$). Les isolats pré-XDR/XDR ont été identifiés uniquement dans le génotype Beijing. En revanche, le taux de résistance aux médicaments a diminué dans le génotype LAM de 42,1% à 11,8% ($P = 0,05$). Le cluster Beijing B0/W148 («souche russe épidémique») ne comprenait que des isolats MDR, pré-XDR ou XDR. Tous les isolats du cluster B0/W148 étaient résistants à deux médicaments ou plus, contre 28% du cluster Beijing 94–32 ($P = 0,0002$) (Fig. 48). Le génotype Beijing n'a pas été identifié dans les isolats de patients nés en Estonie avant 1940 par rapport à son taux de 35,2% chez les autres patients. En ré-

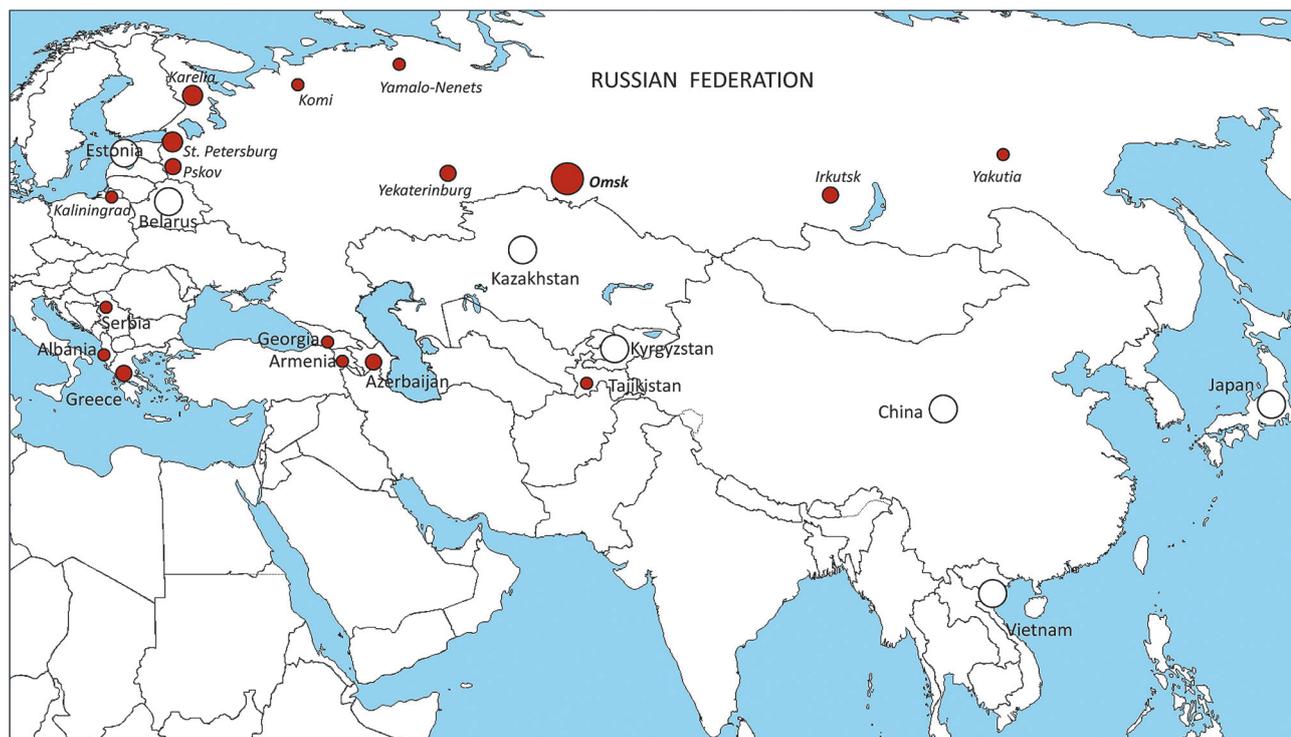


Figure 46. Répartition géographique des isolats du cluster Beijing 1071-32 identifiés dans cette étude. La taille du cercle correspond approximativement à la proportion d'isolats identifiés de ce groupe (les plus petits points représentent des isolats uniques). L'absence de ces isolats dans les populations locales est indiquée par un cercle blanc

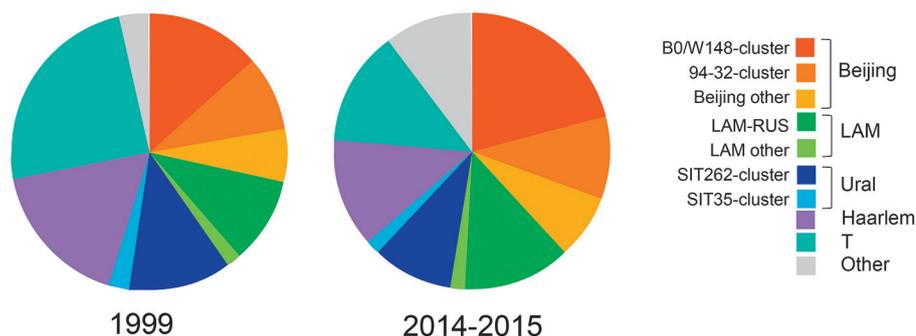


Figure 47. Prévalence des principaux génotypes et sous-types de *M. tuberculosis* en Estonie en 1999 et 2015

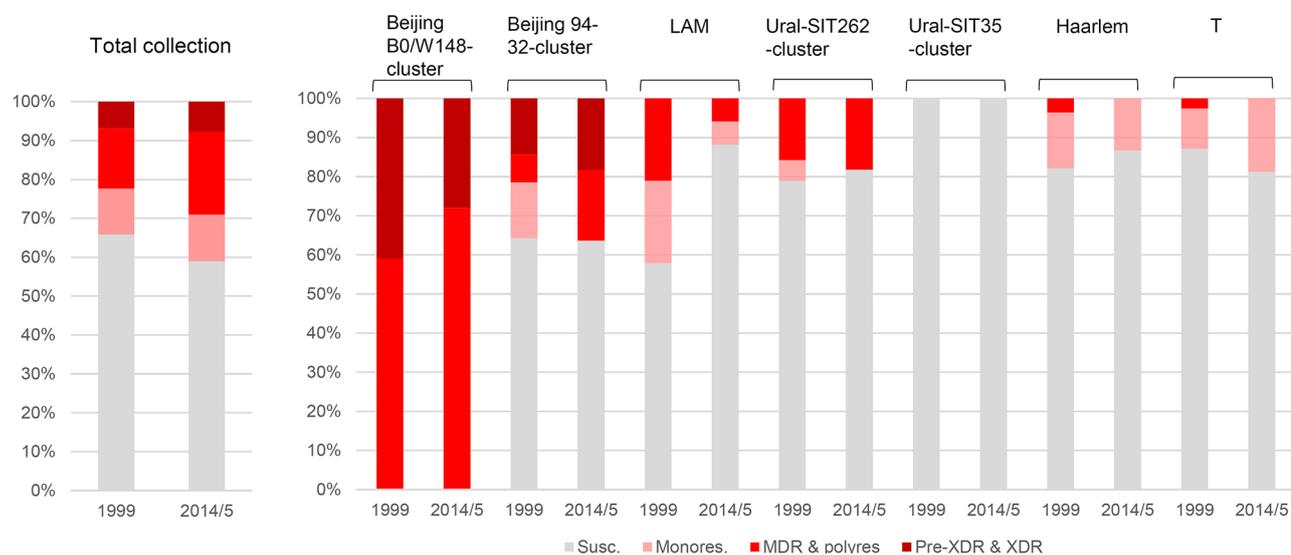


Figure 48. Résistance aux médicaments des principaux génotypes de *M. tuberculosis* en Estonie en 1999 et 2015

sumé, la circulation des isolats hautement résistants aux médicaments du sous-type Beijing B0/W148, la prévalence accrue du génotype Beijing chez les patients co-infectés par le VIH et le nombre accru de patients souffrant d'abus d'alcool (47,5%) présentent des défis majeurs de le contrôle actuel de la tuberculose en Estonie. Le génotype Beijing a probablement été introduit en Estonie après 1945 en raison de l'afflux massif d'humains en provenance de l'Union soviétique. En revanche, les principaux génotypes de la lignée euro-américaine étaient probablement endémiques en Estonie pendant tout le 20e siècle.

Résistance aux médicaments des mycobactéries non-tuberculeuses dans le nord-ouest de la Russie

Parmi un grand groupe de mycobactéries non-tuberculeuses (NTM) (plus de 150 espèces), les bactéries à croissance lente du complexe MAC (complexe *Mycobacterium avium*) — *M. avium* et *M. intracellulare* ont été reconnues comme les agents pathogènes les plus importants sur le plan clinique. En tant qu'agent causal de la mycobactériose pulmonaire, le MAC peut provoquer une destruction pulmonaire chez les personnes immunocompétentes et une forme disséminée d'infection chez les personnes infectées par le VIH. Le but de l'étude était d'étudier la résistance aux médicaments des isolats de *M. avium* et *M. intracellulare* isolés chez des patients atteints de mycobactériose dans le nord-ouest de la Russie est l'étiologie la plus fréquente de la maladie.

Matériels et méthodes. Pour la période de 2014 à 2020, 192 isolats de MAC à croissance lente (164 — *M. avium*, 28 — *M. intracellulare*) provenant de patients séronégatifs atteints d'une maladie pulmonaire ont été étudiés. Sur les 164 isolats de *M. avium*, 116 ont été isolés chez des patients

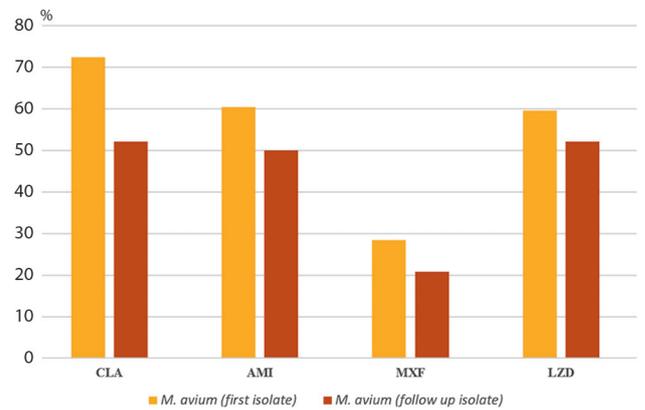


Figure 49. Distribution des proportions de souches de *M. avium* sensibles au CLA (clarithromycine), AMI (amikacine), MXF (moxifloxacine) et LZD (linézolide) isolées chez des patients nouvellement diagnostiqués (n = 116) et des patients précédemment traités (n = 48)

nouvellement diagnostiqués, 48 chez des patients précédemment traités (avec un schéma thérapeutique inconnu). Tous les isolats de *M. intracellulare* ont été obtenus à partir de patients nouvellement diagnostiqués. Les tests de sensibilité aux médicaments ont été réalisés à l'aide de panels Sensititre SLOMYCO (Thermo Fisher Scientific). Pour la clarithromycine, l'amikacine, la moxifloxacine et le linézolide, les seuils du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ont été utilisés pour interpréter les valeurs de CMI (CLA: S ≤ 8 mcg/ml, I = 16 mcg/ml, R ≥ 32 mcg/ml; MXF: S ≤ 1 mcg/ml, I = 2 mcg/ml, R ≥ 4, mcg/ml; LZD: S ≤ 8 mcg/ml, I = 16 mcg/ml, R ≥ 32 mcg/ml; AMI: S ≤ 16 mcg/ml, I = 32 mcg/ml, R ≥ 64 mcg/ml).

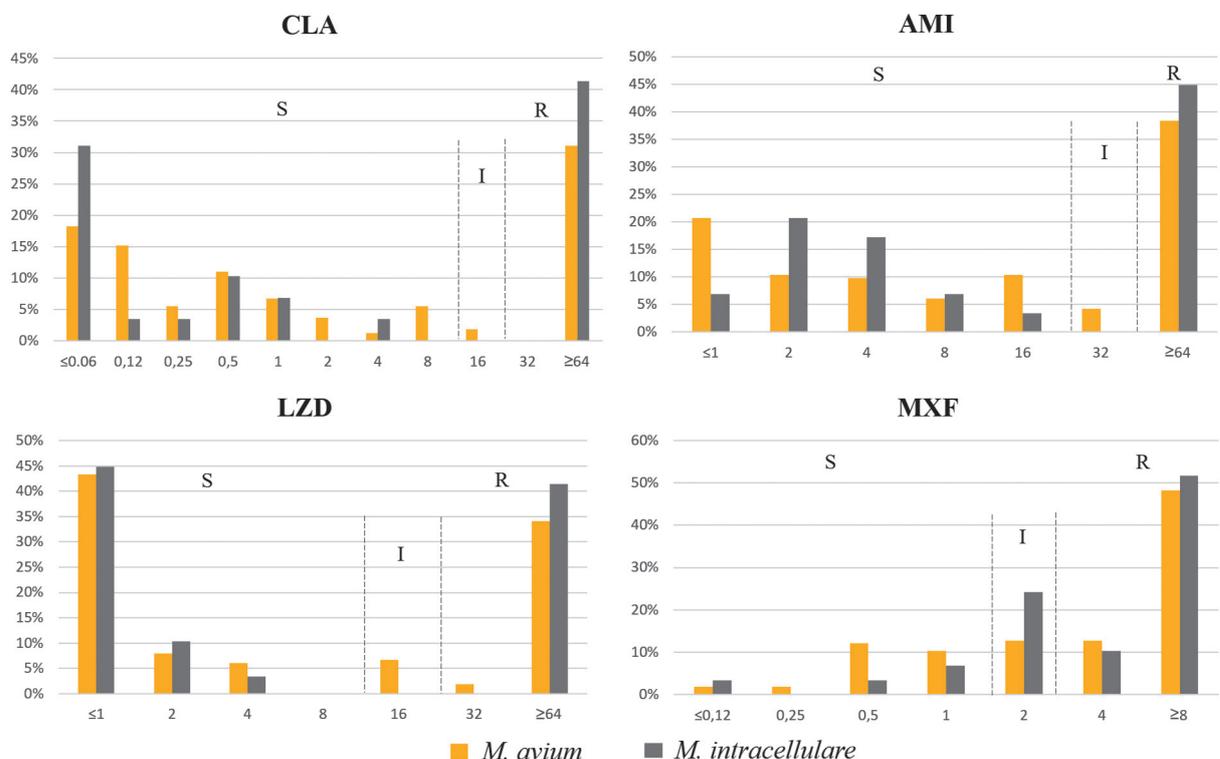


Figure 50. Distribution des MIC pour CLA (clarithromycine), AMI (amikacine), MXF (moxifloxacine) et LZD (linézolide) dans les isolats cliniques de *M. avium* (n = 164) et *M. intracellulare* (n = 28). Les lignes pointillées verticales représentent les seuils de MIC pour les souches MAC sensibles (S), intermédiaires (I) et résistantes (R)

Résultats. Les principaux résultats sont présentés dans les Figures 49 et 50. Des quatre antibiotiques (clarithromycine, moxifloxacine, linézolide, amikacine), la clarithromycine était la plus efficace contre *M. avium* (67,1%; 110/164) et *M. intracellulare* (60,7%; 17/28) sans différence significative dans le taux de sensibilité entre les espèces ($p > 0,05$). Dans l'ensemble, 57,3% des isolats de *M. avium* et 53,5% de *M. intracellulare* étaient sensibles au linézolide. Pour la moxifloxacine, 26,8% des isolats de *M. avium* et 14,3% de *M. intracellulare* étaient sensibles; pour l'amikacine — 57,3% des isolats de *M. avium* et 53,5% de *M. in-*

tracellulare étaient sensibles, respectivement. Les taux de résistance à tous les antibiotiques étaient plus élevés chez *M. intracellulare* que chez *M. avium*, mais de manière non significative ($p > 0,05$). Le taux d'isolats de *M. avium* sensibles à CLA était supérieur de 20% chez les patients nouvellement diagnostiqués par rapport aux patients précédemment traités ($\chi^2 = 6,296$; $p = 0,013$). Les taux du groupe des premiers isolats de *M. avium* sensibles à la moxifloxacine, au linézolide et à l'amikacine étaient également plus élevés que dans le groupe des isolats de suivi.

Publications

Chapitre du livre

1. Mokrousov I. Major Impact of Massive Migration on Spread of Mycobacterium tuberculosis Strains. In: Human Migration (Eds M. de Lourdes Moreno and M.H. Crawford) // Oxford University Press, 2021: 255–267. doi: 10.1093/oso/9780190945961.003.0020

Articles en Anglais: 15 (9 — Q1 [Web of Science])

1. Acosta F., Norman A., Sambrano D., Batista V., Mokrousov I., Shitikov E., Jurado J., Mayrena M., Luque O., Garay M., Solís L., Muñoz P., Folkvardsen D.B., Lillebaek T., Pérez-Lago L., Goodridge A., García de Viedma D. Probable long-term prevalence for a predominant Mycobacterium tuberculosis clone of a Beijing genotype in Colon, Panama // Transbound Emerg Dis. 2021; 68 (4): 2229–2238. doi: 10.1111/tbed.13875. Q1
2. Bakula Z., Wuyep V.B., Bartocha Ł., Vyazovaya A., Ikeh E.I., Bielecki J., Mokrousov I., Jagielski T. Molecular snapshot of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains from the Plateau State, Nigeria // PLoS One. 2022; 17 (5): e0266837. doi: 10.1371/journal.pone.0266837
3. Bespiatykh D., Bespiatykh J., Mokrousov I., Shitikov E. A Comprehensive Map of Mycobacterium tuberculosis Complex Regions of Difference // mSphere. 2021; 6 (4): e0053521. doi: 10.1128/mSphere.00535-21
4. Chernyaeva E., Rotkevich M., Krashennikova K., Lapidus A., Polev D.E., Solovieva N., Zhuravlev V., Yablonsky P., O'Brien, S.J. Genomic Variations in Drug Resistant Mycobacterium tuberculosis Strains Collected from Patients with Different Localization of Infection // Antibiotics. 2021; 10 (1): 27. doi: 10.3390/antibiotics10010027. Q1
5. Mokrousov I., Akhmedova G., Molchanov V., Fundovnaya E., Kozlova E., Ostankova Y., Semenov A., Maslennikova N., Leontev D., Zhuravlev V., Turkin E., Vyazovaya A. Frequent acquisition of bedaquiline resistance by epidemic extensively drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains in Russia during long-term treatment // Clin. Microbiol. Infect. 2021; 27 (3): 478–480. doi: 10.1016/j.cmi.2020.08.030. Q1
6. Mokrousov I., Pasechnik O., Vyazovaya A., Yarusova I., Gerasimova A., Blokh A., Zhuravlev V. Impact of pathobiological diversity of Mycobacterium tuberculosis on clinical features and lethal outcome of tuberculosis // BMC Microbiol. 2022; 22 (1): 50. doi: 10.1186/s12866-022-02461-w
7. Mokrousov I., Slavchev I., Solovieva N., Dogonadze M., Vyazovaya A., Valcheva V., Masharsky A., Belopolskaya O., Dimitrov S., Zhuravlev V., Portugal I., Perdigão J., Dobrikov G.M. Molecular Insight into Mycobacterium tuberculosis Resistance to Nitrofuranyl Amides Gained through Metagenomics-like Analysis of Spontaneous Mutants // Pharmaceuticals (Basel). 2022; 15 (9): 1136. doi: 10.3390/ph15091136. Q1
8. Mokrousov I., Vyazovaya A., Levina K., Gerasimova A., Zhuravlev V., Viiklepp P., Kütt M. Spatiotemporal dynamics of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis: Contrasting trends and implications for tuberculosis control in EU high-priority country // Transbound Emerg Dis. 2021; 68 (2): 896–906. doi: 10.1111/tbed.13758. Q1
9. Mokrousov I., Vyazovaya A., Sinkov V., Gerasimova A., Ioannidis P., Jiao W., Khromova P., Papaventsis D., Pasechnik O., Perdigão J., Rastogi N., Shen A., Skiba Y., Solovieva N., Suffys P., Tafaj S., Umpeleva T., Vakhrusheva D., Yarusova I., Zhdanova S., Zhuravlev V., Ogarkov O. Practical approach to detection and surveillance of emerging highly resistant Mycobacterium tuberculosis Beijing 1071-32-cluster // Sci. Rep. 2021; 11 (1): 21392. doi: 10.1038/s41598-021-00890-7. Q1
10. Mokrousov I. Ubiquitous and multifaceted: SIT53 spoligotype does not correlate with any particular family of Mycobacterium tuberculosis // Tuberculosis (Edinb). 2021; 126: 102024. doi: 10.1016/j.tube.2020.102024
11. Slavchev I., Mitrev Y., Shivachev B., Valcheva V., Dogonadze M., Solovieva N., Vyazovaya A., Mokrousov I., Link W., Jiménez L., Cautain B., Mackenzie T.A., Portugal I., Lopes F., Capela R., Perdigão J., Dobrikov G.M. Synthesis, Characterization and Complex Evaluation of Antibacterial Activity and Cytotoxicity of New Arylmethylidene Ketones and Pyrimidines with Camphane Skeletons // ChemistrySelect. 2022; 7 (17): e202201339. doi: 10.1002/slct.202201339
12. Valcheva V., Perea C., Savova-Lalkovska T., Dimitrova A., Radulski L., Mokrousov I., Marinov K., Najdenski H., Bonovska M. Mycobacterium bovis and M. caprae in Bulgaria: insight into transmission and phylogeography gained through whole-genome sequencing // BMC Vet. Res. 2022; 18 (1): 148. doi: 10.1186/s12917-022-03249-w. Q1
13. Vinogradova T., Dogonadze M., Zabolotnykh N., Badleeva M., Yarusova I., Vyazovaya A., Gerasimova A., Zhdanova S., Vitovskaya M., Solovieva N., Pasechnik O., Ogarkov O., Mokrousov I. Extremely lethal and hypervirulent Mycobacterium tuberculosis strain cluster emerging in Far East, Russia // Emerg. Microbes Infect. 2021; 10 (1): 1691–1701. doi: 10.1080/22221751.2021.1967704. Q1
14. Vyazovaya A., Felker I., Schwartz Y., Mokrousov I. Population structure of Mycobacterium tuberculosis from referral clinics in Western Siberia, Russia: Before and during the Covid-19 pandemic // Infect. Genet. Evol. 2022; 103: 105343. doi: 10.1016/j.meegid.2022.105343
15. Zhdanova S., Mokrousov I., Orlova E., Sinkov V., Ogarkov O. Transborder molecular analysis of drug-resistant tuberculosis in Mongolia and Eastern Siberia, Russia // Transbound Emerg. Dis. 2022; 69 (5): e1800–e1814. doi: 10.1111/tbed.14515. Q1

Articles en russe:

1. Narvskaya O.V., Vyazovaya A.A., Zhuravlev V.Yu., Starkova D.A., Mushkin A.Yu., Mokrousov I.V. Comparative analysis of genome-wide sequences of the seed lot of the vaccine strain of Mycobacterium bovis BCG-1 (Russia) and daughter isolates obtained from children with BCG osteitis // Tuberculosis and Lung Diseases. 2021; 99 (4): 6–12. doi: 10.21292/2075-1230-2021-99-4-6-12

2. Vyazovaya A.A., Gavrilova N.Y.u, Gerasimova A.A., Bychkova A.O., Avadenii I., Anikieva E.V., Solovieva N.S., Zhuravlev V.Yu., Mokrousov I.V., Narvskaya O.V. Molecular-genetic monitoring of Mycobacterium tuberculosis population in Murmansk region // *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2022; 40 (2): 2127. doi: 10.17116/molgen20224002121
3. Vyazovaya A.A., Lebedeva I.A., Ushakova N.B., Pavlov V.V., Gerasimova A.A., Solovieva N.S., Narvskaya O.V. Molecular and genetic analysis of Mycobacterium tuberculosis population in the Vologda Region with low tuberculosis incidence // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (3): 497–505. doi: 10.15789/2220-7619-MAG-1545

Articles sur d'autres bacteries et virus:

1. Kholopov D.V., Vyazovaya A.A., Topuzov E.E., Alekseeva D.A., Molchanov S.V., Lyalina L.V. Detection of human papillomavirus, viral load and risk factors in patients with precancerous diseases and malignant neoplasms in St. Petersburg // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (4):735-744. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-DOH-1981
2. Sivodskii E.P., Kraeva L.A., Starkova D.A., Mikhailov N.V., Gorelova G.V. Acinetobacter baumannii bv Tryptophandestruens bv nov. isolated from clinical samples // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (5): 965–972. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-ABB-1676
3. Starkova D.A., Svarval A.V. Phylogenetic structure of the global population of Helicobacter pylori // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (6): 1009–1018. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-PPO-1991
4. Svarval A.V., Starkova D.A., Ferman R.S., Narvskaya O.V. Genetic polymorphisms of Helicobacter pylori clinical isolates in St. Petersburg, Russia // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (2): 315–322. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-GPO-1744
5. Svarval A.V., Starkova D.A., Ferman R.S. Virulence determinants and genotypes of Helicobacter pylori clinical isolates // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022; 99 (6): 692–700. (In Russ.) doi: 10.36233/0372-9311-298
6. Vyazovaya A.A., Narvskaya O.V., Vedernikov V.E., Nikolskiy M.A. Single nucleotide polymorphisms in U86 Human betaherpesvirus 6B // *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2022; 40 (3): 2225. (In Russ.)

Brevets et bases de données:

1. Patent RU 2743365. Mokrousov I., Vyazovaya A., Gerasimova A., Solovieva N., Zhuravlev V. «Method for detection of phylogenetic sublineages of the Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype by real-time PCR» Priority: 12.05.2020, Application N 2020116755. Registered in State Register of Inventions of Russian Federation: 17.02.2021.
2. Patent RU 2768021. Vyazovaya A., Sinkov V., Pasechnik O., Badleeva M., Khromova P., Yarusova I., Zhdanova S., Gerasimova A., Solovieva N., Zhuravlev V., Ogarkov O., Mokrousov I. Method for detection of Mycobacterium tuberculosis Beijing 1071-32-cluster by real-time PCR. Application 2021108842/10(019066), priority 31.03.2021. Registered in State Register of Inventions of Russian Federation: 23.03.2022.
3. Patent RU 2784399. Dobrikov G., Dogonadze M., Solovieva N., Vyazovaya A., Valcheva V., Mokrousov I., Zhuravlev V. (4-(3-Hydroxyphenyl)piperazin-1-yl)(5-nitrofurazan-2-yl)methanone with anti-tuberculosis activity against multidrug-resistant tuberculosis pathogen, and method for its production Application 2021133251/04 (070223) Priority: 15 November 2021. Registered in State Register of Inventions of Russian Federation: 24.11.2022
4. Patent pending. Mokrousov I., Vyazovaya A., Badleeva M et al. Method for detecting the genotype of Mycobacterium tuberculosis Beijing 14717-15-cluster. Application 2022122577, priority 23.08.2022.
5. Database «MIRU-VNTR profiles of strains of Mycobacterium tuberculosis isolated from patients with HIV-associated tuberculosis in St. Petersburg and the Leningrad region» Gerasimova A.A., Zhuravlev V.Y., Solovieva N.S., Mokrousov I.V., Narvskaya O.V., Vyazovaya A.A. Registration number 2021622630, Registration date 11/24/2021, Publication date 11/24/2021.

LABORATOIRE DE SURVEILLANCE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

Chef du laboratoire: Anna Gladkikh

Chercheurs: V. Sbarzaglia, E. Klyoutchnikova, N. Tsyganova, T. Arbouzova, A. Sharova, M. Popova, A. Samoïlov, A. Bachevskaya, D. Militchkina

Surveillance génétique du SARS-CoV-2 dans le District Fédéral du Nord-Ouest de la Russie

Pertinence de l'étude. Le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2) est l'agent responsable de la maladie à coronavirus (COVID-19). La pandémie de COVID-19 est une pandémie mondiale en cours qui entraîne des complications sociales et sanitaires depuis décembre 2019. Celles-ci ont constitué des défis majeurs pour les établissements et les infrastructures de soins de santé, qui se poursuivent à l'heure actuelle. En Russie, à la fin de l'année 2022, 21 717 748 cas de COVID-19 et 393712 décès ont été recensés. La surveillance systématique des principaux indicateurs épidémiologiques et des variants génétiques du SARS-CoV-2 fait partie intégrante des mesures anti-épidémiologiques, tant au niveau régional que national. Le SARS-CoV-2 semble être un virus en évolution active. En raison d'une circulation intense et généralisée, des variants génétiques du SARS-CoV-2 présentant un risque accru pour la santé mondiale ont commencé à apparaître au cours de la seconde moitié 2020. Certaines variants, en raison de leur grande transmissibilité et de leur potentiel épidémique, ont été classés par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) dans la catégorie des variants préoccupantes (VOC, variants of concern) et requièrent une vigilance accrue de la part des autorités sanitaires. À certains stades de la pandémie, des souches de différentes lignées ont reçu le statut de VOC: Alpha (B.1.1.7); Beta (B.1.351); Gamma (P.1); Delta (B.1.617.2); et Omicron (B.1.1.529).

En 2021–2022, sur l'ordre du Rospotrebnadzor, l'équipe du laboratoire a surveillé les souches de SARS-CoV-2 sur le territoire du District Fédéral du Nord-Ouest de la Russie (DFNO), la région avec près de 14 millions d'habitants, qui comprend Saint-Petersbourg, la deuxième ville la plus peuplée de Russie.

Objectif de l'étude. L'objectif principal de l'étude était d'évaluer les principaux indicateurs épidémiologiques de l'épidémie de COVID-19 dans le DFNO ainsi que la dynamique des variants génétiques dans la région.

Matériel et méthodes. Dans notre étude, nous avons utilisé les données statistiques de Rospotrebnadzor, obtenues à partir d'une base de données interne basée sur des rapports régionaux quotidiens.

Dans le cadre de la surveillance génétique du SARS-CoV-2 en Russie, 10% de tous les échantillons positifs provenant des cliniques et des hôpitaux de le DFNO ont été envoyés à l'Institut Pasteur de Saint-Petersbourg pour la recherche. Les écouvillons nasopharyngés des patients chez qui le COVID-19 a été diagnostiqué ont été recueillis dans 500 µl de milieu de transport spécial et conservés à -20°C jusqu'à l'analyse ultérieure. Les méthodes de génétique moléculaire comprennent l'isolement des acides aminés, l'amplification des fragments du génome du SARS-CoV-2. Pour l'identification des variants génétiques, le séquençage Sanger du gène S a été effectué sur le bioanalyseur ABI-3500 XL. L'appartenance aux variants génétiques a été déterminée sur la base de la présence de mutations caractéristiques dans le gène S, publiées sur le site web de l'OMS.

Principaux résultats. En 2021, l'incidence du COVID-19 dans le Nord-Ouest de la Russie a varié par vagues, allant de 258,8 pour 100 mille en avril à 906,1 en décembre. Dans le même temps, des augmentations de l'incidence avec l'atteinte des sommets locaux ont été enregistrées en janvier (1113,5 cas pour 100 mille), juin (822,3 cas pour 100 mille) et novembre (1185,8 cas pour 100 mille) (Fig. 51).

En 2022, la dynamique des cas de COVID-19 a été différente, le taux d'incidence a varié de façon spectaculaire au cours de l'année, le niveau le plus élevé de cas de COVID-19 étant atteint en février (5544,3 cas pour 100 mille), 105,4 cas pour 100 mille en juin et 286,2 cas pour 100 mille en décembre, avec un nombre de cas significativement inférieur à celui de l'automne 2021 (Fig. 52).

