Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg

RAPPORT D'ACTIVITES 2015 16

Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg

RAPPORT D'ACTIVITES 2015-2016

Saint-Pétersbourg
2017

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
Anatoly JEBROUN – Directeur de l'Institut jusqu'áu septembre 2015
Coordinateur scientifique – Galina TRIFONOVA
Coordinateur des affaires etrangères – Kseniia SMIRNOVA

L'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg a été fondé en 1923.

Actuellement, il est 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'une base matérielle moderne et d'un personnel scientifique de qualité pour les recherches qui sont unies dans les cinq départements:

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

Cinq centres régionaux de référence du Nord-Ouest de Russie fonctionnent à l'Institut:

- Centre régional pour les Sallmonella;
- Centre régional de la lutte contre le SIDA;
- Centre régional pour les rickettsioses;
- Centre régional pour la surveillance de la poliomyélite;
- Centre régional pour la surveillance de la rougeole et roubéole.

Trois centres de référence de Fédération de Russie se sont implantés à l'Institut:

- Centre fédéral de la surveillance de la fièvre typhoïde;
- Centre fédéral de la surveillance des Yersinioses;
- Centre fédéral de la surveillance des hépatites virales.

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 roubéole (European Measles Laboratory Network).

Table des matières

DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE 4

Laboratoire des infections intestinales. Centre national de référence pour le monitoring des germes des fièvres typhoïde et paratyphoïde 4

Laboratoire de bacteriologie médicale 7

Laboratoire des zooantroponoses 9

DÉPARTEMENT DE VIROLOGIE 15

Laboratoire d'étiologie et de contrôle des infections virales 15

Laboratoire de virologie expérimentale 22

DÉPARTEMENT D'IMMUNOLOGIE 26

Laboratoire d'identification des pathogènes 26

Laboratoire d'immunologie moléculaire 29

DÉPARTEMENT D'EPIDEMIOLOGIE 32

Laboratoire d'epidemiologie des maladies infectieuses et non infectieuses 32

Laboratoire des hépatites virales 36

Laboratoire d'épidémiologie moléculaire et de génétique évolutive 38

DÉPARTEMENT DES NOUVELLES TECHNOLOGIES 45

CENTRE RÉGIONAL DU DISTRICT FÉDÉRAL NORD-OUEST POUR LA PREVENTION ET LA LUTTE CONTRE LE SIDA 47

Laboratoire d'immunologie et virologie de l'infection par le VIH 47

CENTRE JMF DE DIAGNOSTIC ET DE TRAITEMENT DU DÉFICIT IMMUNITAIRE PRIMAIRE À SAINT-PÉTERSBOURG 53

Département de microbiologie

LABORATOIRE DES INFECTIONS INTESTINALES
CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE POUR LE MONITORING DES GERMES DES FIÈVRES TYPHOÏDE ET PARATYPHOÏDE

Chef du laboratoire: Lidia Kaftyreva
Chercheurs permanents: Z. Matveeva, E. Voitenkova, A. Zabrovskaya, M. Makarova, S. Egorova, L. Suzhaeva

Monitoring de la sensibilité aux antibiotiques des souches de Salmonella identifiées chez les humains

En 2015–2016, nous avons étudié la sensibilité aux différents antibiotiques de 438 souches de Salmonella, identifiées chez les habitants de Saint-Pétersbourg, à l'aide des tests de diffusion de disque (disques fabriqués en Russie et contenant: aminoglicozides (streptomycin, kanamycin, gentamycin, amikacin, tobramycin), β-lactames (ampicillin, ceftazidim, ceftriaxon, amoxicillin/acide clavulanique, meropenem), quinolones — acide nalidixique, fluoroquinolones (ciprofloxacin, pefloxacin) et autres formules (chloramphenicol, tetracycline, nitrofurantoin, trimetoprim/sulfometaxazole, sulfonamid). Les CMI de certains antibiotiques ont été identifies à l'aide des E-tests. Les résultats des tests ont été interprété condormément aux Récommandations cliniques russes de 2015 (basées sur EUCAST).

90,0% environ de souches étudiées faisaient partie de trois sérovars, dont: *S.* Enteritidis (77,2%), *S.* Typhimurium (6,8%) et *S.* Infantis (4,6%), tandis que la part des sérovars rares s'élevait à 11,4 % (*S.* Westhampton, *S.* Bredeney, *S.* Weltenvreden, *S.* Montevideo, *S.* Isangi, *S.* Newlands, *S.* Stanley, *S.* Concord, *S.* Goldcoast, *S.* Senftenberg, *S.* Livingstone, *S.* Give et *S.* Corvallis). 22,4% de souches ont gardé leur sensibilité aux antibiotiques, et 77,6% faisaient preuve de la résistance envers une ou plusieurs classes d'antibiotiques. La moitié des souches étudiées de Salmonella (50,9%) se caractérisait par la résistance aux fluoroquinolones (ciprofloxacin) qui était surtout caractéristique pour les sérovars de *S.* Enteritidis et *S.* Infantis (58,0% et 75,0%, respectivement). Nous avons constaté les différences significatives du taux de résistance aux autres groupes d'antibiotiques en fonction du sérovar de la souche: 6,6% pour l'ampicilline (*S.* Typhimurium: 46,7%), 2,5% pour les céphalosporines de spectre élargi (*S.* Typhimurium: 10,0%), 11,4% pour la tetracycline (*S.* Typhimurium: 43,3%, *S.* Infantis: 70,0%), 4,6% pour trimetoprim/sulfometaxazole (*S.* Typhimurium: 16,7%, *S.* Infantis: 50,0%), 3,4% pour chloramphenicol (sans différrences significatives entre les sérovars). La multirésistance aux antibiotiques (3 classes ou plus) a été constatée pour 16,6% de souches, et le taux le plus élevé de souches multirésistantes était constaté pour les sérovars de *S.* Typhimurium et *S.* Infantis (46,7% et 85,0%, respectivement). Il faut noter que la plupart des souches des sérovars rares de Salmonella (60,0%) gardaient la sensibilité aux antibiotiques (Tabl. 1 et 2).

En étudiant le mécanisme de résistance des souches de Salmonella prélevées à Saint-Pétersbourg, nous avons constaté que la résistance aux fluoroquinolones s'expliquait par un mécanisme largement répandu de mutation chromosomique dans les codons 83 et 87 du gène *gyrA*: Ser83Phe et Asp87Gly chez les souches *S.* Enteritidis, et Asp87Tyr ches les souches *S.* Infantis.

En 2015–2016, nous avons identifié 11 souches (2,5%) résistant aux céphalosporines de spectre élargi (sérovars *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium, *S.* Coeln, *S.* Newport et *S.* Virchow). Les méthodes de phénotypage (diffusion de disque, tests de confirmation) ont permis d'identifier la production de la céphalosporinase AmpC chez la souche *S.* Newport et la production des β-lactamases de spectre élargi (BLSE) chez le reste des souches. La souche *S.* Newport produisait la céphalosporinase CMY-2 et les souches *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium, *S.* Coeln и *S.* Virchow produisaient la BLSE de groupes génétiques CTX-M1, -2, -9.

Ainsi, la population actuelle des souches de Salmonella comprend une proportion importante des souches résistantes aux antibiotiques cliniquement significatives. La moitié des souches de Salmonella présentait la résistance aux fluoroquinolones qui était la plus répandue parmi les sérovars principaux *S.* Enteritidis et *S.* Infantis. On constate également l'émergence des souches résistant aux céphalosporines de spectre élargi. 20,0% environ de souches (surtout les sérovars *S.* Typhimurium et *S.* Infantis) résistent à plusieurs classes d'antibiotiques à la fois. La résistance émergente limite considérablement les possibilités thérapeutiques pour les salmonelloses à complications. Les résultats obtenus témoignent de la nécessité du monitoring constant des informations sur la résistance des germes russes de salmonellose aux antibiotiques, car cette maladie est susceptible à l'expansion épidémique et aux explosions, tandis que l'infection par les souches résistantes entraîne une réduction certaine de l'efficacité dui traitement.

Tableau 1. Sensibilité aux antibiotiques pour les souches de Salmonella prélevées en 2015–2016 à Saint-Pétersbourg

Phénotype	Part des souches, %				
	Total (n = 438)	*S.* Enteritidis (n = 338)	*S.* Typhimurium (n = 30)	*S.* Infantis (n = 20)	Autres sérovars (n = 50)
Sensibles	22,4	16,6	6,8	10,0	60,0
Résistantes, dont	77,6	83,4	66,7	90,0	40,0
à 1–2 classes	61,0	73,4	20,0	5,0	24,0
à 3 ou plus de classes	16,6	10,0	46,7	85,0	16,0

Tableau 2. Part des souches de Salmonella (%) prélevées chez les humains et résistantes aux antibioltiques de différents groupes

Antibioltique	Part des souches, %				
	Total (n = 438)	*S.* Enteritidis (n = 338)	*S.* Typhimurium (n = 30)	*S.* Infantis (n = 20)	Autres sérovars (n = 50)
β-lactames					
Ampicillin	6,6	3,8	46,7	10,0	2,0
Céphalosporines de spectre élargi	2,5	2,1	10,0	0	2,0
Non-β-lactames					
Fluoroquinolones	50,9	58,0	16,7	75,0	14,0
Nitrofurantoin	22,8	24,9	0	70,0	4,0
Chloramphenicol	3,4	3,6	6,7	0	2,0
Tetraciclines	11,4	5,6	43,3	70,0	8,0
Trimetoprim/sulfometaxazole	4,6	1,5	16,7	50,0	0

Monitoring des propriétés biologiques des souches de *S.* Typhi

A présent, la collection du centre de référence pour le monitoring de la germe de la fièvre typhoïde (Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg, laboratoire des infections intestinales) dispose de 306 souches identifiées sur 19 territoires administratifs de la Russie en 2005–2006.

Les études réalisées ont démontré que les cas de fièvre typhoïde en Fédération de Russie étaient causés par les souches de *S.* Typhi sensibles à tous les antibiotiques mais aussi par les souches résistant à certains groupes d'antibiotiques. 52 souches (17,0%) étaient sensibles aux antibiotiques et 254 (83,0%) étawient résistantes, dont: 83,0% aux fluoroquinolones, 5,2% au trimetoprim/sulfometaxazole, 2,6% à l'ampicilline et 2,6% au chloramphenicol. Les souches résistant aux céphalosporines de spectre élargi et à l'azitromycin n'ont pas été identifiées. Les souches étudiées étaient divisées en 4 groupes, en fonction de leur phénotype de résistance aux antibiotiques:

- sensibles à tous les antibiotiques testés;
- résistant aux fluoroquinolones;
- résistant à l'ampicillin, chloramphenicol, trimetoprim/sulfometaxazole, fluoroquinolones;
- résistant aux fluoroquinolones et trimetoprim/sulfometaxazole (Tabl. 3).

Parmi la population des germes de la fièvre typhoïde identifiées en Russie en 2005–2016, les souches prédominantes n'étaient résistantes qu'aux fluoroquinolones (77,8%), présentant différents niveaux de résistance, mais sensibles cependant aux autres antibiotiques (CMI de ciprofloxacin ≥ 0,06 mg/l). La plupart des souches, soit 223 (72,9%) était peu sensibles aux fluoroquinolones (CMI de ciprofloxacin 0,12 à 0,5 mg/l) et 15 souches (4,9%) hautement sensibles (CMI de ciprofloxacin 6,0 à 32,0 mg/l ou plus).

Tableau 3. Résistance aux antibiotiques des souches de *S.* Typhi, prélevées sur les territoires de la Fédération de Russie en 2005–2016 (n = 306)

Type de résistance	Souches		
	abs.	%	95% IC
Sensibles	52	17,0	13,2–21,6
Résistant à 1 ou plus de classes d'antibiotiques	254	83,0	78,4–86,8
Résistant aux fluoroquinolones	238	77,8	72,8–82,1
Résistant à l'ampicillin, chloramphenicol, trimetoprim/sulfometaxazole, fluoroquinolones	8	2,6	1,3–5,1
Résistant aux fluoroquinolones et trimetoprim/sulfometaxazole	8	2,6	1,3–5,1

La détection des mutations dans les gènes *gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE*, des gènes de résistance et des plasmides a été effectuée suivant les résultats du séquencement polygénique sur MiSeq à l'aide des sets de réactifs MiSeq Reagent Kit v2 et Nextera XT (Illumina, Etats-Unis). 58 souches résistantes de *S.* Typhi ont présenté différentes mutations dans les codons 83 et 87 du gène *gyrA*. Sur ce nombre, 51 souches faiblement résistant aux fluoroquinolones ont présenté trois types de mutations: Asp87Asn (44 souches), Ser83Tyr (6 souches) et Ser83Phe (1 souche). 7 souches à la résistance élevée ont présenté la combinaison de deux mutations: Asp87Asn + Ser83Phe. (Tabl. 4). Les mutations des gènes *gyrB*, *parC* et *parE*, ainsi que les gènes de résistance plasmodiquement codée *qnrA, B, S*, n'ont pas été identifiées.

Les souches de *S.* Typhi à faible résistance (présentant une des mutations Asp87Asn, Ser83Tyr, Ser83Phe), dans les années différentes, ont provoqué la fièvre typhoïde sur 19 territoires de la Russie. Les souches à résistance élevée (présentant en même temps deux mutations Asp87Asn + Ser83Phe) ont été identifiées sur 7 territoires de la Russie, y compris dans 4 cas où les patients avaient certaiement été infectés lors des voyages en Asie de Sud-Ouest (touristes, étudiants des universités russes d'origine indienne).

En Russie, la population des germes de la fièvre typhoïde identifiées en 2005–2016 incluait les souches de *S.* Typhi à résistance multiple aux antibiotiques tels que ampicillin, chloramphenicol, trimetoprim/sulfometaxazole, fluoroquinolones. La proportion de ces souches était peu élevée et équivalait à 2,6%. 6 souches ont été identifiées en 2005 et 2006 dans trois régions russes. Ensuite, pendant 6 ans (de 2007 à 2012), ces souches n'étaient plus identifiées en Russie. En 2013, de même qu'en 2015, une souche à résistance multiple a été mise en évidence à Saint-Pétersbourg. Ces souches produisaient de la β-lactamase de spectre large TEM-1 (CMI de ampicillin à partir de 64 mg/l et supérieur à 256 mg/l). La CMI de trimetoprim/sulfometaxazole et de chloramphenicol chez les souches à résistance multiple était supérieure à 32 mg/l, tandis que la CMI de ciprofloxacin variait entre 0,12 et 0,5 mg/l. La particularité de ces souches était que la résistance à l'ampicillin, chloramphenicol, trimetoprim/sulfometaxazole était déterminée par les gènes (*blaTEM-1,*

Tableau 4. Mutations dans la région QRDR du gène *gyrA*, entraînant la résistance des souches de *S.* Typhi aux fluoroquinolones

CMI de ciprofloxacin (n = nombre de souches étudiées)	Mutations dans la région QRDR du gène *gyrA*			
	Asp87Asn	Ser83Tyr	Ser83Phe	Asp87Asn + Ser83Phe
0,12 à 0,5 mg/l (n = 51)	44 (75,9%)	6 (10,3%)	1 (1,7%)	–
6,0 à plus de 32,0 mg/l (n = 7)	–	–	–	7 (12,1%)

dfrA7, catA1) situés sur la plasmide de IncHI1, tandis que la résistance aux fluoroquinolones était déterminée par les mutations de Asp87Asn et Ser83Tyr dans le gène à chromosomes *gyrA*. L'apparition de ces souches en Russie s'explique par leur «importation» par les travailleurs migrants d'origine d'Asie Centrale.

L'azithromycin peut être utilisé pour traiter la fièvre typhoïde si la CMI pour la souche germe est pas inférieure à 16,0 mg/l. Pour les souches étudiées de *S.* Typhi, la CMI90 d'azithromycin s'élevait à 4,0 mg/l, et les souches où la CMI serait supérieure à 16,0 mg/l n'ont pas été identifiées.

Conclusion

La population des germes de la fièvre typhoïde identifiées en Russie en 2005–2016 se caractérisait par une part élevée (plus de 80,0%) de souches résistant aux fluoroquinolones pour lesquelles la CMI de ciprofloxacin étiat supérieure à 0,06 mg/l, ce qui anticipe pronostiquement l'inefficacité clinique de la théparie de la fièvre typhoïde avec les fluoroquinolones (EUCAST). Malgré le phénotype identique de résistivité (faible résistance aux fluoroquinolones), les souches de *S.* Typhi se caractérisaient par trois mutations différentes dans le gène *gyrA*: Asp87Asn (75,9% de souches), Ser83Tyr (10,3%) et Ser83Phe (1,7%). La résistance élevée au ciprofloxacin, identifiée chez 12,1% de souches, s'explique par la combinaison de deux mutations dans le gène *gyrA*: Asp87Asn + Ser83Phe.

La séquence nucléotidique du gène *gyrA* de la souche de *S.* Typhi résistant aux fluoroquinolones (GenBank KT955017) a été déposée au GenBank (GenBank KT955017). La souche de *S.* Typhi a été prélevée en 2011 chez un étudiant d'origine indienne faisant ses études à l'Académie russe de la médecine.

Publications

1. *Pärna K., Balode A., Egorova S., Ivanova M., Kaftyreva L., Kermes K., Kõljalg S., Lillo J., Makarova M. et al. High prevalence of Class 1 and 2 Integrons among Extended-Spectrum Beta-Lactamase positive and negative Escherichia coli isolates from Baltic Sea region / Poster P0977. 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases in Copenhagen, Denmark, 25–28 April 2015. https://www.escmid.org/escmid_library/online_lecture_library/?search=1&current_page=1&search_term=Parna&entrytype%5B%5D=17&entrytitle%5B%5D=154.*
2. *Onishchenko G., Dyatlov I., Kaftyreva L., Makarova M., Matveeva Z., Zhebrun A. et al. Molecular characteristic of Shiga-toxin-producing Escherichia coli isolated in foodborne outbreak in Saint-Petersburg, 2013 // Bulletin of Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 1: 70–81. Current Issues of Microbiology. (In Russian).*
3. *Njamkepo E. Global phylogeography and evolutionary history of Shigella dysenteriae type 1 // Nature Microbiology. 2016; Article number 16027/DOI:10.1038/NMICROBIOL.2016.27*
4. *Abdukhalilova G., Kaftyreva L., Wagenaar J.A., Tangyarikov B., Bektimirov A., Akhmedov I., Khodjiaev Z., Kruse H. Occurance and antimicrobial resistance of Salmonella and Campylobacter in humans and broiler chicken in Uzbekistan // Journal of the WHO Regional Office for Europe: Public Health Panorama. 2016; 2 (3): 340–347.*
5. *Sokolova E., Galaeva A., Samuri O., Didichenko O., Sokolov Y., Muratov V., Gligorov O., Zhuravleva I., Makarova M., Kaftyreva L. PCR in the diagnosis of acute enteric infections in children's infectious hospital: opportunities and challenges // Infection and immunity. 2016; 6 (3): 225–231. (In Russian).*
6. *Kaftyreva L., Egorova S., Makarova M., Kraeva V., Pakhomova G. Diagnosis of extraintestinal salmonellosis and particularity of Salmonella antimicrobial susceptibility testing // Guide of the head of clinical diagnostic laboratory. 2016; 12: 70–79. (In Russian).*
7. *Svetlichnya Y., Egorova S., Makarova M., Karnauhova L., Daryina M., Kolosovskaya E., Kaftyreva L. The prevalence of antimicrobial resistance in K. pneumoniae and E. coli // Preventive and clinical medicine. 2016; 4 (61): 70–76. (In Russian).*
8. *Svetlichnya Y., Kolosovskaya E., Kaftyreva L., Zueva L., Daryina M., Zakhvatova A. The epidemiology of nosocomial infections in the intensive care unit of a multidepartment hospital // HIV infection and immunosuppression. 2016; 8 (4): 23–29. (In Russian).*

LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE MEDICALE

Chef du laboratoire: Liudmila Kraeva
Chercheurs permanents: E.A. Voskresenskaya, N.I. Kurova, G.I. Kokorina, E.A. Bogumilchik, G.N. Khamdulaeva, E.S. Kunilova, T.V. Saines, E.V. Zueva

Identification de *Yersinia kristensenii* par la spectrométrie de masse MALDI-TOF

Les bactéries de l'espèce *Yersinia kristensenii* appartiennent au groupe de soi-disant *Y. enterocolitica* hétérophile (*Y. enterocolitica*-like) non pathogènes. Les méthodes d'identification de l'activité biochimique des germes ne sont pas toujours convenables pour identifier de façon précise les phénotypes de différents représentants des espèces *Y. enterocolitica*-like. La spectrométrie de masse MALDI-TOF est une alternative efficace aux méthodes phénotypiques traditionnelles. Or l'application de cette méthode est restreinte à cause de la différenciation imprécise entre la majorité des souches de *Y. enterocolitica*-like et les souches de *Y. enterocolitica*. Ceci s'explique par le petit nombre de spectres témoins de ces souches dans les bases de données taxonomiques MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, Allemagne).

Pour cette raison, les *Y. kristensenii* sont souvent pris pour *Y. enterocolitica*: pour 77% de souches de *Y. kristensenii* (n = 131) étudiés nous n'avons pas pu établir une différence entre les espèces de *Y. kristensenii* et *Y. enterocolitica*, et seulement 23% de souches ont été identifiées précisément jusqu'à l'espèce.

En vus d'améliorer la qualité de l'identification, nous avons procédé aux activités suivantes: établissement du référentiel de spectres de masse pour *Y. kristensenii*; détection de la combinaison des piques de marquage dans les spectres de masse pour *Y. kristensenii* appropriées à la différenciation d'espèces; évaluation de l'utilité de la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour identifier les souches de *Y. kristensenii*.

Pour établir le référentiel, nous avons utilisé les spectres de masse pour 8 souches de *Y. kristenseni* isolées en Russie et décrites par les méthodes de phénotypage et de génétique moléculaire, ainsi que celui de la souche témoin IP7229 (collection de l'Institut Pasteur, Paris). Les piques différentiels des souches ont été mises en évidence à l'aide d'un algorithme génétique de création de modèle. En qualité de comparaison, nous avons utilisé les données relatives aux piques de profil pour la souche DSM18543 du référentiel de spectres (Bruker Daltonics). En vue de réidentifier 47 souches de *Y. kristensenii*, nous avons adopté l'approche consistant à compléter le référentiel existant de spectres. Suite au rajout des profils de différentes souches témoins à la base de données, les 47 souches ont pu être précisément identifiées jusqu'à l'espèce. En plus, nous avons constaté une différence statistiquement significative dans les taux de similitude (Score Value) entre les spectres de masse de la majorité de souches étudiées de *Y. kristensenii* et les spectres de masse témoins de *Y. kristensenii* et *Y. enterocolitica* provenant du référentiel de Bruker Daltonics.

Ainsi, la méthode MALDI-TOF MS, complété par l'établissement d'un référentiel de spectres de masse, permet de différencier de façon fiable les souches de *Y. kristensenii* et *Y. enterocolitica* et peut, donc, être recommandé pour l'identification des souches de *Y. kristensenii*.

Incidence de la coqueluche parmi les habitants adultes de Saint-Pétersbourg et établissement de recommandations concernant la vaccination

La coqueluche est surtout dangereuse pour les enfants de première année de vie. Le cycle de vaccination primaire contre la coqueluche se termine à l'âge de 6 mois, par conséquent, même les enfants sains et vaccinés à temps, s'ils ont moins de 6 mois, font partie du groupe de risque pour cette infection. La source principale de l'infection pour les nourrissons sont leurs frères et sœurs aînés et les membres de famille adultes; en plus, l'infection peut provenir du personnel médical. Sans revacciner les individus entourant l'enfant de 6 premiers mois de vie, il est impossible de réduire la morbidité dans cette tranche d'âge. En 2016, la Fédération de Russie a enregistré le vaccin Adasel autorisée pour la revaccination contre le tétanos, la diphtérie et la coqueluche chez les individus âgés entre 4 et 64 ans, ce qui ouvre la voie à une meilleure protection des nourrissons. Or la revaccination contre la coqueluche n'est pas encore incluse dans le calendrier national de vaccination; en plus, il n'y a ni instruction ni recommandation méthodologique concernant le choix de la population pour la revaccination.

Notre laboratoire a entamé une étude visant à évaluer le taux d'incidence de coqueluche parmi la population adulte de Saint-Pétersbourg, y compris parmi le personnel pédiatrique, afin d'identifier les groupes de risque et d'établir les recommandations concernant la vaccination. L'objectif était d'évaluer l'incidence de la coqueluche parmi la population adulte de Saint-Pétersbourg à base du nombre élevé d'anticorps contre la toxine pertussique (TP) en tant que marqueur de la maladie/de l'«épidémisation» lors des 12 derniers mois, parmi une cohorte de population (âge ≥ 18 ans); et décrire la distribution de la maladie en fonction de l'âge. Méthode de l'étude: ELISA afin d'identifier les anticorps à la toxine pertussique (IgG, IgA). Le test d'anticorps est considéré comme positif si IgG ≥ 40 MU/ml, IgA ≥ 12 MU/ml.

A la première étape, nous avons examiné le personnel médical d'un des hôpitaux pédiatriques multidisciplinaires, soit: 129 personnes âgées de 20–69 ans (âge moyen 39,1 ans) dont 18 hommes et 111 femmes. Les anticorps à la toxine pertussique ont été identifiés chez 13 médecins (10,1%). Cinq d'entre eux ont nié la toux en anamnèse, quatre ont reporté les périodes de toux lors de la dernière année, quatre encore toussaient au moment de l'examen. Les résultats obtenus témoignent d'une circulation plus large du germe de coqueluche parmi le personnel médical. La recherche continue.

Développement de la méthode d'identification express des germes d'infections à base de micro-technologies

La méthode classique d'étude de bactéries consiste à cultiver les micro-organismes et étudier leurs propriétés biologiques. Or, cette méthode prend beaucoup de temps

(plusieurs jours). Ainsi, elle ne peut être utilisé dans les cas où il faut un prompt résultat, soit, lors des opérations, en cas de sepsis, de développement grave du processus infectieux etc. Dans tous ces cas, le médecin traitant doit prendre la décision sur un traitement causal en quelques heures.

Nous avons mis au point une méthode permettant de cultiver les clones isolés de toute bactérie depuis le matériel biologique en 3 heures. La croissance rapide de micro-organismes est assurée par la composition proposée du milieu de culture. Chaque cellule de microbe est cultivée dans un casier séparé sur une membrane poreuse en oxyde d'aluminium anodique. Au bout de 3 heures d'incubation, on procède à la lecture de l'information visuelle à l'aide d'un détecteur vidéo dédié qui peut agrandir l'image. L'image obtenue d'une microcolonie isolée est identifiée jusqu'à l'espèce à l'aide d'un logiciel dédié. La probabilité de la concordance des résultats s'élève à 90%. Un compteur spécial permet de calculer le nombre de bactéries de chaque espèce dans la preuve examinée. Ceci est particulièrement important pour l'examen des matières biologiques contenant plusieurs espèces de microorganismes.

Ainsi, 3 heures après l'inoculation du matériel biologique, nous obtenons les informations sur les espèces et les quantités de bactéries. Ensuite, la culture vivante de microorganismes permet un traitement ultérieur en vue d'étudier d'autres propriétés biologiques, y compris réaliser l'express-test pour la sensibilité aux antibiotiques.

Conclusions. La technologie développée a un nombre d'avantages:

- Possibilité de cultiver les microbes immédiatement en forme de «culture pure»;
- Résultat plus fiable grâce à l'automatisation du processus;
- Sensibilité plus élevée car on traite les micro-objets;
- Identification primaire des bactérie 10 à 20 fois plus rapide;
- Possibilité de calculer automatiquement le nombre de microorganismes dans une preuve biologique.

Signification des facteurs de virulence des bactéries facultativement pathogènes et justification de leur rôle étiologique dans le développement des processus infectieux

La confirmation de la signification étiologique d'un germe facultativement pathogène isolé depuis des cavités non stériles s'avère une tâche difficile. Ceci dit, l'indicateur purement quantitatif ne reflète pas toujours la signification étiologique d'un microbe isolé. Ainsi, en cas d'otites, sinusites, bronchites, pneumonies, ce sont les *Moraxella catarrhalis* qui sont isolés sur les muqueuses des voies respiratoires dans 20 à 30% des cas. En cas de sinusites et de rhinites prolongées, ce sont les *Staphylococcus epidermidis* qui sont découverts dans 25 à 28% des preuves de sécrétion depuis les sinus et le nasopharynx. Si le praticien évalue le résultat en se basant uniquement sur l'espèce du microorganisme isolé et sa quantité, ceci peut réduire considérablement l'efficacité de la thérapie prescrite.

C'est pourquoi l'objectif était de justifier la valeur des marqueurs de virulence génétiques et phénotypiques des souches de *M. catarrhalis и S. epidermidis* pour la définition de leur rôle étiologique dans le développement des processus infectieux au niveau des voies respiratoires et de l'oreille moyenne. Nous avons examiné 60 souches de *S. epidermidis* isolées chez les malades atteints de rhinite et de sinusite, en cherchant les gènes de virulence *sepA* et *icaA* qui codent la production de la protéase SepA et l'adhésine intracellulaire IcaA. Les souches de comparaison était 40 souches de *S. epidermidis* isolés chez les individus sains. Nous avons étudié 10 souches de *M. catarrhalis* isolés chez les malades atteints d'otite, bronchite et pneumonie, en cherchant le gène *mcaP* qui code la production des bactéries de la protéine McaP participant à l'adhésion des Moraxellas sur les cellules de la muqueuse épithéliale. En tant que produit de comparaison, nous avons examiné 8 souches de *M. catarrhalis* isolées chez les individus sains. Les manifestations phénotypiques de l'action du gène *sepA* ont été étudiées *in vitro* selon l'indice de neutrophiles lysés en présence des souches de *S. epidermidis*. L'expression du gène *mcaP* était mise en évidence après le calcul du taux de cellules de *M. catarrhalis* adhérées *in vitro* aux cellules de l'épithélium buccal.

On constate que le gène *sepA* a été identifié dans 90% des souches de *S. epidermidis* isolées depuis les malades contre 15% seulement des souches isolées chez les individus sains. Ceci dit, 80% des souches isolés chez les malades et possédant le gène *sepA* avaient le taux élevé de neutrophiles lysés contrairement aux souches des individus sains. La totalité des souches de *M. catarrhalis* isolées chez les malades avaient le gène *mcaP* contrairement aux mêmes bactéries des personnes saines. Le taux le plus élevé d'adhésion aux cellules épithéliales était constaté dans les souches de *M. catarrhalis* isolées chez individus à la pneumonie.

Conclusions. Suite à l'étude réalisée, nous avons prouvé que la confirmation du rôle étiologique d'un microorganisme facultativement pathogène devait se baser sur les informations concernant les marqueurs de virulence génétiques et phénotypiques pour la souche isolée.

Publications

1. *Bogumilchik E.A., Zueva E.V., Yarygina M.B., Karimova T.V., Klimov V.T., Chesnokova M.V., Voskresenskaya E.A. Identification of Yersinia species by MALDI TOF mass spectrometry. In the same place. Abstracts of 12th international Yersinia symposium. Tbilisi, 2016: 34–35.*
2. *Gvozdev Yu.A., Zimina T.M., Kraeva L.A. et al. Image recognition of juvenile colonies of pathogenic microorganisms in the culture based microbiological method implemented in BioMEMS device for express species identification. Proceedings of the 2016 North West Russia Section Young Researchers in Electrical and Electronic Engineering Conference (Elconrusnw) P. 759–763.*
3. *Kraeva L.A., Burgasova O.A., Kunilova E.S. et al. The pathogenic potential of Moraxella catarrhalis and Staphylococcus epidermidis under inflammatory processes of upper respiratory tracts. Klinicheskaia laboratornaia diagnostika. 2015; 60 (11): 58–61.*

LABORATOIRE DES ZOOANTROPONOSES

Chef du laboratoire: Nikolai Tokarevitch
Chercheurs permanents: N. Stoïanova, O. Freilikhman, Yu. Panferova, V. Kandrachova, O. Blinova, V. Koulikov

L'axe principal de l'activité du laboratoire en 2015–2016 a été dirigé vers le perfectionnement des technologies de surveillance épidémiologique et du contrôle des épidémies d'actualité sur la base des approches moléculaires génétiques et immunologiques. Dans le cadre de cette option le laboratoire a oeuvré à la résolution des problèmes suivants:

Analyse comparée d'efficacité des différentes cibles et des modifications de la méthode PCR pour la détection de *Coxiella burnetii*

Il a été réalisée une comparaison des potentialités diagnostiques des deux variantes de la méthode PCR pour la détection de persistence de *Coxiella burnetii* dans l'évolution du processus infectionniste chez les malades atteints de la fièvre Q. Les échantillons ont été étudiés en PCR standard (en tant que marqueur a été utilisé un fragment du gène 16S de l'ARN ribosomique) et dans la PCR en temps réel (PCR-TR) (en tant que marqueur a été utilisé un fragment du gène *groEL*), élaboré dans notre laboratoire pendant cette recherche (pour lesquelles le laboratoire a obtenu le brevet de la Fédération de Russie — No. 2525059).

Au cours du travail ont été étudiés 110 échantillons des produits cliniques obtenus des malades atteints de la fièvre Q aux différents stades de la maladie et la reconvalescence dans une région endémique pour cette infection (oblast d'Astrakhan).

Il est établi que la PCR standard basée sur l'amplification du fragment du gène 16S de l'ARN ribosomique a été positive dans 76,4% et la PCR-TR basée sur l'amplification du fragment du gene *groEL* — dans 98,2% du nombre total d'échantillons (110). Dans deux systèmes indiqués la plus haute sensibilité a été notée pour la PCR-TR, y compris au stade avancé de la maladie (21–31-ème jour), ce qui permet d'effectuer le diagnostic par la méthode PCR-TR même au stade de reconvalescence et pendant l'antibiothérapie intense.

La signification pratique de la recherche: il a été établi que l'amplification des cibles génétiques comme 16S de l'ARN ribosomique et le fragment du gène *groEL* est une méthode hautement efficace de détexion des *Coxiella burnetii* dans le sang des malades atteints de la fièvre Q aux différents stades de la maladie. A été démontrée la haute sensibilité de la PCR-TR élaborée qui permet non seulement de diagnostiquer la fièvre Q aux stades précoces de la maladie mais aussi d'effectuer une analyse retrospective en utilisant ce marqueur génétique pour détecter l'étiologie des maladies ayant *Coxiella burnetii* à leur origine.

Détection des agents des infections de focalité naturelle d'actualité pour le Nord-Ouest de la Russie

Vu la croissance de morbidité des infections véctorielles à tiques sur le territoire de la partie nord-européenne de la Fédération de Russie sous l'influence des facteurs biotiques et abiotiques provoqués par les changements des paysages, restent d'actualité pour le Nord-ouest de la Russie les recherches de détection des agents des infections de focalité naturelle.

Dans le cadre de coopération internationale avec l'Institut norvégien de la santé publique (du coté norvégien le programme est dirigé par le docteur A.K. Andreassen) a été effectué le travail selon le projet commun «Maladies vectorielles à tiques dans la région de la mer de Barents et sur le littoral ouest du Norvège».

Au cours de cette recherche a été étudiée avec la PCR la contamination des tiques avec les agents de l'encéphalite à tiques (ET), les tiques du genre Ixodes vecteurs de la borréliose (TIB) et la fièvre Q — *Coxiella burnetii*. Pour la récolte des tiques à partir de la végétation la technique du drapeau a été utilisée sur le territoire des arrondissements Kourortny, Primorsky de Saint-Pétersbourg, des oblasts de Léningrad, Pskov, Arkhangelsk et de la République de Carélie dans la saison de 2015–2016. 1147 tiques ont été étudiées au sujet de la présence de l'ADN de *Borrelia burgdorferi* s.l. et de l'ARN du virus de l'encéphalite à tiques. La contamination des tiques avec les borrélies a fait 15,4%, avec le virus de l'encéphalite à tiques — 2,6%, dont les indices les plus élevés ont été enregistrés en République de Carélie (respectivement 26,7 et 8,0%), qui témoignent de la plus forte activité des foyers naturels des infections mentionnées sur ce territoire. 110 tiques récoltées à Saint-Pétersbourg ont été étudiées au sujet de la présence de l'ADN de *Coxiella burnetii*, dont 6,3% se sont trouveés contaminées avec cet agent.

D'autre part ont été étudiés 774 échantillons de sérum sanguin des habitants en bonne santé des oblasts d'Arkhangelsk, de Léningrad et de Pskov, des républiques de Carélie, de Komi et de la ville de Saint-Pétersbourg au sujet de la présence des anticorps de plusieurs «infections à tiques». Suite à l'étude les anticorps du virus de l'encéphalite à tiques (ET) ont été détectées dans 9,6%, du borréliose (TIB) — dans 3,9%, des agents de l'anaplasmose granulocytaire humaine — dans 1,3% et des agents de l'erlichiose monocytaire humaine dans 1,0% d'échantillons. Les résultats obtenus sont d'une grande importance pour l'élaboration des plannings scientifiquement fondés des mesures de prévention sur les territoires étudiées.

Etude de la possibilité d'utiliser la méthode de spectrométrie de masse MALDI-TOF pour identification des souches de Leptospirae au niveau des sérovars

Les méthodes de sérotypage des leptospires, telles comme le test de microagglutination directe (MAT) et le test d'agglutination-absorbtion croisée, sont coûteuses en temps et exigent l'existence et le maintien d'une collection de souches témoins de même que des sérothèques standard des sérums de lapin spécifiques par rapport aux divers sérogroupes et sérovars des leptospires. Comme les Leptospira spp pathogéniques comptent plus de 250 sérovars, pour la plupart d'entre eux il n'existe pas d'antisérums correspondants, ce qui limite les possibilités de ces méthodes

relatives au typage des souches épidémiologiquement importantes. En même temps malgré le progrès des recherches moléculaires génétiques, réalisé dans les dernières décennies, les méthodes de génotypage ne permettent pas encore d'identifier les leptospires au niveau des sérovars.

Dans les recherches effectuées a été utilisé un choix de souches de référence de Leptospira utilisées dans le MAT dont quatre souches de l'espèce *L. interrogans*, une souche de l'espèce *L. borgpetersenii*, deux souches de l'espèce *L. kirschneri* et une souche saprophytique de *L. biflexa* de même que 10 souches des leptospires isolées dans le Nord-Ouest de la Russie à partir des personnes et animaux malades. Toutes les souches étudiées se trouvent dans la collection de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg (Tabl. 5).