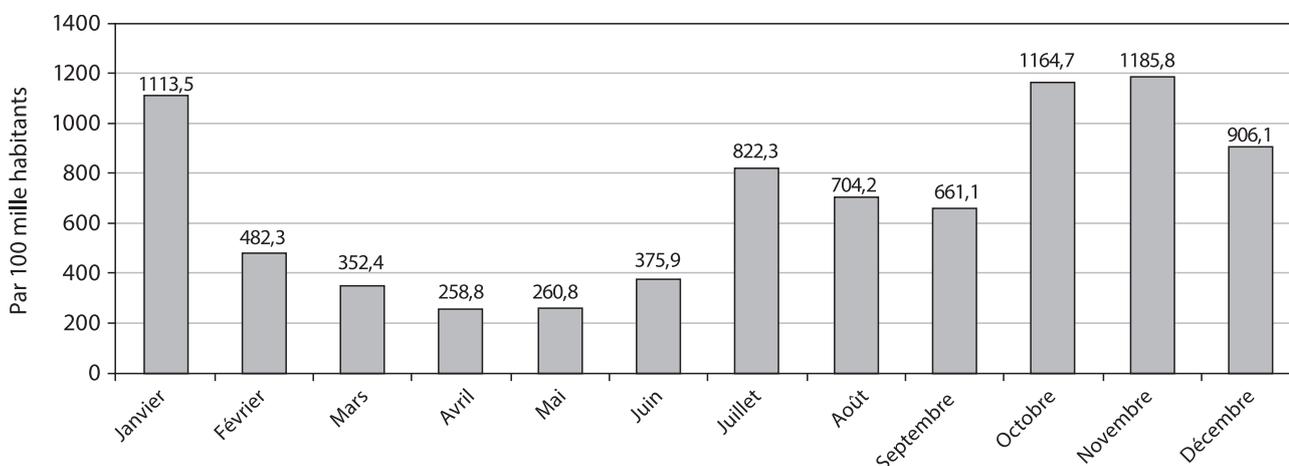


Figure 51. Incidence de COVID-19 dans le Nord-Ouest de la Russie en 2021. Des augmentations et des diminutions périodiques de l'incidence peuvent être observées. Figure basée sur les données de Rospotrebnadzor

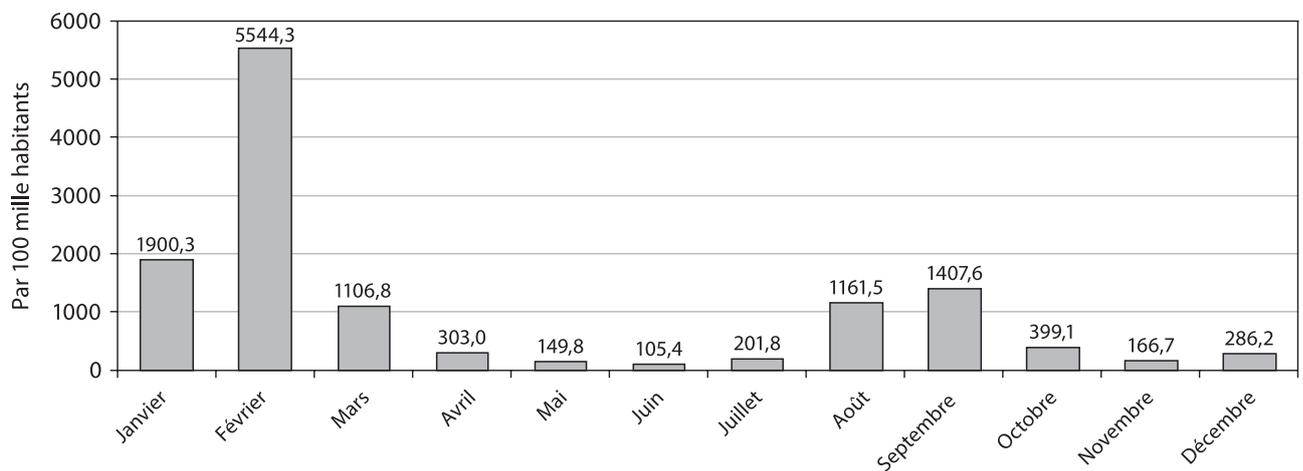


Figure 52. Incidence de COVID-19 dans le Nord-Ouest de la Russie en 2022. La dynamique des cas de COVID-19 en 2022 a varié de façon spectaculaire au cours de l'année, le nombre de cas de COVID-19 étant le plus élevé en février. Figure basée sur les données de Rospotrebnadzor

La diversité génétique du SARS-CoV-2 dans le DFNO au cours de la période d'étude a également varié et s'est caractérisée par la présence de variants préoccupants (VOC). Au cours du premier trimestre 2021, le variant 20B du SARS-CoV-2 a dominé dans le Nord-Ouest de la Russie. Toutefois, en janvier 2021, le variant AT.1 du SARS-CoV-2 a été détecté et identifié comme variant sous surveillance (VUM variant under monitoring). Sa prévalence en janvier était de 1,1%, mais elle a atteint 3,6% en mars. Un changement génétique significatif a commencé en mai 2021. Le déplacement du virus de type sauvage s'est poursuivi et sa prévalence est tombée à 42,4%. Dans le même temps, la prévalence de la variante AT.1 a atteint 28,2%, tandis que la prévalence du variant Delta était de 17,8%. Le variant Alpha représentait 10,4% de tous les variants génétiques en mai. Cette dynamique du variant Delta a entraîné, à la fin du mois de juin, un déplacement presque complet de tous les

autres variants du SARS-CoV-2. Du début du mois de juillet à la mi-décembre, on a observé une domination complète du variant Delta. Les autres VOC, ainsi que le SARS-CoV-2 de type sauvage, ont été éliminés (Fig. 53).

En 2022, Omicron était le variant dominant du SARS-CoV-2 en circulation dans le monde. Le premier cas de variant Omicron BA.1 à Saint-Petersbourg a été enregistré chez une femme arrivant à l'aéroport de Pulkovo en provenance des Émirats arabes unis le 10 décembre 2021. En 2022, la proportion de cas importés associés à des souches Omicron a encore augmenté. En janvier 2022, la part du variant Delta était de 43%. Le 15 janvier 2022, le premier cas de BA.2 a été identifié à Saint-Petersbourg.

Le pourcentage maximal de souches BA.1 (69,8%) a été enregistré en février, mais en avril, le variant BA.2 a presque entièrement remplacé les autres variants. Le changement suivant de variants génétiques a eu lieu en juillet avec l'ap-

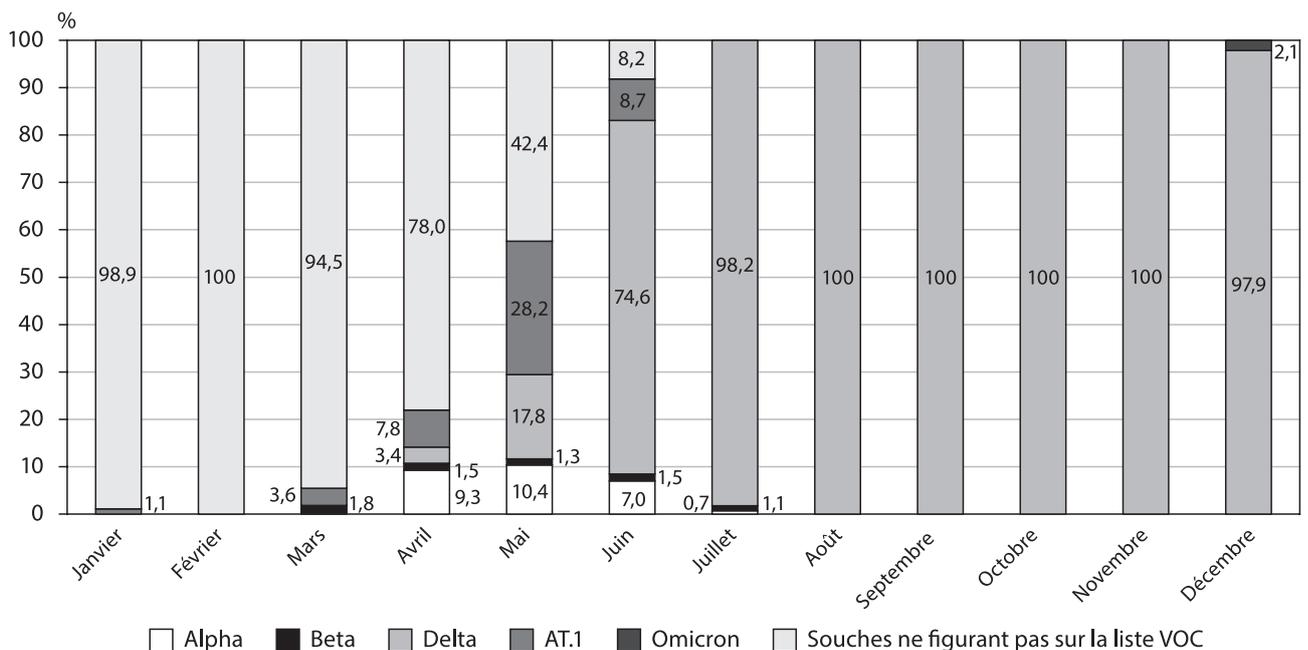


Figure 53. Diversité génétique du SARS-CoV-2 dans le Nord-Ouest de la Russie. De janvier à mai 2021, plusieurs variants génétiques du SARS-CoV-2, y compris des VOC, ont circulé dans le Nord-Ouest de la Russie. Toutefois, à partir du début du mois de juin, ils ont été complètement supplantés par la variante Delta

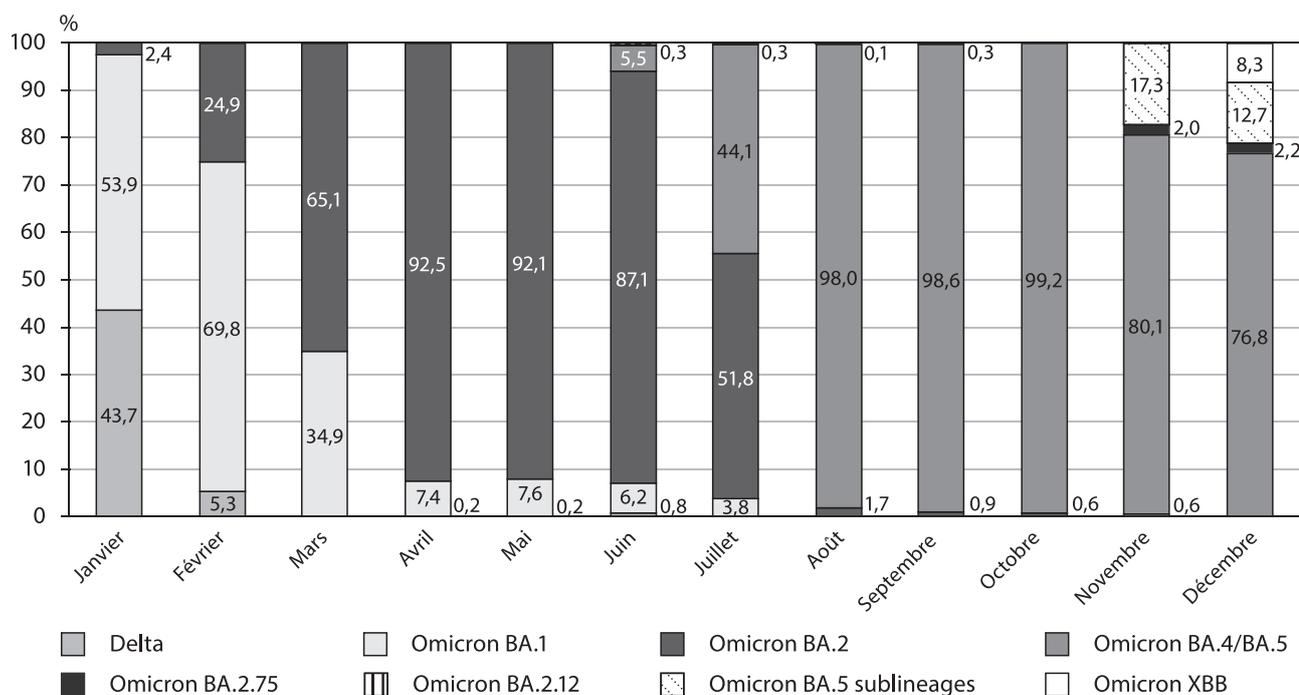


Figure 54. Diversité génétique du SARS-CoV-2 dans le Nord-Ouest de la Russie. L'analyse statistique de janvier à décembre 2022 a montré une augmentation rapide de la part de la lignée Omicron BA.1, une diminution de la part de Delta au début de l'année et une prédominance du variant Omicron BA.5 à la fin de l'année

parition et l'expansion de la nouvelle lignée BA.5. À la fin de l'année, jusqu'à 20% des souches étaient constituées de recombinants et de sous-variants de la lignée Omicron BA.5 (Fig. 54).

Arrivée et diffusion du SARS-CoV-2 de la lignée Omicron à Saint-Petersbourg, Russie

Pertinence de l'étude. Isolée pour la première fois le 11 novembre 2021, la souche Omicron a provoqué une augmentation explosive de l'incidence et s'est rapidement propagée à l'échelle mondiale, supplantant le variant Delta qui dominait auparavant, malgré le fait que 70% de la population des pays en développement et des pays développés étaient entièrement vaccinés. Actuellement, Omicron est le variant dominant en circulation dans le monde, représentant plus de 98% des séquences virales partagées sur GISAID après février 2022.

Saint-Petersbourg, deuxième métropole de Russie avec une forte densité de population, abrite l'aéroport international Pulkovo. Sans les mesures de quarantaine les plus strictes, Pulkovo est très probablement une porte d'entrée pour l'importation de nouvelles variantes génétiques dans la ville et leur diffusion ultérieure.

Objectif de l'étude. Nous analysons ici la dynamique de diffusion des souches Omicron à Saint-Petersbourg, la deuxième ville de Russie. Notre étude est consacrée à la description de la dynamique de propagation et de la variabilité du variant Omicron BA.1 à Saint-Petersbourg, ainsi qu'à la recherche de l'origine de la première souche importée, tout en évaluant l'efficacité des mesures de quarantaine appliquées pour prévenir la propagation de ce type d'infection.

Matériel et méthodes. Des écouvillons nasopharyngés de patients ayant reçu un diagnostic de COVID-19 entre le 29 novembre 2021 et le 1er mai 2022 ont été prélevés

dans des hôpitaux, des cliniques et à l'aéroport Pulkovo (Saint-Petersbourg) à l'arrivée, et livrés à l'Institut Pasteur de Saint-Petersbourg pour séquençage et études génétiques plus approfondies. Dans les hôpitaux et les cliniques, 10% de tous les échantillons positifs ont été envoyés à l'Institut pour la recherche. Tous les échantillons positifs au COVID-19 provenant d'arrivées à l'aéroport de Pulkovo avec ou sans manifestations cliniques (de ceux qui ont volontairement accepté d'être examinés), ont été envoyés à l'Institut. Les écouvillons ont été recueillis dans 500 µl de milieu de transport spécial ou de solution saline tamponnée au phosphate (pH 7,0) et conservés à -20°C jusqu'à l'analyse. Au total, 25 470 échantillons ont été examinés: 684 échantillons ont été prélevés sur des personnes arrivant à l'aéroport de Pulkovo; 16 425 échantillons ont été prélevés sur des patients ambulatoires; et 8361 échantillons ont été prélevés sur des patients hospitalisés à Saint-Petersbourg.

Les échantillons d'acide nucléique total ont été obtenus par extraction et purification à l'aide du QIAamp Viral RNA Extraction Kit (QIAGEN, Germany) et de la station automatique QIAcube Connect automatic station (QIAGEN, Germany). Pour le dépistage des variants d'Omicron dans la population de Saint-Petersbourg, un test RT-PCR a été mis au point avec des amorces et des sondes pour détecter les lignées BA.1 et BA.2. Initialement, des amorces et des sondes ont été développées pour détecter la lignée BA.1 en utilisant une région spécifique (délétion 211 et insertion 214 dans le gène de la protéine S). Plus tard, des amorces et des sondes ont également été développées pour détecter la lignée BA.2 (en utilisant la délétion 24-26 dans le gène S).

Afin d'obtenir des séquences génomiques SARS-CoV-2 quasi complètes (à l'exclusion des extrémités 5' et 3'), 138 paires d'amorces au total ont été conçues à l'aide de l'outil de conception en ligne Primal Scheme. Les paires produisent des produits de 300 à 320 nucléotides (nt) avec des chevauchements de 50 nt. Tous les variants de la séquence

SARS-CoV-2 présents dans GISAID ont été pris en compte au moment de la conception des amorces. Des hexamères aléatoires et le kit Reverta-L (AmpliSense®, Moscou, Russie) ont été utilisés pour la transcription inverse.

Les réactions d'amplification PCR multiplex à démarrage à chaud ont été réalisées dans un volume total de 25 µL contenant 2 µL d'ADNc, 0,1 µM de chaque amorce et 12,5 µL de 2x BioMaster HS-Taq PCR mix (Biolabmix, Novosibirsk, Russie). Les paramètres de cyclage thermique suivants ont été utilisés: 95°C pendant 3 min; 35 cycles (93°C pendant 10 s, 57°C pendant 30 s, 72°C pendant 30 s); et une extension finale (72°C pendant 5 min). Les réactions ont été effectuées dans un thermocycleur C1000 Touch (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Les produits ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2,0% en présence de bromure d'éthidium. Les fragments amplifiés ont été purifiés par le AMPure XP Purification Kit (Beckman Coulter, UK), les concentrations des mélanges de fragments ont été mesurées avec un fluorimètre Qubit 4.0 (Invitrogen, Waltham, MA, USA) à l'aide du kit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, Waltham, MA, USA) et ont ensuite été utilisées pour la préparation des librairies.

La préparation des librairies a été réalisée conformément au protocole du kit Illumina TruSeq Nano DNA Kit avec le kit TruSeq DNA CD Indexes Kit (Illumina Inc., San Diego, CA, États-Unis). Les amplicons ont été soumis à une série de réactions enzymatiques: réparation des extrémités; adénylation; et ligature de séquences adaptatrices aux extrémités 5' et 3'. Les produits ont ensuite été amplifiés par 8 cycles de PCR selon le protocole. Les librairies résultantes ont été purifiées à l'aide de l'Illumina Sample Purification Beads et éluées dans 50 µL de tampon de resuspension. L'évaluation de la qualité des librairies finales a été effectuée sur le système capillaire QIAxcel Advanced (QIAGEN, Hilden, Allemagne); la taille des fragments (insert d'amplicon plus adaptateurs de séquençage) était d'environ 420–450 pb. Toutes les bibliothèques ont été quantifiées à l'aide du fluorimètre Qubit 4.0 et du Qubit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen) avant le séquençage. Le séquençage a été effectué sur l'outil MiSeq en utilisant la chimie MiSeq V3.

La qualité des reads Illumina a été évaluée à l'aide du programme FastQC. Les reads brutes ont été filtrées avec Trimmomatic pour éliminer les adaptateurs, les nucléotides de faible qualité et les séquences biaisées aux extrémités des reads (paramètres ILLUMINACLIP:TruSeq3-PE.fa:2:30:10:2SLIDINGWINDOW:4:20 HEADCROP:30 MINLEN:50). L'assemblage du génome a été réalisé en établissant une correspondance avec le génome de référence du SARS-CoV-2 (souche Wuhan-Hu-1, numéro d'accès NCBI NC_045512.2) à l'aide de Bowtie 2. Les logiciels samtools et bcftools ont été utilisés pour l'appel de variants et la création de consensus. L'outil Nextclade a été utilisé pour évaluer la qualité des séquences assemblées et pour assigner les génomes à des lignées. Les séquences ont été téléchargées sur GISAID.

Les génomes ont été alignés avec MAFFT v7.453. Les extrémités (5', 3') ont été coupées et l'arbre phylogénétique a été construit avec IQ-TREE. Le processus de travail a consisté à reconstruire l'arbre avec bootstrap ultra-rapide (1000 répliques); le modèle de substitution JC (Jukes–Cantor) a été utilisé. Le dendrogramme a été visualisé avec iTOL v.6. Un arbre phylogénétique global des variants du SARS-CoV-2 a été construit à l'aide des outils mis en œuvre dans Nextclade.

Les analyses du réseau phylogénétique ont été réalisées avec Network v.10.2.0.0 en utilisant l'algorithme de jonction médiane.

Principaux résultats. Le premier cas de lignée Omicron BA.1 enregistré à Saint-Petersbourg a été suivi d'une expansion rapide du variant et d'une augmentation de l'incidence. Une analyse hebdomadaire de la morbidité de COVID-19 à Saint-Petersbourg a montré une augmentation rapide, qui est passée de 145,9 cas pour 100 mille habitants début janvier à 2409,5 cas en février. Le pic d'incidence a été atteint en février 2022, suivi d'un déclin observé coïncidant avec le début de la propagation du variant BA.2. La dynamique de changement de la lignée SARS-CoV-2 a été montrée dans trois catégories: arrivées à l'aéroport, patients cliniques ambulatoires et patients cliniques hospitalisés et a montré des schémas similaires: une augmentation rapide de la part de la lignée Omicron BA.1 en janvier 2022 et une diminution de la part de Delta; plus tard en janvier, des détections sporadiques de la lignée BA.2 ont évolué vers une augmentation des variants BA.2 jusqu'à 10% à la mi-février, ensuite une expansion rapide du variant BA.2 (plus de 90% en mai 2022).

La variabilité au sein des génomes des lignées BA.1 et BA.2 à Saint-Petersbourg a également été révélée. En plus des 30 SNP (Polymorphisme de nucléotides simples) connus du gène S, des mutations solitaires ont été identifiées aux positions E132Q, S162I, M177I, P230Q, I231L, T284S, N354H, A672V, S686R, I1081V, D1163Y et D1260G. Sur la base de l'analyse phylogénétique, on a tenté de retracer l'origine de la première souche importée, la première souche Omicron détectée à Saint-Petersbourg (en provenance des Émirats arabes unis) s'est regroupée avec deux souches d'Autriche et est incluse dans un groupe avec une souche d'Israël.

L'augmentation spectaculaire de l'incidence de COVID-19 observée à Saint-Petersbourg au début de 2022 est due à l'expansion rapide de la lignée Omicron BA.1. En outre, sa dissémination dans la ville présente un signe d'importation multiple. Une analyse de la diversité de la lignée BA.1 a montré la présence de plusieurs complexes clonaux (Fig. 55). L'analyse a permis d'identifier 20 groupes, les autres formant des nœuds distincts. Les nœuds diffèrent les uns des autres par une ou deux substitutions de nucléotides. Cinq groupes principaux (100, 165, 175, 145, SARS-CoV-2) comprenaient à la fois des souches importées et des souches provenant de personnes n'ayant jamais voyagé à l'étranger. Cela suggère que la propagation de la lignée Omicron à Saint-Petersbourg est due à des importations multiples.

Une baisse de l'incidence de COVID-19 a coïncidé avec l'émergence et la propagation de la lignée BA.2. Les restrictions régionales dans la lutte contre les souches hautement contagieuses du SARS-CoV-2 se sont révélées peu efficaces et n'ont pas pu empêcher la propagation rapide d'Omicron à Saint-Petersbourg. La surveillance continue de la succession des variants du SARS-CoV-2, y compris l'analyse génomique pour identifier ou suivre les mutations, reste d'une importance cruciale. Ces données sont nécessaires pour suivre l'évolution virale et élaborer des mesures appropriées pour prévenir les problèmes et les complications liés à la pandémie.

Plusieurs facteurs indiquent probablement qu'il est impossible d'arrêter la propagation de ce type d'infection virale respiratoire dans les conditions d'une métropole moderne en l'absence de mesures de quarantaine strictes. Ces facteurs sont la forte transmissivité, la grande variabilité

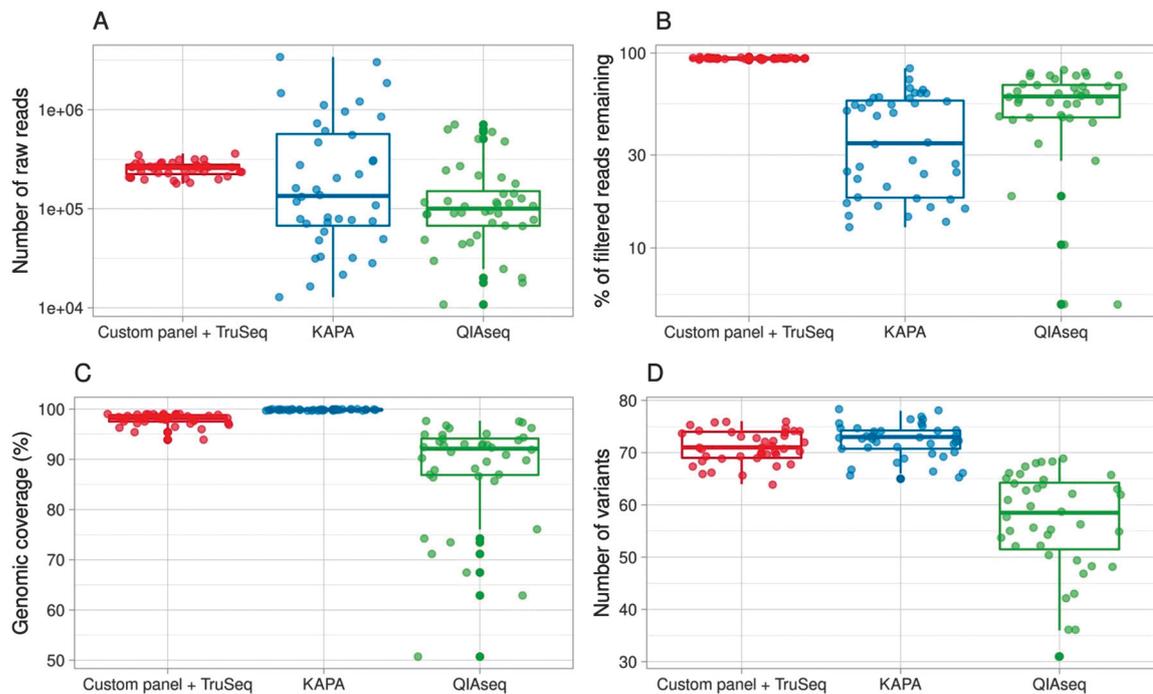


Figure 56. Comparaison des différents kits de préparation de bibliothèques

L'axe des x indique la méthode. Les diagrammes en boîte indiquent: (A) le nombre de reads brutes obtenus après le séquençage Illumina MiSeq (L'axe des y est à l'échelle lg); (B) le pourcentage de reads restant après l'élagage QC; (C) le pourcentage de couverture génomique du SARS-CoV-2; (D) le nombre de SNP identifiés. Légende: rouge-TruSeq DNA Nano Library Kit avec panel d'amorces personnalisé; bleu-KAPA HyperCap SARS-CoV-2; vert — QIAseq DIRECT SARS-CoV-2.

à l'aide du kit COVID-19 Amp RT-PCR Kit (Institut Pasteur de Saint-Petersbourg, Saint-Petersbourg, Russie). La totalité des échantillons d'acide nucléique ont été obtenus par extraction et purification à l'aide du kit d'extraction d'ARN viral QIAamp® Viral RNA Extraction Kit® (QIAGEN, Hilden, Allemagne) avec la station automatique QIAcube Connect automatic station (QIAGEN, Hilden, Allemagne), conformément aux recommandations du fabricant.

Nous avons choisi trois approches de bibliothèques différentes: le kit QIAseq DIRECT SARS-CoV-2 basé sur l'amplicon (Qiagen, Hilden, Allemagne), le kit KAPA HyperCap SARS-CoV-2 basé sur la capture de cible (Roche, Mannheim, Allemagne) et un panel d'amorces personnalisé pour le séquençage du génome entier (développé par les auteurs) adapté au kit de préparation de bibliothèques TruSeq Nano DNA Library Preparation Kit (Illumina, San Diego, CA, États-Unis).

La bibliothèque QIAseq DIRECT SARS-CoV-2 et la bibliothèque KAPA HyperCap SARS-CoV-2 ont été préparées conformément au protocole fourni par le fabricant. Le panel d'amorces personnalisé du kit de préparation de la bibliothèque d'ADN TruSeq Nano est composé de 138 paires d'amorces qui ont été conçus dans le cadre de travaux antérieurs. L'enrichissement cible de l'ADNc résultant a ensuite été réalisé avec 6 pools d'amorces. Le séquençage a été effectué sur la plateforme Illumina MiSeq. L'assemblage et l'analyse des SNP ont été effectués comme décrit précédemment. L'analyse statistique a été réalisée avec le langage statistique R (R Core Team, 2022).

Principaux résultats. Après l'exclusion des échantillons ayant moins de 10 000 reads dans au moins une méthode (un TruSeq, un QIAseq et quatre KAPA), quarante échantillons ont été retenus pour l'analyse. Le nombre de reads obtenus variait avec les méthodes KAPA et QIAseq; il était assez uniforme avec TruSeq (Fig. 56A). Le paramètre «percent reads remaining after trimming» (pourcentage de reads restants après l'élagage) est présenté dans la Fig. 56B.

La qualité des données obtenues avec le «custom primer panel + TruSeq DNA Nano Library Kit» est élevée, alors que les bibliothèques préparées avec les kits QIAseq DIRECT SARS-CoV-2 ou KAPA HyperCap SARS-CoV-2 produisent de nombreux reads courts.

Les trois méthodes utilisées dans l'étude ont produit des SNP dans les mêmes positions à condition de la couverture génomique dans la région. Deux méthodes (KAPA HyperCap SARS-CoV-2 et TruSeq DNA Nano avec panel personnalisé) ont permis d'identifier le même nombre de SNP, tandis que moins de SNP ont été identifiés avec le kit QIAseq DIRECT SARS-CoV-2.

La couverture médiane par position est présentée dans la Fig. 57. La profondeur de séquençage des bibliothèques préparées avec KAPA HyperCap SARS-CoV-2 était la plus uniforme sur l'ensemble du génome. Les approches «panel d'amorces personnalisé + TruSeq DNA Nano» et QIAseq DIRECT SARS-CoV-2 Library Kit ont offert une couverture génomique inégale dans les différentes régions génomiques. L'approche «panel d'amorces personnalisé + TruSeq DNA Nano» a produit une couverture tout à fait satisfaisante, à l'exception de quelques régions.

L'évaluation des résultats obtenus permet de conclure que les trois approches de création de bibliothèques pour le séquençage du SARS-CoV-2 peuvent être utilisées à des fins de recherche. Chaque approche présente ses propres avantages. Notamment, avec QIAseq DIRECT SARS-CoV-2, il s'agit de la rapidité de préparation des bibliothèques et d'un flux de travail simple. Le panel KAPA HyperCap SARS-CoV-2 basé sur la capture présente la couverture la plus précise et la plus complète du génome; cependant, dans nos expériences, nous n'avons pas obtenu une distribution uniforme des reads sur l'ensemble des échantillons. Le panel personnalisé mis au point a fait ses preuves de manière fiable dans la surveillance génétique de divers variants. Il n'y a pas eu de différences significatives dans la couverture génomique

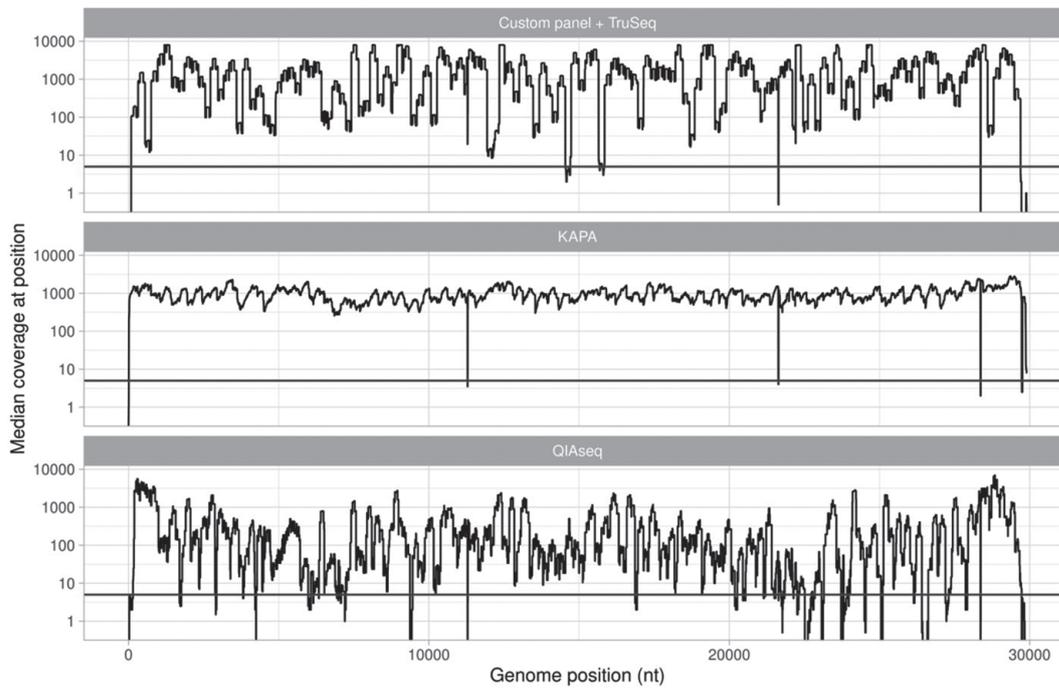


Figure 57. Profondeur médiane du séquençage sur l'ensemble du génome, en fonction de la méthode de préparation des échantillons

ou la profondeur du séquençage entre les variants Delta et Omicron. Ainsi, à l'heure actuelle, le panel personnalisé est assez polyvalent pour les différents variants du SARS-CoV-2, il présente des résultats comparables à ceux d'autres plateformes, mais avec un flux de travail plutôt simple. Sa distribution prévisible de reads par échantillon est bien adaptée à la surveillance des variants génétiques dans le cadre de la surveillance COVID-19. En outre, le panel

d'utilisateurs reste compatible avec les nouveaux variants. Malgré l'introduction d'un nouvel ensemble de mutations Omicron, le panel produit des résultats de qualité prévisible. Nos résultats montrent que l'approche par amplicon est adaptée à la surveillance de routine, tandis que l'approche par capture par hybridation est plus utile pour la recherche scientifique et la découverte de nouvelles mutations et de nouveaux variants.

Publications

Articles

1. Bubnova L., Pavlova I., Terentjeva M., Glazanova T., Belyaeva E., Sidorkevich S., Bashketova N., Chkhingeria I., Kozhemyakina M., Azarov D., Kuznetsova R., Ramsay E.S., Gladkikh A., Sharova A., Dedkov V., Totolian A. HLA Genotypes in Patients with Infection Caused by Different Strains of SARS-CoV-2 // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2022; 19 (21): 14024. doi: 10.3390/ijerph192114024
2. Gladkikh A., Dedkov V., Sharova A., Klyuchnikova E., Sbarzaglia V., Arbuzova T., Forghani M., Ramsay E., Dolgova A., Shabalina A., Tsyganova N., Totolian A. Uninvited Guest: Arrival and Dissemination of Omicron Lineage SARS-CoV-2 in St. Petersburg, Russia // *Microorganisms*. 2022; 10 (8): 1676. doi: 10.3390/microorganisms10081676
3. Gladkikh A., Dedkov V., Sharova A., Klyuchnikova E., Sbarzaglia V., Kanaeva O., Arbuzova T., Tsyganova N., Popova A., Ramsay E., Totolian A. Epidemiological features of COVID-19 in Northwest Russia in 2021 // *Viruses*. 2022; 14 (5): 931. doi: 10.3390/v14050931
4. Gladkikh A., Dolgova A., Dedkov V., Sbarzaglia V., Kanaeva O., Popova A., Totolian A. Characterization of a Novel SARS-CoV-2 Genetic Variant with Distinct Spike Protein Mutations // *Viruses*. 2021; 13 (6): 1029. doi: 10.3390/v13061029
5. Gladkikh A., Klyuchnikova E., Pavlova P., Sbarzaglia V., Tsyganova N., Popova M., Arbuzova T., Sharova A., Ramsay E., Samoilo A., Dedkov V., Totolian A. Comparative analysis of library preparation approaches for SARS-CoV-2 genome sequencing on the Illumina MiSeq Platform // *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24 (3): 2374. doi: 10.3390/ijms24032374
6. Korneenko E.V., Samoilo A.E., Artyushin I.V., Yusefovich A.P., Dolotov S.M., Klyuchnikova E.O., Sbarzaglia V.A., Gladkikh A.S., Dedkov V.G., Speranskaya A.S. Alphacoronaviruses detected in fecal samples of bats captured in Moscow and Rostov-on-Don in 2021 // *Medical Academic Journal*. 2022; 22 (2): 203–208. doi: 10.17816/MAJ108718
7. Korobova Z.R., Arsentjeva N.A., Liubimova N.E., Batsunov O.K., Dedkov V.G., Gladkikh A.S., Sharova A.A., Adish Z., Chernykh E.I., Kaschenko V.A., Ratnikov V.A., Gorelov V.P., Stanevich O.V., Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Totolian A.A. Cytokine Profiling in Different SARS-CoV-2 Genetic Variants // *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23 (22): 14146. doi: 10.3390/ijms232214146
8. Korobova Z.R., Arsentjeva N.A., Liubimova N.E., Dedkov V.G., Gladkikh A.S., Sharova A.A., Chernykh E.I., Kashchenko V.A., Ratnikov V.A., Gorelov V.P., Stanevich O.V., Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Totolian A.A. A comparative study of the plasma chemokine profile in COVID-19 patients infected with different SARS-CoV-2 variants // *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23 (16): 9058. doi: 10.3390/ijms23169058

LABORATOIRE DE LA GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DES MICROORGANISMES PATHOGÉNIQUES

Chef du laboratoire: Anna Dolgova

Chercheurs: A. Kirichenko, A. Shabalina, V. Kuklyanova, A. Nidenfur, V. Osnach, A. Dolbilova, M. Kapitonova

I. Elaboration des moyens du diagnostic moléculaire

1. Systèmes de diagnostic en format PCR en temps réel

Ila été élaboré plusieurs systèmes destinés au diagnostic des infections à focalité naturelle et autres: SARS-CoV-2, Monkeypox virus (MPXV), Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV), Rabies virus (RABV), Measles virus (MV), Poliovirus type 2 (nOPV2), Nipah virus (NiV), Hendra virus (HeV), Bandia virus (BDAV), Kemerovo virus (KEMV) de même qu'un système de diagnostic différencié des virus Bunyamwera (BUNV)/Batai (BATV)/Ngari (NRIV). Tous les systèmes possèdent la sensibilité 10^{12} – 10^{13} copies par ml d'échantillon étudié.

2. Diagnostic de *Salmonella Typhi* au format LAMP

Au jour d'aujourd'hui on connaît plusieurs kits d'amorces utilisés pour le diagnostic de *S. Typhi* au format LAMP. Ces kits ont été testés sur les souches typiques pour la Malaisie et la Chine. On s'est donné la peine d'évaluer trois variantes LAMP pour la détection des souches *S. Typhi* typiques pour la Fédération de Russie et les comparer entre elles. Des ensembles d'amorces basés sur les régions SalTyp1, SalTyp2 et SalTyp3 du gène STY1607 ont été utilisés. Les plasmides sous contrôle positif ont été composées sur la base des séquences ciblées. L'amplicon a été cloné au plasmide pGEM®-T Easy (Promega, Madison, USA).

Sensibilité

La sensibilité a été mesurée dans une série de dilutions des plasmides spécifiques en commençant par 1×10^7 jusqu'à 5 copies par une réaction. Pour la variante SalTyp2 les dilutions de plus de 1×10^6 n'étaient pas détectables. Pour SalTyp1 et SalTyp3 la sensibilité a fait 20 copies par réaction.

Analyse bio-informationnelle

Pour SalTyp1 la séquence ciblée possède des analogies dans plusieurs souches d'*Escherichia coli*: strain 90-9133, strain F16EC0617, strain RIVM_C036569, strain M-17, isolate L4_E1441_ETEC, strain 18SC05VL02-EC, strain RHB30-C19, O78 strain 3. Pour SalTyp2 la séquence coïncide avec celle d'*Escherichia coli* strain Z0117EC0133 et *Escherichia coli* strain JL05. Pour SalTyp3 le programme BLAST n'a pas révélé de coïncidences avec les souches connues ne faisant pas partie de *Salmonella Typhi*. Les recherches des homologues pour SalTyp1 parmi les souches russes on fait détecter *Escherichia coli* EI0386 qui a une séquence quasiment identique avec seulement un nucléotide différent aux extrémités. Il est évident qu'en ce cas on peut s'attendre à une réaction faussement positive. La souche *Escherichia coli* EI0274 contient 175 nucléotides identiques sur 221 au total dans la séquence ciblée du système SalTyp3, pourtant n'étant pas recouverte par l'amorce B3. Il n'y aura donc pas de signal positif. L'analyse explicite bien l'idée que seule la séquence pour SalTyp3, que visent les amorces, est bien choisie et ne donnera pas de résultats faussement positifs (Fig. 58).

C'est donc la troisième variante qu'on peut recommander à utiliser pour la détection de *S. Typhi*. La vérification de 20 souches des isolats *S. Typhi* et de 90 souches d'autres bactéries de 27 espèces différentes a démontré la spécificité 100% de cette méthode.

3. Systèmes de détection CRISPR/Cas

Actuellement les systèmes CRISPR/Cas trouvent leur usage extensif non seulement dans l'édition des génomes, mais aussi dans les différentes procédures diagnostiques, par exemple DETECTR utilisant la protéine Cas12a, et SHERLOCK utilisant la protéine Cas13. Le principe de travail de ces méthodes consiste en réponse transactive des protéines Cas12a et Cas13.

Pour l'identification de l'ADN ciblé et l'exercice de l'activité nucléasique la protéine Cas12a nécessite de: 1) Séquence ARN pour la liaison directe avec l'enzyme Cas12a qui a la structure d'une pseudo-épingle; 2) Partie complémentaire de l'ADN ciblé. Le plus souvent ces deux séquences sont réunies en un seul ARN guide (ci-après dénommé rARN ou gARN). Outre cela il existe une restriction — nécessité d'avoir PAM (protobacter adjacent motif) 5'-TTTN-3' sur la chaîne opposée à la séquence ciblée dont rARN sert de complément. On peut supposer que la séquence PAM sert d'amorce à la divergence des deux chaînes de l'ADN ciblé et à l'hybridation d'une d'elle avec rARN et constitution de R-noeud.

La constitution du R-noeud provoque des transformations conformationnelles dans Cas12a ayant comme conséquence l'intensification de l'activité nucléasique dans le domaine RuvC dans lequel s'opère un éclatement des deux chaînes du cible ADN avec la constitution des extensions. Après quoi ce domaine s'avère apte à faire éclater d'une manière non spécifique tous autres ADN à un fil. Par conséquent, si, à titre de l'ADN à un brin, on ajoute dans la solution les sondes fluorescentes (courtes oligonucléotides avec fluorophore à une extrémité et amortisseur

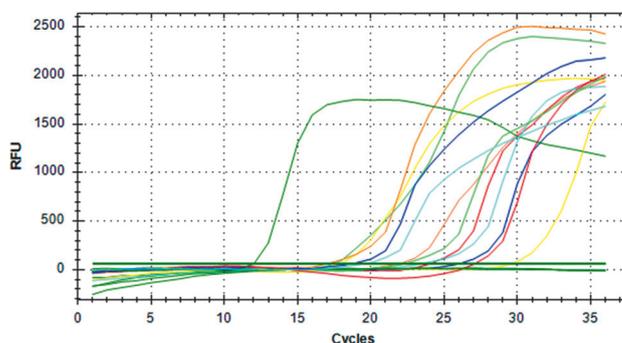


Figure 58. Amplification en temps réel sur l'appareil CFX96 Touch destiné à définir la sensibilité des réactions de détection de la variante SalTyp3

Les dilutions dans les copies du plasmide pour définir la réaction donnent les couleurs suivantes: vert foncé — 1×10^7 , rouge — 100, orange — 80, jaune — 60, vert salade — 40, bleu clair — 30, bleu — 20, noir — 10, gris — 0.

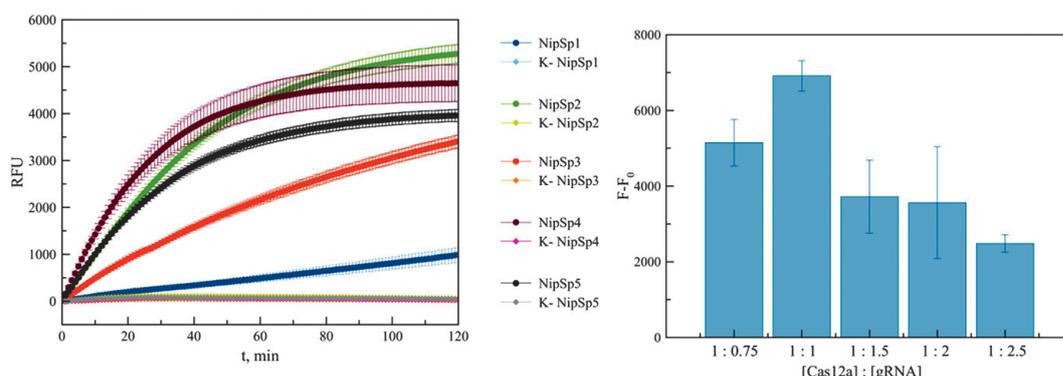


Figure 59. À gauche — signal moyen de fluorescence sur le canal FAM en CFX96 avec Cas12a de détection du virus Nipah avec différents ARN guides. À droite — optimisation de la concentration rARN par rapport à Cas12a

à une autre), au moment de leur éclatement apparaît un signal optique qui trahit la présence de l'ADN-cible à deux brins dans la solution.

Selon l'estimation des restrictions fondamentales de la cinétique des étapes de la transactivité des protéines Cas données la sensibilité de telles plateformes sans amplification constitue environ un pikamol/l ou 6×10^5 copies du cible ADN par mcl. En combinant ces méthodes avec l'amplification on arrive à atteindre la limite de la détection 10 copies/mcl. La combinaison de ces méthodes avec l'amplification permet d'atteindre la limite de la détection 10 copies/mcl. La possibilité de cumuler en une éprouvette la Cas-détection avec l'amplification isothermique (RPA, LAMP) se présente comme particulièrement prometteuse.

Dans l'étude donnée est exposée la conception des systèmes de détection des virus Nipah et Hendra sur la base de la plateforme diagnostique Cas12a DETECTR.

Optimisation des ARN guides

Les ARN-guides se composent de deux parties: d'un espaceur complémentaire ciblé de l'ADN (23–24 nucléotides) et d'un noeud qui est en interaction avec Cas12a (21 nucléotide) et qui est identique pour toutes les variantes envisagées de rARN. Pour Cas12a le choix de l'espaceur est limité par la nécessité d'existence de la séquence PAM (protospacer adjacent motif) (5'-TTTX-3) sur la chaîne de la séquence complémentaire ciblée. La séquence PAM elle-même ne fait pas partie de la chaîne ARN guide. Pour chaque séquence ciblée Nipah et Hendra il a été choisi plusieurs variantes d'ARN guides qui se différencient entre eux par l'espaceur.

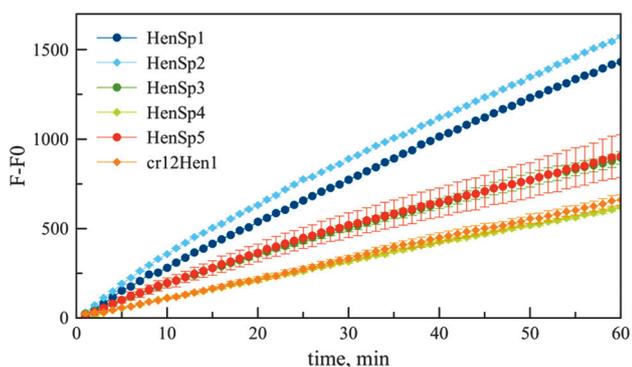


Figure 60. Signal moyen de fluorescence sur le canal FAM en CFX96 avec Cas12a de détection du virus Hendra avec différents ARN guides

Pour le virus Nipah ont été choisis rARN NipSp1, NipSp2, NipSp3, NipSp4, NipSp5. Initialement pour la détection ont été choisies les concentrations $c(\text{Cas12a}) = 100 \text{ nM}$, $c(\text{rARN}) = 200 \text{ nM}$, $c(\text{sonde}) = 1000 \text{ nM}$ en additionnant 1 mcl du produit PCR purifié de l'ADN ciblé. Sur le Fig. 59 sont présentés les résultats de détection Nipah en utilisant les différents rARN. La plus haute valeur du signal de fluorescence a été enregistrée en utilisant rARN NipSp2 (vert) et NipSp4 (brun).

Dans les ensembles Cas12a/NipSp2 est optimisée la concentration de rARN par rapport à la concentration de la protéine Cas12a (Fig. 59, bas). Le rapport optimum des concentrations a été $[\text{Cas12a}]:[\text{rARN}] = 1:1$, c'est-à-dire $c(\text{Cas12a}) = c(\text{rARN}) = 100 \text{ nM}$.

D'une manière analogue ont été choisis les ARN guides optimum pour la détection du virus Hendra: HenSp1, HenSp2, HenSp3, HenSp4, HenSp5, Cr12Hen. Les plus hautes valeurs de fluorescence par rapport au signal de fond ont été observées en utilisant HenSp1 (Fig. 60, bleu) et HenSp2 (Fig. 60, couleur bleu clair).

Choix des conditions de détection Cas12a

Ont été envisagées 2 variantes des protéines Lba Cas12a et leurs tampons correspondants: New England Biolabs et GenScript. La température de réaction $+40...+42^\circ\text{C}$ (Fig. 61, haut) s'est avérée optimum pour l'enzyme de NEB. La baisse de température diminue l'efficacité de la réaction et la hausse aboutit à la croissance de dispersion du signal. La température $+37^\circ\text{C}$ s'est avérée préférable pour la protéine de GenScript (Fig. 61, bas).

A été étudiée l'influence de la préincubation des ensembles Cas12a avec rARN sur l'efficacité de la réaction. Il est apparu que la détection se fait avec la même efficacité dans les cas de préincubation préalable pendant 10 minutes à la $t^\circ +25^\circ\text{C}$ et pendant 30 minutes à la $t^\circ +37^\circ\text{C}$ après soustraction de la fluorescence de fond dans les échantillons K-. Ce qui s'explique éventuellement par ce que la liaison de Cas12a avec l'ARN guide et la détection de l'ADN ciblé se fait en très peu de temps dans un vaste écart thermique. L'étude de la cinétique réactionnelle confirme l'idée selon laquelle la vitesse de constitution des ensembles excède considérablement celle de transactivité protéinique (Huyke D.A. et al., 2022).

Optimisation du fluorophore

A titre de sondes dans cette étude ont été utilisées les oligonucléotides modifiées à l'extrémité 5' par fluorophore (FAM ou HEX) et à l'extrémité 3' — par l'amortisseur (BHQ1). Lors de constitution de la liaison complémentaire Cas12a/

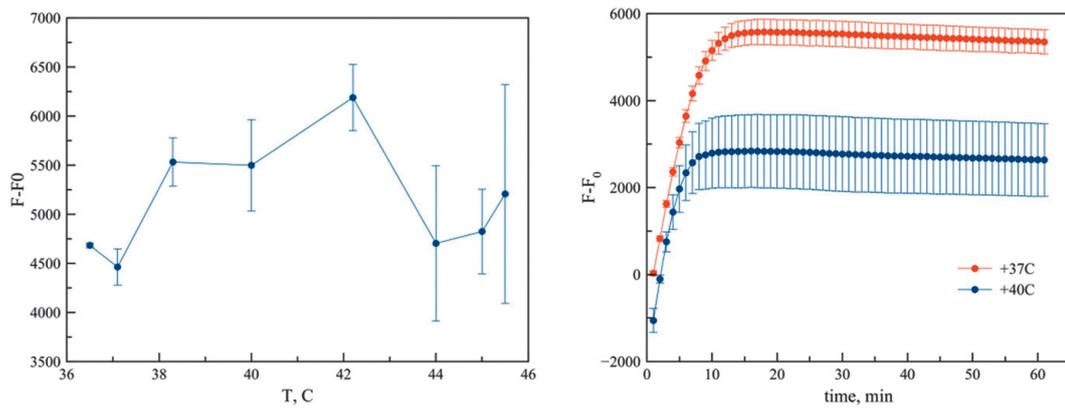


Figure 61. En haut — variation thermique de la valeur du signal moyen de fluorescence pour la détection de Cas12a, en utilisant l'enzyme et son tampon, en fonction de NEB. En bas — comparaison des valeurs du signal de fluorescence aux différentes t°de détection pour le kit de l'enzyme et son tampon de GenScript

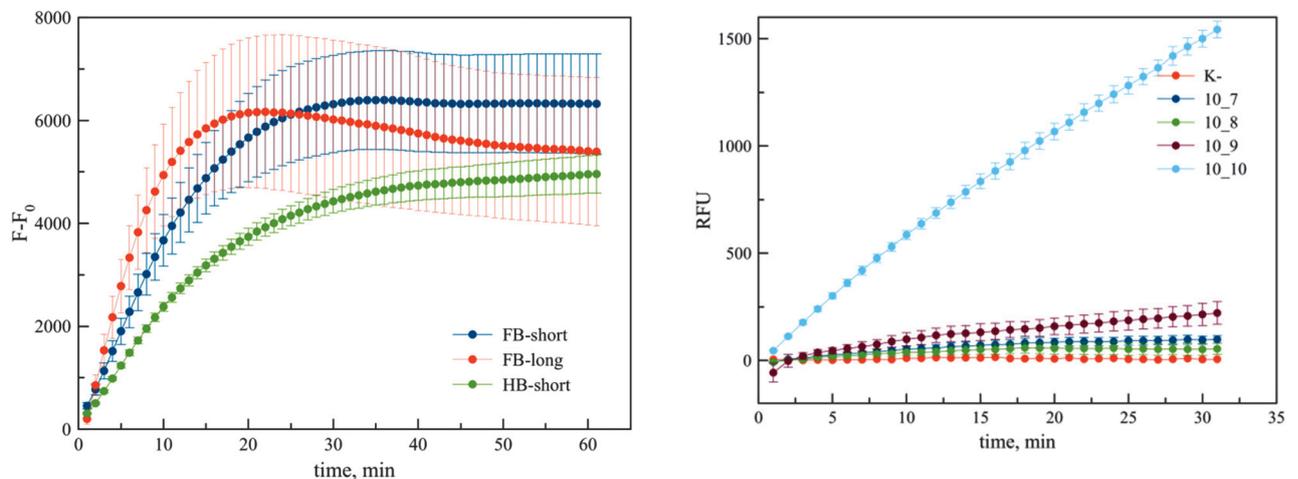


Figure 62. Comparaison des sondes dans la détection Cas12a

Figure 63. Vérification de sensibilité de la détection de Cas12a au virus Nipah avec utilisation de rARN NipSp2

rARN avec le fragment ciblé une transactivité nucléasique est initiée dans l'enzyme, c'est-à-dire la faculté de fragmenter non seulement l'ADN ciblé à double brin, mais aussi tous les ADN monobrans dans la solution. Ainsi lors de la fragmentation des sondes le fluorophore s'affranchit de l'amortisseur ce qui amène à la formation du signal. Ont été envisagées 3 variantes de sondes avec la longueur différente de l'oligonucléotide (5 et 8 nucléotides) et deux types de fluorophores. Sur le Fig. 62 il est démontré qu'avec toutes les sondes envisagées on observe l'accroissement du signal de détection qui, à la longue, arrive à sa saturation. En utilisant une chaîne plus longue (FB-long) de la sonde le signal apparaît plus vite mais, passé la 20-ème minute, commence à décroître. La sonde avec le fluorophore HEX fait apparaître le signal plus faible qu'avec FAM. Le choix de la concentration des sondes dépend non seulement de la concentration des ensembles Cas12a/rARN mais aussi de la sensibilité du fluorimètre. Pour Real-time CFX96 Touch BioRad les meilleures concentrations de la sonde pour le rapport signal/bruit étaient celles de 1000 et 2000 mcM. Au cas d'utilisation du fluorimètre T16-ISO axxin la concentration optimum des sondes était celle de 500 mcM.

Sensibilité de la méthode

Le fragment ciblé de l'ADN a été préamplifié et étendu dans les dilutions décuples jusqu'aux concentrations 10¹⁰–10¹⁴ copies/mcl. La sensibilité analytique de cette méthode a fait 10⁷ copies/mcl (Fig. 63).

4. Systèmes de détection sur la base des déoxyribosymes

Les virus Hendra et Nipah (famille *Paramyxoviridae*, genre *Henipavirus*) sont des ribovirus hautement pathogéniques dont l'hôte naturel est la chauve-souris frugivore (du genre *Pteropus*). Ces virus provoquent des flambées de maladies sérieuses des humains et du bétail en Australie, Malaisie, Singapour et Bangladesh. La similitude génétique de ces deux virus est de près de 80% et l'évolution de la maladie qu'ils provoquent est aussi proche: depuis une légère affection asymptomatique ou simili-grippale jusqu'à la maladie respiratoire ou neurologique mortelle.

Le diagnostic moderne est effectué en utilisant la méthode PCR en temps réel pour détecter les agents pathogènes ou la méthode IFA pour révéler les anticorps. Les deux technologies sont hautement laborieuses et exigent l'emploi du matériel fixe coûteux. Ainsi, il existe la nécessité d'élaborer des test-systèmes alternatifs, simples, rapides et précis pour détecter les virus. L'objectif de cette recherche est justement l'élaboration d'un système hautement spécifique et facilement standardisé de détection des virus Hendra et Nipah. Nous avons conçu le système d'un biocapteur sur la base du noyau catalytique de déoxyribosyme 10-23.

Les déoxyribosymes se présentent sous forme des ADN-oligonucléotides synthétiques courtes possédant une

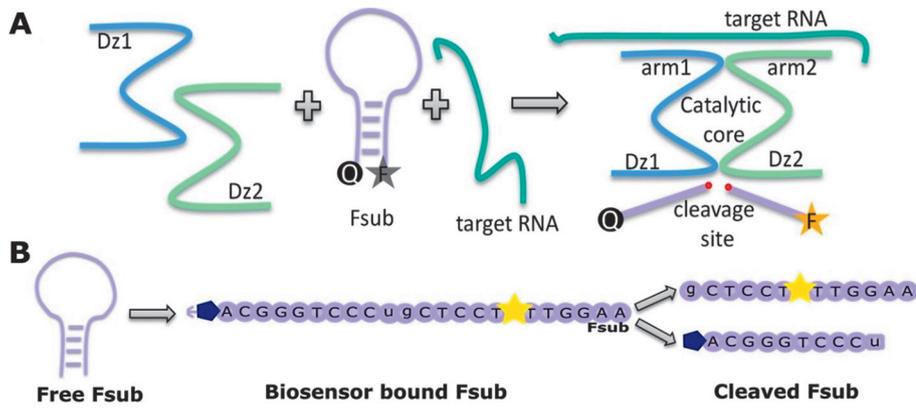


Figure 64. Schéma de la détection de l'ARN ciblé à l'aide d'une sonde binaire

(A) Détection de l'ARN ciblé en présence d'une sonde binaire et d'un substrat fluorescent (Fsub). (B) Structure du Fsub avant et après son clivage par le Dz_NiV.

activité catalytique. Plusieurs d'entre elles initient la réaction chimique de rupture catalytique de la liaison phosphodiester entre nucléotides en présence des ions métalliques bivalents. Comme noyau catalytique nous avons choisi pour notre recherche la déoxyribosyme 10-23 puisqu'elle est assez bien étudiée, capable de rompre la liaison entre tous couples purine-pyrimidine, utilise comme cofacteur les cations du magnésium et fonctionne sous pH 7,4. Pour la détection de l'ARN ciblé on fait synthétiser 2 séquences binaires (Dz1 et Dz2) dont chacune est composée d'un fragment de la partie complémentaire de l'ARN ciblé, de la moitié du noyau catalytique et d'un fragment complémentaire du substrat fluorescent. Ainsi, au cas de présence de l'ARN ciblé, les interactions Watson-Crick dans la solution contribuent à sa fixation suite à quoi se constitue un noyau catalytique qui fait fragmenter le substrat marqué par le fluorophore et l'amortisseur (Fig. 64).

Ont été choisies les séquences ciblées uniques pour les deux virus (Fig. 65A et B): deux pour le virus Nipah et une pour le virus Hendra. La structure du biocapteur étant

commune, il n'y a que les séquences des bras liant l'ARN ciblé qui changent (Fig. 65C, D et E). Ainsi dans la structure du biocapteur la chaîne T1 fonctionne comme plate-forme ou «noyau», les chaînes T2 et T3 étant complémentaires au noyau T1, mais en même temps la chaîne T2 est liée à la chaîne Dz1 par le lieu en hexane-éthylène glycol. La chaîne Dz2 se présente comme une oligonucléotide libre qui n'interagit pas avec T3 pour exclure la possibilité d'assemblage du noyau DNAzyme 10-23 en absence de l'ARN ciblé. T1, T2_Dz1 et T3 demandent un assemblage préalable dans le tampon d'assemblage à la température +95°C pendant 5 minutes. Il est aussi apparu qu'après le refroidissement les structures assemblées peuvent être conservées à la température -20°C ne perdant pas leur propriétés catalytiques. Nous avons appelé ces structures Dz_NiV et Dz-HeV conformément aux virus qu'elles détectent.

Pour vérifier la spécificité de détection de l'ARN ciblé chaque biocapteur a été incubé ensemble avec les fragments ARN d'encore cinq différents virus ARN de longueur analogue: Machupo, Sabia, Junin, Guanarito et Sars-CoV.

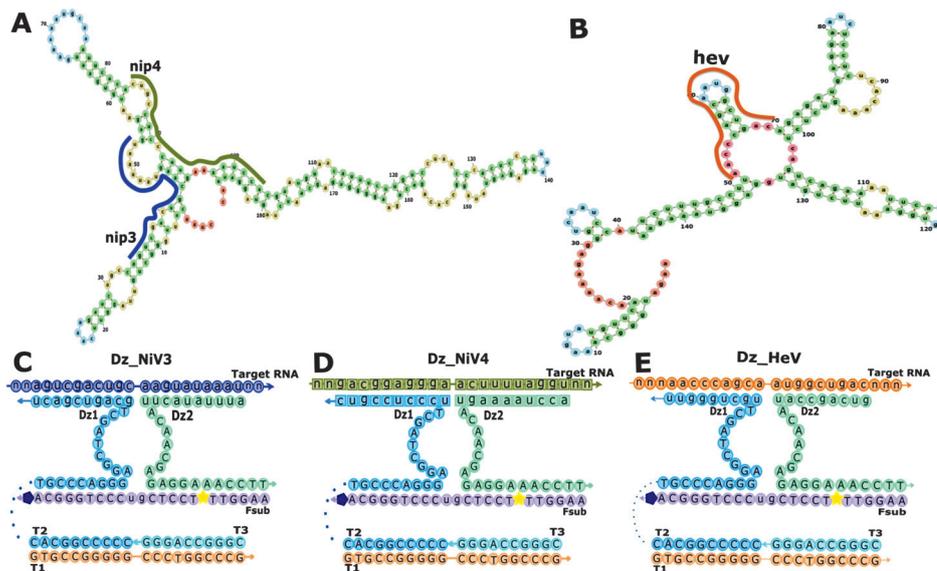


Figure 65. Principe de la conception et de l'activité des biocapteurs à déoxyribozymes

(A) Structure secondaire du gène G du virus Nipah. Les lignes violettes et vertes indiquent les régions d'ARN complémentaires respectivement des bras du DNAzyme Dz_NiV3 et Dz_NiV4. (B) Structure secondaire du gène N du virus Hendra. La ligne orange indique la région d'ARN complémentaire des bras de l'enzyme Dz_HeV. (C) Modèle Dz_NiV3 composé de T1, T3, nip_Dz1_T2_v3 et nip_Dz2_v3. (D) Modèle Dz_NiV4 composé de T1, T3, nip_Dz1_T2_v4 et nip_Dz2_v4. (E) Modèle Dz_HeV composé de T1, T3, hev_Dz1_T2 et hev_Dz2. Les flèches indiquent la direction 5'-3' de la séquence. Les étoiles jaunes indiquent le fluorophore FAM, les pentagones bleus — le suppresseur de fluorescence BHQ1, les lignes pointillées servant de connexion au lieu glycolique oligo-hexaéthylène (HEG).

Le résultat positif n'a été obtenu qu'au cas de présence de l'ARN ciblé dans le mélange réactionnel (Fig. 66A, B et C).

Pour l'optimisation de la réaction de clivage nous avons déterminé l'influence de tels facteurs comme pH et concentration des cations Mg^{2+} . L'acidité du tampon de réaction exerce une influence importante sur les propriétés physico-chimiques et l'activité biologique des protéines et acides nucléiques. Pour déterminer l'influence de pH sur notre système de détection nous avons testé les tampons de clivage avec pH = 5; 6,5; 7; 7,5; 8; 8,5 et 9. Le biocapteur a manifesté sa plus grande activité à pH 7,5. A pH

plus acide (5–7) le signal fluorescent, venant aussi bien du contrôle que des échantillons, a été 4–6 fois plus faible qu'à pH 7,5. A pH supérieur à 7,5 a été découverte la dénaturation non spécifique du substrat fluorescent amenant à une baisse considérable du rapport F1/F0.

La présence des cations de magnésium est indispensable pour la constitution de la structure correcte du déoxyribozyme (ADNzyme) et le découpage du substrat, c'est-à-dire la présence de Mg^{2+} en définitive exerce l'influence sur la va-

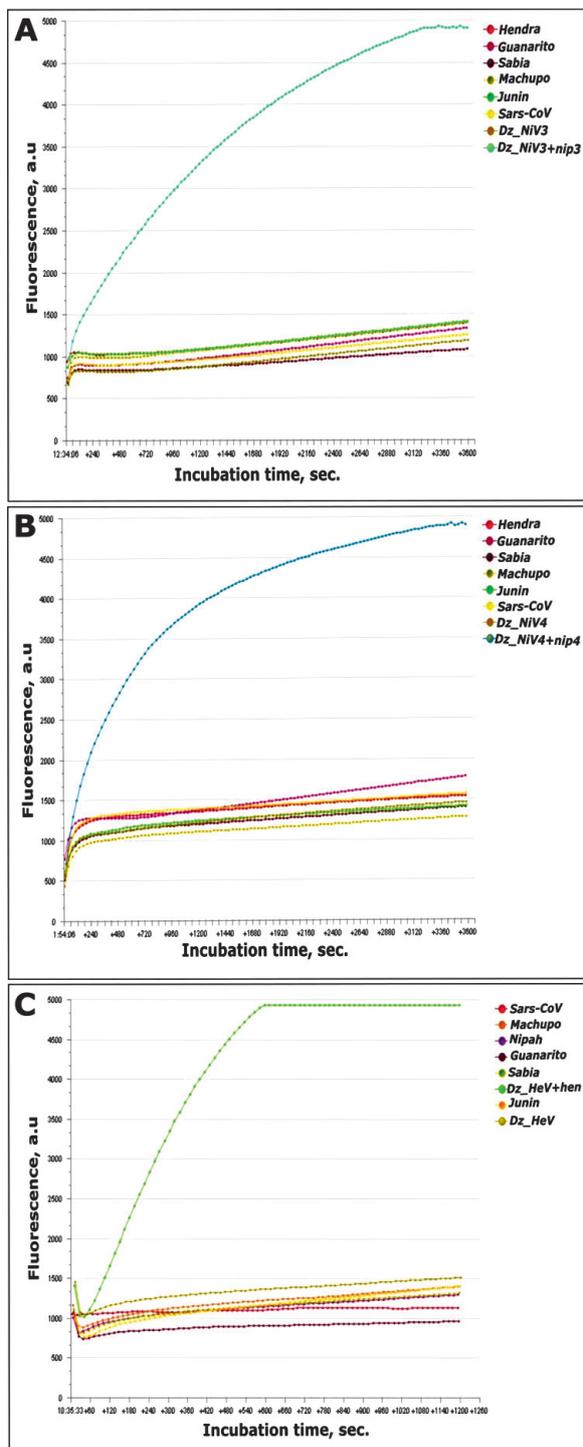


Figure 66. Sélectivité de Dz_NiV3 (A), Dz_NiV4 (B) et Dz_HeV (C)
 Les images ont été obtenues directement à partir du lecteur de fluorescence isotherme AxxinT16-ISO.