Pour composer une collection de spectres de masse de référence a été réalisée une analyse par spectrométrie de masse de sept souches pathogènes de référence bien caractérisées de Leptospira spp., faisant partie du set de diagnostic pour la mise en oeuvre du MAT, et d'une souche non pathogène Patoc I. L'évaluation des différents spectres, faisant partie du spectre témoin de chaque souche de référence, effectuée au moyen d'une analyse amas par la méthode des principaux composants, a démontré une nette décomposition des différents spectres en agglomérats suivant les sérovars correspondants. Pour définir une similitude et une parenté taxinomique entre les souches de référence et les isolats étudiés de *Leptospira* spp. a été effectuée une analyse de leurs principaux profils spectraux au moyen de composition d'un dendrogramme représentant une hiérarchie de toutes les 18 souches (Fig. 1)

Sur le dendrogramme on voit que les profils de toutes les souches étaient réunis en trois sous-groupes. Ce faisant le sous-groupe I était composé des souches faisant partie du sérogroupe Grippotyphosa, le sous-groupe II — des souches du sérogroupe Tarassovi et le sous-groupe III contenait les profils des souches des sérogroupes Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, de même que de la souche non pathogène Patoc 1.

L'identification des isolats des leptospires a été effectuée par la confrontation de non moins de six différents spectres de masse de la souche étudiée avec les données des spectres témoins des souches de référence. Pour chaque isolat a été indiqué un sérovar de référence au niveau duquel cet isolat a été préalablement identifié par la méthode d'agglutination-apsorption.

Des résultats présentés au Tabl. 6 il ressort que pour tous les isolats étudiés, lors de la confrontation de leurs spectres avec le MSP des souches pathogènes de référence, les valeurs les plus élevées des taux de comparaison ont été enregistrées pour les sérovars correspondants de référence. En même temps lors de la confrontation avec la souche saprophytique Patos les valeurs de coïncidence des isolats 125A, Kp1 et Kp3 avec lui ont été légèrement plus élevées qu'avec les sérovars correspondants de référence. D'autre part on n'a pas révélé de différence authentiquement significative entre les valeurs de l'indice de coïncidence de la plupart des isolats avec le saprophyte, excepté les isolats faisant partie des sérogroupes Tarassovi et Grippotyphosa.

Les exemples de représentation graphique des résultats de classification des quatre isolats sont présentés sur le Fig. 2. Les indices de classification authentiquement les plus significatifs ont été observés pour les isolats des sérogroupes Grippotyphosa, Pomona et Tarassovi, tandis que pour les isolats des sérogroupes Canicola et Icterohaemorrhagiae la différence statistiquement significative n'a été révélée qu'avec les sérovars Tarassovi et Grippotyphosa.

Les résultats témoignant de forte proximité entre les souches pathogènes des sérogroupes Pomona, Icterohaemorragiae, Canicola et la souche non pathogène Patoc I concordent avec les données bien connues sur ce que les

Tableau 5. Souches de référence de *Leptospira* et isolats des leptospires inclues à la recherche

No. d'ordre	Sérogroupe	Sérovar	Souche	Espèce génomique	Source, date d'isolation
1	Pomona	pomona	Pomona (référence)	*L. interrogans*	homme, 1936
2	Pomona	mozdoc	5621 (référence)	*L. kirschneri*	campagnol terrestre, 1961
3	Semaranga	patoc	Patoc I (référence)	*L. biflexa*	eau, 1941
4	Canicola	canicola	Hond Utrecht IV, (référence)	*L. interrogans*	chien, 1931
5	Icterohaemorrhagiae	copenhageni	M 20 (référence)	*L. interrogans*	homme, 1935
6	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA (référence)	*L. interrogans*	homme, 1915
7	Grippotyphosa	grippotyphosa	Moskva V (référence)	*L. kirschneri*	homme, 1928
8	Tarassovi	tarassovi	Perepelicin (référence)	*L. borgpetersenii*	homme, 1938
9	Icterohaemorrhagiae	copenhageni	125A* (isolat)	*L. interrogans*	homme, 2008
10	Icterohaemorrhagiae	copenhageni	278 P (isolat)	*L. interrogans*	homme, 1982
11	Canicola	canicola	C2000 * (isolat)	*L. interrogans*	chien, 2000
12	Canicola	canicola	334M * (isolat)	*L. interrogans*	homme, 2000
13	Pomona	pomona	Св185 (isolat)	*L. interrogans*	porc, 1959
14	Pomona	mozdoc	Kp1 (isolat)	*L. kirschneri*	rat de laboratoire, 1988
15	Pomona	mozdoc	Kp3 (isolat)	*L. kirschneri*	rat de laboratoire, 1987
16	Grippotyphosa	grippotyphosa	338 M (isolat)	*L. kirschneri*	homme, 2003
17	Grippotyphosa	grippotyphosa	329 K (isolat)	*L. kirschneri*	homme, 1995
18	Tarassovi	tarassovi	288 Б (isolat)	*L. borgpetersenii*	homme, 1985
19	Tarassovi	tarassovi	282 T (isolat)	*L. borgpetersenii*	homme, 1985

* Les souches sont conservées dans la Collection des leptospires du laboratoire de références de leptospirose de l'OMS auprès de l'établissement fédéral relevant du budget public «Centre fédéral de recherche en épidémiologie et microbiologie N.F. Gamalei du Ministère de la santé de la Fédération de Russie».

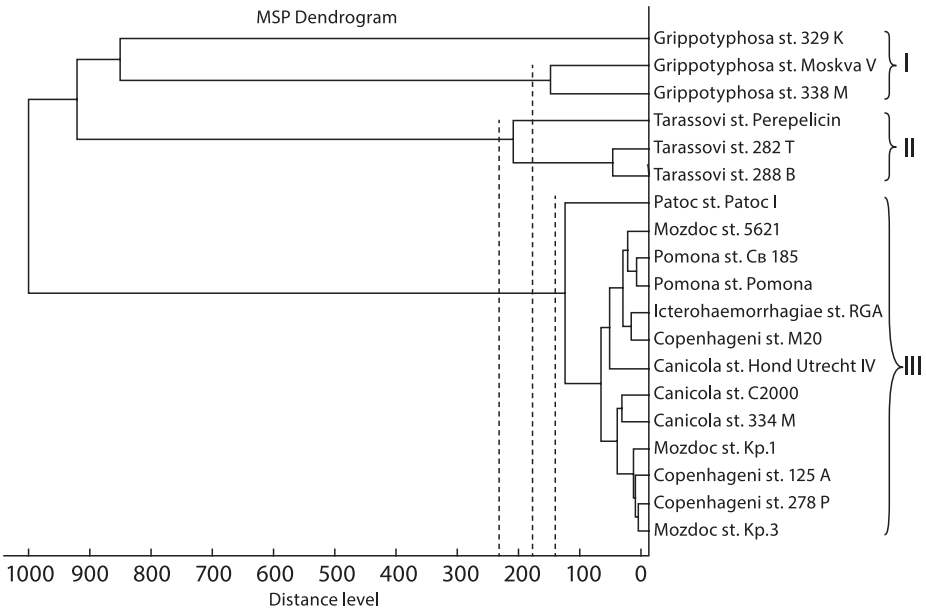


Figure 1. Coalescence hiérarchique des spectres des souches de référence et des isolats de *Leptospira*
Sur l'axe des abscisses est représentée la distance avec les unités de valeur de similitude («distance euclidienne») entre les profils spectraux. Les lignes verticales en pointillé représentent le détachement des valeurs de similitude entre les agglomérats.

sérums sanguins des malades atteints de leptospirose manifestent dans le MAT une réactivité croisée avec certaines souches saprophytiques. Il est prouvé que l'interférence immunologique de ces saprophytes avec les sérovars pathogènes est conditionnée par la similitude des structures de leurs lipopolysaccharides.

Les résultats d'identification de dix isolats ont aussi démontré l'absence de toute différence authentiquement significative entre les évaluations de similitude de la majorité d'entre elles avec la souche saprophytique Patoc I. Les résultats obtenus de similitude des souches pathogènes faisant partie des sérogroupes Pomona, Icterohaemorrhagiae et Canicola avec la souche non pathogène L. Biflexa Patoc I ont permis de supposer qu'aussi bien les spectres étudiés des isolats que les spectres témoins des souches de référence contiennent dans leurs compositions non seulement les pointes des protéines mais aussi celles des antigènes-O polysaccharides, dont la différence de structure est à l'origine d'une spécificité sérologique. Probablement la présence des pointes polysaccharides dans les spectres a conditionné l'obtention des valeurs maximum des indices de coïncidence des isolats avec les spectres témoins des sérovars correspondants des souches pathogènes au niveau desquels les isolats ont été sérotypés et, globalement, a permis d'identifier correctement les isolats conformément à leur classification sérologique.

Les résultats obtenus témoignent de ce que les recherches ultérieures visant à la création d'une collection des spectres témoins comportant un vaste choix des souches de référence de *Leptospira* spp., le perfectionne-

Tableau 6. Résultats d'identification des isolats des leptospires par la méthode de spectrométrie de masse MALDI-TOF

Sérogroupe de l'isolat (MAT)	Souche de l'isolat	Valeur moyenne (M) de l'indice de coincidence de l'isolat avec le MSP du sérovar de référence et la différence par rapport à lui des valeurs moyennes des indices de coincidence de l'isolat avec les sérovars des souches de référence							
		pomona	mozd.	patoc	canicola	copenh.	ictero.	grippot.	tarass.
Ictero.	125A	0,15	0,34	–0,08	0,08	**M = 2,2**	0,04	0,56*	1,30***
Ictero.	278P	0,32	0,53	0,12	0,21	**M = 2,3**	0,16	1,09**	1,46***
Canicol.	C2000	0,13	0,39*	0,04	**M = 2,1**	0,40*	0,23	0,42*	0,84***
Canicol.	M480	1,6***	0,09	0,15	**M = 2,4**	0,13	0,38	0,23	2,0***
Pomona	Св185	**M = 2,7**	0,50**	0,27	0,57**	0,49*	0,63***	0,93***	0,85***
Pomona	Кр1	0,67***	**M = 2,3**	–0,07	0,21	0,50**	0,30	0,38*	0,88***
Pomona	Кр3	0,66*	**M = 2,3**	–0,06	0,25	0,66*	0,13	0,52*	1,64***
Grippot.	338M	0,15	0,52**	0,19	0,41*	0,27	0,39*	**M = 2,1**	0,65**
Grippot.	329K	0,77***	0,48**	0,31*	0,66***	0,47**	0,95***	**M = 2,3**	1,10***
Tarass.	288Б	0,55	0,79**	1,4***	0,94***	0,89**	0,91***	1,15***	**M = 2,2**
Tarass.	282T	1,1*8	1,11*	1,20**	0,83	1,57***	1,21**	1,47**	**M = 2,0**

*P < 0,05; **P < 0,01; *** P < 0,001 — niveaux de significativité entre les indices de coincidence selon le test de comparaison multiple avec utilisation du test de Dunnett.

ment du protocole de spectrométrie de masse, de même que la réalisation des tests avec un grand nombre d'échantillons des souches isolées, peuvent favoriser le choix de la méthode de spectrométrie de masse MALDI-TOF rapide et simple d'utilisation pour identifier les agents de leptospirose au niveau des sérovars.

L'étude a été effectuée ensemble avec le Chef chargé de recherche du Laboratoire d'immunologie moléculaire et de séroépidémiologie de l'Institut Pasteur — E.V. Zoueva.

Elaboration du modèle d'étude *in vitro* des produits de certains cytokines pro- et anti-inflammatoires sous l'influence des leptospires

Une recherche a été effectuée visant à l'étude de la capacité de certains isolats cliniques des leptospires de provoquer la production de certains cytokines pro- et anti-inflammatoires sur le modèle du sang humain total.

Pour cette expérimentation a été utilisée la souche Leptospira interrogans du sérogroupe Icterohaemorrhagiae de la collection du laboratoire des infections zooantroponoses de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg. L'agent a été isolé à partir du sang du malade mort de l'infection leptospirosique. La stimulation du sang du donneur en bonne santé avec des leptospires vivantes et mortes a été effectuée pendant 24 heures. Les supernageants ont été prélevés 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 12h et 24 heures après le commencement de l'incubation. Pour la détection des cytokines dans la matière biologique a été utilisé l'analyseur «MagPix» («Millipore», USA), basé sur la technologie xMAP de la société Luminex (USA) avec utilisation d'un éventail standard de 9 analytes: TNFα, MCP-1, IL-8, IL-4, IL-6, IL-10, IL-1Ra, IL-12(p70), IFNγ.

Dans l'étude préliminaire a été choisie une concentration optimum des leptospires permettant d'effectuer la stimulation du sang total dans notre expérimentation. Comme on voit sur les graphiques (Fig. 3–4) la pointe de stimulation

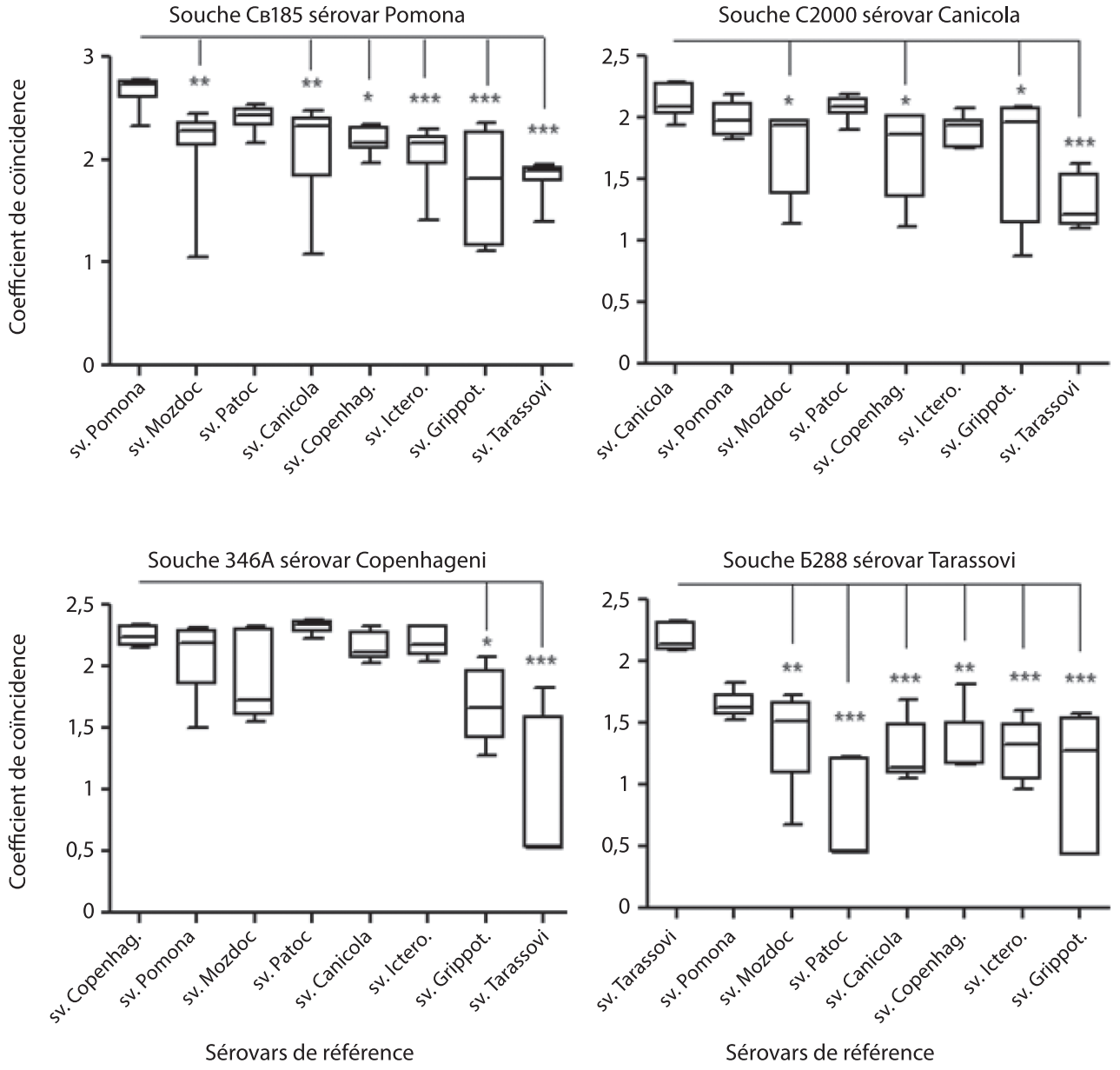


Figure 2. Diagrammes classificatoires de quatre isolats des leptospires
Le niveau de significativité entre les indices de coïncidence est calculé avec utilisation du test de Dunnett.

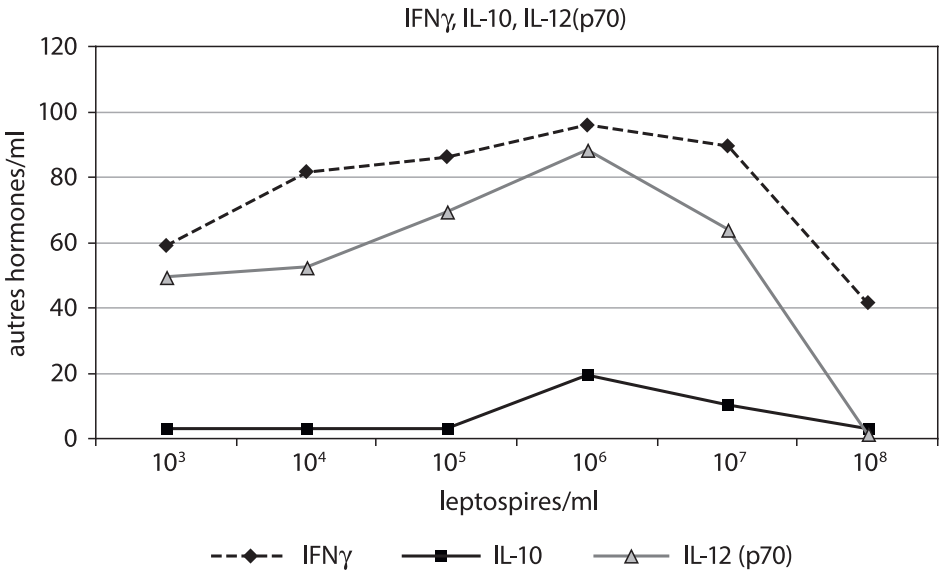


Figure 3. Teneurs en IFNγ, IL-10, IL-12(p70) dans les supernageants après 24 h de stimulation avec des leptospires en différentes concentrations

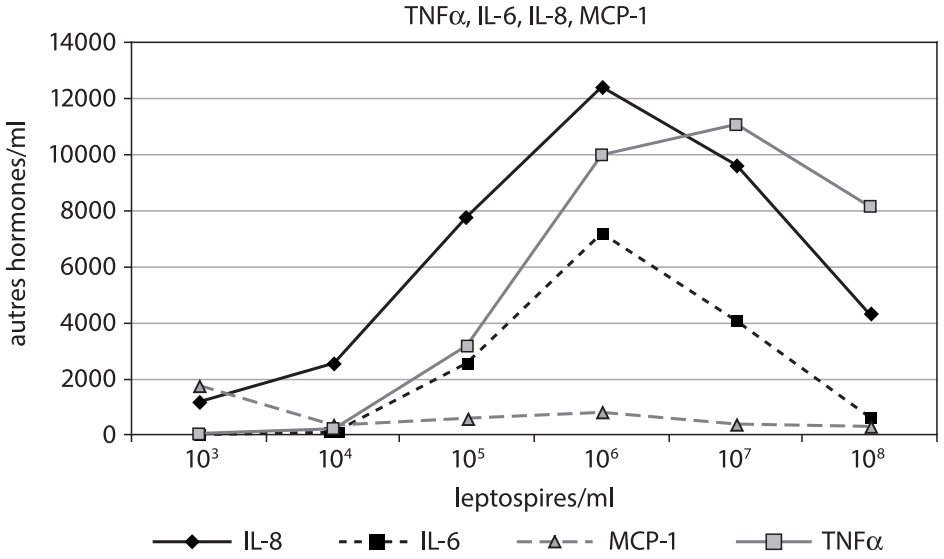


Figure 4. Teneurs en TNFα, IL-6, IL-8, MCP-1 dans les supernageants après 24h de stimulation avec des leptospires en différentes concentrations

avec une incubation de 24 heures des leptospires avec le sang total est le mieux exprimée avec la concentration des microorganismes égale à 1 x 10^6 leptospires/ml.

Pendant la première expérimentation il a été établi que les leptospires vivantes agissent comme inducteurs plus puissants de production des cytokines que les mêmes leptospires inactivées par échauffement (pour IFNγ p = 0,0156, pour IL-12(p70) p = 0,0012, pour IL-4 p = 0,01, pour IL-8 p = 0,026, pour IL-1Ra p = 0,0012). Ainsi l'induction de la synthèse de IFNy avec des leptospires vivantes se déroule plus activement qu'avec des leptospires inactivées. La pointe de synthèse de cette cytokine se situe à la 3-ème heure de stimulation. La pointe de synthèse analogue, située à la 3-ème heure, a été révélée pour IL-12(p70) au cas de stimulation avec des bactéries inactivées. Au cas de stimulation avec les agents vivants de leptospirose le niveau maximum IL-12(p70) est observé déjà vers la deuxième heure d'incubation, puis il reste pratiquement invariable.

Une dynamique semblable est observée aussi pour la cytokine anti-inflammatoire IL-1Ra dont les pointes de synthèse pour les leptospires vivantes et inactivées par échauffement sont observées respectivement à la deuxième et à la troisième heure d'incubation. Après avoir atteint sa valeur maximum dans les deux cas le niveau de cette cytokine reste invariable. La situation similaire s'observe aussi pour IL-4.

Une dynamique différente d'autres cytokines a été également observée pour IL-8 et TNFα, dont les pointes de synthèse plus tardives que pour d'autres cytokines se situent à la 6-ème heure. Pendant toute l'expérimentation la concentration du MCP-1 n'a pas varié considérablement.

Ainsi a été trouvée une concentration optimum de Leptospirosa interrogans pour la stimulation du sang humain total — 1 x 10^6 leptospires/ml.

Pour la première fois sur le modèle du sang humain total a été défini l'horaire d'induction de 9 cytokines par des

leptospires: aux premières heures d'incubation on assiste à une production plus active de IFNγ, IL-12(p70), IL-4 et IL-1Ra et aux heures plus avancées (incubation de 6 heures) — IL-8 et TNFα. Le bas niveau de stimulation de IL-10 témoigne d'une faible activité anti-inflammatoire des cytokines au cas de leptospirose.

Les données obtenues s'accordent bien avec les résultats de nos recherches effectuées auparavant, visant à l'étude de la teneur de certaines cytokines dans le sérum sanguin des personnes malades de leptospirose, ce qui peut témoigner du caractère adéquat du modèle utilisé.

Il a été démontré que Leptospirosa interrogans *in vitro* provoque sur le modèle du sang humain total une production des cytokines plus forte que celles inactivés de la même concentration.

L'étude a été effectuée ensemble avec O.A. Petrova, chargée de recherche du Laboratoire d'immunologie moléculaire et de séroépidémiologie de l'Institut Pasteur.

Publications

1. *Zueva E.V., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K., Totolian A.A. Differentiation of Leptospira spp. strains by MALDI-TOF mass spectrometry // Problems in medical mycology: Russian-Chinese Scientific and Practical Conference on Medical Microbiology and Clinical Mycology (18th Kashkin Readings). Abstracts.. 2015; 17 (2): 74.*
2. *Zyeva E.V., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K., Totolian A.A. A rapid way to control the collection of reference strains of Leptospira spp. by the method of MALDI-TOF mass spectrometry // Common threats — joint actions. Response of the BRICS states to the challenges of dangerous infectious diseases: Proceedings of the International Conference. Eds. A.Yu. Popova, V.V. Kutyrev. Moscow, 2015: 165–168.*
3. *Zyeva E.V., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K., Totolian A.A. MALDI-TOF mass-spectrometric analysis of Leptospira spp. used in serodiagnosis of leptospirosis // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology (Russian). 2015; 6: 28–36.*
4. *Zueva E.B., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K., Totolian A.A. Differentiation of Leptospira strains by MALDI-TOF mass spectrometry // 2nd ELS meeting on Leptospirosis and other rodent borne haemorrhagic fevers. Amsterdam, Aprill 16–17, 2015: 79.*
5. *Kubar O.I., Tokarevich N.K. Ethical and legal aspects of infections diseases and vaccination. Part 4. The balance between universal ethical and ecoethics principles on zooanthroponosis // Russian Journal of Infection and Immunity. 2015; 5 (2): 103–112.*
6. *Kuzmin V., Danko Y., Fogel L., Savenkov K., Polyakova O., Stoyanova N., Tokarevich N., Kuzina T. The epizootological, epidemiological particularities of leptospirosis in St. Petersburg // Hippology and veterinary (Russian). 2015; 3 (17): 43–46.*
7. *Kulikov V.N., Kozarenco A.A., Tokarevich N.K., Stoyanova N.A. Development of recombinant Leptospira antigenes for the purpose of creation of immunoassay test kit for diagnosis of leptospirosis // Epidemiology and preventive vaccination (Russian). 2015; 2 (81): 10–12.*
8. *Ostankova Y.V., Semenov A.V., Tokarevich N.K., Stoyanova N.A. The Comparative analysis of international reference strains of Leptospira spp. by 16s rRNA gene sequence // Problems in Medical Mycology (Russian): Russian-Chinese Scientific and Practical Conference on Medical Microbiology and Clinical Mycology (18th Kashkin Readings). Abstracts. 2015; 17 (2): 121–122.*
9. *Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K., Lyubimova N.E., Petrova O.A., Ananina Yu.V., Petrov E.M. Typing of Leptospira spp. strains based on 16S rRNA // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology (Russian). 2016; 1: 35–39.*
10. *Panferova Yu., Lukyanova T., Stoyanova N., Tokarevich N. Genotyping of Leptospira spp. strains, circulating in Saint-Petersburg (Russia) using multilocus VNTR analysis // 2nd ELS meeting on Leptospirosis and other rodent borne haemorrhagic fevers. Amsterdam 16–17 Aprill 2015: 78.*
11. *Panferova Yu.A. Coxiella burnetii pathogenicity molecular basis // Russian Journal of Infection and Immunity. 2016; 6 (1): 7–24.*
12. *Panferova Yu.A., Freilikhman O.A., Tokarevich N.K., Karpenko S.F., Galimzyanov Kh.M. Comparison of diagnostic effectiveness of methods of detection of Coxiella burnetii in blood of patients with Q fever based on amplification of 16S rRNA gene fragments (standard PCR) and groEL gene (real-time PCR) // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology (Russian). 2016; 3: 70–74.*
13. *Petrova O.A., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K., Arsentieva N.A., Lyubimova N.E., Semenov A.V., Totolian A.A. Production of certain pro- and anti-inflammatory cytokines during stimulation by live and inactivated leptospira pathogens in the model of human whole blood // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology (Russian). 2015; 6: 23–28*
14. *Tokarevich N.K., Stoyanova N.A. Activity of the Parasitic Infections Department during the Great Patriotic war // Infection and Immunity (Russian). 2015; 5 (2): 175–182.*
15. *Tokarevich N., Tronin A., Gnativ B., Revich B., Bliniva O., Evengard B. Inpact of air temperature variation on the ixodid ticks habitat and tick-borne encephalitis incidence in the Russian Arctic: the case of the Komi Republic // International Journal of Circumpolar Health. 2017; 76: 1298882. doi: 10.1080/22423982.2017.1298882*
16. *Tokarevich N., Stoyanova N., Gnativ B., Kazakovtsev S., Blinova O., Revich B. Seroprevalence of Tick-borne Diseases in the Population of the European North of Russia // Medical Safety & Global Health. 2017; 6: 132.*
17. *Eremeeva M.E., Capps D., Winful E.B., Warang S.S., Braswell S.E., Tokarevich N.K., Bonilla D.L., Durden L.A. Molecular Markers of Pesticide Resistance and Pathogens in Human Head Lice (Phthiraptera: Pediculidae) From Rural Georgia, USA // Journal of Medical Entomology. 2017: 1–6. doi: 10.1093/jme/tjx039 Research article*

Département de virologie

LABORATOIRE D'ÉTIOLOGIE ET DE CONTRÔLE DES INFECTIONS VIRALES

Chef du laboratoire: Maina Bitchourina
Chercheurs permanents: N. Romanenkova, N. Rozaeva, N. Zheleznova, O. Kubar, E. Briantseva, O. Kanaeva

Surveillance de poliomyélite et des infections a entérovirus en Russie

Le Laboratoire Subnational pour la poliomyélite de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg qui fait partie du Réseau des laboratoires poliomyélitiques de l'OMS s'occupe de la surveillance virologique des paralysies flasques aiguës (PFA) et de poliomyélite paralytique associée à la vaccination (PPAV) chez les enfants de moins de 15 ans (près de 3 millions de personnes) sur 14 territoires administratifs de Russie. Les territoires administratifs envoient les échantillons des selles des enfants atteint des PFA ou de PPAV et de leurs contacts (enfants vivant à proximité immédiate), ainsi que les échantillons de selles des enfants des familles des migrants, des patients atteints des infections à entérovirus et les échantillons des eaux d'égouts à examiner. Le procédé diagnostique est réalisé en accord avec le protocole de l'OMS.

La surveillance de la circulation de poliovirus, y compris des souches sauvages et des virus dérivés du poliovirus vaccinal (VDPV), est indispensable pendant la période de post-certification d'éradication mondiale de la poliomyélite. La surveillance virologique des cas de paralysie flasque aiguë (PFA) et de la poliomyélite paralytique associée à la vaccination (PPAV) reste toujours le «standard d'or» du programme d'éradication mondiale de la poliomyélite. En même temps le rôle de la surveillance complémentaire (surveillance de l'environnement et surveillance des groupes de population à risque) devient de plus en plus important.

Au cours de la surveillance de la poliomyélite et des paralysies flasques aiguës des dernières années (2015–2016), 185 échantillons des selles ont été examinés, 14 souches des poliovirus du type 1,2 et 3 ainsi que 7 souches des entérovirus non polio (Echovirus 30, Coxsackievirus B1–6, Enterovirus 71) ont été isolées. Toutes les souches des poliovirus selon les résultats de différentiation intra typique ont été vaccinales.

Car le risque de l'importation des poliovirus sauvages dans les pays certifié exempt de poliomyélite existe jusqu'à l'éradication globale de poliomyélite, le Laboratoire de la poliomyélite de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg a effectué la surveillance virologique renforcée des groupes de population à risque, notamment, des enfants des familles des migrants du Tadjikistan, d'Ouzbékistan et d'autres pays d'Asie Centrale récemment arrivés à Saint-Pétersbourg.

Au cours de la surveillance des enfants des familles des migrants les échantillons des selles de 313 enfants ont été examinés, 2 souches des poliovirus du type 3 ont été isolées. Toutes les souches des poliovirus selon les résultats de différentiation intra typique ont été vaccinales. Les enterovirus non polio ont été isolées chez 33 enfants examinés (10,5%). Ce sont Echovirus 6, 11 et 30, Coxsackievirus B1–6 et Coxsackievirus A.

En deux ans sur les territoires ont été étudiés par la méthode virologique 3698 échantillons prélevés chez les malades de l'infection à entérovirus. Les poliovirus vaccinaux ont été isolés dans un nombre limité de cas chez les enfants vaccinés contre poliomyélite. Les entérovirus nonpolio ont été isolés dans 12,1% des échantillons avec la plus haute fréquence pour les Coxsackievirus B1–6 en 2015 et pour Echovirus 30 en 2016. Ont été également isolés Coxsackievirus A des divers sérotypes, Echovirus 6 et 9 ainsi que en faible pourcentage des cas — Entérovirus 71 et d'autres Echovirus des divers sérotypes.

En 2016 a été révélé l'étiologie de l'accroissement d'indice de morbidité de l'infection à entérovirus dans les régions de Kostroma et Saratov. Les cas des méningites virales ont été provoqué par entérovirus ECHO 30. Le facteur étiologique a été établi par les méthodes virologiques et moléculaires. La part de l'entérovirus ECHO 30 a fait 50–60% de tous les entérovirus, isolés chez les malades. Tous les entérovirus ECHO 30, isolés en 2015–2016, appartenaient au génotype H qui est apparu en Russie en 2013. L'analyse phylogénétique a démontré que les entérovirus ECHO 30 ont été les plus proches aux souches, isolées dans certaines provinces de Chine en 2010–2013. Probablement les entérovirus ECHO 30 du génotype H ont été importé en Russie du Sud-Est asiatique.

En effectuant la surveillance de l'environnement en 2015–2016 nous avons étudié 201 entérovirus (8, 9%) isolés à partir de 2254 échantillons des eaux d'égouts. Parmi les souches isolées, 64 (31, 8%) ont été identifiées comme poliovirus, 137 (68, 2%) ont été identifiées comme enterovirus non poliomyélitiques. Toutes les souches isolées du poliovirus se sont avérées vaccinales. La fréquence d'isolement des enterovirus non poliomyélitiques a été de 6,1%. La plupart des souches nonpolio de l'entérovirus appartenaient à Coxsackievirus B1–6 et Echovirus 30. D'autres ont été identifiées comme étant des Echovirus des sérotypes 6, 7, 11,13 et Coxsackievirus A des sérotypes différents.

Une corrélation de sérotype des entérovirus ECHO 30, isolés à partir des échantillons de chez les malades de l'infection à entérovirus, et des échantillons des eaux d'égouts a confirme le fait d'une circulation intense des entérovirus ECHO 30 sur les territoires des régions de Kostroma et Saratov.

En 2016 au laboratoire virologique municipal de Saint-Pétersbourg a été isolé le poliovirus du type 2 issu d'un échantillon des eaux d'égouts d'un des arrondissement de la ville. Au Laboratoire virologique subnational les poliovirus ont été réisolés de l'isolat et du produit concentré primaire. A été établie l'appartenance de ces virus au type 2. Au Laboratoire national du diagnostic de la poliomyélite (Moscou) il a été démontré que les deux poliovirus étaient vaccinaux. Le séquençage du fragment VP1 du génome a révélé le remplacement du nécléotide en position 828 qui témoigne de la transmissibilité de ce poliovirus d'un homme à un autre homme.

Comme les écoles et établissements préscolaires de l'arrondissement étaient fréquentés d'un certain nombre d'enfants apatrides arrivés des pays étrangers, le Laboratoire subnational a effectué l'examen de plus de 100 enfants des familles des migrants résidant à Saint-Pétersbourg. L'étude des échantillons des masses fécales n'a révélé la présence des poliovirus chez aucun enfant, mais chez 13 enfants (14,2%) ont été isolés les entérovirus non-polio.

Les résultats de surveillance active de l'envirionnement, qui ont permis de détecter dans les eaux d'égouts le poliovirus vaccinal du type 2, ont réaffirmé l'importance de cet élément complémentaire de surveillance dans le cadre du Programme d'éradication de la poliomyélite.

On a effectué une étude moléculaire des entérovirus isolés dans les dernières années dans les différents groupes de population (malades atteints de PFA et des infections à enterovirus, enfants des familles des migrants et enfants des écoles maternelles). Ont été déterminées les séquences nucléotidiques et ont confirmé les sérotypes de plus de 40 entérovirus nonpolio. On a identifié les on a isolé et identifié virus ECHO 30, Coxsackievirus B2, B3, B4, B5, Coxsackievirus A2, A3, A9, A10, A16 et A24, de même que les entérovirus 75 et 99 .

Chez les malades avec paralysie flasques aiguës on a isolé et identifié Coxsackievirus A2 et A16, ainsi que Coxsackievirus B4 et B5. От больных энтеровирусной инфекцией Chez les malades avec l'infection à entérovirus y compris les méningites virales on a isolé et identifié les entérovirus ECHO 30, Coxsackievirus A9 et Coxsackievirus B2, B4, B5, qui ont servi le facteur étiologique des méningites virales.

Chez les enfants dans les écoles maternelles sur le territoire du Nord de Russie B on a révélé Coxsackievirus B3 et B4. Les enfants ont été examine au moment d'organisation des collectifs juste après les vacances d'été au Sud de pays. Chez deux enfants sains résidents dans l'orphelinat au Nord-Ouest de Russie on a isolé et identifié les entérovirus 99, qui ont été dépisté dans les années présidentes chez les enfants des familles des migrants arrives des Républiques de l'Asie Centrale. L'enquête a découvert que dans cet orphelinat avait périodiquement résidé un enfant de Tadjikistan qui pouvait être source de contagion d'autres enfants.

A partir des enfants des migrants, arrivés des territoires à risque d'infection, ont été isolés et identifiés aussi bien les Coxsackievirus B3 et B4 largement répandus, que le Coxsackievirus A24 de l'espèce des entérovirus C qu'avant nous avons isolé seulement à partir des enfants des migrants issus des républiques d'Asie Centrale.

Dans les échantillons des eaux d'égouts ont été détectés les entérovirus Coxsackie B3 et B5 ce qui la preuve de leur circulation étendue dans la population. La détection fréquente des entérovirus non-polio Coxsackie B1–6, aussi bien chez les malades atteints des infections à entérovirus que dans les échantillons des eaux d'égouts, a confirmé la corrélation des sérotypes des entérovirus circulant dans la population et dans l'environnement.

Au Fig. 5 est présenté l'arbre phylogénétique de la région génomique VP1 des Coxsackievirus B3.

L'analyse de l'arbre phylogénétique a permis d'établir que les virus Coxsackie B3 ont été importés dans deux établissements pour enfants à partir des sources différentes ces virus se trouvant dans des taxons différents. Dans un établissement pour enfants, où a eu lieu la propagation des virus, on voit qu'ils sont proches entre eux et similaires du virus isolé à partir d'un migrant arrivé au District fédéral Nord-Ouest de Tadjikistan. Le Coxsackievirus B3 isolé à partir d'un enfant, arrivé de l'Inde, est proche du virus chinois de 2008. Le virus isolé à partir des eaux d'égouts s'est trouvé proche du virus chinois de 2012.

Au Fig. 6 est présenté l'arbre phylogénétique de la région génomique VP1 des Coxsackievirus B4.

Les Coxsackievirus B4 isoles chez les enfants sains dans deux écoles maternelles sur le territoire du Nord de Russie étaient très proches entre eux et proches aux virus de même sérotype isoles en Europe en 2008. Par contre les deux virus isoles chez les enfants sains qui sont arrive à Saint-Pétersbourg de Caucase du Nord étaient proches entre eux et proches aux Coxsackievirus B4 qui circulaient à l'Inde en 2009. Coxsackievirus B4 isole chez l'enfant avec paralysie flasques aiguës qui habitait la région de Leningrad était proche au virus isole à Nijniy Novgorod en 2010.

En 2015–2016 on a déposé à International GenBank les séquences nucléotidiques de 35 souches des enterovirus, qui pourront être utilisées par d'autres chercheures étudiant le problème de l'infection à enterovirus.