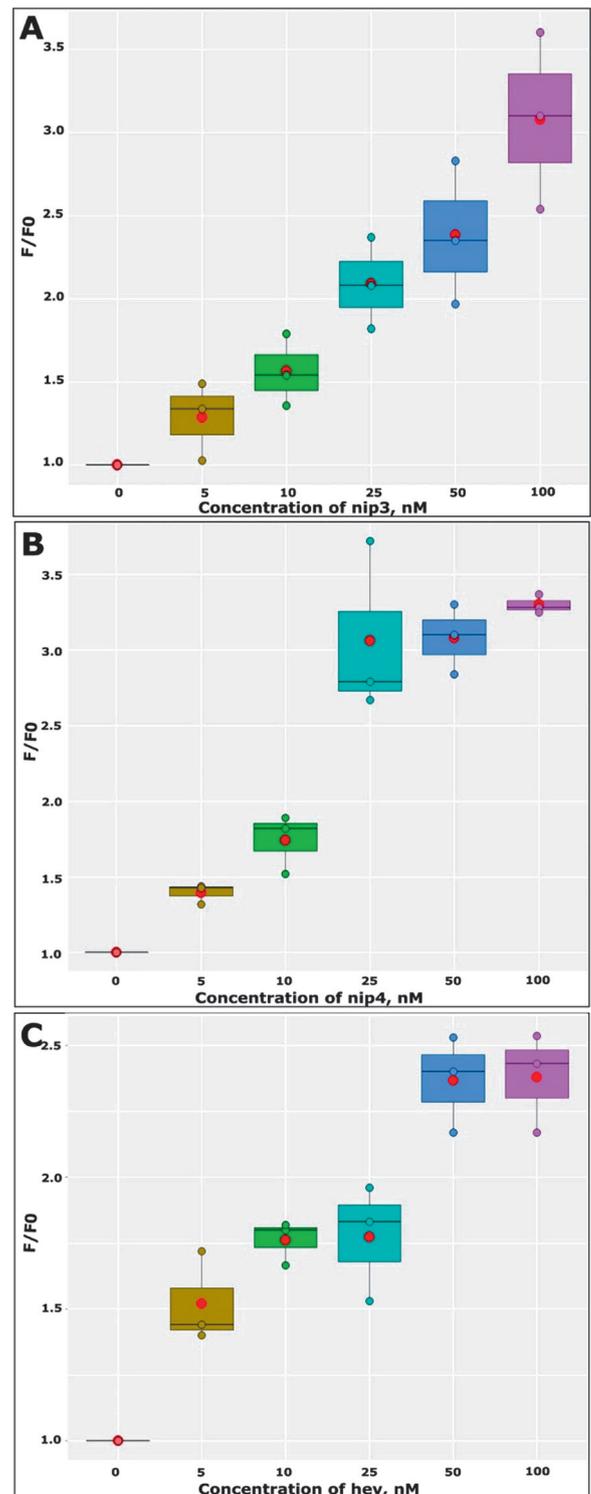


Figure 67. Sensibilité de Dz_NiV3 (A), Dz_NiV4 (B) et Dz_HeV (C)
 Les images montrent une réponse fluorescente des échantillons contenant les différents ARN synthétiques. Le point rouge sur les graphiques indique le rapport moyen F1/F0.

leur du signal de fluorescence. Pour tous les biocapteurs la présence de 50 mM Mg^{2+} a été optimale car au cas d'augmentation de la concentration du magnésium au-dessus de 50 mM l'activité catalytique était en baisse et la valeur du signal fluorescent dans les échantillons contenant l'ARN ciblé diminuait. L'addition de 10mM Mg^{2+} renversait la situation: le clivage dans les échantillons avec l'ARN ajouté était actif et la valeur de fluorescence y a été au niveau des échantillons contenant 50 mM Mg^{2+} . Pourtant la valeur de la fluorescence de contrôle a aussi augmenté considérablement d'où la décroissance du rapport F1/F0.

L'étape suivante a été l'évaluation de la limite de détection des biocapteurs. Pour cette expérimentation les échantillons, contenant 100 nM de biocapteurs déjà recuits et 100 nM F_{sub} , ont été incubés avec les différentes quantités de l'ARN ciblé (5 nM, 10 nM, 25 nM, 50 nM et 100 nM) pendant 20 minutes à la température de +37°C. Selon les données obtenues la sensibilité des biocapteurs atteint 10 nM (Fig. 67A, B et C).

Au cours du travail pour la détection des virus Nipah et Hendra sur la base de la déoxyribozyme 10-23 ont été conçus les biocapteurs au prix modéré, rapides et hautement précis. En présence de l'ARN ciblé et des ions de magnésium s'effectue l'assemblage du noyau catalytique de l'ADNzyme qui fait fragmenter le substrat-aiguille marqué par le fluorophore et l'amortisseur grâce à quoi le fluorophore se dégage dans la solution. La détection n'a besoin que de 20 minutes pour obtention du résultat et l'incubation s'effectue à la température +37°C. Le biocapteur exige l'assemblage préalable et peut être conservé ensuite à la température -20°C, ce qui est important dans la conception du test-système avec les étapes d'amplification préalable et détection et sa mise en usage. Par la suite nous planifions optimiser les biocapteurs pour la détection de l'ARN viral dans les échantillons cliniques. Les échantillons biologiques peuvent contenir une quantité de copies du virus insuffisante pour être détectée par le biocapteur, ce pourquoi les test-système élaboré comprendra les étapes suivantes: transcription inverse, amplification, transcription et détection.

II. Elaboration de la méthode de diagnostic de l'infection par le virus du papillome HPV16 au format IFA

L'infection par le virus du papillome HPV16 provoque le cancer du col d'utérus, de la muqueuse ano-génitale et buccale. La protéine L1 (56 kDa) est la principale protéine capsidique des virus du papillome (HPV) faisant partie de la composition des vaccins préventifs accessibles en Russie: Cervarix et Gardasil. Au contact naturel de l'homme avec l'infection seulement dans 15% de cas se fait l'élaboration des anticorps spécifiques IgG car HPV16 possède divers mécanismes d'évitement du système immunitaire. Ce fait sert d'argument en faveur de la vaccination. Actuellement en Fédération de Russie l'immunisation contre l'infection par le virus du papillome ne fait pas partie du calendrier vaccinal national. Actuellement est élaboré le fondement d'actualité de ce problème du point de vue médical, social et économique. La mise en oeuvre de la vaccination par le vaccin quadrivalent et une vaste couverture vaccinale atteignant les catégories de la population recommandées rendent possibles la décroissance de l'incidence et des coûts relatifs au traitement des patients.

Le test-système élaboré sur la base de l'IFA permet d'effectuer la surveillance de la campagne vaccinale et l'évaluation de l'efficacité du vaccin.

La séquence complète du gène L1 de la longueur 1515 p.n. a été assemblée de novo par la méthode SOE PCR (Splicing by overlap extension polymerase chain reaction). Les mutations, synthétisés pendant l'assemblage du gène, ont été rectifiées par la méthode PCR de la mutagenèse site-spécifique. Le gène obtenu fait coder la séquence acido-aminée de la protéine L1 qui correspond pleinement à la séquence du virus naturel.

Ont été créées les structures d'expression sur la base du plasmide pGD pour l'expression L1 en état intégré avec des tegs complémentaires. Les particularités conformationnelles du teg contribuent à l'amélioration de solubilité de la protéine ciblée, sa coagulabilité correcte et simplification de l'épuration. Ont été choisies les différentes conditions d'expression en fonction du teg et assemblées les structures d'expression: pGD-L1, pGD-GST-L1, pGD-MBP-L1, pGD-NusA-L1, pGD-SlyD-L1, pGD-SUMO-L1, pGD-Fh8-L1, pGD-TrX-L1, pGD-TF-L1. A été effectuée l'induction des cellules transformées de *E.coli*-BL21(DE3). La plus efficace synthèse protéique a été notée dans les structures d'expression suivantes: pGD-GST-L1, pGD-MBP-L1, pGD-SUMO-L1, pGD-TrX-L1.

La protéine MBP-L1, contenant la protéine liant le maltose *E. coli* (MBP) et la protéine GST-L1 contenant le glutathion-S-transférase (GST), ont été obtenues en fraction soluble. La protéine SUMO-L1 contenant la protéine modificateur semblable à l'ubiquitine (SUMO), et la protéine TrX-L1 contenant la thiorédoxine *E. coli* (TrX), ont été obtenues sous forme de globules d'insertion. Les structures d'expression contiennent accessoirement la séquence 6His pour l'épuration. L'épuration de MBP-1 et GST-L1 a été effectuée par la chromatographie d'affinité dans les conditions natives, et celle de SUMO-L1 — dans les conditions dénaturantes. Avec les cultures cellulaires a été effectué le refolding des protéines SUMO-L1 et TrX-L1. Les protéines obtenues ont été vérifiées par la méthode de western blot et par l'essai immuno-enzymatique (IFA) en réaction avec les anticorps commercialisés Abcam spécifiques à la protéine L1. Pour la mise en oeuvre de test IFA avec les sérums sanguins a été choisie la protéine MBP-1. Comme elle est obtenue en fraction soluble, il lui a été adjoint le protocole d'épuration excluant la liaison non spécifique des anticorps commercialisés au cours de la procédure de western blot.

A titre du système de comparaison a été utilisé le test IFA HPV16 550-116-PHG Alpha-Diagnostic. Selon les résultats de l'analyse utilisant le test-système commercialisé ont été sélectionnés les échantillons positifs et négatifs des sérums sanguins. A été également retenu l'échantillon de sérum sanguin du patient vacciné avec Gardasil-4.

Pour la mise en oeuvre du test IFA la protéine MBP-L1 a été titrée de 5 mcg/ml à 0,156 mcg/ml. La pose de la protéine sur le support solide a été effectuée dans le tampon PBS à la température +4°C pendant une nuit. Pour éviter la liaison non spécifique des anticorps avec le support IFA a été effectué le blocage avec la coséine 3% dans le tampon PBS+Tween à la température +37°C pendant 30 minutes. Le sérum sanguin a été placé dans les alvéoles par portions de 100 mcl avec dilution 1:100. Pour le lavage a été utilisé le tampon sur la base de PBS avec ajout de Tween. A titre des anticorps secondaires on a utilisé le conjugué-anticorps de chèvre anti IgG humain avec la peroxy-

Tableau 20. Vérification de la liaison de la protéine soluble MBP-L1 avec les anticorps des sérums sanguins, valeurs OD₄₅₀

MBP-L1	Vacc.	(-)	(+)	(-)	(-)
5 mcg/ml	0,940	0,331	1,00	0,588	0,472
2,5 mcg/ml	0,782	0,164	0,696	0,352	0,284
1,25 mcg/ml	0,596	0,125	0,634	0,262	0,210
0,625 mcg/ml	0,448	0,097	0,585	0,246	0,155
0,3125 mcg/ml	0,509	0,124	0,699	0,290	0,169
0,156 mcg/ml	0,327	0,110	0,841	0,309	0,205
L1 commercialisé 1,25 mcg/ml	0,480	0,198	0,655	0,461	0,257
0 mcg/ml	0,050	0,054	0,058	0,051	0,049

dase de raifort. La solution des anticorps secondaires a été faite en proportion 1:10 000. Les valeurs obtenues de OD₄₅₀ sont présentées au Tabl. 20.

Par la suite il est envisagé de choisir les conditions convenables pour le test IFA et créer le panel des échantillons caractérisés.

III. Elaboration des méthodes d'expression et d'épuration de la protéine VP7 des virus Wad Medani et Kemerovo pour le diagnostic IFA des moutons

Les virus Wad Medani (WMV) et Kemerovo (KEMV) font partie des arbovirus transmis par les tiques. WMV et KEMV sont à 57% homologues par la protéine VP7. Les virus provoquent une fièvre bénigne dont le danger consiste en cas d'encéphalite provoquée par KEMV.

La protéine VP7 (40 kDa) participe à l'interaction du virion avec la surface des cellules et, tout comme la protéine VP2, sert d'un des facteurs de virulence définissant la contagiosité de la partie principale du virion.

L'objectif principal a été l'élaboration de la méthode de conception des kits diagnostiques sur la base d'IFA, où la protéine recombinante VP7 pour les virus Wad Medani et Kemerovo serait utilisée comme antigène. Le test-système conçu permettra de produire l'évaluation de la présence des anticorps spécifiques anti WMV et anti KEMV chez les moutons africains.

Le gène, codant la protéine Vp7, a été assemblé de novo par la méthode SOE PCR (Splicing by overlap extension polymerase chain reaction). Pour éviter les substitutions nucléotidiques, la séquence Vp7 (1100 p.n.) a été clonée en deux parties de la longueur de 560 et 540 p.n. Pour les réactions ultérieures ont été sélectionnés les clones contenant une bonne séquence. Après quoi pour le regroupement des fragments de 560 et 540 p.n. a été effectuée la PCR de deux plasmides avec utilisation des amorces terminales. De sorte qu'a été assemblée une séquence complète du gène Vp7 sans mutations.

Pour créer une structure d'expression le gène Vp7 a été cloné au vecteur plasmidique pGD. Ont été sélectionnées les conditions d'induction. La protéine Vp7 a été obtenue sous forme de globules d'inclusion. L'épuration de la protéine a été effectuée par la chromatographie de Ni-affinité dans les conditions dénaturantes. Les protéines en fraction soluble, étant optimales pour la mise en oeuvre de l'IFA, il est nécessaire de cloner le gène Vp7 au vecteur plasmidique avec la protéine complémentaire de fusion (teg). Le teg exerce l'influence sur les particularités conformationnelles de la protéine ciblée, concourt à la solubilité et simplifie

son épuration. Ont été conçues les structures expressives contenant les tegs suivants: pGD-GST-Vp7; pGD-MBP-Vp7; pGD-NusA-Vp7; pGD-SlyD-Vp7; pGD-SlyD-Vp7.

A ce stade est obtenue la protéine soluble MBP-Vp7-WM, qui a été épurée en colonnes mini spin Ni-affinées dans les conditions natives. Il est projeté d'accumuler ultérieurement assez de protéine Vp7 avec des tegs différents pour en définir un le plus convenable à la mise en oeuvre de l'IFA sur les anticorps de souris.

IV. L'ARN protégé sur la base du bactériophage MS2

L'ARN protégé se présente sous forme d'ARN recombinant emballé dans une enveloppe protéique du bactériophage MS2. En l'état l'ARN possède la résistance aux ribonucléases restant aussi stable pendant la conservation. De tels ARN protégés peuvent être utilisés en qualité de standards ARN quantitatifs pour la définition du nombre absolu de copies de la séquence spécifique ARN, y compris pour définir le nombre d'ARN-virus au plasma ou sérum sanguin. En dehors de cela ils peuvent être utilisés comme standards ARN qualitatifs dans les méthodes diagnostiques de détection des acides nucléiques, y compris en qualité de contrôles positifs pour la vérification du fonctionnement correct du système diagnostique.

A présent l'obtention de l'ARN protégé se trouve au stade d'optimisation. On est en train de choisir les conditions convenables de la synthèse des pseudo-particules virales et de leur épuration. On modifie également le design de la structure génétique d'origine à l'aide de laquelle on accumule les particules. La structure conçue se présente sous forme d'un vecteur d'expression qui inclut les séquences des gènes de la maturase et de la protéine de l'enveloppe du phage MS2, les sites nécessaires à l'assemblage de la particule virale de même que la séquence ciblée du virus visé. Un des objectifs de l'optimisation est l'augmentation du nombre de pseudo-particules virales accumulées.

On sait que le contrôle de traduction des protéines du bactériophage MS2 est effectué par la structure secondaire de l'ARN (dépendant de l'arrangement spatial de l'ARN). Ainsi, par exemple, devant le gène de la maturase il y a un fragment non traduit de la longueur de 130 p.n., qui joue un rôle important dans la régulation de la traduction de ce gène. Dans ce fragment se forment trois structures secondaires — aiguilles qui constituent la structure générale qui rappelle une feuille de trèfle. A l'extrémité 5' de la chaîne ARN se situe la séquence Shine-Dalgarno et à 30 nucléotides de l'extrémité 3' se trouve la séquence qui lui est complémentaire. A l'interaction de ces fragments

a lieu la répression de la synthèse protéique de la maturase. La constitution de la structure secondaire de l'ARN permet aux ribosomes de se connecter momentanément à la séquence Shine-Dalgarno et commencer la traduction. L'élimination du fragment complémentaire aboutit à l'accroissement de 5 à 10 fois du niveau d'expression du gène. Compte tenu des informations dont on dispose, devant le gène de la maturase au vecteur a été ajoutée une part de cette séquence non traduite. Dans la variante initiale il a été ajouté 40 p.n., puis encore 80 p.n. Selon les résultats du test PCR en temps réel, comparés avec la variante précédente, les contrôles de l'ARN à la séquence non traduite allongée (80 p.n.) font apparaître une augmentation du nombre de particules phagiques. Ainsi dans notre structure génétique il n'y a pas de séquence complémentaire qui pourrait être en interaction avec la séquence Shine-Dalgarno, l'ARN pouvant constituer cependant une structure secondaire qui contrôle la synthèse des pseudo-particules virales.

V. Les dépolymérasés recombinants des bactériophages *Klebsiella pneumoniae*

L'accroissement du nombre de bactéries possédant une résistance multiple aux différents produits devient un des problèmes majeurs du sphère de la santé publique. Selon les données de l'OMS la situation la plus critique s'observe au contact de telles bactéries comme *Acinetobacter*, *Pseudomonas* et des représentants de la famille *Enterobacteriaceae*, y compris *Klebsiella pneumoniae*.

La vitesse élevée d'évolution des bactéries et le nombre restreint de produits antimicrobiens nécessitent la recherche des modes alternatifs de traitement des différentes maladies infectieuses. Pendant un certain temps la thérapie phagique en a été considérée comme une des alternatives, n'étant autorisée actuellement que dans un nombre limité de pays. Aujourd'hui on voit renaître l'intérêt pour les bactériophages. Les bactériophages modifiés et leurs composants trouvent leur application non seulement en médecine mais aussi dans de tels domaines comme l'agriculture et l'industrie. Comme les bactériophages accomplissent avec succès la lyse bactérienne, on prête une attention soutenue à leurs différentes protéines, par exemple aux endolyases et dépolymérasés. On suppose que ces protéines peuvent être utilisées dans la thérapie antimicrobienne comme agents principaux et auxiliaires.

Encore un des avantages des bactériophages consiste en leur haute spécificité déterminée par la présence des protéines liant les récepteurs et reconnaissant les récepteurs primaires sur la surface de la cellule bactérienne. Les protéines liant les récepteurs possèdent dans leur structure un domaine responsable de la fixation à la partie arrière du phage, et un domaine enzymatique. Au cas de nécessité on peut combiner ces domaines des protéines des différents bactériophages et synthétiser des protéines chimériques. Les protéines liant les récepteurs des bactériophages, qui infectent les bactéries encapsulées, possèdent une activité dépolymérasée et peuvent détruire les exopolysaccharides des capsules, les lipopolysaccharides mais aussi les matrices des biofilms. Au cas de *K. pneumoniae*, pour laquelle sont décrites plusieurs variantes structurelles de sa capsule, la dépolymérase du bactériophage n'est capable de désintégrer qu'un type bien concret de la capsule. Ainsi les problèmes d'actualité sont la conception

du bactériophage synthétique possédant un ensemble de différentes protéines liant les récepteurs, mais aussi l'obtention des protéines recombinantes des bactériophages.

Actuellement nous avons réussi à obtenir les dépolymérasés recombinants des bactériophages *K. pneumoniae* capables de détruire les types capsulés K2 et K20. L'efficacité des dépolymérasés recombinants obtenues a été vérifiée sur les différentes souches de *K. pneumoniae* à l'aide de test spot. Dans les boîtes de Petri, contenant les souches de *K. pneumoniae* du type capsulaire correspondant, après l'étalement de la protéine recombinante purifiée on observait des zones de lyse semi-transparentes, tandis que dans les boîtes contenant les souches des types capsulaires différents ces zones étaient absentes. Il s'en suit que les dépolymérasés recombinants possèdent une haute spécificité similaire à celle des phages natifs. D'autre part, comparées aux bactériophages natifs, les dépolymérasés recombinants purifiés agissent sur un éventail plus large de bactéries ayant le même type capsulaire. Ce qui peut être expliqué par le fait que l'interaction de la bactérie avec le bactériophage est un processus complexe éventuellement influencé par différents facteurs, tels comme l'identification du récepteur secondaire sur la surface des bactéries, les mécanismes de défense des bactéries contre les virus, une faible activité virulente du phage etc.

L'emploi des dépolymérasés recombinants peut amplifier l'efficacité des produits antimicrobiens puisqu'une bactérie, privée de sa capsule, devient plus réceptive à l'action exercée par les différentes matières. Il est prévu d'obtenir ultérieurement les dépolymérasés recombinants capables de détruire les capsules de tels types des souches *K. pneumoniae* qui, la plupart du temps, sont les plus virulentes et possèdent une résistance multi-drogue.

VI. Etude de la variété génétique des orthobunyavirus du groupe sérologique de Bunyamwera

Au moment de commencement de l'étude l'appartenance spécifique de plusieurs virus de ce groupe était litigieuse ce qui amenait à une certaine confusion dans les ouvrages scientifiques publiés rendant difficiles leur étude ultérieure et la classification des nouveaux représentants découverts. Actuellement dans la base de données GenBank NCBI sont représentées soixante-quatre séquences génomiques complètes des membres du sérogroupe Bunyamwera. Conformément aux critères de démarcation courants l'appartenance spécifique ICTV de plusieurs souches est à réviser. Notamment, sur seize séquences désignées comme Bunyamwera orthobunyavirus sp. trois souches doivent être rangées dans l'espèce Fort Sherman orthobunyavirus sp.: SFCrEq231 (KP063892-KP063894); SFBzEq232 (KP063895-KP063897) et SFAbCrEq238 (KP063898-KP063900). Deux isolats sur seize se rapportent aux différentes espèces de virus: NORV (MH484312-MH484314) et SHOV (MH484330-MH484332). Encore trois représentent l'espèce Main Drain orthobunyavirus sp.: isolat LOKV A10391 (MH484303-MH484305), isolat LOKV FMS 4332 (MG820264, MG828823 et MG696865) et isolat SARV M2-1493 (MH484324-MH484326).

Sur quinze séquences classées Batai orthobunyavirus sp. il convient de ranger deux parmi d'autres espèces de virus: isolats BATV K10441 (KU661980, KU661984 et KU661991) et souche BATV MS50 (NC_043579-NC_043581). La souche

BATV MS50 est réputée être souche étalon de l'espèce, mais selon les critères courants ICTV elle n'en fait pas partie. Comme historiquement la souche M50 n'a pas été la première souche BATV détectée, il serait logique de laisser le nom Batai orthobunyavirus sp. au groupe principal du virus et attribuer le nouveau nom spécifique à la souche M50. Cette hypothèse est reprise par Groseth et al. qui ont établi qu'en réalité la souche M50 n'est pas liée avec BATV et que, selon toute probabilité, elle représente un nouveau génotype du genre *Orthobunyavirus* (Groseth et al., 2012). La souche BATV K10441 ne peut pas être attribuée non plus à l'espèce Batai orthobunyavirus sp. Cette souche a été isolée en Australie Occidentale non loin du village Willare et elle peut éventuellement être désignée comme Willare orthobunyavirus sp. Ce nom a été adopté ensemble avec le collectif d'auteurs qui avaient découvert le virus (Briese et al., 2016). Parmi les séquences, classées comme Maguari

orthobunyavirus sp., trois doivent être reclassées: souche PLAV 75V5938 (KX100124-KX100126), souche MAGV CoAr 3363 (KX100109-KX100111) et souche MAGV AG83-1746 (KX100112-KX100114). Il convient de ranger les deux premières dans l'espèce Cache Valley orthobunyavirus sp., tandis que la troisième doit relever de l'espèce Fort Sherman orthobunyavirus sp.

Notre analyse a aussi fait apparaître le phénomène de la recombinaison du M-segment entre la souche FSV 86MSP18 (MH484294-MH484296) et CVV. La recombinaison du M-segment a été aussi détectée entre MDV et POTV: MDV souche 72V2567 (MH484306-MH484308) ou MDV souche R4680 (MH484309-MH484311) avec la souche POTV 89-3380 (MH484321-MH484323) ou la souche POTV IL94-1899 (NC_043645-NC_043647). Qui plus est, nous avons détecté les signes de recombinaison LOKV et SARV ou MDV avec le virus inconnu (Fig. 68).

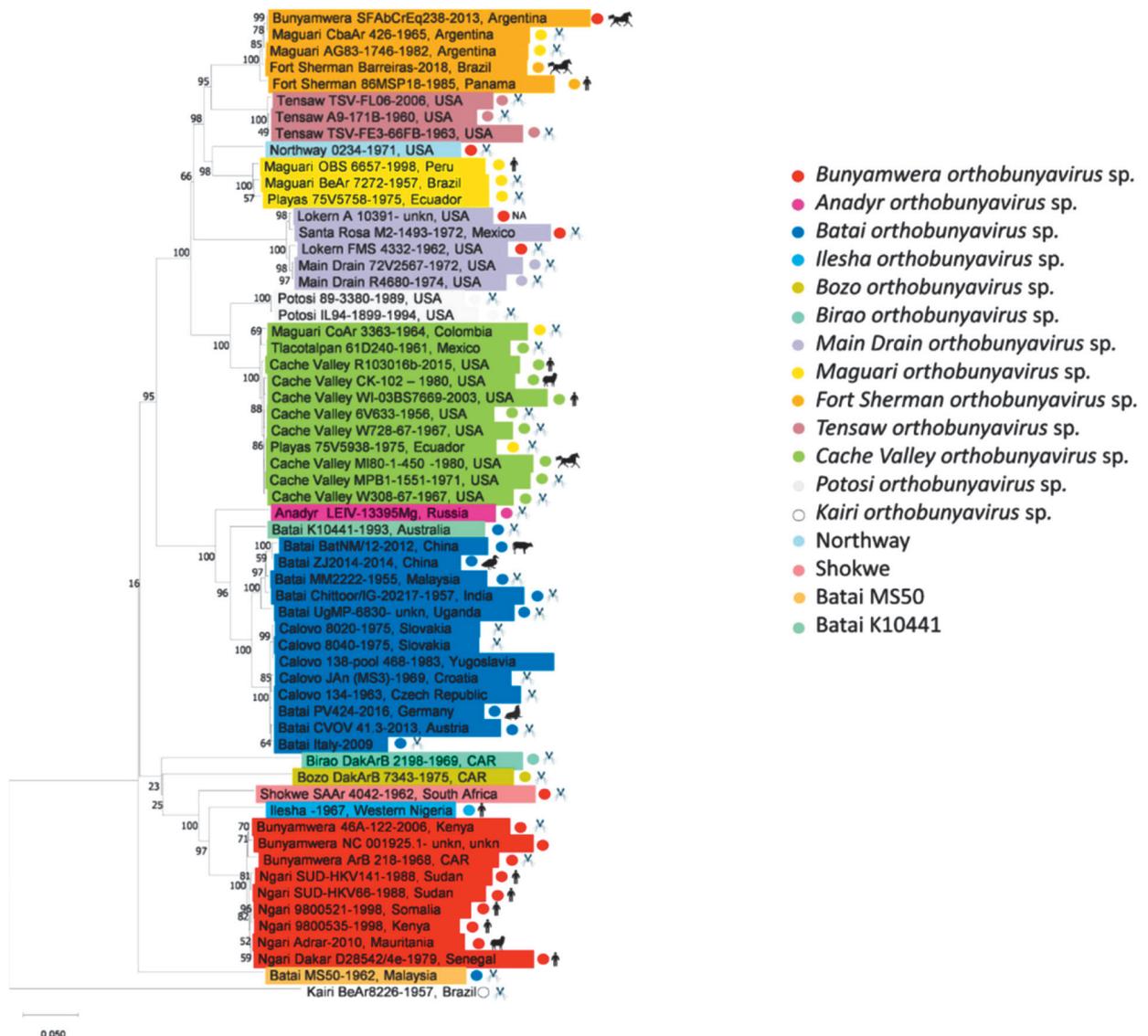


Figure 68. Arbre phylogénétique des membres du groupe sérologique Bunyamwera basé sur la séquence du segment L (au niveau des acides aminés)

Il a été ancré au génome du virus La Crosse (EF485032). Les alignements des séquences d'acides aminés ont été réalisés à l'aide du logiciel MEGA v.11 en utilisant l'algorithme MUSCLE. Les arbres phylogénétiques ont été reconstruits à l'aide d'une estimation du maximum de vraisemblance basée sur le modèle paramétrique général réversible dans le temps (GTR) permettant une variation de fréquence distribuée en gamma entre les sites et une proportion de sites invariants dans la séquence. La robustesse de l'arbre a été testée à l'aide de 1000 répliques bootstrap. Le modèle de substitution GTR a évalué 24 modèles avec diverses combinaisons de paramètres de substitution nucléotidique sur la base d'ajustements du maximum de vraisemblance et a sélectionné le meilleur modèle parmi eux. L'attribution à l'espèce orthobunyavirus selon l'ICTV est indiquée par un point coloré. L'attribution réelle à l'espèce d'orthobunyavirus est indiquée par un surlignage coloré. La source de l'isolat est présentée comme image d'un animal correspondant.

Publications

Articles

1. Dedkov V.G., Dolgova A.S., Safonova M.V., Samoilov A.E., Belova O.A., Kholodilov I.S., Matsvay A.D., Speranskaya A.S., Khafizov K., Karganova G.G. Isolation and characterization of Wad Medani virus obtained in the tuva Republic of Russia // *Ticks Tick Borne Dis.* 2021; 12 (2): 101612. doi: 10.1016/j.ttbdis.2020.101612
2. Dolgova A.S., Safonova M.V., Faye O., Dedkov V.G. Current View on Genetic Relationships within the Bunyamwera Serological Group // *Viruses.* 2022; 14 (6): 1135. doi: 10.3390/v14061135
3. Gladkikh A., Dedkov V., Sharova A., Klyuchnikova E., Sbarzaglia V., Arbuzova T., Forghani M., Ramsay E., Dolgova A., Shabalina A., Tsyganova N., Totolian A. Uninvited Guest: Arrival and Dissemination of Omicron Lineage SARS-CoV-2 in St. Petersburg, Russia // *Microorganisms.* 2022; 10 (8): 1676. doi: 10.3390/microorganisms10081676
4. Gladkikh A., Dolgova A., Dedkov V., Sbarzaglia V., Kanaeva O., Popova A., Totolian A. Characterization of a Novel SARS-CoV-2 Genetic Variant with Distinct Spike Protein Mutations // *Viruses.* 2021; 13 (6): 1029. doi: 10.3390/v13061029
5. Goncharova E.A., Dedkov V.G., Dolgova A.S., Kassirov I.S., Safonova M.V., Voytsekhovskaya Y., Totolian A.A. One-step quantitative RT-PCR assay with armored RNA controls for detection of SARS-CoV-2 // *J. Med. Virol.* 2021; 93 (3): 1694–1701. doi: 10.1002/jmv.26540
6. Gorodnichev R.B., Kornienko M.A., Malakhova M.V., Bespiatykh D.A., Manuvera V.A., Selezneva O.V., Veselovsky V.A., Bagrov D.V., Zaychikova M.V., Osnach V.A., Shabalina A.V., Goloshchapov O.V., Bespyatykh J.A., Dolgova A.S., Shitikov E.A. Isolation and Characterization of the First Zobellviridae Family Bacteriophage Infecting *Klebsiella pneumoniae* // *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24 (4): 4038. doi: 10.3390/ijms24044038
7. Hoornstra D., Stukolova O.A., Karan L.S., Sarksyan D.S., Kolyasnikova N.M., Markelov M.L., Cherkashina A.S., Dolgova A.S., Sudina A.E., Sokolova M.I., Platonov A.E., Hovius J.W. Development and validation of a protein array for detection of antibodies against the tick-borne pathogen *Borrelia miyamotoi* // *Microbiol. Spectr.* 2022; 10 (6): e0203622. doi: 10.1128/spectrum.02036-22
8. Kirichenko A., Bryushkova E., Dedkov V., Dolgova A. A Novel DNase-based fluorescent biosensor for detection of RNA-containing Nipah Henipavirus // *Biosensors (Basel).* 2023; 13 (2): 252. doi: 10.3390/bios13020252
9. Mhamadi M., Dieng I., Dolgova A.S., Touré C.T., Ndiaye M., Diagne M.M., Faye B., Gladkikh A.S., Dedkov V.G., Sall A.A., Faye O., Faye O. Whole Genome Sequencing Analysis of African Orthobunyavirus Isolates Reveals Naturally Interspecies Segments Recombinations between Bunyamwera and Ngari Viruses // *Viruses.* 2023; 15 (2): 550. doi: 10.3390/v15020550
10. Safonova M.V., Simonova E.G., Lopatin A.A., Dolgova A.S., Dedkov V.G. Development of quantitative criteria for assessing epidemic potential of the natural-focal viral infections // *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2022; 12 (4): 745–754. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-DOQ-1926
11. Volkov A.A., Dolgova A.S., Dedkov V.G. CRISPR/Cas-based diagnostic platforms // *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2022; 12 (1): 9–20. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-CCB-1843
12. Volynkina A., Lisitskaya Y., Kolosov A., Shaposhnikova L., Pisarenko S., Dedkov V., Dolgova A., Platonov A., Kulichenko A. Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Russia // *PLoS One.* 2022; 17 (5): e0266177. doi: 10.1371/journal.pone.0266177

Centre régional du District fédéral Nord-Ouest pour la prévention et la lutte contre le SIDA

LABORATOIRE D'IMMUNOLOGIE ET VIROLOGIE DE L'INFECTION PAR LE VIH

Chef du centre: N. Belyakov

Chercheurs: E. Boeva, N. Konovalova, U. Svetlichnaia

Chef du laboratoire: Yu. Ostankova

Chercheurs: V. Rassokhin, E. Yastrebova, S. Ogourtsova, A. Shchemelev, D. Valutite, E. Zueva, E. Serikova, V. Davydenko, N. Pechnikova, E. Anufrieva, Yu. Chornogouz, E. Yakubovskaya, A. Ivanova

L'étude et la généralisation des données sur le processus épidémique de l'infection par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest de la Fédération de Russie constituent toujours les principaux objectifs de travail du Centre régional. L'information statistique officielle sur les cas de l'infection par le VIH détectés sur les territoires administratifs du District au cours du screening sérologique et fixés dans les documents de contrôle des observations statistiques fédéraux d'Etat constituent le fondement analytique du processus épidémique.

Les différents aspects de ce travail peuvent être formulés de manière suivante:

- l'analyse des résultats de screening de la population pour l'infection par le VIH en 2021–2022 dans les différentes régions du District fédéral Nord-Ouest pour évaluer l'intensité du processus épidémique et la mesure d'implication des divers groupes de population dans ce processus;
- caractérisation du processus épidémique d'après les indices d'incidence, de séroprévalence et des voies de contamination par le VIH sur le fondement des études effectuées en approche évolutive;
- révélation du rôle des divers groupes de la population dans la propagation de l'épidémie pendant les différentes périodes;
- évaluation du caractère de progression de l'épidémie selon les résultats de développement du stade SIDA et le nombre d'issues léthales chez les malades comme indice d'adéquation des mesures organisationnelles, diagnostiques et thérapeutiques effectuées;
- élaboration du modèle à trois niveaux d'évaluation du développement du processus épidémique depuis les territoires des districts, sujets de la Fédération et jusqu'à District fédéral avec la définition des causes dominantes de croissance d'incidence et de propagation de l'infection par le VIH, des hépatites virales et de la tuberculose, y compris tenant compte des facteurs géographiques, économiques, sociaux et démographiques et avec définition des orientations optimales des mesures organisationnelles conformément au modèle élaboré d'évaluation du processus épidémique;
- étude de l'évolution des infections virales et bactériennes, y compris l'infection par le VIH, la tuberculose et l'hépatite C dans les conditions de la pandémie à coronavirus;
- évaluation du rôle interactif de ces infections dans le cas d'évolution grave de chacune d'elles;
- systématisation du rôle des mesures organisationnelles générales et épidémiologiques dans la résistance à la

propagation de l'infection au VIH et des états comorbides, de même que la définition de la signification des facteurs personnifiés capables d'influer sur l'évolution et l'issue de la maladie.

Le District fédéral Nord-Ouest est composé de 11 sujets de la Fédération de Russie peuplés de 13,9 mln de personnes (9,5% de la population de Russie). Comparée à 2021, en 2022 la population du District a diminué de 0,3% (soit 40 859 personnes).

La couverture globale des citoyens de la Fédération de Russie par le screening au sujet des anticorps contre le VIH a augmenté de 27,7% en 2022 en comparaison avec 2021, et de 23,7% en 2020 (Fig. 69). En 2022 dans le District fédéral Nord-Ouest ont été examinés au sujet de l'infection par le VIH 4 207 140 citoyens de la Fédération de Russie, soit 30,2% de la population du District. Comparé à 2021, en 2022 le taux des citoyens étrangers examinés a augmenté de 8,9% (253 442 personnes). En 2022 les citoyens étrangers ont constitué 6,0% du nombre total d'examinés, 6,6% en 2021 et, à titre de comparaison, 12,4% en 2015. L'augmentation de la couverture du screening au sujet de l'infection par le VIH parmi les citoyens de la Fédération de Russie a été enregistré sur tous les territoires du District fédéral Nord-Ouest, excepté la République Carélie où elle a été en baisse (-2,2%). Les plus hauts taux d'accroissement du nombre de personnes, impliquées dans l'examen de screening, ont été enregistrés dans les oblasts d'Arkhangelsk (+47,4%) et de Pskov (+42,3%), à Saint-Pétersbourg (+39,8%) et dans l'oblast de Léninegrad (+30,1%). Sur d'autres territoires l'accroissement de la couverture de screening n'excédait pas le taux moyen enregistré dans le District.

Lors de l'analyse du formulaire No. 4 «Données des résultats d'examen au sujet des anticorps contre le VIH» il a été établi qu'en 2021 globalement dans la structure des groupes examinés de la population du District fédéral Nord-Ouest la majeure partie d'examen de l'infection par le VIH a été effectuée dans les catégories suivantes: «personnes examinées selon les indications cliniques» (code 113, Tabl. 21) — 31,8%, «autres» (code 118) — 30,5%, «donneurs de matières et substances biologiques» (code 108) — 8,8%, «femmes enceintes» (code 109) — 7,8%, «personnes examinées de leur plein gré» (code 101) — 6,8%, «citoyens étrangers» (code 200) — 6,6%. Dans la structure des examens les groupes les moins nombreux étaient ceux des hommes à orientation sexuelle non-traditionnelle (homosexuels) (code 103) — 0,02%, personnes se livrant à la prostitution (code 104) — 0,1%, personnes de contact révélées dans les enquêtes épidémiologiques (excepté les enfants nés des mères infectées par le VIH) (code 121) — 0,4%, toxi-

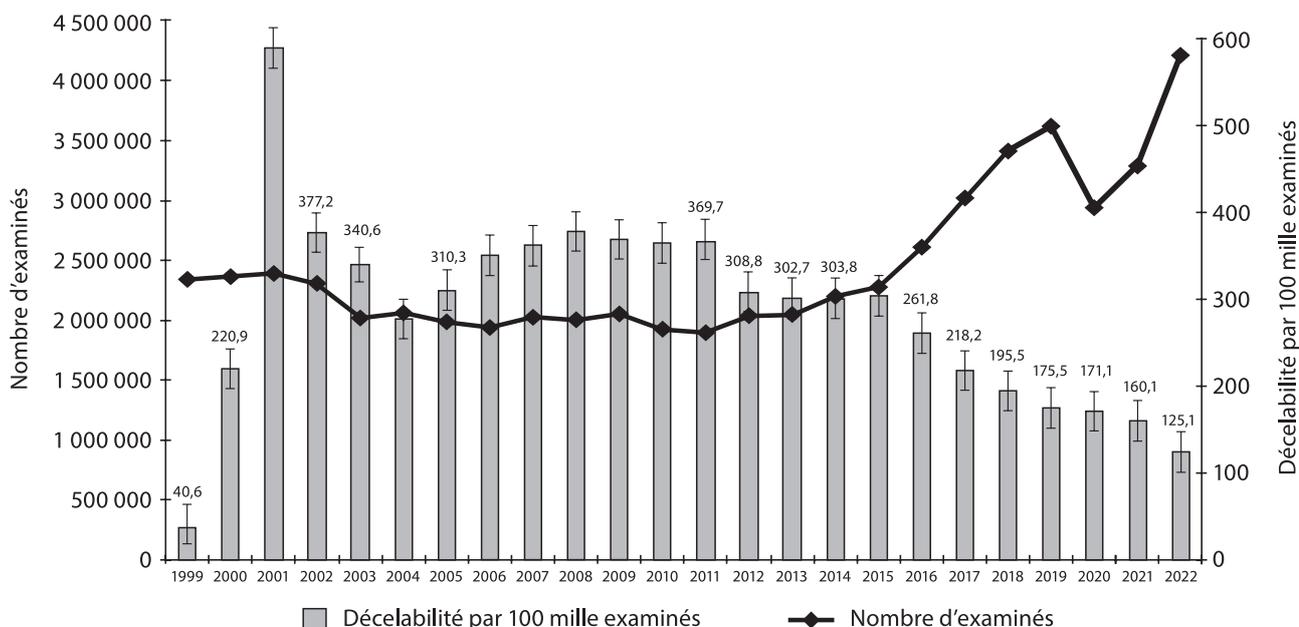


Figure 69. Nombre d'exams de détection des anticorps contre le VIH et taux de décelabilité par 100 mille examinés dans le District fédéral Nord-Ouest, 1996-2020

comanes (code 102) — 0,5%, personnes se trouvant dans des lieux de détention (code 112) — 0,8%.

Comparé à 2020, globalement dans le District fédéral Nord-Ouest en 2021 le volume de l'ensemble des tests dans les groupes vulnérables et, soi-disant, groupes de risque (toxicomanes, homosexuels, personnes ayant le diagnostic confirmé ou suspecté d'une infection sexuellement transmissible et personnes se trouvant dans des lieux de détention) a diminué de 3,4% (Fig. 70). La comparaison de cet indice avec son niveau de 2007 révèle une baisse de 51,9%.

Le taux moyen de décelabilité dans le District (code 100) a fait 160,1 par 100 000 personnes examinées en 2021 (171,1 en 2020, 175,3 en 2019, 195,5 en 2018), qui représente une baisse de 6,4% (Fig. 69).

L'examen du taux de décelabilité par 100 mille personnes examinées selon les différents territoires du District fédéral Nord-Ouest a révélé son accroissement en 2021 dans les oblasts de Novgorod (+3,3%), Kaliningrad (+1,7%) et à Saint-Petersbourg (+0,5%). Sur d'autres territoires a été observé le décroissement de l'indice de décelabilité.

Tableau 21. Répertoire de codes des groupes de population examinés au sujet de l'infection par le VIH

Groupes d'examinés	Codes des groupes
Donneurs (du sang, des liquides biologiques, organes et tissus)	108
Personnel médical et autre travaillant avec les personnes atteintes de l'infection par le VIH ou avec les matériels infectés	115
Personnes appelées ou s'enrôlant au service militaire au titre d'un contrat (assimilé au service militaire), entrant dans les écoles militaires	111
Personnes examinées de leur plein gré (en absence d'autres motifs d'examen)	101
Toxicomanes	102
Homosexuels	103
Personnes ayant le diagnostic confirmé ou suspecté d'une infection sexuellement transmissible	104
Personnes se livrant à la prostitution	105
Femmes enceintes	109
Epoux et partenaires sexuels des femmes fichées pour cause de grossesse	110
Personnes se trouvant dans des lieux de détention	112
Personnes examinées selon les indications cliniques (codes des indications détaillées 114+116+117)	113
Malades avec les manifestations cliniques de l'infection par le VIH ou avec les affections associées au SIDA	114
Personnes examinées au sujet du VIH dans le cadre d'octroi d'aide médicale (conformément au standard d'octroi d'une telle aide) excepté les malades d'hépatite B et C	116
Personnes ayant le diagnostic confirmé ou suspecté de l'hépatite B ou de l'hépatite C	117
Autres	118
Personnes de contact révélées dans les enquêtes épidémiologiques (excepté les enfants nés des mères infectées par le VIH)	121
Enfants nés des mères infectées par le VIH	124
Participants des situations d'accident avec un éventuel contact sous-cutané, cutané et muqueux avec le sang et les liquides biologiques	125
Citoyens de la Fédération de Russie	100
Citoyens étrangers et personnes apatrides	200

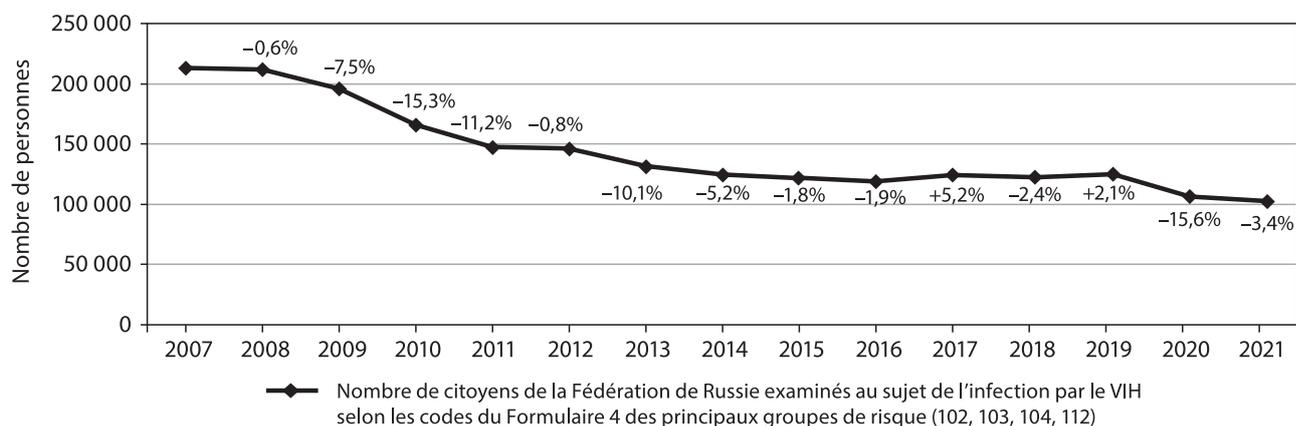


Figure 70. Evolution du nombre de personnes examinées au sujet de l’infection par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest par années dans certains groupes de risque les plus actifs (immatriculés aux codes 102, 103, 104, 112) en 2007–2021

Lors de l’analyse d’efficacité du screening par groupes (selon les codes du Formulaire No. 4) en 2021 dans le District fédéral Nord-Ouest le taux de décelabilité dans le groupe des toxicomanes (code 102) a constitué 1,1% (1,2% en 2020, 2,0% en 2019, 2,0% en 2018, 2,6% en 2017, 3,0% en 2016) (Fig. 71). Ce taux excédait sa valeur moyenne du District dans les oblasts de Kaliningrad (4,2%) et d’Archangelsk (2,6%), en République Komi (3,6%) et à Saint-Petersbourg (1,9%).

Dans le groupe de personnes examinées selon le code 121, — personnes de contact révélées dans les enquêtes épidémiologiques (excepté les enfants nés des mères infectées par le VIH), — le taux de décelabilité a constitué 1990,8 par 100 mille personnes examinées (2306,9 en 2020, 2855,8 en 2019, 2855,8 en 2018, 1921,6 en 2017, 4038,8 en 2016).

Le taux de décelabilité dans le groupe de personnes se trouvant dans des lieux de détention (code 112) a constitué 1,8% (1,7% en 2020, 1,6% en 2019, 1,6% en 2018, 1,8% en 2017, 2,9% en 2016).

En 2021 dans le District fédéral Nord-Ouest le taux de décelabilité dans le groupe d’homosexuels (code 103) a été défini au niveau de 4,1% (6,1% en 2020, 3,7% en 2019, 3,7% en 2018, 3,5% en 2017, 3,5% en 2016).

Ce taux excédait 5% et sa valeur moyenne du District dans les oblasts de Mourmansk (33,5%), d’Arkhangelsk (25,0%), de Vologda (14,3%), de Kaliningrad (7,7%), de Leningrad (4,8%) et à Saint-Petersbourg (4,2%).

En 2021 le taux de décelabilité de l’infection par le VIH parmi les citoyens étrangers a augmenté de 81,1% pour constituer 180,9 par 100 mille personnes examinées (99,9 en 2020, 84,1 en 2019, 82,6 en 2018, 97,6 en 2017, 112,9 en 2016). Ainsi sur 232 750 étrangers, examinés au sujet de l’infection au VIH en 2021, le résultat s’est avéré positif chez 421 personne (356 en 2020, 337 en 2019, 345 en 2018, 386 en 2017, 419 en 2016) (Fig. 72). Cependant 69,1% d’entre eux ont été examinés et 80,7% décelés à Saint-Petersbourg (160 721 et 340 respectivement).

Au total pendant toute la période d’enregistrement au 31.12.2022 sur 11 territoires du District fédéral Nord-Ouest il a été enregistré 158 270 cas d’infection par le VIH. Ce qui représente 10% du nombre global de malades infectées par le VIH et enregistrées en Fédération de Russie vers la date indiquée: 1 640 000 personnes. Excepté les personnes décédées (39 150 personnes), vers la fin de 2022 dans le District fédéral Nord-Ouest résidaient 119 120 personnes infectées par le VIH.

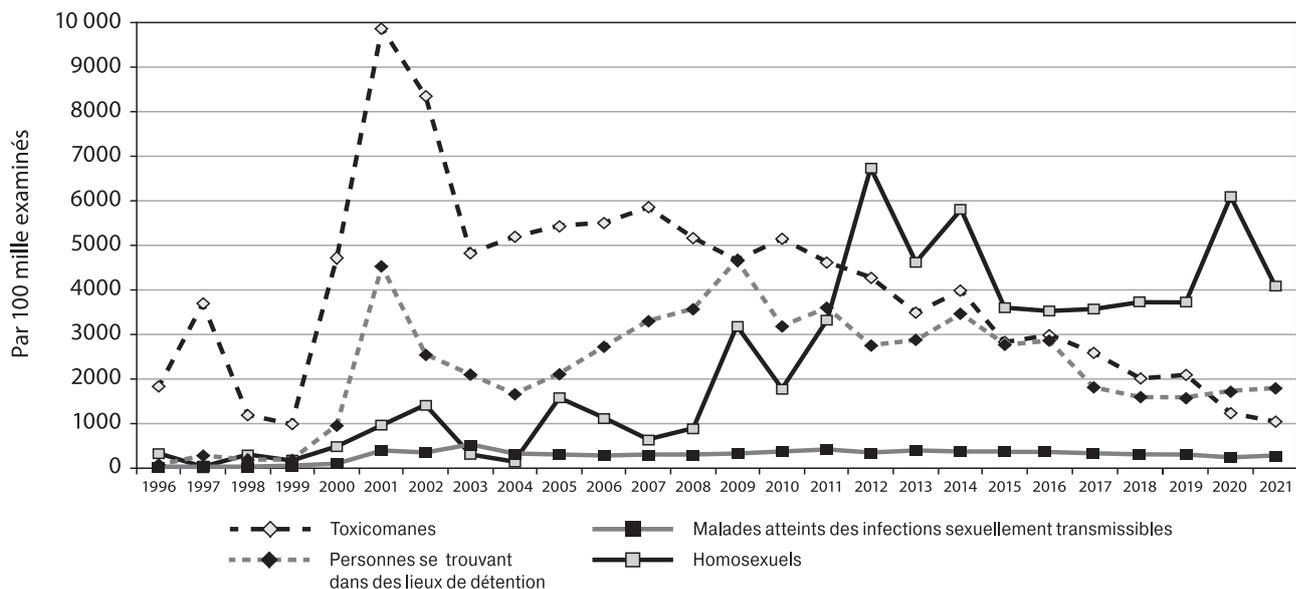


Figure 71. Décelabilité de l’infection par le VIH dans les différents groupes de la population du District fédéral Nord-Ouest selon les données du screening sérologique, 1996–2021

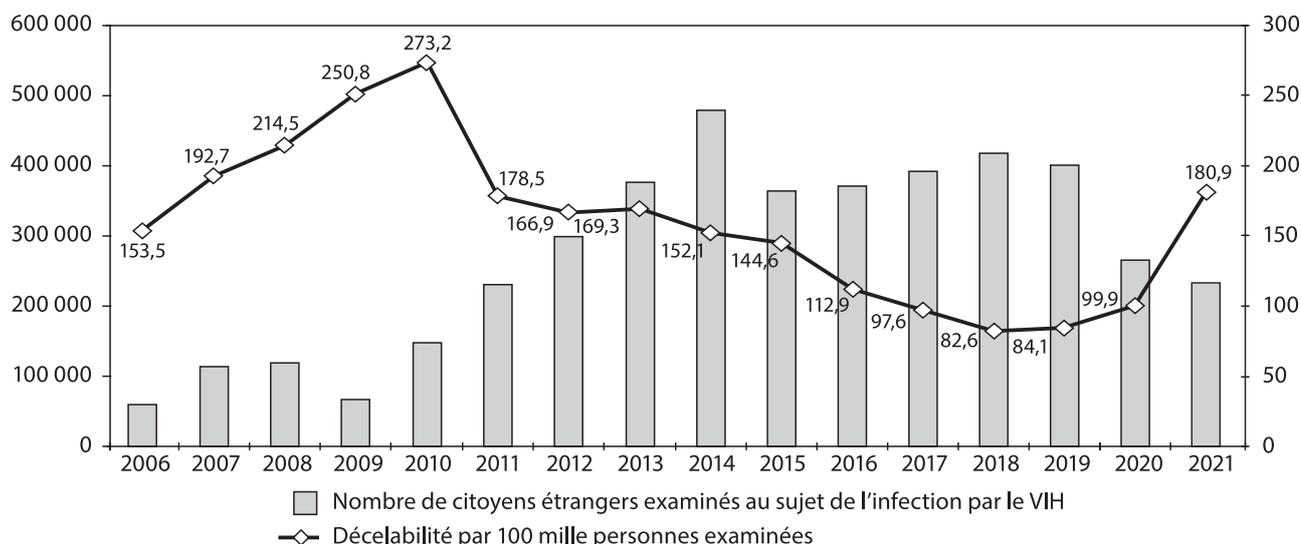


Figure 72. Nombre d'examens au sujet des anticorps contre le VIH et nombre de citoyens étrangers décelés comme VIH-positifs dans le District fédéral Nord-Ouest, 2006-2021

En 2022 sur 11 territoires du District fédéral Nord-Ouest ont été enregistrés 5263 nouveaux cas de l'infection par le VIH ce qui marque une baisse de 0,3% par rapport à 2021 (Fig. 73, Tabl. 22).

La décroissance du nombre de nouveaux cas de l'infection par le VIH a été notée dans cinq sur onze territoires du District fédéral Nord-Ouest.

La tendance à la baisse d'incidence, qui s'est profilée en 2009, a abouti à la situation quand vers 2013 déjà le taux d'incidence dans le District a été inférieur à celui moyen de Russie. Cependant en 2021 ces taux ont été fixés à peu près au même niveau avec seulement 10 unités de différence: 37,9 dans le District fédéral Nord-Ouest, 48,7 en Fédération de Russie (Fig. 74).

Les leaders traditionnels de propagation de l'infection par le VIH dans le District sont la ville de Saint-Petersbourg et l'oblast de Léningrad qui font jeu égal et, à l'échelle de la prévalence, excèdent aussi bien la moyenne du District fédéral Nord-Ouest (837,1 par 100 mille habitants) que celle de la Fédération de Russie (778,1 par 100 mille habitants).

Selon le taux cumulatif des personnes séropositives par 100 mille habitants (séroprévalence), sans tenir compte des personnes décédées, les territoires du District fédéral Nord-Ouest sont classés de manière suivante: ville de Saint-Petersbourg — 1218,6, oblast de Léningrad — 1058,2, oblast

de Mourmansk — 826,3, oblast de Kaliningrad — 688,0, République Komi — 560,4, oblast de Novgorod — 530,1, République Carélie — 382,4, oblast de Vologda — 335,0, oblast d'Arkhangelsk (sans tenir compte des cas décelés dans les lieux de détention) — 245,5, oblast de Pskov — 177,7, région autonome de Nenetsk — 210,8.

Dans le District fédéral Nord-Ouest on remarque une importante inclusion des personnes des catégories d'âge avancées au processus épidémique de l'infection par le VIH. Depuis 2011 les taux d'incidence les plus élevés ont été enregistrés parmi les personnes âgées de 35-39 et 40-44 ans. En 2020 ce taux a fait 101,5 et 96,5 respectivement. Ce qui peut s'expliquer aussi bien par la détection des malades infectés à l'âge plus jeune, que par une nouvelle étape épidémique qui se caractérise par la voie de transmission essentiellement sexuelle du VIH dans toutes les catégories d'âge.

Dans la répartition des catégories d'âge par sexe il convient de remarquer qu'en 2021 les taux d'incidence les plus élevés ont été observés dans la catégorie d'âge de 40-44 ans chez les hommes et dans celle de 35-39 ans chez les femmes: 107,2 et 62,3 par 100 mille habitants respectivement (Fig. 75).

En 2021 continue à décroître la part des jeunes parmi les personnes détectées comme primo infectées par le VIH. En 2005 le taux de la catégorie d'âge 15-19 ans a été 8,4%, en

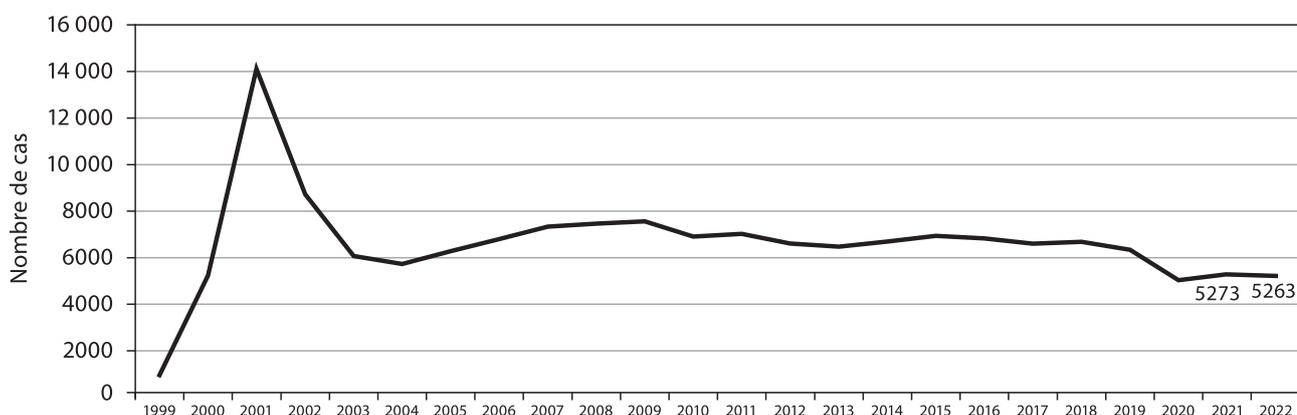


Figure 73. Evolution pluriannuelle des nouveaux cas de l'infection par le VIH décelés sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest (1996-2022)

2021 — 1,0%, en 2005 celui de la catégorie de 20–24 ans étant de 30,6%, décroissant jusqu'à 4,6% en 2021 (Fig. 76).

En 2021 dans la structure globale des personnes infectées par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest dominaient les hommes (60,1%). Pourtant la part des femmes dans cette structure s'accroît systématiquement: depuis 18,9% en 1995 et 26,2% en 2000 jusqu'à 39,9% en 2021.

En 2021 la transmission du virus dans les contacts hétérosexuels a été enregistrée dans 67,8% de cas (la moyenne pour la Fédération de Russie dans la même année étant de 68,4%), pendant l'injection i/v des drogues — dans 26,4% de cas (la moyenne pour la Fédération de Russie étant de 27,8%).

En 2021 la transmission du virus pendant l'introduction i/v des drogues n'a jamais excédé le taux de 50% sur aucun

Tableau 22. Enregistrement des nouveaux cas de l'infection par le VIH sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest

Territoire	2019	2020	Croissance/décroissance (%)	2021	2022	Croissance/décroissance (%)
Oblast d'Arkhangelsk	363	301	-17,1	263	235	-10,6
Oblast de Vologda	404	365	-9,7	358	343	-4,2
Oblast de Kaliningrad	416	349	-16,1	394	429	8,9
République Carélie	241	180	-25,3	177	169	-4,5
République Komi	397	383	-3,5	365	368	0,8
Oblast de Léningrad	1023	719	-29,7	763	715	-6,3
Oblast de Mourmansk	426	387	-9,2	367	337	-8,2
Oblast de Novgorod	352	249	-29,3	259	275	6,2
Oblast de Pskov	108	94	-13,0	88	92	4,5
Région autonome de Nenetsk	7	7	0,0	15	17	13,3
Saint-Petersbourg	2601	1997	-23,2	2224	2283	2,7
District fédéral Nord-Ouest	6338	5031	-20,6	5277	5263	-0,3

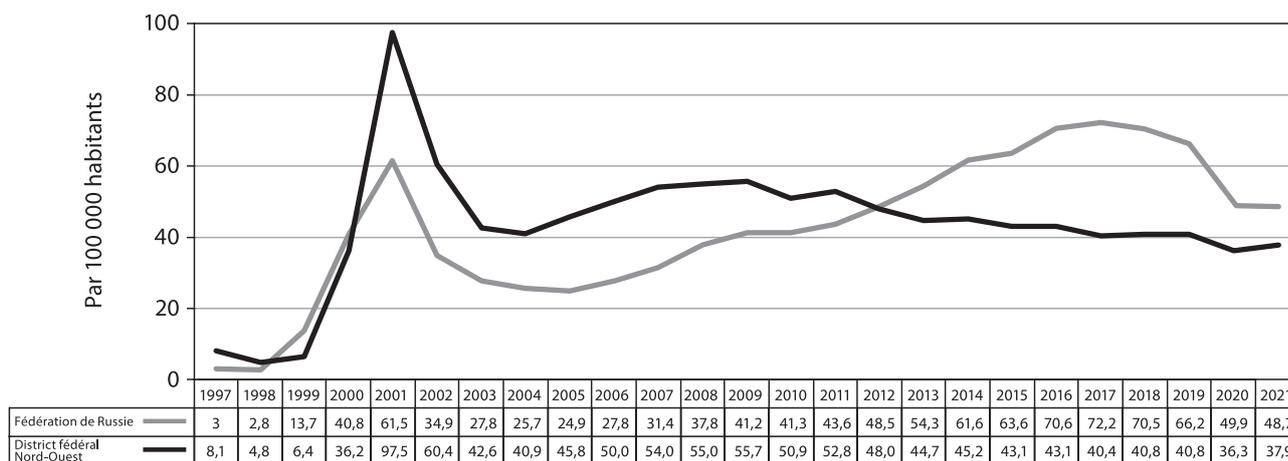


Figure 74. Incidence de l'infection par le VIH en Fédération de Russie et dans le District fédéral Nord-Ouest, 1997–2021

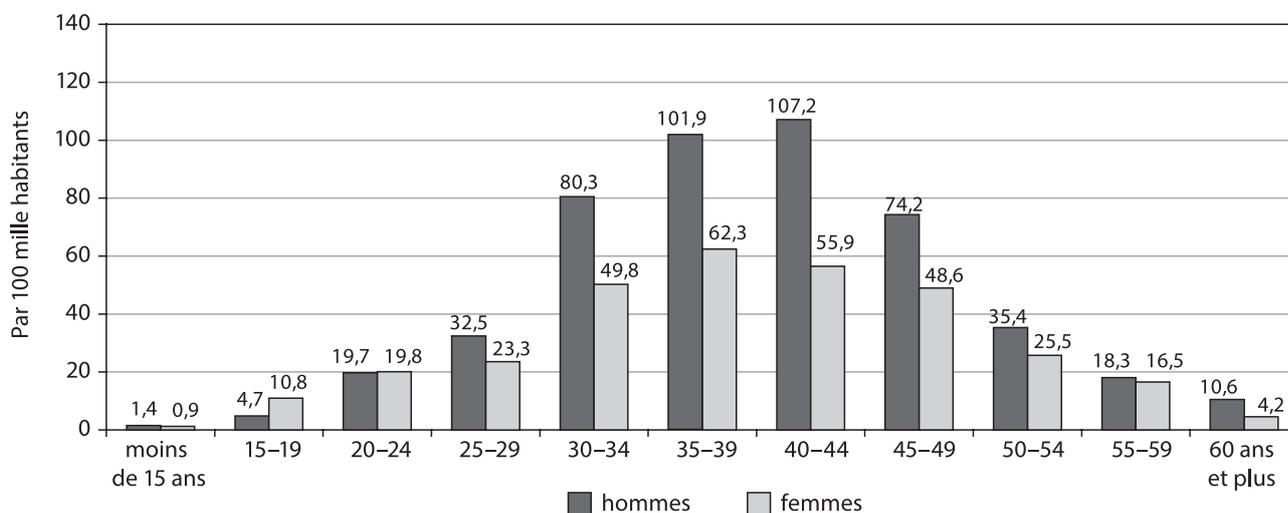


Figure 75. Répartition de l'incidence de l'infection par le VIH par catégories d'âge et sexe dans le District fédéral Nord-Ouest en 2021

territoire du District fédéral Nord-Ouest (Fig. 77). En analysant séparément la situation dans les oblasts d'Arkhangelsk et de Vologda on peut remarquer que la transmission du virus s'y faisait à peu près avec la même fréquence pendant l'introduction i/v des drogues et lors des contacts hétérosexuels.

En 2021 la prévalence du VIH parmi les consommateurs de drogues injectables, enregistrés dans les services de toxicomanie sur les différents territoires du District fédéral Nord-Ouest, a fait 93,1 par 100 mille habitants (109,5% en Fédération de Russie). Le taux de consommateurs de drogues infectés par le VIH, excédant celui moyen du District (36,9%), a été enregistré dans l'oblast de Kaliningrad (50,4%), à Saint-Petersbourg (45,4%) et dans l'oblast de Léningrad (40,0%).

Tout comme pour l'ensemble de la Fédération de Russie, au cours des cinq dernières années d'observation de l'épidémie de l'infection par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest on constate le poids spécifique élevé stable du groupe des homosexuels qui a fait 4,5% en 2021 (5,0% en 2020, 4,1% en 2019, 3,8% en 2018 et 1,2% en 2012). Parmi les différents territoires le taux obtenu pour le groupe des homosexuels à Saint-Petersbourg s'est avéré plus élevé que la moyenne du District fédéral Nord-Ouest (13,1% en 2021, 12,1% en 2020, 7,8% en 2019) (Fig. 78).

L'analyse de répartition des cas de l'infection par le VIH selon les facteurs de risque séparément pour les hommes et les femmes a démontré que la transmission de l'agent

pathogène dans les contacts hétérosexuels reste dominante chez les femmes (Fig. 79).

En 2021 chez les femmes infectées par le VIH la voie sexuelle comme principal facteur du risque de contamination a été enregistrée en 85,3% (45,4% en 2005). En 2021 chez les hommes la voie sexuelle comme facteur du risque de contamination a été établie dans 56,5% de cas (13,5% en 2005) et l'introduction intraveineuse des drogues — dans 35,2% de cas.

Dans la répartition selon le statut social les cas d'infection par le VIH, détectés en 2021, ont pu être classés de manière suivante: 25,8% — sans-emploi, 29,8% — ouvriers, 10,4% — employés, 9,7% — personnes se trouvant dans des lieux de détention, 0,4% — étudiants et élèves des collèges et écoles de formation professionnelle, 0,2% — militaires. Dans 23,2% de cas le statut social des personnes infectées par le VIH était inconnu (Fig. 80). Le tableau de l'évolution pluriannuelle trahit une tendance stable d'implication au processus épidémique des patients socialement aisés, infectés par le VIH.

Du fait de détection et de demande d'aide médicale tardives, de même que d'augmentation du nombre de malades atteints des maladies concomitantes, le nombre de décès des patients infectés par le VIH, y compris de ceux diagnostiqués «SIDA» dans le District fédéral Nord-Ouest reste sur un niveau suffisamment élevé (Fig. 81).