Durant la surveillance renforcée des enfants des familles des migrants chez 20% d'entre eux les entérovirus non polio des sérotypes qui n'ont jamais circulé dans les territoires du Nord-Ouest de Russie ont été dépistés. Ce sont Coxsackievirus A 13, 17, 24 et entérovirus 99, appartenant à l'espèce C selon la classification des entérovirus. Le fait important est que les Poliovirus appartiennent à la même espèce.

Les résultats d'étude des échantillons des selles des enfants atteints des PFA ou de PPAV et de leurs contacts, des enfants des familles des migrants et des malades atteints de l'infection à entérovirus ont prouvé que tous les territoires de la région sous la surveillance ont gardé le statut des territoires Nord-Ouest de Russie comme exempt de poliomyélite. Il convient de maintenir le haut niveau de couverture par les vaccinations contre la poliomyélite des enfants de tous les groupes d'âge et assurer une bonne qualité de surveillance épidémiologique et virologique de la poliomyélite et des paralysies flasques aiguës.

Les données obtenues témoignent de ce que seule la combinaison de surveillance des paralysies flasques aiguës, de la population à risque et de l'environnement peut nous fournir les données précises sur la circulation du poliovirus, y compris des souches sauvages et des VDPV dans la population et dans l'environnement. Ce qui peut garantir à la région sous la surveillance le maintien du statut du territoire exempt de la poliomyélite après les cas d'importation des poliovirus sauvages.

Perfectionnement de la surveillance épidémiologique de la rougeole et de la rubéole dans la période de l'élimination de l'infection

En 2015 a été effectuée une étude de 11 échantillons de sérum sanguin obtenus des malades de la rougeole, 50 échantillons obtenus des malades de la rubéole et 183 échantillons obtenus des malades des divers types d'exanthèmes tous issus de 11 territoires du District fédéral Nord-Ouest. Dans le groupe des malades au diagnostic primaire rougeole la maladie n'a été confirmée que dans un seul cas (9,1%), dans celui du diagnostic primaire rubéole chez deux malades (4%) a été détectée la rougeole, dans celui des exanthèmes la rougeole n'a été détectée que dans un seul cal (0,5%).

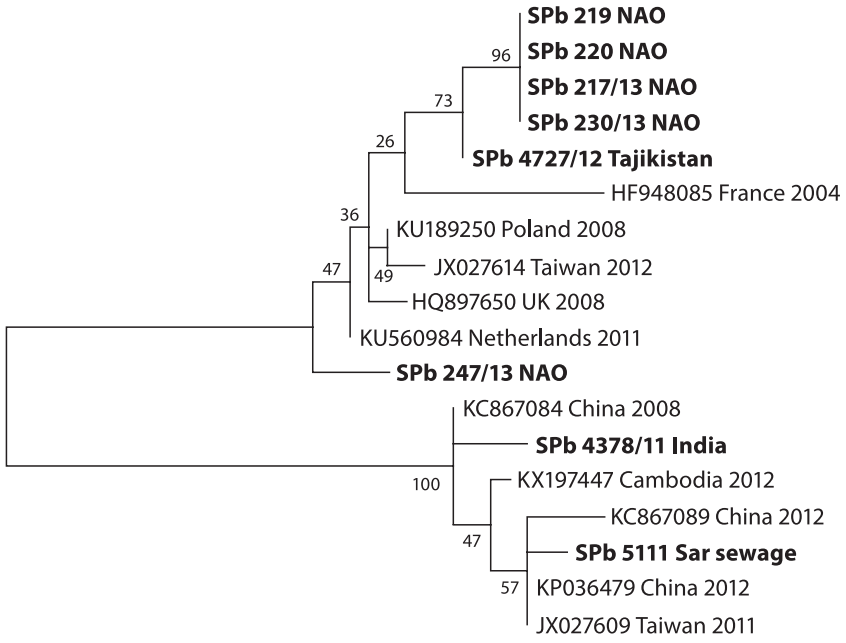


Figure 5. Arbre phylogénique de région génomique VP1 des Coxsackievirus B3

Au total on a enregistré 5 cas de la rougeole chez les adultes (indice 0,4 par 1 000 000 d'habitants) sur 3 territoires (Saint-Pétersbourg, oblast de Léningrad et oblast de Vologda). Tous les cas de la rougeole ont été confirmés par la méthode sérologique (IFA). Un cas enregistré à Saint-Pétersbourg a été importé de Kirghizstan. Dans d'autres 4 cas la source est restée inconnue. Deux malades ont été revaccinés. L'étude moléculaire génétique a été menée sur le matières biologiques prélevés à un malade au dignastique primaire rougeole. Il a été détecté chez lui le virus de la rougeole du génotype D 8 Frankfurt Main Deu/17,11. Dans d'autres cas les matières biologiques n'ont pas été prélevés, la rougeole n'étant pas diagnostiquée chez les malades. On a réitéré les tests des personnes séronégatifs au virus de la rougeole dans certains groupes indiqués pour l'analyse sérologique sur trois territoires du District fédéral Nord-Ouest. Le laboratoire du Centre régional à Saint-Pétersbourg a refait le test de 172 échantillons de sérum sanguin qui avaient donné le résultat IFA négatif. Les résultats des recherches ont été confrmés dans 100% de cas sur deux territories (République des Komis et oblast de Léningrad) et dans 93% de cas sur un territoire (oblast de Mourmansk).

Dans le groupe de 50 malades au diagnostic primaire rubéole la maladie a été confirmée chez deux personnes, et dans le groupe des malades de la rougeole et des exanthèmes la rubéole a été révélée chez 7 malades. Au total dans le District ont été enregistrés 9 cas de la rubéole (indice 0,7 par 1 000 000 d'habitants).

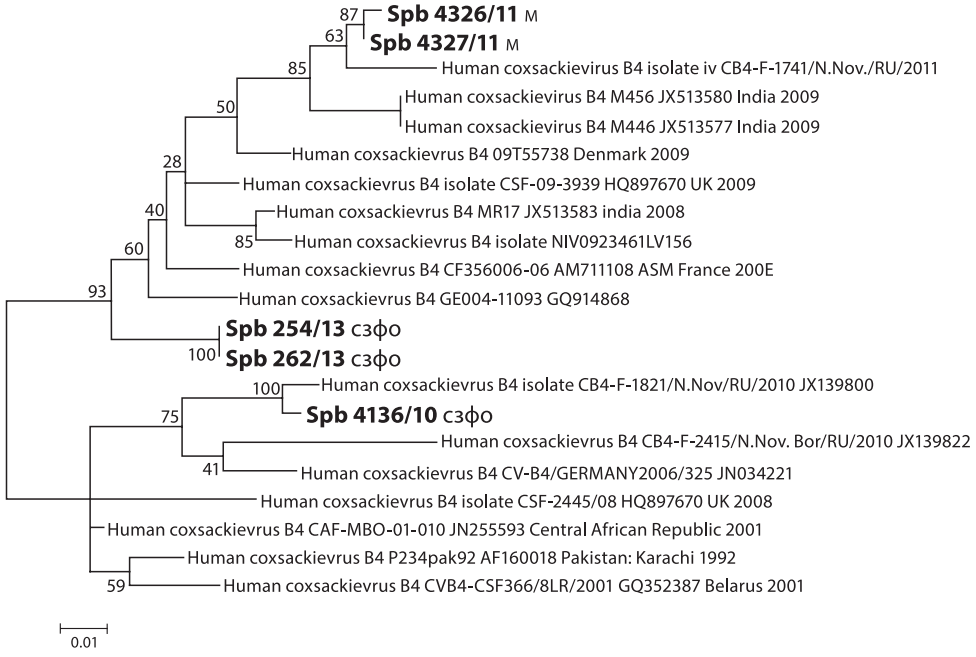


Figure 6. Arbre phylogénique de région génomique VP1 des Coxsackievirus B4

A Veliky Novgorod un groupe d'étudiants de l'Université à l'âge de 20–25 ans, tous originaires des pays d'Afrique, c'est trouvé contaminé de la rubéole. Aucun des 6 malades n'a été vacciné, et ils habitaient tous au même foyer. On peut supposer que la mère d'un de ces étudiants, qui lui avait rendu visite venant d'Afrique, a été la source de contagion. Les matières biologiques obtenues de deux malades ont été envoyées au Centre national des recherches en médecine où a été isolé le virus de la rubéole du génotype B2 en tout similaire à celui B2 qui a été isolé en République démocratique du Congo.

En 2016 a été effectuée une étude de 9 échantillons de sérum sanguin des malades de la rougeole, 45 échantillons — des malades de la rubéole et 290 — des malades atteints des exanthèmes. Les échantillons ont été obtenus de 11 territoires du District fédéral Nord-Ouest.

Parmi les malades aux diagnostics primaires rougeole, rubéole et exanthèmes le diagnostic rougeole n'a été confirmé en aucun cas. Un malade a été enregistré avec le diagnostic primaire rougeole, dont deux échantillons de sérum sanguin contenaient les anticorps IgM révélés contre le virus de la rougeole. Après l'examen par le test-système IFA IgG-rougeole dynamique et IgG rougeole avidité le diagnostic a été invalidé. Les résultats de l'examen ont été ensuite confirmés au Laboratoire national de l'Institut des recherches en épidémiologie et microbiologie G.N. Gabritchevski, Moscou. Ainsi en 2016 la rougeole n'a jamais été enregistrée sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest.

Pratiquement sur tous les territoires du District fédéral Nord-Ouest a été atteint l'indice prévisionnel de détection et effectué l'examen de laboratoire des malades atteints d'exanthèmes (2 cas par 100 000 habitants). Ont été examinés 288 malades (indice prévisionnel: 279 malades).

Vu le nombre élevé de personnes séronégatives au virus de la rougeole dans certains groupes ciblés sur plusieurs territoires du District fédéral Nord-Ouest, le laboratoire du Centre régional à Saint-Pétersbourg a réitéré le test de 421 échantillons de sérum sanguin négatifs d'après les résultats du premier test IFA issus de six territoires du District. Les résultats du premier test ont été confirmés dans 100% de cas sur cinq territoires (Saint-Pétersbourg, République des Komis, République de Carélie, oblast de Novgorod et oblast de Vologda) et dans 83,3% de cas sur un territoire (oblast de Mourmansk). Un médecin virologiste de ce territoire a suivi sa formation à un poste de travail au laboratoire virologique du Centre.

En 2016 dans le District fédéral Nord-Ouest au total ont été enregistrés 2 cas de la rubéole dans la population adulte (indice 0,15 par 1 000 000 d'habitants). Les malades (frère et soeur) n'ont pas été vaccinés contre la rubéole ayant refusé la vaccination. Chez le frère a été diagnostiquée une exanthème et détectés des anticorps IgM contre le virus de la rubéole. L'examen de la soeur, qui l'a contactée et qui a subi auparavant une exanthème, a également révélé des anticorps IgM contre le virus de la rubéole. Ce diagnostic a été confirmé par le test IFA, puis les matières biologiques étudiées ont été envoyées au Laboratoire national pour l'examen moléculaire génétique. L'examen par la méthode PCR a donné le résultat positif mais on n'a pas réussi à établir le génotype du virus.

A été poursuivie une étude de laboratoire de la rubéole chez les femmes enceintes malades ou ayant eu un contact avec un malade au diagnostic confirmé de la rubéole ou du lupus érythémateux systémique. Au total ont été examinées 9 femmes enceintes, dont quatre — sans source ni symptômes de la rubéole (IgM + examen dans d'autres laboratoires) et cinq — en présence d'une source suspectée d'être infectée de la rubéole. Suite à l'examen le diagnostic rubéole n'a été confirmé chez aucune des femmes enceintes (IgM avec anticorps négatifs contre la rubéole, IgG avec anticorps positifs à la rubéole sans dynamique et avec un taux élevé d'avidité des IgG-anticorps de 83,0% à 95,0%). A été examiné un cas avec suspicion du lupus érythémateux systémique. Chez la mère et l'enfant les IgM-anticorps ont été négatifs en dynamique, le niveau des IgG-anticorps élevé chez la mère et l'enfant (respectivement 110 mU/ml et 130 mU/ml) et un taux élevé d'avidité des IgG-anticorps de la mère et de l'enfant (respectivement 100% et 97%). Le diagnostic lupus érythémateux systémique de l'enfant a été invalidé.

Ainsi en 2015 l'indice d'incidence de la rougeole sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest a été faible — moins d'un cas par 1 000 000 de personnes, et en 2016 les cas de la rougeole n'ont pas été enregistrées. En 2016 l'indice d'incidence de la rubéole sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest a été également moins d'un cas par 1 000 000 d'habitants.

Le programme d'élimination de la rougeole et la rubéole sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest est en train d'être réalisé avec succès.

Etude d'étiologie de la grippe à Saint-Pétersbourg en 2015–2016

L'apparition à la fin de 2009 d'une nouvelle variante pandémique du virus de la grippe A/California/07/09(H1N1) et la circulation simultanée de trois sérotypes du virus de la grippe (A/H1N1, A/H3N2 et B des deux variantes) exigent une étude constante de la dérive antigénique de ces virus en but de remplacement opportun des souches dans les produits du diagnostic et les vaccins.

Dans la période d'automne-hiver 2014–2015 on a continué l'évaluation de la situation épidémique de la grippe à Saint-Pétersbourg. Pendant cette période à Saint-Pétersbourg a été enregistré le dépassement du seuil épidémique (11 045 cas par jour). En février le taux d'incidence a été le plus élevé (de 11 941 à 13 703 nouveaux cas par jour) et en mars il a été en baisse jusqu'à 8000–9000 nouveaux cas par jour. En avril l'incidence est revenue vers son niveau de départ. Les indices élevés d'incidence par catégories d'âge ont été de 5,2 par 100 personnes dans la catégorie des enfants de 0–2 ans, 7,6 — dans la catégorie des enfants de 3–6 ans, 4,3 — dans la catégorie d'âge de scolarité et 0,6 — dans la catégorie des adultes.

L'étiologie de la grippe a été élucidée au moyen des méthodes de recherche virologiques et sérologiques. 16 frottis nasopharyngés des malades de la grippe et des infections respiratoires virales aiguës ont été étudiés sur les embryons de poulet et les cultures cellulaires (procédé MDCK). On a réussi à isoler sur les cellules MDCK le virus de la grippe B/SPb/2896/15 de la «lignée Yamagata».

L'étude sérologique des sérums couplés obtenus de 40 malades hospitalisés dans la saison d'automne-hiver 2014–2015 a démontré la croissance des titres d'anticorps à l'antigène du virus de la grippe A(H3N2) dans 25,0% de cas et à l'antigène du virus de la grippe B — dans 12,5% de cas.

En hiver 2015 à Saint-Pétersbourg ont été isolées les souches de tous les trois sérotypes du virus de la grippe.

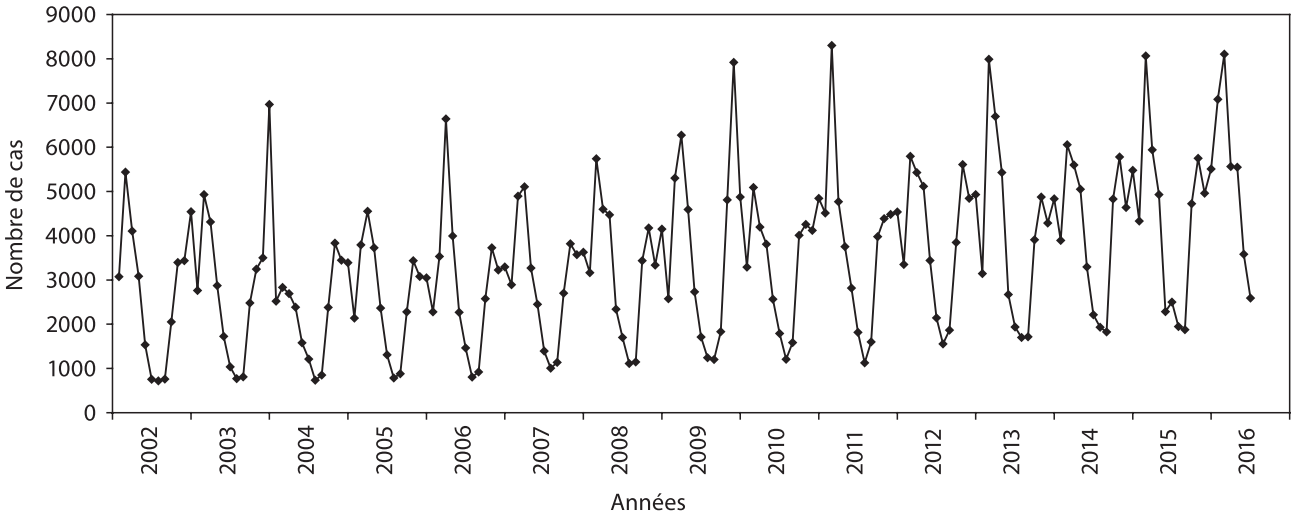


Figure 7. Incidence moyenne journalière de la grippe et des infections respiratoires virales aiguës à Saint-Pétersbourg mensuellement de 2002 à 2016

Selon la caractéristique antigénique les souches du virus de la grippe A(H1N1) ont été proches de la souche témoin A/California/pdm/09(H1N1) qui circulait dans le monde et en Russie depuis 2009. Les virus de la grippe A(H3N2) ont été proches des souches A/Texas/50/12, A/Honcong/57138/14 et A/Suisse/9715293/13. Les virus de la grippe B faisaient partie de la «lignée Yamagata» et étaient proches de la variante antigénique B/Phuket/3073/13.

Dans la période d'automne-hiver 2015–2016 a été reprise l'évaluation de la situation épidémique de la grippe à Saint-Pétersbourg. En automne on a assisté à une hausse saisonnière d'incidence de la grippe et des infections respiratoires virales aiguës. Le premier dépassement du seuil épidémique (11 045 nouveaux cas par jour) en hiver 2016 a été enregistré le 18.01.2016 quand l'incidence a constitué 11 522 nouveaux cas, puis le 19.01.2016 ont été enregistrés 12 063, le 22.01.2016 — 12 468 et le 25.01.2016 — 19 448 nouveaux cas. Le mois suivant les plus hauts niveaux d'incidence ont été enregistrés le 01.02.2016 (21 739 nouveaux cas) et 02.02.2016 (17 836 nouveaux cas). Dans les semaines suivantes l'incidence a progressivement diminué de 15 000 à 10 000 nouveaux cas. En mars l'incidence s'est maintenue au niveau de 9000–8000 nouveaux cas par jour qui est celui traditionnel des périodes entre épidémies. L'incidence de la grippe à Saint-Pétersbourg pendant la période de 2002 à 2016 est présentée au Fig. 7.

En janvier-février 2016 l'intensité d'incidence de la grippe et des infections respiratoires aiguës a été au niveau de 2013, quand le virus de la grippe A(H1N1)pdm 09 a été l'agent étiologique principal, et de 2015, quand le virus de la grippe A/H3N2/Honcong/5738/14 a été l'agent principal.

L'analyse d'incidence par catégories d'âge a révélé son taux le plus intense dans les groupes de 3 à 6 ans (taux maximum 12,3), de 0 à 2 ans (taux maximum 7,3) et dans celui de 7 à 14 ans (taux maximum 5,6). L'incidence dans le groupe de 15 ans et plus a été insignifiante avec le taux de 2,1 (Fig. 8).

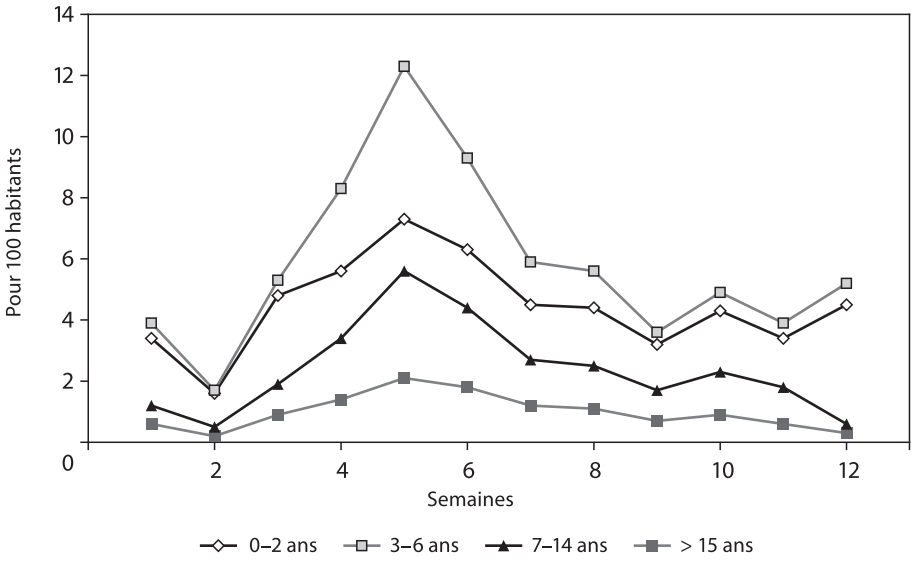


Figure 8. Indices d'intensité d'incidence de la grippe et des infections respiratoires virales aiguës par semaines de l'hiver 2016 dans différentes catégories d'âge à Saint-Pétersbourg

L'étiologie de la grippe en hiver 2016 a été élucidée en utilisant les méthodes de recherche virologiques et sérologiques. A été effectué un examen des frottis nasopharyngés des malades prélevés en phase aiguë de la maladie et étudiés sur les embryons de poulet et les cultures cellulaires (procédé MDCK).

L'étude sérologique des sérums couplés obtenus de 50 malades de la grippe et des infections respiratoires virales aiguës a démontré la croissance de quatre fois et plus des titres des anticorps à l'antigène du virus de la grippe B chez 8 malades (16,0% de cas) et à l'antigène du virus de la grippe A (H1N1) chez 4 malades (8%). La croissance des titres des anticorps à l'antigène du virus de la grippe A(H3N2) n'a pas été détectée.

En hiver 2016 a Saint-Pétersbourg ont été isolées les souches des virus grippaux de tous les trois sérotypes, à savoir A(H1N1)pdm09, B de la «lignée Victoria» et A(H3N2). Selon leur caractéristique antigénique les souches du virus de la grippe A(H1N1) ont été proches de la souche témoin A/California/07/09(H1N1) tout en ayant subi des modifications de dérive. Les souches du virus de la grippe B ont été proches de la variante antigénique B/Brisban/60/80 de la «lignée Victoria», quoique dans les années précédentes ont circulé plutôt les virus de la «lignée Yamagata». Dans la composition des vaccins employés en automne 2015 entrait le virus de la grippe B/Phuket/3073/13 de la «lignée Yamagata». Ainsi pendant l'accroissement épidémique de la grippe en janvier-février 2016 a été constatée une disparation entre la souche du virus de la grippe B faisant partie du vaccin et la souche circulant dans la population. Les souches de la grippe A(H3N2) n'ont constitué qu'une part infime des virus circulants et ont été proches à la variante antigénique A/H3N2/Honcong/5738/14.

Ainsi la croissance saisonnière de la grippe en janvier-février 2016 à Saint-Pétersbourg a été due à la circulation des souches du virus de la grippe A(H1N1) proches de la variante antigénique A/California/07/09(H1N1), de la grippe B proches de la variante antigénique B/Brisban/60/80 de la «lignée Victoria» et, en moindre mesure, de la grippe A(H3N2), proches de la variante antigénique A/Honcong/5738/2014(H3N2).

Une souche originale du virus de la grippe B/S.Pétersbourg/2896/15, isolée à partir du frottis nasopharyngé d'un malade prélevé du premier passage sur les cultures cellulaires en procédé MDCK, a été ensuite adaptée aux embryons de poulet. Le vaccin hyperimmun obtenu par immunisation multiple des rats a été étudié dans le test d'inhibition de l'hémagglutination (réaction croisée IHA) avec les souches suivantes de la grippe B: B/Wisconsin/01/2010, B/Massachusetts/02/2012 et B/Phuket/3073/2013 et leurs sérums homologues. Il a été établi que la nouvelle souche isolée de la grippe d'après sa caractéristique antigénique était proche de la souche témoin B/Phuket/3073/13 tout en ayant subi des dérives par rapport aux variantes précédentes B/Wisconsin/01/2010 et B/Massachussets/02/2012.

La souche originale du virus de la grippe B/S.Pétersbourg/2896/15 a été déposée à la Collection d'Etat des virus (immatriculée au numéro 2871 en date du 30.06.2016).

Ainsi une haute incidence de la grippe en janvier-février 2016 à Saint-Pétersbourg s'explique par la circulation prioritaire du virus de la grippe A(H1N1)pdm09 ayant une forte virulence.

On a élucidé l'étiologie de l'accroissement saisonnier d'incidence de la grippe à Saint-Pétersbourg en 2015–2016 due aux souches de trois sérotypes du virus grippal: A(H1N1), B et, en moindre mesure, A(H3N2). En 2016 le virus de la grippe B de la «lignée Yamagata» a été remplacé par le virus de la grippe B de la «lignée Victoria».

Une souche originale du virus de la grippe B/S.Pétersbourg/2896/15, isolée à partir du frottis nasopharyngé d'un malade prélevé du premier passage sur les cultures cellulaires en procédé MDCK, et adaptée aux embryons de poulet, a été déposée à la Collection d'Etat des virus.

Perfectionnement de la déontologie éthique et juridique dans le domaine des maladies infectieuses et de la prophylaxie vaccinale

L'objectif prioritaire du travail du laboratoire a été de révéler les problèmes réels et potentiels de non-respect de l'égalité des genres dans les recherches cliniques des nouveaux vaccins. Il a été établi que ces problèmes peuvent relever des facteurs culturels, religieux et socio-économiques puisque les particularités de comportement des divers groupes et communautés dans cette sphère peuvent influer sur le respect des standards éthiques, notamment lorsqu'il s'agit d'accorder son consentement volontaire et éclairé et répondre à tous les critères d'inclusion/exclusion de la recherche (par exemple au cas de non-respect du droit à la procréation). La principale mission de l'étude des vaccins étant l'obtention des données objectives sur leur efficacité et inaucuité il convient de perfectionner le référencement de l'influence des problèmes du genre sur l'objectivité et la composante éthique de la recherche en explicitant l'information quantitative sur la répartition des participants de la recherche par sexe aussi bien pour la période du commencement de la recherche, que pour son stade final. L'analyse des données, fournies par la recherche, doit être accompagnée par la caractéristique de genre présidant à son concept avec, en annexe, une interprétation de l'éventuelle influence de l'équilibre de genre sur les résultats obtenus. La condition obligatiore de fournir une caractéristique quantitative des participants de la recherche tenant compte de leur sexe se rapporte en même mesure à la publication des articles.

Peu après la découverte par E. Jenner du vaccin contre la variole s'est constitué le premier mouvement contre la vaccination. A l'époque les principaux arguments des adversaires de la vaccination étaient religieux. Malgré tous les succès de la vaccination ils continuent à être utilisés par les groupes de pression contre la vaccination. Le caractère international de ce phénomène a rendu nécessaire le travail d'évaluation de l'influence du facteur religieux sur l'adhésion de la vaccination dans le cadre d'une étude polyconfessionnelle. A été étudié le point de vue de l'Eglise orthodoxe russe en tant que confession religieuse dominante en Fédération de Russie. Le fait de la mise en profit des sentiments religieux de certaines personnes par la propagande contre la vaccination en a servi d'argument social réel. Par la méthode d'enquête, menée dans de différentes cohortes (personnes adultes, enfants et leurs parents, personnel médical soignant), aucune corrélation n'a été établie entre le refus potentiel/réel de la vaccination et la présence/absence des sentiments religieux. Le plus souvent il s'agissait d'une information fausse ou incomplète diffusée en règle générale dans l'Internet. La position de l'Eglise orthodoxe russe sur cette question consiste à rejeter des

informations fausses et inexactes sur les dommages causés par la vaccination, diffusées par les médias et les ouvrages de vulgarisation scientifique. Pour exprimer le point de vue officiel de l'Eglise orthodoxe russe sur la vaccination son Département des bonnes oeuvres et du ministère social a organisé une discussion ouverte sur le thème: «Vaccinoprophylaxie des enfants: problèmes et approches de leur résolution». Les médecins proches de l'église orthodoxe à plusieurs reprises ont pris la parole dans la presse et dans d'autres médias contre la «propagande antivaccinale» et sur l'inadmissibilité de diffusion des ouvrages «antivaccinaux» sur support papier, audio et vidéo dans les lieux de culte sous contrôle de l'Eglise orthodoxe russe. Sa seule véritable préoccupation ne peut être liée qu'à l'utilisation des cellules souches d'embryons ou de foetus provenant d'avortements dans la production des vaccins (notamment du vaccin contre la rubéole) alternatifs, soi-disant, «éthiques», obtenus en ingénierie génétique. L'Eglise orthodoxe russe constate que, dans l'ensemble, la vaccinoprophylaxie reste un problème strictement médical ce qui correspond d'ailleurs à la position d'autres confessions religieuses mondiales.

Publications

1. *Mamaeva T., Zheleznova N., Naumova M., Govoruhina M., Kalashnikova N., Bichurina M., Mukomolov S. Algorithm of laboratory confirmation and differential diagnosis of measles infection at the stage of the measles elimination program in Russia // Russian Journal of Infection and Immunity. 2015; 5 (1): 55–62.*
2. *Romanenkova N., Bichurina M., Rozaeva N., Kanaeva O., Shishko L., Cherkasskaya I., Kirillova L. Coxsackieviruses B1–6 as etiological factor of enterovirus infection // Jurnal Infectologii. 2016; 8 (2): 65–71.*
3. *Popova A., Bichurina M., Lavrentyeva I., Zheleznova N., Antipova A., Shcherbakova S., Boiro M., Totolian A. Measles virus immunity level study in particular population groups of the Republic of Guinea within the framework of Global measles elimination program. Report 1 // Russian Journal of Infection and Immunity. 2016; 6 (4): 353–358.*
4. *Bichurina M., Zheleznova N., Measles morbidity on the territory of North-West District at the stage of measles elimination // Jurnal Infectologii. 2016; 8 (3): 47.*
5. *Romanenkova N., Bichurina M., Rozaeva N., Kanaeva O., Shishko L. Seasonal rises of enterovirus infection morbidity in the North-West of Russia.//Jurnal Infectologii. 2016; 8 (3): 104–105.*
6. *Kanaeva O., Romanenkova N., Rozaeva N., Bichurina M. Circulation of nonpolio enteroviruses on the territories supervised by Saint-Petersburg Polio Centre // Bulletin. Nizhny Novgorod: 2016, 3: 18–23.*
7. *Romanenkova N., Kanaeva O., Rozaeva N., Joffret M.L., Delpeyroux F., Bichurina M. Importation of new serotypes/genotypes of enteroviruses: risk of re-emergency. Abstract Book of Institut Pasteur International Network Scientific Symposium: «Paving the way for research on global health and one health». Paris, 2015: 107.*
8. *Romanenkova N., Rozaeva N., Kanaeva O., Joffret M.L., Delpeyroux F., Bichurina M. Importance of defining biomarkers for surveillance of an eradicated disease at risk of re-emergency. Abstract Book of Institut Pasteur International Network Scientific Symposium: «From basic science to biomarkers and tools in global health». Paris, 2016: 123.*
9. *Pelčić G., Karačić S., Mikirtichan G.L., Kubar O.I., Leavitt F.J., Tai M.C., Morishita N., Vuletić S., Tomašević L. Religious exception for vaccination or religious excuses for avoiding vaccination // Croat. Med. J. 2016; 57: 508–513.*
10. *Kubar O., Trontelj J. The Impact of the IBC Work in Central and Eastern Europe. In: Springer International Publishing Switzerland. 2016. Global Bioethics: The Impact of the UNESCO International Bioethics Committee Advancing Global Bioethics 510.1007/978-3-319-22650. P. 7–13.*
11. *Kubar O., Tokarevich N. Ethical and legal aspects of infectious diseases and vaccination. Part 4 // Russian Journal of Infection and Immunity. 2015; 5 (2): 103–112.*
12. *Kubar O. Importance of Gender Balance for Ethical and Scientific Integrity in Clinical Trials // J. Bioethics. 2016; 1: 21–24.*
13. *Kubar O., Asatrian A., Susenko G., Bryantseva E., Okuneva M., Ermolenko K., Roshina M. Assessment of benefit/risk balance of vaccination for prevention of infectious diseases in children // Jurnal Infectologii. 2016; 8 (3): 81–82.*

LABORATOIRE DE VIROLOGIE EXPÉRIMENTALE

Chef du laboratoire: Irina Lavrentieva
Chercheurs permanents: A. Antipova, L. Sukhobaevskaya, M. Bichurina

En 2015–2016, les recherches du laboratoire de virologie expérimentale (ancien laboratoire des infections virales infantiles) ont suivi deux axes:

1. Amélioration du suivi virologique des infections virales par gouttelettes au cours de la réalisation du programme d'élimination de la rougeole et de la rubéole
2. Etude préclinique de la faisabilité d'application de nouvelles formules pharmaceutiques et immunobiologiques

Identification des cas d'infection par parvovirus dans le système du suivi epidemiologique des maladies exanthematiques

Au cours de la réalisation du plan stratégique du Bureau régional de l'OMS pour l'Europe visant à éliminer la rougeole endémique, la rubéole et à prévenir l'infection rubéoleuse congénitale, l'incidence de rougeole et de rubéole a abruptement baissé, mais en même temps l'incidence de diagnostic primaire erroné de ces formes nosologiques a augmenté. Les maladies qui sont le plus souvent prises pour les infections exanthématiques, surtout rubéole, sont l'érythème infectieuse et l'infection par parvovirus (PV).

Cette maladie a également une signification médico-sociale propre. A cause de l'action tératogène de son germe, soit parvovirus B19, l'infection par parvovirus est dangereuse pour les femmes enceintes et les fœtus. Si la femme est infectée pendant la grossesse le parvovirus B19 (PV B19) peut provoquer des mortinaissances et des avortements, des anémies et des myocardites du fœtus, l'hydropisie du fœtus et autres défauts de développement. L'infection par parvovirus est également très importante pour la médecine transfusionnelle. Comme cette infection ne figure pas sur la liste de celles obligatoires à tester, et le virus est résistant aux méthodes appliquées de désinfection des produits sanguins, les composants sanguins à transfuser peuvent contenir l'ADN de PV B19.

A l'étranger, on constate une multitude de recherches dédiées à la dissémination, diagnostic et manifestations cliniques d'IPV, or en Russie leur nombre n'est pas suffisant.

Cette étude offre une évaluation comparative de la dissémination de l'IPV à travers le District Fédéral du Nord-Ouest (DFNO) dans différentes années, et présente les examens *in vitro* permettant de dépister cette infection chez les sujets aux maladies exanthématiques.

Materiels et methodes

Nous avons examiné 495 échantillons de sérum sanguin des sujets atteints de maladies exanthématiques, admis au Centre régional de Saint-Pétersbourg (CRSP) pour la surveillance de rougeole et de rubéole entre 2009 et 2012 et provenant de 11 localités de DFNO.

Nous avons également examiné 336 échantillons de sérum sanguin des sujets atteints de maladies exanthématiques et admis au CRSP en 2015.

Dans notre étude, nous avons utilisé les échantillons n'ayant pas d'anticorps IgM aux virus de rougeole et de rubéole.

Nous avons examiné 69 échantillons de sérum sanguin des sujets aux exanthèmes d'étiologie différente, admis entre mars et mai 2016 à l'Hôpital des maladies infectieuses No. 30 de Saint-Pétersbourg.

Nous avons identifié les anticorps IgM au PV B19 à l'aide du test ELISA de type recomWELL Parvovirus B19 IgM (MICROGEN GmbH, Allemagne) conformément à la notice d'emploi. La présence d'anticorps IgM au PV B19 dans le sérum sanguin des malades témoignait d'une infection aigue par parvovirus.

Les calculs statistiques des valeurs moyennes, de la déviation standard et de l'erreur standard ont été effectués à l'aide des tableaux électroniques Excel et des bases de données standards. Nous avons appliqué des méthodes paramétriques, y compris le critère de Student. La valeur de $p < 0,05$ est une limite acceptable de la signification statistique.

Résultats

Prévalence de l'infection par parvovirus dans le District Fédéral du Nord-Ouest. En 2015, dans le pool de sérums examinés, les anticorps IgM- ont été identifiés dans 50 sur 336 échantillons (14,9±1,94%) provenant de 9 sur 11 territoires du District Fédéral du Nord-Ouest (à l'exception de l'Oblast de Pskov et du District Autonome de Nénétsie). Le plus grand nombre de test positifs a été constaté dans l'Oblast de Leningrad (22,2±6,93%). Les tests positifs en IgM étaient un peu moins fréquents à Saint-Pétersbourg et dans la région de Kaliningrad (17,9±3,25% et 17,4±7,91%, respectivement). Les sérums sanguins reçu des oblasts de Murmansk, Novgorod, Arkhangelsk et de la République de Karélie présentaient des échantillons unitaires contenant les anticorps IgM contre le PV B19. Le tableau ci-dessous présente les données comparatives sur la prévalence de l'IPV à travers le district pour la période de 2009–2012 et pour 2015.

En 2009–2012, la proportion moyenne de cas identifiés d'IPV a été plus élevée (20,4±1,9%) qu'en 2015 (14,9±1,9%). Il est confirmé que le taux de détection de sujets aux anticorps IgM contre le PV B19 varie en fonction du territoire: ainsi, en 2009–2012, les cas d'IPV ont été le plus souvent identifiés dans la République de Karélie (40,9±10,7%), les oblasts de Kaliningrad (36,1±8,0%) et de Leningrad (22,2±6,9%), ainsi qu'à Saint-Pétersbourg (24,7±3,4%). Le faible pourcentage de tests positifs est propre à la république de Komi, présentant 10±4,8% en 2009–2012 et 11,1±5,24% en 2015.

En évaluant le taux annuel de détection de cas d'IPV dans le DFNO, nous avons constaté que le maximum de tests positifs avait été observé en 2012 et s'élevait à 45,5±4,7%. Au contraire, en 2009 cet indicateur a été de 5,4±2,6%. En 2009, 2010 et 2015, la proportion de sérums sanguins IgM-positifs au PV B19 et provenant du DFNO était maintenue au niveau de 14,0–14,9%.

Identification de l'infection par parvovirus chez les sujets aux maladies exanthématiques. L'analyse des diagnostics «primaires» chez les sujets à l'IPV confirmée *in vitro*, résidant dans le DFNO, a permis de constater un nombre d'erreurs dans le diagnostic primaire.

En 2012 (voir figure), les IgM-anticorps au PV B19 étaient détectés, en prédominance, chez les sujets au diagnostic

clinique de «rubéole». Les anticorps au PV B19 ont également été identifiés dans 10,9% des cas chez les sujets au diagnostic clinique d'infection respiratoire virale. Les sujets aux diagnostics primaires de yersiniose, scarlatine et varicelle présentaient 20,4% d'erreur de diagnostic clinique au total. Chez les sujets au diagnostic primaire de variole l'IPV n'a été constatée dans aucun cas. En gros, chez les malades infectieux aux différents diagnostics primaires, l'IPV a été constatée *in vitro* dans 47,3% des cas. Le diagnostic clinique d'érythème infectieux ou d'infection par parvovirus a été cliniquement posé à 7 sujets et confirmé *in vitro* chez 5. Dans 52,7% des cas, l'IPV a été constatée chez les sujets aux diagnostics primaires d'origine non infectieuse, tels qu'éruption allergique, urticaire et dermatite allergique.