En 2021 sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest ont décédé pour différentes causes sans lien direct avec l'in-

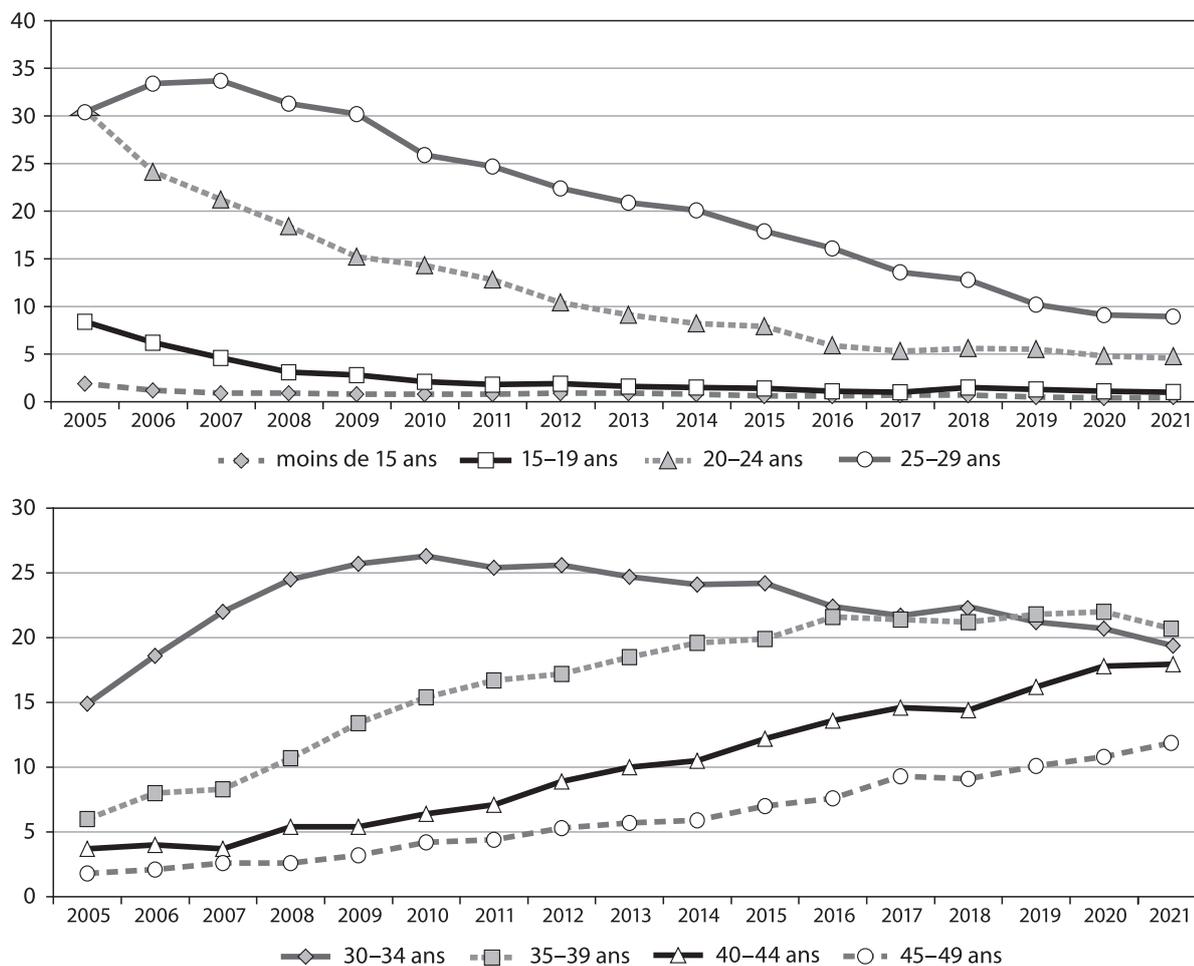


Figure 76. Evolution de la répartition des personnes infectées par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest par catégories d'âge, 2005-2021

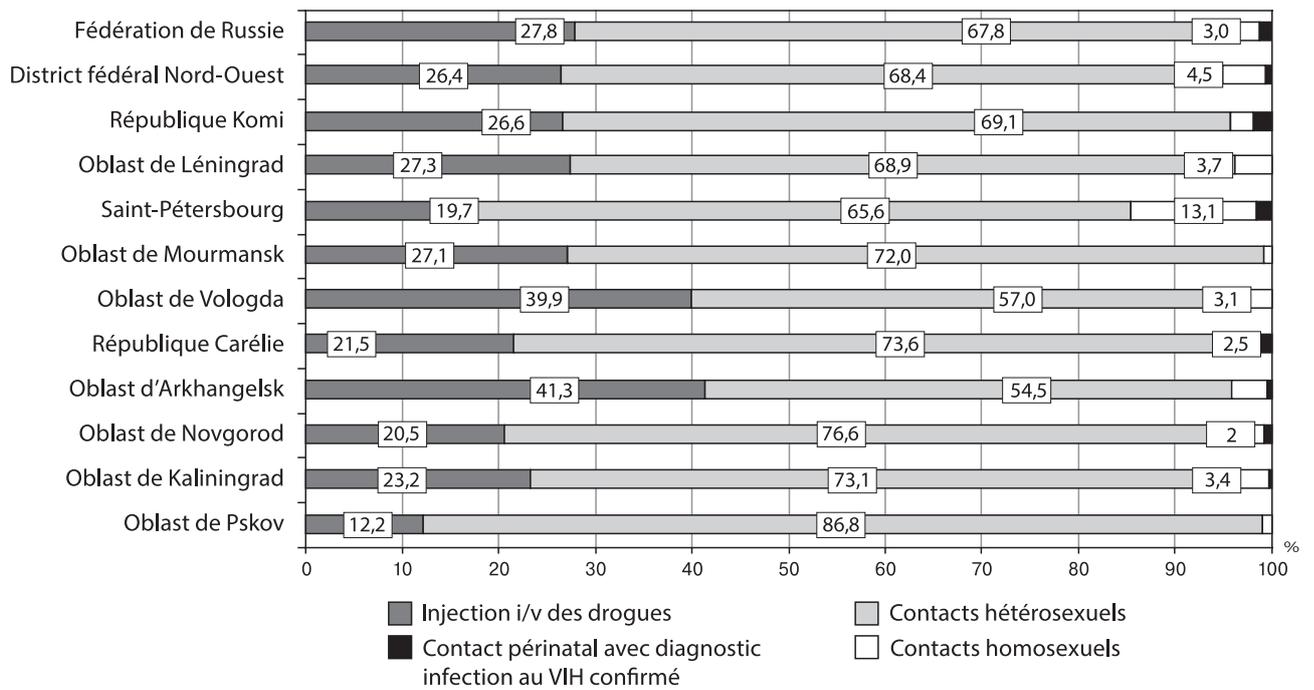


Figure 77. Répartition des personnes infectées par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest selon les facteurs de risque de contamination (sans tenir compte des cas où ces facteurs n'étaient pas connus) par différents territoires du District en 2021

fection par le VIH 1752 personnes infectées (1569 en 2020, 1554 en 2019, 1501 en 2018, 1490 en 2017 et 1252 en 2016). Dans la même année ont été enregistrés 748 cas de décès avec le diagnostic «SIDA» (755 en 2020, 908 en 2019, 919 en 2018, 1039 en 2017 et 1328 en 2016). Les causes directes de décès des malades au stade du SIDA étaient essentiellement la tuberculose (50%), les pneumonies, les lymphomes et les méningo-encéphalites. Depuis le début d'enregistrement de l'infection par le VIH (de 1987 à 2021) au total ont décédé 36 722 personnes infectées au VIH, dont 13 049 — diagnostiquées «SIDA».

La participation active des femmes au processus épidémique a contribué à l'accroissement du nombre d'enfants nés des mères infectées par le VIH. Dans l'année en cours s'est profilée la tendance à l'augmentation du nombre d'enfants nés des mères infectées par le VIH et enfants avec le diagnostic confirmé «Infection par le VIH» (Fig. 82). Depuis le début d'enregistrement de l'infection par le VIH en 1987 dans le District fédéral Nord-Ouest 21 803 enfants

avaient le contact périnatal avec cette infection. A la fin de l'année 2021 le nombre global d'enfants au diagnostic confirmé «infection par le VIH» suite à la transmission périnatale a constitué 1023. Il convient de remarquer que plus de la moitié d'enfants diagnostiqués «infection par le VIH» en 2021 étaient résidents des républiques Carélie et Komi. Dans le District fédéral Nord-Ouest la contamination périnatale des enfants a diminué de 25% à 1,1% avec les variations selon les territoires particuliers entre 0 et à 8,9%.

La prévention de la transmission du VIH de mère à l'enfant par la chimioprophylaxie triphasée est restée au même niveau suffisamment élevé. En 2021 le cours complet de la chimioprophylaxie triphasée de transmission du VIH de mère à l'enfant a été obtenu par 90,1% de couples «mère-enfant» contre 88,9% en 2018 et 72,5% en 2006. Dans le District fédéral Nord-Ouest la plus faible valeur de ce taux a été observée en République Carélie (30,8%), dans l'oblast de Vologda (81,8%) et en République Komi (84,5%).

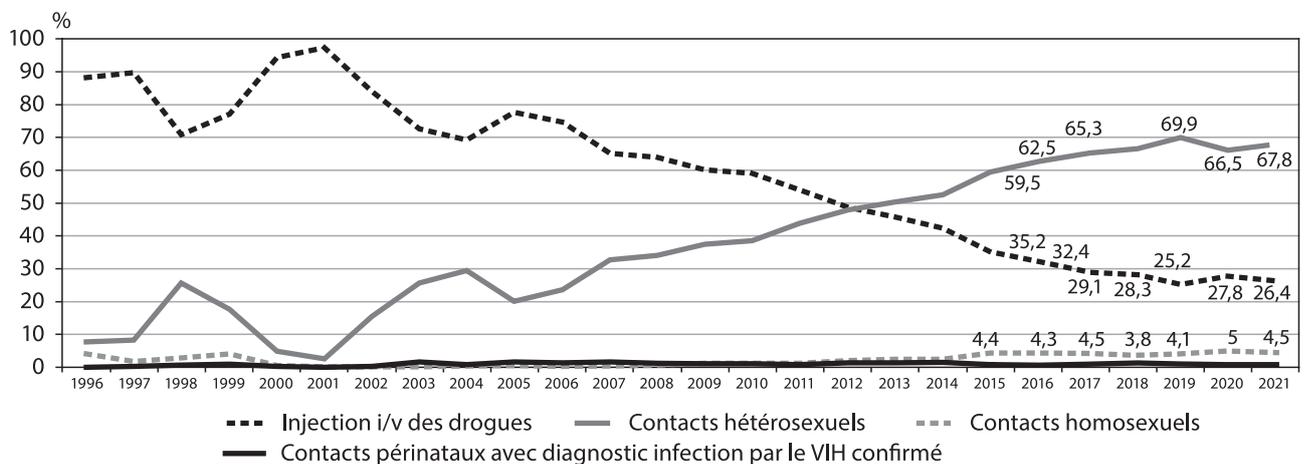


Figure 78. Répartitions des cas de l'infection par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest selon les facteurs du risque de contamination de 1996 à 2021 (sans tenir compte des cas où ces facteurs n'étaient pas connus)

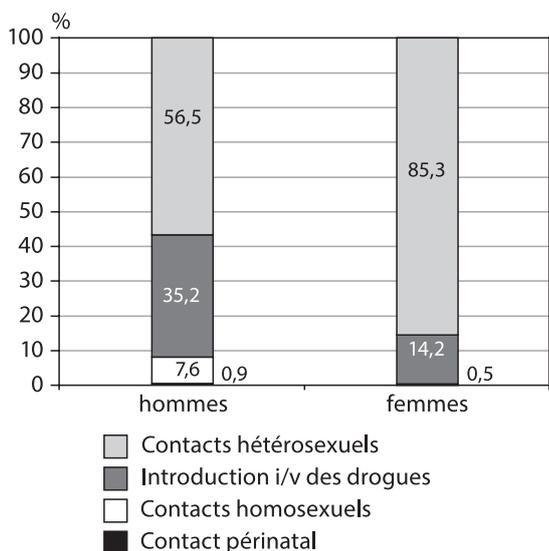


Figure 79. Voies d'infection par le VIH prioritaires pour hommes et femmes dans le District fédéral Nord-Ouest en 2021

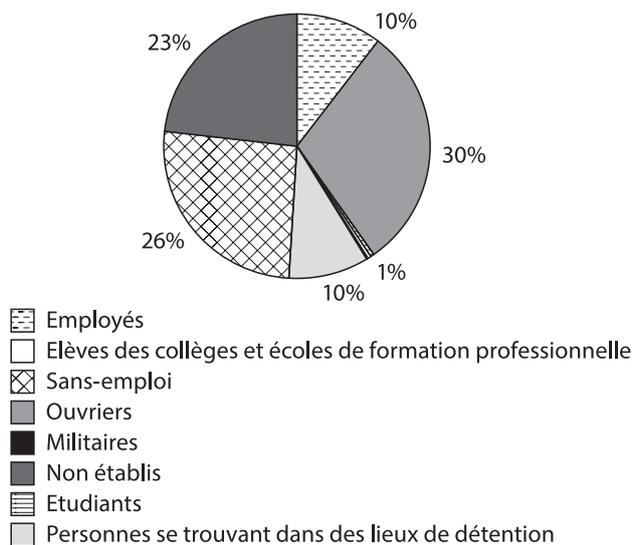


Figure 80. Statut social des personnes résidant dans le District fédéral Nord-Ouest au moment de détection de l'infection par le VIH chez elles (2021)

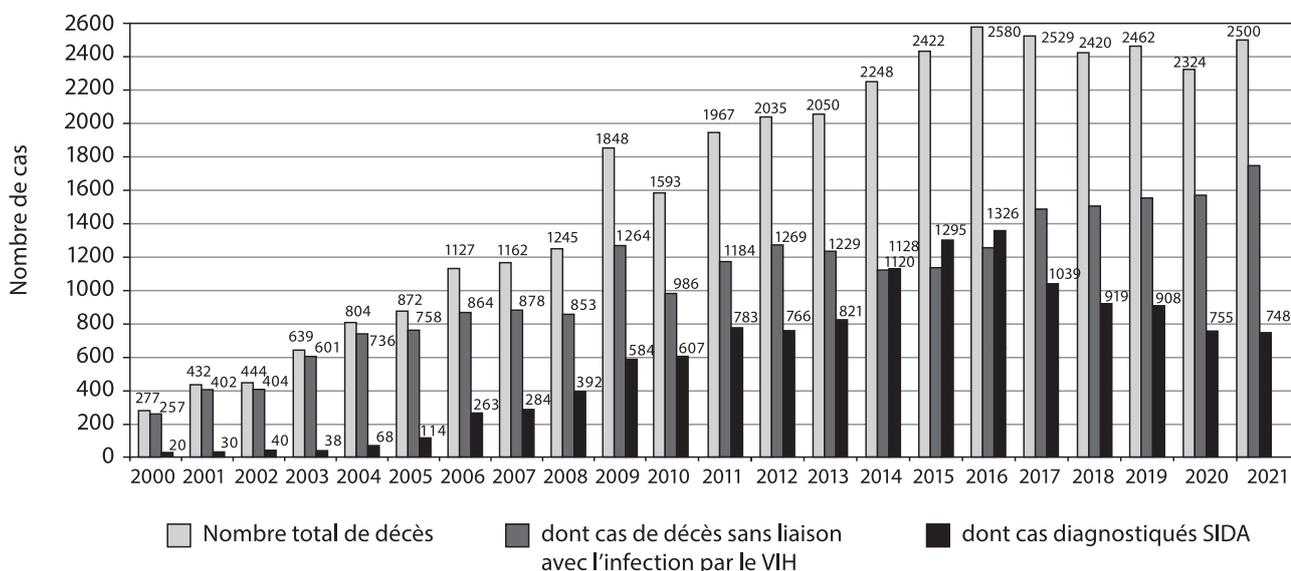


Figure 81. Enregistrement des cas de décès des personnes infectées par le VIH et des malades du SIDA sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest, 2000–2021

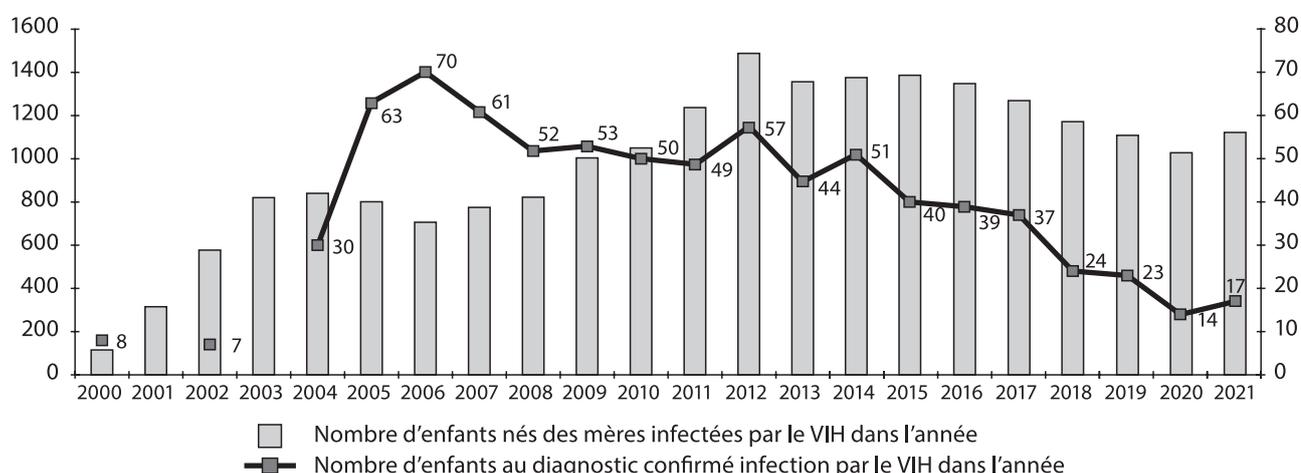


Figure 82. Enfants nés des mères infectées par le VIH sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest, 2000–2021

Chaque année dans le District fédéral Nord-Ouest augmente le nombre de personnes infectées par le VIH, surveillées au dispensaires et fichées aux Centres pour la prévention et la lutte contre le SIDA. A la fin de l'année globalement dans 11 Centres territoriaux du SIDA ont suivi leur cours de surveillance de dispensaire 71 732 personnes infectées par le VIH, ce qui représente 85,6% du nombre total de personnes passibles de surveillance et 61,6% de ceux qui vivent avec l'infection par le VIH (68,6% en Fédération de Russie). Une personne sur 10 ou 11 du nombre de personnes détectées étant hors de l'observation médicale. Ce taux a une tendance à la baisse, mais il faut tenir compte du fait qu'une grande partie de malades ignorent encore leur diagnostic et que globalement leur nombre est comparable à celui des personnes dispensarisées.

Chez 28,6% de personnes surveillées l'infection par le VIH était au 3-ème stade subclinique (latent). Chez 70,1% de patients a été diagnostiqué le stade des expressions cliniques secondaires: 4A, 4B, 4C (66,7% en 2020, 63,6% en 2019, 61,1% en 2018, 61,1% en 2017 et 66,3% en 2016) (Fig. 83).

En 2021 55 372 malades atteints par l'infection au VIH ont obtenu le traitement thérapeutique antirétroviral spécifique (en 2020 ils étaient au nombre de 51 177, en 2019 — 48 719, en 2018 — 41 081, en 2017 — 34 180 et 2016 — 29 816), ce qui représente 77,2% de tous les patients soumis à la surveillance de dispensaire (82,2% en Fédération de Russie) et 47,6% du nombre de toutes les personnes diagnostiquées infection par le VIH (56,4% en Fédération de Russie).

Dans les établissements soumis à la haute autorité du Système fédéral d'exécution de peine au 31.12.2021 4139 détenus infectés par le VIH obtenaient le traitement thérapeutique antirétroviral (3821 en 2020, 2944 en 2019, 2210 en 2018, 2900 en 2017 et 2614 en 2016).

En 2021 le Centre régional du District fédéral Nord-Ouest pour la prévention et la lutte contre le SIDA a mené une enquête réitérée auprès de 54 médecins infectiologues (la première enquête auprès de 74 médecins étant menée en 2018) pour étudier les conditions de travail dans les centres territoriaux du SIDA et la signification de certains facteurs particuliers de transformation de l'épidémie de l'in-

fection par le VIH en formes sévères et comorbides des affections. La confrontation des données obtenues permet de remarquer l'absence de changements significatifs dans la notation des causes où aux premiers rangs figuraient toujours: détection de l'infection par le VIH et commencement de la thérapie antirétrovirale tardives, faible adhérence des malades à la thérapie antirétrovirale combinée avec sa couverture insuffisante, manque de cadres médicaux qualifiés pour assurer le cycle complet des opérations de diagnostic, contrôle médical et traitement, faible accessibilité des organismes médicaux spécialisés, choix et qualité insuffisants des thérapies antirétrovirales. Les trois premières causes sont les plus visibles cliniquement pour la raison de l'accroissement du nombre de malades en stades avancés de l'infection par le VIH.

L'opinion des cadres médicaux relative aux priorités de financement des différents domaines de leur activité n'a pas non plus beaucoup changé. Restent d'actualité les thèmes de la couverture des malades par la thérapie antirétrovirale et de l'organisation du screening. Ont quelque peu perdu leur acuité le problème de la hausse du personnel proportionnellement à la charge de travail et celui des nouveaux produits antirétroviraux. Evaluant les résultats et la dispersion des données de départ dans certaines rubriques de la nouvelle enquête comparées à celles d'il y a quatre ans, on peut arriver aux conclusions suivantes:

- l'évaluation faite par les acteurs du processus thérapeutique est identique à la révélation des points vulnérables dans l'organisation du service de la thérapie antirétrovirale des malades atteints de l'infection par le VIH;
- il existe des disparités dans les conditions de travail et l'approvisionnement suivant les différentes régions;
- les opinions sur l'importance des causes diffèrent en fonction de la perception des événements, points de vue et priorités.

Laboratoire d'immunologie et virologie de l'infection par le VIH

Au laboratoire d'immunologie et virologie de l'infection par le VIH on poursuit des recherches relatives au VIH mais aussi aux hépatites virales, y compris dans le cadre des

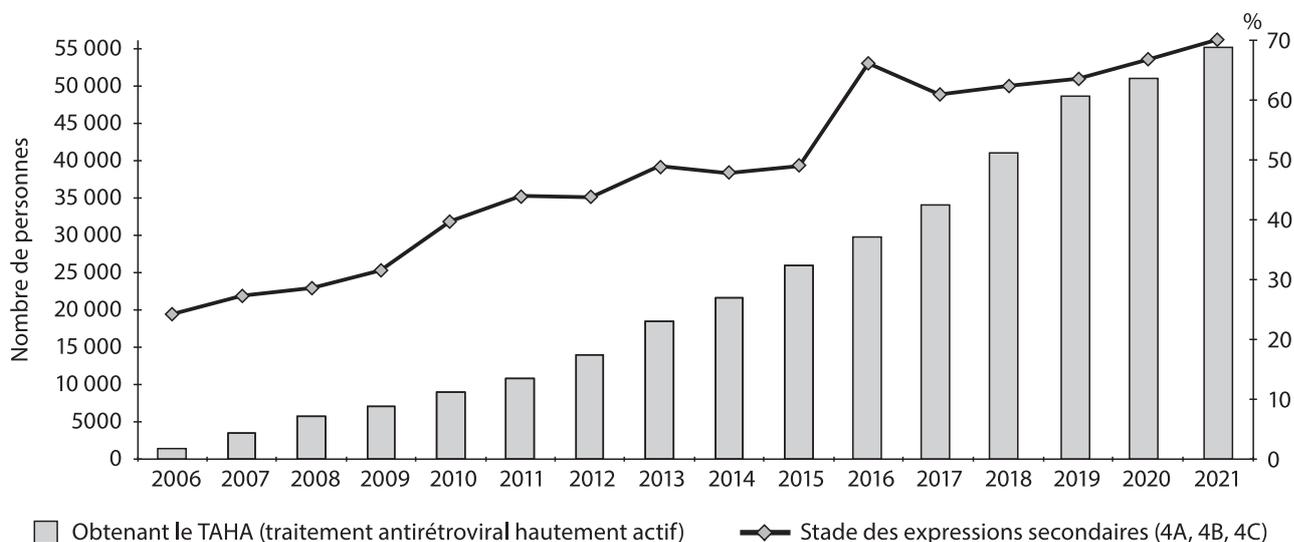


Figure 83. Nombre de patients infectés par le VIH, obtenant le TAHA, et la proportion des patients aux stades sévères de la maladie pendant la période de 2006 à 2021

projets internationaux. En dehors de cela les chercheurs du laboratoire étudient le statut immunitaire des résidents adultes et nouveaux nés du District fédéral Nord-Ouest, de même que les particularités génétiques relatives au développement de certaines immunodéficiences primaires.

Ont été étudiés les isolats du VIH obtenus de 643 résidents du District fédéral Nord-Ouest manifestant l'inefficacité virologique de la thérapie antirétrovirale. Le schéma habituel d'une telle thérapie (pratiquée dans 84,22% de cas) inclue deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) et un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI). Moins fréquents (15,78%) sont les schémas comprenant les inhibiteurs de la protéase (IP). La définition des génotypes y est effectuée par deux méthodes de typage — analyse phylogénétique et analyse des séquences avec utilisation du programme «REGA HIV-1 Subtyping Tool v.3.0». Dans les conditions de la domination du sous-type A6 du VIH pathogénique pour la Russie (71,86%), on y rencontre aussi en circulation une forme recombinante CRF03_AB (13,13%). D'autres génotypes du VIH sont représentés moins fréquemment, détectés essentiellement dans l'oblast de Kaliningrad. Selon les données de l'analyse chez 72,05% de patients a été révélée au moins une mutation significative due à la résistance du sous-type correspondant du virus aux produits antirétroviraux. Nous avons révélé au total 140 différentes mutations conditionnées par la pharmacorésistance (75 INTI, 65 INNTI). Dans la grande majorité des isolats étudiés (60,98%) on a rencontré les mutations de la pharmacorésistance aux produits INTI + INNTI. Dans 3,94% de cas a été révélée la résistance multidrogue à trois classes de produits en même temps. L'analyse des combinaisons de mutations stables dans les isolats étudiés a révélé les motifs des mutations de résistance aux analogues de la thymidine (TAM): TAM-1 (3,94%) et TAM-2 (2,44%). On a également observé une combinaison stable des mutations différentes de TAM: L74V + Y115F (8,82%). D'autre part ont été révélées les combinaisons stables des mutations associées à la résistance aux INNTI: K101E + G190S (17,82%), K103N (18,20%) и K103N + V108I (8,26%).

Ont été analysés 138 échantillons de sang obtenus des personnes résidentes dans l'oblast de Léningrad, infectées par le VIH et manifestant l'inefficacité de la thérapie antirétrovirale. Il a été démontrée la répartition suivante des sous-types du VIH-1: prédominance du sous-type A6 typique pour la Russie (98%), cas unitaires du sous-type B (1%) et du recombinant entre la forme recombinante circulante CRF_03AB et le sous-type A1 (1%). Selon les résultats de l'analyse chez 96% de patients a été révélée au moins une mutation significative associée à la pharmacorésistance du sous-sous-type correspondant du virus. Comparée aux données de 2012 relatives à Saint-Petersbourg, la fréquence d'incidence des mutations de la pharmacorésistance du VIH-1 a augmenté de plus de 3 fois, de 30 à 95%. Au total nous avons détecté 105 différentes mutations de la pharmacorésistance dans 35 positions du gène *pol* VIH-1. Dans la plupart des cas (89%) ces mutations provoquent la pharmacorésistance aux INTI (43%) et aux INNTI (47%). La plus petite part des mutations (11%) a été celle associée à la résistance aux IP. Dans la plupart des cas révélés (94%) de la pharmacorésistance les isolats analysés contenaient 2 et plus mutations. Cela étant le virus chez ces patients le plus souvent est résistant à 2 classes de produits antirétroviraux (73%) et,

parfois, à 3 classes en même temps (8%). Le premier rang pour la prévalence revient à la mutation M184V (77%), le deuxième — à la mutation Q151M (51%), associée à la pharmacorésistance à plusieurs INTI en même temps. Ce faisant cette mutation n'a jamais été détectée en 2012. En 2012 le troisième rang revenait aux mutations G190S (47%) et K103N (13%) associées à la pharmacorésistance du virus aux INNTI. Dans notre étude le troisième rang revient aux mutations dans la 101-ème position (47%) associées également à la pharmacorésistance aux INNTI. Parmi les mutations de la pharmacorésistance aux IP dans tous les cas on rencontrait la mutation principale M46I/L et dans 3 cas — la mutation minoritaire L89T.

L'analyse de 162 échantillons de sang obtenus des personnes, résidents de l'oblast de Kaliningrad, infectées au VIH et faisant preuve d'inefficacité virologique de la thérapie antirétrovirale, a démontré la domination des formes recombinantes entre les sous-types A et B (74%) dont la plus fréquente a été le recombinant entre CRF03_AB et sous-type A (33,95%). Un peu moins fréquente est la forme recombinante circulante CRF03_AB-like (25,31%), mais l'apport des sous-types purs dans la formation de la forme recombinante donnée n'est pas encore clair jusqu'à la fin. La génovariation A6, typique pour la Russie, a été révélée dans 16,67% de cas. Les sous-types du VIH A3, B, G, CRF02_AG, de même que le recombinant entre les sous-types K et J, moins ou non emblématiques pour le pays, ont été détectés en nombre insignifiant. En dehors de l'analyse génotypique il a été effectuée une étude de décelabilité des mutations associées à la pharmacorésistance dans la région donnée. Ont été étudiées les souches obtenues aussi bien des patients, manifestant l'inefficacité de la thérapie antirétrovirale (n = 107), que de ceux dont la primo infection venait d'être révélée (n = 55). Une pharmacorésistance primaire n'a été décelée qu'en deux cas (3,64%), ce pourquoi l'analyse ultérieure réunit tous les patients ayant des mutations révélées de résistance aux médicaments. On a rencontré au total 80 mutations différentes associées à la pharmacorésistance, dont la majeure partie sont des mutations de la pharmacorésistance aux inhibiteurs de la transcriptase inverse, y compris aux INTI — 31 substitution (38,75%) et aux INNTI — 35 mutations (43,75%). On trouve moins de variété des mutations dans les substitutions associées à la pharmacorésistance aux IP — 14 (17,50%). Chez 96 patients (59,26%) ont été révélées les souches du VIH-1 avec au moins une mutation associée à la pharmacorésistance aux produits antirétroviraux. Le plus souvent on rencontrait des mutations de la pharmacorésistance aux inhibiteurs de la transcriptase inverse. Dans 13 cas on a trouvé des mutations de la pharmacorésistance aux INTI, dans 4 cas — aux INNTI et dans 66 cas — aux INTI + INNTI. D'autre part chez 13 patients ont été révélées les mutations de la pharmacorésistance aux IP: chez 10 — IP + INTI et chez 3 — IP + INTI + INNTI. L'étude des profils des mutations de la pharmacorésistance dans les souches obtenues a permis de révéler le lien entre les substitutions K101E + G190A/S, étant précisé que cette combinaison se retrouve essentiellement sans la mutation K103N qui est la plus courante. A été révélée également la subordination de la substitution par l'alanine (A) ou la sérine (S) dans la 190-ème position au sous-type du virus. La substitution 190A ne s'est rencontrée que dans les recombinants entre les sous-types A et B, et la mutation 190S — essentiellement dans les souches du sous-type A6 (dans cinq cas sur six).

Sur le fondement de l'analyse de la séquence nucléotidique de l'ance V3 du gène env a été défini le tropisme VIH chez 76 patients résidents de l'oblast d'Arkhangelsk manifestant l'inefficacité virologique de la thérapie antirétrovirale. Dans la plupart des cas (43,4%) a été utilisé 1 schéma de la thérapie antirétrovirale, dans 22,4% de cas — 3 schémas. Deux groupes de 11,8% de patients chacun utilisaient 2 et 4 schémas. 10,5% utilisaient 5 schémas de la thérapie antirétrovirale. Cependant le temps depuis la révélation du VIH jusqu'au commencement de la thérapie antirétrovirale variait de 0 à 12 ans pour constituer la moyenne de 3,48±3,47 ans, la durée générale de la thérapie, tous schémas confondus, étant de 1 à 13 ans (en moyenne 3,64±2,36 ans). Dans le groupe examiné dominait le virus du sous-type A sous-sous-type A6 (89,5%) contre le sous-type B (9,2%) avec un seul cas (1,3%) révélé de la variante CRF103_AB. Le résultat d'analyse de répartition des échantillons dans le groupe examiné par affinités est présenté au Tabl. 23.

Tandis que parmi les souches du sous-type B au moins 57% ont été identifiées comme variants R5X4/X4-tropes, parmi les VIH du sous-type A6, même avec le niveau élevé FRP, la fréquence des échantillons R5X4/X4-tropes n'a que peu excédé 22%. Ainsi a été démontré la tendance conformément à laquelle les souches du sous-type A6 ont démontré essentiellement le R5-tropisme même avec le FPR plus élevé. Ainsi a été démontrée la tendance selon laquelle les souches du sous-type A6 ont fait preuve essentiellement du tropisme R5, même avec le niveau FPR plus élevé. Afin de définir les virus X4-tropes on a effectué une analyse complémentaire avec le niveau FPR = 5% puisque, selon plusieurs recherches, les patients avec FPR ≤ 5% sont infectés par les virus X4, chez les patients avec FPR ≥ 20% on peut pronostiquer la présence du virus R5, et les patients, ayant les valeurs FPR > 5% et < 20%, sont essentiellement infectés par le virus R5X4 dual-trope. Parmi les souches étudiées nous n'avons pas détecté les échantillons avec FRP ≤ 5%, c'est-à-dire X4 — tropes, sans égard du sous-type du virus. Pourtant il convient de remarquer que deux souches du sous-type B (qui constituent 28,57% du sous-type VIH B dans le groupe) peuvent tout de même être classées parmi les véritables souches X4-tropes selon la règle 11/25, c'est-à-dire selon la présence de l'acide aminé positivement chargé dans les positions 11 et/ou 25 de l'anse V3. La prévalence du R5-tropisme du virus parmi les patients infectés par le VIH du sous-type A6 témoigne également en faveur de la spécificité génotypique du tropisme corécepteur. Notons également que la prédominance du CCR5-tropisme a été démontrée auparavant pour le VIH du sous-type A1, et on pourrait supposer qu'une faible fréquence de l'incidence des virus non-R5-tropes sert d'un trait distinctif au sous-type A. Il a été ef-

fectuée une évaluation de la répartition de prévalence des restes d'acides aminés de la séquence de V3-région dans le groupe examiné. Ont été démontrées les différences authentiques entre les souches R5-tropes et R5X4/X4-tropes du sous-type A6 pour les positions 18 ($\chi^2 = 7,616$, $p = 0,0058$), 21 ($\chi^2 = 7,281$, $p = 0,007$), 24 ($\chi^2 = 5,587$, $p = 0,0181$), 34 ($\chi^2 = 5,144$, $p = 0,0233$). Parmi les souches R5X4/X4-tropes du sous-type A6 ont été représentées des substitutions aminées dans les positions 6, 19, 21, 26, 29, 30 qui n'étaient pas détectées chez les souches R5-tropes A6. A remarquer que dans les positions 6 et 21 ont apparus les acides aminés positivement chargés K et H respectivement. D'autre part a été observée la tendance à la prévalence élevée des substitutions par les acides aminés positivement chargés dans les positions 10, 18, 32 et 34. Remarquons qu'il a été démontré antérieurement: parmi les souches R5-tropes, résistantes au maraviroc, les substitutions les plus fréquentes ont eu lieu dans les positions 10, 13, 14, 18 et 25. Dans ces positions les substitutions les plus répandues ont été 10R, 13H/P, 14I/M, 18R et 25D, dont une partie est présentée aussi dans notre étude. En position 14 du groupe examiné dans toutes les séquences étudiées est représenté l'isoleucine et la variante 25D est présentée aussi bien chez les souches R5X4/X4-tropes que chez la majorité des souches R5-tropes. D'autre part, n'ont pas été révélés les cas de 13H/P, ni présentés les substitutions 10R. Pourtant chez 13,5% des souches R-tropes et chez 26,7% des souches R5X4/X4-tropes sont indiquées les substitutions 10K. La substitution 18R a été aussi représentée chez 26,67% des souches R5X4/X4-tropes et seulement chez 3,77% des souches R5-tropes. Les résultats obtenus confirment le changement prééminent du tropisme du VIH (de R5 à R5X4/X4) s'opérant au fil du temps dans les virus du sous-type B parmi les patients de l'oblast d'Arkhangelsk, manifestant l'inefficacité virologique de la thérapie antirétrovirale. Il a été pourtant démontrée une représentation beaucoup plus faible des variants VIH R5X4/X4-tropes chez les personnes depuis longtemps infectées au virus du sous-type A6 en comparaison avec le virus du sous-type B. On peut supposer que l'évolution de changement du tropisme VIH dépend du sous-type du virus. La haute fréquence de prévalence de certaines mutations, décrites auparavant comme éventuellement dues à la résistance au maraviroc et aux produits semblables, peut témoigner en faveur du polymorphisme naturel, typique pour le sous-type A6 n'étant pas en corrélation avec la résistance aux antagonistes du corécepteur CCR5.

Parmi les orientations prioritaires des travaux du laboratoire on compte aussi la détection des marqueurs des virus de l'hépatite B (HVB), C (HVC) et D (HVD) dans les différents groupes, de même que l'analyse moléculaire génétique des isolats des virus indiqués.

Tableau 23. Répartition des souches VIH dans le groupe examiné par affinités avec utilisation du programme Ceno2pheno[coreceptor] aux différents niveaux d'écrêtage des résultats faussement positifs

Sous-type	FPR 10%		FPR 20%	
	R5	R5X4/X4	R5	R5X4/X4
A6	62 (91,18%)	6 (8,82%)	53 (77,94%)	15 (22,06%)
B	3 (42,85%)	4 (57,15%)	1 (14,28%)	6 (85,72%)
CRF03_AB	1 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
χ^2 p value	0,0014		0,0013	
Total	66 (86,84%)	10 (13,16%)	55 (72,37%)	21 (27,63%)

A été élaboré le procédé de décellement de l'ADN de l'HVB dans le matériel biologique au cas d'une faible charge virale sur la base du test PCR à deux étapes avec détection sur trois cibles virales en temps réel. L'HVB a été détectée par la méthode de la PCR «imbriquée». La sensibilité analytique a été vérifiée par la méthode de reproduction progressive. Selon cette méthode à la première étape a été effectuée l'amplification de l'ADN de l'HVB avec utilisation des oligonucléotides, complémentaires aux domaines de la similitude maximum de génomes des différents isolats de l'HVB flanquant le génome viral entier. A la deuxième étape, en utilisant comme matrice le produit d'amplification de la première étape, a été effectué le test PCR avec utilisation de trois paires d'oligonucléotides et de sondes nucléotidiques fluorescentes correspondantes à trois régions (gène Core, gène S et gène X) du génome viral, de même que d'une paire d'amorces et d'une sonde correspondante, complémentaires au fragment du gène humain HPRT. La sensibilité de cette méthode dans l'extraction de l'ADN à partir de 100 µl de plasma a fait 5 UI/ml, et l'obtention du cycle de seuil Ct pour un seul fluorophore peut témoigner de la présence de l'ADN de l'HVB dans l'échantillon avec la charge de moins de 5 UI/ml. Cependant la détection de l'HVB y est possible en réitérant le test PCR de l'échantillon correspondant accompagné d'extraction de l'ADN de l'HVB à partir du volume augmenté de plasma (200–1000 µl). Le procédé élaboré permet d'identifier la maladie en présence des différents sous-génotypes de l'HVB et peut être utilisé pour le diagnostic de laboratoire de l'hépatite chronique virale B (HCV) dans la population et les groupes de risque, y compris au cas de la forme HBsAg-négative de la maladie.

Pour la première fois sur le territoire de la Fédération de Russie ont été obtenus les isolats de l'HVB (sous-génotype D4) dans les échantillons du plasma sanguin de trois patients de la République du Daghestan. Tous les trois isolats faisaient partie du sérotype ayw2. Chez un patient, infecté au VIH et ayant l'HVB HBsAg-négative latente, ont été révélées les mutations de la pharmacorésistance L80V et M204I. Pour tous les trois isolats a été démontrée la haute fréquence des variants naturels polymorphes du gène Pol. Dans la région Precore/Core de tous les trois isolats ont été révélées les mutations Precore A1846T, C1858T et les mutations Core E40D, N74T, N87S, I97F. Dans la région X de tous les trois isolats ont été révélées les mutations V5L et P38S. L'analyse phylogénétique du génome complet du VHB a démontré que ses isolats sont regroupés ensemble avec l'isolat du sous-génotype D4 de l'Afrique du Sud. La même origine géographique de tous les trois patients, à partir desquels ont été obtenus les isolats indiqués, la proximité des séquences nucléotidiques des génomes complets des virus et une série de mutations et variants polymorphes similaires dans les différents gènes de tous les trois isolats témoignent en faveur d'une importation unitaire indépendante du virus avec sa propagation ultérieure. Les voies de la propagation et la fréquence de l'incidence de l'HVB D4 dans la République du Daghestan restent inconnues et nécessitent une étude ultérieure.

A été effectuée l'analyse comparée de la séroprévalence des hépatites virales chez les patients des centres d'hémodialyse à Saint-Petersbourg et à Belgrade (République de Serbie). Les anticorps anti-HC ont été révélés respectivement chez 7,5% et 11,1% de patients de Saint-Petersbourg

et de Belgrade. Dans les groupes analysés les marqueurs de l'hépatite B ont été détectés dans 92,5% et 87,1% de cas. Pourtant dans la majorité de ces cas il s'agit des anticorps vaccinaux contre l'HVB anti-HBs IgG. Ce faisant HBsAg n'a été révélé qu'en 1,1% de cas dans le groupe de la Fédération de Russie et 0,9% de cas dans le groupe de la République de Serbie respectivement. Dans le groupe des patients de Saint-Petersbourg l'ADN de l'HVB a été détecté chez les personnes HBsAg-positives, soit chez 1,1%, mais aussi chez 3 personnes HBsAg-négatives, soit chez 1,7% de patients. Ainsi l'ADN de l'HVB a été détecté chez 2,8% de personnes. Dans le groupe des patients de Belgrade l'ADN de l'HVB a été également détecté chez un malade HBsAg-positif, soit chez 0,9%, de même que chez trois personnes HBsAg-négatives, ce qui a fait 2,8%. Ainsi l'ADN de l'HVB au total a été détecté chez 3,7% de patients. Dans tous les cas révélés de l'hépatite B HBsAg-négative la charge virale de l'HVB a constitué moins de 50 UI/ml. Parmi les échantillons, obtenus des patients de Saint-Petersbourg, quatre faisaient partie du sous-génotype D2 et encore un — au génotype D3. Quatre échantillons, obtenus des malades de Belgrade, faisaient partie des différents sous-génotypes: D1, D2, D3, A2 respectivement. Ont été analysées la zone de la principale région hydrophile (Major Hydrophilic Region — MHR) et celle du déterminant «a» représentant le cluster des principaux épitopes des B-cellules situés entre les restes d'acide aminé 124 et 147 (ou 149). Dans tous les cas ont été révélées les mutations dans le région MHR, mais seulement dans les isolats HBsAg-négatifs on a révélé les mutations dans la zone des acides aminés 124–147. Les mutations P120T, R122K, A128V, Q129R, M133I, G145R sont connues comme responsables de la reconnaissance de HBsAg par les anticorps anti-HBs. En même temps les substitutions aminées P120T, Q129R, M133I, G145R s'expliquent par la résistance du virus au vaccin. Les résultats de cette étude soulignent le maintien du problème de la transmission des agents des hépatites virales par hémococontact dans les services d'hémodialyse en Fédération de Russie et en République de Serbie.

L'étude de 1400 échantillons du plasma sanguin obtenus des donneurs de sang réguliers HBsAg-négatifs du District fédéral d'Oural a révélé l'ADN de l'HVB chez 4,93% de donneurs. Parmi les échantillons anti-HBcore IgG-positifs l'ADN de l'HVB a été détecté dans 18,08% de cas, tandis que chez les personnes, ayant l'ADN de l'HVB révélé, les anti-HBcore IgG ont été signalés dans 46,38% d'échantillons. Ont été définis les 8,69% d'isolats dans lesquels ont été détectés en même temps les anticorps anti-HBs IgG et l'ADN du virus en absence des anti-HBcore IgG. Sur le fondement de l'analyse phylogénétique de 69 isolats il a été démontré que dans le groupe examiné dominait l'HVB du génotype D (94,2%), et que dans quatre cas a été révélé le génotype C (5,8%). Ceci étant parmi les patients atteints de l'HVB du génotype D la plus haute fréquence de prévalence a été enregistrée pour le sous-génotype D3 (56,92%) comparé aux sous-génotypes D2 (23,08%) et D1 (20%). Ainsi parmi les 69 échantillons, obtenus des donneurs de sang HBsAg-négatifs, les sous-génotypes de l'HVB sont représentés dans les proportions suivantes: D3 — 53,62%, D2 — 21,74%, D1 — 18,84%, C2 — 5,8%. Dans le répertoire des sous-types sérologiques des isolats obtenus dominait le sérotype ayw2 (73,91%). On y observait en moindre mesure la présence des sérotypes ayw3 (14,49%), adw3 et adr (5,8% chacun).

Ceci étant le sérotype ayw2 a été identifié pour tous les isolats du sous-génotype D1 et pour la plupart de ceux des sous-génotypes D2 et D3. Le sérotype ayw3 a été également identifié pour D2 et D3, le sérotype adw3 n'a été identifié que pour l'HVB du sous-génotype D2, et adr — pour C2. Il a été démontrée la présence des substitutions aminées dans 22 positions sur 144, ce qui a constitué le taux de 15,28%. On a révélé les variants polymorphes suivants: Y100S/L, Q101R/H, G102R, L109Q/I, I110L, G112E, T113S, T114S, T118V/A, P120S, K122R, T125M, T127P, A128V, N131T, S132Y, F134Y, A159G, Y161F, V168A. Dans tous les isolats de l'HVB du génotype C dans la région indiquée sont définies des substitutions qui n'étaient pas détectées parmi les isolats du génotype D: T126I, K160R. Dans la région de la transcriptase inverse du gène P ont été également révélés plusieurs variants polymorphes: A7V, E11G, H12L, I16T, A21S, A38G/E, R41G, Q48E, Y54H/N/D, V63I/C/G, N71K, L72R, N76T/G, S85C/L, F88S, Y89*/L, H90S, L91I, H94D, A97G, H100D, S105C, Y111N, S117Y, N118T, F122L, H124Y/N/H, H126R, T128I/N/T/A, M129L, Q130P, D134N, Y135S, N139D, L145M, K154Q, L164M, R167G, L180M, T184A, I187L, M204V, S213T, V214A, H216Q, L229F, A223S, N248H, C256S, Y257H, D263E/A, I266V/R, Q267H/L, E271D, V278I, I282V, L293H, F300L, M309K, S317A/F/S, K318R, A329T, N337T. Ceci dit, chez la plupart d'examinés (21,74%) on a révélé sept mutations pour chacun dans la région RT, chez 15,94% — six mutations, chez 11,59% — huit mutations, chez 10,14% — trois ou quatre mutations, chez 8,7% — cinq mutations, chez 7,25% — neuf mutations et, enfin, chez 11,59% de donneurs — dix mutations et plus. Dans trois cas (4,35%) ont été déterminées les mutations de pharmacorésistance du virus — M204V, L180M, T184A. L'analyse de la région preCore a révélé les variants polymorphes W28L/S, G29D/A. La fréquence de prévalence de W28L/S a fait le taux de 13,04%, de G29D/A — 23,19%, de deux mutations simultanément — 5,8%. Dans la région Core même sont définies trente-neuf positions dans lesquelles se sont opérées les substitutions aminées: T12S, S21T/H/A/Q, F24Y, V27I, D29Q, A34T, E40D/Q, A41P, P45H, L55I, E64D, M66L/R, T67N/S, A69V/S, N74G/V, E77D, P79Q, A80I/T, N87S, N92H, I97F/L, I105V, T109S, E113Q/D, L116V/I, P130A, A131T, P135Q, N136D, T142L, L143I, T147A, V149I, R151P, D153*, R154*, S157T, Q179K, S183P. La haute fréquence de prévalence de l'HB HBsAg négative parmi les donneurs de sang témoigne non seulement d'une vaste propagation de l'hépatite B latente dans la population, mais aussi de l'insuffisance des méthodes d'analyse universellement admises et/ou de sensibilité des tests diagnostiques pour la détection de l'hépatite B chronique nécessitant l'attention et les mesures plus efficaces pour sécuriser la transfusion sanguine. L'hypervariabilité du génome de virus détectée sert à nous convaincre en la nécessité de poursuivre l'étude des caractéristiques de l'agent pathogène et de la réponse immunitaire de l'hôte lors de l'évolution latente de l'hépatite virale B.

Dans le cadre d'étude de la pharmacorésistance du VHC ont été examinés trois patients, atteints de l'hépatite chronique virale C, qui n'ont pas formulé la réponse à la cure combinée de deux produits: sofosbuvir + daclatasvir. Au moyen de séquençage direct pour tous les trois échantillons ont été obtenues les séquences nucléotidiques des gènes cibles NS3, NS5A, NS5B de qualité satisfaisante de la longueur respective de 800, 750 et 600 p.n. Le génotype de tous les isolats est 1b. En évaluant les mutations

de la pharmacorésistance, chez tous les patients ont été révélées les mutations de pharmacorésistance, y compris la mutation Y93H dans la région NS5A conditionnant la résistance du virus aux produits de daclatasvir faisant partie des schémas de thérapie, mais aussi à elbasvir, ledipasvir, ombitasvir, velpatasvir qui n'en font pas partie. La mutation L31V au fragment NS5A provoque une baisse de sensibilité à daclatasvir et ombitasvir. Par ailleurs aux fragments NS5B et NS3 ont été révélées les mutations L159F et Y56F respectivement. La substitution nucléotidique L159F induit une baisse de sensibilité à sofosbuvir, et la substitution Y56F au fragment NS3 sert de cause de baisse de sensibilité à grazoprevir. A tous les patients a été administré le traitement étant la combinaison de glecaprevir (inhibiteur de NS3) + pibrentasvir (inhibiteur de NS5A), les mutations à l'égard de ces produits n'étant jamais été signalées. Les patients 2 et 3 ont formulé les RVS12 et RVS24 selon ce schéma de thérapie. Le patient 1 a décidé de ne pas suivre les recommandations et a cessé la cure.

Par la suite pour déterminer la fréquence de prévalence des mutations primaires de la pharmacothérapie de l'HVC ont été étudiés les isolats du virus obtenus de 42 malades de l'hépatite chronique C résidant sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest et n'obtenant pas la thérapie par les produits antiviraux d'action directe. La charge virale de ces malades variait de 100 à $1,8 \times 10^8$ UI/ml, etant moindre de 300 UI/ml chez 33% d'eux, ce qui ne permettait pas de poursuivre l'analyse. Pour ce qui est du génotype de l'HVC, 19 patients (68%) étaient infectées par le génotype de l'HVC 1 (deux personnes par 1a et 17 personnes par 1b) et 9 patients (32%) — par le virus 3a du génotype. La séquence nucléotidique de tous les trois fragments (NS3, NS5A, NS5B) a été déterminée dans 17 échantillons. Vu une faible charge virale (moins de 2×10^3 UI/ml), dans 4 échantillons on a identifié deux fragments et dans 7 échantillons — un fragment du génome. Les mutations, dues à la résistance de l'HVC aux produits antiviraux directs, ont été détectées chez 5 patients: 1 mutation au fragment NS5A (A30K), 1 mutation au fragment NS5B (L159F) et 3 mutations au fragment NS3 (Q80K, Y56F, N174S). Dans les fragments analysés des gènes NS3, NS5A, NS5B sont fréquemment remarquables des variants polymorphes naturels. Dans les isolats étudiés on a enregistré plusieurs mutations inhabituelles, y compris dans les positions typiques pour les mutations de la pharmacorésistance: NS5A (P58S/T — 14%, A62S/F — 25%); NS5B (C316T/N — 29%, L159P — 7%, S282R — 7%); NS3 (R117Q/C — 14%, V170I — 21%, S122N — 7%, Y56F — 7%). Malheureusement l'information sur la majeure partie d'elles est absente dans les sources accessibles, ce qui souligne la nécessité de poursuivre le contrôle dynamique et l'évaluation de la signification de ces substitutions nucléotidiques. Dans notre recherche chez 18% de patients ont été détectées des mutations capables de provoquer une percée virologique aussi bien au commencement de la thérapie qu'à d'autres étapes. Il est très important d'effectuer une analyse épidémiologique du malade de l'HVC avant le commencement de la thérapie et de la médication par les produits antiviraux directs pour exclure la possibilité de transmission d'une souche résistante du virus.

Dans le cadre de l'accord de coopération scientifique avec la République de Guinée ont été effectuées plusieurs recherches communes d'évaluation du VIH et des hépatites virales dans ce pays. Ainsi ont été examinés

2616 échantillons du plasma sanguin obtenus des personnes apparemment en bonne santé résidant sur le territoire de la République de Guinée. La prévalence des marqueurs sérologiques de l'hépatite B (HB) a fait 80,77% et celle des anticorps anti-hépatite virale C (HVC) — 18%. Chez 5,12% de personnes examinées ont été détectés simultanément les marqueurs sérologiques de l'HB et l'HC. Pourtant HBsAg n'a été révélé que chez 16,01% de personnes. La détection simultanée de HBsAg et anti-HVC IgG a été enregistrée chez 2,75% d'examinés. L'évaluation de la prévalence des marqueurs sérologiques en fonction du sexe a démontré que ces marqueurs généralement se retrouvent chez 80,93% d'hommes et 80,42% de femmes. HBsAg a été révélé chez 18,61% d'hommes et 10,5% de femmes, les anticorps anti-HVC étant présents chez 19,06% d'hommes et 15,75% de femmes. L'évaluation de la prévalence des marqueurs sérologiques par catégories d'âge a révélé que dans celle des enfants de moins de 18 ans le taux de fréquence de détection des marqueurs sérologiques de l'HB était 70,43%, dans la catégorie d'âge de 18–22 ans — 54,7%, dans celle de 23–40 ans — 79,59% et dans celle de plus de 41 an — 20,35%. L'examen des échantillons au sujet de la présence de l'ADN de l'HVB a révélé le virus chez 585 personnes, soit 22,36%, y compris chez 166 personnes HBsAg-négatives. L'ARN de l'HVC a été révélé dans 58 échantillons, soit 2,2%. L'ARN de l'HVC et l'ADN de l'HVB ont été révélés simultanément chez 27 personnes, y compris 19 cas HBsAg-négatifs, qui ont constitué le taux de 1,03% du groupe examiné. Dans ce groupe dominait le génotype E de l'HVB — 75,5%, comparé à D1 — 9,39%, D2 — 4,02%, D3 — 6,37%, A2 — 4,7%. La variabilité des acides aminés dans les échantillons de l'HVB a été plus élevée dans la région PreCore/Core que dans la région PreS1/Pres2/S. Les mutations SHB ont été constatées respectivement chez 83,89%, les mutations Core — chez 94,29%, et les substitutions des acides aminés PreCore — chez 16,77% de patients.

Les antigènes/anticorps anti-VIH ont été révélés chez 239 personnes et l'ARN VIH détecté chez 58 examinés. Ont été identifiés les sous-types suivant du VIH: CRF02_AG (41,9%), A1 (29,1%), A3 (12,9%), URF A1_G (12,9%) et G (3,2%). Chez 25% de patients a été constatée au moins une mutation significative provoquant la pharmacorésistance du VIH. Les mutations constatées provoquent la résistance aux INTI et aux INNTI, sans que soit observée la résistance à l'inhibiteur de la protéase. Il y a eu un cas révélé de la résistance multiple.

L'étude de la prévalence du VIH, de l'HVB et de l'HVC, effectuée sur 305 femmes enceintes à Conakry (République de Guinée), a révélé les marqueurs sérologiques de l'HB dans 76,06% de cas. Les anticorps anti-HVC n'ont été révélés qu'en seul cas, qui a constitué le taux de 0,32%, les marqueurs du VIH étant détectés dans 3 cas (0,98%). Dans le groupe analysé la prévalence de HBsAg a été authentiquement différente entre les femmes enceintes, âgées de 13–19 ans (17,33%), et celles âgées de 20–24 ans (12,12%), $p < 0,0001$, $RR = 5,107$ avec intervalle de confiance de 95%: 2,458–10,612. L'analyse de la prévalence générale des marqueurs moléculaires biologiques, effectuée auprès des patientes, n'a pas révélé l'ARN du VIH. Chez une patiente a été révélé l'ARN de l'HVC (0,32%) tandis que la prévalence de l'ADN de l'HVB a donné le taux de 20%. Parmi les personnes HBsAg-positives l'ADN de l'HVB a été révélé chez 86,11%, ce qui a fait 10,16% du groupe entier. Parmi les per-

sonnes HBsAg-négatives l'ADN de l'HVB a été révélé chez 11,15%, ce qui a fait 9,84% du groupe entier. Remarquons que dans neuf cas l'ADN de l'HVB a été révélé en absence de tous marqueurs sérologiques, ce qui a fait 14,75%, soit 2,95% du groupe entier. L'évaluation de la prévalence des infections transmissibles au contact hématologique chez les femmes enceintes est significative pour une identification ultérieure des voies de transmission des agents pathogènes dans le but de contrôle et/ou de prévention de la contagion infectieuse. Les cas ($n = 3$) de détection de l'ADN de l'HVB avec la charge virale de plus de 200 UI/ml en absence de HBsAg et en présence des anticorps anti-HBs IgG représentent un intérêt particulier. Pour ces isolats a été effectué le séquençage des génomes entiers. Tous les trois échantillons de l'HVB appartenaient au génotype E, et dans chaque cas ont été trouvées des escape-mutations du virus qui contribuent à son évasion du diagnostic de HBsAg (mutations révélées L216*, G145A, C147T).

Ont été étudiés 250 échantillons du sang obtenu des donneurs résidant dans la ville de Conakry (République de Guinée). La prévalence des marqueurs sérologiques de l'HB dans le groupe a fait 83,2%. HBsAg a été détecté chez 16,4% d'examinés. La forte prévalence des marqueurs sérologiques de l'HB dans le groupe, témoignant du contact viral de la plupart de ses membres, confirme les données témoignant d'une vaste extension de l'agent pathogène sur le territoire du continent africain. Cette forte prévalence de HBsAg dans le groupe étudié selon toute évidence est due à ce qu'une proportion significative des personnes examinées ont été donneurs primaires (64,8%) qui donnaient leur sang intéressés de la rémunération et des tests gratuits VIH, syphilis et hépatites virales B, qui est une pratique courante en Afrique. A été démontrée la prévalence sensiblement plus grande de ce marqueur chez les hommes (19,55%) que chez les femmes (8,45%). Ceci étant le risque relatif de contamination par le virus avec la constitution de la forme HBsAg-positif de l'HVB chez les hommes est authentiquement plus élevé que chez les femmes ($RR = 2,314$ avec 95% IC: 1,018–5,251; $p = 0,0369$). La prévalence de l'ADN de l'HVB parmi les donneurs de sang a fait 30,4% (95% IC: 24,76–36,51) où 15,6% (95% IC: 11,33–20,7) reviennent aux cas de l'HB HBsAg-négative. Sur le fondement de l'analyse phylogénétique de 76 isolats de l'HVB il a été démontré que dans le groupe examiné dominaient les variants du génotype E de l'agent pathogène (85,53%) comparés au génotype A sous-génotype A3 (11,84%) et au génotype D sous-génotype D2 (2,63%). Sont particulièrement intéressants les cas de détection de l'ADN viral chez les donneurs HBsAg-négatifs en présence des anticorps anti-HBs IgG ($n = 4$) et en présence simultanée des anticorps anti-HBs IgG et anti-HBc IgG ($n = 7$), qui sont typiques pour les convalescences et témoignent de la formation de l'immunité protectrice. Dans tous ces cas la charge virale a été supérieure à 200 UI/ml. Tous ces échantillons appartenaient au génotype E; dans tous les cas ont été révélées les mutations, associées à l'hépatite chronique B HBsAg-négative (Y100C, M103I), et/ou escape-mutations, localisées dans la région MHR du gène S, contribuant à l'évasion du virus pendant le screening de diagnostic au sujet de HBsAg (L115I/E, T127P, Q129H/R, M133I/A/F, C137Y, K141E, D144E, G145A/R, C147T, R149A/D).

Dans le cadre de l'accord de coopération scientifique avec la République Socialiste du Vietnam ont été effectuées plusieurs recherches d'évaluation du danger de l'infection

au VIH et des hépatites virales dans le pays. Pour évaluer la prévalence des marqueurs viraux sérologiques et moléculaires biologiques des hépatites virales B et C ont été analysés les échantillons du plasma sanguin obtenus des habitants apparemment en bonne santé du Sud Vietnam. L'analyse de la prévalence générale des marqueurs sérologiques a démontré que parmi les personnes apparemment en bonne santé HBsAg et les anticorps anti-HVC ont été détectés respectivement chez 12,3% et 3,27% de personnes examinées. La prévalence de HBsAg chez les hommes (19,1%) excédait considérablement celle chez les femmes (5,9%), $\chi^2 = 14\,688$ c p = 0,0001, df = 1, avec le rapport calculé des chances OR = 3,751 (95% IC: 1,892–7,439). Tenant compte des tests HBsAg-positifs et HBsAg-négatifs, effectués parmi les patients apparemment en bonne santé, l'ADN de l'HVB a été détecté chez 26,95% d'examinés. L'analyse phylogénétique de l'HVB a démontré que la prévalence du sous-type B4 constitue 64,49%. Ont été révélés également les sous-types suivants: C1 — 14,95%, B2 — 9,35%, C2 — 6,54%, C3 — 0,93% et C5 — 3,74%. L'ARN de l'HVC a été détecté dans 7 échantillons, qui ont constitué le taux de 1,76%. L'analyse phylogénétique a démontré que tous les isolats de l'HVC correspondent au génotype 6, sous-type 6a.

Pour mesurer l'ampleur de la prévalence de l'HVB et de l'HVD parmi les personnes infectées au VIH on a examiné 316 habitants de la République Socialiste de Vietnam bénéficiant de la thérapie antirétrovirale. Les marqueurs sérologiques de l'HB et l'HD chez eux étaient présents dans les proportions suivantes: HBsAg — 9,17%, anti-HBs IgG — 10,44%, anti-HBcore IgG — 42,08%, anti-HVD généraux — 9,81%. Les anticorps anti-HVD étaient répartis de manière suivante: 2,53% ont été révélés dans les échantillons HBsAg-positifs (ce qui a fait 27,58% du sous-groupe) et 7,27% — dans les échantillons sans HBsAg (8,01% du sous-groupe). La prévalence de HBsAg chez les hommes de ce groupe (12,28%) excédait authentiquement celle chez les femmes (5,52%) avec le rapport calculé des chances OR = 2,398, p = 0,04 (95% IC: 1,028–5,592). A été révélée la tendance à la prévalence plus élevée de HBsAg parmi les patients âgés de 30–49 ans (10,7%) par rapport à ceux âgés de 18–29 ans (5,9%). L'ADN de l'HVB a été détecté dans 32,58% de cas y compris dans 23,41% chez les personnes HBsAg-négatives. L'ARN de l'HVD a été détecté chez 7 (24,13%) personnes HBsAg-positives et chez 16 (21,62%) personnes HBsAg-négatives, qui a fait les taux respectifs de 22,33% des personnes HVB-positives et 7,27% du groupe entier. Pour tous les 23 échantillons de VIH+HVB+HVD ont été obtenus des séquences nucléotidiques des génomes entiers de l'HVB et de l'HVD. L'analyse phylogénétique des séquences nucléotidiques de l'HVB a démontré la prédominance du génotype B (69,59%) par rapport au génotype C (30,41%). Parmi les personnes infectées au VIH dominait le sous-génotype B4 (60,89%) de l'HVB comparé à C1 (21,73%), B2 (8,7%), C2 (4,34%) et C5 (4,34%). Le sous-type sérologique de l'HVB a été identifié sur le fondement de la séquence aminée HBsAg. Le sérotype ayw1 y est représenté en 60,89%, adr — 26,07%, adw2 — 13,04%. Ceci étant le sérotype ayw1 n'est représenté que dans l'HVB sous-génotype B4, adr est représenté dans tous les HVB C1 et HVB C2, adw2 — dans l'HVB B2, mais aussi dans le seul échantillon du sous-génotype HVB C5. L'analyse phylogénétique des séquences nucléotidiques de l'HVD a démontré la prédo-

minance de l'HVD génotype 1 (78,26%) comparé au génotype 2 (21,74%). Dans notre étude est montrée la forte prévalence des marqueurs des hépatites virales parentérales aussi bien parmi les personnes apparemment en bonne santé, que parmi les habitants du Sud Vietnam infectés au VIH. Il convient de prêter une attention particulière à la prévalence de l'HB HBsAg-négative dans la région, qui témoigne de l'insuffisance des méthodes employées actuellement aussi bien pour la détection du virus, que pour la prévention de l'infection. Il est aussi évident qu'il est nécessaire d'organiser le screening périodique des malades de l'HVB au sujet de la présence de l'hépatite D en utilisant pour cela comme marqueur l'ARN de l'HVD.

Sur le fondement de l'analyse de fréquence de détection des anticorps anti-virus des hépatites A (HVA) et E (HVE) a été étudiée la prévalence des hépatites A et E dans la population locale du Sud Vietnam. Les marqueurs sérologiques des hépatites virales entérales ont été identifiés dans les échantillons du sérum sanguin des personnes adultes âgées de 18 à 65 ans et réparties en trois groupes: personnes apparemment en bonne santé (n = 397), personnes infectées par le VIH (n = 316) et patients atteints de l'hépatite virale chronique (n = 268). L'analyse de la prévalence des anti-HVA IgG effectuée sur les échantillons obtenus des personnes apparemment en bonne santé, personnes infectées par le VIH et patients atteints des hépatites virales chroniques n'a pas révélé de distinctions entre les groupes. La prévalence des anti-HVA IgG dans le groupe général (n = 981) a fait 80,1% en absence des anti-HVA IgM. La différence fréquence d'enregistrement des anti-HVA IgG due à la différence d'âge dans les groupes examinés n'a pas été révélée. La prévalence des anti-HVE IgG dans les groupes des personnes apparemment en bonne santé, malades atteints des hépatites virales chroniques et personnes infectées au VIH a été aux taux respectifs de 36,2%, 33,2% et 39,8% de cas. La prévalence des anti-HVE IgM dans ces groupes a fait respectivement 3,27%, 4,1% et 3,79%. Dans le groupe général (n = 981) les anti-HVE IgG ont été détectés dans 36,6% de cas et les anti-HVE IgM — dans 3,66%, ce qui correspond à la prévalence des anticorps anti-HVE dans les zones endémiques. A été démontrée la forte prévalence des marqueurs des hépatites virales entérales dans la population du Sud Vietnam. Il est évident que sont nécessaires les études ultérieures utilisant les méthodes de diagnostic de haute sensibilité, accessibles maintenant, pour évaluer l'échelle de la diffusion des hépatites A et E en République Socialiste de Vietnam.