En 2015, suite à l'examen *in vitro* des sérums sanguins livrés dans le Centre de Référence pour le suivi de rougeole et de rubéole de Saint-Pétersbourg depuis les différents territoires du DFNO, les immunoglobulines de classe M de PVB19 ont été identifiées dans 50 sur 336 (soit 14,0%) échantillons. Dans 34,0% des échantillons, les anticorps IgM au PVB19 ont été trouvés dans les sérums des sujets au diagnostic primaire de rubéole, dans 14,0% chez les sujets à l'IRV/maladie respiratoire aiguë et dans 8,0% chez les sujets à l'exanthème virale. L'IPV a également été constatée chez une de sept personnes à la rougeole suspectée. L'infection par parvovirus a été cliniquement diagnostiquée chez cinq malades seulement et confirmée *in vitro* chez trois. Le taux d'exanthèmes (virales) d'étiologie imprécise s'élevaient à 6% de diagnostics cliniques erronés. Dans 30% des cas, les sujets à l'IPV confirmée *in vitro* présentaient le diagnostic primaire de «maladie à étiologie imprécise». Les anticorps IgM au PVB19 ont été identifiés chez les patients aux diagnostics suivants: toxicodermie dans 14% des cas, exanthème à étiologie imprécise et dermatite allergique dans 8% des cas chacune.

Hormis l'étude de rétrospection concernant les sérums sanguins des sujets aux maladies exanthématiques, prélevés au sein du Centre régional de Saint-Pétersbourg pour le suivi de la rougeole et de la rubéole en 2012 et 2015, notre laboratoire a examiné les échantillons de 69 malades pris en charge par l'Hôpital des maladies infectieuses No. 30 de Saint-Pétersbourg entre mars et mai 2016 à cause des maladies à l'éruption maculopapulaire. 14 d'entre eux (soit 12,9%) présentaient les anticorps IgM au PV B19. Dans aucun de ces cas, le diagnostic d'infection par parvovirus ou d'érythème infectieux n'a été posé lors de l'examen primaire. Parmi les erreurs du diagnostic clinique, les constats prédominants concernaient les «exanthèmes d'étiologie imprécise» (n = 7). La mononucléose infectieuse a été suspectée chez deux patients, tandis que les patients restants ont reçu les diagnostics préliminaires d'infection respiratoire virale, infection herpétique, toxicodermie, arthralgie et pseudotuberculose.

Discussion

Le Centre régional de Saint-Pétersbourg pour la surveillance de rougeole et de rubéole dans le District Fédéral du Nord-Ouest, créé au sein de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg, inclut un laboratoire virologique subnational de l'OMS qui reçoit les échantillons des substances cliniques des personnes malades et saines depuis 11 territoires du DFNO.

Conformément au Décret No. 33 du 5 février 2010 du Ministère russe de la santé «Sur l'examen des sujets exanthématiques et fiévreux dans le cadre de la réalisation du Programme pour l'élimination de la rougeole», tous les sérums prélevés chez les sujets à la rougeole et aux maladies exanthématiques qui arrivent au laboratoire virologique du centre régional sont contrôlés au sujet de IgM-rougeole et IgM-rubéole. La raison pour examiner le sérum sanguin du malade est la présence de l'éruption maculo-papuleuse et de la fièvre (température 37,5°C ou plus).

L'augmentation de l'occurrence de la rougeole dans le DFNO, constatée en 2012–2013, rajoute de la valeur à l'examen *in vitro* pour les sujets aux maladies exanthématiques présentant l'éruption maculo-papuleuse. Une place particulière parmi elles appartient à l'infection par parvovirus en tant que maladie de signification intrinsèque pour l'obstétrique, la protection de la maternité et de l'enfance, le service de don de sang, la transplantologie etc.

L'étude réalisée a confirmé que l'infection par parvovirus était très répandue au Nord-Ouest de la Russie. En 2015, de même qu'en 2009–2012, cette maladie a été identifiée sur la vaste majorité des territoires administratifs (9 sur 11), à forte prédominance dans la capitale (Saint-Pétersbourg) et sur les territoires frontaliers du district (oblasts de Kaliningrad, de Leningrad, République de Karélie). Il est évident que la propagation de l'IPV, ainsi que d'autres infections, est engendrée par la densité élevée de la population, les processus de migration, le tourisme etc.

Nous avons constaté qu'en 2010, 2011 et 2015 la part de sérums sanguins positifs au PVB19 s'élevait à 14% en moyenne, ainsi chaque année le nombre de cas d'IPV observés était presque identique. En 2012, la part des sujets aux IgM-anticorps au PV B19 était plausiblement plus élevée ($p < 0,05$), équivalant à 45,5% de la population examinée *in vitro*. Il est donc probable qu'en 2012 le DFNO vivait une croissance épidémique de l'occurrence de l'infection par parvovirus. Au contraire, 2009 a vu un taux très bas d'échantillons IgM-positifs au PV B19, soit seulement 5,4%. Comme l'IPV se caractérise par le cycle épidémique de 4 ans, on peut présumer qu'en 2009 on observait la chute naturelle de la morbidité suite à la croissance épidémique antérieure qui aurait lieu en 2008 dans le DFNO.

L'étude de rétrospection sur les sérums sanguins des sujets aux maladies exanthématiques, habitant les différents territoires du DFNO, a démontré que l'infection par parvovirus est le plus souvent confondue à la rubéole suite aux erreurs de diagnostic primaire. Ceci est bien logique étant donné les propriétés cliniques et épidémiologiques très similaires de ces maladies, soit: propagation par gouttelettes; explosions au sein des communautés organisées, caractère saisonnier (hiver et printemps); cycle épidémique de 3–4 ans; présence de l'éruption maculo-papuleuse, prédominance des formes asymptomatiques. Dans les conditions de propagation naturelle, la morbidité de rubéole et d'érythème infectieux est déterminée par les personnes de moins de 15 ans.

L'analyse des diagnostics primaires des sujets pris en charge par l'Hôpital des maladies infectieuses No. 30 de Saint-Pétersbourg a confirmé que le diagnostic de l'infection par parvovirus s'avère difficile pour les cliniciens car l'IPV identifiée *in vitro* n'a été dans aucun cas diagnostiquée cliniquement au moment de la prise en charge.

Conclusion

L'infection par parvovirus est largement répandue dans le DFNO et était identifiée de façon stable pendant plusieurs années (2009–2012, 2015) sur la vaste majorité des entités administratives de ce district.

L'infection par parvovirus est une des principales formes nosologiques qui exigent le diagnostic différentiel pour la

distinguer de la rubéole, ce qui est particulièrement important étant donné l'occurrence sporadique de cette dernière, et qui explique la nécessité de confirmer le diagnostic de rubéole *in vitro* dans chacun des cas.

Etude preclinique du nanomedicament à base de germanium en tant qu'adjuvant dans les experiences sur les primates de laboratoire

Les recherches sur la création d'adjuvants sont très intenses ces dernières décennies, stimulées par le développement rapide des biotechnologies, surtout des vaccins produits par ingénierie génétique. L'utilisation des adjuvants inoffensifs et efficaces de nouvelle génération est souvent nécessaire pour renforcer la réponse immunitaire lors de la vaccination contre les bactéries, les virus et les protozoaires. En général, l'utilisation des adjuvants est raisonnable en cas d'immunisation:

– par les vaccins inactivés
– par les vaccins recombinants, subunitaires, peptidiques
– des groupes de risque (juniors et séniors, individus à l'immunité affaiblie)

But de l'etude: examen préclinique de la possibilité d'utiliser une molécule germanium-organique en tant qu'adjuvant.

Materiels et methodes

Sujets: singes cynomolgus matures, âgés de 4 à 5 ans et pesant 2,7 à 5,2 kg

Adjuvant: WDS, composé complexe bas-moléculaire germanium-organique d'arginine et acide citrique. L'activité adjuvante de la molécule germanium-organique a été étudiée lors de l'immunisation isolée des singes par le vaccin vivant atténué anti-rubéole (VVR) contenant, en tant qu'agent actif, la souche vaccinale du virus de rubéole Wistar Ra 27/3. Dose du vaccin: 1000 DICT 50/0,5 ml.

Les animaux ont été divisés en deux groupes: 1) immunisés par VVR sans adjuvant: groupe de contrôle; 2) immunisés par VVR avec adjuvant (VVR+WDS, dosage 2 mg/0,5 ml): groupe expérimental. Les singes ont été observés pendant 60 jours suivant l'immunisation isolée. Chez les animaux des deux groupes, on cherchait à identifier la toxicité aiguë des formules, le statut de IFN et les paramètres d'immunité cellulaire, les taux de IL-1β, IL-6, IL-10, TNFα et protéine C réactive, immunoglobulines de classe A, M, G, et titres d'anticorps spécifiques au virus.

La numérotation sanguine des singes a été effectuée à l'aide de l'analyseur hématologique Beckman 5 diff, Etats-Unis, et l'examen des sérums sanguins à l'aide du bio-analyseur BIOCHEM SA (High Technology Inc., Etats-Unis) avec un set de réactifs du même fabricant.

Les taux de cytokines et de protéine C-réactif ont été évalués avec la méthode immuno-enzymatique, sur l'appareil diagnostic ELISA fabriqué par NPO Vektor (Novossibirsk, Russie), conformément au mode d'emploi.

Pour évaluer l'activité fonctionnelle des lymphocytes, nous avons analysé la capacité des lymphocytes des singes à produire de l'interféron en réponse à l'action des inducteurs de IFN. NDV servait d'inducteur de IFNα et Con-A (concentration 40 µg/ml) d'inducteur de IFNγ.

Pour évaluer les quantités des sub-populations de lymphocytes, le sang des animaux a été examiné à l'aide du cytomètre en flux Beckman Coulter Epics XL-MCL (Beckman Coulter, Etats-Unis) avec les anticorps monoclonaux (fabriqués par Becton Dickinson). L'identification des lymphocytes (fenêtrage) se basait sur les paramètres morphologiques de la cellule (diffusion de lumière), soit sur la combinaison de la diffusion directe et latérale. Le nombre de cellules par fenêtre s'élevait à 5000–10 000.

L'immunité humorale a été étudiée grâce à la détection d'immunoglobulines de classes différentes dans le sérum sanguin des singes. La méthode utilisée était l'immunodiffusion radiale dans le gel selon Mancini à l'aide de la préparation diagnostique fabriquée par l'Institut central de recherche en immunologie (Moscou).

Les titres des anticorps à la rubéole chez les animaux immunisés ont été identifiés à l'aide de la réaction d'inhibition de l'hémagglutination, avec la «Préparation diagnostique antigénique sèche de rubéole pour la RIHA» fabriquée par l'Institut Pasteur pour l'épidémiologie et la microbiologie, conformément au mode d'emploi de cette préparation.

Le prélèvement du sang (7 ml) de la veine cubitale pour étudier tous les paramètres ci-dessus a été effectué avant l'immunisation, 48 heures après, 7, 14, 28, 45 et 60 jours après.

Tous les examens impliquant les singes ont été effectués en stricte conformité avec les exigences du Comité de bioéthique et de la Loi fédérale russe sur la protection des animaux de toute maltraitance (article 4 de la Loi fédérale sur la protection des animaux de toute maltraitance du 1 décembre 1999).

Resultats

A la première étape de l'étude, nous avons évalué la nature inoffensive des adjuvants selon les critères suivants:

– présence/absence de réponses locales et générales à l'introduction des produits, lors du suivi clinique des animaux immunisés
– propriétés cliniques et biochimiques du sang périphérique des animaux expérimentaux

24 heures après la vaccination, ainsi que pendant les 30 jours suivants, les singes n'ont pas présenté de réponses visibles, qu'elles soient locales ou générales, à l'introduction des produits. Tous les animaux expérimentaux ont entièrement conservé la quantité et la force des mouvements des extrémités, la coordination des mouvements et la tonicité musculaire.

Les hématogrammes étudiées n'ont présenté aucun changement pathologique des cellules sanguines indiquant l'effet toxique des formules examinées. L'examen biochimique du sang des animaux étudiés n'a non plus mis en évidence aucun changement substantif et conséquent des indices dans les deux groupes de singes, tant avant qu'après l'immunisation, dans les différentes périodes. Ainsi, les paramètres examinés ont permis de constater l'absence de toxicité aiguë de la formule WDS au dosage utilisé (2 mg/0,5 ml) pour les primates de laboratoire.

Nous avons également constaté que WDS n'avait aucun effet sur le système cytokinique anti-inflammatoire (IL-1β, IL-6, TNFα) ni sur la protéine C-réactive (Tabl. 7), ce qui indique l'absence d'activation des réponses inflammatoires non spécifiques et, donc, la basse réactogénicité du produit. L'activation de la prouction de IL-10 peut témoigner de l'atténuation de réponse type Th1, l'intensification de la prolifération des cellules B et la consolidation de la synthèse de IgM et IgG.

Les indices relevant du maillon cellulaire de l'immunité, observés lors des examens continus de tous les singes cyno-

Tableau 7. Influence de WDS sur le taux de cytokines pro- et anti-inflammatoires et de CRP

Groupe de singes	Prise de sang	Nombre de cytokines (pg/ml)				
		IL-1β N = 0–11	IL-6 N = 0–10 pg/ml	IL-10 N = 0–31 pg/ml	TNFα N = 0–6 pg/ml	CRP N = 0–6 mg/ml
Groupe de comparaison (VRV)	Avant l'immunisation	0,8	0	7,8±2,3	0,3	5,6±0,8
	48 heures après	0	0	5,0±0,2	0	6,3±0,7
	28 jours après	0	0	5,5±0,9	0	5,9±0,4
Groupe expérimental (VRV+WDS)	Avant l'immunisation	0,05	0	6,8±1,6	0,2	4,8±0,9
	48 heures après	0	0,2	12,0±1,9	0,2	5,1±0,5
	28 jours après	0,4	0	5,3±1,3	0,1	4,6±0,7

molgus cliniquement sains qui participaient à l'expérience, variaient largement: T-lymphocytes (CD3) 53,2–80,2%, T-helpers (CD4) 17,7–54,6%, T-suppresseurs cytotoxiques (CD8) 20,5–44,3%, cellules NK (CD16) 5,0–34,7%, B-lymphocytes (CD20) 6,5–28,0%. L'expérience n'a mis en évidence aucun impact de la formule sur le nombre de subpopulations de lymphocytes CD3, CD4, CD8, CD16 à travers toute la période d'observation (plus de 45–60 jours). Nous avons constaté une activation statistiquement significative ($p < 0,05$) de la subpopulation de lymphocytes $CD20^+$, qui marquent les cellules B, sous l'influence de la CGO. En général, nous avons confirmé la sécurité immunologique de WDS.

Le statut de IFN des singes cynomolgus était enregistré en fonction du taux de IFNα et IFNγ. Ni le produit expérimental ni celui de contrôle n'ont affecté de façon significative la génération de l'IFNγ. Cependant, WDS activait la génération de l'IFNα en l'augmentant de 3 à 6 fois contre 2 fois dans le groupe de comparaison. L'activation de la production de l'IFNα témoigne de l›action directe antivirale de WDS.

Nous avons constaté une action stimulante significative de WDS sur les facteurs d'immunité humorale. Son effet activant est le plus fort (de façon statistiquement significative, $p < 0,05$) à l'égard de IgA et IgM et un peu moins fort à l'égard de IgG. La concentration plus élevée d'immunoglobulines provoquée par WDS était constatée assez tôt, 48 heures suite à l'immunisation, et se conservait pendant la période entière d'observation. Quoique l'effet de WDS sur les immunoglobulines de classe G soit moins marqué, le titre moyen géométrique (TMG) d'anticorps spécifiques du virus enregistrés au RIHA au 60-ème jour suivant la vaccination était bien plus élevé dans le groupe VRV + WDS que dans le sous-groupe de comparaison.

Ainsi, nous avons confirmé la possibilité d'utiliser WDS en tant qu'adjuvant, selon les critères suivants:

A) Nature inoffensive, soit absence de:
- réponses locales et générales à l'introduction du produit;
- impact sur le système cytokinique anti-inflammatoire et la CRP;
- impact de la formule sur le nombre de sub-populations de lymphocytes.

B) Efficacité. Nous avons constaté l'action stimulante de WDS sur:
- la production d'INFα;
- la concentration d'anticorps IgA, IgM et IgG;
- l'établissement du taux d'anticorps spécifiques au virus.

Conclusion

L'effet adjuvant de la molécule germanium-organique WDS, si elle est combine avec un vaccin vivant et atténué contre la rubéole, se manifeste surtout à travers l'activation de l'immunité adaptative selon le type humoral (Th2) de réponse. En plus, nous avons mis en évidence une activité directe antivirale de WDS (stimulation de INFα). Domaines d'application potentielles:

1. Renforcement de la réponse immunitaire aux pathogènes extracellulaires;
2. Renforcement de l'action des vaccins antiviraux thérapeutiques (p. ex. contre l'herpès).

Publications

1. *Nikishov O.N., Kuzin A.A., Antipova A.Y. Lavrentieva I.N. Parvovirus infection — modern problem in epidemiology and clinical medicine. Epidemiology and Vaccine Prevention, 2015; 14 (4): 29–35.*
2. *Antipova A.Y. Nikishov O.N., Hamitova I.V., Semenov A.V., Bichurina M.A., Kuzin A.A., Lavrentieva I.N. Screening of donor blood plasma for markers of parvovirus infection. Russian Journal of Infection and Immunity, 2015; 5 (2): 171–174.*
3. *Nikishov O.N., Kuzin A.A., Antipova A.Y. Lavrentieva I.N. Clinical and epidemiological features and prevention of parvovirus infection. Military Medical Journal, 2016; CCCXXXVII: 45–50.*
4. *Lavrentieva I.N., Antipova A.Y., Bichurina M.A., Nikishov O.N., Kuzin A.A. Detection of cases of parvovirus infection in the system of epidemiological surveillance of exanthemic diseases. Russian Journal of Infection and Immunity, 2016; 6 (3): 219–224.*
5. *Lavrentieva I.N., Semenov A.V., Agrba V.Z., Karal-Ogla D.D., Ambrosov I.V., Totolian Areg A. The use of a nanopreparation on the basis of germanium as an adjuvant. Experimental studies on primates. Materials of the third international scientific conference «Fundamental and Applied Aspects of Medical Primatology», 2016, August 8–10, Sochi-Adler: 197–205.*
6. *Shamsutdinova O.A., Lavrentieva I.N. Agrba V.Z. PCR as an informative test in the preclinical study of the specific safety of live vaccines in an experiment on monkeys of the rhesus monkey. Materials of the third international scientific conference «Fundamental and Applied Aspects of Medical Primatology», 2016, August 8–10, Sochi-Adler: 213–218.*
7. *Totolian Areg A., Semenov A.V., Lavrentieva I.N., Bichurina M.A., Kaphtereva L.A. Elimination of the Ebola epidemic in the Republic of Guinea: work experience of the specialized anti-epidemic brigade of Rospotrebnadzor. M.: Creative Information and Publishing Center. 2016: 354.*
8. *Popova A.Y., Bichurina M.A., Lavrentieva I.N., Zhelaznova N.V., Antipova A.Y., Shsherbakova S.A., Boiro M.Y., Totolian Areg A. The study of the level of immunity to measles virus in certain groups of the population of the Republic of Guinea in the framework of the global measles elimination program. Post 1. Russian Journal of Infection and Immunity, 2016; 6 (4): 353–358.*

Département d'immunologie

LABORATOIRE D'IDENTIFICATION DES PATHOGÈNES

Chef du laboratoire: Natalia Roschina
Chercheurs permanents: L. Kouliasheva, A. Zakrevskaya, A. Svarval, K. Ermolenko

En 2015–2016 a été poursuivie l'étude des particularités séroépidémiologiques de contagion de la population de Saint-Pétersbourg et du District fédéral Nord-Ouest par *H. pylori* et révélée une séroprévalence élevée dans la population (61,37%) étant précisé que la contagion par *H. pylori* augmente avec l'âge des examinés: de 44,87% parmi les personnes 20–29 ans à 73,91% parmi celles de plus de 50 ans. L'étude des particularités génotypiques de *H. pylori* a révélé la persistance d'une forte circulation des souches toxogènes contenant cagA dans leur génome (jusqu'à 65%).

A été poursuivie l'étude d'influence des différents produits antibactériens sur les souches de *H. pylori* de même qu'étudiée l'influence de certains probiotiques sur la croissance de *H. pylori in vitro*. La résistance de *H. pylori* aux produits germicides sert de facteur déterminant d'efficacité des schémas existants d'éradication de ce micro-organisme. Dans l'étude de sensibilité aux produits germicides de 48 souches de *H. pylori*, isolées chez les patients ayant une pathologie du tube digestif, nous avons établi que 17 souches (42,5%) ont été résistantes au métronidazole, 13 (27,1%) — à la lévofloxacine et 12 (25%) — à la clarithromycine. On a identifié 3 souches (3,6%) résistantes à l'amoxicilline. Toutes les souches testées ont montré la résistance à la tetracycline. 5 souches (11,1%) de *H. pylori* étaient polyrésistantes (c'est-à-dire qu'elles manifestaient une résistance à trois et à plus de trois groupes de produits germicides). Une double résistance à la clarithromycine a été détectée dans 2 isolats (4,4%) et dans 4 isolats (8,3%) — une double résistance au métronidazole et à la lévofloxacine. Toutes les souches résistantes à l'amoxicilline l'ont été aussi à la clarithromycine. Comme on voit, sur le territoire de Saint-Pétersbourg se maintient un haut niveau de résistance de *H. pylori* à la clarithromycine et au métronidazole.

L'administration des probiotiques peut être considérée comme une éventuelle recette d'éradication efficace des maladies associées à *H. pylori*. Cette recherche a été effectuée ensemble avec l'Institut de la médecine expérimentale de Saint-Pétersbourg (IME). Dans l'étude de l'action antagoniste des probiotiques, effectuée sur la croissance des souches de *H. pylori*, a été utilisée la souche de Enterococcus faecium L3 synthétisant 5 entérocines: EntA, EntB, EntXa, EntXb et la lactobine. A été étudiée en outre l'influence exercée par les souches probiotiques Lactobacillus plantarum 8R-A3 et Escherichia coli M17 sur la croissance de *H. pylori*. A été confirmée une haute activité antagoniste de Lactobaccilus plantarum 8R-A3 et Escherichia coli M17 de même celle de la souche Enterococcus faecium L3 et de ses métabolites, notamment de l'entérocine bi-peptidique EntX (EntXa, EntXb). Ce qui permet d'expliquer l'efficacité des probiotiques dans la thérapie de la maladie ulcéreuse non seulement par la correction de la disbiose associée à l'administration entérale d'antibiotiques, mais aussi par l'inhibition directe de la reproduction de *H. pylori*. On n'a pas réussi à révéler les particularités de la sensibilité des différentes souches à l'action des entérocoques et leurs métabolites.

Ensemble avec Institut de Médicine Experimentale (Saint-Pétersbourg) a été commencée l'étude du microbiote intestinal des personnes infectées et non infectées à *H. pylori*. Ont été examinés 10 patients atteints de la dyspepsie. L'étude des isolats de la muqueuse intestinale a été effectuée avec des méthodes bactériologiques et moléculaires biologiques. Il s'est trouvé que le microbiote intestinal des patients *H. pylori* positifs et *H. pylori* négatifs n'est pas le même. Les isolats de la muqueuse intestinale des personnes *H. pylori* positives étaient caractérisés par une croissance accentuée des bactéries opportunistes: dans les isolats de ces patients ont été trouvées des bactéries des genres *Proteus, Klebsiella, Enterobacter*, enteropathogenic *E. coli*. Le rôle du microbiote intestinal dans le développement des pathologies du tube digestif doit être étudié ultérieurement.

Le laboratoire a obtenu le brevet d'invention No. 2595422 «Souche de test du microorganisme *Helicobacter pylori* (B-7215, Collection d'Etat des microorganismes pathogènes Obolensk) pour détection et identification de *Helicobacter pylori* dans les échantillons de biopsie de la muqueuse de l'estomac ou du duodénum». La souche est destinée à être utilisée dans les études épidémiologiques et microbiologiques de même que dans la biotechnologie médicale pour la conception des test-systèmes diagnostiques. Le brevet enregistré dans la Collection d'Etat des microorganismes pathogènes et cultures cellulaires Obolensk est déposé sous le numéro B-7215. La souche possède un ensemble de déterminants de pathogénicité (UreC; UreI; CagA; VacA) et a une mutation du gène S rRNA — T2182C responsable de la résistance à la clarithromycine. Elle peut être proposée comme souche de test dans l'identification de *H. pylori* et dans la définition de son génotype et sa résistance aux antiobiotiques.

En 2015–2016 a été poursuivie l'étude de prévalence des infections à Chlamydia et à herpès-virus dans le district Nord-Ouest de la Fédération de Russie. De nouvelles données ont été obtenues sur la prévalence des infections à herpes-virus parmi les patients atteints des maladies oncologiques. On a effectué une recherche d'étude de l'activité virucide des produits probiotiques sur la culture cellulaire Vero.

En 2015 les résultats obtenus ont été présentés aux conférences internationales à Copenhague et à Rome.

Au cours de l'étude de prévalence des virus du groupe herpétique (HHV6, EBV, CMV, HSV) dans la population de Saint-Pétersbourg et du district Nord-Ouest de la Fédération de Russie ont été examinés en temps réel avec application de la méthode PCR 3804 échantillons des produits bilogiques. L'ADN des agents des infections à herpès-virus a été détecté dans 717 cas, qui constituent 19%. Pour la contenance et les caractéristiques quantitatives dans ce groupe dominait l'herpès-virus du type 6 dont l'ADN a été détecté dans 42,5% d'échantillons. Les enfants ont consti-

tué une part significative de la cohorte infectée par ce virus. D'autre part ils avaient aussi une charge virale suffisamment élevée. Chez 23% des patients examinés a été détecté l'ADN du virus d'Epstein–Barr (EBV), 6,5% d'échantillons contenaient le virus cytomégalique et 0,5% d'échantillons — Herpès simplex virus (HSV).

Dans l'étude de prévalence du virus du papillome humain (VPH) dans la population de Saint-Pétersbourg et du district Nord-Ouest de la Fédération de Russie a été utilisée la méthode PCR doublement formulée. Dans la première formulation la détection de l'ADN et l'identification du génotype du VPH ont été effectuées en définissant l'appartenance à un des groupes phylogénétiques (A5, A6, A7 et A9).

L'examen des résultats de cette formulation a démontré que le VPH des groupes A9 (17%) et A7 (12%) a été détecté le plus fréquemment dans la cohorte étudiée. Chez les femmes à Saint-Pétersbourg a été souvent détectée la contamination avec deux et plus que deux virus des différents groupes phylogénétiques. Ainsi les combinaisons des virus des groupes phylogénétiques A5, A6 avec ceux des groupes A7 et A9 a été détectée respectivement dans 8% et 5% de cas. Dans 4,0% de cas a été révélée une association des virus des trois groupes phylogénétiques (A5, A6, A7 et A9). On a noté une tendance à l'augmentation du nombre des infections virales mixtes chez les femmes de l'âge de fécondité, ce qui peut augmenter le risque de développement des dysplasies dans cette catégorie de la population.

Près de 50% d'échantillons des matériels biologiques contenaient une concentration cliniquement significative du VPH. Chez les personnes ayant une charge virale chronique la part de détection du VPH a fait près de 28%. Dans le groupe des patients atteints des pathologies urogénitales l'ADN du VPH a été détecté dans 24% d'échantillons.

La fréquence de détection des genotypes du virus fortement cancérigènes a fait de 14,0% à 20,0% chez les hommes et de 18,0% à 34% chez les femmes.

Pendant l'utilisation de la deuxième formulation de la PCR en temps réel a été définie l'appartenance à un groupe phylogénétique concret, révélé le génotype du VPH et donné une évaluation quantitative de contenance de l'ADN viral. Au total ont été examinés 138 échantillons des matériels biologiques prélevés chez les habitants de Saint-Pétersbourg et du District Nord-Ouest de la Fédération de Russie. Dans 36 échantillons (26%) a été détecté le virus du papillome humain à haut risque cancérigène et une concentration cliniquement significative de l'ADN. Chez 16 porteurs de virus on a détecté deux et plus génotypes du VPH avec une charge virale suffisamment élevée (44%).

A été determinée la fréquence d'isolement du EBV à partir des organes du tractus urogénital des femmes manifestant un déroulement lourd de l'herpès génital avec le processus infectieux récidivant d'une manière monotone. L'analyse des résultats obtenus a démontré que l'évolution récidivante de l'herpès genital crée des conditions pour l'isolement subclinique dans les matériels biologiques d'encore un représentant de la famille des herpès-virus — EBV. Ce phénomène s'observe aussi bien pendant les récidives de la maladie qu'en périodes de rémission. Ce qui crée la possibilité de transmission sexuelle non seulement du VPH des types 1 et 2, mais aussi de l'EBV, soulignant ainsi la nécessité de l'étude ultérieure des particularités pathogéniques de cette maladie.

Pour la première fois en Russie a été produite une évaluation d'ensemble de contamination de la population avec des herpès-virus de 6 types (1, 2, 4 (EBV), 5 (Cytomegalovirus — CMV), 6, 8). A été révélé le caractère massif de prévalence de la chlamydiose et ses corrélations avec l'âge des patients, quand on observe une augmentation intermittente des contaminations en adolescence (jusqu'à 20%). Cet indice est de plusieurs fois plus faible chez les enfants plus jeunes.

Pour la première fois a été établi le fait de contamination de plus de 30% de donneurs de sang par tous les 6 types de l'herpès-virus et, dans ce cadre, — le risque de transmission hémotransfusionnelle de ces virus, surtout aux récipients atteints des aphylaxies.

Ont été données des preuves à l'appui de la nécessité d'améliorer le diagnostic des infections herpétiques et ses pistes: introduction du système des protocoles uniques réglementant l'usage d'un ensemble de méthodes diagnostiques (sérologique, moléculaire génétique); diagnostic différencié des herpès-virus du 1-er et du 2-ème types avec utilisation des test-systèmes correspondants; screening du virus-herpès humain (HHV) dans le sang transfusé.

Ensemble avec le Centre panrusse de médecine extrémale et radiologique A.N. Nikiforov ont été effectuées des recherches hors plan visant à la détection de l'infection à *Chlamydia pneumoniae* chez les malades souffrant du syndrome coronarien aigu auxquels, selon les indications médicales, avaient été effectuées la coronarographie et l'angioplastie. Suite aux examens cliniques de laboratoire il a été démontré que le syndrome coronarien aigu peut être associé à l'infection chronique ou aiguë à *Chlamydia pneumoniae* suivant une évolution du type séropositif ou séronégatif. Ainsi l'infection à *Chlamydia pneumoniae* peut servir d'un facteur de risque de commencement d'un développement, évolution et progression instable de l'athérosclérose non moin important que la maladie hypertensive, le diabète sucré ou le tabagisme, qui confirme une fois de plus l'opportunité des études ultérieures de cette infection chez les malades atteints d'athérosclérose.

Au cours de la recherche a été étudié l'effet inhibiteur produit par un ensemble de médicaments sur la croissance des microorganismes des espèces *Ureaplasma urealyticum* et *Mycoplasma hominis* dans le cadre d'un système modèle *in vitro*, ce qui peut contribuer à l'amélioration d'une thérapie étiotrope des infections associées à ces microorganismes. Deux demandes de brevet d'invention ont été déposées.

A été enregistré un nouvel article médical pour la Russie — «Ensemble de réactants pour détection de l'agent de la chlamydiose par la méthode d'immunofluorescence» No. P3H 2016/4035.

Publications

1. *Rustamov M.N., Baryshnikova N.V., Svarval A.V. Various probiotic strains in the eradication of Helicobacter pylori: in vitro and in vivo efficacy // Experimental and clinical gastroenterology. 2016; 5 (129): 28–31.*
2. *Tarasov A.V., Khirmanov V.N., Drygina L.B., Kulyashova L.B. Possibilities of diagnosis of Chlamydia pneumoniae infection in patients with ischemic heart disease // Medical alphabet. 2016; 13 (276). Modern laboratory. 2: 57–61.*
3. *Zakharova N.V., Simanenkov V.I., Savilova I.V., Svarval A.V. Helicobacter pylori-isotope diagnosis of infection and resistance testing // Pharmateka. 2016; 2: 23–27.*

4. *Tarasov A.V., Kulyashova L.B., Zheltakova I.R., Khirmanov V.N., Drygina L.B. Features of the diagnosis of infection caused by Chlamydia pneumoniae in patients with acute coronary syndrome // Infection and immunity. 2016; 6 (1): 67–72.*
5. *Svarval A.V., Ferman R.S., Roshchina N.G. Experience of using a set of methods for laboratory diagnosis of Helicobacter pylori infection // Infection and immunity (Proceedings of the II National Congress of Bacteriologists). 2016; 6 (3): 292.*
6. *Svarval A.V., Ferman R.S., Kolobov A.A., Roshchina N.G., Suvorov A.N., Ermolenko E.I. Influence of probiotic enterococci on the growth of Helicobacter pylori // Journal of Infectology (Proceedings of the IV Congress of the Euro-Asian Society for Infectious Diseases). Application. 2016; 8 (2): 87.*
7. *Ermolenko D.K., Ermolenko K.D., Kulyashova L.B. Clinical features of active forms of ureaplasma infection and antibiotic susceptibility of the pathogen in women of childbearing age // Journal of Infectology (Proceedings of the IV Congress of the Euro-Asian Society for Infectious Diseases). Application. 2016; 8 (2): 43.*
8. *Ermolenko E.I., Svarval A.V., Kolobov A.A., Ferman R.S., Roschina N.G., Suvorov A.N., Baryshnikova N.V. Influence of different probiotic strains of enterococcal bacteriocins on the growth of Helicobacter pylori in vitro // Helicobacter. (Helicobacter.European Helicobacter and Microbiota Study Group, Magdeburg, Germany, 15–17 Sept. 2016). 2016; 21 (1): 137.*
9. *Ermolenko E.I., Varsin S.A., Baryshnikova N.V., Svarval A.V., Ferman R.S., Besedina N., Zakrevskaya A., Suvorov A.N. Gastric microbiota in Helicobacter pylori positive and H. Pylori negative patients // Helicobacter. (Helicobacter.European Helicobacter and Microbiota Study Group, Magdeburg, Germany, 15–17 Sept. 2016). 2016.*

LABORATOIRE D'IMMUNOLOGIE MOLÉCULAIRE

Chef du laboratoire: Areg Totolian
Chercheurs permanents: N. Arsentieva, O. Batsunov, V. Drobychevskaya, E. Zueva, N. Lubimova, Y. Ostankova, O. Petrova, A. Semenov, I. Khamitova, M. Tchurina

Le laboratoire d'immunologie moléculaire a été institué à l'Institut en octobre 2010. Le laboratoire est dirigé par l'académicien de l'Académie des Sciences de Russie, docteur en médecine, professeur Areg Totolian. En 2011 sur la base du laboratoire d'immunologie moléculaire et du laboratoire central de diagnostic clinique a été déployé le Pôle à usage collectif de l'Institut Pasteur. Son potentiel technique de recherche comprend de tels équipements modernes, comme le cytofluoromètre utilisant le principe de la cytométrie de flux FACS Canto II (Beckton Dickinson), l'analyseur multiplex sur la base de la technologie xMAP (Luminex) MagPix (Millipore), le spectromètre de masse à temps de vol et à la désorption-ionisation laser assistée par matrice MALDI-TOF Microflex (Brucker Daltonics), l'ensemble d'imprimante et de scanner de micropuces BioOdissey Calligrapher MiniArrayer (BioRad), l'analyseur génétique GenomeLab XP (Beckman Coulter) et le système d'analyse génétique Pyromark Q24 (Qiagen), les équipements d'électrophorèse bidimensionnelle Ettan IPGphor 3 IEE System et Ettan DALTsix Large Vertical System (GE Healthcare), le système automatique Biomek 4000 (Beckman Coulter) et d'autres équipements modernes.

La jeune équipe du laboratoire réalise ses propres projets tout en participant aux recherches collectives menées ensemble avec les laboratoires de l'Institut Pasteur et avec d'autres organismes.

L'équipe du laboratoire participe aux projets de recherche suivants:

- ***Diagnostic immunologique et moléculaire biologique des déficits immunitaires primaires.*** Sur la base du Pôle à usage collectif a été crée le Centre de diagnostic et de traitement des déficits immunitaires primaires, DIP (Primery Immunodeficiency Center, PID Center). Cet établissement effectue ses recherches utilisant la méthode de cytofluorimétrie chromatique avec détection des petites sous-populations lymphocytaires. Pour révéler les mutations dans la confirmation du diagnostic DIP sont utilisées les méthodes moléculaires génétiques. On effectue le séquençage des gènes *btk, rag1, rag2, cybb*. Dans l'algorithme diagnostique de détection du DIP est incorporée la méthode de détection quantitative des molécules TREC et KREC comme méthode screening de détection des DIP. L'activité de recherche et du diagnostic du Centre DIP est combinée avec le travail clinique menée au département des consultations externes de l'Institut Pasteur.
- ***Une thèse de doctorat a été écrite sur l'étude des marqueurs immunologiques de la progression de l'hépatite virale C (HVC) chronique (N.A.Arsentieva).*** L'étude a été couronnée de la soutenance réussie de la thèse et le grade universitaire de docteur en biologie a été attribué à N.A. Arsentieva. On effectue l'étude et l'analyse comparée du taux des cytokines et des chimiokines dans le sang des malades atteints de l'HVC, impliquées dans la réponse immune antivirale, y compris dans les groupes des patients souffrant de la fibrose hépatique à des différents stades. A été élaborée une méthode non invasive de définition des stades de la fibrose hépatique d'après la concentration des chimiokines/cytokines dans le plasma sanguin. Le brevet d'invention a été obtenu selon les résultats de cette recherche.
- ***Une autre thèse de doctorat a été écrite et soutenue suite à l'étude des mécanismes de passage de l'HVC au stade chronique et aux particularités de la réponse immune à cette infection.*** Dans cette thèse est étudiée l'expression des récepteurs des chimiokines dans des différentes sous-populations lymphocytaires (D.S. Elezov). La conception d'un panel chromatique pour cytométrie de flux a permis de révéler les particularités d'expression des récepteurs des chimiokines CXCR3 et CCR6 chez les patients atteints de l'HVC chronique. L'étude ultérieure de l'expression des récepteurs des chimiokines et marqueurs d'activation à la surface des cellules ponctuées du système immun, participant au contrôle de l'infection virale, permettra de mieux comprendre le mécanisme d'interaction entre le microorganisme et le système immun.
- L'écriture et la soutenance d'encore une thèse de doctorat est prévue sur l'étude de la contenance des cytokines/chimiokines dans le plasma sanguin des malades atteints de l'hépatite virale B (HVB) avec utilisation de la méthode innovante de définition des cytokines/chimiokines sur la base des particules magnétiques Luminex. A été conçu un panel chromatique pour étudier l'expression des récepteurs des chimiokines chez les patients atteints de l'HVB dans des différentes sous-populations lymphocytaires par la méthode de cytométrie de flux.
- On effectue également une recherche de définition du taux des cytokines/chimiokines dans le plasma sanguin des malades atteints des hépatites auto-immunes du foie. Les résultats de cette recherche ont été présentées à des différentes conférences scientifiques.
- On mène toujours la recherche des marqueurs de laboratoire signalant les lésions hépatiques des différentes étiologies. Ce projet est prévu pour plusieurs années et comprend deux approches méthodiques: génomique et protéomique. A été élaboré et testé un test-système pour définition quantitative de l'ADN circulaire clos de façon covalente (ADNccc) du VHB dans le tissu hépatique. On étudie aussi l'incidence de l'hépatite B non détectée par la méthode routinière chez les personnes infectées par le VIH.
- Le laboratoire poursuit les recherches d'incidence des variantes alléliques du génotype CCR5 dans la population de Saint-Pétersbourg. Le CCR5 joue un rôle important dans la réaction inflammatoire lors de la contagion. La définition de la fréquence des délétions dans le gène CCR5 permet de préciser la prévisibilité de l'incidence du SIDA dans le District fédéral Nord-Ouest.
- Parallèlement à l'étude de prévalence de l'hétéromorphisme du gène CCR on poursuit la détection de l'hétéromorphisme d'encore un gène protectif — CCR2 — dans la même cohorte qui a été étudiée au sujet de l'hétéromorphisme de CCR5. A été élaborée une méthode originale de définition de l'état allélique du gène CCR2 par pyroséquençage.