Une des orientations des examens de laboratoire est l'étude de l'immunité et des immunodéficiences primaires de l'homme. Dans le cadre de ce travail a été élaborée une méthode hautement sensible d'évaluation de l'état de l'immunité des patients avec utilisation des tests PCR en temps réel basée sur l'évaluation de la concentration des cercles d'excision du récepteur des cellules T (TREC) et cercles d'excision du récepteur des cellules B (KREC) chez les enfants et adultes. Dans le travail ont été utilisés les échantillons du sang entier et des gouttes de sang séché, obtenus des nouveau-nés et des personnes adultes, y compris des personnes apparemment en bonne santé, mais aussi des patients atteints d'immunodéficiences primaires humaine diagnostiquée et malades infectés par le VIH. L'ensemble de la cohorte a réuni 2577 personnes. A été effectué le test PCR multiplex analysant le nombre de molécules cibles TREC et KREC de même que de frag-

ments de gènes normatifs HPRT et RPP30 avec utilisation d'une série élaborée de calibreurs plasmidiques. L'éventail analytique des mensurations de l'ADN TREC/KREC a fait de 10^3 à 10^9 copies/ml, la précision des mensurations sur l'équipement du type tablette (CFX) étant 95,84% et sur l'équipement du type rotatif (Rotor-Gene 3000) — 95,11%, ce qui correspond à la norme. A été démontré l'équivalence des résultats obtenus dans le travail avec le sang entier et les gouttes de sang séché. A été défini le cadre de la norme de référence pour les molécules cibles TREC et KREC aussi bien des nouveau-nés que des personnes adultes tenant compte des différentes catégories d'âge. Cette méthode permet de diagnostiquer une baisse de l'immunité des cellules T et/ou des cellules B chez les enfants et adultes et peut être utilisée pour la détection des molécules TREC et KREC aussi bien dans les échantillons du sang périphérique entier, que dans les gouttes de sang séché avec utilisation du test Guthrie. Il y est possibles d'utiliser les valeurs uniques des normes de référence indépendamment du matériel clinique analysé. Les résultats des examens témoignent de la possibilité d'utiliser valablement le diagnostic PCR multiplex aussi bien pour le test/ screening primaire d'ensemble des nouveau-nés, que pour évaluer l'état de l'immunité afin de détecter les malades adultes atteints d'immunodéficience primaire et dans les cadre de diagnostic des patients aux immunodéficiences secondaires, par exemple, infectés au VIH. Ainsi l'analyse du nombre de TREC et de KREC dans les échantillons du sang entier, obtenus des malades infectés par le VIH, a démontré une baisse authentique des niveaux des analytes cibles chez les patients depuis longtemps infectés manifestant une inefficacité virologique de la thérapie antirétrovirale comparés aux personnes en bonne santé. L'aire sous la courbe pour le paramètre TREC a fait $0,9997 \pm 0,0003$ avec 95% IC: $0,9989-1,000$, $p < 0,0001$. Les différences des niveaux de l'ADN TREC et KREC entre les personnes en bonne santé. L'aire sous la courbe pour le paramètre TREC a fait $0,9997 \pm 0,0003$ avec 95% IC: $0,9989-1,000$, $p < 0,0001$. Pour le paramètre KREC l'aire sous la courbe a fait $0,9948 \pm 0,0024$ avec 95% IC: $0,9900-0,9996$, $p < 0,0001$. Les différences des niveaux de l'ADN TREC et KREC entre les personnes en bonne santé et celles avec l'infection au VIH primo détectée depuis moins d'un an ne sont pas révélées. L'évaluation personnalisée opportune de l'état de l'immunité contribuera à la survivance des patients et à l'amélioration de la qualité de leur vie.

Fait partie des immunodéficiences primaires l'angio-oedème héréditaire (AOH) — maladie rare génétiquement déterminée, accompagnée des oedèmes récidivants du tissu mou et de la tunique sous-muqueuse, menaçant la vie des patients. Son diagnostic est posé en tenant compte du tableau clinique, des antécédents familiaux, des valeurs de C1 estérase, du composant 4 du complément, du composant 1q du complément, des anticorps anti-C1, obtenues au laboratoire, et des tests génétiques de plusieurs mutations dans les gènes SERPING1, F12, PLG, ANGPT1, KNG1, MYOF, HS3ST6. Pourtant dans la pathogénèse peuvent participer d'autres gènes dont l'effet négatif des mutations n'est pas encore étudié. Comme dans le développement des maladies non monogènes, dont l'AOH fait partie, peut participer un vaste ensemble de gènes, il est particulièrement important de déterminer les groupes de gènes candidats les plus probables, participant éven-

tuellement au développement de la pathologie. Par les méthodes de l'analyse bioinformatique, utilisant l'interaction protéine-protéine et l'identification du contexte biologique des gènes-candidats de plusieurs ressources web (HumanNetv3, GeneMania, FUMA GWAS en régime GENE2FUNC), ont été déterminés les gènes les plus probables. Ont été identifiés 100 gènes-candidats potentiels dont les mutations peuvent être liées à l'AOH. A été défini le contexte biologique des gènes détectés. Les données du contexte biologique, des interactions génétiques et interactions protéine-protéine ont permis d'exclure plusieurs gènes de la liste des candidats les plus probables de la pathogénèse et répartir les candidats restants en groupes de différents niveaux du potentiel d'implication. Le groupe de gènes-candidats à l'AOH les plus probables peut être composé de PLAT, HRG, SERPINA1, SERPINF2, MASP2, GRB14, C1QBP, DOK2, KLKB1, F11, TEK, KLK10, KRT1, APOH, CPB2, F2. Les résultats obtenus peuvent être d'un grand secours dans l'étude du mécanisme moléculaire de l'AOH mais aussi dans le diagnostic et le pronostic de l'évolution de la maladie. Les gènes-candidats détectés potentiellement sont capables de servir de biomarqueurs diagnostiques aux patients atteints d'angio-oedème d'origine inexplicable.

Conclusion

Comme en témoignent les résultats de la recherche et les données de plusieurs publications, la thérapie antirétrovirale prolongée n'a jamais influé sensiblement sur le processus épidémique de l'infection par le VIH. Son efficacité clinique, évaluée selon les indices de progression des stades de la maladie et de létalité des malades sur fond d'immunosuppression provoquée par le VIH, n'a jamais été prouvée.

Le taux de prévalence de l'infection par le VIH dans la population du District fédéral Nord-Ouest est en progression, accompagné de détection tardive de la maladie à ses stades avancés présentant les signes des deutéropathies et des affections comorbides, en premier lieu de l'hépatite virale C et de la tuberculose. Au cours des dernières années sur fond de baisse du taux d'incidence de la tuberculose et de l'hépatite virale C on constate une augmentation du nombre de patients qui combinent ces maladies avec le VIH. La confrontation des tendances générales d'évolution du processus épidémique du VIH avec celles des co-infections témoigne des tendances générales et des particularités des caractéristiques évolutionnistes de diffusion et de manifestation des pathogènes dans le District fédéral Nord-Ouest.

Les résultats obtenus ont déterminé la nécessité d'une approche intégrée dans le traitement des patients atteints de l'infection par le VIH en tenant compte de leurs besoins individuels et cliniques. Le personnel médical procurant les soins aux personnes, vivant avec le VIH, doit tenir compte non seulement du tableau clinique de la maladie mais aussi du statut psychologique et social du patient pour améliorer ses chances à l'issue favorable de la lutte contre l'infection par le VIH.

La situation épidémique actuelle exige la prise de conscience et le perfectionnement des approches à l'organisation du système de la prévention des infections socialement significatives dans les conditions de l'épidémie de l'infection par le VIH en évolution.

Publications

2021

Monographies

1. *Evolution of the COVID-19 pandemic* / Belyakov N.A., Bagnenko S.F., Rassokhin V.V., Trofimova T.N., Kolbin A.S., Lukina O.V., Simbirtsev A.S., Trofimov V.I., Emelyanov O.V., Kabanov M.Y., Neznanov N.G., Rybakova M.G., Isaeva E.R., Didur M.D., Totolian A.A. // *St. Petersburg: Baltic Medical Education Center, 2021: 410.*
2. *In the footsteps of world epidemics. From Justinian plague to a new coronavirus infection* / Belyakov N.A., Trofimova T.N., Kulagina E.N., Mityurin D.V., Sokolov A.R., Tuchapsky A.K., Firsov V.V., Shelaev Y.B., Shelaeva E.P. // *St. Petersburg: Liki, 2021: 296.*

Aperçus analytiques

1. *HIV infection and comorbid conditions in the North-West Federal District of the Russian Federation in 2021: analytical review* / Ed. by N.A. Belyakov. *St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2023: 48.*

Brevets

1. Patent No. RU 2 753 309 C2, CPC C12Q 1/68 (2021.02). Method for detecting hepatitis B virus DNA in biological material at low viral load based on two-stage PCR with real-time detection. No. 2019137626; application: 21.11.2019; date of publication 13.08.2021 / Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Semenov A.V., Totolian A.A. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. Pastera Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchiya cheloveka» (FBUN NII epidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera) (RU)
2. Patent No. RU 2 753 310 C2, CPC C12Q 1/68 (2021.02). Method for detecting Parvovirus B19 in DNA biological material based on two step PCR. No. 2019121500; application: 08.07.2019; date of publication 13.08.2021 / Ostankova Yu.V., Khamitova I.V., Lavrenteva I.N., Semenov A.V. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. Pastera Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchiya cheloveka» (FBUN NII epidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera) (RU)
3. Patent No. RU 2 759 672 C2, CPC G01N 33/53 (2021.02). Method for differentiating causes of development of initial stage of hepatic fibrosis in chronic viral hepatitis B and C. No. 2019141709; application: 12.12.2019; date of publication 16.11.2021 / Batsunov O.K., Semenov A.V., Arsenteva N.A., Lyubimova N.E., Ostankova Yu.V., Esaulenko E.V., Totolian A.A. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. Pastera Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchiya cheloveka» (FBUN NII epidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera) (RU)
4. Patent No. RU 2 756 979 C2, CPC C12Q 1/686 (2021.02); C12Q 1/6876 (2021.02). Method for laboratory personalized diagnostics of the immune condition of newborns and set of oligodeoxyribonucleotide primers and fluorescently labeled probes. No. 2019142752; application: 17.12.2019; date of publication 07.10.2021 / Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Lyubimova N.E., Totolian A.A. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. Pastera Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchiya cheloveka» (FBUN NII epidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera) (RU)
5. Patent No. RU 2 763 173 C1, CPC G01N 33/96 (2021.02); C12Q 1/6806 (2021.02). Method for detecting the DNA of the hepatitis B virus in biological material with a low viral load based on two-stage PCR with detection by three targets in real time. No. 2020125797; application: 27.07.2020; date of publication 28.12.2021 / Serikova E.N., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Totolian A.A. Proprietors: Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki «Sankt-Peterburgskij nauchno-issledovatel'skij institut epidemiologii i mikrobiologii im. Pastera Federalnoj sluzhby po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchiya cheloveka» (FBUN NII epidemiologii i mikrobiologii imeni Pastera) (RU)

Articles

1. Balde T.A.L., Boumbaly S., Serikova E.N., Valutite D.E., Shchemelev A.N., Ostankova Yu.V., Zueva E.B., Semenov A.V. Comparative Analysis of the Vertical Risk of Transmission of Some Blood-Borne Infections in the Republic of Guinea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii // Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2021; 1: 87–94. (In Russ.) doi: 10.21055/0370-1069-2021-1-87-94
2. Belyakov N.A., Khalezova N.B., Boyeva E.V., Rassokhin V.V., Simakina O.Y., Neznanov N.G. Social and psychological problems of population vaccination against COVID-19 // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13 (3): 7–23. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-3-7-23
3. Belyakov N.A., Trofimova T.N., Simakina O.E., Rassokhin V.V., Serebryakova S.L. The dynamics of the COVID-19 pandemic and formation of the postcovid period in Russia // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13 (2): 7–19. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-2-7-19
4. Boumbaly S., Serikova E., Balde T.A., Ostankova Yu.V., Schemelev A.N., Valutite D.E., Zueva E.B., Semenov A.V., Totolian A.A. Amino acid substitutions in core and HBsAg regions of hepatitis B virus in patients with mono-infection and HBV/HIV-coinfection in the Republic of Guinea // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13 (3): 96–107. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-3-96-107
5. Boumbaly S., Serikova E.N., Semenov A.V., Ostankova Y.V., Valutite D.E., Schemelev A.N., Zueva E.B., Balde T.A., Baimova R.R., Totolian A.A. Significance of parenteral viral hepatitis laboratory diagnostics in the Republic of Guinea // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021; 98 (4): 440–449. (In Russ.) doi: 10.36233/0372-9311-116
6. DiClemente R.J., Brown J.L., Capasso A., Revzina N., Sales J.M., Boeva E., Gutova L.V., Khalezova N.B., Belyakov N., Rassokhin V. Computer-based alcohol reduction intervention for alcohol-using HIV/HCV co-infected Russian women in clinical care: study protocol for a randomized controlled trial // *Trials*. 2021; 22 (1): 147. (In Russ.) doi: 10.1186/s13063-021-05079-x
7. Esaulenko E.V., Dzemova A.A., Trifonova G.F., Bushmanova A.D., Novak K.E., Ogurtsova S.V., Butskaya M.Yu. Hepatitis C in Russia and the Northwest federal region of Russia: results of the first stage of the global programme of infection elimination // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13 (3): 40–51. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-3-40-51
8. Ivashchenko T.E., Ostankova Yu.V., Aseev M.V., Kuropatenko M.V., Zhelenina L.A. Comprehensive analysis of polymorphic variants of genes of TNF α and ER1 in patients with atopic asthma // *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*. 2021; 100 (1): 215–221. (In Russ.) doi: 10.24110/0031-403X-2021-100-1-215-221
9. Kaprin A.D., Voronin E.E., Rassokhin V.V., Rozenberg V V., Nekrasova A.V., Falaleeva N.A., Ivanov S.A., Grivtsova L.Y. Malignant neoplasms associated with HIV infection // *Problems and solutions (problem outline) // Journal of Modern Oncology*. 2021; 23 (3): 502–507. (In Russ.) doi: 10.26442/18151434. 2021.3.201041

10. Khorkova E.V., Lyalina L.V., Mikailova O.M., Kovelonov A.Yu., Ostankova Yu.V., Valutite D.E., Stasishkis T.A., Tsvetkov V.V., Novak K.E., Rishnyak O.Yu., Kritskaya I.V., Buts L.V., Tyagunov D.S. Current Issues of Epidemiological Surveillance of Chronic Viral Hepatitis B, C, D and Hepatocellular Carcinoma at the Regional Level // *Public Health and Life Environment*. 2021; 29 (8): 76–84. (In Russ.) doi: 10.35627/2219-5238/2021-29-8-76-84
11. Kurganova T.Yu., Melnikova T.N., Kovalev N.Yu., Ogurtsova S.V., Simakina O.E., Zagdyn Z.M., Belyakov N.A. Epidemiology of three coinfections: HIV, viral hepatitis and tuberculosis in the Vologda region as a model of infection development in the northwestern federal district // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13 (1): 7–16. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-1-7-16
12. Lyalina L.V., Esaulenko E.V., Khorkova E.V., Novak K.E., Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Vasiliev D.V., Gorziy E.S., Butskaya M.J., Kritskaya I.V., Buts L.V., Grebenkina E.V., Baydakova E.V., Smirnova N.A., Krasnoperova M.A., Koltsov N.S., Kotovich L.M., Kalinina E.L., Galimov R.R., Kirkhar N.V., Cherepanova E.A., Totolian A.A. Results of implementation of viral hepatitis B elimination program in the North-West Russia // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (5): 875–886. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-ROT-1785
13. Ostankova Yu.V., Naidenova E.V., Serikova E.N., Schemelev A.N., Valutite D.E., Zueva E.B., Huinh Hoang Khanh Thu, Semenov A.V. Regarding Coinfection With Denge Viruses and Agents of Hemocontact Infections in the Socialist Republic of Vietnam // *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2021; (3): 6–12. (In Russ.) doi: 10.21055/0370-1069-2021-3-6-12
14. Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Valutite D.E., Zueva E.B., Serikova E.N., Shchemelev A.N., Huynh H., Esaulenko E.V., Totolian A.A. Enteric viral hepatitis in the Socialist Republic of Vietnam (Southern Vietnam) // *Journal Infectology*. 2021; 13 (4): 72–78. (In Russ.) doi: 10.22625/2072-6732-2021-13-4-72-78
15. Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Zueva E.B., Serikova E.N., Schemelev A.N., Valutite D.E., Huynh H.K.T., Egorova S.A., Totolian A.A. prevalence of hepatitis B and C viral markers among apparently healthy residents of the Socialist Republic of Vietnam (Southern Vietnam) // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (6): 1131–1140. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-TPO-1793
16. Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Zueva E.B., Totolian A.A. The First cases of hepatitis B virus subgenotype D4 detection in patients with chronic, acute, and occult hepatitis B in the Russian Federation // *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2020; 35 (4): 221–228. doi: 10.3103/S0891416820040072
17. Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Semenov A.V., Bancevic M.D., Filipovic-Vignjevic S.B., Zueva E.B., Vasil'eva G.V., Zarya Ya.V., Saitgalina M.A., Ivanova A.R., Zhabasova A.S., Totolian A.A. Profile of hepatitis B virus mutations associated with HBsAg-negative disease in patients of hemodialysis centers // *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2021; 4: 96–104. (In Russ.) doi: 10.21055/0370-1069-2021-4-96-104
18. Pishchik V.N., Filippova P.S., Mirskaya G.V., Khomyakov Y.V., Vertebny V.E., Dubovitskaya V.I., Ostankova Y.V., Semenov A.V., Chakrabarty D., Zuev E.V., Chebotar V.K. Epiphytic PGPB *Bacillus megaterium* AF11 and *Paenibacillus nicotianae* AF12 Improve Wheat Growth and Antioxidant Status under Ni Stress // *Plants (Basel)*. 2021; 10 (11): 2334. doi: 10.3390/plants10112334
19. Serikova E.N., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Totolian A.A. Method for detecting hepatitis B virus in blood plasma at low viral load using real-time PCR // *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2021; 66 (1): 59–64. (In Russ.) doi: 10.18821/0869-2084-2021-66-1-59-64
20. Shilova I.V., Ostankova Yu.V., Goryacheva L.G., Semenov A.V. HBV-infection in children with perinatal infection. Clinical report of familial hepatitis B // *Journal Infectology*. 2021; 13 (3): 120–124. (In Russ.) doi: 10.22625/2072-6732-2021-13-3-120-124
21. Simakina O.E., Bovelyak N.A. Worldwide epidemics and marine medicine — perception of events in the first year of pandemic COVID-19 // *Marine Medicine*. 2021; 7 (1): 20–32. (In Russ.) doi: 10.22328/2413-5747-2021-7-1-20-32
22. Trofimova T.N., Andropova P.L., Savintseva Z.I., Belyakov N.A. Radiology of the central nervous system of patients in the acute phase of COVID-19 // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13 (2): 20–32. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-2-20-32
23. Valutite D.E., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Kozlov K.V., Borisov A.G., Nazarov V.D., Totolian A.A. Detection of drug resistance mutations of hepatitis C virus in patients with failure of the treatment with direct acting antivirals // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021; 98 (1): 18–27. (In Russ.) doi: 10.36233/0372-9311-47
24. Yastrebova E.B., Chernova O.E., Kalyshenko A.M., Vertogradova G.A. Chronic hepatitis C in children with HIV infection: disease phenotype and efficacy of antiviral therapy // *Infectious diseases*. 2021; 19(2): 52–58. (In Russ.). doi: 10.20953/1729-9225-2021-2-52-58
25. Zagdyn Z.M., Verbitskaya E.V., Sokolovich E.G., Belyakov N.A. Factors affecting the TB screening indicators in people living with HIV in the regions of Northwestern Federal District of the Russian Federation // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13 (2): 94–100. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-2-94-100

Thèses

1. Yastrebova E.B., Samarina A.V., Fertikh E.K., Dyldina N.S., Abramova I.A. Liver lesions of various etiologies in children with HIV infection. Specifics of the course, successes of antiviral therapy of chronic hepatitis C. Materials of the conference «Current issues of HIV infection. Maternal and Child Health Protection». May 31 – June 1, 2021: 217–218.

2022

Monographies

1. Belyakov N.A., Bagnenko S.F., Trofimova T.N., Rassokhin V.V., Neznanov N.G., Totolian A.A., Lobzin Yu.V., Simbirtsev A.S., Didur M.D., Lioznov D.A., Rybakova M.G., Kolbin A.S., Harit S.M., Klimko N.N., Pantelev A.M., Stoma I.O., Yastrebova E.B. Consequences of the COVID-19 pandemic. St. Petersburg: Baltic Medical Educational Center, 2022: 463.
2. Ulyukin I.M., Rassokhin V.V., Orlova E.S., Sechin A.A. Functional state of young people who have suffered COVID-19 infection / Status, problems and prospects of modern socio-economic processes development: monograph. Petrozavodsk: MTsNP «Novaya Nauka», 2022: 358. doi: 10.46916/20102022-1-978-5-00174-721-5
3. Ulyukin I.M., Rassokhin V.V., Orlova E.S., Sechin A.A. Sleep problems in patients with HIV infection / Topical issues and vectors of development of modern science and technology. Petrozavodsk: MTsNP «Novaya Nauka», 2022: 345–366. doi: 10.46916/02062022-978-5-00174-594-5
4. Ulyukin I.M., Rassokhin V.V., Orlova E.S., Sechin A.A. The disease caused by the human immunodeficiency virus as a potentially controlled infection / Theoretical and applied problems of the science of man and society: monograph. Petrozavodsk: MTsNP «Novaya Nauka», 2022: 494. Chapter IV «Current issues of human health protection and maintenance»: 396–431. doi: 10.46916/07042022-1-978-5-00174-518-1
5. Ulyukin I.M., Rassokhin V.V., Orlova E.S., Sechin A.A. The influence of post-traumatic stress reactions on the deficit of cognitive processing and regulation of emotions in young people who have had COVID-19 infection / Science, society, technology: problems and prospects of interaction in the modern world. Petrozavodsk: MTsNP «Novaya Nauka», 2022. Chap. 16: 302–326. doi: 10.46916/04112022-978-5-00174-738

Manuel d'apprentissage

1. *The novel coronavirus infection COVID-19 in women and children: study book* / Yastrebova E.B., Samarina A.V., Dondurei E.A., Rassokhin V.V.; ed. by N.A. Belyakov. St. Petersburg: Publishing house «Baltic Medical Educational Center», 2022: 110.

Bases de données

1. Shchemelev A.N., Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Totolian A.A. Database of patients with virological inefficiency of ART in the NWFD. Certificate of registration of database 2022622009, 11.08.2022. Application No. 2022621895 dated 22.07.2022.
2. Shchemelev A.N., Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Totolian A.A. Profiles of mutations associated with drug resistance in HIV isolates from the Northwestern Federal District. Certificate of registration of the database 2022621301, 03.06.2022. Application No. 2022621036 dated 16.05.2022.

Articles

1. Azovtseva O.V., Beliakov N.A. Comorbid conditions as a cause of adverse outcome of HIV infection // *Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences*. 2022; 1 (126): 10–14. (In Russ.) doi: 10.34680/2076-8052.2022.1(126).10-14
2. Belyakov N.A., Boeva E.V., Simakina O.E., Svetlichnaya Yu.S., Ogurtsova S.V., Serebryakova S.L., Esaulenko E.V., Zagdyn Z.M., Yazenok A.V., Lioznov D.A., Stoma I.O. The COVID-19 pandemic and its impact on the course of other infections in Northwestern Russia // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2022; 14 (1): 7–24. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-1-7-24
3. Belyakov N.A., Boeva E.V., Zagdyn Z.M., Esaulenko E.V., Lioznov D.A., Simakina O.E. Epidemiology and course of infectious diseases during the COVID-19 pandemic. Report 1. HIV infection, hepatitis C and tuberculosis // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (4): 639–650. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-EAC-1958
4. Belyakov N.A., Simakina O.E., Trofimova T.N. Nature and consequences of post-covid-19 syndrome // *Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences*. 2022; 1 (126): 25–31. doi: 10.34680/2076-8052.2022.1(126).25-31
5. Boumbaly S., Balde T.A.L., Semenov A.V., Ostankova Y.V., Serikova E.N., Naidenova E.V., Valutite D.E., Shchemelev A.N., Zueva E.B., Esaulenko E.V., Totolian A.A. Prevalence of viral hepatitis B markers among blood donors in the Republic of Guinea // *Vopr. Virusol.* 2022; 67 (1): 59–68. (In Russ.) doi: 10.36233/0507-4088-92
6. Chirskaya M.A., Yastrebova E.B., Krasnoselskikh T.V., Vinogradova T.N., Manasheva E.B., Dunaeva N.V. Sociodemographic, clinical and epidemiological characteristics of the men with HIV infection and syphilis in St. Petersburg // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2022; 14 (1): 70–77. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-1-70-77
7. Chirskaya M.A., Yastrebova E.B., Krasnoselskikh T.V. Dynamics of HIV RNA and CD4-lymphocyte levels in the blood of patients with HIV infection and syphilis // *Journal of Infectology*. 2022; 14 (3, suppl. 1): 139.
8. Esaulenko E.V., Dzemova A.A., Novak K.E., Bushmanova A.D., Ostankova Y.V., Valutite D.E., Chernoguz Y.A., Zueva E.B., Yushina E.Y., Tyurenkova N.V. Analysis of long-term results of effective etiotropic therapy of chronic hepatitis C // *Therapy*. 2022; 8 (3): 50–58. (In Russ.) doi: 10.18565/therapy.2022.3.50-58
9. Gordon E.O., Yastrebova E.B., Podymova A.S. Adverse events against the background of antiretroviral therapy in children with HIV infection // *Topical issues of HIV infection. Maternal and Child Health Protection: Materials of the International Research to Practice Conference*. September 12–13, 2022: 122.
10. Gordon E.O., Yastrebova E.B., Podymova A.S. Adverse events underlying antiretroviral therapy in children with HIV infection. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2022; 14 (2): 40–49. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-2-40-49
11. Khalezova N.B., Rozhkov V.P., Khobaysh M.A., Zakharova N.G., Kissin M.Ya., Neznanov N.G., Soroko S.I., Belyakov N.A. Gender specificities of neurodynamic processes and development of mental disorders with the HIV-infected // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2022; 14 (2): 7–19. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-2-7-19
12. Lazarencu L.L., Milichkina A.M., Saitgalina M.A., Ostankova Yu.V., Sess T.P., Khamitova I.V., Totolian A.A. Erythema marginatum as a precursor of hereditary angioedema // *Russian Medical Journal*. 2022; 8: 39–42. (In Russ.)
13. Manuylov V., Chulanov V., Bezuglova L., Chub E., Karlsen A., Kyuregyan K., Ostankova Y., Semenov A., Osipova L., Tallo T., Netesova I., Tkachuk A., Gushchin V., Netesov S., Magnus L.O., Norder H. Genetic Diversity and Possible Origins of the Hepatitis B Virus in Siberian Natives // *Viruses*. 2022; 14 (11): 2465. doi: 10.3390/v14112465
14. Mozaleva O.L., Samarina A.V., Rassokhin V.V. Anemia and thrombocytopenia in HIV-positive pregnant women // *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2022; 71 (2): 69–78. (In Russ.) doi: 10.17816/JOWD98476
15. Murtazhaliev H.H., Alieva E.V., Rassokhin V.V. Analysis of HIV prevalence, tuberculosis and their combinations in the territory of Chechen Republic // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2022; 14 (2): 62–72. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-2-62-72
16. Ostankova Y.V., Serikova E.N., Semenov A.V., Totolian A.A. Method for hepatitis B virus DNA detecting in biological material at low viral load based on nested PCR with detection on three viral targets in real-time mode // *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2022; 67 (9): 530–537. doi: 10.51620/0869-2084-2022-67-9-530-537
17. Ostankova Yu.S., Valutite D.E., Zueva E.B., Serikova E.N., Shchemelev A.N., Huynh Hoang Khanh Thu, Semenov A.V., Totolian A.A. Comparative analysis of the chronic viral hepatitis B markers prevalence in HIV-infected and conditionally healthy residents of Ho Chi Minh City // *Journal of Tropical Science and Technology*. 2022; 26 (12): 82–88.
18. Ostankova Yu.V., Davydenko V.S., Shchemelev A.N., Zueva E.B., Virolainen P.A., Totolian A.A. Determination of HIV Tropism in Patients with Antiretroviral Therapy Failure in Arkhangelsk Region // *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2022; (3): 120–128. (In Russ.) doi: 10.21055/0370-1069-2022-3-120-128
19. Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Zueva E.B., Serikova E.N., Shchemelev A.N., Valutite D.E., Huynh H., Totolian A.A. Prevalence of hepatitis B and D viruses in HIV-infected persons in the Socialist Republic of Vietnam. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2022; 14 (1): 46–58. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-1-46-58
20. Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Semenov A.V., Zueva E.B., Valutite D.E., Shchemelev A.N., Zurochka V.A., Totolian A.A. Molecular and genetic characterization of the hepatitis B virus full-length genome sequences identified in HBsAg-negative blood donors in Ural Federal District. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022; 99 (6): 637–650. (In Russ.) doi: 10.36233/0372-9311-325
21. Pechnikova N.A., Ostankova Yu.V., Totolian A.A. Application of bioinformatical analysis to identify candidate genes associated with hereditary angioedema // *Medical Immunology (Russia)*. 2022; 24 (5): 1027–1046. (In Russ.) doi: 10.15789/1563-0625-AOB-2579
22. Purgina D.S., Lyalina L.V., Rassokhin V.V. Clostridium difficile infection and its effect on the course of inflammatory bowel diseases. *Clinical Medicine (Russian Journal)*. 2022; 100 (7–8): 346–356. (In Russ.) doi: 10.30629/0023-2149-2022-100-7-8-346-356

23. Rassokhin V.V., Belyakov N.A., Yakovlev A.A., Simakina O.E. Neuropsychiatric and behavioral disorders in patients with COVID-19 // *Clinical Medicine*. 2022; 100 (1): 18–31. (In Russ.) doi: 10.30629/0023-2149-2022-100-1-18-31
24. Rassokhin V.V., Boeva E.V., Gromova E.A., Susin D.S., Trofimova T.N., Belyakov N.A. Structural and metabolic changes in the central nervous system in women with HIV/HCV co-infection // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2022; 14 (1): 37–45. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-1-37-45
25. Saitgalina M.A., Liubimova N.E., Ostankova Yu.V., Kuznetzova R.N., Totolian A.A. Determination of reference values for TREC and KREC in circulating blood of the persons over 18 years // *Medical Immunology (Russia)*. 2022; 24 (6): 1227–1236. (In Russ.) doi: 10.15789/1563-0625-DOR-2587
26. Saitgalina M.A., Ostankova Yu.V., Liubimova N.E., Semenov A.V., Kuznetsova R.N., Totolian A.A. Modified quantitative approach for assessing peripheral blood TREC and KREC levels in immunodeficient patients // *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (5): 981–996. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-MMF-2039
27. Serebryakova S.L., Boeva E.V., Moisa M.A., Dyrul S.I., Ogurtsova S.V., Leonov O.N., Kovelonov A.Yu. Determining factors of a personalized approach to patients with HIV during the COVID-19 pandemic // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2022; 14 (3): 24–34. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-3-24-34
28. Shchemelev A.N., Boumbaly S., Ostankova Y.V., Zueva E.B., Semenov A.V., Totolian A.A. Prevalence of drug resistant HIV-1 forms in patients without any history of antiretroviral therapy in the Republic of Guinea // *J. Med. Virol.*, 2023; 95 (1): e28184. doi: 10.1002/jmv.28184
29. Shchemelev A.N., Ostankova Y.V., Zueva E.B., Semenov A.V., Totolian A.A. Detection of patient HIV-1 drug resistance mutations in Russia's Northwestern federal district in patients with treatment failure // *Diagnostics (Basel)*. 2022; 12 (8): 1821. (In Russ.) doi: 10.3390/diagnostics12081821
30. Shchemelev A.N., Semenov A.V., Ostankova Y.V., Naidenova E.V., Zueva E.B., Valutite D.E., Churina M.A., Virolainen P.A., Totolian A.A. Genetic diversity of the human immunodeficiency virus (HIV-1) in the Kaliningrad region // *Problems of Virology*. 2022; 67 (4): 310–321. (In Russ.) doi: 10.36233/0507-4088-119
31. Shchemelev A.N., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Zueva E.B., Valutite D.E., Semenova D.A., Davydenko V.S., Totolian A.A. Genetic diversity and drug resistance mutations of HIV-1 in Leningrad Region // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022; 99 (1): 28–37. (In Russ.) doi: 10.36233/0372-9311-216
32. Sulima D.L., Suleymanova S.S., Yakovlev A.A., Koryagin V.N., Rassokhin V.V. Virological failures of primary interferon-free therapy in patients with chronic HCV RNA viremia and successful repeated interferon-free therapy. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2022; 14 (3): 100–109. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2022-14-3-100-109
33. Ulyukin I.M., Rassokhin V.V., Sechin A.A., Orlova E.S. Decision-making style and emotional intelligence in post-COVID young people // *Marine Medicine*. 2022; 8 (2): 61–69. (In Russ.) doi: 10.22328/2413-5747-2022-8-2-61-69
34. Valutite D., Ostankova Y., Semenov A., Lyalina L., Totolian A. Distribution of primary resistance mutations in Saint Petersburg in patients with chronic hepatitis C // *Diagnostics (Basel)*. 2022; 12 (5): 1054. (In Russ.) doi: 10.3390/diagnostics12051054
35. Yastrebova E.B. HIV infection and new coronavirus infection in pregnant women: course and outcomes // *Topical issues of HIV infection. Maternal and Child Health Protection: Materials of the International Research to Practice Conference. September 12–13, 2022*: 184–185.