Ensemble avec d'autres laboratoires de l'Institut Pasteur on effectue des recherches dans le cadre des projets suivants:

- Analyse du génome des souches du virus de l'hépatite B circulant sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest de Russie (ensemble avec le laboratoire des hépatites virales). On effectue le séquençage et l'analyse phylogénique des souches du VHB. La définition des séquençages des régions génomiques Cor/preCor et preS/S du VHB permet de génotyper le virus détecté et étudier la résistance primaire et secondaire du VHB aux produits virucides. L'accumulation des données en épidémiologie moléculaire du VHB est une part du programme d'élimination de l'hépatite virale B aiguë sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest. Selon les résultats de séquençage des souches du VHB a été écrite et actuellement prête à la soutenance une thèse candidate au grade universitaire de docteur en biologie.
- Dans le cadre du projet de recherche «Elaboration de la méthode d'identification rapide des souches pathogènes de Leptospira sur la base de l'analyse de spectrométrie de masse MALDI-TOF» (ensemble avec le laboratoire des infections zooantroponoses de l'Institut Pasteur) a été établie une base de données des spectres de masse de référence des protéines à partir des lysats des cellules des souches de Leptospira spp. provenant de la collection de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg.
- Une étude des sérums sanguins des patients ayant subi la leptospirose est effectuée par la méthode d'analyse multiplex. Dans le cadre de cette étude on détermine aussi le taux des chimiokines et des cytokines, y compris lors des formes graves et fatales de la leptospirose. A été donnée la caractéristique des souches de *Leptospira* sp. en 16S pARN.
- On poursuit l'identification des bactéries des espèces Yersinia enterocolitica-like avec la méthode de spectrométrie de masse MALDI-TOF. La grande diversité des espèces Yersinia rend difficile leur identification selon les caractères phénotypiques. En absence d'un nombre nécessaire de tests dans les test-systèmes commercialisés elles sont souvent regroupées sous le nom générique de *Y. enterocolitica*. Le laboratoire a crée sa propre bibliothèque des spectres de masse des souches de référence Yersinia spp. qui font partie de l'ensemble servant à la mise en oeuvre du test de microagglutination. La bibliothèque sert également au contrôle d'uniformité de composition des pointes spécifiques dans les spectres de masse des souches de référence Yersinia lors des réensemencements de la collection.

Ensemble avec certains organismes externes on mène des recherches selon les projets suivants:

- Etude du taux des cytokines et chimiokines dans le sang périphérique des femmes enceintes souffrant de l'asthme bronchique (en collaboration avec l'Institut de recherches en pneumologie de l'Université d'état de médecine I.P. Pavlov de Saint-Pétersbourg). Un important groupe de femmes enceintes à l'âge gestationnel différent et au différent degré de sévérité d'évolution de l'asthme bronchique dans les périodes de rémission et d'aggravation est étudié par la méthode d'analyse multiplex du taux des chimiokines et des cytokines dans le sang périphérique. L'étude vise à la détection des marqueurs diagnostics signifiants d'aggravation de l'asthme bronchique.
- Etude des caractères spécifiques de production des chimiokines dans la membrane synoviale au cas de l'arthrite rhumatoïde (en collaboration avec le Centre fédéral de cardiologie, hématologie et endocrinologie V.A. Almazov). L'étude cherche à connaître les régularités de variation de l'équilibre des chimiokines angiogéniques et angiostatiques provoquant le développement de la réaction inflammatoire des articulations synoviales.
- Etude du rôle du polymorphisme 894G>T du gène NOS3 dans la formation de la vasoconstriction périphérique (en collaboration avec l'Etablissement fédéral d'enseignement supérieur d'Etat relevant du budget public «Université d'Etat de médecine du Nord» (Arkhangelsk) du Ministère de la santé de la Fédération de Russie).

Le Pôle à usage collectif maintient une collaboration dans les recherches avec les organismes suivants:

- Etablissement fédéral d'Etat relevant du budget publique «Institut de recherche en médecine expérimentale» de la Filiale Nord-Ouest de l'Académie des Sciences de médecine de Russie (département d'immunologie), Saint-Pétersbourg;
- Etablissement d'éducation d'Etat d'enseignement professionnel supérieur relevant du budget publique «Université d'Etat de médecine pédiatrique de Saint-Pétersbourg (département des maladies infectieuses des adultes et d'épidémiologie), Saint-Pétersbourg;
- Etablissement d'éducation d'Etat d'enseignement professionnel supérieur relevant du budget publique «Université d'Etat de médecine I.P. Pavlov de Saint-Pétersbourg» (départements des maladies infectieuses, de pneumologie, d'otorhinolaryngologie, Centre de la médecine moléculaire), Saint-Pétersbourg;
- Etablissement d'éducation d'Etat d'enseignement professionnel supérieur relevant du budget publique «Université d'Etat russe de médecine» (departement de pédiatrie), Moscou;
- Etablissement fédéral militaire d'Etat d'enseignement professionnel supérieur relevant du budget publique «Académie de médecine militaire S.M. Kirov du Ministère de la défense de la Fédération de Russie» (département des maladies infectieuses), Saint-Pétersbourg.

Dans le plan de travail du laboratoire est prévue en outre l'écriture et la soutenance de deux thèses candidates au grade universitaire de docteur en biologie.

Publications

1. *Zhebrun D.A., Maslyansky A.L., Titov A.G., Patrukhin A.P., Kostareva A.A., Goltseva I.S., Arsentyeva N.A., Lyubimova N.E., Totolian A.A. Levels of angiogenesis-regulatory chemokines in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. Rheumatology Science and Practice. 2015; 53 (1): 58-62. doi: 10.14412/1995-4484-2015-58-62*
2. *Arsent'eva N.A., Semenov A.V., Lyubimov N.E., Basina V.V., Esaulenko E.V., Kozlov K.V., Zhdanov K.V., Totolian A.A. Contents cytokines and chemokines in blood plasma of patients with chronic viral hepatitis C // Russian Journal of Immunology. 2015; 9 (18), 1: 83–92.*
3. *Sivolodskii E.P., Zueva E.V., Kunilova E.S., Bogumiltchik E.A., Domakova T.V. The identification of clinical strains of Pseudomonas fulva using techniques of MALDI-TOF mass spectrometry and common analysis // Russian Clinical Laboratory Diagnostics, 2015; 1: 46–50.*

4. *Belopolskaya M.A., Firsov S.L., Ostankova Y.V., Semenov A.V., Kalinina O.V. Efficiency of the telbivudine administration in the third trimestr of pregnancy for the prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus // Journal Infectology. 2015; 7 (2): 105–107. doi: 10.22625/2072-6732-2015-7-2-105-107*
5. *Arsent'eva N.A.,Semenov A.V.,Lyubimova N.E., Zhdanov K.V., Totolian A.A. Chemokine Receptors CXCR3 and CCR6 and Their Ligands in the Liver and Blood of Patients with Chronic Hepatitis C // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2015; 160 (8): 218–222*
6. *Elezov D.S., Kudryavtsev I.V., Arsent'ev N.A., Semenov A.V., Totolian A.A. Analysis of Populations of Memory T-Helper Cells Expressing CXCR3 and CCR6 Chemokine Receptors in Peripheral Blood of Patients with Chronic Viral Hepatitis C // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2015; 160 (8): 204–208*
7. *Semenov A.V., Arsentieva N.A., Lubimova N.E., Tulienev S.V., Basina V.V., Esaulenko E.V., Totolian A.A. The role of cytokines and hemokines in laboratory diagnostic of chronic viral hepatitis C // Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2015; 60 (8): 45–51*
8. *Zyeva E.V., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K., Totolian Areg A. MALDI-TOF mass-spectrometric analysis of Leptospira spp. used in serodiagnostics of leptospirosis // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2015; 6: 28–36.*
9. *Semenov A.V., Ostankova J.V., Gerasimova V.V., Bichurina M.A., Kozlov A.V., Mukomolov S.L., Totolian A.A. Molecular epidemiology features of hepatitis c virus isolates from different regions of the Republic Sakha (Yakutia) // Russian Journal of Infection and Immunity. 2015; 5 (4): 359–372. doi: 10.15789/2220-7619-2015-4-359-372*
10. *Gabdrakhmanov I.A., Semenov A.V., Ostankova Y.V., Kozlov K.V., Zhdanov K.V., Gusev D.A., Sukachev V.S., Shakhmanov D.M., Zhabrov S.S., Peremyshlenko A.S., Bulankov Y.I., Ivanov A.M., Totolian A.A. Virological and morphological relationships in the phases of the immune control and reactivation in patients with chronic hepatitis B // Journal Infectology. 2015; 7 (4): 37–43. doi: 10.22625/2072-6732-2015-7-4-37-43*
11. *Petrova O.A., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K., Arsentieva N.A., Lyubimova N.E., Semenov A.V., Totolian Areg A. Production of certain pro- and anti-inflammatory cytokines during stimulation by live and inactivated leptospira pathogens in the model of human whole blood // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2015; 6: 23–28*
12. *Ostankova, Yu.V., Semenov A.V., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K., Lyubimova N.E., Petrova O.A., Ananina Yu.V., Petrov E.M. Typing of Leptospira spp. strains based on 16S rRNA // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2016; 1: 35–39*
13. *Semenov A.V., Ostankova Y.V., Gerasimova V.V., Bichurina M.A., Mukomolov S.L., Kozlov A.V., Totolian A.A. For the question about Molecular Epidemiology of Hepatitis B Virus Infection in the Republic Sakha (Yakutia) // Journal Infectology. 2016; 8 (1): 57–65. doi: 10.22625/2072-6732-2016-8-1-57-65*
14. *Semenov A.V., Ostankova Y.V., Nogoybaeva K.A., Kasymbekova K.T., Lavrentieva I.N., Tobokalova S.T., Totolian A.A. Molecular epidemiology features of hbv/hdv co-infection in Kyrgyzstan // Russian Journal of Infection and Immunity. 2016; 6 (2): 141–150. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-141-150*
15. *Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Faizullaev Kh.N., Kazakova E.I., Kozlov A.V., Musabaev, E.I., Totolian Areg A. Molecular-biological markers of hepatitis B in patients with liver fibrosis/cirrhosis in Uzbekistan // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2016; 5: 34–43.*
16. *Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Faizullaev Kh.N., Kazakova E.I., Kozlov A.V., Musabaev E.I., Totolian Areg A. HBV covalently closed circular DNA as a marker of prevalence of occult hepatitis B in patients with HBV, HDV and HCV infection in Uzbekistan // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2016; 5: 43–49.*
17. *Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Burkitbayev Z.K., Savchuk T.N., Totolian A.A. Genetic variants of hepatitis b virus in primary donors in Astana, Kazakhstan // Russian Journal of Infection and Immunity. 2016; 6 (4): 359–365. doi: 10.15789/2220-7619-2016-4-359-365*
18. *Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Churina M.A., Rosolovsky A.P., Grebyonkina E.V., Tkachenko T.N., Zhandarmova T.A., Totolian A.A. The case of traumatic transmission child of human immunodeficiency virus // Journal Infectology. 2016; 8 (4): 98–103. doi: 10.22625/2072-6732-2016-8-4-98-103*
19. *Nazarov V.D., Lapin S.V., Surkova E.A., Evdoshenko E.P., Makshakov G.S., Totolian A. Diagnostic and prognostic significance of intrathecal synthesis of immunoglobulin free light chains in multiple sclerosis // Medical Immunology (Russia). 2015; 17 (3): 235–244. doi: 10.15789/1563-0625-2015-3-235-244*
20. *Maslyansky A.L., Zhebrun D.A., Titov A.G., Patrukhin A.P., Kostareva A.A., Goltseva I.S., Totolian A.A. Comparison of the diagnostic informative value of determination of mrna of some homeostatic and proinflammatory cytokines in the synovial membrane of patients with rheumatoid arthritis. Rheumatology Science and Practice. 2016; 54 (1): 10–15. doi: 10.14412/1995-4484-2016-10-15*
21. *Kudryavtsev I.V., Serebryakova M.K., Totolian A.A. The standard values of sub-populations of T-helpers of different level of differentiation in peripheral blood // Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2016; 61 (3): 179–184.*
22. *Kudryavtsev I.V., Borisov A.G., Krobinets I.I., Savchenko A.A., Serebriakova M.K., Totolian A.A. Chemokine receptors at distinct differentiation stages of T-helpers from peripheral blood // Medical Immunology (Russia). 2016; 18 (3): 239–250. doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-239-250*
23. *Nazarov V.D., Lapin S.V., Mazing A.V., Totolian A.A., Evdoshenko E.P. Immunogenicity of human interferon-beta-containing pharmaceuticals // Biochemistry (Moscow). 2016; 81 (11): 1396–1400.*
24. *Nazarov V.D., Lapin S.V., Surkova E.A., Makshakov G.S., Mazing A.V., Evdoshenko E.P., Totolian A.A. The methods of detection of binding and neutralizing antibodies to preparations of interferon-beta // Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2016; 61 (10): 710–714.*
25. *Kovelenov A.Y., Semikova S.Y., Totolian A.A. Organization of health care provision to hiv patients in Leningrad oblast // HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (3): 39–44. (In Russ.) doi: 10.22328/2077-9828-2016-8-3-39-44*
26. *Belyakov N.A., Rassokhin V.V., Trofimova T.N., Stepanova Y.V., Panteleev A.M., Leonova O.N., Buzunova S.A., Konovalova N.V., Milichkina A.M., Totolian A.A. Advanced and comorbid hiv cases in Russia // HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (3): 9–25. doi: 10.22328/2077-9828-2016-8-3-9-25*

Département d'epidemiologie

LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE DES MALADIES INFECTIEUSES ET NON INFECTIEUSES

Chef du laboratoire: Liudmila Lyalina
Chercheurs permanents: J. Terentieva, I. Ovsyannikova, O. Shataeva, V. Vetrov

En 2015–2016 le Laboratoire d'épidémiologie des maladies infectieuses et non infectieuses a pris part à la réalisation des travaux de recherche selon les thématiques suivantes:

- Perfectionnement du système de contrôle épidémiologique des infections virales géré par les moyens de vaccinoprophylaxie aux stades de leur éradication, élimination et baisse d'incidence (poliomyélite, rougeole, rubéole et parotidite épidémique);
- Développement du système de surveillance et vaccinoprophylaxie de l'infection au virus du papillome et des néoformations malignes, associées au virus du papillome humain (VPH);
- Réalisation du programme d'élimination de l'hépatite virale B sur les territories du District fédéral Nord-Ouest;
- Optimation du système de contrôle épidémiologique de la tuberculose;
- Caractéristique épidémiologique des infections intestinales aiguës dans les différentes régions de la Fédération de Russie.

Les chercheurs permanents du Laboratoire ont pris part à la réalisation de deux programmes nationaux: éradication de la poliomyélite et de la rougeole et la rubéole en Fédération de Russie et d'un programme régional d'élimination de l'hépatite virale B aiguë sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest. Une mission à l'étranger a été effectuée en 2015: participation et intervention à la 30-ème Conférence internationale à Lisbonne (Portugal), consacrée au problème de l'infection au virus du papillome. En 2015–2016 les chercheurs du Laboratoire se sont déplacés 5 fois sur le territoire de la Fédération de Russie pour prêter aide en méthode et contrôle de réalisation des manifestations de surveillance et prévention de la rougeole, la rubéole, la poliomyélite et des infections intestinales non polio. 16 interventions ont été faites par les chercheurs du Laboratoire aux conférences, congrès internationaux et rencontres, 17 ouvrages publiés, une rencontre régionale des médecins épidémiologues, infectiologues et virologistes organisée sur le thème «Résultats de la première étape de réalisation du programme d'élimination de l'hépatite virale B aiguë sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest de Russie et objestifs pour les années 2016–2018». A été effectuée la tutelle des recherches de 10 boursiers de thèse.

Rougeole

En 2015 dans le District fédéral Nord-Ouest de Russie ont été enregistrés 5 cas de la rougeole l'indice d'incidence étant 0,04 par 100 000 habitants (Fig. 9). La maladie a été révélée dans la population adulte sur 3 territoires du District qui compte 11 territoires au total: 3 cas à Saint-Pétersbourg, 1 — dans l'oblast de Léningrad et encore 1 — dans l'oblast de Vologda. L'indice d'incidence sur chacun de ces territoires a fait 0,06 par 100 000 habitants.

A Saint-Pétersbourg il y a eu un cas enregistré où la rougeole a été importee de Kirghizie (génotype D8V de la lignée génétique Mvi/Villipuram.IND/03,07). Deux autres cas étaient locaux et n'étaient pas lies entre eux la source de l'infection n'étant pas établie. Dans un cas a été isolé le génotype du virus de la rougeole D8RoK de la lignée génétique MVs/Republic of Komi.Rus/35,13. Dans l'oblast de Léningrad et l'oblast de Vologda la rougeole a été révélée lors des examens de laboratoire des personnes présentant les symptômes des exanthèmes. Les deux cas ont été locaux la source de l'infection n'étant toujours pas établie. Les résultats de l'étude du statut vaccinal des malades de la rougeole ont révélé que dans 3 cas les patients avaient été doublement vaccinés contre cette infection, chez 2 autres personnes les données de vaccination étaient absentes. En 2016 aucun cas de la rougeole n'a été enregistré sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest.

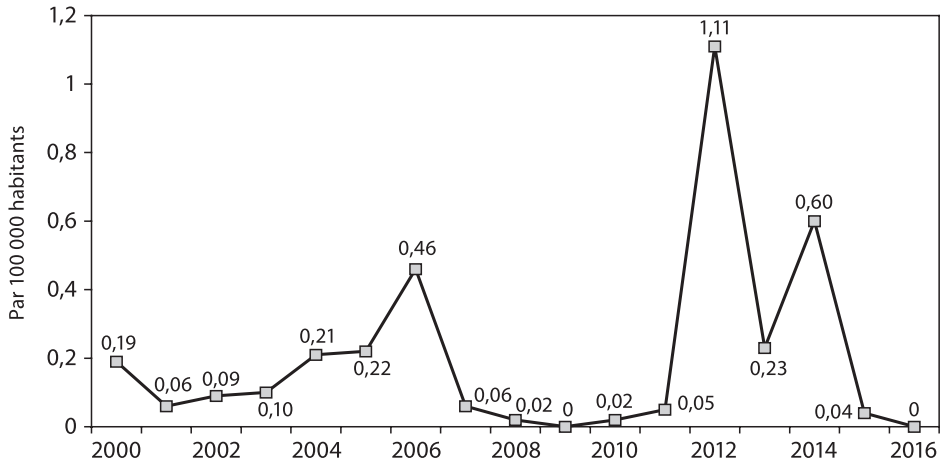


Figure 9. Incidence de la rougeole sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest de ala Russie, 2000–2016

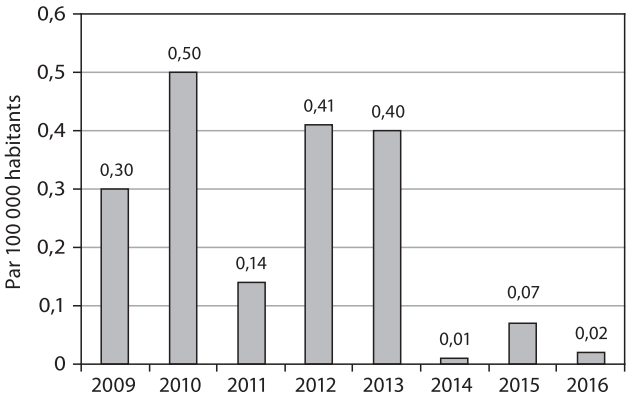


Figure 10. Incidence de la rubéole dans le District fédéral Nord-Ouest de Russie, 2009–2016

Rubéole

En 2015 dans le District fédéral Nord-Ouest de Russie ont été enregistrés 9 cas de la rubéole l'indice d'incidence étant 0,07 par 100 000 habitants (Fig. 10). La maladie a été révélée sur 2 territoires: 3 cas à Saint-Pétersbourg (indice d'incidence 0,06 par 100 000 habitants) et 6 cas dans l'oblast de Novgorod parmi les étudiants de l'université locale (indice d'incidence 0,96 par 100 000 habitants). La rubéole a été diagnostiquée dans la population adulte dans les categories d'âge suivantes: 4 cas dans la catégorie de 20–24 ans et 5 cas dans celle de 25–29 ans. S'étant renseigné sur le statut vaccinal des malades on a appris que 4 personnes avaient été vaccinées contre la rubéole, l'anamnèse vaccinale de 5 autres restant inconnue. A Veliky Novgorod on a isolé chez les malades le génotype du virus de la rubéole 2B proche des souches du virus circulant en République démocratique du Congo.

En 2016 ont été révélés 3 cas de la rubéole l'indice d'incidence étant 0,02 par 100 000 habitants. La maladie a été enregistrée sur 2 territoires: 1 cas à Saint-Pétersbourg et 2 cas dans l'oblast d'Arkhangelsk. La rubéole a été diagnostiquée dans la population adulte dans les catégories d'âge suivantes: 1 cas dans la catégorie de 18–19 ans et 2 cas dans celle de 20–24 ans. Les patients de l'oblast d'Arkhangelsk n'ont pas été vaccinés contre la rubéole, l'anamnèse vaccinale du malade de Saint-Pétersbourg restant inconnue.

Pendant la période de 2015–2016 sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest on n'a pas révélé les cas de la rubéole chez les femmes enceintes et du syndrome de la rubéole congénitale chez les nouveaux-nés.

Les résultats de la surveillance épidémiologique de la rougeole et la rubéole dans le District fédéral Nord-Ouest en 2015–2016 ont prouvé que le programme d'élimination des ces infections est en train d'être réalisé avec succès. On observe une baisse d'incidence: en 2015 son indice pour la rougeole a été < 1 par 1 000 000 d'habitants et en 2016 les cas de rougeole n'ont pas été enregistrés. Depuis 2007 l'indice d'incidence de la rubéole est < 1 par 1 000 000 d'habitants. Les cas de la rubéole chez les femmes enceintes et le syndrome de la rubéole congénitale chez les nouveaux-nés ne sont pas révélés. Les éclosions spontanées de ces maladies ne sont pas enregistrées. Tous les cas de la rougeole et la rubéole sont confirmés au laboratoire. Les indices de vaccination contre la rougeole et la rubéole chez les enfants et les adultes par catégories d'âge, fixés par le calendrier national des vaccinations préventives, sur tous les territoires du District fédéral Nord-Ouest correspondent aux critères préconisés par l'OMS pour l'étape d'élimination de l'infection.

Infection au virus du papillome

La vaccination contre l'infection au virus du papillome est effectuée en Fédération de Russie depuis 2007 mais elle n'est pas inclue au calendrier national des vaccinations preventives. En 2015–2016 a été poursuivie l'étude des particularités régionales de propagation des différentes formes de cette infection. Au Fig. 11 est présentée la structure étiologique des infections sexuellement transmissibles (IST) sur un territoire du Nord-Ouest de la Russie.

Parmi les IST, passibles d'enregistrement obligatoire en Fédération de Russie, les condylomes ano-génitaux, provoqués principalement par le virus du papillome humain (VPH) des génotypes 6 et 11, sur le territoire de l'oblast de Léningrad occupent le troisième rang après la trichomonose et la chlamydiose. En 2015 et 2016 la part des condylomes ano-génitaux a fait respectivement 14,9 et 16,1% avec les différences statistiquement insignifiantes (p > 0,05).

En 2015–2016 les taux d'incidence des condylomes ano-génitaux sur ce territoire ont été supérieurs à ceux

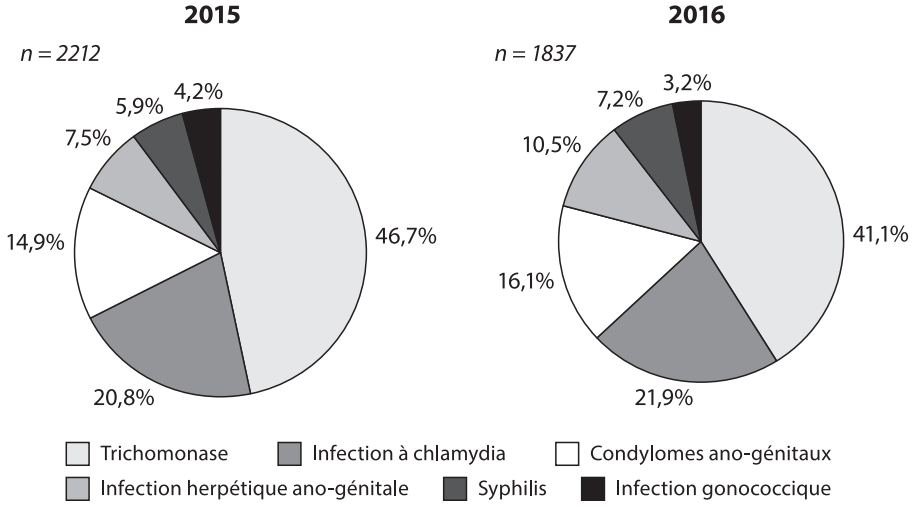


Figure 11. Proportion des condylomes ano-génitaux dans la structure des infections sexuellement transmissibles dans l'oblast de Léningrad, 2015–2016

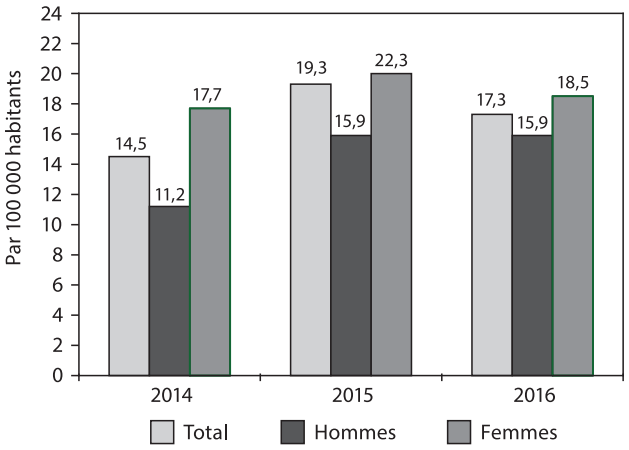


Figure 12. Incidence des condylomes ano-génitaux chez les hommes et les femmes dans l'oblast de Léningrad, 2014–2016

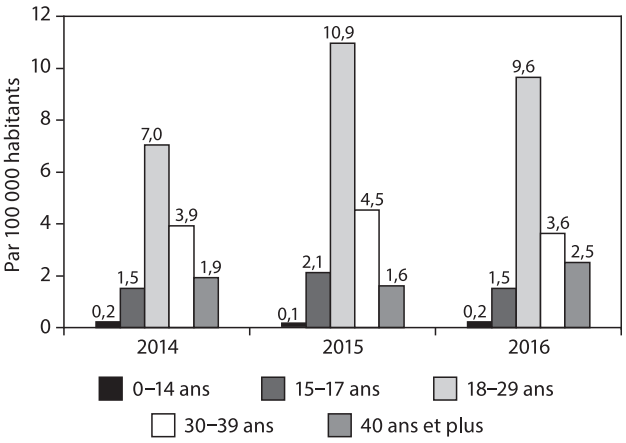


Figure 13. Incidence des condylomes ano-génitaux dans les différentes categories d'âge de l'oblast de Léningrad, 2014–2016

de 2014 avec l'indice de 19,3–17,3 par 100 000 habitants (Fig. 12). L'incidence chez les femmes a été caractérisée par un niveau plus élevé: 22,3–18,5 par 100 000 habitants contre 15,9 par 100 000 habitants chez les hommes.

L'incidence des condylomes ano-génitaux a été enregistrée dans toutes les catégories d'âge. Les cas unitaires ont été détectés même chez les enfants (Fig. 13). L'essentiel groupe de risque est composé de jeunes gens de 18 à 29 ans. En 2015 et 2016 les indices d'incidence dans cette catégorie d'âge ont fait respectivement 10,9 et 9,6 par 100 000 habitants (en 2014 — 7,0 par 100 000 habitants). Parmi les patients de l'âge de 30–39 ans l'indice d'incidence des condylomes ano-génitaux a été à peu près 2 fois inférieur (4,5–3,6 par 100 000 habitants). Parmi les adolescents de 15–17 ans les indices d'incidence variaient entre 1,5 en 2014 et 2,1 en 2015 par 100 000 personnes de cet âge.

A la différence de Saint-Pétersbourg et de certains autres territoires de Russie, dans l'oblast de Léningrad la vaccination contre l'infection au virus du papillome n'a pas été faite. Pour cette raison les données présentées sur l'incidence des condylomes ano-génitaux caractérisent la situation dans la période pré-vaxinale et peuvent être utilisées pour fonder la nécessité d'immunisation contre cette infection et évaluer son efficacité à l'avenir.

Le Fig. 14 présente les résultats d'étude de prévalence du VPH à haut risque cancérigène (16 génotypes globalement) parmi les patients d'un dispensaire antivénérien à Saint-Pétersbourg. Les résultats de l'étude ont démontré qu'en 2015–2016 la fréquence de détection du VPH a fait respectivement 24,4 et 24,9 par 100 personnes examinées n'étant pas très différente de celle de 2014. Pour le diagnostic de laboratoire ont été utilisés les test-systèmes fabriqués en Russie.

La prévalence des génotypes concrets du VPH dans cette catégorie des patients est présentée au Fig. 15 (la cohorte étudiée n'a été composée que des femmes). Le premier rang pour la prévalence à Saint-Pétersbourg, dans d'autres régions de Russie et dans d'autres pays revient au VPH du génotype 16: 10,3 par 100 personnes examinées. Le deuxième et le troisième rang reviennent au VPH des génotypes 18 et 33: respectivement 7,7 et 7,2 par 100 personnes examinées. Ensuite on trouve selon la fréquence d'incidence le VPH des génotypes 45, 31, 51, 39 et 56. Le VPH des génotypes 52 et 58 n'ont pas été détectés dans cette étude.

Dans d'autres territoires de la Fédération de Russie, où on a fait des recherches pareilles, les indices de prévalence des génotypes concrets étaient différents, ce qui témoigne de la nécessité d'étudier ces données localement dans chaque région dans les intérêts d'actualisation du problème, de sa portée sociale et d'évaluation de l'éficacité de la vaccination contre l'infection au virus du papillome au niveau des groupes de population.

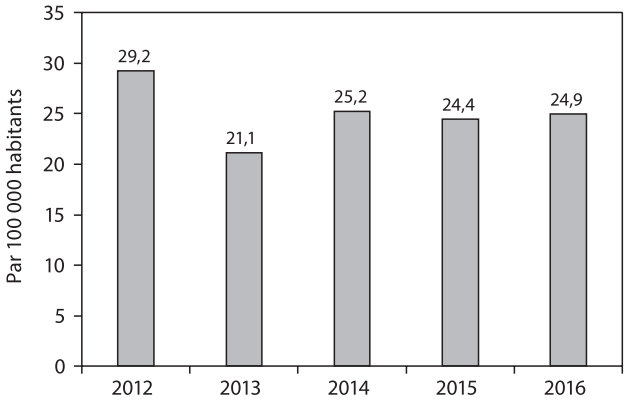


Figure 14. Prévalence du VPH (génotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 55, 56, 58, 59, 68, 73, 83) parmi les patients d'un dispensaire anivénérien à Saint-Pétersbourg, 2012–2016

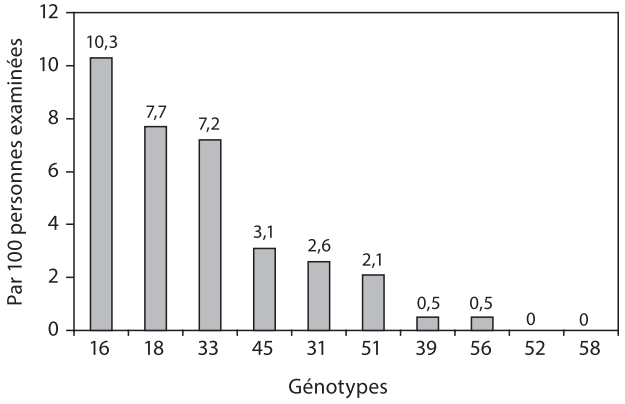


Figure 15. Prévalence du VPH des différents génotypes parmi les patientes femmes d'un dispensaire antivénérien à Saint-Pétersbourg, 2014–2016 (n = 195)

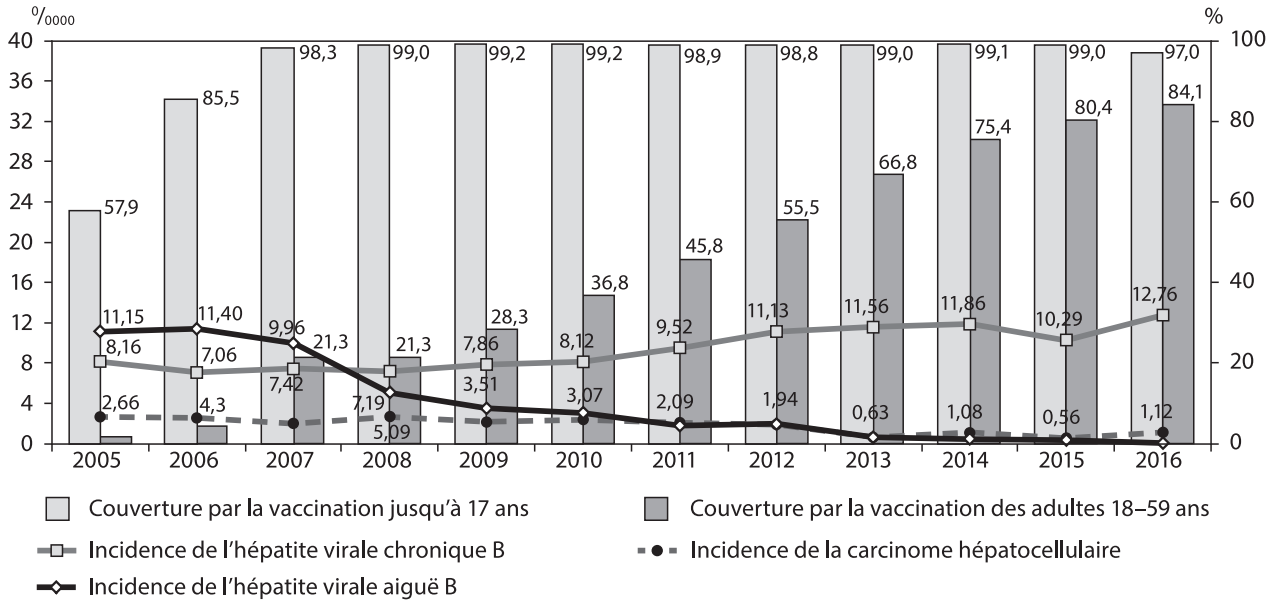


Figure 16. Incidence de l'hépatite virale aiguë B, l'hépatite virale chronique B, la carcinome hépatocellulaire et couverture de la population de l'oblast de Léningrad par les vaccinations préventives contre l'hépatite B, 2005–2016

Réalisation du programme d'élimination de l'hépatite virale aiguë B sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest de Russie

Le programme a été élaboré par les chercheurs de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg sous la conduite de son directeur professeur A.Jebroun en 2010–2012 et validé en 2013 par le responsable du Service fédéral de supervision dans la sphère de protection des droits des consommateurs et du bien-être de l'homme.

La réalisation de ce programme a exigé un important travail logistique et de méthode. Grâce à la vaccination de la population contre l'hépatite B on a réussi à diminuer sensiblement l'incidence de l'hépatite virale aiguë B sur le territoire de la Fédération de Russie en général et du District fédéral Nord-Ouest en particulier. En 2015 et 2016 les indices d'incidence dans le District ont été respectivement 0,69 et 0,58 par 100 000 habitants (1,16 par 100 000 habitants en 2014). Cependant l'incidence de l'hépatite virale chronique B diminue beaucoup plus faiblement et sur certains territoires n'a aucune tendance à la diminution (Fig. 16).

Parmi les principaux objectifs dans la réalisation du programme pour les années suivantes on peut citer le maintien du niveau élevé de couverture de la population des enfants et adultes par les vaccinations contre l'hépatite B conformément au calendrier national des vaccinations préventives, l'étude des causes de la haute incidence de l'hépatite virale chronique B, l'étude moléculaire génétique du virus, révélation de la prévalence réelle de la carcinome hépatocellulaire et ses associations avec les virus de l'hépatite B, C et D.

Publications

1. *Lyalina L.V., Stebelko O.Y., Gul'tseva N.Y., Kasatkin E.V., Ershov V.A., Chernova L.K., Petrova I.G., Parkov O.V. Vaccination against papillomavirus infection and features of its effectiveness evaluation // TERRA MEDICA. 2015; 1–2: 82–83.*
2. *Lyalina L.V., Danilova M.A., Glushkevich V.A., Fedulova A.G., Afanasyeva A.N. The incidence of rotavirus infection in various regions of the Russian Federation in the pre-vaccination period // Yakutsk Medical Journal. 2015; 4 (52): 57–60.*
3. *Osmirko T.V., Lyalina L.V., Atlasov V.O., Egorova N.V., Pozhidaeva L.N. Clinico-epidemiological substantiation and definition of risk factors for the birth of children with TORCH-syndrome // Medical almanac. 2015; 5: 75–79.*
4. *Lyalina L.V., Buntovskaya A.S., Shataeva O.Y., Kasatkin E.V., Ershov V.A. Topical issues of spatial study of diseases associated with human papillomavirus // geographic information systems in the healthcare of the Russian Federation: data, analytics, solutions. St. Petersburg, 2016: 94–100.*
5. *Vetrov V.V., Lyalina L.V., Ivanova T.G., Korneev Y.V., Madoyan A.G. Risk factors of work-related tuberculosis diseases in the Leningrad Region // Medical Almanac. 2016; 3 (43): 121–124.*
6. *Zhebrun A.B., Mukomolov S.L., Lyalina L.V., Totolian A.A. Program for the elimination of acute viral hepatitis B in the North-West Federal District of the Russian Federation. St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2016: 20 p.*
7. *On the implementation of the Program for elimination of acute viral hepatitis B in the territories of the North-West Federal District: information-methodical letter. St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2016: 12 p.*
8. *Viral hepatitis in the Russian Federation: analytical review, 10th issue. Edited by V.I. Pokrovsky. A.A. Totolian. St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2016: 152 p.*

LABORATOIRE DES HÉPATITES VIRALES

Chef du laboratoire: ELena Essaoulenko
Chercheurs permanents: M. Poniatichina, A. Soukhorouk, I. Levakova, E. Litchnaia, A. Bouchmanova, N. Ivanova

En 2015–2016 les recherches ont été effectuées conformément au plan établi se focalisant sur les pistes suivantes:

Hépatite E: étude de la structure immune des migrants, arrivés à Saint-Pétersbourg, au virus de l'hépatite E (reconnue par la présence d'IgM anti-VHE), définition du nombre de cas de l'hépatite E aiguë à Saint-Pétersbourg et étude des particularités d'évolution clinique de la maladie

Afin d'étudier la circulation dissimulée du VHE dans le milieu des migrants arrivés à Saint-Pétersbourg en 2015–2016 on a recueilli 100 échantillons de sérum sanguin. Les anticorps contre le VHE ont été identifés par l'analyse immuno-enzymatique utilisant un test-système conçu par la société «Diagnostitcheskiyé systemy» (Systèmes de diagnostic) de Nijni Novgorod. Dans la population des migrants (catégorie d'âge 20–22 ans) la fréquence de détection de HEVAblgG a fait en moyenne 12,5%. Les anticorps ont été positifs dans les sérums sanguins des migrants d'Ouzbekistan, Turkmenistan et Guinée, la prévalence de HEVAblgG dans leur milieu étant de 18,6%.

38 patients patients avec le diagnostic confirmé HE aiguë ont été hospitalisés dans l'Etablissement publique de la santé relevant du budget d'Etat «Hôpital clinique infectieux S.P. Botkine». Le diagnostic était censé être confirmé en détectant par la méthode IFA la présence de HEVAblgM et HEVAblgG dans les sérums sanguins. Dans la plupart des cas les malades étaient des migrants provenant du Sud-Est asiatique et, en moindre mesure, les personnes residant en permanence à Saint-Pétersbourg qui ne fréquentaient pas avant les régions endémiques de cette infection. La présence des cas détectés de la maladie chez les habitants de vieille souche, qui ne quittaient pas la ville pendant plusieurs années, témoigne de l'existence du l'HE «autochtone». L'analyse rétrospective et prospective des anamnèses a démontré que le tableau clinique de l'HE se caractérisait par une courte période prodromique et une évolution moyennement grave de la maladie avec la prédominance de ses formes franches et cholestase sévère.

Hépatite B: recherche moléculaire épidémiologique. Etude de la variété génétique du virus de l'hépatite B sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest et de la Yakoutie (malades de l'hépatite B aiguë, hépatite chronique B, patients sous hémodialyse)

Au cours des années 2015–2016 a été effectuée l'identification des génotypes/sous-types du VHB, la présence des mutations dans les zones pre-core et basal core promoter (BCP) du génome du virus, de même que les mutations dans la région du gène de la polymérase responsables de la résistance de l'agent aux médicaments chez les malades atteints de l'hépatite B chronique (HBH), qui ne reçevaient pas la thérapie étiotropique, en République Sakha (Yakoutie) et à Saint-Pétersbourg. Les échantillons du sang des patients avec le diagnostic confirmé HBH et la présence de l'ADN du VHB ont été étudiés utilisant les test-systèmes INNO-LIPA HBV Genotyping, INNO-LIPA PreCore, INNO-LIPA HBV Multi-DR (Innogenetics, Belgique), de même que par la méthode de séquençage du fragment du génome preS/S (861 nt) avec l'analyse phylogénétique ultérieure des données.

Chez les malades atteints de l'HBH en Yakoutie dans l'ensemble ont été révélés 3 génotypes du VHB: A, D et C. Chez 77,8% de personnes examinées les isolats du virus étaient du génotype D, chez 3,7% — du génotype A et chez encore 3,7% — du génotype C. Dans les échantillons de 14,8% de patients a été détectée la présence simultanée de deux génotypes du virus: A+B (11,1%), D+C (3,7%). Près de 40% de patients (tous ayant le génotype D) avaient des mutations dans la zone pré-core et dans cortex prémoteur (BCP) (T1762/A1764) en variante isolée, soit en variantes associées. Dans 2 échantillons seulement sur 127 (1,6%) ont été révélées des mutations responsables du développement de la résistance aux médicaments dans la région du gène de la polymérase.

Les échantillons du sérum sanguin obtenus de 690 personnes (83 — personnel soignant et 607 — patients) des services d'hémodialyse des établissements médicaux de Saint-Pétersbourg ont été examinées au sujet de HBsAg avec la méthode IFA au moyen des test-systèmes conçus et commercialisés par la société «VektorBest». L'ADN du virus a été ensuite révélé dans 30 échantillons (tous patients des services d'hémodialyse) sur 46 échantillons HBsAg-positifs au total. Pour l'analyse phylogénétique ont été obtenues 20 séquences nucléotidiques. 95% d'isolats du virus étaient du génotype D (sous-types D1 et D2). Les rapports génétiques entre les différents isolats du virus du génotype D témoignent de leur proche filiation et éventuelle transmission du virus d'un patient à l'autre.

Etude de la variété génétique du virus de l'HB dans le District fédéral Nord-Ouest, circulant chez les patients atteints de l'hépatite B aiguë

Pour effectuer une étude moléculaire génétique du virus dans le cadre du programme «Elimination de l'hépatite B dans le District fédéral Nord-Ouest» ont été collectés des échantillons de 11 territoires. On a effectué le séquençage de 85 échantillons. Le virus de l'hépatite B (VHB) a été génotypé avec la méthode d'amplification «en grappes» suivie de séquençage. A la deuxième étape de la PCR ont été utilisés des couples d'amorces flanquant quatre régions du génome du virus, y compris celle recommandée pour le sous-génotypage du VHB région Pre-S1/Pre-S2/S positions 2848–3182. 1–835 nt, conformément à l'isolat Mart-B47 (HE974377.1), présenté dans la base de données internationale GenBank. L'analyse des résultats d'identification des genotypes du virus de l'hépatite B a démontré que sur le territoire du District Nord-Ouest de la Fédération de Russie circulent deux génotypes, A et D, avec prédominance du génotype D (95,8%). Une étude génétique approfondie

du genotype D a permis d'établir ses sous-types et la fréquence d'incidence de chacun d'eux sur le territoire du District, c'est-à-dire des sous-types D1, D2 et D3.

L'identification des mutations de la région pre-core du virus de l'hépatite B parmi les patients hospitalisés au sujet de l'hépatite B aiguë du degré de gravité avancé et l'analyse comparée d'efficacité de la thérapie étiotropique avec utilisation des analogies nucléotidiques chez les patiens contaminés par une variété sauvage et mutante du virus.

L'étude moléculaire biologique du VHB comprenait la détection de l'ADN du VHB dans le plasma sanguin, de la charge virale (CV) par la méthode de la réaction en chaîne par polymérase et des mutations de la région pre-core par amplification des fragments du génome du virus. Ont été examinés 25 patients: chez 12 personnes a été détectée la variété sauvage du virus et chez 13 — la variété mutante. Chez la majorité des patients le VHB a été identifié comme celui du génotype D et chez deux seulement — du génotype A. L'efficacité des analogues nucléotidiques a été évaluée en dynamique, ce qui permet de conclure d'une lente décroissance de la charge virale en cas de contamination par une variété mutante du VHB.

Hépatite A

Dans le cadre d'une étude randomisée a été effectuée une analyse rétrospective de 259 dossiers médicaux des malades hospitalisés avec le diagnostic hépatite A. L'étiologie de la maladie a été confirmée par la détection des marqueurs au virus de l'hépatite A, B, C utilisant la méthode d'analyse immuno-enzymatique. A été déterminée la fréquence d'incidence de l'hépatite A-mixte dans des différentes périodes et fonction de l'intensité du processus épidémique — 20%. On a également identifié la structure étiologique de l'hépatite A-mixte: combinaison de l'hépatite A + hépatite chronique virale B — 74,0%, hépatite A + hépatite chronique virale B + hépatite chronique virale C — 11,0%, hépatite A + hépatite chronique virale C — 8,0%, hépatite A + hépatite chronique d'étiologie inconnue — 7,0%. Ont été révélées des différences dues à l'âge dans les groupes des patients atteints de l'hépatite A identifiée comme infection mono- et mixte (respectivement 35,5±11,74 et 40,7±13,72 ans; p = 0,026). Pour le degré de gravité l'hépatite A a évolué en forme moyennement lourde indépendamment de la contamination par d'autres virus hépatotropes, mais la progression grave de la maladie chez un patient atteint de l'hépatite chronique virale B en stade de cirrhose a eu l'évolution létale. Le tableau clinique de l'hépatite A identifiée comme infection mono- et mixte se caractérisait par une symptomatologie typique. Les modifications révélées dans la composition du sang par les analyses biochimiques se caractérisaient par une activité cytologique plus élevée, une hypoalbuminémie et une diminution insignifiante du taux de l'urée. A été déterminée la caractéristique génotypique du virus chez les patients contaminés sur le territoire de Saint-Pétersbourg — 1A.

Hépatite C — étude des indices immunologiques chez les patients atteints de l'hépatite chronique C en fonction des régimes de la thérapie antivirale

Au cours de la thérapie antivirale chez les patients, qui développent une réponse virologique rapide et une réponse virologique précoce, on a observé l'augmentation de la présence des cellules T dans le sang périférique, portant sur leur surface des chimiorécepteurs CXCR3, aux dépens des T-helpers et des lymphocytes CTL. Ce qui témoigne du rôle clé de la réponse immune des cellules T dans l'élimination du virus de l'hépatite C de l'organisme. De la même façon on assiste à l'activation des cellules NK avec récepteur CXCR3. L'activation du maillon des cellules T de l'immunité et une baisse du taux des lymphocytes B avec récepteur CXCR3 est un facteur positif dans le pronostic d'efficacité de la thérapie à l'interféron.

Publications

Monographie

1. *Viral hepatitis in Russian Federation. Analytical review. 10 issue. Eds. V.I. Pokrovsky, A.A. Totolian. Saint-Petersburg: Saint-Petersburg Pasteur Institute, 2016: 152 p.*

Publications dans les périodiques signalitiques

1. *Esaulenko E.V., Ponyatishina M.V., Alekseyeva M.V., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Ivanova N.V. Molecular-epidemiological characteristics of acute hepatitis B in the North-Western Federal District. In: Proceedings of the IX Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases with International Participation, 2017: 329.*
2. *Esaulenko E.V., Sukhoruk A.A., Levakova I.A. The actuality of hepatitis E for Russian Federation. In: Actual problems of infectious pathology in the south of Russia. Materials of the interregional forum of specialists with the meeting of the profile commission on the specialty «Infectious Diseases» of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2016: 214–215.*
3. *Arsentyeva N.A., Semenov A.V., Lyubimova N.E., Basina V.V., Esaulenko E.V., Totolian A.A. The level of cytokines and chemokines in the blood plasma of patients with chronic hepatitis C. In: Proceedings of the V.I.I Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases with International Participation, 2015: 23.*
4. *Esaulenko E.V., Priima E.N., Sukhoruk A.A., Ponyatishina M.V., Kuzmin A.V., Khomchenko I.V., Yakovlev A.A. Efficacy of antiviral therapy in the treatment of severe forms of acute hepatitis B. Jurnal infektologii, 2015; 7 (4): 51–56.*
5. *Esaulenko E.V., Sukhoruk A.A., Ponyatishina M.V., Shibaeva E.O., Zakharov K.A. Clinical and laboratory characteristics of occult hepatitis B. Jurnal infektologii, 2016; 8 (1): 66–72.*
6. *Zinserling V.A., Esaulenko E.V. Clinico-pathological parallels in occult viral hepatitis B. Virchows Arch. Eur. J. Pathol. 2016; 469: S1–S29.*
7. *Esaulenko E.V., Sukhoruk A.A. Novak K.E., Bushmanova A.D. Import infections in St. Petersburg: etiological structure and geoepidemiology. In: Proceedings of the XIV Scientific and Practical Conference «Infectious diseases and antimicrobial agents», 2016: 55–56.*
8. *Sukhoruk A.A., Esaulenko E.V. Pharmacoeconomic assessment of using interferon-free regimens for chronic hepatitis C after liver transplantation. Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs. 2016; 18 (2): 163–170.*

LABORATOIRE D'ÉPIDÉMIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET DE GÉNÉTIQUE ÉVOLUTIVE

(Laboratoire de microbiologie moléculaire — jusqu'au 14 septembre 2016)

Chef du laboratoire: Igor Mokrousov
Chercheurs permanents: O. Narvskaya, O. Kalinina, A. Vyazovaya, A. Gerasimova, E. Lichnaya (mi-temps)

Projets de recherche

Tuberculose et autres mycobactéries

- «Open Collaborative Model for Tuberculosis Lead Optimisation», 2011–2015. Projet financé par l'Union européenne FP7-HEALTH-2010-single-stage, project #261378 (Consortium de 12 partenaires, coordonné par GSK-Espagne; responsable de projet de partenaire russe — O. Narvskaya).
- «Evolution du potentiel pathogénétique des lignées phylogénétiques de Mycobacterium tuberculosis», 2014–2018. Projet financé par Russian Science Foundation; projet #14-14-00292 (responsable de projet I. Mokrousov).
- «Caractéristiques spécifiques des protéines exprimées par Mycobacterium tuberculosis Beijing B0 cluster in vitro et in vivo», 2014–2016. Projet financé par Russian Science Foundation, projet #14-15-00689 (responsable de projet E. Ilina, Institute of Physico-Chemical Medicine, Moscow).
- «Système de surveillance épidémiologique moléculaire pour le contrôle de la transmission nosocomiale des souches de Mycobacterium tuberculosis», 2015–2016. Projet financé par Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, Almaty, Kazakhstan (co-responsables de projet — Y. Skiba, I. Mokrousov).
- «Analyse moléculaire des isolats Mycobacterium avium en Russie», 2015. Projet financé par Kobe Institute of Health, Japon (co-responsables de projet — T. Iwamoto, O. Narvskaya).
- «Conséquences médicales et sociales de la co-épidémie de tuberculose et d'infection à VIH en Sibérie», 2016. Projet financé par Omsk State Medical University (co-responsables de projet — O. Pasechnik, I. Mokrousov).

Hépatites virales

- «Déterminants génétiques qui influencent la stabilité de la circulation du VHC dans une population, des tactiques de traitement et des résultats de maladies». Financé par Russian Science Foundation, projet No. 14-15-00546, 2014–2016 (responsable de projet — N. Yushchuk, Université de médecine de l'État de Moscou et dentisterie).
- «Surveillance moléculaire séroépidémiologique et caractéristiques génétiques des variantes des virus de l'hépatite B, D et C au Vietnam», 2012–2017, financé par le Centre tropical vietnamien russe, Hanoi (responsable de projet — O. Kalinina).
- «Réseau Baltique pour le contrôle et la prévention de la maladie de la vie», financé par Swedish Institute, No. 09272_2013, en 2013–2016 (10 partenaires coordonnés par Karolinska Institutet, Stockholm, Suède).
- «Diagnostic de laboratoire du virus de l›hépatite C en Guinée», financé par Rospotrenbadzor (Service fédéral de surveillance sanitaire et épidémiologique, Moscou), 2015–2017; responsable de projet russe — O. Kalinina.

Collaborations actuelles

Tuberculose et autres mycobactéries:

Nationale:
- Institut de recherche de phthisiopulmonologie (Saint Petersbourg).
- Institut central de recherche en épidémiologie (Moscou).
- State Université de médecine (Omsk).
- Centre scientifique de santé familiale et problèmes de reproduction (Irkoutsk).
- Institut de recherche de phthisiopulmonologie (Ekaterinbourg).
- Institut de biologie chimique et médecine fondamentale (Novosibirsk).
- Le dispensaire anti-tuberculose (Kaliningrad).
- Le dispensaire anti-tuberculose (Petrozavodsk).

International:
- Nord Estonian Medical Center, Tallinn, Estonie
- Latvian Biomedical Research and Study Centre, University of Riga, Lettonie
- Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Espagne.
- Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, Almaty, Kazakhstan.
- Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Chine.
- Kobe Institute of Health, Japon.

Hépatites virales

National:
- Hôpital Botkin de maladies infectieuses de Saint-Pétersbourg
- Centre de prévention et de lutte contre le SIDA et les maladies infectieuses de Saint-Pétersbourg
- Institut central de recherche en épidémiologie (Moscou);
- Université de médecine et de médecine dentaire (Moscou).
- Institut de recherche anti-peste de Russie «Microbe» (Saratov)

International:
- Baltic Network for control and prevention of life-threated disease
- Centre tropical vietnamien russe (Hanoi, Vietnam).
- Institut de Recherche en Biologie Appliquée de Guinée (Kindia, Guinée).

Le Rapport d'activite 2015–2016 de notre laboratoire sur «Tuberculose et d'autres mycobacteries» (en anglais; les figures en couleur) est disponible en-ligne: https://www.pasteurorg-en.ru/laboratory-of-molecular-epidemiolog

Principales directions de recherche et résultats obtenus

Tuberculose

Dominance du génotype de Beijing chez les souches XDR Mycobacterium tuberculosis en Russie

L'apparition et la propagation de la tuberculose multi-résistante (MDR) et plus récemment ultra-résistante (XDR) constituent une préoccupation majeure de la santé publique qui entrave la lutte efficace contre la tuberculose. Ce projet a été réalisé en collaboration avec le laboratoire de mycobactériologie de l'Institut de phthisiopulmonologie de Saint-Pétersbourg qui sert de centre de référence au nord-ouest de la Russie (11 provinces, 1 700 000 km^2, population de 13,5 millions). En outre, ce laboratoire reçoit des souches provenant d'autres régions de la Russie. Cette étude visait à effectuer une caractérisation moléculaire des isolats de Mycobacterium tuberculosis XDR récupérés chez des patients atteints de tuberculose dans le nord-ouest de la Russie pendant la période de 2011–2013.

Matériaux et méthodes. Les isolats de *M. tuberculosis* provenant principalement de patients tuberculeux pulmonaires (TB extrapulmonaire, n = 7) ont été identifiés et caractérisés en utilisant des méthodes biochimiques traditionnelles, y compris des tests de sensibilité pour 11 médicaments antituberculeux (streptomycine, isoniazide, rifampicine, ofloxacine, kanamycine, amikacine, capreomycine, éthambutol, éthionamide, pyrazinamide et acide PAS). Les tests de sensibilité aux médicaments ont été effectués selon une méthode de concentration absolue et/ou BACTEC MGIT 960. Les isolats ont été soumis à un spoligotypage suivi d'une comparaison avec les bases de données SITVIT_WEB et MIRU-VNTRplus. La famille LAM a été définie par l'analyse SNP Rv0129c.

Résultats. Au total, 115 isolats XDR de *M. tuberculosis* ont été inclus dans cette étude. Ils ont présenté 41 différents modèles de résistance aux médicaments. Le XDR a été complété par une résistance à la streptomycine (n = 114) et/ou à l'éthambutol (n = 93), à l'éthionamide (n = 80), au pyrazinamide (n = 43) ou à l'acide PAS (n = 40). Parmi les trois médicaments injectables, le XDR était principalement dû à la résistance à la kanamycine seule (n = 39, 34%), suivie de la résistance combinée à la kanamycine et à l'amikacine (n = 13), à la résistance à l'amikacine et à la capreomycine (n = 11), à la kanamycine et à la résistance à la capromycine (n = 9). Le spoligotypage a attribué les isolats à 3 familles génétiques: Beijing (98; 87%), LAM (SIT42, n = 6; SIT252, n = 2; SIT496, n = 2) et Ural (SIT262, n = 7). SIT1 était prédominant chez les isolats de Beijing. La proportion d'isolats résistant à l'un des 5 médicaments (y compris la streptomycine, l'isoniazide, la rifampicine, l'ofloxacine et/ou la kanamycine, l'amikacine et la capreomycine) était de 1,7% (n = 2), de 6 médicaments — 7,8% (n = 9), À 7 médicaments — 19,1% (n = 22), à 8 médicaments — 26,9% (n = 31), à 9 médicaments — 25,2% (n = 29), à 10 médicaments — 12,1% (n = 14). Huit isolats du génotype de Pékin étaient résistants aux 11 médicaments testés.

Conclusions. La population de XDR *M. tuberculosis* dans le nord-ouest de la Russie est fortement dominée par les isolats de génotype Beijing (87%).

Des clones émergents de Mycobacterium tuberculosis en Russie et en Eurasie

Mycobacterium tuberculosis a une structure de population clonale tandis que ses différentes lignées (sous-lig-

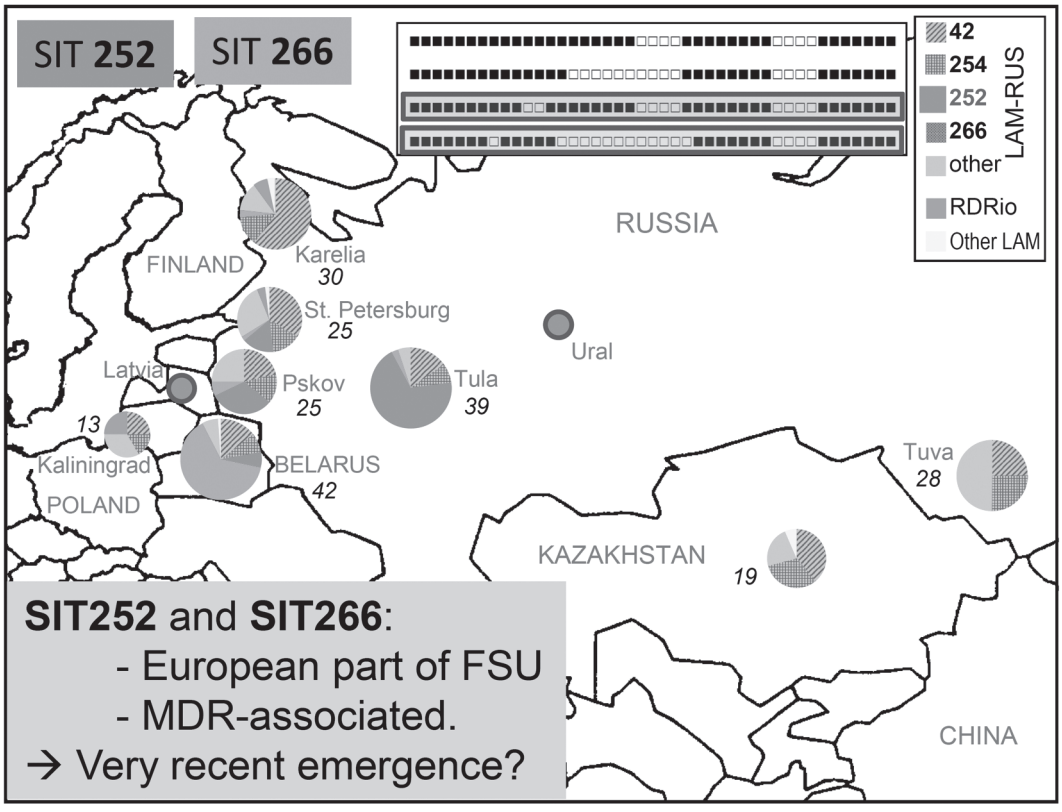


Figure 17. Distribution des spoligotypes LAM SIT252 et SIT266 dans la partie européenne de ex-URSS (Vyazovaya et al., 2015; Mokrousov et al., 2016a)

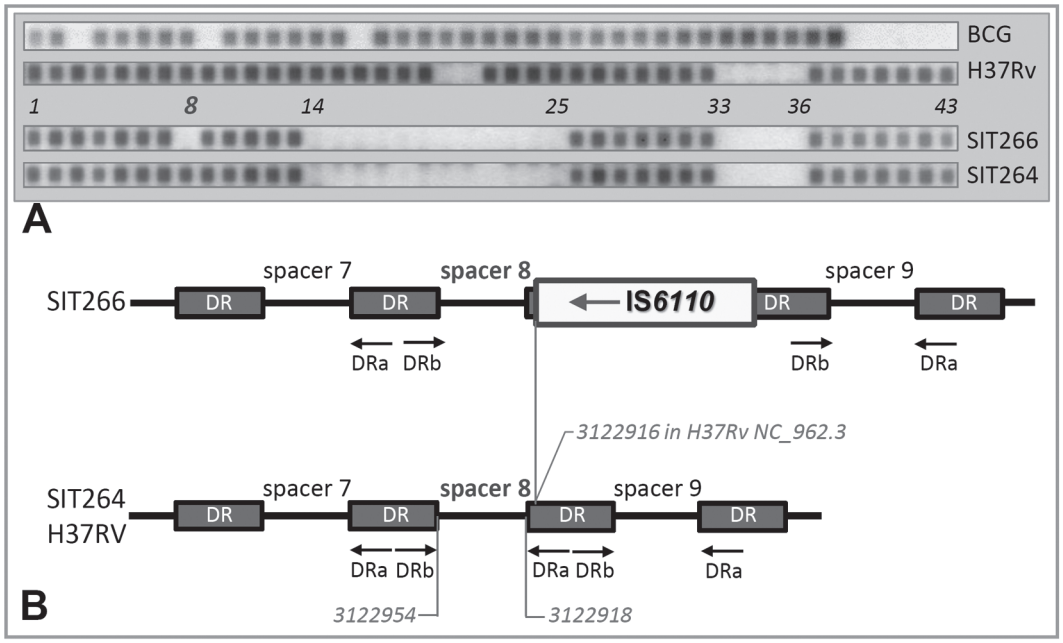


Figure 18. A) Spoligotypage des profils d'hybridation des souches Mycobacterium tuberculosis H37Rv et BCG, SIT266 et SIT264. B) Vue schématique du locus DR/CRISPR des spoligotypes SIT264 et SIT266 et la souche de référence H37Rv, déduite des données NGS. Reproduit de Mokrousov et al., 2016a. Copyright © Centers for Disease Control and Prevention, USA

nées) sont marquées par des voies évolutives différentes, et certaines ont subies une diffusion mondiale dramatique. De plus, des clusters compacts cliniquement/épidémiologiquement significatifs ont été identifiés par un génotypage à haute résolution. Nous avons examiné certains clones émergents de *M. tuberculosis* de différentes familles (Beijing, LAM, Ural) qui ont commencé à attirer l'attention au cours des dernières décennies et même des années en Russie et dans d'autres pays de l'ancienne Union soviétique.

Dans le génotype Beijing, il s'agit de deux grands groupes clonaux 94–32 et B0/W148. Le B0/W148 a déjà été défini comme un clone russe «réussi» de *M. tuberculosis* (Mokrousov, 2013). Initialement, il a été désigné B0 (Narvskaya, 2003) et W148 (Bifani et al., 2002) basé sur IS6110-RFLP. Le groupe Beijing B0/W148 est associé à la TB-MDR (TB multiresistante) et est une force majeure de l'épidémie de la tuberculose en Russie. Il est épidémique à travers la Russie (mais pas dans l'ancienne Asie centrale soviétique) et est probablement originaire de Sibérie. Des études récentes ont indépendamment «redécouvert» ces souches et les ont nommées «East European sublineage» (Casali et al., 2014), groupe européen résistant (de Beer et al., 2014), «East Europe 2» (Luo et al., 2015), complexe clonal CC2 (Merker et al., 2015). Le type «asiatique/russe» Beijing # 94–32 est également appelé clone CC1 (défini par le clustering 24-MIRU-VNTR) et correspond au cluster A0 défini par IS6110-RFLP (Narvskaya, 2003; Mokrousov et al., 2008). Il est répandu dans l'ex-Asie centrale soviétique et est l'un des deux sous-types importants de genotype Beijing en Russie (Skiba et al., 2015, Merker et al., 2015, Luo et al., 2015).

La famille LAM (Latin-American Mediterranean) dans les pays de la FSU est dominée par la branche RD115/LAM-RUS. Deux spoligotypes MDR ont récemment attiré l'attention. Spoligotype SIT252 émerge en Russie européenne et en Europe de l'Est et a déjà été décrit dans des isolats rares en Oural et au Kazakhstan. Le Spoligotype SIT266 est toujours

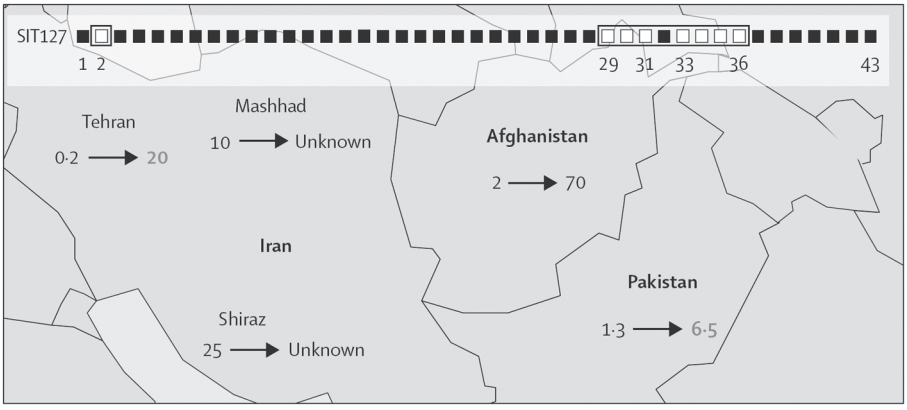


Figure 19. Changements dans la prévalence du génotype *Mycobacterium tuberculosis* NEW-1 (SIT127) en Iran et dans les pays voisins

Les valeurs montrent le pourcentage de prévalence de NEW-1 dans les études anciennes (2005–2008) et récentes (2014–2016). Le rouge représente une association significative avec la multirésistance. Reproduit de Mokrousov, 2016. Copyright © Elsevier Ltd.

Figure 20. Distribution géographique des sous-lignées LAM de *M. tuberculosis*. Reproduit de Mokrousov et al., 2016b. Copyright © Elsevier Inc.

limité géographiquement à la Biélorussie (Zalutskaya et al., 2013) et a été décrit dans le nord-ouest et le centre de la Russie et en Lettonie.

La famille URAL était traditionnellement considérée comme peu virulente, peu transmissible et non liée à la MDR (Mokrousov, 2012). Cela peut expliquer sa faible prévalence (< 15%) et une dispersion limitée, encore principalement en Eurasie centrale. Cependant, des rapports récents ont décrit les souches de MDR Ural dans certaines parties de l'Europe de l'Est (Moldavie, Lituanie) et le nord-ouest de la Russie (Mokrousov, 2015). L'analyse du génome de souches URAL a divisé ces souches en deux grands grappes: (i) groupe ancestral, petit et diversifié et (ii) groupe moderne, homogène et plus abondant. Une prédominance significative des souches pansusceptibles dans le groupe «ancestral» ($p < 0,05$) a été trouvée.

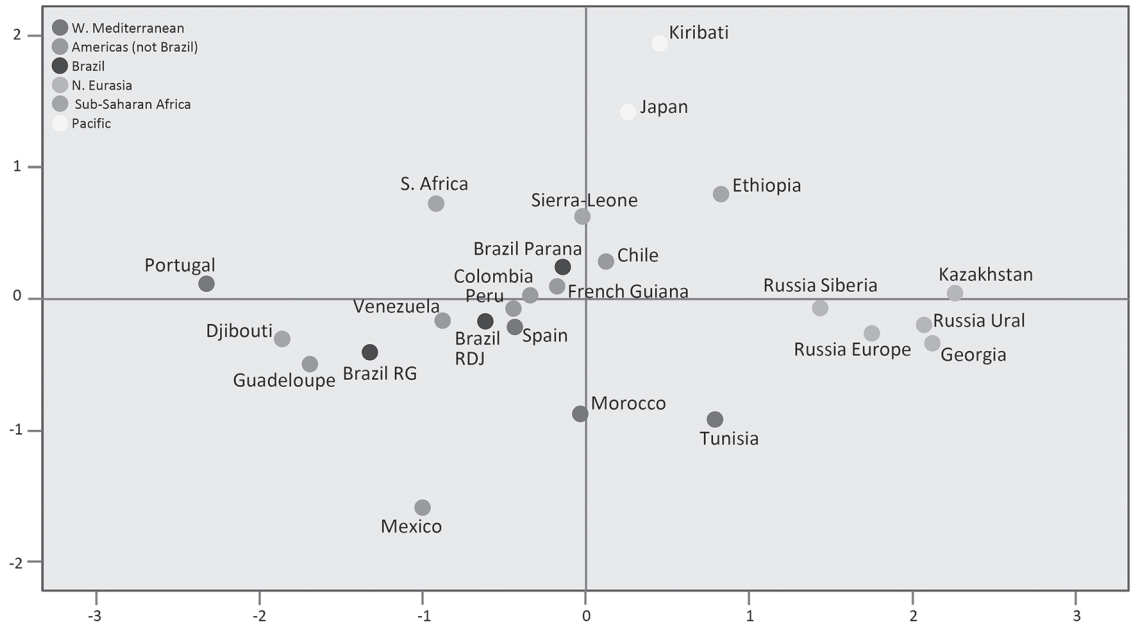


Figure 21. Graphe MDS de 25 populations de LAM de *M. tuberculosis* basée sur 12 loci MIRU-VNTR. Reproduit de Mokrousov et al., 2016b. Copyright © Elsevier Inc.

Les raisons de la réussite de différents clones émergents peuvent être différentes dans chaque cas particulier et être liées aux programmes de lutte contre la tuberculose et aux propriétés de la contrainte. Une forte association avec la MDR a été montrée pour la souche russe Beijing B0/W148. La capacité différente de certains groupes clonaux relativement homogènes à développer des propriétés particulières de nature pathologique peut être un facteur décisif pour la dissémination dans la même population humaine où des souches parentales moins dangereuses circulent.

En plus des clones émergents dans les pays de ex-URSS, nous avons attiré l'attention sur un génotype apparemment sous-estimé de *M. tuberculosis*. Jusqu'à récemment endémique dans le sud de l'Iran, il a commencé une propagation plus large en Asie de l'Ouest et du Sud, déjà en tant que souche résistante aux médicaments multiples. Phylogénétiquement, il fait partie du grand super-lignée Euro-Américain (lignée 4) de *M. tuberculosis*. Il détient toujours une désignation bizzare de «NEW-1» en MIRU-VNTRplus.org. Sa signature moléculaire pratique repose sur un profil de spoligotypage caractéristique avec des signaux absents 2, 29–31, 33–36 (prototype spoligotype SIT127). Son spécificité phylogéographique pour l'Iran, plus précisément l'Iran du Sud a été suggerée (Mokrousov, 2012). Cependant, sa dispersion en Asie de l'Ouest depuis 15–20 ans a connu des changements remarquables à la fois en volume (augmentation de la prévalence en Iran) et en contenu (association avec MDR). Des flux de migration de réfugiés particuliers font de ce clone des préoccupations épidémiologiques et cliniques particulières qui risquent de compromettre les programmes de lutte contre la tuberculose dans différents pays. Une analyse pathogénomique approfondie de ce clone potentiellement pandémique est pertinente.

Figure22. Distribution des génotypes de *M. tuberculosis* dans la Carélie et régions voisines. Reproduit de Mokrousov et al., 2015. BMC Microbiology (© Mokrousov et al., 2015)

Lignée Latino-Américaine-Méditerranéenne (LAM) de Mycobacterium tuberculosis

Nous avons organisé une étude multicentrique de la famille LAM et nous avons élaboré la phylogénie de cette lignée et nous avons proposé l'hypothèse que sa phylogéographie était influencée par la démographie la migration et humaine. L'analyse phylogénétique des isolats de LAM de tous les continents basée sur 24 loci VNTR et d'autres marqueurs a identifié trois sous-lignée distribuées globalement mais avec certaines affinités géographiques et définies par de grandes deletions génomiques RD115, RD174 et par spoligotype SIT33. Une sous-lignée mineure définie par le spoligotype SIT388 est endémique au Japon. Les signatures VNTR ont été détectées pour des sous-lignées particulières et ont servi pour leur cartographie géographique. Nous suggérons que la famille LAM est originaire de la Méditerranée occidentale. Le RD115 est le plus répandu et semble être la sous-lignées la plus ancienne, qui comprend des branches génétiquement et géographiquement distantes sur tous les continents, y compris branche KZN extrêmement résistant aux médicaments en Afrique du Sud et LAM-RUS homogène récemment répandu dans l'Eurasie du Nord. La sublinée RD174 a probablement commencé sa propagation active au Brésil; sa branche antérieure est relativement dominée par des isolats d'Amérique du Sud alors que la branche dérivée — par les isolats portugais et celles d'Afrique du Sud/Sud-Ouest. En plus de la sous-lignée SIT388 japonais, d'autres sous-lignées endémiques de LAM peuvent exister encore à découvrir.

Nous estimons également que les loci VNTR supplémentaires au-delà du format 24-loci devraient être évalués pour mieux discriminer les isolats de LAM avec différents spoligotypes mais des profils 24-VNTR identiques. Une étude de consortium multicentrique est necessaire pour obtenir une phylogénie de consensus de LAM basée sur des analyses de novo et in silico. Etude sur l'ancienne ADN pourrait éventuellement résoudre les spéculations sur le temps et le lieu d'origine de la LAM et ses sous-lignées, mais une telle étude serait un défi, pour des raisons techniques connues liées à la mauvaise conservation de l'ADN dans les conditions climatiques (sous)tropicales.

Epidémiologie moléculaire de la tuberculose pharmacorésistante en République de Carélie, Fédération de Russie

La tuberculose en Russie reste un problème de santé national majeur. La République de Carélie est située à la frontière russe-finlandaise et contient la plupart des terres historiques de Carélie habitées par des Carels autochtones et des Russes immigrés plus récemment. Bien que l'incidence de la tuberculose dans la Carélie diminue, elle reste élevée (45,8/100 000 en 2014), le taux de multirésistance (MDR) chez les nouveaux patients de tuberculose est 46,5%. Depuis l'effondrement de l'URSS, la migration de la population a travers la frontière finlandaise-carélienne a été intensifiée, ce qui peut avoir un impact sur l'épidémiologie de la tuberculose en Finlande ausssi.

Notre étude visait à caractériser génétiquement les isolats de Mycobacterium tuberculosis obtenus à différents moments de temps de patients atteints de tuberculose de Carélie afin de mieux comprendre la spécificité phylogéographique des génotypes circulants et d'évaluer les tendances dans l'évolution des sous-populations résistant aux médicaments.

L'échantillon comprenait 150 isolats de *M. tuberculosis*: 78 isolés en 2013–2014 (collection «nouvelle») et 72 isolés en 2006 (collection «ancienne»).

Résultats. Les spoligotypes les plus importants étaient SIT1 (famille de Beijing, n = 42) et SIT40 (famille T, n = 5). La famille de Beijing était la plus grande (n = 43) suivie de T (n = 11), Ural (n = 10) et LAM (n = 8). Le clone russe réussi, Beijing B0/W148, a été identifié dans 15 (34,9%) de 43 isolats de Beijing. Tous les isolats B0/W148 étaient résistants aux médicaments. Sept des 8 isolats de LAM appartenaient à la branche RD115/LAM-RUS, 1 — à la lignées LAM RD174/RD-Rio. Multirésistance a été trouvé dans des gènotypes: Beijing (32/43), Ural (3/10) et LAM (3/8). En revanche, tous les isolats T étaient pansusceptibles. La comparaison des sous-groupes résistant aux médicaments des collections nouvelles et anciennes a montré une prévalence croissante du groupe clonal B0/W148, de 18,0% (principalement polyrésistant) en 2006 à 32,6% en 2014 (principalement MDR et pré-XDR). Le gradient croissant Ouest-Est est observé pour le génotype Ural qui peut être défini comme une souche «russe». En revanche, le spoligotype SIT40 de la famille T semble être une souche carélienne historique.

Conclusions. Malgré l'incidence décroissante de la tuberculose en Carélie au cours des dernières années, la situation avec une tuberculose résistant aux médicaments continue de s'aggraver. Les souches et les clones les plus dangereux (Beijing B0/W148 étant la principale menace) dominés par les isolats MDR et pré-XDR, se propagent de plus en plus dans la population. Des patterns phylogéographiques contrastés ont été révélés pour le génotype Ural et le spoligotype SIT40; ils peuvent refléter une histoire démographique complexe de Carélie au cours du 20ème siècle.

Publications

Articles dans des revues/séries monographiques inclus dans Web of Science ou Scopus

En anglais: 15 articles (13 — Web of Science, IF cumulatif = 97,736; IF moyen = 7,518), 1 chapitre

1. *Mokrousov I. Emerging resistant clone of Mycobacterium tuberculosis in west Asia. Lancet Infect Dis. 2016; 16 (12): 1326–1327. Impact Factor 21.372.*
2. *Mokrousov I. Emerging clones of Mycobacterium tuberculosis in Russia and former Soviet Union countries: Beijing genotype and beyond. Int J Mycobacteriol. 2016; 5 Suppl 1:S69-S70.*
3. *Pérez-Lago L., Martínez-Lirola M., García S., Herranz M., Mokrousov I., Comas I., Martínez-Priego L., Bouza E., García-de-Viedma D. Urgent implementation in a hospital setting of a strategy to rule out secondary cases caused by imported extensively drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains at diagnosis. J Clin Microbiol. 2016; 54 (12): 2969–2974. Impact Factor 3.631.*
4. *Yin Q.Q., Liu H.C., Jiao W.W., Li Q.J., Han R, Tian J.L., Liu Z.G., Zhao X.Q., Li Y.J., Wan K.L., Shen A.D., Mokrousov I. Evolutionary history and ongoing transmission of phylogenetic sublineages of Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype in China. Sci Rep. 2016;6:34353. Impact Factor 5.228.*
5. *Bespyatykh J., Shitikov E., Butenko I., Altukhov I., Alexeev D., Mokrousov I., Dogonadze M., Zhuravlev V., Yablonsky P., Ilina E., Govorun V. Proteome analysis of the Mycobacterium tuberculosis Beijing B0/W148 cluster. Sci Rep. 2016; 6:28985. Impact Factor 5.578.*
6. *Mokrousov I., Chernyaeva E., Vyazovaya A., Sinkov V., Zhuravlev V., Narvskaya O. Next-Generation Sequencing of Mycobacterium tuberculosis. Emerg Infect Dis. 2016; 22 (6): 1127–9. Impact Factor 6.99.*
7. *Mokrousov I., Vyazovaya A., Iwamoto T., Skiba Y., Pole I., Zhdanova S., Arikawa K., Sinkov V., Umpeleva T., Valcheva V., Alvarez Figueroa M., Ranka R., Jansone I., Ogarkov O., Zhuravlev V., Narvskaya O. Latin-American-Mediterranean lineage of Mycobacterium tuberculosis: Human traces across pathogen's phylogeography. Mol Phylogenet Evol. 2016; 99: 133–43. Impact Factor 3.916.*
8. *Li Q.J., Jiao W.W., Yin Q.Q., Xu F., Li J.Q., Sun L., Xiao J., Li Y.J., Mokrousov I., Huang H.R., Shen A.D. Compensatory mutations of rifampin resistance are associated with transmission of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis Beijing Genotype strains in China. Antimicrob Agents Chemother. 2016; 60 (5): 2807–12. Impact Factor 4.476.*
9. *Mokrousov I., Vyazovaya A., Solovieva N., Sunchalina T., Markelov Y., Chernyaeva E., Melnikova N., Dogonadze M., Starkova D., Vasilieva N., Gerasimova A., Kononenko Y., Zhuravlev V., Narvskaya O. Trends in molecular epidemiology of drug-resistant tuberculosis in Republic of Karelia, Russian Federation. BMC Microbiol. 2015; 15:279. Impact Factor 2.729.*
10. *Skiba Y., Mokrousov I., Ismagulova G., Maltseva E., Yurkevich N., Bismilda V., Chingissova L., Abildaev T., Aitkhozhina N. Molecular snapshot of Mycobacterium tuberculosis population in Kazakhstan: a country-wide study. Tuberculosis (Edinb). 2015; 95 (5): 538–46. Impact Factor 2.711.*
11. *Valcheva V., Rastogi N., Mokrousov I. Prevalence of Latin-American-Mediterranean genetic family in population structure of Mycobacterium tuberculosis in Bulgaria. Int J Mycobacteriol. 2015; 4 (3): 191–5.*
12. *Mokrousov I., Rastogi N. Spacer-Based Macroarrays for CRISPR Genotyping. Methods Mol Biol. 2015;1311:111–31 (Chapter in «CRISPR: Methods and Protocols» Eds. M. Lundgren, E. Charpentier, P.C. Fineran; Springer-Humana Press)*
13. *Gomes L.L., Vasconcellos S.E., Gomes H.M., Elias A.R., da Silva Rocha A., Ribeiro S.C., Panunto A.C., Ferrazoli L., da Silva Telles M.A., Ivens de A.M., Kritski A.L., Mokrousov I., Manicheva O.A., Lasunskaia E., Suffys P.N. Genetic diversity of the Mycobacterium tuberculosis Beijing family in Brazil and Mozambique and relation with infectivity and induction of necrosis in THP-1 cells. Tuberculosis (Edinb). 2015; 95 Suppl 1:S190–6. Impact Factor 3.503.*
14. *Mokrousov I. Mycobacterium tuberculosis phylogeography in the context of human migration and pathogen's pathobiology: Insights from Beijing and Ural families. Tuberculosis (Edinb). 2015; 95 Suppl 1:S167–76. Impact Factor 3.503.*
15. *Vyazovaya A., Mokrousov I., Solovieva N., Mushkin A., Manicheva O., Vishnevsky B., Zhuravlev V., Narvskaya O. Tuberculous spondylitis in Russia and prominent role of multidrug-resistant clone Mycobacterium tuberculosis Beijing B0/W148. Antimicrob Agents Chemother. 2015; 59 (4): 2349–57. Impact Factor 4.451.*
16. *Merker M., Blin C., Mona S., Duforet-Frebourg N., Lecher S., Willery E., Blum M.G., Rüsch-Gerdes S., Mokrousov I., et al. Evolutionary history and global spread of the Mycobacterium tuberculosis Beijing lineage. Nat Genet. 2015; 47 (3): 242–9. Impact Factor 29.648.*

En russe: 6 articles.

1. *Yushchuk N.D., Znoyko O.O., Dudina K.R., Kozina A.N., Kalinina O.V. [The efficiency of antiviral therapy in patients with chronic -hepatitis C infected with hepatitis C virus recombinants]. Ter Arkh. 2016;88 (6): 101–5. In Russian.*
2. *Znoiko O.O., Dudina K.R., Kozina A.N., Kalinina O.V., Yushchuk N.D. [Analysis of ineffective antiviral therapy with pegylated interferon and ribavirin in a patient with chronic hepatitis C infected with HCV genotype 2]. Ter Arkh. 2016; 88 (5): 84–5. In Russian.*

3. *Vyazovaya A.A., Mokrousov I.V., Zhuravlev V.Y., Solovieva N.S., Otten T.F., Manicheva O.A., Vishnevsky B.I., Narvskaya O.V. [Molecular characteristics of the multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains in the Northwest Russia]. Mol Gen Mikrobiol Virusol. 2016; 34 (1): 30–3. In Russian.*
4. *Zhebrun A.B., Kalinina O.V. [Viral hepatitis C: evolution of the epidemiologic process, evolution of the virus]. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol. 2016 Jan-Feb; (1): 102–12. In Russian.*
5. *Kalinina O.V., Zhebrun A.B. [Phylodynamic of HCV Populations]. Vestn Ross Akad Med Nauk. 2015; (5): 573–8. In Russian.*
6. *Kalinina O.V., Dmitriev A.V. [Genome organization and life cycle of the hepatitis C virus]. Mol Gen Mikrobiol Virusol. 2015; 33 (2): 9–13. In Russian.*

Articles dans d'autres revues (Russian Index of Scientific Citation, elibrary.ru)

1. *Znoyko O.O., Dudina K.R., Kozina A.N., Lenkova D.O., Kalinina O.V., Yuschuk N.D. [Pitfalls in the treatment of patients with chronic hepatitis C, infected with genotypes 2 and 3 of hepatitis C virus] Infeckcionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie. 2016. (1): 108–113. In Russian.*
2. *Dementieva N.E., Kalinina O.V., Znoyko O.O., Belyakov N.A., Zhebrun A.B. [Circulating recombinant form of hepatitis C virus RF2K/1B: problems of diagnostics and therapy] HIV-infekciya I immunosupressii. 2016. 8 (1): 42–52. In Ruissian.*
3. *Vasilyeva N.R., Vyazovaya A.A., Zhuravlev V.Y., Solovieva N.S., Mokrousov I.V., Narvskaya O.V. [Genotypes of extensively drug-resistant Mycobacterium tuberculosis strains and clinical and epidemiological features of pulmonary tuberculosis] Infektsiya Immunitet / Russian Journal of Infection and Immunity. 2016. 6 (2): 179–183. In Russian.*
4. *Znoyko O.O., Dudina K.R., Kozina A.N., Shutko S.A., Ogarev V.V., Kalinina O.V., Yuschuk N.D. [Diagnostic tactics and guidelines on treatment of patients with chronic hepatitis C infected with 2 genotype HCV] Lechaschiy Vrach. 2016. (2): 66. In Russian.*
5. *Dmitriev A.V., Kiselyov A.M., A.G. Kireeva, Il'yasov Yu.Yu., Sergushichev A.A., Kazakov S.V., Kalinina O.V. [Search of the novel genetic determinants in Streptococcus dysgalactiae subspecies equisimilis] Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal. 2016. 16 (2): 42–50. In Russian.*
6. *Sinkov V.V., Ogarkov O.B., Mokrousov I.V., Zhdanova S.N. [Evolutionary significance of nonsynonymous substitutions in genome of Mycobacterium tuberculosis Ural genotype] Molekularnaya Meditsina. 2016. 14 (4): 44–50. In Russian.*
7. *Vasilyeva N.R., Vyazovaya A.A., Inozemtsev A.I., Myasnikov E.B., Zueva L.P., Narvskaya O.V. [Retrospective epidemiological analysis of cases of pulmonary tuberculosis in repeatedly hospitalized patients] Epidemiologiya Infektsionnye Bolezn. Aktualnye Voprosy. 2016. (6): 20–28. In Russian.*
8. *Vyazovaya A.A., Solovieva N.S., Sunchalina T.V., Mokrousov I.V., Zhuravlev V.Y., Narvskaya O.V. [Characterisation of Mycobacterium tuberculosis population in the Republic of Karelia]. Tuberk Bolezn Legk. 2016. (8): 48–53. In Russian.*
9. *Umpeleva T.V., Vyazovaya A.A., Eremeeva N.I., Kravchenko M.A., Narvskaya O.V., Skornyakov S.N. [Genetic features of the causative agent of tuberculosis in the Ural Federal District, Russia] Tuberk Bolezn Legk. 2016. (8): 60–65. In Russian.*
10. *Dmitriev A.V., Chaussee M.S., Kalinina O.V. [Rgg-like transcriptional regulators in Streptococcus spp.] Infektsiya Immunitet / Russian Journal of Infection and Immunity. 2015; 5 (4): 303–314. In Russian.*

Chapitre du livre (en russe):

1. *Phtisiologie. Directives cliniques nationales / Rédacteur en chef P. Yablonsky. Moscou, 2015.*

Département des nouvelles technologies

Chef du département: Vyatcheslav Verbov
Chercheurs permanents: O.A. Freilikhman, A.I. Vaganova, O.V. Zaroutcheinova, V.V. Roka, E.L. Savelieva, I.V. Likhatchev, N.V. Mikhaïlov, S.V. Borisenko, O.Yu. Kouznetsova

Le Département des nouvelles technologies comprend le laboratoire des spéciemens biologiques (chef du laboratoire — Vyatcheslav Verbov), laboratoire des technologies biologiques moléculaires (chef du laboratoire — Olga Freilikhman) et laboratoire des technologies immunochimiques (chef du laboratoire — Olga Zaroutcheinova).

En 2015–2016 les travaux de recherche ont été effectués par le département suivant les axes principaux suivants. Chaque activité inclut la commercialisation des spécimens élaborés précédemment et l'élaboration de nouveaux produits de diagnostic.

1. Analyse immuno-enzymatique (IFA)

1.1. Produits commercialisés

Sur la base de ses propres élaborations conceptuelles le département produit les test-systèmes IFA suivants:

- test-système immuno-enzymatique pour détection des anticorps IgG à l'agent de la tuberculose (IFA-anti-TUB);
- test-système immuno-enzymatique pour détection des anticorps IgM à l'agent de la leptospirose (IFA-anti-LEP-M);
- test-système immuno-enzymatique pour détection des anticorps des Q-rickettsia burnetii (IFA-Q-ANTIGENE);
- test-système immuno-enzymatique pour détection des anticorps IgG à l'agent de la Q-rickettsiose (IFA-anti-Q).

1.2. Elaborations scientifiques

Dans l'évaluation de l'immunité cellulaire parmi les malades de la tuberculose et personnes atteintes par l'infection à VIH il a été démontré le suivant. L'ensemble Quanti-FERON-TB Gold In-Tube conçu sur le mesurage quantitatif de l'interféron gamma induit par l'antigène ne peut pas être utilisé pour l'examen des malades atteints des infections associées: tuberculose + VIH. Ceci est dû à la diminution du nombre de CD4 T-lymphocytes. Il est démontré en même temps que la chimiokine IP-10 peut être considérée comme un biomarqueur plus efficace.

2. Réaction d'hémagglutination passive (RHGP)

2.1. Produits commercialisés

Sur la base de ses propres élaborations conceptuelles faites auparavant, le département produit les test-systèmes RPGA suivants:

- diagnostic érythrocytaire antigénique sec de la rougeole pour la réaction d'hémagglutination passive (DER-90);
- diagnostic érythrocytaire Vi-antigénique sec pour la reaction d'hémagglutination passive (DES).

2.2. Elaborations scientifiques

Il a été élaboré le diagnostic RHGP suivant:

- diagnostic érythrocytaire sec du tétanos pour la réaction d'hémagglutination passive.

L'élaboration a été effectuée sur la base de l'anatoxine tétanique purifiée. Pour le stade de sensibilisation des globules rouges de poulet sont optimisés les principaux paramètres physico-chimiques.

3. Diagnostic des cultures

3.1. Produits commercialisés

Sur la base de ses propres élaborations conceptuelles le département produit les test-systèmes suivants utilisés pour le diagnostic des cultures:

- kit de réactants pour la détection visuelle de *Mycoplasma hominis* (MICOPLASMA-50);
- kit de réactants pour la détection visuelle de *Ureaplasma urealyticum* (UREAPLASMA-50);
- kit de réactants pour la détection de l'antibiosensibilité de *Mycoplasma hominis* (MYCOPLASMA-AS);
- kit de réactants pour la détection de l'antibiosensibilité de *Ureaplasma urealyticum* (UREAPLASMA-AS);
- kit de réactants pour la détection visuelle simultanée de *Ureaplasma urealyticum* et *Mycoplasma hominis* (UREA/MYCO-SCREEN-2);
- kit de réactants pour la détection, définition semi-quantitative du titre et définition de la sensibilité simultanées de *Ureaplasma urealyticum* et *Mycoplasma hominis* à 8 antibiotiques;
- kit de réactants pour la détection visuelle de *Trichomonas vaginalis* (DVT);
- kit de réactants pour la détection des gonocoques par la méthode des cultures (DVG);
- kit de réactants pour la détection et identification à un coup de *P. putida* et *P. aeruginosa* (PSEUDOMONAS APS);
- kit de réactants pour isolement et identification simultanés des bactéries du groupe des genres *Proteus, Providencia* et *Morganella* (PROTEUS PPM);
- kit de réactants pour isolement et identification simultanés des bactéries du genre *Klebsiella*: *K. oxitoca, K. pneumoniae, K. mobilis*.

3.2. Elaborations scientifiques

Ont été élaborés les nouveaux ensembles de réactants suivants:

- kit de réactants pour définition de la sensibilité des champignons du genre *Candida* aux antimycotiques.

L'ensemble de réactants pour définition de la sensibilité des champignons du genre *Candida* aux antimycotiques est conçu sur la base d'un milieu de culture chromogène original. Son utilisation permet de recenser les résultats visuellement. L'étude des isolats cliniques de *Candida albicans* a prouvé qu'ils sont hautement sensibles à voriconazole (100%), ketoconazole (96%), fluconazole (84%), myconazole (78%), amphotéricine B, itraconazole (78%) et moins sensibles à clotrimazole (54%).

4. Méthode de diffusion sur disque

4.1. Produits commercialisés.

Sur la base de ses élaborations conceptuelles faites auparavant le département produit des disques de sensibilité aux antimicrobiens et antifungiques, de même que des kits d'identification:

– kit de disques pour évaluer la sensibilité aux produits antimicrobiens (KD-PAM-1) — au total 66 noms d'antibiotiques.

4.2. Elaborations scientifiques.

Ont été conçus les disques de diagnostic pour identification des vibrions.

5. Analyse néphélométrique

5.1. Elaborations scientifiques

Ont été élaborés les ensembles de réactants suivants:

– kit de réactants pour le screening des urines visant à la détection de la bactériurie par la méthode de néphélométrie de fluctuation cohérente;
– kit de réactants pour la détection des quantités résiduelles des antibiotiques par la méthode de néphélométrie de fluctuation cohérente.

La méthode de néphélométrie de fluctuation cohérente possède plusieurs avantages par rapport à la néphélométrie traditionnelle. Le principal avantage consiste en possibilité d'utiliser pour cuvettes des fioles cylindriques en verre de 5 ml. Il est prouvé qu'en utilisant les kits de réactants élaborés on peut fiablement enregistrer la croissance bactérienne à partir de la concentration de $10^3 \div 10^4$ UFC/ml.

6. Méthode de la réaction de polymérisation en chaîne

6.1. Elaborations scientifiques

Il a été élaboré un kit de réactants pour le diagnostic de la Q-rickettsiose par la méthode de la réaction de polymérisation en chaîne en temps réel.

Publications:

1. *Vasileva E.V., Kudryavtsev I.V., Ivanovsky V.B., Kovelenov A.Y., Isaeva G.N., Verbov V.N., Totolian A.A. The search of informative biomarkers for early immunological diagnosis of tuberculosis in patients with HIV infection // HIV infection and immunosupressions. 2016; 8 (2): 118–119.*
2. *Vasileva E., Maximov G., Kudryavtsev I., Serebryakova M., Verbov V., Totolian A. Impaired peripheral blood T cell differentiation in HIV patients with pulmonary tuberculosis // Tuberculosis. 2016: 201.*
3. *Guryev A.S., Kuznetsova O.Yu., Pyasetskaya M.F., Smirnova I.A., Belyaeva N.A., Verbov V.N., Volkov A. Yu. Rapid screening of urine on a bakteriuria at children with use of the microbiological analyzer combining in itself methods of photometry and a coherent fluctuation nephelometry // Infection and immunity. 2016; 6: 395–398.*
4. *Vasilyeva E.V., Panteleev A.M., Verbov V.N., Totolian A.A. Value of the QuantiFERON test and IP in diagnosis of tuberculosis at patients with HIV infection // Medical Immunology. 2015; 17: 195.*
5. *Vasilyeva E.V., Verbov V.N., Totolian A.A. Immunological methods in differential diagnosis of active tuberculosis of lungs and a latent tuberculosis infection // Medical Alliance. 2015; 1: 92–93.*

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

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

Responsable du centre: N. Beliakov
Chercheurs permanents: N. Konovalova, S. Ogurtsova, A. Bobreshova, U. Svetlichnaia
Chef du laboratoire: A. Semenov
Chercheurs permanents: V. Rassohin, E. Yastrebova, V. Raiskaya, V. Fedotova, Yu. Chornoguz, M. Churina, E. Yakubovskaya, I. Khamitova

Evolution du processus épidémique de l'infection par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest de la Fédération de Russie en 2015–2016

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.

Le District fédéral Nord-Ouest est composé de 11 sujets de la Fédération de Russie peuplés de 13,7 mln de personnes (9,5% de la population de Russie). Comparée à 2014, en 2015 la population du District fédéral Nord-Ouest a augmenté de 5069 personnes. La croissance de la population a été enregistrée dans les oblasts de Léningrad, Kaliningrad et Pskov, de même que dans la ville de Saint-Pétersbourg.

Comparée à 2014, en 2015 l'étendue du screening des citoyens de la Fédération de Russie visant à la détection des anticorps à VIH a augmenté de 3,5%. La cohorte qui a subi l'examen de détection de l'infection par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest se décompose de manière suivante: citoyens de la Fédération de Russie — 2 280 382 personnes, ressortissants étrangers — 365 901 personne. La cohorte des ressortissants étrangers examinés en 2015 (365 901 personne) a diminué de 23,4% par comparaison à l'année 2014 (477 889 personnes). En 2015 la part des ressortissants étrangers a constitué 13,8% de toutes les personnes examinées.

En 2015 dans les groupes vulnérables, qu'on appelle aussi groupes risque (toxicomanes, homosexuels, personnes atteintes des maladies sexuellement transmissibles ou se trouvant dans des lieux de détention) globalement pour l'ensemble du District fédéral du Nord-Ouest on observe une baisse monotone des volumes, qui est due à plusieurs facteurs y compris au caractère volontaire de l'examen et à l'hermétisme de ces catégories sociales à tout test (Fig. 23).

L'indice moyen de décelabilité dans le District fédéral Nord-Ouest (code 100) en 2015 a constitué 304,9 par 100 000 personnes examinées (303,8 en 2014), qui témoigne d'une augmentation globale de 0,4% dans le District fédéral Nord-Ouest.

En 2015 l'analyse d'efficacité du screening par groupes (selon les codes du Formulaire 4) dans le District fédéral Nourd-Ouest a révélé un haut indice de décelabilité dans le groupe des toxicomanes (code 102) — 3,6%, qui a varié en bande étroite au cours des dix dernières années jusqu'à 5,2% (Tabl. 8).

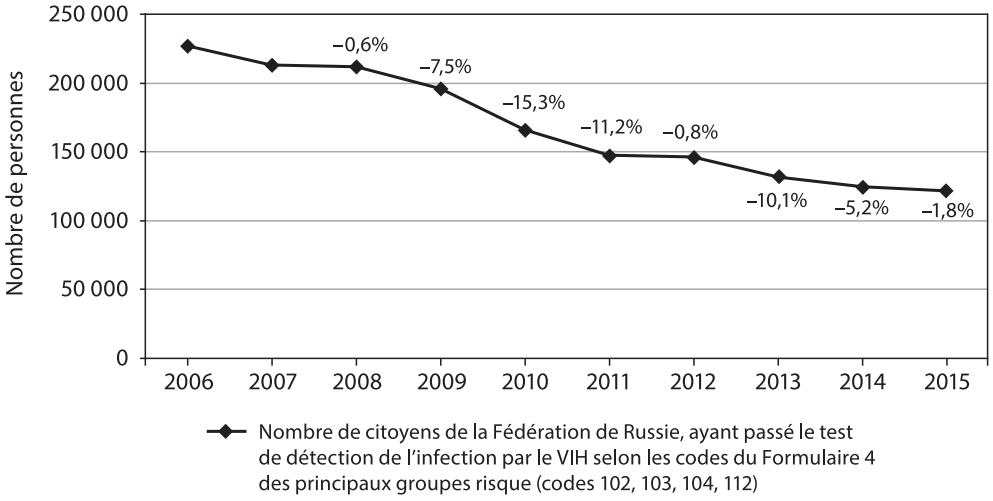


Figure 23. Evolution du nombre de personnes examinées par années au sujet de l'infection par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest, choisies parmi les plus actives dans leurs groupes risque (codes 102, 103, 104, 112) en 2006–2013

Tableau 8. Interprétation des codes adoptés pour l'examen de la population à risque de l'infection par le VIH

Cohortes examinées	Codes des cohortes examinées
Citoyens de la Fédération de Russie	100
Donneurs (de sang, des liquides biologiques, des organes et tissus)	108
Personnel médical contactant les malades atteints de l'infection à VIH ou le matériel infecté	115
Toxicomanes	102
Homo- et bisexuels	103
Personnes atteintes des maladies sexuellement transmissibles	104
Personnes se trouvant dans des lieux de détention	112
Personnes examinéees selon les indications cliniques	113
Femmes enceintes (donneuses du sang placentaire et d'avortement)	109
Autres	118
Personnes examinées dans le cadre d'une enquête épidémiologique	120
Ressortissants étrangers	200

Dans le groupe des personnes, testées selon le code 120, cet indice a constitué 3876 par 100 000 personnes examinées (3746 en 2014; 3798 en 2013; 8121 en 2011; 7161 en 2010; 7376 en 2008; 4770 en 2006).

L'indice de décelabilité dans le groupe, composé des personnes se trouvant dans des lieux de détention (code 112) a constitué 2,8% en 2015, qui ne diffère pas de 2014, 2013 et 2012, mais est inférieur à celui de la période de 2011–2008 (4,6–3,6%)

En 2015 l'indice de décelabilité dans le groupe d'hommes homo- et bisexuels du District fédéral Nord-Ouest (code 103) a quelque peu baissé pour faire 3,9% (5,6% en 2014; 4,6% en 2013; 6,7% en 2012). Les études pilotes faites auparavant témoignent pourtant d'une grave situation infectieuse dans ce groupe [3].

En 2015 l'indice de décelabilité de l'infection par le VIH dans la cohorte des ressortissants étrangers a diminué de 5,1% constituant 144,6 par 100 000 d'examinés (152,1 en 2014; 169,3 en 2013; 166,9 en 2012).

Pendant toute la période d'observation jusqu'à la fin 2016 sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest ont été enregistrés 123 169 cas de l'infection par le VIH ce qui est 0,6% de moins qu'en 2015 (Fig. 24). Ce qui représente 11,5% du nombre total des personnes infectées par le VIH enregistrées à cette date en Fédération de Russie (1 114 815 personnes). L'augmentation du nombre de nouveaux cas de l'infection par le VIH est relevée sur cinq territoires du District fédéral Nord-Ouest peu atteints jusque là: oblast d'Arkhangelsk (57,4%), oblast de Vologda (22,6%), oblast de Pskov (21,6%), oblast de Mourmansk (9,8%) et district autonome de Nénétsie (16 personnes en 2016 contre 9 en 2015) (Tabl. 9).

Excepté les décédés (24 445 personnes) qu'il faut déduire du nombre total des cas enregistrйs, vers la fin de l'année 2016 dans le District fédéral Nord-Ouest résidaient 98 740 personnes infectées par le VIH.

Pendant plusieurs années d'observation l'incidence de l'infection par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest excédait celle moyenne de la Russie (jusqu'à 1,5 fois). Mais à partir de 2009 on a vu se dessiner une tendance à la baisse de l'incidence et en 2013 son indice a été déjà au-dessous de la moyenne nationale (respectivement 44,7 et 54,3 pour 100 000 habitants). En 2016 cet indice a été de 43,1 dans le District fédéral Nord-Ouest contre 70,6 de la moyenne nationale (Fig. 25).

L'analyse du monitorage de la situation épidémiologique relative à l'infection par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest révèle les tendances suivantes.

En 2015 dans la répartition par catégories d'âge et par sexe les plus hauts indices de morbidité, aussi bien chez les hommes que chez les femmes, ont été observés dans la catégorie de 30–34 ans (respectivement 184,4 et 119,5 par 100 000 habitants). Malgré les indices de morbidité relativement peu élevés, les adolescentes et les jeunes femmes restent une catégorie la plus vulnérable pour l'infection par le VIH.

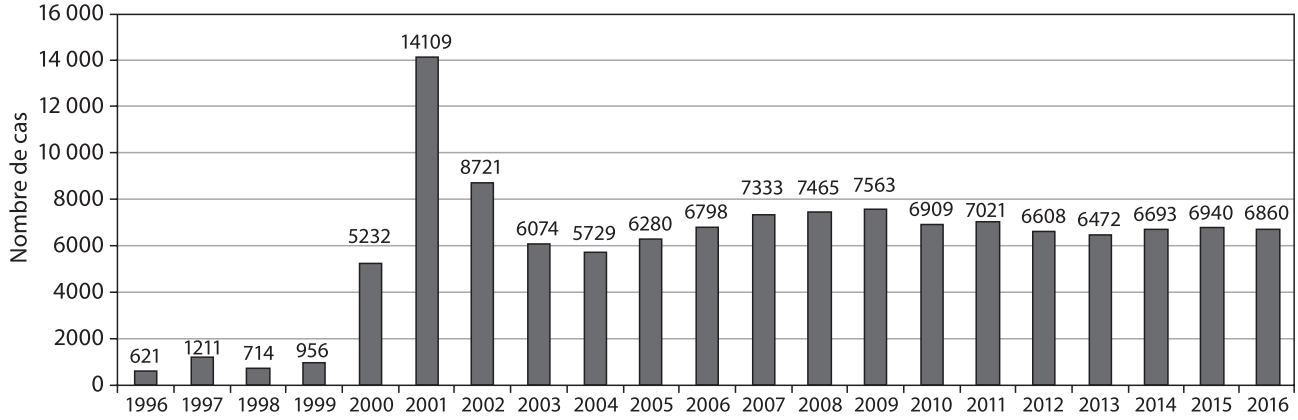


Figure 24. Evolution du nombre de nouveaux cas de l'infection par le VIH détectés dans le District fédéral Nord-Ouest (années 1996–2016)

Tableau 9. Enregistrement des nouveaux cas de l'infection par le VIH sur les territoires du District fédéral Nord-Ouest en 2016 comparé à 2015

Territoire	2015	2016	Hausse/baisse (%)
Oblast d'Arkhangelsk	197	310	57,4
Oblast de Vologda	248	304	22,6
Oblast de Kaliningrad	513	494	–3,7
République de Carélie	193	172	–10,9
République des Komis	491	474	–3,5
Oblast de Léningrad	1379	1388	0,7
Oblast de Mourmansk	348	382	9,8
Oblast de Novgorod	340	293	–13,8
Oblast de Pskov	74	90	21,6
District autonome de Nénétsie	9	16	77,8
Saint-Pétersbourg	3148	2977	–5,4
District fédéral Nord-Ouest	6940	6900	–0,6

En 2013 pour la première fois en 18 ans d'observation de la situation épidémiologique dans le District fédéral Nord-Ouest dominait la transmission sexuelle. Cette tendance s'est maintenue en 2015: la transmission du virus au cours des contacts hétérosexuels a été enregistrée dans 59,5% de cas (moyenne nationale — 44,0%), dans les injections intraveineuses des drogues — dans 35,2% de cas (moyenne nationale — 53,6%).

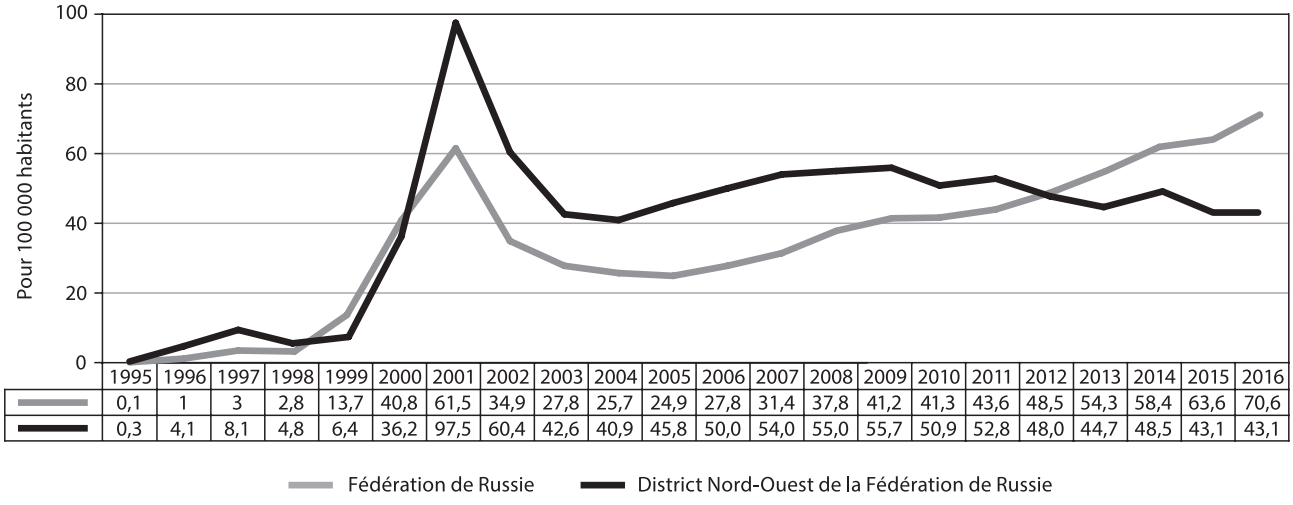
Tout comme au niveau national, les cinq dernières années d'observation de la situation épidémiologique de l'infection par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest ont montré la forte dominance du groupe d'hommes homo- et bisexuels qui a atteint en 2015 le niveau de 4,3% (3,2% en 2014; 2,5% en 2013).

En même temps on observe une féminisation de l'épidémie étant donné l'augmentation constante de la part des femmes dans la structure générale de la cohorte des personnes infectées par le VIH. En 1995 la part des femmes parmi les malades enregistrés comme atteints de l'infection par le VIH a fait 19%; 26% en 2000; 41,5% en 2015.

Les femmes ont été plus souvent infectées par le VIH dans les contacts hétérosexuels. Parmi les femmes infectées par le VIH en 2014 la transmission sexuelle comme principal facteur de risque de contamination a été enregistrée dans 75,3% de cas et déjà dans 78,7% de cas en 2015 (dans 45,6% de cas en 2005). En 2015 chez les hommes la transmission sexuelle comme facteur de risque de contamination a été confirmée dans 47,% de cas (dans 13,5% de cas en 2005), dans les injections intraveineuses des drogues — dans 44,9% de cas (dans 85,0% de cas en 2005).

Chaque année augmente le nombre d'enfants nés des mères infectées par le VIH. Depuis le début des inregistrements des personnes infectés par le VIH en 1987, dans le District fédéral Nord-Ouest au total chez 14 753 enfants ont été enregistrés des contacts périnataux avec l'infection par le VIH. Ainsi en 2000 a été enregistré 101 cas de tels contacts; 1476 — en 2012; 1353 — en 2013; 1367 — en 2014; 1379 — en 2015. Vers la fin de 2015 le nombre total d'enfants, ayant le diagnostic confirmé de l'infection par le VIH par suite d'une transmission périnatale, a été de 767. En 2015 86,6% de couples mère-enfant obtenaient la chimioprophylaxie complète à trois étapes contre transmission du VIH de mère à l'enfant, ce qui a permis de diminuer le taux de contamination périnatale des enfants jusqu'à 1%.

Pendant plus de dix ans la situation épidémiologique dans le District fédéral Nord-Ouest se caractérisait par l'augmentation du nombre de décès des personnes infectées par le VIH. Vu la détection et la demande tardive d'aide



	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Fédération de Russie	0,1	1	3	2,8	13,7	40,8	61,5	34,9	27,8	25,7	24,9	27,8	31,4	37,8	41,2	41,3	43,6	48,5	54,3	58,4	63,6	70,6
District Nord-Ouest de la Fédération de Russie	0,3	4,1	8,1	4,8	6,4	36,2	97,5	60,4	42,6	40,9	45,8	50,0	54,0	55,0	55,7	50,9	52,8	48,0	44,7	48,5	43,1	43,1

Figure 25. Incidence de l'infection par le VIH en Fédération de Russie et dans le Distrct fédéral Nord-Ouest, 1995–2016

médicale, augmentation du nombre de malades atteints des maladies concomitantes, les cas de décès avec le diagnostic SIDA devenaient plus fréquents. En 2016 on a observé une importante augmentation du nombre de tels décès (Fig. 26).

En 2016 dans le District fédéral Nord-Ouest 1247 personnes infectées par le VIH sont décédés pour raisons diverses sans rapport à cette infection. Ont été enregistrés 1326 cas de décès avec le diagnostic SIDA, ce qui fait plus de la moitié de tous les cas contrairement à la première période épidémique quand cet indice n'excédait jamais 1/4.

Chaque année dans le District fédéral Nord-Ouest augmente le nombre de personnes infectées par le VIH placées sous la surveillance des dispensaires dans les Centres pour la prévention et la lutte contre le SIDA. Pour la la fin de 2015 dans 11 Centres territoriaux pour la prévention et la lutte contre le SIDA a été observé 63 131 patient infecté par le VIH. 26 071 malades infectés par le VIH ont reçu en 2015 une thérapie antirétrovirale spécifique, qui représentent 87,0% du nombre de patients nécessitant le traitement ou 27,6% du nombre total de personnes infectées par le VIH (Fig. 27).

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

Au laboratoire d'immunologie et virologie de l'infection par le VIH sont menées des recherches de génotypage du VIH de même que de détection des mutations de résistance aux médicaments. Elles sont effectuées depuis 2009 sur les demandes des Centres territoriaux pour la prévention et la lutte contre le SIDA du District fédéral Nord-Ouest.

En 2015–2016 ont été effectuées 314 recherches de détection de résistance aux produits antirétroviraux. Ont été révélés plusieurs mutations responsables de la résistance multiple aux Inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI), Inhibiteurs non nucléosidiques de la trascriptase inverse (INNTI) et aux inhibiteurs de la protéase (IP). Toutes ces mutations résultent de la thérapie par les produits antirétroviraux. A été également effectuée une etude du niveau de résistance primaire des personnes infectées par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest, qui ne reçevaient pas la thérapie. Comparés à 2009–2014, en 2015–2016 ont été détectés les cas de résistance primaire aux produits énumérés dans le gène RT — 5,1%, PR — 3,7%.

Les résultats de l'étude de la population des personnes infectées par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest sont inscrits dans la base de données unique pour effectuer ensuite une analyse rétrospective des tendances de développement de la résistance primaire et secondaire du VIH aux produits antirétroviraux dans la période de sept ans entre 2009 et 2016.

Une option promettrice des recherches est l'identification des marqueurs génétiques de résistance à la contamination par le VIH et des marqueurs de progression de l'infection par le VIH.

En 2015–2016 on a fait progresser les recherches d'identification des marqueurs génétiques de résistance au VIH (CCR5delta32) et de la mutation CCR2 64I par la méthode de pyro-séquencement. L'étude de ces marqueurs de laboratoire présente un intérêt particulier pour le District fédéral Nord-Ouest puisque génétiquement cette région fait partie des zones de prévalence maximale de la mutation CCR5delta32.

Selon les données des études provisionnelles la prévalence de portage de l'allèle CCR5delta32 à Saint-Pétersbourg constitue 17,9% (n = 586) qui est proche aux indices de sa prévalence dans la partie méridionale de la Suède et de la Finlande. A été élaboré et est en train d'être testé sur la population du District fédéral Nord-Ouest un ensemble de réactants pour révéler les mutations de CCR2 64I qui représente un intérêt pour l'épidémiologie comme marqueur génétique de suppression de réplication du VIH.

Cliniquement est prouvée l'importance d'identification des marqueurs de résistance au VIH sur l'exemple des couples discordants.

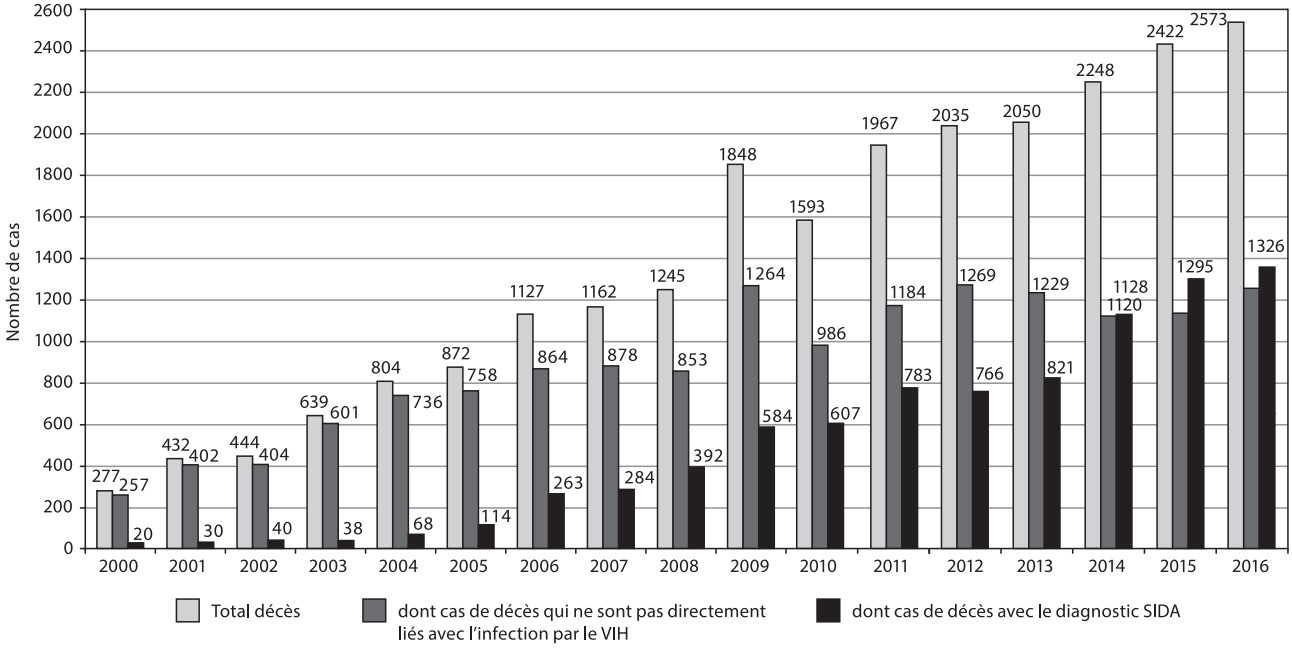


Figure 26. Enregistrement des cas de décès des personnes infectées par le VIH et les malades atteints du SIDA sur le territoire du District fédéral Nord-Ouest, 2000–2016

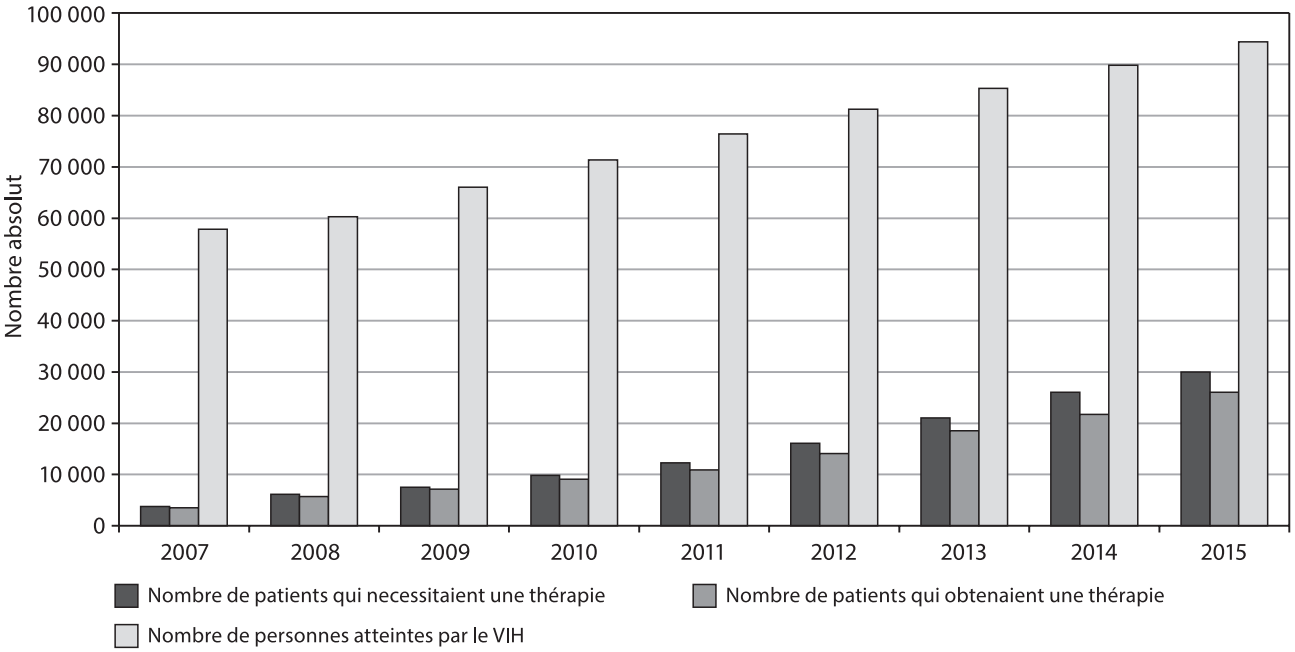


Figure 27. Nombre de personnes atteintes par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest. Nombre de patients infectés par le VIH, placées sous la surveillance des dispensaires et obtenant une thérapie antirétrovirale, 2007–2015

Conclusion

Les tendances épidémiques de l'infection par le VIH dans le District fédéral Nord-Ouest dans leur ensemble sont identiques à celles nationales et se caractérisent par l'aggravation de la situation épidémique. Les recherches témoignent de ce que le nombre de personnes infectées par le VIH continue à croître malgré une augmentation, certes insignifiante, de l'étendue des tests aussi bien dans les groupes risque hautement vulnérables au VIH que globalement dans la population.

On observe des changements qualitatifs dans la population infectée par le VIH: l'épidémie atteint les couches de population aisées, vieillissement de la population, augmentation du nombre d'anomalies et maladies d'origine somatique et psychique, invalidité.

On remarque une augmentation de la fréquence de détection des isolats du VIH avec une résistance multiple aux agents antirétroviraux (ARV) ce qui pourra exiger sous peu de produire des modifications dans l'algorithme d'examen de laboratoire des patients détectés comme porteurs de l'infection primaire par le VIH.

Publications

1. *Lioznov D.A., Konovalova N.V., Ogurtsova S.V., Asadulaev M.P., Vinogradova T.N., V.K. Zin'kevich, Karpunov A.A., Kovelenov A.Yu., Melnikova T.N., Pogan S.S., Popova Ye.S., Sivavheva I.L., Kholina N.A., Cherkes N.N. Characterization of HIV epidemic in the northwest region of the Russian Federation // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (2): 93–100.*
2. *Belyakov N.A., Lioznov D.A., Konovalova N.V., Ogurtsova S.V., Svetlichnaya Y.S., Panteleeva O.V., Kovelenov A.Y., Melnikova T.N., Holina N.A., Asadullayev M.R., Pogan S.S.,Cherkes N.N., Popova E.S., Sorokina T.A., Semikova S.Y., Salieva N.D., Sivacheva I.L., Dedov A.V., Nosov V.N. Trends in HIV epidemic development in the Northwest of the Russian Federation // Medical academic journal. 2015; 15 (4): 59–69.*
3. *Rassokhin V.V., Buzunova S.A., Vrackikh T.V., Panteleeva O.V., Toropov S.E., Totrova Z.M., Golubkin A.A., Orlov G.M., Belyakov N.A. The problem of senescence and debilitation of HIV patients // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (1): 7–15.*
4. *Toropov S.E., Rudakova A.V., Zakharova N.G., Sizova N.V., Dvorak S.I., Guba Z.V., Rassokhin V.V., Belyakov N.A. Pharmacoeconomic analysis of firs-line antiretroviral therapy // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (1): 29–39.*
5. *Uliukin I.M., Rassokhin V.V. Neuro-mental disorders in chronic parenteral hepatitis' patients // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (1): 16–28.*
6. *Belyakov N.A., Vinogradova T.N., Rozental V.V., Sizova N.V., Rassokhin V.V., Lisitsyna Z.N., Panteleeva O.V., Dvorak S.I. The evolution of HIV epidemic in Saint Petersburg: incidence decreases whereas symptoms mature and aggravate // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (2): 7–17.*
7. *Ustinov A., Suvorova A., Belyakov A., Makhamatova A., Levina O., Rassokhin V.V., Krupitsky E., Lioznov D., Niccolai L., Heimer R. // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (2): 41–48.*
8. *Lisitsyna Z.N., Petrova L.N., Belyakov N.A., Pribytkovskiy M.M., Simonian A.R. A method for the determination of the active metabolite of 3'-azido-3'-deoxythymidine, azidothymidine, in blood plasma by high performance liquid chromatography // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (2): 61–68.*
9. *Belyakov N.A., Vinogradova T.N., Zholobov V.Ye., Stepanova E.V., Bobreshova A.S. Funding demands of and opportunities for HIV medicine programs // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (2): 85–62.*
10. *Belyakov N.A., Rassokhin V.V., Rakhmanova A.G., Lisitsyna Z.N., Stepanova Ye.V., Sizova N.V., Yastrebova Ye.B., Panteleev A.M., Vinogradova T.N., Samarina A.V., Zakharova N.G., Kizhlo S.N., Leonova O.N., Kabanova V.I., Koltsova O.V. Advances and unsolved problems in control of HIV // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (3): 7–23.*

11. *Zakharova N.G., Dvorak S.I., Plavinski S.L., Toropov S.E., Rassokhin V.V., Belyakov N.A. the causes of unfavorable outcomes among patients taking HAART. Part 1 // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (3): 48–55.*
12. *Samarina A.V., Yastrebova Ye.B., Lisitsyna Z.N., Dement'yeva N.Ye., Voropayeva Ye.N., Sizova N.V., Rassokhin V.V., Panteleyeva O.V., Koltsova O.V., Abramova I.A., Dmitriyev A.V., Belyakov N.A. Case report about successful HIV prevention after transfusion of HIV-infected erythrocyte suspension // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (3): 87–96.*
13. *Neznanov N.G., Khalezova N.B., Koltsova O.V., Selyutina E.V., Pogodina S.A., Linets Yu.P., Emelyanov O.V., Lipskaya E.V., Belyakov N.A. Attitudes and tolerance of medical staff in HIV infected people // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (4): 28–40.*
14. *Vinogradova T.N., Panteleeva O.V., Piskarev I.G., Karnaukhov Ye.V., Bembeyeva N.A., Belyakov N.A. HIV prevalence among injection drug users in Saint Petersburg. Part I. General characterization of the study group of drug users // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (4): 41–51.*
15. *Rassokhin V.V., Bobreshova A.S. «New in HIV medicine» // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2015; 7 (4): 92–97.*
16. *Nekrasova A.V., Leonova O.N., Stepanova Ye.V., Rassokhin V.V. Characteristics of tumor development in HIV patients in Saint Petersburg // HIV infection and Immunosuppressive disorders. 2016; 8 (1): 31–41.*
17. *Dementyeva N.Y., Kalinina O.V., Znoyko O.O., Belyakov N.A., Zhebrun A.B. The circulating recombinant form RF2k/1b of hepatitis C virus: problems in diagnostics and therapy. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (1): 42–52.*
18. *Belyakov N.A., Konovalova N.V., Ogurtsova S.V., Svetlichnaya Y.S., Bobreshova A.S., Gezey M.A., Kovelenov A.Y., Semikova S.Y., Melnikova T.N., Kholina N.A., Asadullayev M.R., Pogan S.S., Cherkes N.N., Popova Y.S. Is a new wave of HIV spread in the northwest of the Russian Federation a threat or the fact? HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (1): 73–82.*
19. *Belyakov N.A. Lines of advances in HIV research conducted by scientific teams in the Russian Federation. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (2): 7–16.*
20. *Vinogradova T.N., Panteleyeva O.V., Piskarev I.G., Karnaukhov Y.V., Bembeyeva N.A., Belyakov N.A. HIV prevalence among injection drug users in Saint Petersburg Part 2. Knowledge about HIV and abasement of help. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (2): 22–31.*
21. *Rassokhin V.V., Bobreshova A.S., Konovalova N.V., Ogurtsova S.V. HIV, coinfections, and concomitant diseases. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (2): 96–99.*
22. *Belyakov N.A., Rassokhin V.V., Trofimova T.N., Stepanova Y.V., Panteleev A.M., Leonova O.N., Buzunova S.A., Konovalova N.V., Milichkina A.M., Totolian A.A. Advanced and comorbid HIV cases in Russia. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (3): 9–25.*
23. *Daryina M.G., S vetlichnaya Y.S., Tekhova I.G., Movchan K.N., Mamicheva O.Y., Rusakevich K.I. Hepatitis B and C among hospital personnel in Saint-Petersburg. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (3): 108–112.*
24. *Vetrova M.V., Aleksandrova O.V., Paschenko A.Y., Toropov S.E., Abyshev P.A., Levina O.S., Belyakov A.N., Rassokhin V.V., Niccolai L., Heimer R. The critical aspects of the early stages of antiretroviral therapy provision to HIV patients. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (4): 27–37.*
25. *Svetlichnaya Y.S., Kolosovskaya E.N., Kaftireva L.A., Zueva L.P., Daryina M.G., Zakhvatova A.S. Hospital infections epidemic in the intensive care unit of a general hospital. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (4): 60–65.*
26. *Bobreshova A.S., Rassokhin V.V., Nekrasova A.V. Science and Practice Conference with International Involvement «HIV infection and immunosuppression. Severe and comorbid forms of HIV infection. Epidemiology and modern strategies». HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2016; 8 (4): 75–81.*
27. *Ostankova Yu.V., Nogoybaeva K.A., Semenov A.V., Totolian A.A. On molecular epidemiology of hepatitis D in Kyrgyzstan // Medical academic journal. 2015; 15 (2): 73–78.*
28. *Belyakov N.A., Rassokhin V.V., Konovalova N.V. How can limited resources be utilized when hiv epidemic is on the rise // Medical academic journal. 2015; 15 (2): 73–78.*
29. *Gajsina A.F., Magonov E.P., Gromova E.A., Gurskaya O.E., Trofimova T.N., Rassokhin V.V., Belyakov N.A. Pathological mechanisms of HIV-associated neurocognitive frustration. Diagnostic radiology and radiotherapy. 2016; 2: 6–21.*

Centre JMF de diagnostic et de traitement du déficit immunitaire primaire à Saint-Pétersbourg

Les déficits immunitaires primaires (DIP) sont des maladies graves, génétiquement conditionnées, provoquées par des troubles d'un ou de plusieurs mécanismes immunitaires de défence (phagocytose, éléments humoral et cellulaire, systèmes du complément), suite à quoi peut être rompue la production d'un ou de plusieurs types de cellules du système immunitaire, des protéines accessoires, la régulation des différents ségments du système immunitaire etc.

Jusqu'à 90% d'enfants russes souffrant des formes graves du déficit immunitaire meurent non diagnostiqués. Il y a plusieurs raisons à cela. Premièrement, à la différence de certaines autres pathologies héréditaires, d'habitude les DIP ne se remarquent pas dans l'aspect extérieur de l'enfant: les enfants atteints de cette maladie peuvent paraître absolument normaux. Deuxièmement, on présente la faible santé de l'enfant responsable des infections traditionnellement fréquentes. Troisièmement, les DIP étant des maladies rares, la connaissance de cette pathologie dans la communauté médicale et dans le milieu des malades est très faible. Ce qui aboutit au diagnostic tardif et traitement inadéquat des patients souffrant des déficits immunitaires primaires, à une forte mortalité des malades, de même qu'aux frais élevés de l'état pour la traitement des complications des déficits immunitaires primaires et paiement des certificats d'arrêt de travail. Actuellement une thérapie opportune et adéquate permet aux patients non seulement de vivre jusqu'à l'âge adulte sans invalidité, mais aussi d'avoir un mode de vie actif.

Jeffrey Modell Foundation (JMF, USA) est un organisme mondial sans but lucratif, fondé en 1987 par Vicki and Fred Modell en mémoire de leur fils Jeffrey, qui souffrait du DIP et est mort de pneumonie à l'âge de 15 ans. La Fondation est créée pour server d'appui aux recherches fondamentales et cliniques, au développement d'un réseau de laboratoires d'immunologie, à la formation des médecins, à l'octroi d'aide aux patients et leurs familles, à l'amélioration et à la diffusion de la connaissance de la maladie dans la société.

Le réseau des centres JMF couvre plusieurs pays (Etats-Unis avec sa partie Centre-Est, Canada, Europe, plusieurs régions de l'Asie) et s'accroît systématiquement. Il est composé des services de diagnostic et de recherche JMF de même que des centaines d'experts immunologues travaillant dans les hôpitaux et écoles de médecine. Grâce à la Fondation on est en train de créer une base globale de données sur les patients atteints des DIP, on octroit et on obtient une aide sous forme des informations pour la recherche des spécialistes en immunologie, on mène une campagne de médiatisation des connaissances sur le DIP parmi les médecins d'autres spécialisations.

Le réseau des centres JMF s'étend continuellement, et en décembre 2011 entre la Fondation JMF et l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg a été signé un accord sur l'organisation du «Centre des déficits immunitaires primaires» qui a commencé ses activités en janvier 2012.

Le Centre JMF de Saint-Pétersbourg est un organisme unique qui a réuni 3 structures hospitalières et de recherche pour étudier ensemble le problème des DIP: Centre médical de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg, Centre consultatif de l'Université de médecine pédiatrique d'état de Saint-Pétersbourg et le Centre national russe de médecine d'urgence et médecine radiologique A.M. Nikiforov du Ministère des situations d'urgence de Russie.

Structure du Centre JMF de Saint-Pétersbourg pour le diagnostic et la thérapie des déficits immunitaires primaires

Le Centre est dirigé par **Areg Totolian**, docteur en médecine, professeur des universités, membre correspondant de l'Académie des sciences de Russie, adjoint du directeur pour la recherche à l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg; professeur de la Première université de médecine d'état I.P. Pavlov à Saint-Pétersbourg, responsable du cours de l'immunologie clinique de l'unité d'enseignement et de recherche en médecine générale; chef spécialiste extérieur en immunologie clinique du Comité de la santé du Gouvernement de Saint-Pétersbourg.

Le Centre est composé de deux services: de cure ambulatoire et de laboratoire. Le service de cure ambulatoire fonctionne comme centre de consultation et de diagnostic. Les immunologues et médecins des différentes spécialisations consultent les patients envoyés au Centre par les différents établissements de cure et de prévention médicale de Saint-Pétersbourg, de même que des différents territoires du District fédéral Nord-Ouest de la Fédération de Russie.

Depuis 2013 les Centre octroit une part de ses services dans le cadre de l'Assurance médicale obligatoire. Ce qui signifie qu'un patient, envoyé au Centre par le spécialiste immunologue d'un district ou d'un arrondissement et domicilié à Saint-Pétersbourg, profite des consultations d'un immunologue, travaillant dans un hôpital, et des examens immunologiques de laboratoire selon les indications médicales cliniques, y compris sur le compte du Fonds d'assurance médicale obligatoire dans les limites du financement octroyé.

Service de cure ambulatoire

Le diagnostic des DIP est basé en premier lieu sur l'analyse de l'historique de la maladie et de la vie du patient, l'anamnèse familiale, les manifestations cliniques de l'immunodéficience et le diagnostic du défaut du système immunitaire (Tabl. 10).

D'habitude le déficit immunitaire primaire débute cliniquement en jeune âge, quoiqu'un début plus tardif de manifestation de certaines formes des DIP est aussi possible, notamment de l'immunodéficience générale variable. Néanmoins dans le groupe des malades du DIP dominent les enfants et la catégorie du jeune âge.

Tableau 10. Quantité de visites consultatives et de recherches de laboratoire dans le Centre du DIP

Service médical	2015	2016
Consultation de l'immunologue de l'hôpital	370	410
Analyses d'immunologie de laboratoire	4430	4980

Les médecins du Service de cure ambulatoire du Centre consultent aussi bien les enfants que les adultes.

Chercheurs du Service de cure ambulatoire

- **Natalia Kalinina** — docteur en médecine, professeure des universités, chef chargée de recherche du service de laboratoire du Centre national de médecine d'urgence et médecine radiologique A.M. Nikiforov du Ministère des situations d'urgence de Russie
- **Marina Guseva** — médecin de catégorie supérieure, immunologue-allergologiste de l'Université d'état de médecine pédiatrique de Saint-Pétersbourg, médecin immunologue du Centre de consultation et de diagnostic; médecin immunologue-allergologiste du Centre médical de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg; adjointe au responsable du cours de l'immunologie hospitalière de l'unité d'enseignement et de recherche en médecine générale de la Première université de médecine d'état I.P. Pavlov
- **Raïssa Kuznetsova** — agrégée en médecine, médecin immunologue-allergologiste du Centre médical de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg, assistante du cours de l'immunologie hospitalière de l'unité d'enseignement et de recherche en médecine générale de la Première université de médecine d'état I.P. Pavlov
- **Natalia Davydova** — agrégée en médecine, médecin immunologue-allergologiste du Centre national de médecine d'urgence et médecine radiologique A.M. Nikiforov du Ministère des situations d'urgence de Russie
- **Angelika Militchkina** — Médecin en chef du Centre médical de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg

Service de laboratoire

Le Service de laboratoire effectue des tests cliniques généraux (hématologiques, biochimiques), des examens immunologiques complets et des analyses génétiques de vérification. D'autre part, actuellement on y mène le travail de mise en pratique des tests de laboratoire pour le screening de l'immunodéficience des cellules T et B.

Chercheurs du Département de laboratoire

- **Alexandre Semenov** — agrégé en biologie, chef de laboratoire à l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg; chargé de cours de l'immunologie hospitalière de l'unité d'enseignement et de recherche en médecine générale de la Première université de médecine d'état I.P. Pavlov
- **Irina Khamitova** — responsable du Laboratoire central de diagnostique clinique de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg
- **Youlia Ostankova** — chargée de recherches du Laboratoire d'immunologie moléculaire et de séroépidémiologie de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg
- **Natalia Arsentieva** — attachée de recherches du Laboratoire d'immunologie moléculaire et de séroépidémiologie de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg
- **Natalia Lubimova** — agrégée en biologie, chargée de recherches du Laboratoire d'immunologie moléculaire et de séroépidémiologie de l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg

Répertoire des recherches en immunologie

1. Serum IgG, IgA, and IgM analysis
2. Serum IgG subclasses (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4)
3. Serum IgE and specific IgE analysis
4. Secretory IgA analysis
5. Immunoglobulin light chain (k and λ)
6. Measurement of total antibodies to *Pneumococcus*
7. Measurement of antibodies to *Tetanus* toxoid
8. Measurement of antibodies to *H. influenzae* type B
9. Measurement of antibodies to *H. pylori* IgG and IgM with ELISA
10. Measurement of serum immunocomplexes with spectrophotometry
11. Antinuclear, antimitochondrium, antismooth muscle, antistomach parietal cell, antiliver-kidney microsome, antiendothelial antibodies
12. Serum C3 and C4 analysis
13. Measurement of serum C1 esterase inhibitor
14. Serum CRP analysis
15. T lymphocytes panel (see below)
16. NK cells
17. B lymphocytes panel (see below)
18. Nitroblue tetrazolium (NBT) test
19. Superoxid-anion production by granulocytes and monocytes/macrophages
20. Phagocytosis and killing of S. aureus by granulocytes and monocytes/macrophages
21. Phagocytosis and killing of E. coli by granulocytes and monocytes/macrophages
22. Phagocytosis and killing of C. albicans by granulocytes and monocytes/macrophages
23. Phagoburst-test by flow cytometry
24. Intracellular cytokine staining, flow cytometry
25. Cytokine release by PBMC, ELISA, Luminex

Lymphocyte immunophenotyping (FACS Canto II)

T lymphocytes panel

1. T-lymphocytes **(CD45+CD3+)**
2. T-cytotoxic cells **(CD45+CD3+CD8+)**
3. T-helper cells **(CD45+CD3+CD4+)**
4. Regulatory T-lymphocytes **(CD45+CD4+CD25+CD127–)**
5. Double-positive T-lymphocytes **(CD45+CD3+CD4+CD8+)**
6. Double-negative T-lymphocytes **(CD3+CD4–CD8–TCRαβ+)**
7. γδT-lymphocytes **(CD45+CD3+*γδ*TcR+)**
8. αβT-lymphocytes **(CD45+CD3+*α*βTcR+)**
9. Naive T-helper **(CD45+CD4+CD45RO–CD45RA+)**
10. T-helper cells activated/ memory **(CD45+CD4+CD45RO+CD45RA+)**
11. TNK-cells **(CD45+CD3+CD16–CD56+)**
12. NK-cells **(CD45+CD3–CD16+CD56+)**
13. Cytolytic NK-cells **(CD45+CD3–CD16+CD56*dim*)**
14. NK-cytokine-producing cells **(CD45+CD3–CD16 (-*or low*)CD56*bright*)**
15. HLA-DR+lymphocytes **(CD45+HLA–DR+)**
16. CD25+lymphocytes (IL-2 receptor) **(CD45+CD25+)**
17. Index CD4/CD8

B lymphocytes panel

1. B-lymphocytes **(CD45+CD19+)**
2. Naïve B-cells **(CD19+IgM+IgD+CD27–)**
3. B1-lymphocytes **(CD45+CD19+CD5+CD27–)**
4. B2-lymphocytes **(CD45+CD19+CD5–CD27–)**
5. Memory B cells **(CD45+CD19+CD5–CD27+)**
6. Memory B cells **(CD19+CD27+)**
7. Memory B cells marginal zone **(CD19+IgM+IgD+CD27+)**
8. Isotype switched memory B cells **(CD19+IgM–IgD–CD27+)**
9. Transient B-lymphocytes **(CD19+CD38^{high}+IgM^{high}+)**
10. CD21^{low} B-lymphocytes **(CD19+CD21^{low}CD38^{low})**
11. Plasmoblast cells **(CD38+++IgM–)**

Examen de génétique moléculaire

Le diagnostic précoce des DIP est d'une grande importance. Au jour d'aujourd'hui sont connues plus de 250 variétés des troubles génétiques, conduisant aux divers types d'immunodéficience, et plus de 300 gènes responsables du développement des maladies de ce groupe. Actuellement les possibilités du Centre JMF de Saint-Pétersbourg permettent d'effectuer les examens génétiques moléculaires de l'ampleur suivante:

- Détection des mutations dans les gènes Btk, RAG1/RAG2, WAS, CYBB, ICOS, TACI, BAFF-R, CD19, TYK 2, DOCK 8, STAT-3.
- Mise en pratique de la méthode de définition quantitative de TREC/CREC pour le screening des DIP.
- Le projet pilote «Informativité du test de définition de TREC/CREC pour le screening des nouveaux-nés au sujet des DIP» a débuté à Saint-Pétersbourg en septembre 2014 en collaboration avec:

– le Centre municipal d'immunologie et d'allergologie infantiles de Moscou (responsable — docteur en médecine, professeur Andrei Petrovitch Prodeus);
– l'Institut de recherche en gynécologie et obstetrique D.O. Ott de Saint-Pétersbourg (directeur — académicien de l'Académie des sciences de Russie Edouard Karpovitch Aïlamazyan).

- En projet pour le futur prochain: séquençage ciblé et exomique complet.

Registre des malades des déficits immunitaires primaires

Tous les patients au diagnostic établi sont fichés au Registre des malades du DIP de Saint-Pétersbourg. Ceci est indispensable, avant tout, au patient même, car, depuis le moment de son immatriculation au Registre il est régulièrement observé par le médecin immunologue et a le droit à la médicalisation par les immunoglobulines intraveineuses (au cas d'invalidité régularisée) en qualité de traitement substitutif. Le nombre de patients observés au Centre JMF de Saint-Pétersbourg augmente chaque année et constitue actuellement 450 personnes. L'analyse de la structure montre que la catégorie des immunodéficiences avec anomalie dominante de fabrication des anticorps est la plus nombreuse (73,3%), suivie des immunodéficiences des cellules T et B (9,7%), défauts des cellules phagocytaires (9,7%), défauts du système du complé ment (0,9%), immunodéficiences inclassables (6,4%). Par la suite les patients du Registre DIP de Saint-Pétersbourg sont enregistrés au Registre européen des malades du DIP. A ce jour sur la base du Centre Médical de à l'Institut Pasteur de Saint-Pétersbourg ont été détectés 14 cas de l'oedème aigu angioneurotique. L'évolution positive dans le diagnostic de cette maladie est due à l'élargissement du spectre des examens de laboratoire. Actuellement sur la base du laboratoire de l'Institut sont utilisées des méthodes modernes de diagnostic de l'oedème angioneurotique héréditaire qui correspondent aux standards internationaux (définition de l'inhibiteur de la C1 estérase dans le sang, de son activité fonctionnelle, définition des niveaux C3, C4 des composants du système du complément, examen génétique).

Collaboration

Grâce à ses solides contacts avec les collègues, depuis son institution le Centre a établi une collaboration avec les structures analogues en Hongrie, en France, en Bélarus, à Moscou, Ekaterinbourg et Rostov-sur-le-Don. Ce qui permet de réaliser des projets communs dans la recherche et la formation, mais aussi d'élargir les possibilités de diagnostic.

– Hongrie, Debrecen, Université de Debrecen, Centre de recherche médicale, Unité d'enseignement et de recherche en immunologie infectionniste et pédiatrique (directeur de l'unité — docteur en médecine, professeur Laszlo Marodi);
– France, Paris, Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM), Hôpital Necker — Enfants malades, Centre des immunodéficiences primaires (docteure en médecine, professeure Anne Durandy);
– Centre de la génétique moléculaire de l'Académie des sciences de Russie (responsable — docteur en biologie, professeur Alexandre Polyakov);
– Centre JMF à Minsk sur la base du Centre républicain de recherche pratique en oncologie, hématologie et immunologie infantiles, République Bélarus (responsable — adjoint au directeur pour la recherche Mikhaïl Belevtsev);
– Centre JMF à Moscou sur la base du Centre de recherche public «Institut d'immunologie» de l'Agence médico-biologique fédérale de Russie et du 7-ème hôpital clinique municipal (responsable — docteure en médecine, professeure, médecin émérite de la Fédération de Russie Tatiana Latycheva);
– Centre JMF à Moscou sur la base du Centre clinique fédéral de recherche en hématologie, oncologie et immunologie infantiles Dmitri Rogatchev (responsable — docteure en médecine, professeure Anna Sherbina);
– Centre JMF à Rostov-sur-le-Don sur la base de l'Institut de recherche en immunologie hospitalière de l'Etablissement éducatif à financement public d'enseignement professionnel supérieur «Université d'état de médecine de Rostov-sur-le-Don» du Ministère de la santé de la Fédération de Russie (responsable — docteure en médecine, professeure, médecin émérite de la Fédération de Russie, directrice de l'Institut de recherche, directrice de l'unité d'enseignement et de recherché en immunologie hospitalière et allergologie de la Faculté de formation permanente du système de la FFA, chef immunologue-allergologiste extérieur du Ministère de la santé de l'oblast de Rostov-sur-le-Don et du District fédéral Sud — Ludmila Sizyakina);
– Centre JMF à Ekaterinbourg sur la base de l'Hôpital pédiatrique clinique régional No. 1, Centre d'immunologie hospitalière (responsable — docteure en médecine,

professeure, chef immunologue extérieur du Ministère de la santé de l'oblast de Sverdlovsk, directrice du Centre d'immunologie hospitalière de l'oblast, chargée de recherche chef du Laboratoire d'immunologie des inflammations de l'Institut d'immunologie et de physiologie de la Filiale d'Oural de l'Académie des sciences de Russie — Irina Touzankina);
- Service d'immunologie hospitalière de l'Hôpital pédiatrique clinique de Russie (responsable — docteure en médecine, professeure de l'unité d'enseignement et de recherche de la Faculté de biologie médicale de l'Université nationale des recherches en médecine de Russie — Irina Kondratenko);
- Centre municipal d'immunologie et allergologie infantiles de Moscou (responsable — docteur en médecine, professeur Andreï Prodeus);
- Première université de médecine d'état I.P. Pavlov à Saint-Pétersbourg, unité d'enseignement et de recherche en médecine générale (responsable — docteure en médecine, professeure Natalia Chaporova).

Essentielles manifestations dans la recherche et la formation, organisées durant le temps d'existance du Centre

2012

- Quatre sessions «Diagnostic, prise en charge et thérapie des malades atteints des déficits ummunitaires primaires» au III-ème Cours National russe avec participation étrangère en immunologie hospitalière «Immunologie pour les médecins» (Oblast de Pskov, Pouchkinkiyé Gory, 29 janvier–5 février 2012), 150 participants.
- Symposium «Immunodéficiences primaires» au Congrès des pédiatres «Lectures Vorontsov» (Saint-Pétersbourg, 2–3 mars 2012).
- Symposium «Immunodéficiences primaires dans la pratique thérapeutique» au XI-ème Congrès des thérapeutes (Saint-Pétersbourg, 20–21 mars 2012).
- Conférence plénière «Traitement par les immunoglobulines intraveineuses» et séance «Immunothérapie» au Congrès des pharmacologistes hospitaliers (Saint-Pétersbourg, 13 octobre 2012).
- Symposium «Immunodéficiences primaires dans les manifestations des maladies internes» au Congrès médical S.P. Botkine (18 octobre 2012).

2013

- Symposium «Immunodéficiences primaires» au IV-ème Cours National russe avec participation étrangère en immunologie hospitalière «Immunologie pour les médecins» (Oblast de Pskov, Pouchkinskiyé Gory, 27 janvier–2 février 2013), 125 participants.
- Session de la Société scientifique des thérapeutes de Saint-Pétersbourg «Nouvelles possibilités du diagnostic et du traitement des déficits immunitaires primaires. Présentation du Centre des déficits immunitaires primaires de Saint-Pétersbourg» (Saint-Pétersbourg, 25 septembre 2013).

2014

- Trois sessions «Déficits immunitaires primaires et infection» au V-ème Cours National russe avec participation étrangère en immunologie hospitalière «Immunologie pour les médecins» (Oblast de Pskov, Pouchkinskiyé Gory, 2–8 février 2014), 189 participants.
- Conférence «Déficits immunitaires primaires pour les médecins praticiens» (Saint-Pétersbourg, 28 mai 2014), 95 participants.
- Conférence plénière «Déficits immunitaires primaires dans la pratique du médecin interniste» au Congrès médical Nord-Ouest (Saint-Pétersbourg, 20 juin 2014).

2015

- VI-ème Cours National russe avec participation étrangère en immunologie hospitalière «Immunologie pour les médecins»(oblast de Pskov, Pouchkinskiyé Gory, 1–7 février 2015), 163 participants
- Atelier «Approches optimales pour un traitement par les immunoglobulines intraveneuses»
- Atelier «Lieu d'immunoglobulines intraveineuses en thérapie des maladies humaines»
- XV Russian Forum with international participation in memory of academician V.I. Ioffe «Immunology Days in Saint-Petersburg» (St. Petersburg, June 1–4, 2015), 540 participants.
- Satellite Symposium «Primary Immunodeficiency» (International educational project on PID — J-Project) 2 sessions.
- Round Table «Diagnosis and treatment of primary immunodeficiencies»

2016

- VII-ème Cours National russe avec participation étrangère en immunologie hospitalière «Immunologie pour les médecins»(oblast de Pskov, Pouchkinskiye Gory, 31 janvier–6 février 2016), 180 participants
- Atelier «Nouvelles possibilités du traitement des déficits immunitaires primaires»
- Atelier «Variété d'immunodéficits primaires — approches modernes du diagnostic et du traitement»
- Symposium «Déficits immunitaires primaires».